

Resumen

Seminario de avance de tesis doctoral / Miércoles 21 de Junio, 14h / Aula Fernández Prini

Estudios de reactividad de sulfuro inorgánico frente a modelos de hemoproteínas.

Lic. Silvina Bieza

Directora: Dra. Sara Bari

Consejero de estudios: Prof. Dr. Luis Baraldo

El sulfuro de hidrógeno, H_2S , considerado únicamente como un tóxico durante mucho tiempo, es un compuesto endógeno en mamíferos que participa de importantes procesos regulatorios. Como destinos moleculares de la acción del sulfuro inorgánico ($H_2S/HS^-/S^{2-}$) han sido reconocidos los tioles de proteínas, tioles pequeños, y el hierro hémico de diversas hemoproteínas. Este último caso se destaca porque existen hemoproteínas que pueden coordinar sulfuro a las formas férricas con elevada afinidad; en cambio, los porfirinatos férricos -desprovistos de ligandos axiales- se reducen a sus formas ferrosas en presencia de sulfuro.

Con el fin de elucidar detalles moleculares de la reactividad de sulfuro inorgánico frente a hemoproteínas, se realizaron estudios de su reactividad frente a compuestos modelo, en condiciones biorrelevantes. Como modelo se eligió a la microperoxidasa 11 (MP11), que es un undecapéptido derivado de la proteólisis del citocromo c formado por el grupo hemo que conserva a los aminoácidos 11-21, entre los cuales hay una histidina (His18) que funciona como ligando proximal del Fe^{III} . El seguimiento UV vis de la adición de H_2S gas o de Na_2S a MP11 (buffer fosfatos, pH 6.8) sugirió la formación de un complejo de Fe^{III} de bajo espín. La caracterización se completó por espectroscopía de Raman resonante, que confirmó la formación de un complejo Fe^{III} -sulfuro. Se determinaron las constantes cinéticas de la reacción, k_{on} y k_{off} , por técnicas de flujo detenido. Dado que estudios teóricos previos habían mostrado que los aminoácidos de la cadena peptídica no podían proveer mecanismos de estabilización de tipo distal al sulfuro coordinado, los resultados destacaron el papel clave de la His18 para la formación del producto coordinado en lugar de la reacción redox Fe^{III}/Fe^{II} .

A diferencia de otras moléculas gaseosas endógenas (NO, CO) el H_2S está en equilibrio con sus bases conjugadas. Con el propósito de caracterizar a la especie de sulfuro inorgánico reactiva frente a MP11, realizamos un estudio de la reacción de coordinación en función de pH. Usando técnicas de flujo detenido, se determinaron las constantes de velocidad independientes de pH para HS^- y H_2S . Los resultados indican que la especie reactiva más rápida sería HS^- , y no H_2S .

Dado que muchas hemoproteínas tienen al grupo hemo en un entorno hidrofóbico, estudiamos también la reacción de sulfuro inorgánico frente a MP11 incluido en micelas de detergente (SDS, buffer fosfatos, pH 6.8). El análisis de resultados espectroscópicos mostró la formación del producto de reducción, a diferencia de lo observado en la solución acuosa. De esta forma, el modelo MP11 permitió el abordaje de dos situaciones de reactividad diferentes: la formación del complejo Fe^{III} -sulfuro y la reducción Fe^{III}/Fe^{II} del hierro hémico.

La caracterización minuciosa de la afinidad del sulfuro, su cinética de reacción, la especiación, y el análisis de productos frente a hierro hémico en distintos entornos, contribuye a la evaluación de procesos de relevancia biológica, tales como el transporte de sulfuro, su detoxificación u otros.