

CAPTACION DE O₂ Y CO POR LA HEMOGLOBINA : COOPERATIVIDAD Y COMPETENCIA

J. Benegas *, R. Olgún **, C. Arce Samper ***

*Escuela de Física, IMASL, Universidad Nacional de San Luis - CONICET,
Chacabuco y Pedernera, 5700 San Luis*

Se presenta un modelo molecular para la descripción de la captación cooperativa de diversos ligandos por parte de una proteína alostérica. En equilibrio, se consideran interacciones homotrópicas y heterotrópicas. Los parámetros del modelo (energías de captación e interacción entre sitios) se obtienen independientemente por contrastación con distintos conjuntos de datos experimentales. También se resuelve la cinética de captación mediante el formalismo de la ecuación maestra, agregando una sola constante aditiva a la descripción en equilibrio.

Como aplicación se considera la captación de CO y O₂ por parte de la Hemoglobina. Los resultados describen adecuadamente la captación de CO y su dependencia con el pH, así como la captación competitiva de CO y O₂. También se muestra la variación del número promedio de sitios ocupados en función de las presiones parciales de CO y O₂, así como la dependencia de estas propiedades con el pH de la solución.

I. INTRODUCCION

La hemoglobina (Hb) es la proteína respiratoria de los vertebrados, tiene un peso molecular 64.500 Daltons¹ y una estructura cuaternaria compuesta por cuatro cadenas polipeptídicas.

Dos de esas cadenas son del tipo α y dos del β . En cada cadena hay un sitio captador del ligando, denominado Hemo.

El ligando puede ser tanto una molécula de O₂ como una de CO. Cuando un sitio hemo capta un ligando, produce una modificación estructural en los otros sitios que modifica la habilidad de los mismos para ligar moléculas de la solución. Este proceso cooperativo es llamado alosterismo y es una propiedad fisiológica fundamental de las enzimas y proteínas respiratorias. El proceso cooperativo de captación de O₂ (CO) es, además, regulado por la presencia en la solución de átomos o pequeñas moléculas llamados efectores², (H⁺, CO₂, DPG). Cuando en una solución tenemos moléculas de ambos ligandos existe un proceso competitivo entre las dos especies químicas por los sitios captadores en los grupos hemo^{1,2}.

En este trabajo tomaremos como base el modelo desarrollado previamente para describir el proceso cooperativo de captación de oxígeno por las hemoproteínas^{3,4} y lo aplicaremos para describir las cur-

vas cooperativas de captación competitiva de O₂ y CO por parte de la Hb. Se aplica como un caso particular a la captación de CO por la Hb.

El modelo es aplicado en la sección III a recientes datos experimentales⁵, obteniéndose una excelente descripción del proceso de captación competitiva.

II. EL MODELO

Consideramos a la Hb esquemáticamente como una cadena cerrada con cuatro sitios captadores de ligando que interaccionan con sus primeros vecinos.

Esta simplificación se basa en los estudios conformacionales mediante el estudio cristalográfico con rayos x^{6,7} que establecen que el efecto alostérico es principalmente de primeros vecinos.

Este proceso es regulado por la interacción que cada uno de los sitios captadores del ligando en las cadenas α tiene principalmente con dos sitios captadores de protones (H⁺) sobre la misma cadena, mientras que en las cadenas β la interacción es principalmente sólo con uno (efecto Bohr). Con relación al CO₂, este efector actúa solamente cuando hay O₂ ligado a la Hb, mientras que no lo hace cuando hay CO.

Estas interacciones moduladoras se denominan heterotrópicas, y hacemos notar que en este trabajo no consideraremos las que existen con sitios captadores de DPG, aunque eso es posible con una simple extensión del modelo.

En este marco la energía de una configuración genérica puede ser escrita como:

* Investigador CONICET

** Becario Universidad Nacional de San Luis

*** Becario CONICET

$$\begin{aligned}
 E(t_i, \alpha_i, \gamma_i, \vartheta_i) = & \quad (1) \\
 = & - \sum_{i=1}^4 \left\{ U_{O_2} t_i (1 - \alpha_i) + U_{CO} \alpha_i (1 - t_i) + J_{O_2} (t_i t_{i-1}) (1 - \alpha_i) (1 - \alpha_{i-1}) + \right. \\
 & + J_{CO} (\alpha_i \alpha_{i-1}) (1 - t_i) (1 - t_{i-1}) \left. \right\} - \sum_{i=1}^4 \left\{ J_{H^+} [t_i (1 - \alpha_i) + \alpha_i (1 - t_i)] \gamma_i + \right. \\
 & + U_{H^+} \gamma_i + (J_{CO_2} t_i + U_{CO_2}) \vartheta_i (1 - \alpha_i) \left. \right\} \\
 & - \sum_{i=1}^2 (J_{H^+} + [t_i (1 - \alpha_i) + \alpha_i (1 - t_i)] \gamma_{i+4} + U_{H^+} \gamma_{i+4}) + \\
 & + J_{CO_2} [t_i (1 - \alpha_i) \alpha_{i-1} (1 - t_{i-1}) + \alpha_i (1 - t_i) t_{i-1} (1 - \alpha_{i-1})]
 \end{aligned}$$

donde:

$$t_i = \begin{cases} 0 & \text{si el } i\text{-ésimo sitio captador de } O_2 \text{ está libre} \\ 1 & \text{si el } i\text{-ésimo sitio captador de } O_2 \\ & \text{está ocupado} \end{cases}$$

de manera análoga γ_i , σ_i y α_i , son 0 o 1 si los sitios captadores de O_2 , CO_2 y CO están libres u ocupados respectivamente.

U_{CO} es la energía de captación de monóxido de carbono.

J_{CO} es la energía de interacción entre los sitios captadores de CO .

Similarmente U_{H^+} y J_{H^+} ; U_{O_2} y J_{O_2} - U_{CO_2} y J_{CO_2} tienen análogo significado para la captación de H^+ , O_2 y CO_2 .

J_{CO_2} es la energía de interacción entre dos sitios consecutivos ocupados con O_2 y CO o viceversa.

Se ha hecho la suposición que las cadenas α y β son equivalentes y que los sitios captadores de cada especie en su totalidad son equivalentes. Esto es

válido sólo como primera aproximación, ya que algunos resultados experimentales indican que existen diferencias del comportamiento tanto en las cadenas como de los sitios captadores, particularmente en los responsables de las interacciones heterotrópicas. Se hace notar que un definitivo y detallado conocimiento del comportamiento de los distintos sitios puede ser tenido en cuenta por el modelo.

La gran función de partición es:

$$\begin{aligned}
 (T, P_{CO}, P_{CO_2}, P_{O_2}, pH) = & \\
 = \sum_{(t_i, \alpha_i, \gamma_i, \vartheta_i)} \exp \left\{ -\beta E(t_i, \alpha_i, \gamma_i, \vartheta_i) + \beta \mu_{CO} \sum_{i=1}^4 a_i + \right. & \\
 + \beta \mu_{CO_2} \sum_{i=1}^4 t_i + \beta \mu_{H^+} \sum_{i=1}^6 \gamma_i + \beta \mu_{CO_2} \sum_{i=1}^4 \vartheta_i (1 - \alpha_i) \left. \right\} &
 \end{aligned}$$

donde

$$J_{CO, O_2} = (J_{CO} + J_{O_2}) / 2$$

donde μ_{CO} , μ_{CO_2} , μ_{O_2} y μ_{H^+} son los potenciales químicos del CO , O_2 , CO_2 y de los protones respectivamente⁸.

III. RESULTADOS Y DISCUSION

Los parámetros U y J se determinan independientemente en pares separados, por contrastación con datos experimentales. U_{H^+} y J_{H^+} se encuentran con el uso de las curvas de titulación⁹, los parámetros del CO_2 mediante las curvas de captación de CO_2 por parte de la Hb^1 mientras que los de O y CO se determinan mediante las curvas de oxigenación² y monoxidación¹¹ de la Hemoglobina respectivamente.

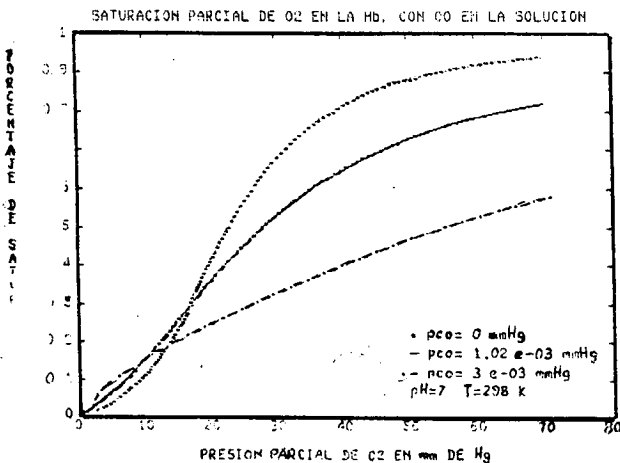


Figura 1: Oxigenación vs. presión de O_2 con la presión parcial de CO como parámetro.

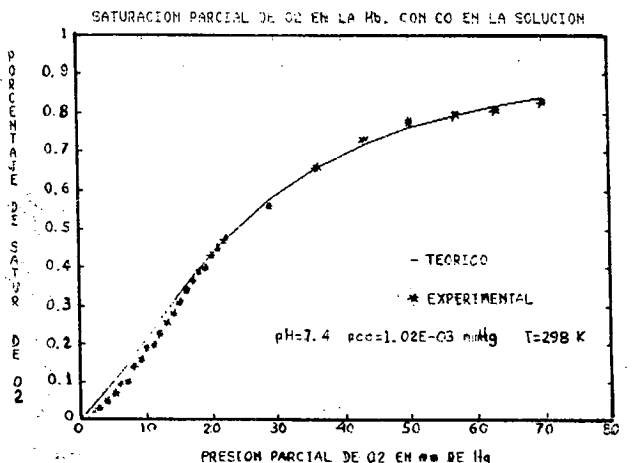


Figura 2: Datos experimentales de la Ref. 5 con el ajuste logrado con el modelo presentado.

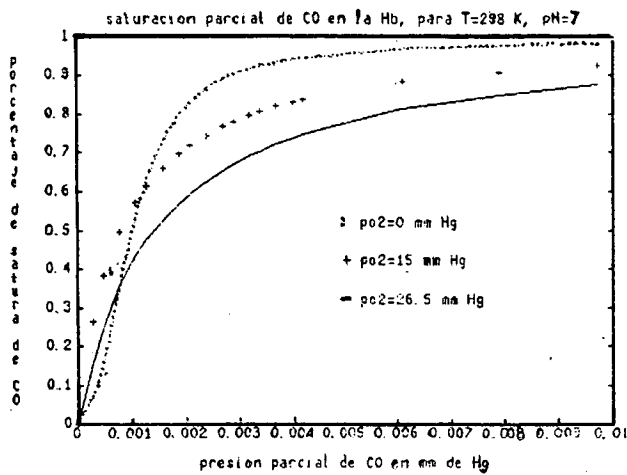


Figura 3: Monoxidación vs. presión de CO con la presión parcial de O₂ como parámetro.

Las curvas teóricas de oxigenación vs. la presión de oxígeno (p_{O_2}) y paramétricas en la presión parcial de CO (p_{CO}) se muestran en la fig. 1. A medida que aumentamos la presión de CO, las curvas se hacen menos cooperativas, indicando la menor cantidad de sitios cooperativos disponibles. Además se corren hacia la derecha, indicando el efecto de la competencia. Este se aprecia claramente en el aumento de la p_{O_2} con el aumento de la p_{CO} .

En la figura 2 comparamos los datos experimentales de ref. 5 y el ajuste logrado con este modelo (para $p_{CO} = 1.02 \times 10^{-3}$ mm de Hg y $pH = 7,4$). Vemos la sensibilidad del modelo a la variación de las variables termodinámicas. En la figura 3 vemos las curvas teóricas de monoxidación vs. p_{CO} y paramétricas en p_{O_2} . Se observa de nuevo que a medida que aumentamos la presión de oxígeno, las curvas se hacen menos cooperativas, como así mismo el efecto competitivo entre O₂ y CO.

En la figura 4 se observa la comparación entre datos teóricos y experimentales para la monoxidación vs. p_{CO} , cuando no hay O₂ presente en la solución. Vemos así la aplicabilidad de la formulación presentada cuando tenemos un solo ligando. La concordancia entre datos experimentales y teóricos es muy buena.

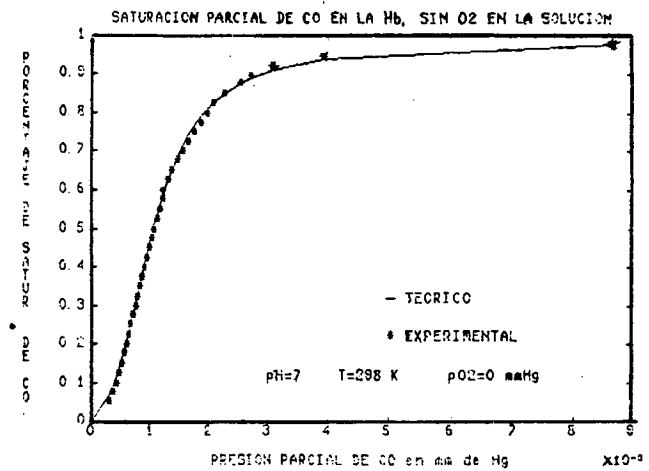


Figura 4: Comparación entre datos teóricos y experimentales para la monoxidación vs. presión de CO sin O₂ en la solución.

Concluyendo, el modelo aquí presentado permite describir el proceso competitivo O₂-CO por los sitios captadores de los grupos hemo, obteniéndose un buen ajuste con los resultados experimentales.

El modelo puede extenderse para tratar, el efecto de otros efectores (DPG por ejemplo), así como la cinética del proceso competitivo de captación O₂-CO.

IV. REFERENCIAS

1. Stryer, L. "Bioquímica", Ed. Reverté (1976).
2. IMAI K. (1982) "Allosteric Effects in Haemoglobin" - Cambridge University Press.
3. Arce Samper C., Benegas J.C. and Millan L. Review Biomathematics (1984), vol. 84 pag. 234.
4. Arce Samper C., Benegas J. - Biophysical Chemistry (1989), en prensa.
5. Perutz, M. F. - Comunicación especial (1989)
6. Perutz, M. F. (1982) Science **68**, 86.
7. Perutz, M. F. (1983) Mol. Biol. Evol. **1**, 1-28.
8. McQuarrie D. A. (1976) "Statistical Mechanics", Harper & Row
9. IMAI K. and Yonetani E. (1981) Methods Enzymol. **76**, 470-486.