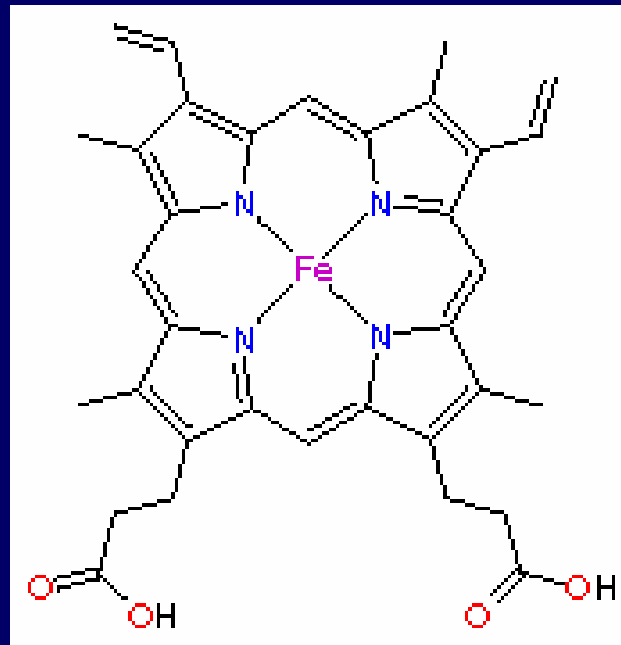


Hablemos  
de  
hemos

# Metabolismo de porfirinas y hemos

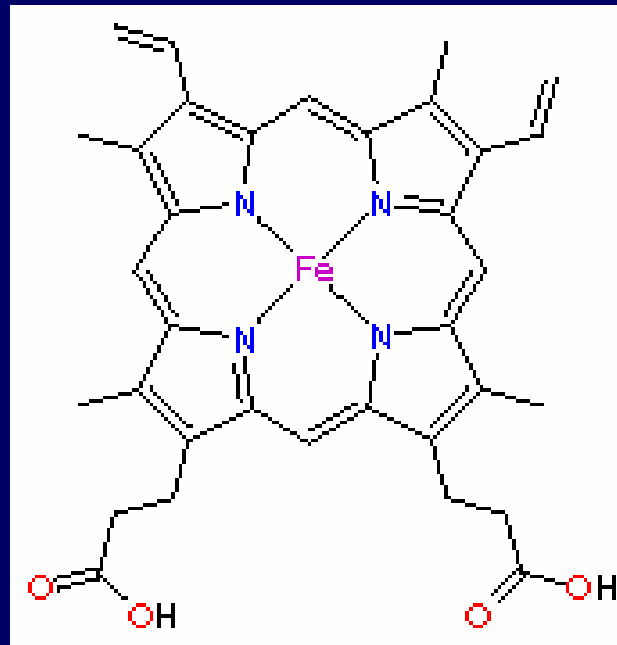


# Grupo hemo

Ion de hierro con una porfirina sustituida como ligando.

Grupo prostético de la hemoglobina, de los citocromos redox y de las enzimas con citocromo P450.

Ej: Hemo b



# Funciones de las hemoproteínas

**Catálisis** (peroxidasas, monooxigenasas)

**Transporte de electrones** (citocromos)

**Transporte de oxígeno** (hemoglobina)

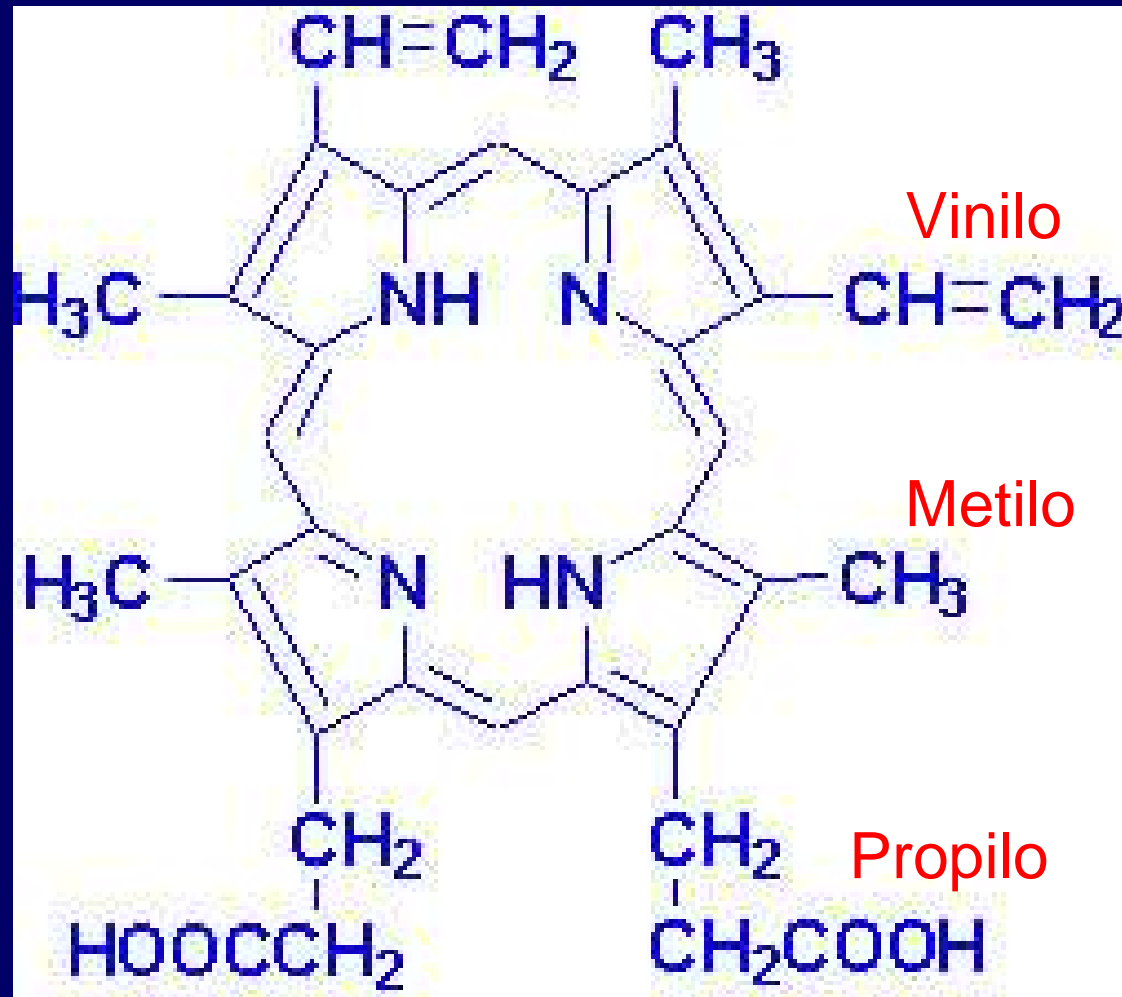
## **Sensores**

CooA, sensor de CO en *Rhodospirillum rubrum*

Fix L, sensor de oxígeno en *Rhizobium*

Guanilato ciclasa, sensor de  $\cdot\text{NO}$

**Las hemoproteínas consiguen su sorprendente diversidad funcional modificando el entorno del hemo en la matriz proteica.**



## Protoporfirina IX

Su nombre proviene de la palabra griega para "púrpura".

Porfirinas:  
compuestos  
cíclicos formados  
por cuatro anillos  
pirrólicos unidos  
por puentes  
metenilo.  
Buenos ligandos de  
iones metálicos,  
resonancia.

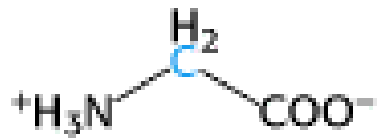
Orden de los  
sustituyentes:  
MVMVMPPM

# Síntesis de hemo

# Síntesis de hemo

Las reacciones iniciales en la síntesis de hemo son comunes a la síntesis de otros tetrapirroles como la clorofila en plantas y la coenzima B12 en bacterias

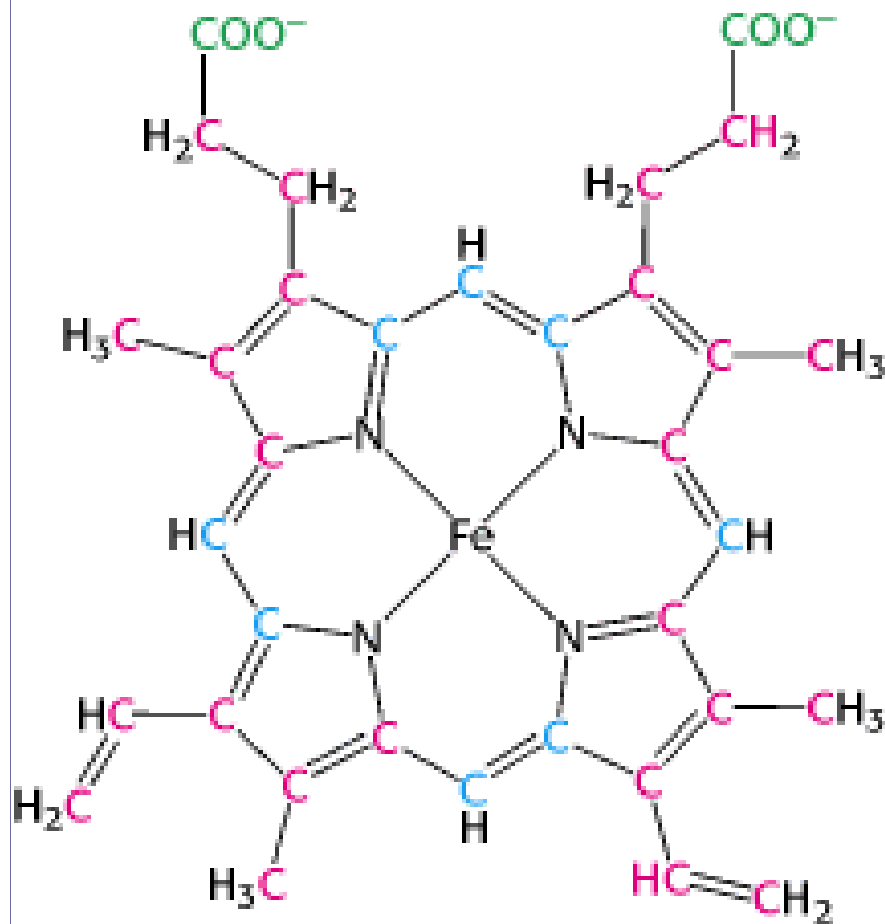
En el hombre, la síntesis de hemo ocurre en todos los tejidos, sobretudo en la médula ósea (hemoglobina) y en el hígado (citocromos P450)



Glycine



Acetate

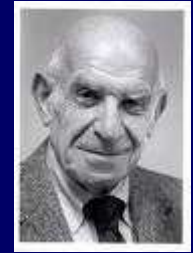


Heme

En 1974, Shemin y Rittenberg demostraron que los nitrógenos del hemo derivan de la glicina, y que los carbonos derivan de glicina y acetato (con succinil-CoA como precursor inmediato)



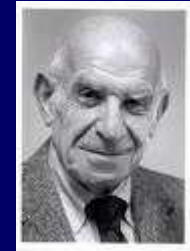
## Myself as a Guinea Pig



“... in 1944, I undertook, together with David Rittenberg, an investigation on the turnover of blood proteins of man. To this end I synthesized 66 g of glycine labeled with 35 percent  $^{15}\text{N}$  at a cost of \$1000 for the  $^{15}\text{N}$ . On 12 February 1945, I started the ingestion of the labeled glycine. Since we did not know the effect of relatively large doses of the stable isotope of nitrogen and since we believed that the maximum incorporation into the proteins could be achieved by the administration of glycine in some continual manner, I ingested 1 g samples of glycine at hourly intervals for the next 66 hours. . . . At stated intervals, blood was withdrawn and after proper preparation the  $^{15}\text{N}$  concentrations of different blood proteins were determined.”

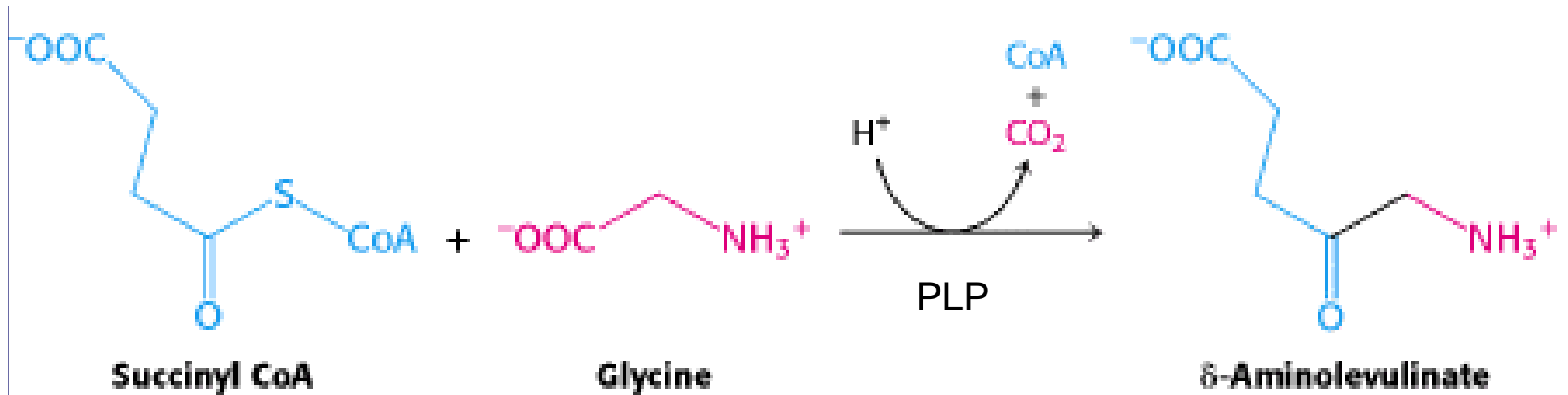
David Shemin

Yo, conejillo de indias



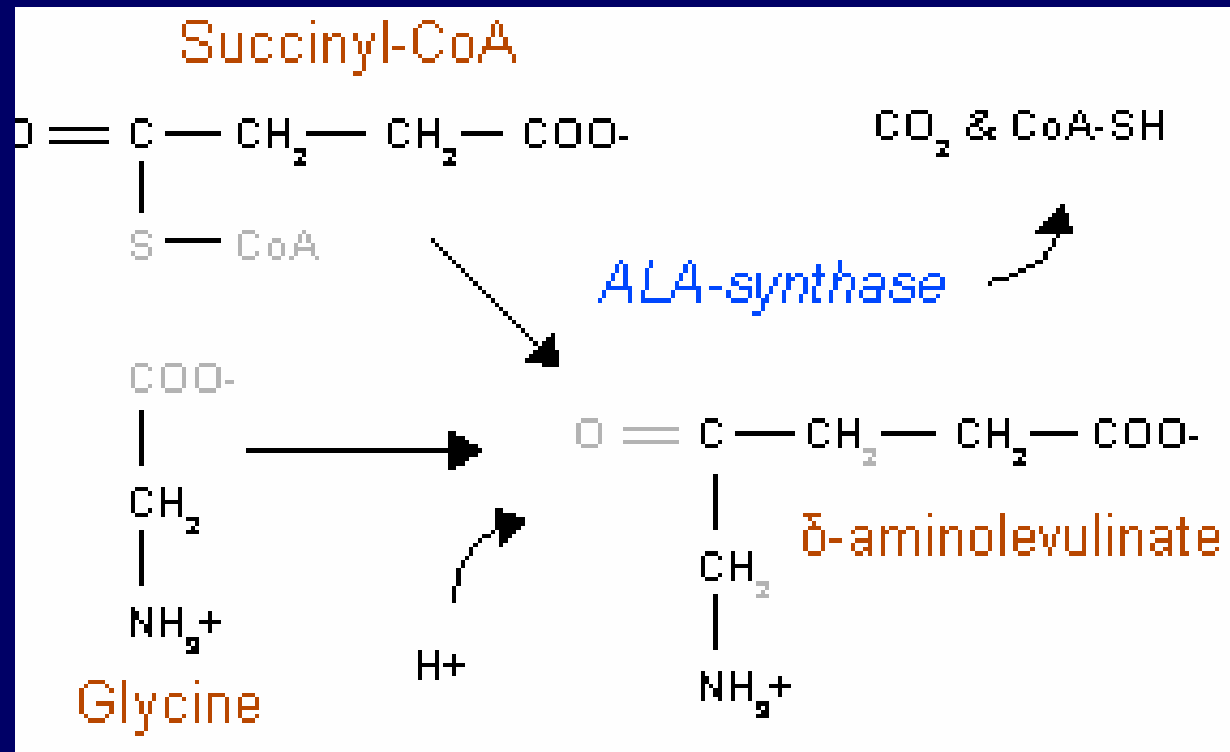
“...en 1944 comencé, junto con David Rittenberg, una investigación acerca del recambio de proteínas en la sangre de la especie humana. Con este fin, sintetiqué 66 g de glicina marcada con 35 % de  $^{15}\text{N}$  a un costo de \$ 1000 pr el  $^{15}\text{N}$ . El 12 de febrero de 1945, comencé a ingerir la glicina marcada. Como no sabíamos el efecto de dosis relativamente grandes del isótopo estable de nitrógeno, y como creíamos que la máxima incorporación en las proteínas se alcanzaría con la administración de glicina en forma continua, comencé a ingerir muestras de 1 g de glicina a intervalos de una hora durante 66 horas....A intervalos establecidos, sacábamos sangre y, luego de preparar las muestras, se medía la concentración de  $^{15}\text{N}$  en diferentes proteínas sanguíneas.”

David Shemin

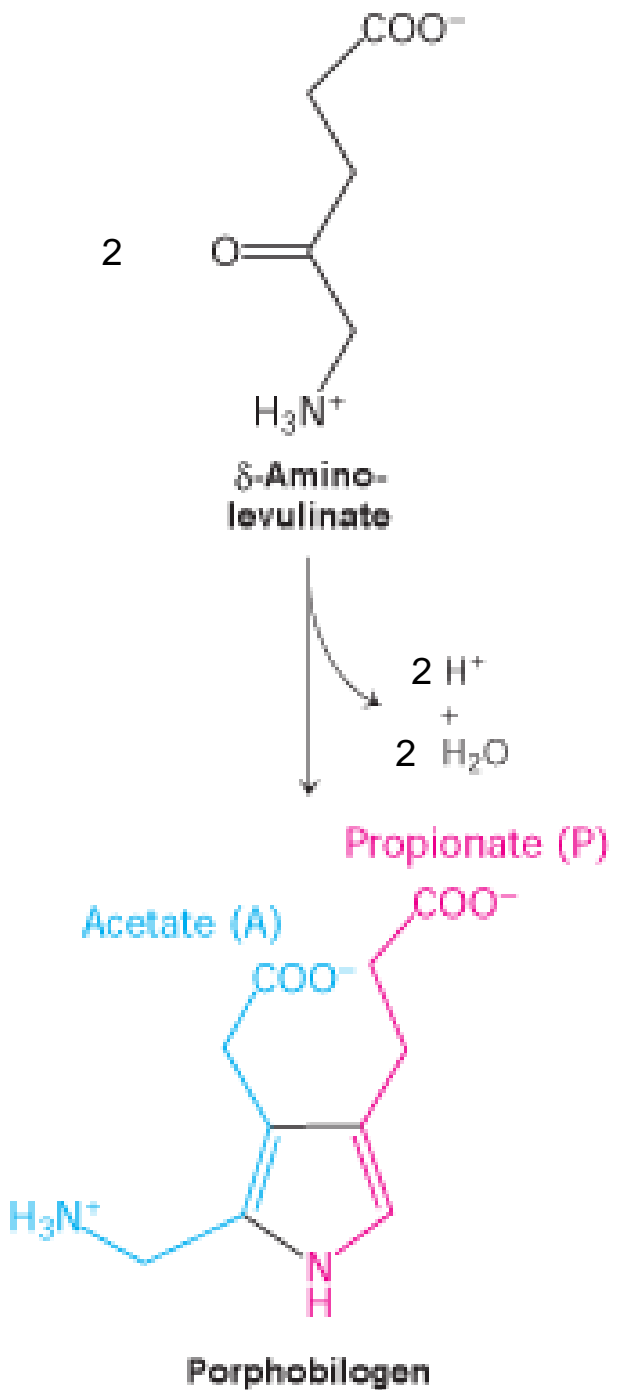


## Síntesis de $\delta$ -aminolevulinato (ALA)

- ✎ primera reacción de la síntesis de hemo
- ✎ paso determinante y limitante de la velocidad
- ✎ sitio más regulado
- ✎  $\delta$ -aminolevulinato sintasa (ALA sintasa)
- ✎ PLP (deficiencias en B6 están asociadas a anemia)
- ✎ mitocondria
- ✎ el ALA ( $\delta$ -aminolevulinato) se transporta al citosol



## Síntesis de $\delta$ -aminolevulinato (ALA)

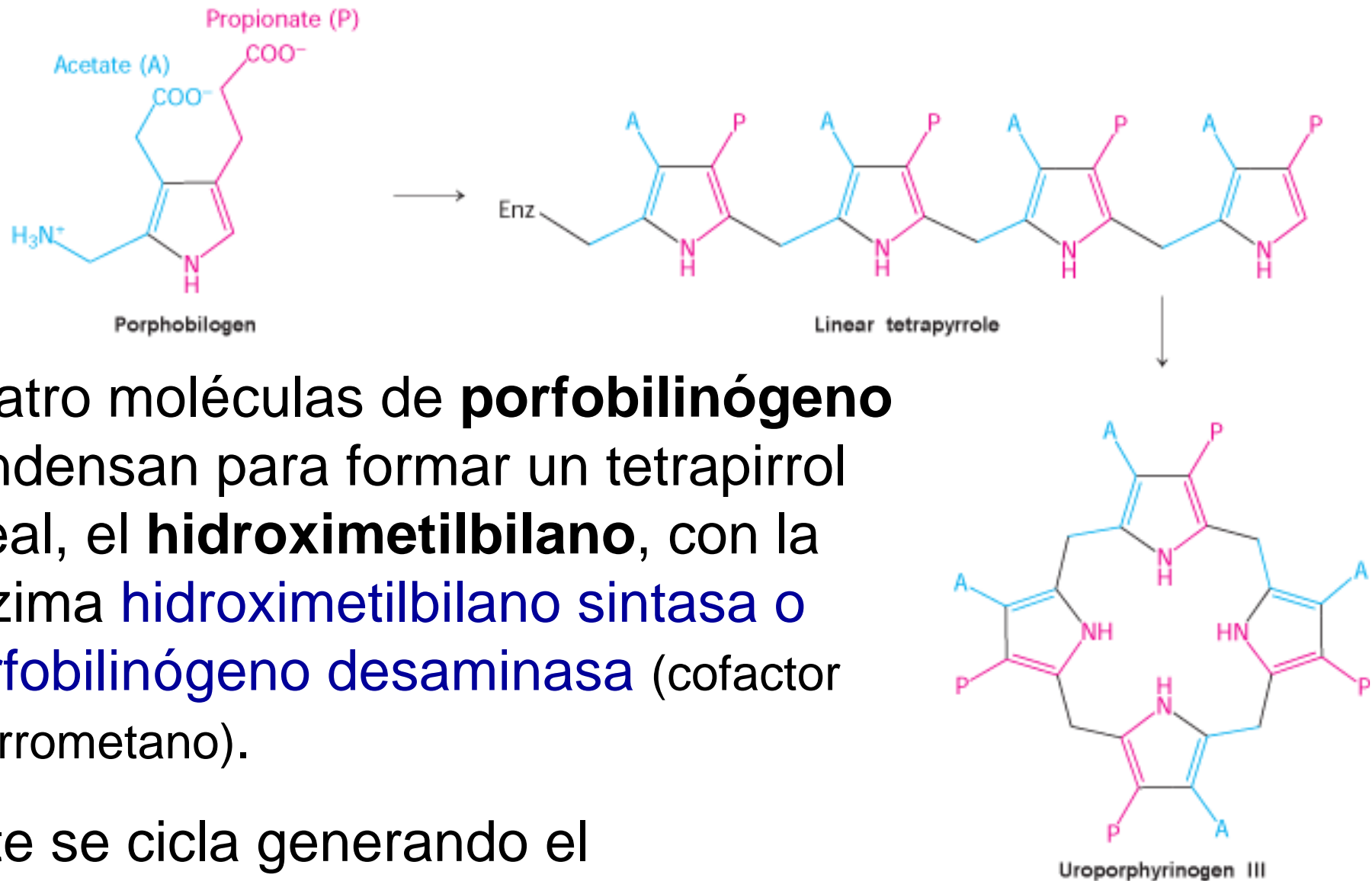


✎ 2 moléculas de ALA condensan para formar el porfobilinógeno

✎ la enzima se denomina **porfobilinógeno sintasa o  $\delta$ -aminolevulinato deshidratasa**

✎ la enzima contiene zinc(II) y es inhibible por plomo

✎ en casos de intoxicación por plomo, se acumula ALA, el cual tiene similitud estructural con el neurotransmisor GABA y podría mediar algunos efectos neurológicos de la intoxicación por plomo.

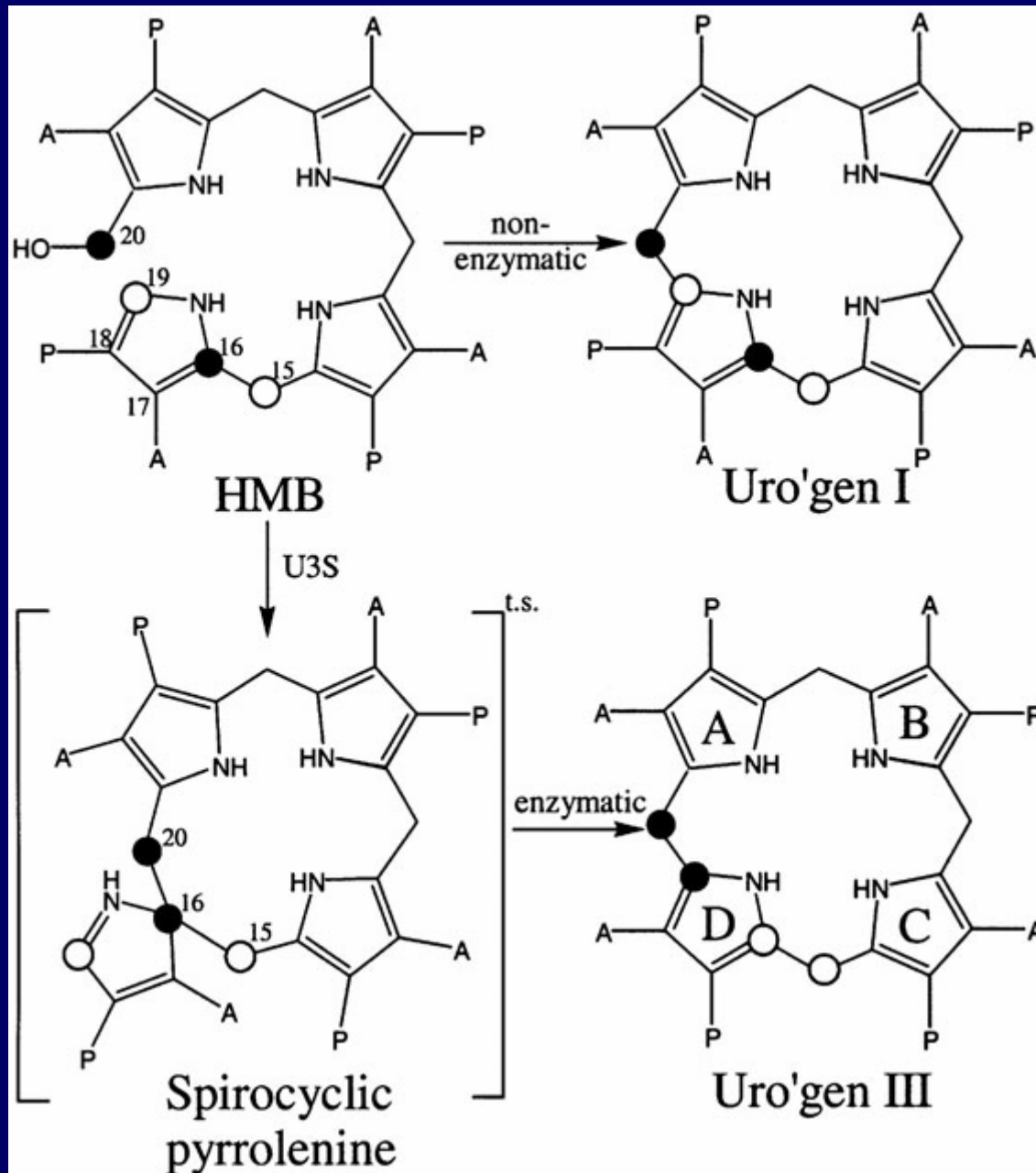


Cuatro moléculas de **porfobilinógeno** condensan para formar un tetrapirrol lineal, el **hidroximetilbilano**, con la enzima **hidroximetilbilano sintasa** o **porfobilinógeno desaminasa** (cofactor dipirrometano).

Éste se cicla generando el **uroporfirinógeno III**, con la **uroporfirinógeno III sintasa** (llamada también cosintasa).

La uroporfirinógeno III sintasa realiza la ciclación del tetrapirrol lineal hidroximetilbilano para formar uroporfirinógeno III, asimétrico. Ocurre a través de la formación de un intermediario spiro a nivel de la enzima, un compuesto bicíclico con un carbono común a ambos anillos.

En ausencia de uroporfirinógeno III sintasa, el hidroximetilbilano cicla espontáneamente formando uroporfirinógeno I, simétrico.



Conversión de hidroximetilbilano (HMB) a uroporfirinógeno I (no enzimático) y a uroporfirinógeno III (enzimático).

El tetrapirrol lineal se cicla con inversión de uno de los anillos para formar el producto asimétrico con la enzima uroporfirinógeno 3 sintasa (U3S, también llamada cosintasa). El intermediario spiro se propuso como un intermediario del ciclo catalítico.

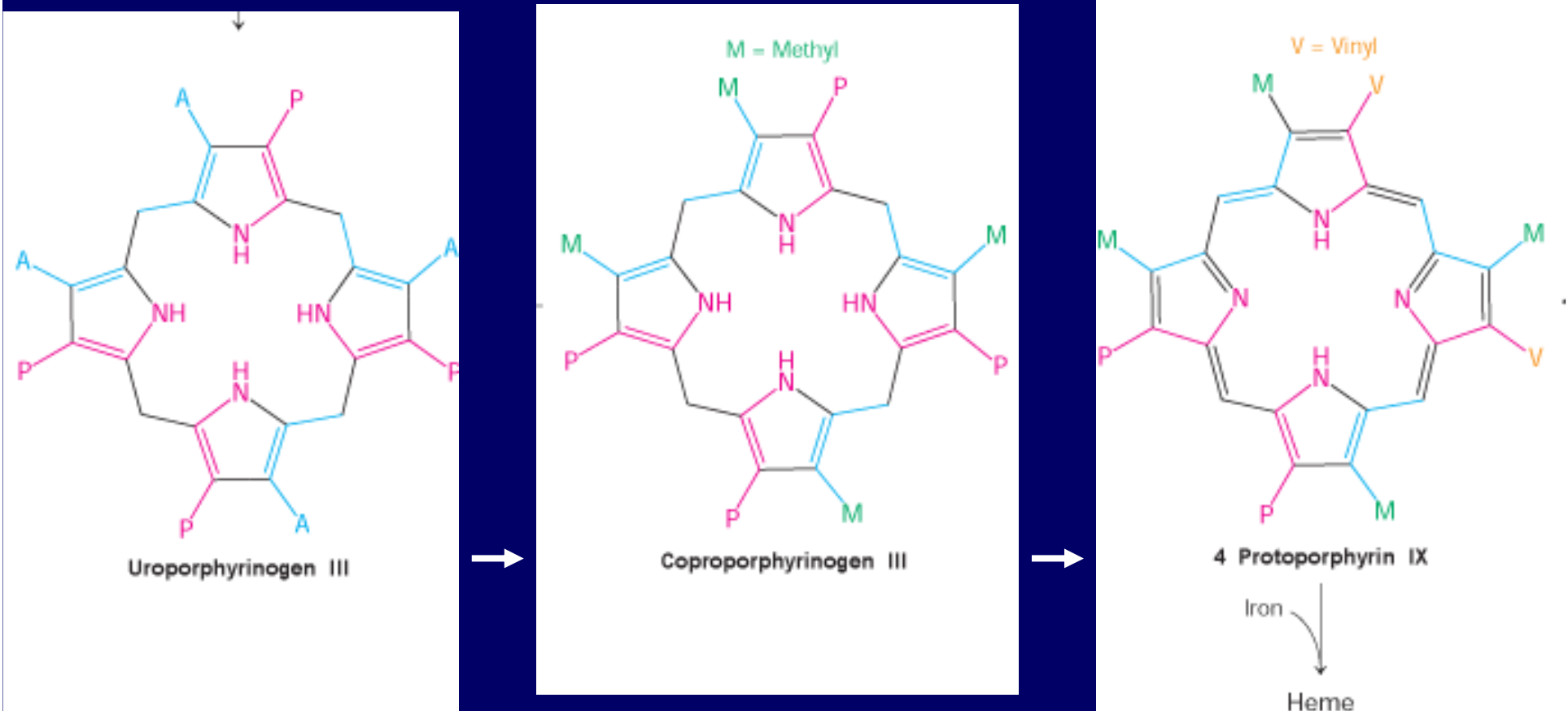


# El uroporfirinógeno III se convierte en protoporfirina IX

✎ descarboxilación de los acetilos a metilos (uroporfirinógeno descarboxilasa) **cit**osol

✎ descarboxilación oxidativa de dos propionatos de cadenas laterales a vinilos (coproporfirinógeno oxidasa) **mitocondria**

✎ oxidación de los metilenos que unen los diferentes pirroles a metenilos (protoporfirinógeno oxidasa) **mitocondria**



Los porfirinógenos son incoloros, presentan resonancia dentro de los anillos pirrólicos pero no entre ellos.

Son inestables, pueden oxidarse espontáneamente a porfirinas estables en presencia de luz.

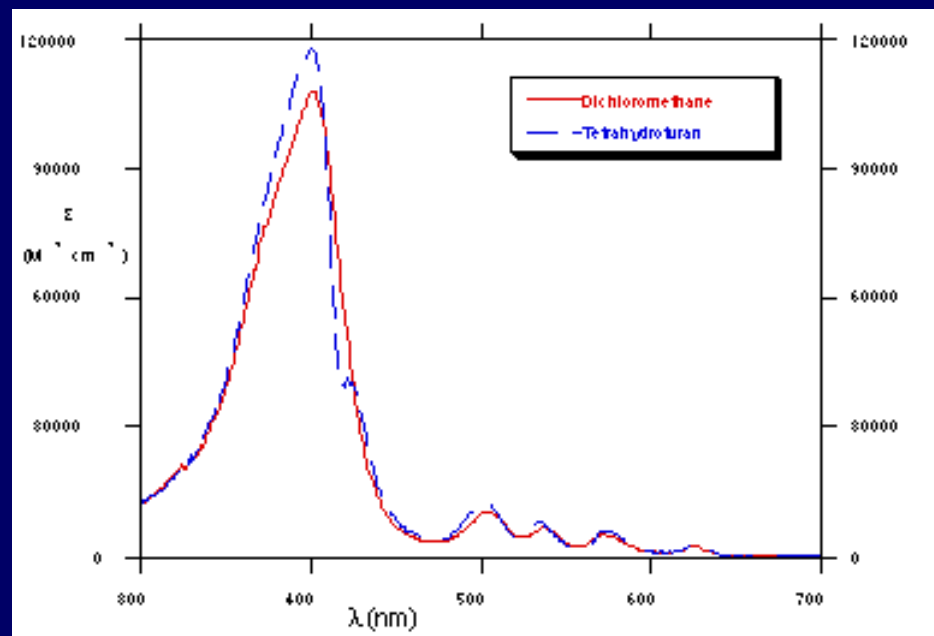
La única oxidación regulada enzimáticamente es la que cataliza la protoporfirinógeno IX oxidasa para formar la protoporfirina IX.

Las porfirinas son coloreadas, pueden absorber luz UV-visible. También son fluorescentes.

La absorción de la luz por las porfirinas lleva a la formación de especies reactivas del oxígeno por mecanismos fotoquímicos.






Esto puede tener utilidad en terapia fotodinámica.

Ground state absorption spectra 3, 8-bis-(aminoethyl)deutero porphyrin dimethyl ester ammonia derivative



Espectro de absorción UV-Vis de una porfirina

# Inserción de hierro en la protoporfirina IX

-  enzima ferroquelatasa
-  hierro (II)
-  en ausencia de hierro se incorpora zinc (fluorescencia)
-  mitocondria
-  inhibible por plomo

# Toxicidad por plomo (saturnismo)

Antiguamente presente en cañerías de plomo, aditivo de vino, cosméticos, pinturas, gasolina, contaminante industrial, industria de baterías.

El plomo no cumple ningún rol fisiológico. Es tóxico porque interfiere con metales divalentes importantes como calcio, hierro y zinc.

Síntomas: dificultades de aprendizaje, náuseas, cólicos abdominales, anemia.

Tanto la **ALA deshidratasa (PBG sintasa)** como la **ferroquelatasa** son inhibibles por plomo. Se ven aumentos en ALA y porfirina libre en orina. Anemia microcítica hipocrómica.

Nivel mínimo aceptado: 10  $\mu\text{g}/\text{dL}$ . Tratamiento con quelantes.

Intoxicados famosos: romanos, Beethoven, Goya, Handel.

La Teja, Montevideo, 2001. Primer caso, Matías, de 2 años y medio, tiene 47  $\mu\text{g}/\text{dL}$ . Se mide plomo en 284 niños y 224 de ellos superan el límite.

El País, 15-3-2001. Vecinos se someten a las pruebas para detectar plomo. "Yo vivo cerca de la zona peligrosa y mi niña aún gatea; está en contacto con la tierra y realmente tengo miedo que se contamine", confesó a El País una joven señora que hacía minutos había hecho examinar a sus dos hijos, en .....



# Periodic Table of the Elements

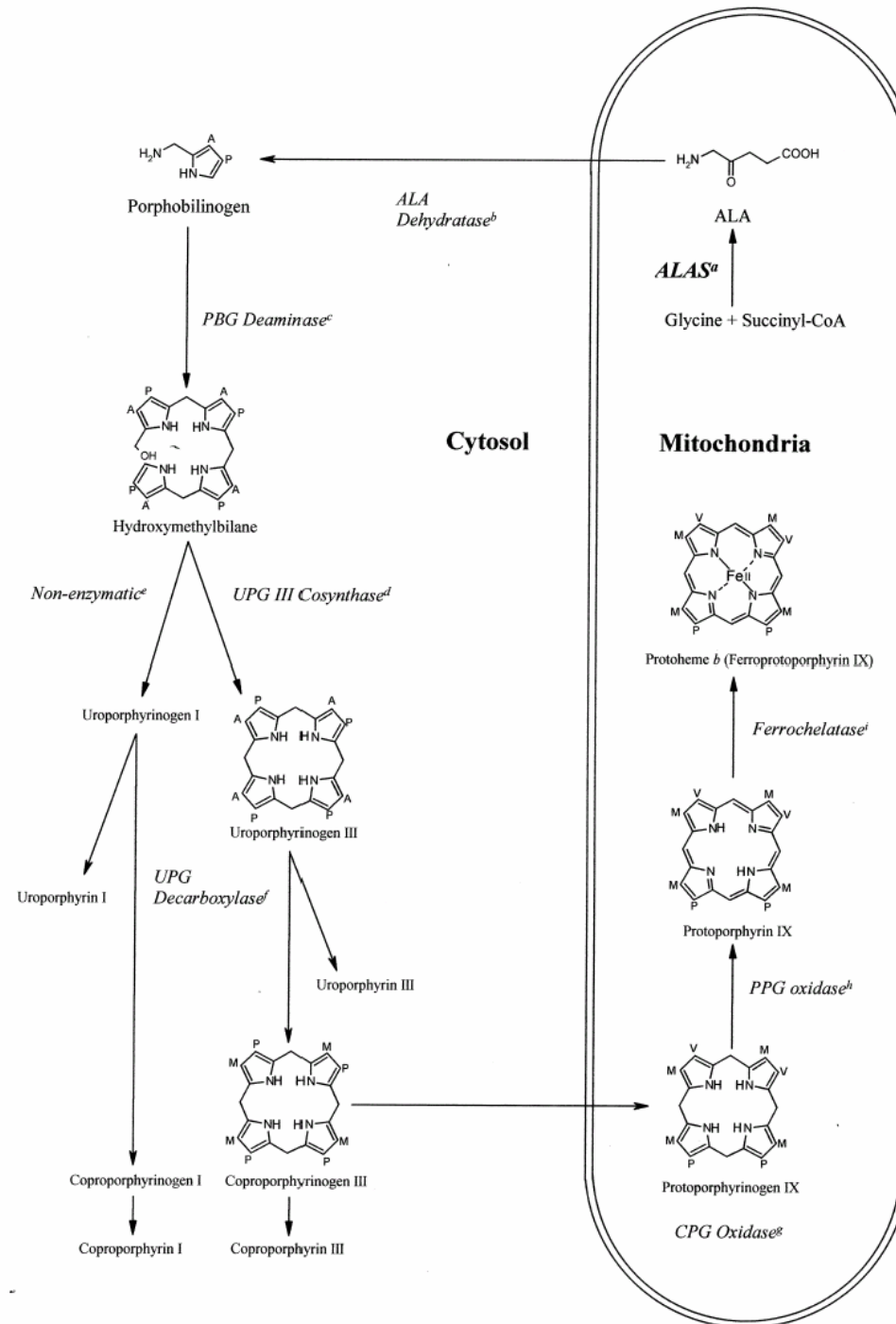
© www.elementsdatabase.com

1 H																	2 He
3 Li	4 Be											5 B	6 C	7 N	8 O	9 F	10 Ne
11 Na	12 Mg											13 Al	14 Si	15 P	16 S	17 Cl	18 Ar
19 K	20 Ca	21 Sc	22 Ti	23 V	24 Cr	25 Mn	26 Fe	27 Co	28 Ni	29 Cu	30 Zn	31 Ga	32 Ge	33 As	34 Se	35 Br	36 Kr
37 Rb	38 Sr	39 Y	40 Zr	41 Nb	42 Mo	43 Tc	44 Ru	45 Rh	46 Pd	47 Ag	48 Cd	49 In	50 Sn	51 Sb	52 Te	53 I	54 Xe
55 Cs	56 Ba	57 La	72 Hf	73 Ta	74 W	75 Re	76 Os	77 Ir	78 Pt	79 Au	80 Hg	81 Tl	82 Pb	83 Bi	84 Po	85 At	86 Rn
87 Fr	88 Ra	89 Ac	104 Unq	105 Unp	106 Unh	107 Uns	108 Uno	109 Une	110 Unn								

- hydrogen
- alkali metals
- alkali earth metals
- transition metals
- poor metals
- nonmetals
- noble gases
- rare earth metals

58 Ce	59 Pr	60 Nd	61 Pm	62 Sm	63 Eu	64 Gd	65 Tb	66 Dy	67 Ho	68 Er	69 Tm	70 Yb	71 Lu
90 Th	91 Pa	92 U	93 Np	94 Pu	95 Am	96 Cm	97 Bk	98 Cf	99 Es	100 Fm	101 Md	102 No	103 Lr




# Síntesis de hemo



# Regulación de la biosíntesis de hemo en hígado

**hemo: enzimas detoxificadoras con citocromo P450**

**ALA sintasa** inhibida por hemo ( $\text{Fe}^{2+}$ ) o hemina ( $\text{Fe}^{3+}$ ) mediante:

-  inhibición por retroalimentación negativa
-  represión de la síntesis de la ALA sintasa
-  inhibición del transporte de la proteína desde su sitio de síntesis (citosol) a la mitocondria

diferentes metabolitos y xenobióticos inducen la ALA sintasa

la glucosa inhibe la síntesis de hemo

la ALA deshidratasa también es inhibida por hemo, pero como esta enzima no es limitante, no afecta tanto



# Regulación de la biosíntesis de hemo en células eritroides de la médula ósea

## hemo: síntesis de hemoglobina

la síntesis proteica termina al madurar la célula y formarse el eritrocito

el hemo estimula la síntesis proteica (globina)

el hemo también estimula la síntesis de las enzimas de biosíntesis de hemo

el paso limitante de la velocidad no sería ALA sintasa, habrían varios puntos de control

se asegura que la síntesis de hemo y proteína se dé en proporciones equivalentes

# Porfirias

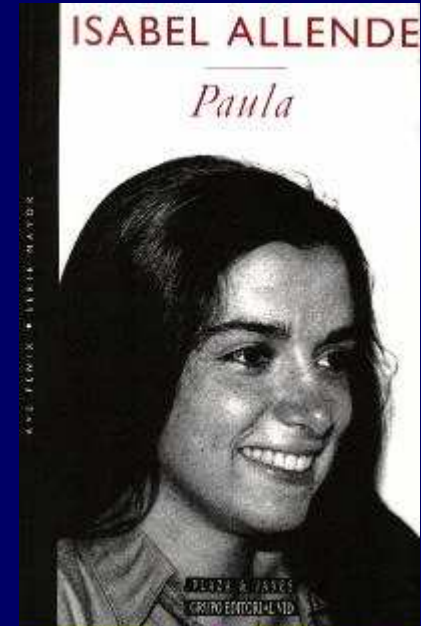
Desórdenes en enzimas de la biosíntesis de hemo.

Se acumulan porfirinas o precursores. Del griego *porphyra* = púrpura.

Pueden originarse de defectos hereditarios o adquiridos.

Excepto la ALA sintasa, todas las enzimas se han asociado a enfermedades.

Se clasifican en hepáticas o eritroides.



Porfiria	Defecto enzimático	Síntoma primario
<b>Clase eritropoiética</b>		
<u>Porfiria congénita eritropoiética</u>	Uroporfirinógeno III sintasa	Fotosensibilidad
Protoporfiria eritropoiética	Ferroquelatasa	Fotosensibilidad
<b>Clase hepática</b>		
Porfiria por deficiencia en ALA deshidratasa	Porfobilinógeno sintasa	Neurovisceral
<u>Porfiria aguda intermitente</u>	Hidroximetilbilano sintasa	Neurovisceral
Coproporfiria hereditaria	Coproporfirinógeno oxidase	Neurovisceral, cierta fotosensibilidad
Porfira variegada	Protoporfirinógeno oxidasa	Neurovisceral, cierta fotosensibilidad
Porfiria cutánea tarda	Uroporfirinógeno decarboxilasa	Fotosensibilidad
Porfiria hepatoeritropoiética	Uroporfirinógeno decarboxilasa	Neurovisceral y fotosensibilidad

# Porfiria congénita eritropoiética

deficiencia en uroporfirinógeno III sintasa

gravedad de enfermedad correlaciona con actividad remanente de la enzima

herencia recesiva

se acumula hidroximetilbilano y los isómeros no fisiológicos de uroporfirinógeno I y coproporfirinógeno I

la orina se vuelve roja

los dientes se colorean y fluorescen

anemia hemolítica

piel muy fotosensible

lesiones mutilantes en la piel

hipertrichosis

se trata con inyecciones de hemo



©2001 HowStuffWorks

# Porfiria aguda intermitente

hígado

herencia dominante

deficiencias en porfobilinógeno desaminasa (hidroximetilbilano sintasa).

se acumula aminolevulinato (ALA) y porfobilinógeno

orina color rojo oscuro

dolor abdominal

disfunción neurológica

se trata inhibiendo la síntesis de ALA (se administra glucosa y hemina, se evitan fármacos inductores de ALA sintasa como barbitúricos)

# George III de Inglaterra

(1760-1820)

perdió las colonias  
americanas

se volvió loco



# Catabolismo del hemo



El hemo está mayoritariamente (85%) en los eritrocitos, cuya vida media es de 120 días.

La hemoglobina tiene un recambio de 6 g/día!

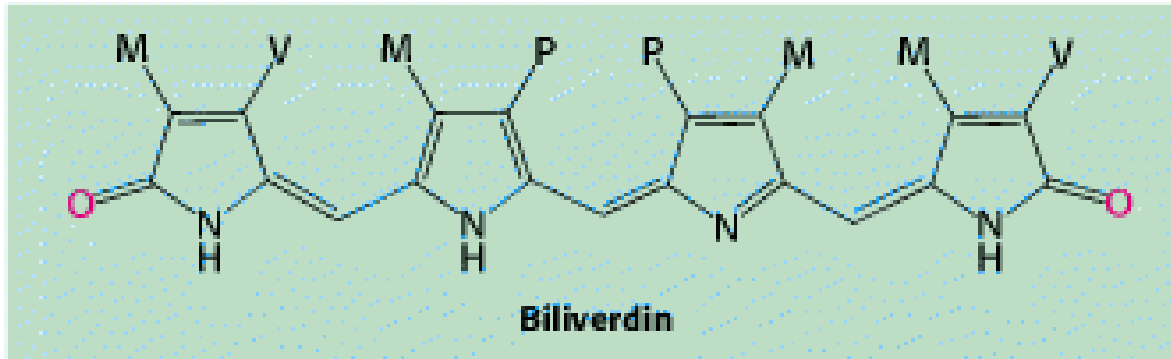
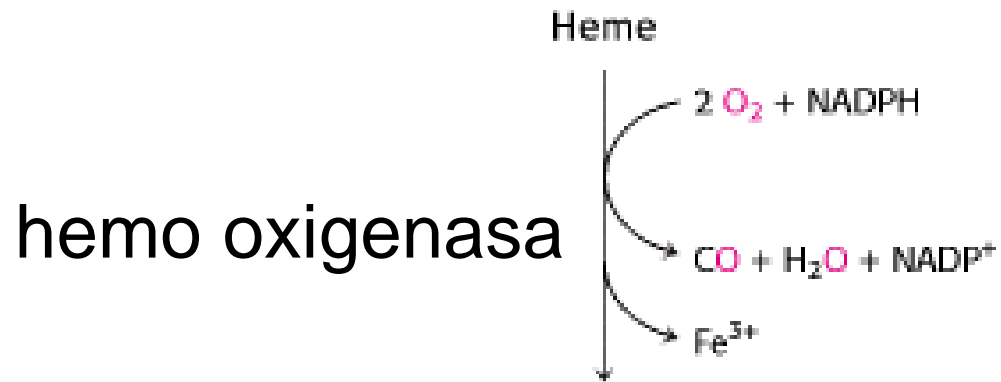
2 cuestiones:

- 1) el anillo porfirínico es insoluble y debe ser solubilizado para ser excretado
- 2) el hierro debe ser conservado para sintetizar nuevamente hemos

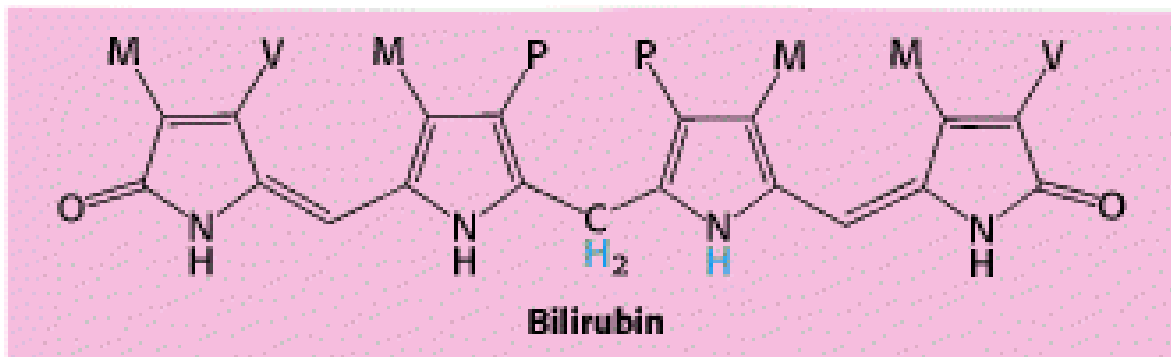
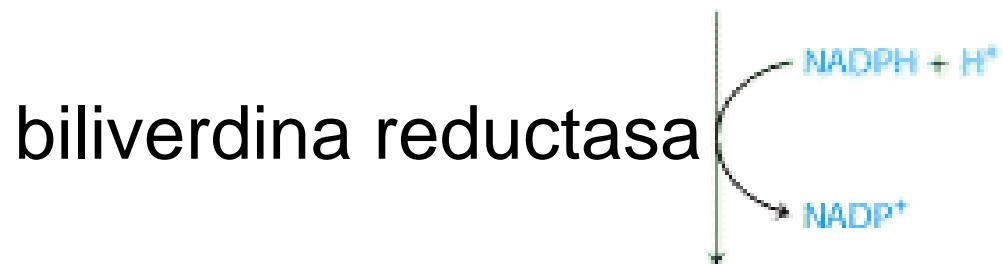
Los eritrocitos senescentes son captados por células del sistema reticuloendotelial, fundamentalmente macrófagos del bazo.

La globina se recicla o se degrada a aminoácidos.

El hemo es oxidado por la enzima del retículo endoplásmico **hemo oxigenasa**.



biliverdina



bilirrubina



El catabolismo de hemo a biliverdina y bilirrubina se refleja en los colores cambiantes de los moretones, de púrpura, a verde, a amarillo.

# Hemo oxigenasa

La enzima utiliza oxígeno y NADPH. Forma el tetrapirrol lineal **biliverdina**, liberando  $\text{Fe}^{3+}$  y **monóxido de carbono (CO)**.

La hemo oxigenasa utiliza al hemo como sustrato y como cofactor, para activar al  $\text{O}_2$ .

Un puente metenilo entre dos anillos pirrólicos B se libera como CO.

El CO es un fuerte ligando de hemo! 1% de la Hb tiene CO como ligando. El CO es un nuevo mensajero celular.

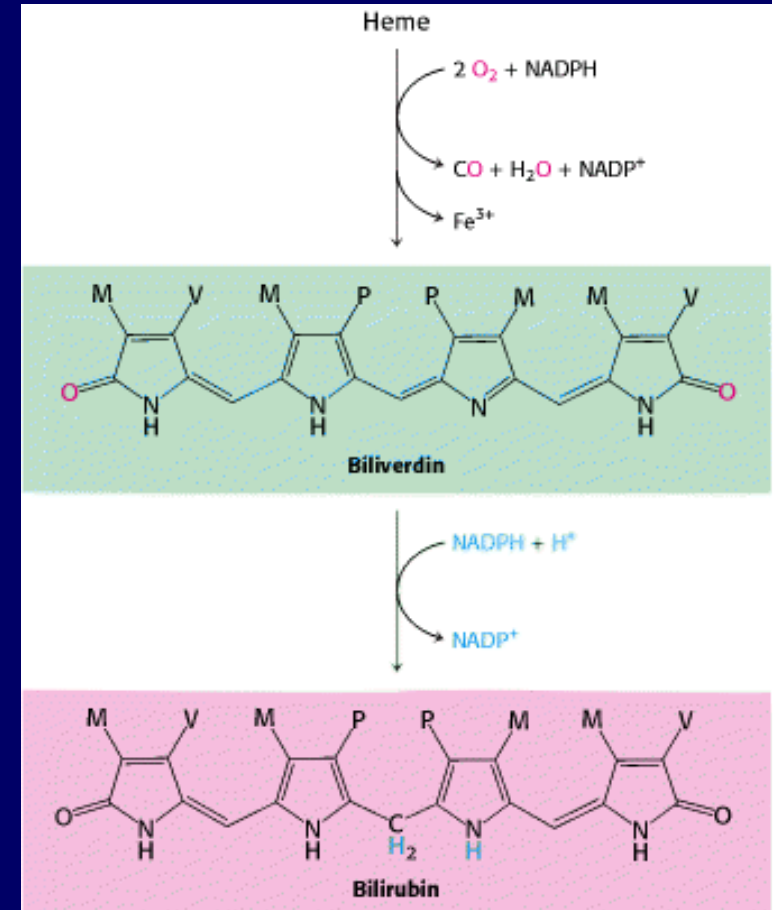
Hay dos variantes: la hemo oxigenasa 1 (inducible por diferentes "estresores") y la 2 (constitutiva).

La biliverdina se transforma en bilirrubina con la **biliverdina reductasa**.

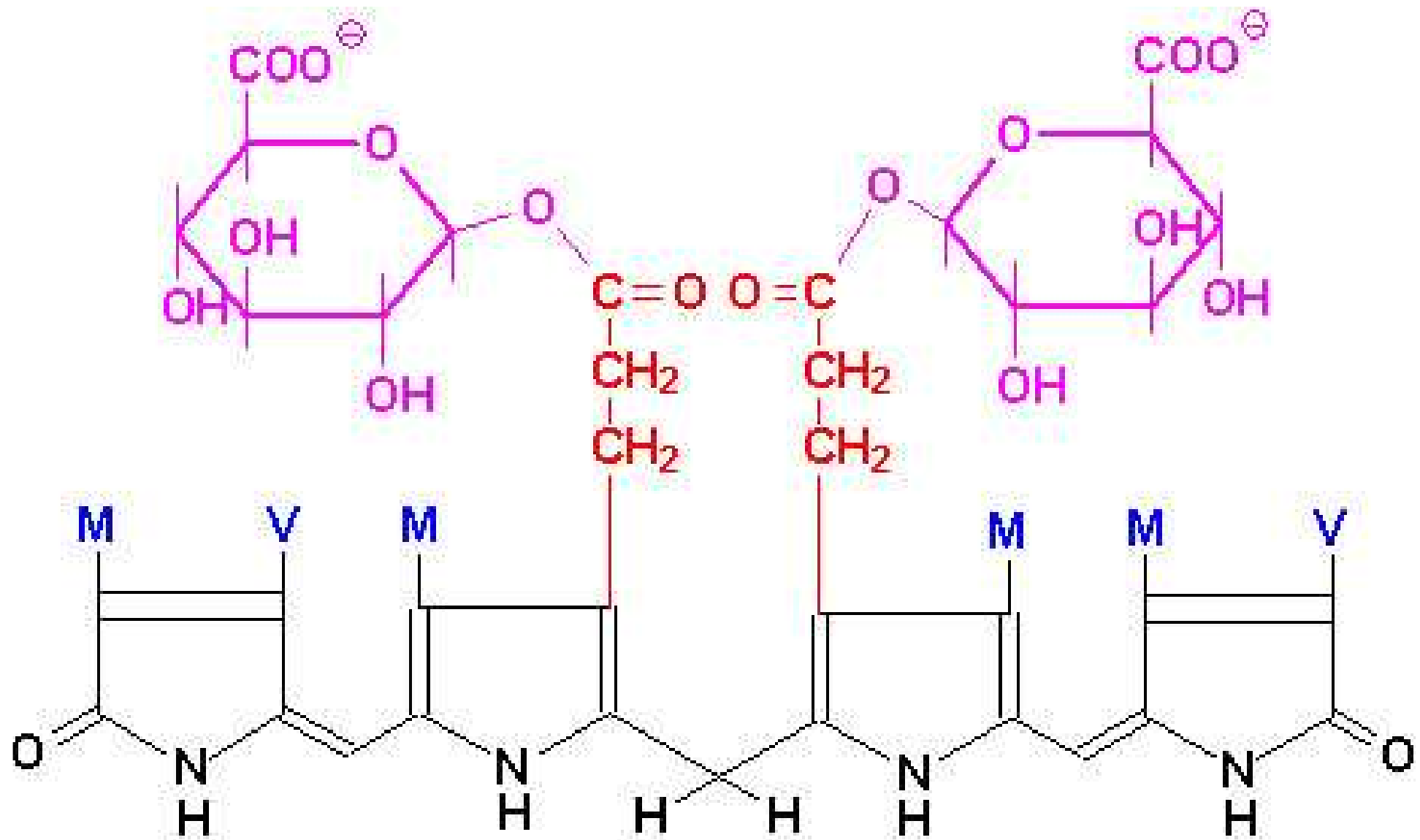
La bilirrubina es insoluble, se traslada al hígado unida a la albúmina.

En el hígado, las cadenas laterales propionilo de la bilirrubina se **conjugan** con dos equivalentes de ácido glucurónico con la enzima UDP glucuronil transferasa.

Esto la vuelve soluble y facilita su excreción con la bilis.



↓  
conjugación



bilirrubina diglucurónido

De la bilis, pasa al intestino. Allí, las bacterias hidrolizan los glucurónicos y forman varios productos, como los urobilinógenos y las urobilinas.

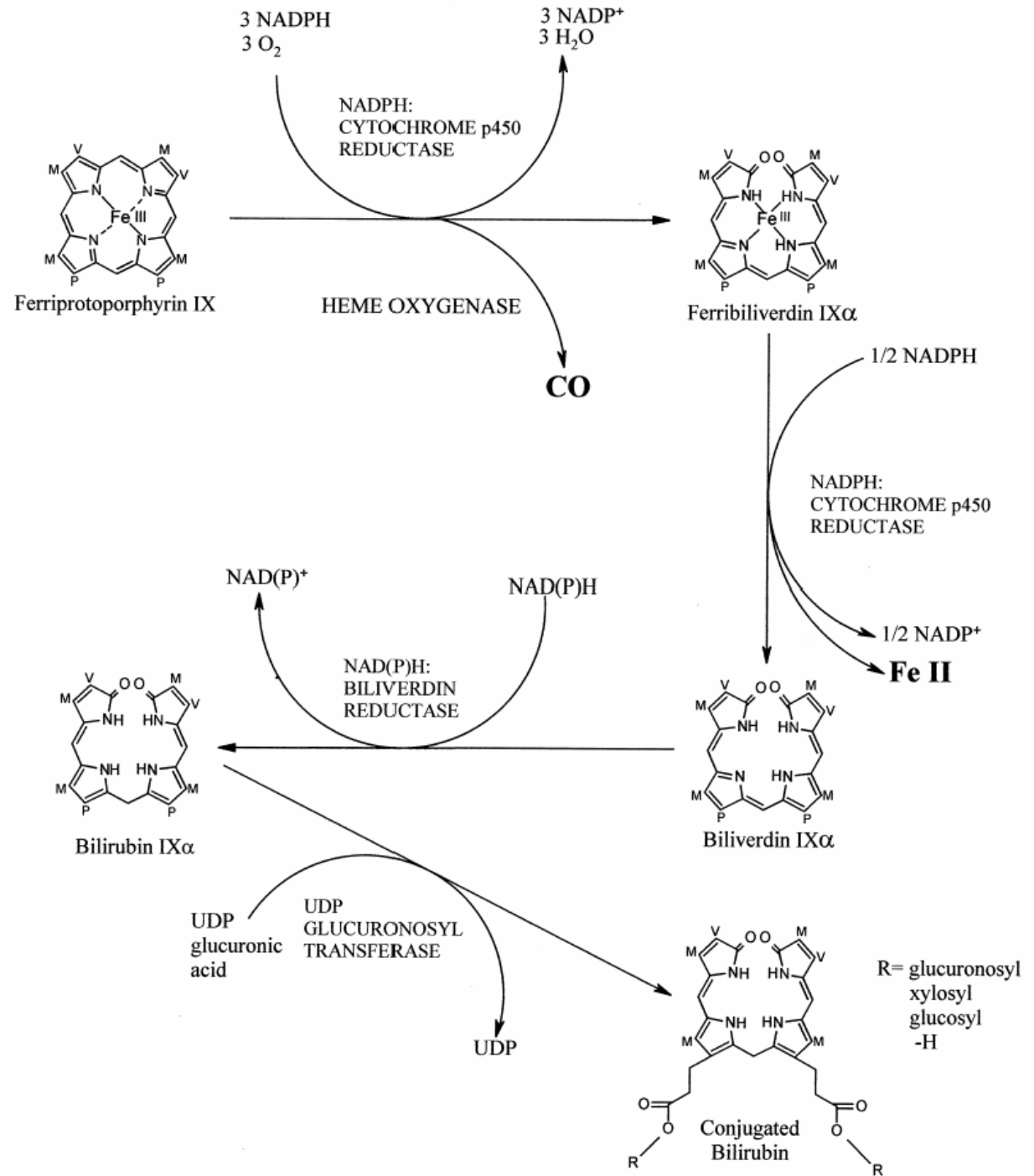
Una parte de los urobilinógenos se reabsorben y se eliminan por la orina, dando a ésta su color.

La mayor parte del urobilinógeno se convierte en estercobilina, que se elimina con las heces y confiere el color característico.

La bilirrubina y sus catabolitos se denominan **pigmentos biliares**. (OJO no son sales ni ácidos biliares).



# Degradación de hemo



## ¡Me sube la bilirrubina!

En individuos en los que está aumentada la lisis de los eritrocitos, o existe daño hepático, o hay obstrucción del ducto biliar, la bilirrubina se acumula en la circulación. Esta **hiperbilirrubinemia** causa la pigmentación anormal denominada **ictericia**.

Si la bilirrubina sin conjugar aumenta mucho, puede acumularse en las membranas, llevando a encefalopatía por bilirrubina, o “quernícterus”.

Los recién nacidos son particularmente susceptibles. Se puede tratar con luz azul, que favorece la degradación.

Existen desórdenes hereditarios en los que puede predominar la acumulación de bilirrubina conjugada o no conjugada, según a qué nivel se dé la alteración.

Y el hierro?

¿De dónde sale el hierro?

El hierro se obtiene de la dieta. Dosis recomendada: hombres 10 mg, mujeres 15 mg.

El hierro presente en la carne (hemo) se absorbe fácilmente, no así el hierro no hémico de los vegetales, pues éstos tienen compuestos que lo quelan o precipitan como fitatos u oxalatos.

La absorción de hierro es promovida por la vitamina c.

El hierro se absorbe a nivel intestinal como hierro (II).

Se transporta por la sangre como hierro (III) con la transferrina.

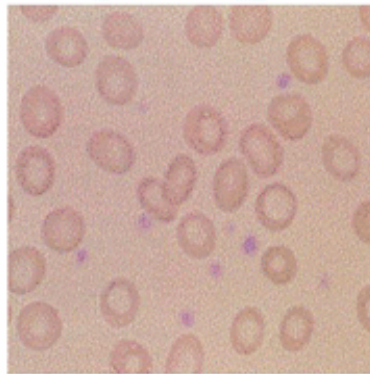
Se almacena en las células como hierro (III) en la ferritina.

Ingresa a las células que lo necesitan por endocitosis mediada por receptor.

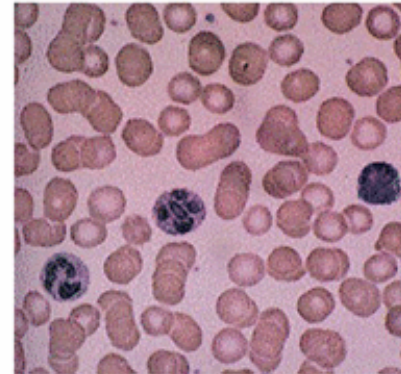
El hierro es un nutriente esencial, necesario para la síntesis de varias proteínas.

Su deficiencia es una de las más comunes deficiencias nutricionales. Se manifiesta inicialmente como anemia. Los glóbulos rojos son pequeños y pálidos (anemia microcítica hipocrómica).

### Iron Deficiency Anemia



anemia






normal blood

Sin embargo, el exceso de hierro puede ser tóxico, debido a que, excepto que esté en el entorno adecuado, el hierro puede promover reacciones de radicales libres que dañan proteínas, lípidos y ácidos nucleicos.

Además, el ion férrico forma complejos insolubles con hidróxidos del agua.

El hierro no se excreta por las vías habituales, solo se elimina a través del sangrado y del recambio normal de tejidos que no son reutilizados, como la epidermis y la mucosa gastrointestinal.

Los organismos han desarrollado sistemas para:

-  acumular hierro cuando hay abundancia
-  almacenarlo en forma segura
-  transportarlo en forma segura

Proteínas clave:

**Transferrina:** proteína que transporta el hierro en el plasma

**Ferritina:** proteína de almacenamiento de hierro que se encuentra fundamentalmente en el hígado y el riñón



# Transferrina: transporte

glucoproteína sintetizada en el hígado

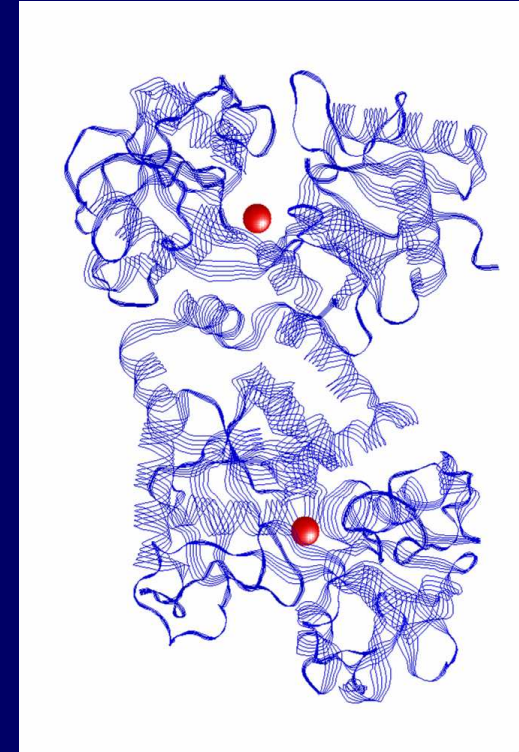
dos centros fijadores de hierro

mayor afinidad por ion férrico

$K_{\text{asociación}}: 10^{19}-10^{31} \text{ M}^{-1}$

no toda la transferrina está saturada,  
esto protege de las infecciones

la forma diférrica se une al receptor  
de transferrina en las membranas  
celulares

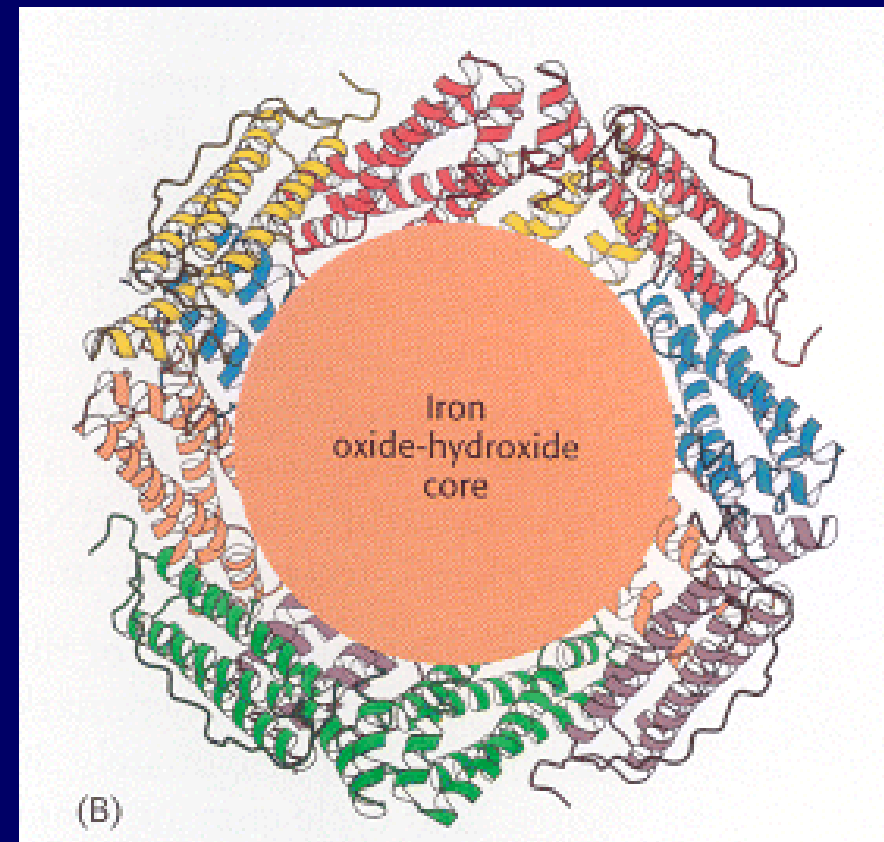


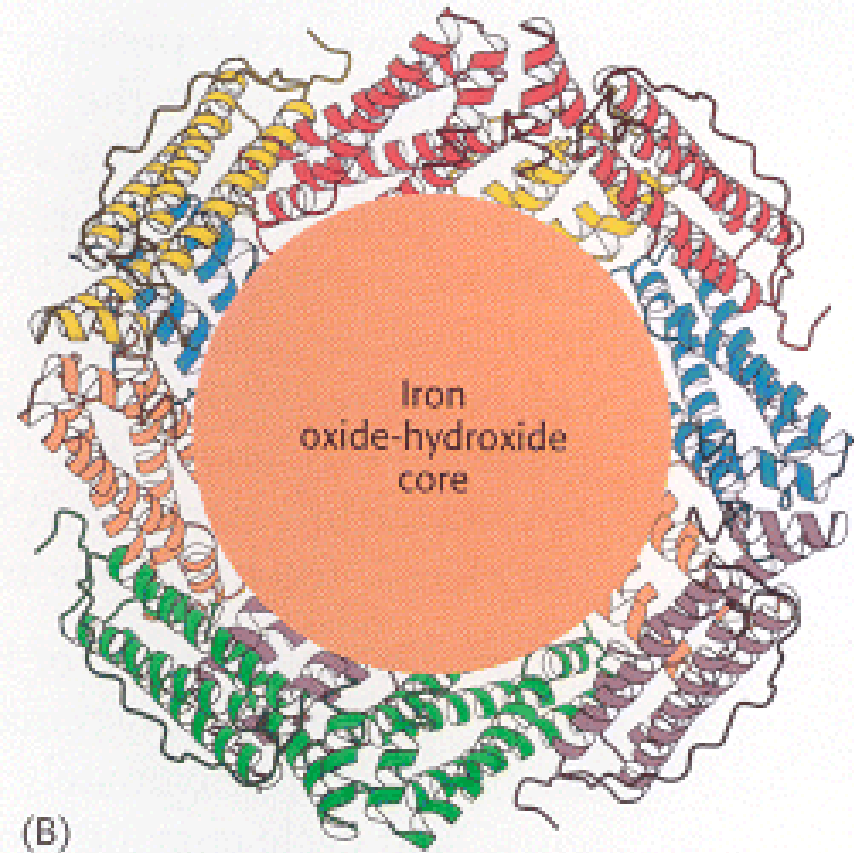
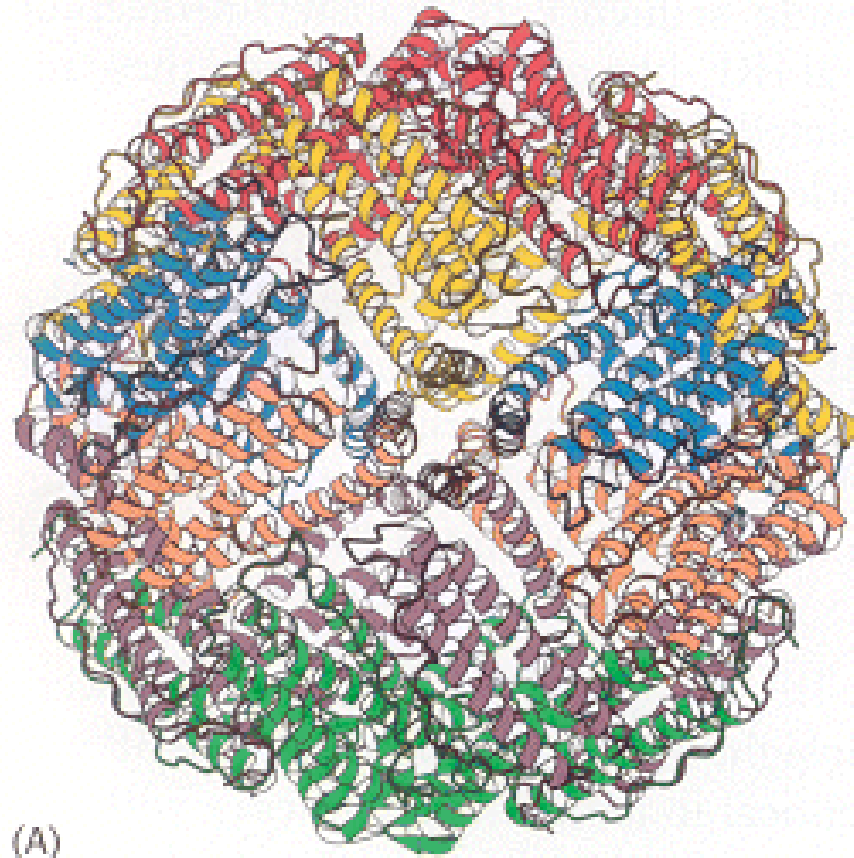
## Ferritina: almacenamiento

las cadenas polipeptídicas se encuentran en el exterior  
núcleo central de hidróxido férrico-fosfato  
puede almacenar hasta 4500 átomos de hierro

### Estructura de la ferritina

(A) 22 polipéptidos de ferritina forman una capa esférica. (B) En el centro se almacena el hierro como complejo óxido-hidróxido





**Estructura de la ferritina** \_ (A) 22 polipéptidos de ferritina forman una capa esférica. (B) En el centro se almacena el hierro como complejo óxido-hidróxido

## Regulación de la utilización de hierro

¿Cómo hacemos un sensor de hierro?

IRP: proteínas de respuesta a hierro

citoplasma

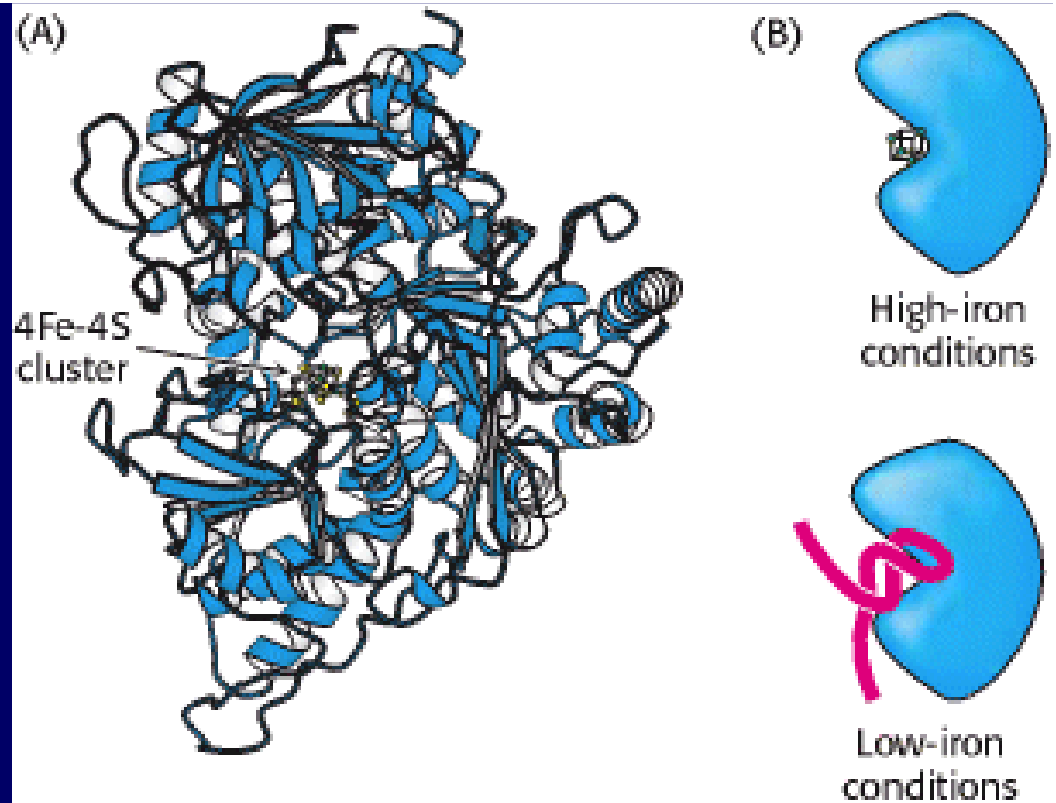
se unen a estructuras del mRNA denominadas

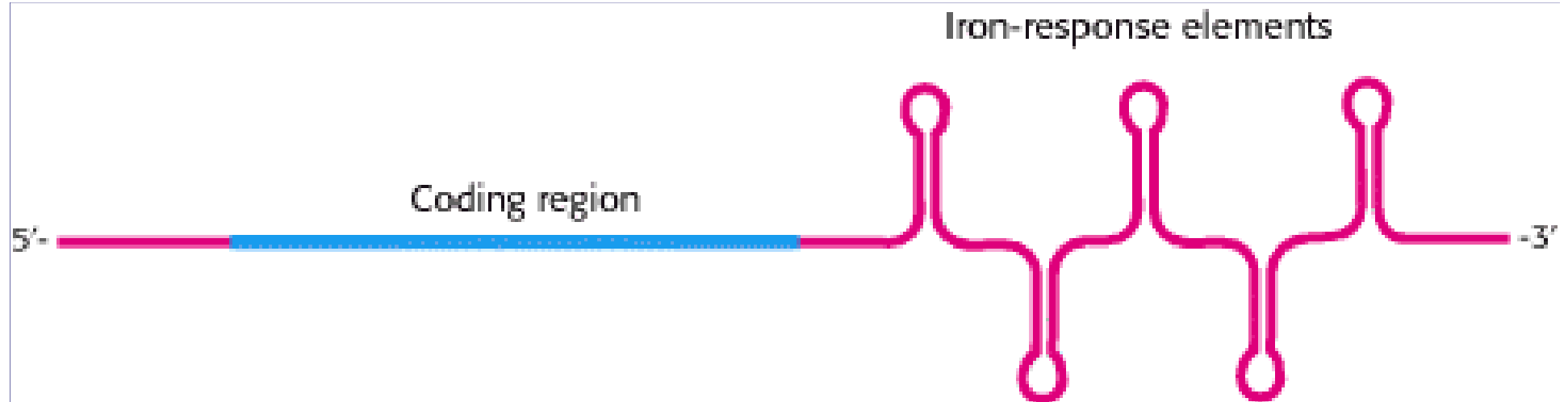
IRE (elementos de respuesta a hierro)

la proteína IRP-1  
tiene un centro  
ferrosulfurado, similar  
al de la aconitasa

IRP-1 tiene actividad  
aconitasa, pero no  
hay sustrato en el  
citosol

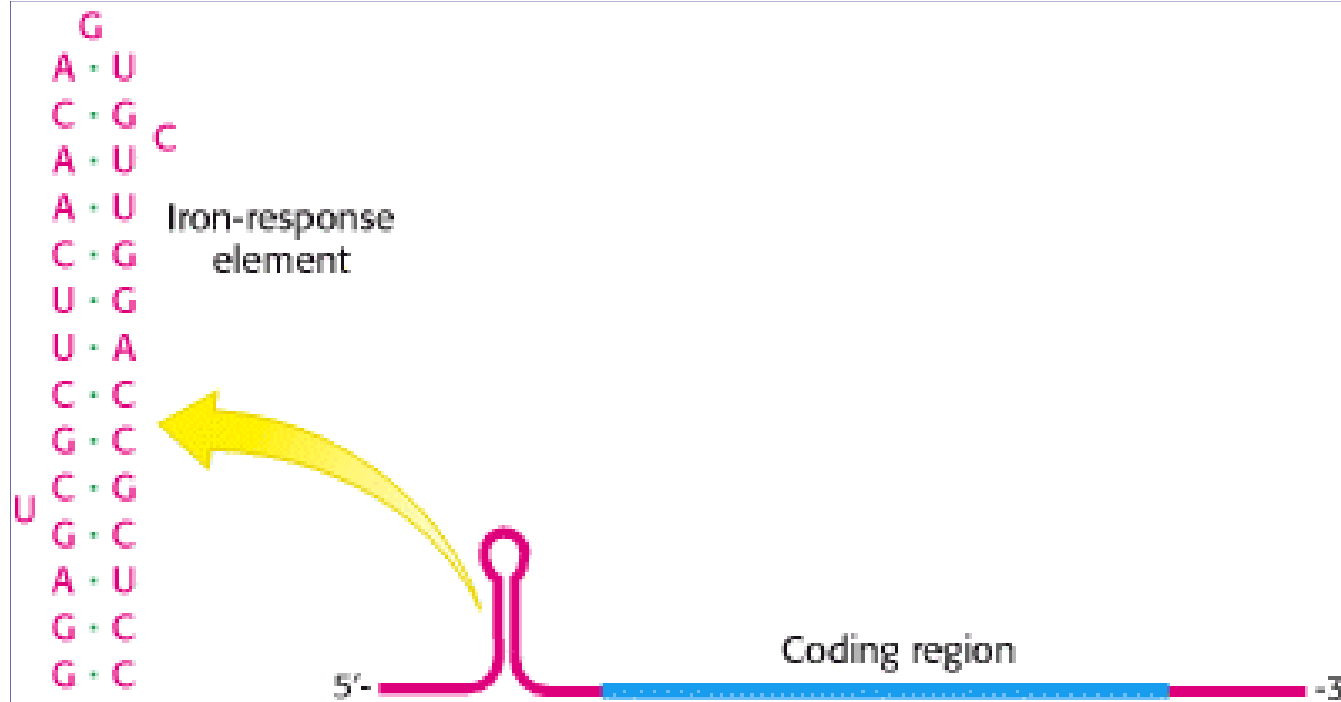
en condiciones de bajo hierro, el centro  
ferrosulfurado se disocia, y la apoproteína puede  
unirse a determinados mRNA





## mRNA de la transferrina (transporte)

El mRNA de la transferrina tiene 5 elementos de respuesta a hierro (IREs) en la zona 3'. La unión de la proteína IRP-1 en condiciones de bajo hierro, estabiliza el mensajero para que se sintetice más transferrina.



mRNA de la ferritina (almacenamiento)

El mRNA de la ferritina tiene un IRE (elemento de respuesta a hierro) en la zona 5' que se une a la proteína IRP-1 en condiciones de bajo hierro. Al unirse la proteína, la traducción se bloquea y se sintetiza menos ferritina.

## mRNAs que contiene IREs

proteína	IREs	bajo hierro
ferritina	5'	↓
ALA sintasa eritrocitaria	5'	↓
aconitasa mitocondrial	5'	↓
transferrina	3'	↑