

Fisiologia della Respirazione

8. Trasporto dei gas nel sangue

FGE aa.2016-17

Obiettivi

- Necessità di un sistema di trasporto “chimico” ad alta capacità dell' O_2 nel sangue: l' emoglobina
- Curva di dissociazione dell' ossiemoglobina
- Fattori allosterici che influenzano l' affinità per l' O_2
- Effetto Bohr
- Trasporto della CO_2 : aspetti quantitativi e curva di dissociazione della CO_2
- Effetto Haldane
- Diagramma $O_2 - CO_2$

Trasporto dell'O₂

- La quantità di ossigeno fisicamente disciolto nel sangue è insufficiente per soddisfare le richieste metaboliche dell'organismo (anche a riposo)

$$[O_2]_{\text{dis}} = k_{O_2} \cdot PO_2$$

$$k_{O_2} = 0.003 \text{ ml } O_2 \text{ per } 100\text{ml di sangue per mmHg}$$

$$\text{Sangue arterioso: } PO_2 = 100 \text{ mmHg}$$

$$[O_2] = \frac{0.003 \text{ ml } O_2}{100 \text{ ml sangue} \cdot \text{mm Hg}} \bullet 100 \text{ mmHg}$$

$$[O_2] = 0.3 \text{ ml } O_2 \text{ } 100 \text{ ml sangue}^{-1}$$

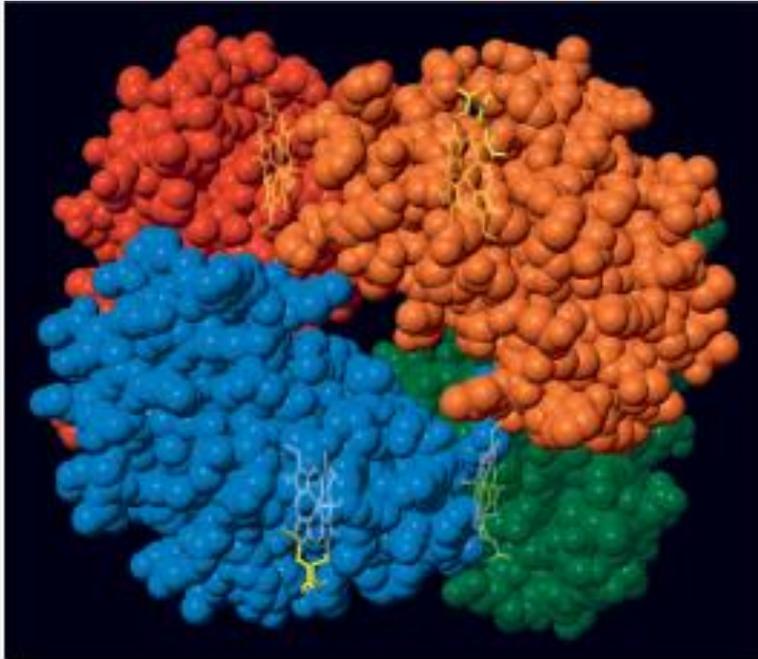
Trasporto dell'O₂ e V'O₂

$$\begin{aligned}\dot{Q}_{aO_2} &= 5000 \text{ ml min}^{-1} \bullet \frac{0.3 \text{ ml O}_2}{100 \text{ ml}} \\ &= 15 \text{ ml O}_2 \text{ min}^{-1}\end{aligned}$$

V'O₂ a riposo ~ 250 ml min⁻¹

L'organismo non può fare solo affidamento sull'ossigeno fisicamente disciolto

Emoglobina

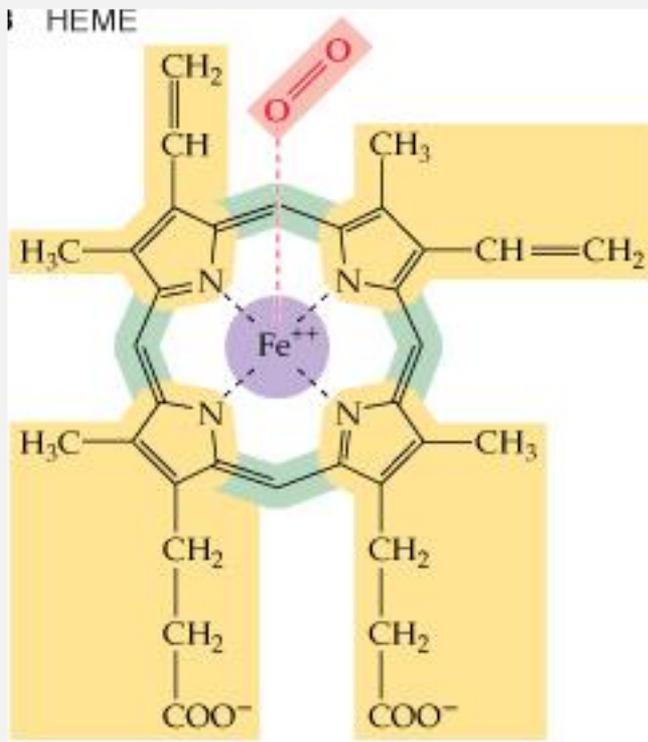


Emoglobina normale adulta (HbA)

- Tetramero (68 kDa)
- Ogni monomero: eme + globina
- Globina: polipeptide: catene α e β
 - Stechiometria Hb: $[\alpha (\text{eme})]_2 + [\beta (\text{eme})]_2$
- Eme: composto porfirinico coordinato ad un atomo di ferro
- La molecola completa di Hb può legare 4 atomi di O_2

Eme

- Ione metallico chelato ad un anello porfirinico
- Nel caso dell'Hb, è il ferro (Fe^{2+}) nello stato **ferroso**
- La porfirina consiste in quattro anelli pirrolici coordinati ad un singolo Fe^{2+} collocato in posizione centrale

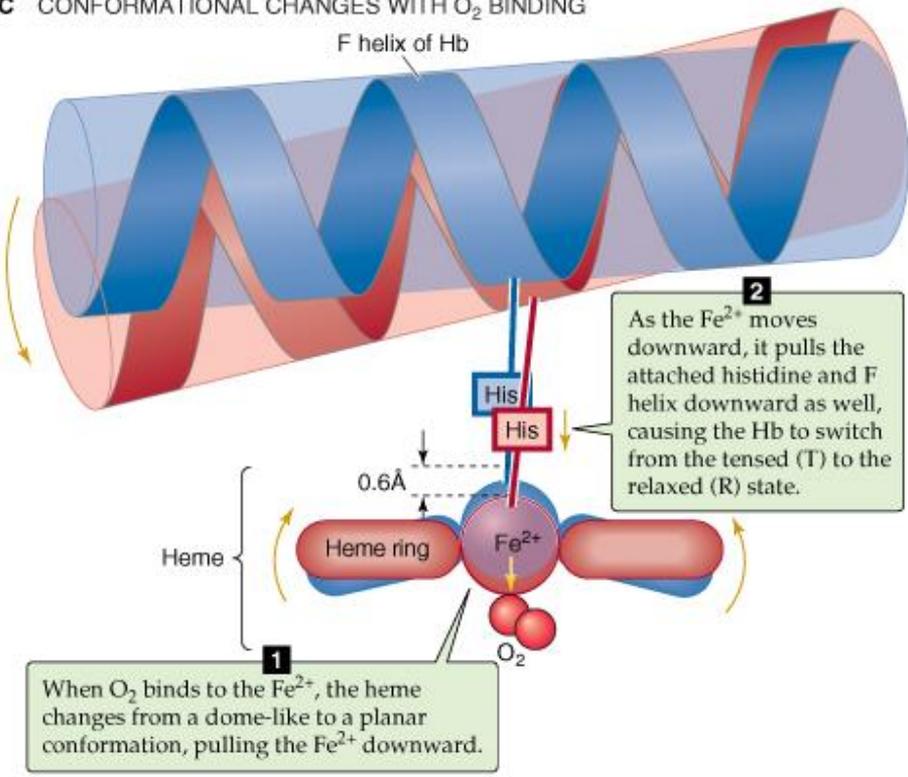


- L'interazione tra O_2 , Fe^{2+} e porfirina fa sì che il complesso assuma un **colore rosso vivo** quando è **saturato** con O_2 e **rosso porpora** quando è **privo** di O_2
- Hb può legare O_2 solo quando Fe^{2+}
- Se Fe^{3+} (**ferrico**) \rightarrow metHb non lega O_2
- I gg.rr. hanno l'enzima **metaemoglobin-reduttasi** che riduce metHb a Hb
- Vi sono deficit genetici di questo enzima

Modificazioni conformazionali e legame dell'O₂

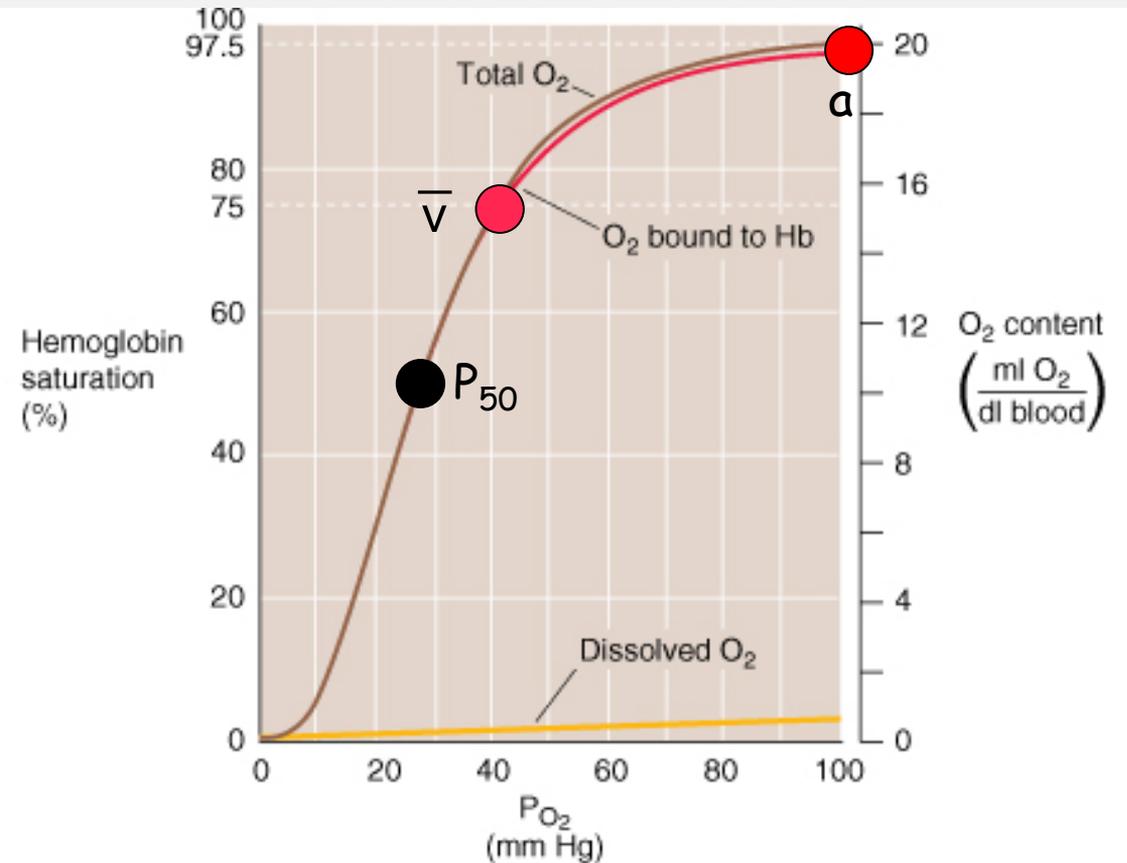
Globina: la sua funzione è **essenziale** per assicurare la piena **reversibilità** del legame tra O₂ ed eme (in eme isolato, interazione con O₂ porta a Fe³⁺)

C CONFORMATIONAL CHANGES WITH O₂ BINDING



- O₂ assente: l'Hb si trova nello **stato T**
- O₂ si lega: l'eme subisce una modificazione conformazionale (**stato R**) che diminuisce la forza di legame tra His e Fe²⁺
- Se si legano un numero sufficiente di molecole di O₂, tutte le quattro subunità di Hb passano allo **stato R**
- In questo stato, l'Hb ha **un'affinità per l'O₂ 150 volte superiore** a quella dell'Hb T
- Quindi, se PO₂ = 0, tutta Hb T, se PO₂ molto alta, tutta Hb R. Per valori intermedi, esiste equilibrio tra molecole di Hb nello stato T e nello stato R

Curva di dissociazione dell'ossiemoglobina



Punto arterioso

P_{aO_2} 100 mmHg - 97.5 %Sat
 HbO_2

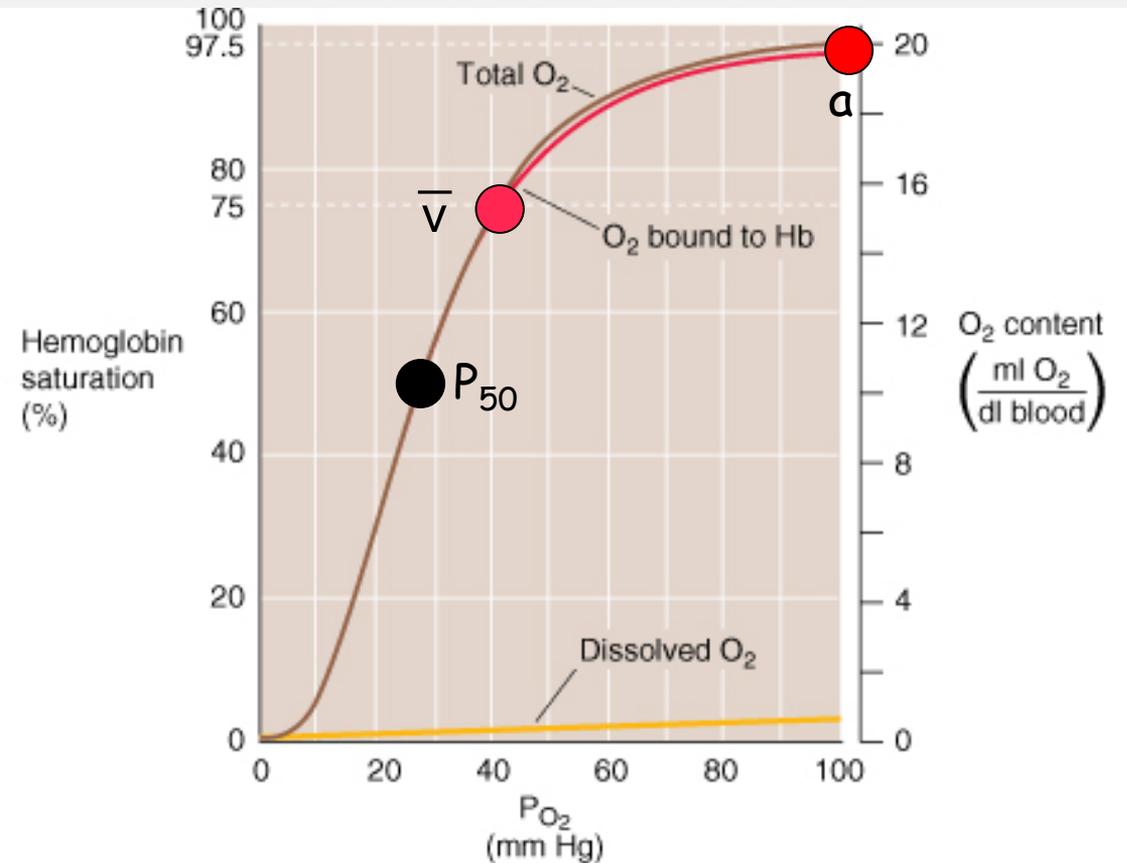
Punto venoso misto

P_{vO_2} 40 mmHg - 75 %Sat
 HbO_2

P_{50} - 25 mmHg

La curva ha forma sigmoidale a causa del comportamento cooperativo dei quattro siti di legame

Curva di dissociazione dell'ossiemoglobina



- Capacità di trasporto per l' O_2 in vivo:
 $1.35 \text{ ml } O_2 \text{ gr Hb}^{-1}$
- Massima capacità di trasporto:
 $1.35 \text{ ml } O_2 \text{ gr Hb}^{-1} \cdot 15 \text{ gr Hb } 100 \text{ ml sangue}^{-1}$
 $20.3 \text{ ml } O_2 \text{ } 100 \text{ ml sangue}^{-1}$
- % Saturazione:
 $O_2 \text{ legato a Hb} / \text{Massima capacità di trasporto} \cdot 100$

La curva ha forma sigmoidale a causa del comportamento cooperativo dei quattro siti di legame

Anemia-Policitemia-Cianosi

- **Anemia**

Diminuzione della concentrazione di Hb, dell'ematocrito e della conta eritrocitaria

Compenso: 1) incremento della gettata cardiaca; 2) aumento dell'estrazione

- **Policitemia**

Aumento della concentrazione di Hb, dell'ematocrito e della conta eritrocitaria

Primaria o secondaria

- **Cianosi**

Colore bluastrò della cute e delle mucose

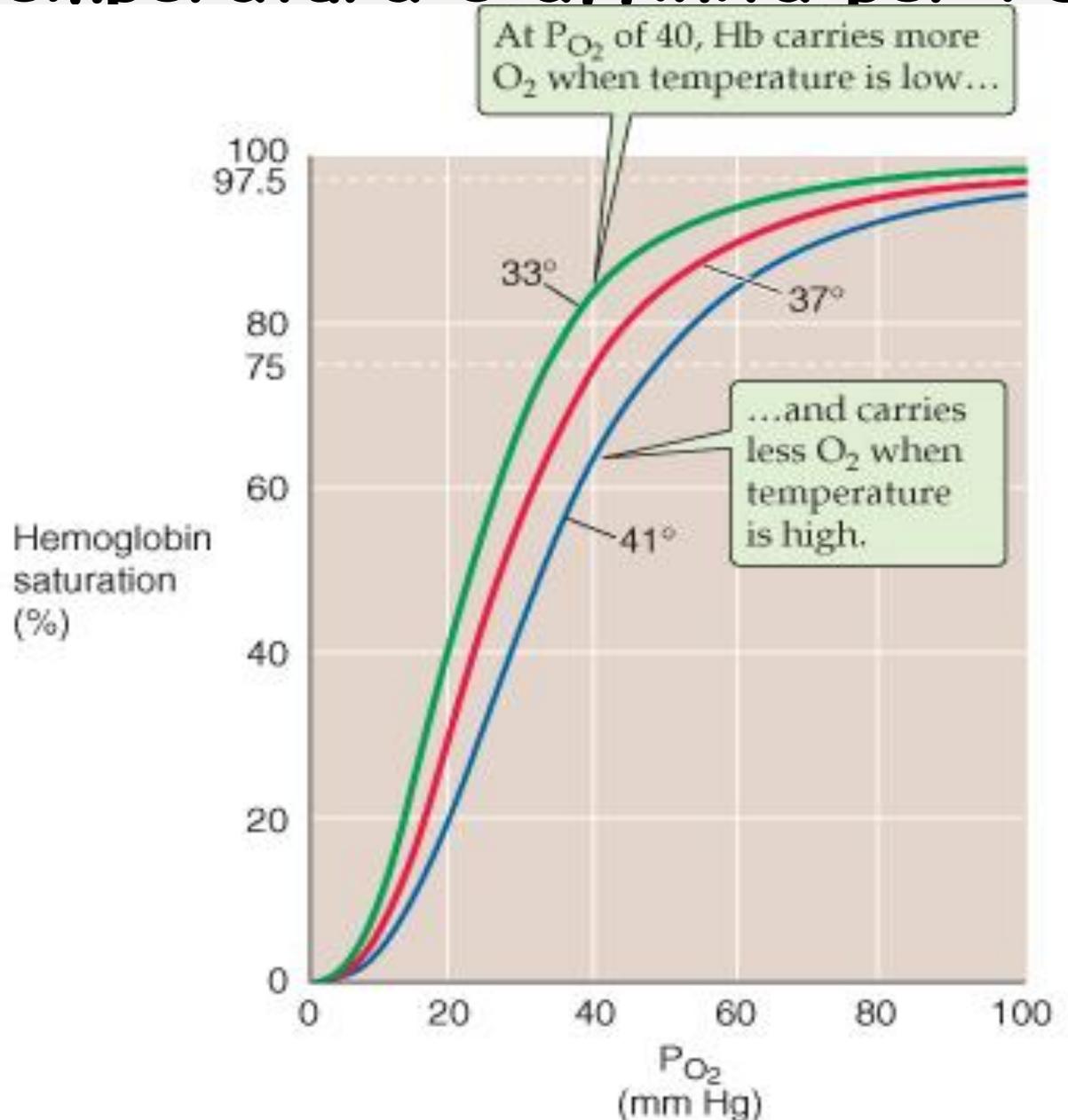
Si ha cianosi se i capillari contengono più di 5 gr di desossi Hb per 100 ml di sangue

È più probabile in presenza di policitemia; un anemico svilupperà con difficoltà cianosi

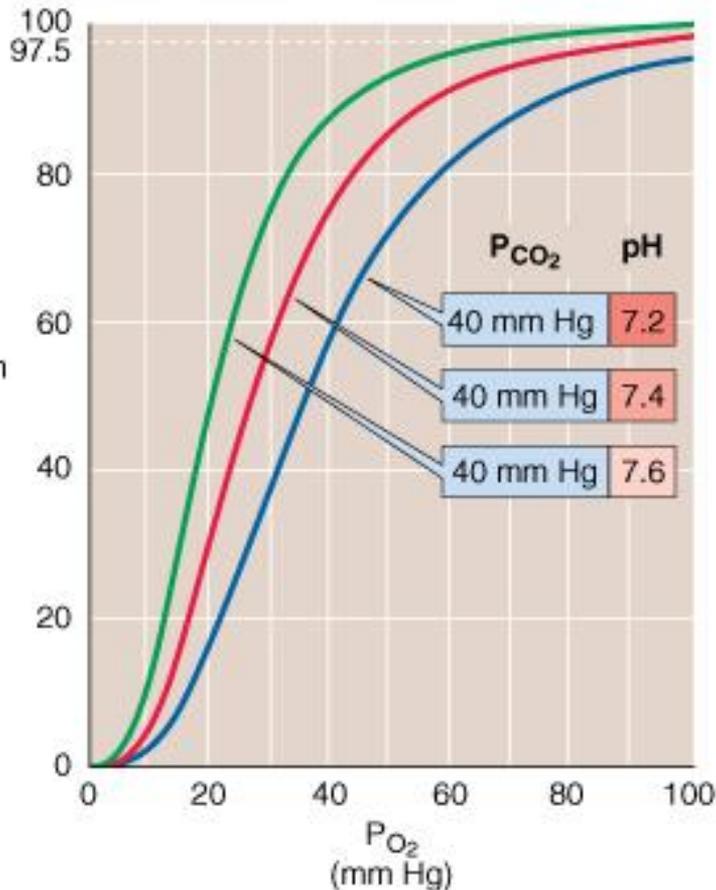
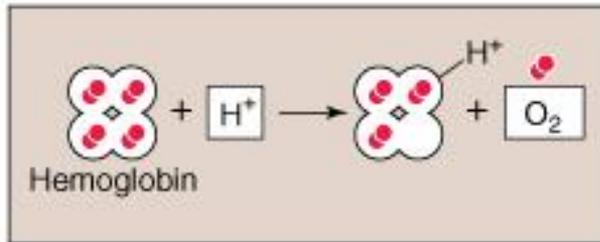
Regolazione allosterica dell'affinità per l'O₂

- Un aumento di T e della PCO₂ ed una diminuzione del pH diminuiscono l'affinità di Hb per O₂ agendo su **siti diversi dall'eme** e spostando l'equilibrio tra le condizioni R e T verso lo stato T a bassa affinità
- Questo consente di cedere una maggiore quantità di ossigeno dal sangue che scorre nei capillari dei tessuti metabolicamente attivi
- A livello polmonare, dove T è relativamente più bassa, il pH diventa più basico e pCO₂ diminuisce, è promosso l'uptake di O₂.

Temperatura e affinità per l'O₂

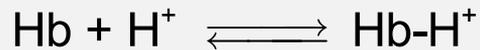


pH e affinità per l'O₂



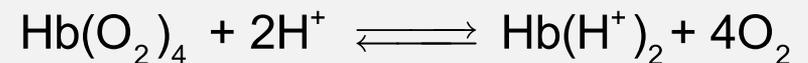
Effetto pH - Bohr

Hb è un potente tampone per gli idrogenioni



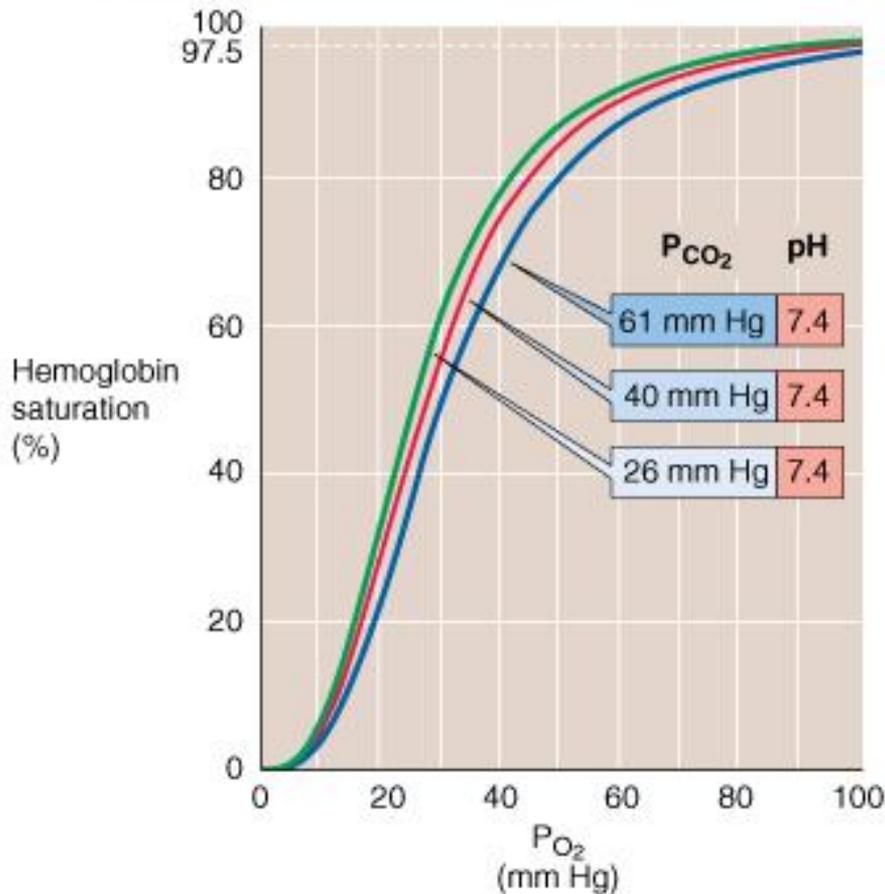
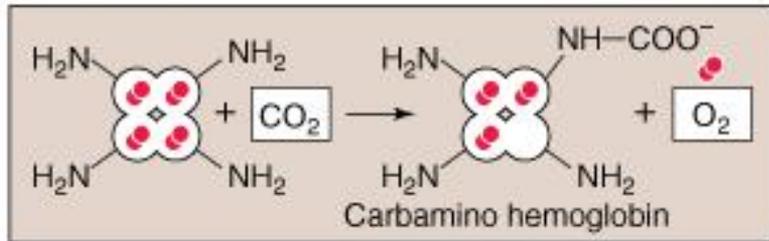
I gruppi titolabili che contano sono quelli che hanno un pK vicino al range fisiologico del pH.

Se acidifichiamo la soluzione, modificiamo la conformazione di Hb e ne abbassiamo l'affinità per l'O₂



Il legame di 0.7 moli di H⁺ induce il rilascio di 1 mole di O₂

CO₂ e affinità per l'O₂



Effetto CO₂ - Bohr

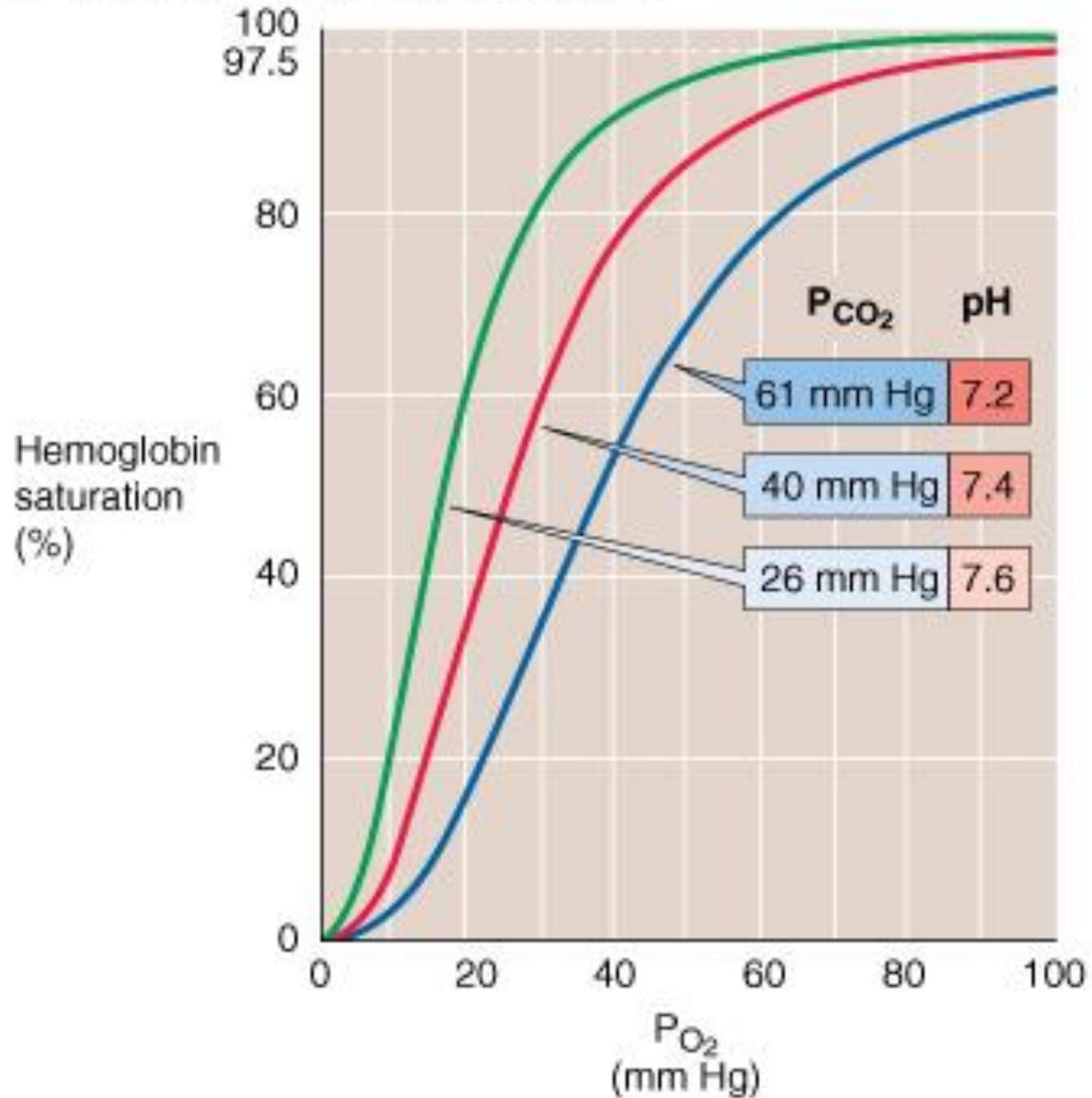
Si studia a pH fisso con aumento di PCO₂ e [HCO₃⁻] proporzionali - (ipercapnia isoidrica)

Formazione di gruppi carbaminici

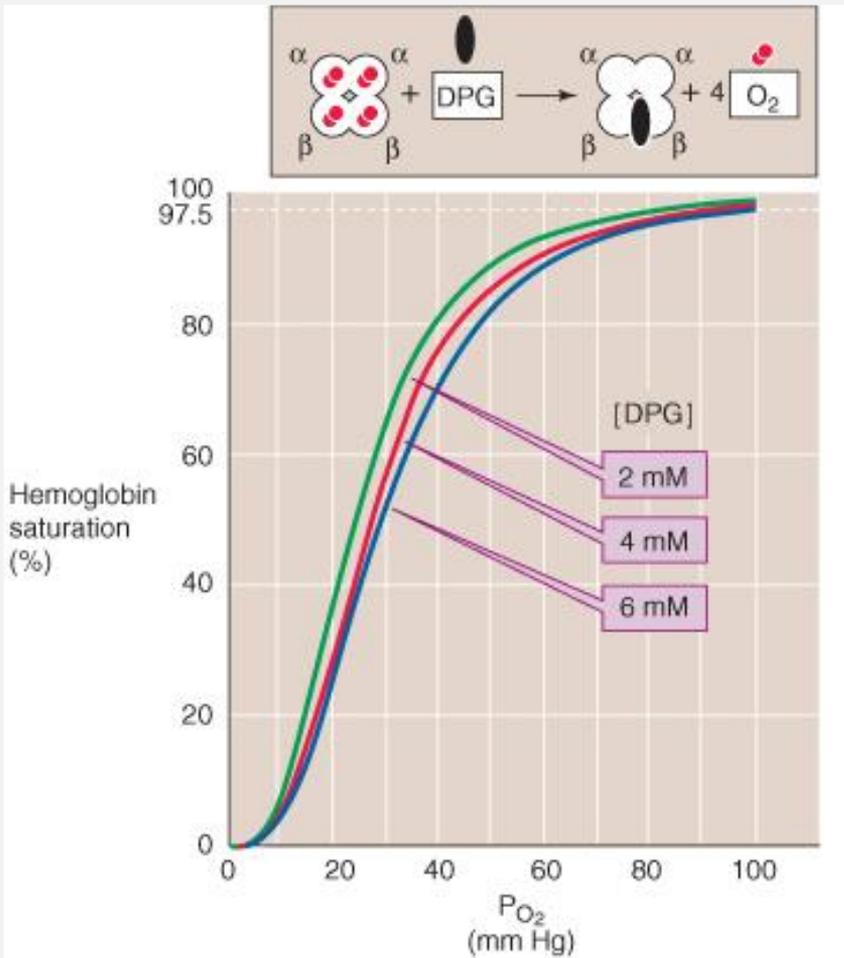
Componente minoritaria dell'effetto Bohr

Effetto Bohr

A RESPIRATORY DISTURBANCES

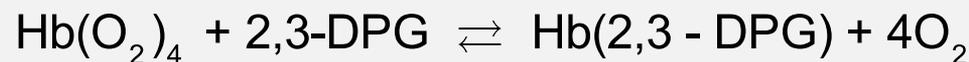


2,3-DPG e affinità per l'O₂



- La concentrazione di 2,3-DPG nei gg.rr. è simile a quella dell'Hb
- Si lega con un rapporto 1:1 con Hb in una cavità tra le catene β
- **Il legame con l'O₂** cambia la conformazione di questa cavità destabilizzando il complesso DPG-Hb. Di conseguenza, l'affinità per il 2,3-DPG dell'Hb ossigenata è solo dell'1 % maggiore rispetto alla desossi-Hb.
- **Il legame 2,3-DPG con Hb**, al contrario, rende instabile l'interazione con l'O₂ e l'equilibrio della reazione si sposta a destra (favorisce il rilascio di ossigeno).

La curva di dissociazione è spostata verso destra



Produzione di 2,3-DPG

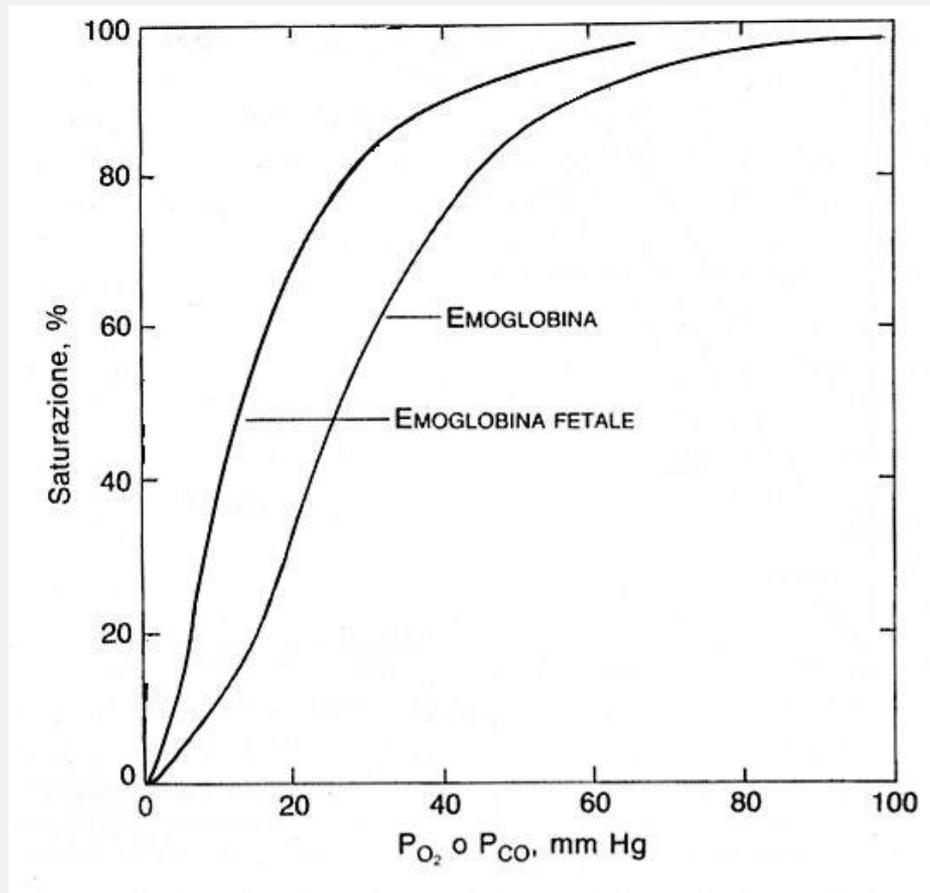
La diminuzione della PO_2 stimola la glicolisi nei gg.rr. e conduce all'aumento della concentrazione di 2,3-DPG

- Ipossia cronica
- Anemia
- Acclimatazione all'altitudine

- Questo fenomeno interferisce in modo trascurabile con l'uptake dell' O_2 nei polmoni a livello del mare, mentre favorisce la cessione di O_2 alla periferia.

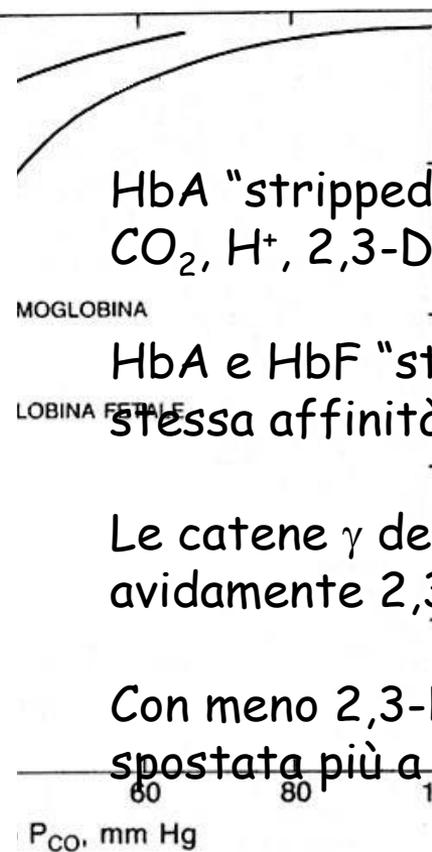
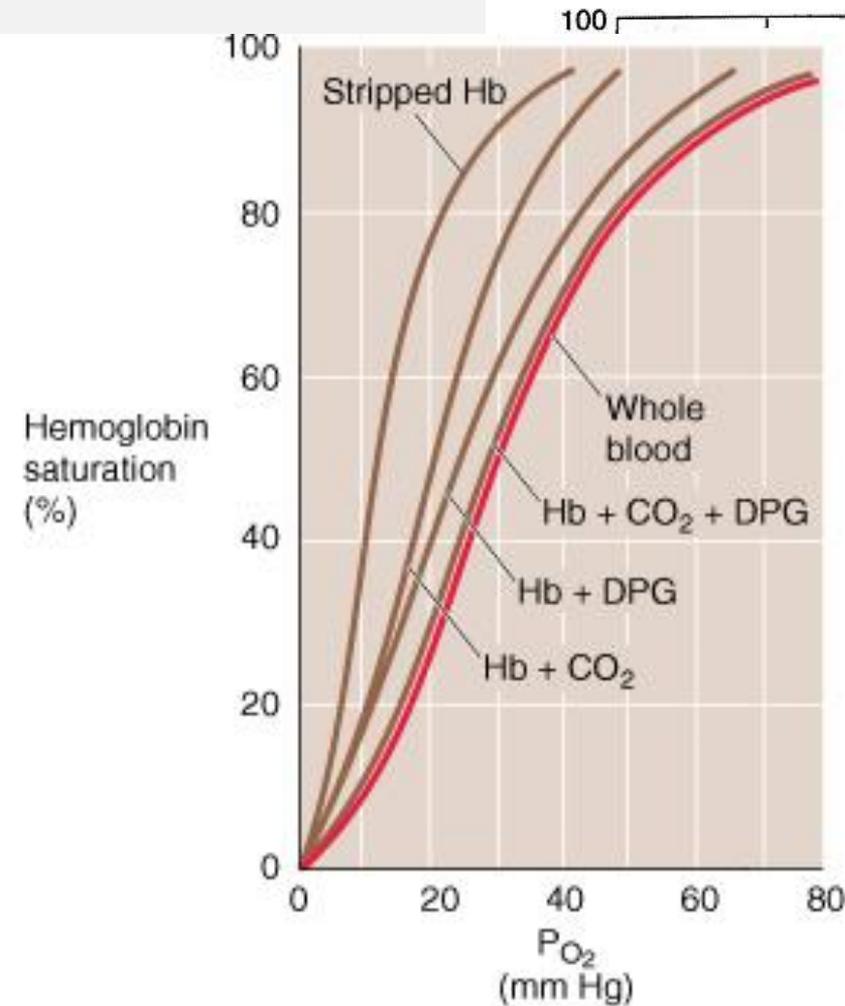
- Può essere sfavorevole in alta quota a livello polmonare. L'**alcalosi respiratoria** indotta dall'**iperventilazione** stimolata dall'ipossia acuta sposta a **sinistra** la curva di dissociazione e favorisce l'uptake dell' O_2 a livello polmonare poiché il punto arterioso si trova sul tratto ripido della curva di dissociazione (bassa PO_2)

Emoglobina fetale



HbF ha un'affinità per l'O₂ più alta dell'HbA

Emoglobina fetale



HbA "stripped": Hb in assenza di CO_2 , H^+ , 2,3-DPG e ATP

HbA e HbF "stripped" hanno la stessa affinità per l' O_2

Le catene γ dell'HbF legano meno avidamente 2,3-DPG di HbA

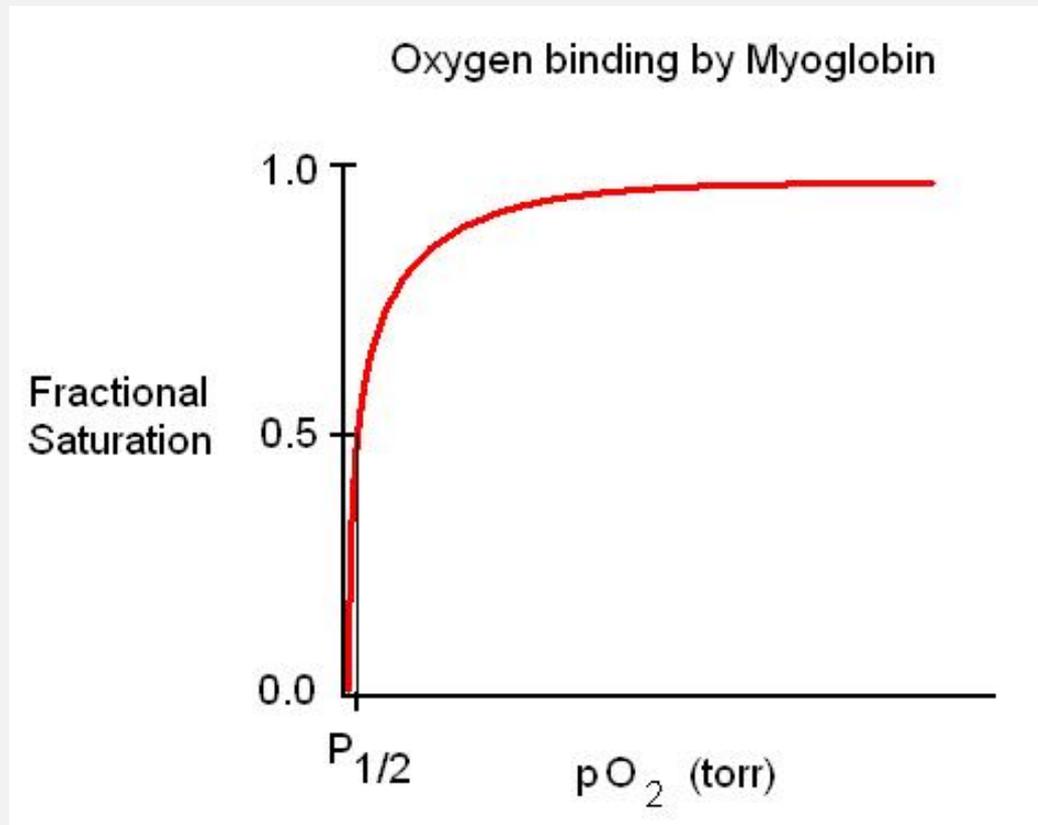
Con meno 2,3-DPG legato, la curva è spostata più a sinistra

per l' O_2 più alta dell'HbA

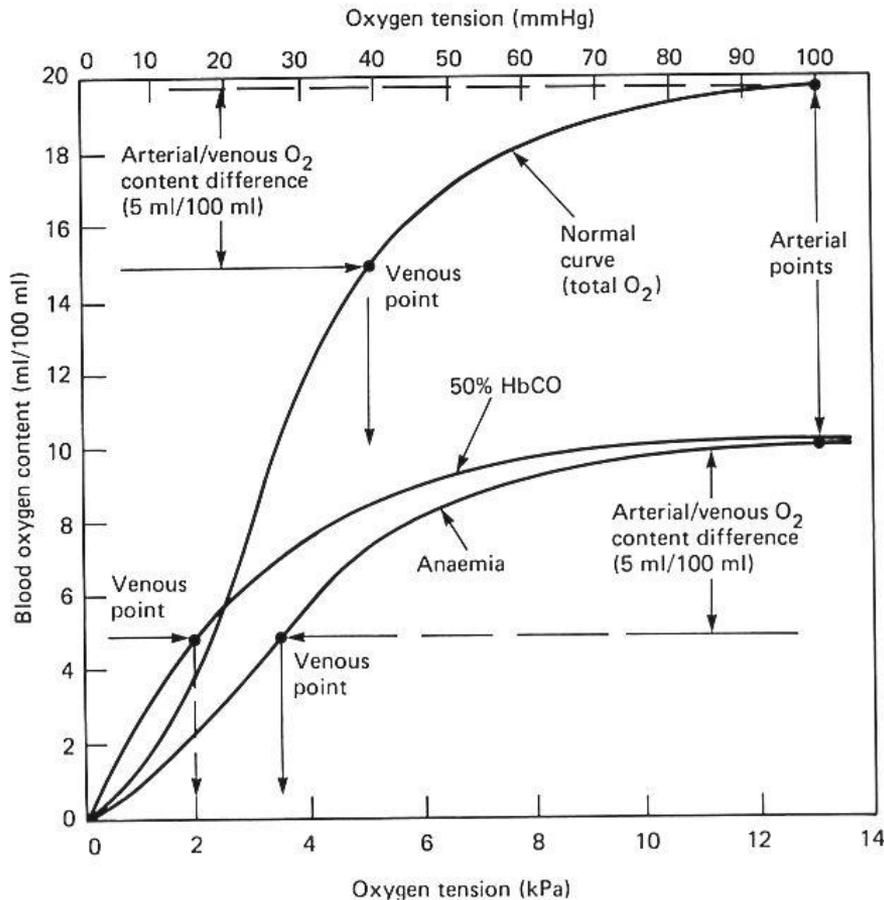
Mioglobina e forme di emoglobina

Mioglobina (Mb)

- E' un monomero
- Lega un singolo O_2 , ma ha un'affinità molto più alta di Hb
- Hb cede l' O_2 alla Mb muscolare, accelerando in questo modo la diffusione di O_2 nelle cellule



Avvelenamento da CO



- CO lega HbA con un'affinità che è circa 200 volte superiore a quella dell'O₂
- Inoltre, induce il cambiamento di HbA nello stato R
- Ciò si traduce in uno spostamento verso sinistra (aumento di affinità per O₂) della curva
- Cessione più difficile di O₂ in periferia
- Anossia anemica (HbA ha subito modificazioni che la rendono inadatta al trasporto-cessione di O₂)

Trasporto della CO_2

1. CO_2 fisicamente disciolta
2. Acido carbonico
3. Bicarbonato
4. Carbonato
5. Composti carbaminici

Componenti della CO_2 totale

Componente	Sangue arterioso ($PCO_2 = 40$ mmHg)			Sangue venoso misto ($PCO_2 = 46$ mmHg)			
	Concentrazione	Contributo al totale	Frazione del totale	Concentrazione	Contributo al totale	Frazione del totale	
CO_2 disciolta	CO_2	1.2 mM	2.4 ml/dl	5 %	1.4 mM	2.8 ml/dl	5.3 %
Acido carbonico	H_2CO_3	3 μ M	~0 ml/dl	~0 %	~3.5 μ M	~0 ml/dl	~0 %
Bicarbonato	HCO_3^-	24 mM	43.2 ml/dl	90 %	25.6 mM	46.0 ml/dl	88.5 %
Carbonato	CO_3^{2-}	30 μ M	~0 ml/dl	~0 %	30 μ M	30 μ M	~0 %
Composti carbaminici	R-NH-COO $^-$	1.2 mM	2.4 ml/dl	5 %	1.6 mM	1.6 ml/dl	6.2 %
Totale		26.4 mM	48 ml/dl	100 %	28.6 mM	52 ml/dl	100 %

Trasporto della CO_2

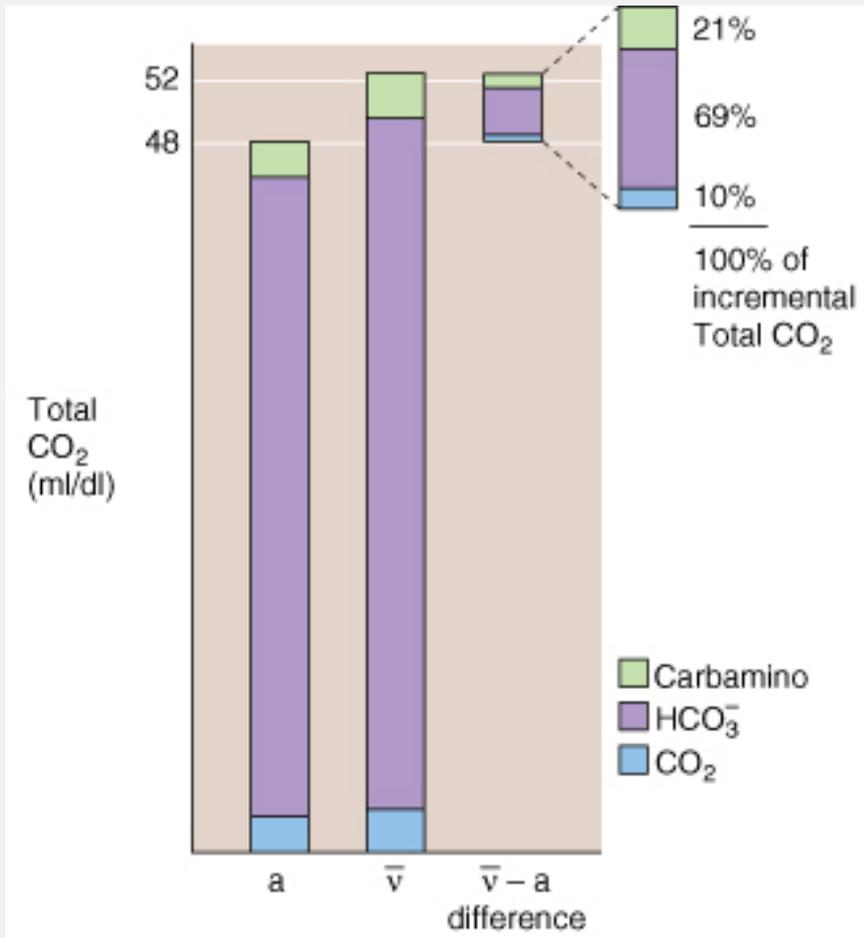
1. **CO_2 fisicamente disciolta: nel range millimolare**
2. Acido carbonico (H_2CO_3). La costante di equilibrio della reazione è 0.0025. Quindi, $[H_2CO_3]$ è $1/400^{mo}$ di $[CO_2]$



3. **Bicarbonato (HCO_3^-) si può formare attraverso tre vie**
 - a. da H_2CO_3
 - b. CO_2 si combina direttamente con OH^- : reazione catalizzata dall'anidrasi carbonica nei gg.rr. e in alcuni epiteli
 - c. se carbonato (CO_3^{2-}) si combina con H^+
4. Carbonato (CO_3^{2-}) si forma dalla dissociazione di $HCO_3^- \rightarrow CO_3^{2-} + H^+$
Poiché pK della reazione è molto alta, $[CO_3^{2-}]$ è $1/1000^{imo}$ di $[HCO_3^-]$ a pH 7.4
5. **Composti carbaminici si formano velocemente e reversibilmente quando CO_2 reagisce con Hb**
 - a. La formazione è promossa dalla deossigenazione di Hb (**effetto Haldane**)

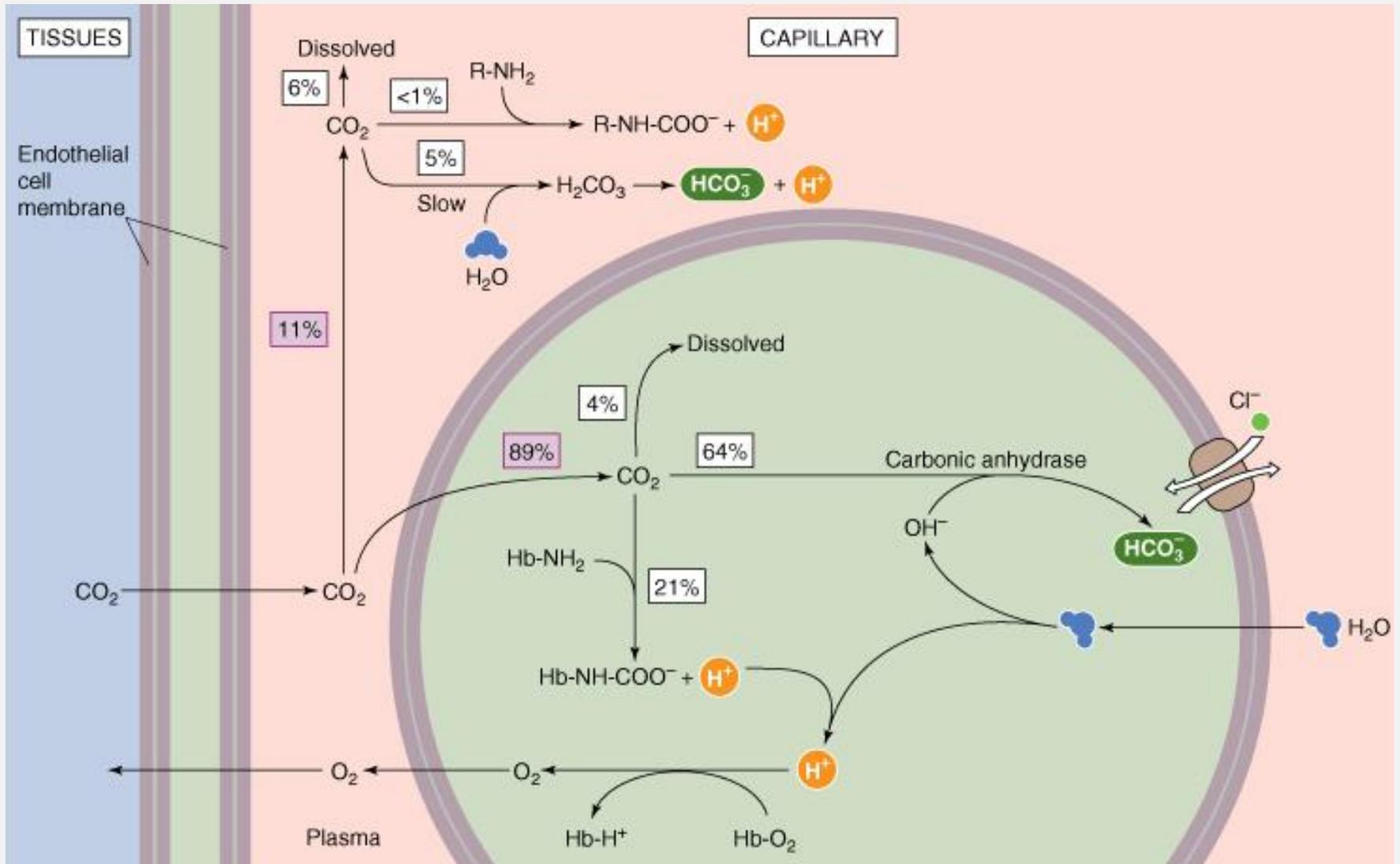
Trasporto della CO_2

Passaggio da sangue arterioso a sangue venoso misto



La maggior parte della CO_2 aggiunta è sotto forma di bicarbonato, ma anche gli incrementi di CO_2 disciolta e sotto la forma di carbamino-composti, non sono trascurabili

Trasporto della CO_2 - descrizione degli eventi



Trasporto della CO_2 - descrizione degli eventi

Bicarbonato

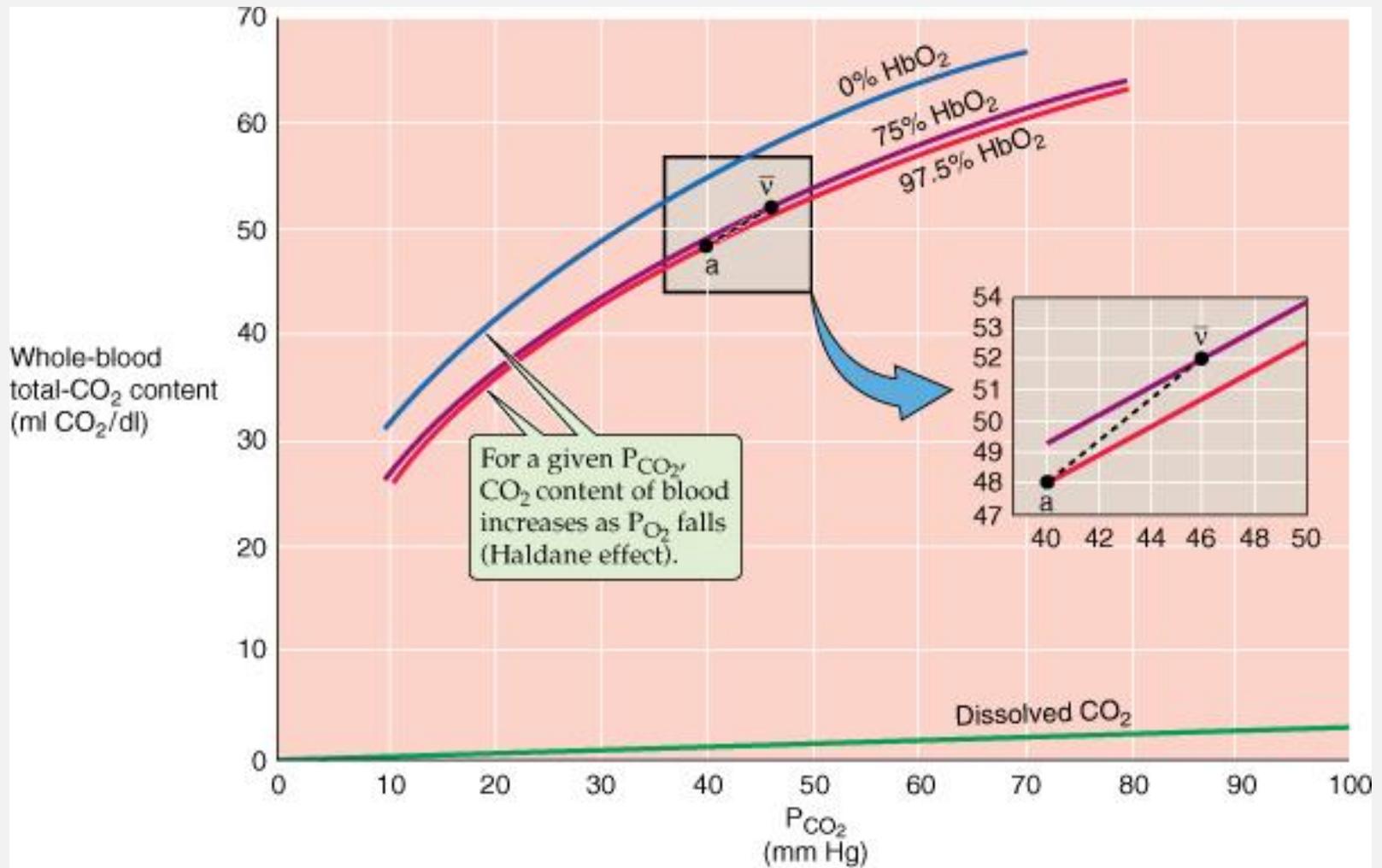
- La formazione di bicarbonato nei gg.rr. è favorita dalla presenza dell'anidrasi carbonica
- Lo scambiatore $Cl-HCO_3$ (AE1) trasporta al di fuori dei gg.rr. buona parte del bicarbonato neoformato promuovendone la formazione
- L'uptake di Cl^- in cambio di HCO_3^- è conosciuto sotto il nome di shift dei cloruri o **shift di Hamburger**

Composti carbaminici

- La formazione di Composti carbaminici è più efficiente all'interno dei gg.rr.
- Hb è molto più concentrata delle proteine plasmatiche
- Hb forma composti carbaminici più facilmente delle proteine
- La formazione è promossa dalla deossigenazione di Hb (**effetto Haldane**)
- Hb ridotta è un acido meno forte di HbO_2 ; gli H^+ liberati si legano al gruppo imidazolico dell'istidina
- Ciò promuove la formazione dei composti e toglie gli H^+ dalla soluzione
- pH venoso (7.38) è solo poco più acido di quello arterioso (7.4) e quello dei gg.rr. diminuisce solo di 0.01 unità pH
- Diminuiscono le cariche negative su Hb che sono compensate da un aumento degli Cl^- e HCO_3^-
- Aumento dell'osmolarità dei gg.rr. con relativo ingresso di acqua

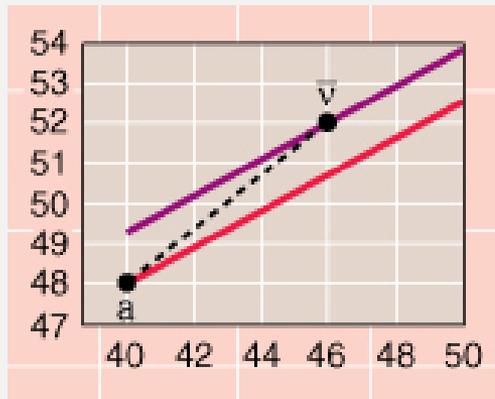
Curva di dissociazione della CO_2

PCO_2 , pH e PO_2 influenzano la capacità di trasporto per la CO_2 del sangue



Curva di dissociazione della CO_2

1. Nel range fisiologico, la curva è lineare

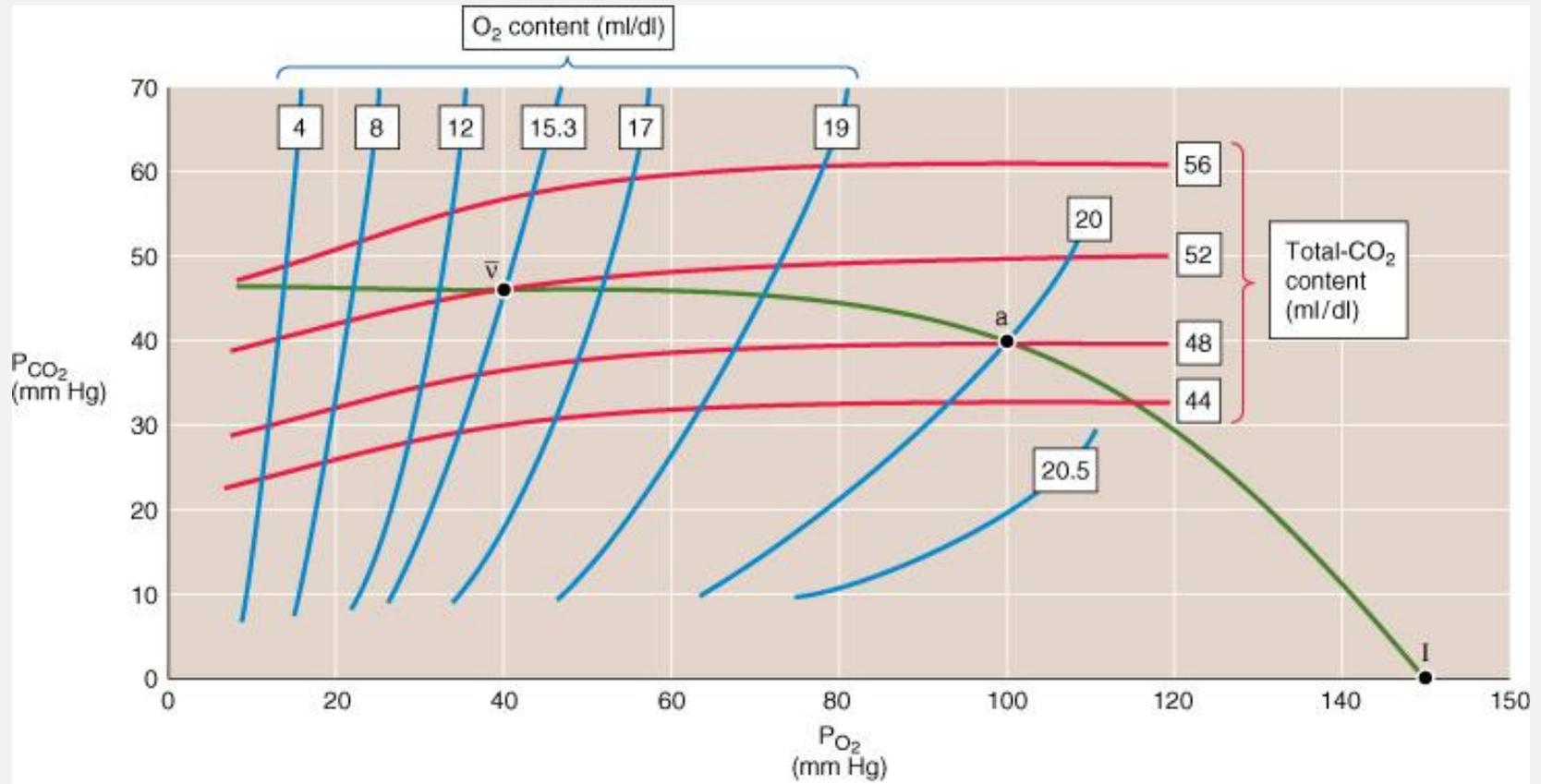


2. Se PO_2 diminuisce, la curva si sposta verso l'alto. **Effetto Haldane**

3. La relazione tra la quantità di CO_2 trasportata e la PCO_2 è ripida
 PO_2 aumenta da 40 a 100 mmHg per assumere 5 ml O_2 per dl di sangue,
mentre PCO_2 diminuisce solo da 46 a 40 mmHg per cedere circa 4 ml CO_2
per dl di sangue

Diagramma $O_2 - CO_2$

Descrive l'interazione tra PO_2 e PCO_2 nel sangue



- Isoplete di identico contenuto di O_2 ; effetto Bohr
- Isoplete di identico contenuto di CO_2 ; effetto Haldane
- Luogo geometrico di tutte le possibili combinazioni di PO_2 e PCO_2 in un polmone normale

Bibliografia

- **Fisiologia dell'Uomo, autori vari, Edi.Ermes, Milano**
 - Capitolo 12: Il polmone (Capitolo 12.9)
- **Fisiologia Medica, a cura di Conti F, seconda edizione, Edi.Ermes, Milano**
 - Capitolo 51: Scambi gassosi, Capitolo 51.4 e 51.5
- **West JB, Fisiologia della Respirazione, IV edizione italiana, PICCIN, Padova**