

Krevní barviva

hemoglobin, bilirubin

Josef Tomandl, 2013

Hemoglobin

Bílkovina globin, prostetická skupina hem

Červené krevní barvivo (120–170 g/l krve)

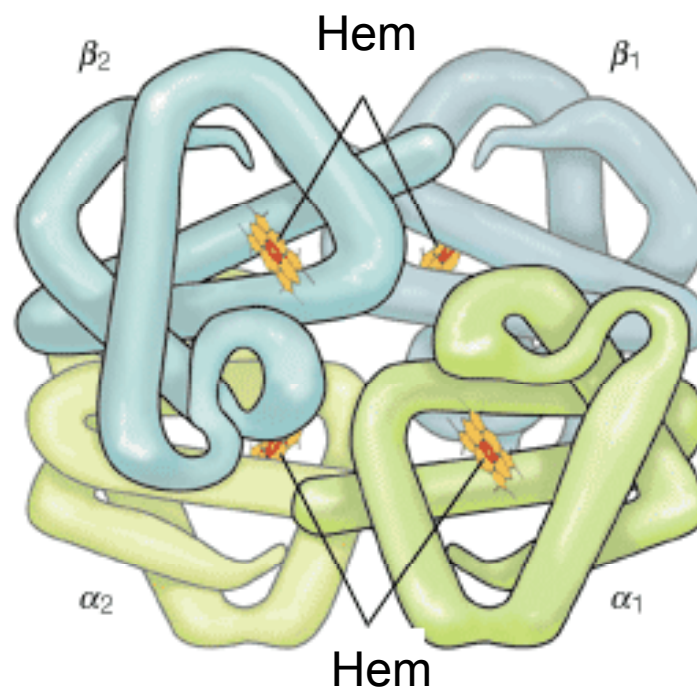
Obsažen v erythrocytech

Transport kyslíku z plic do tkání a CO₂ ze tkání do plic.

Účast na udržování ABR.

Struktura:

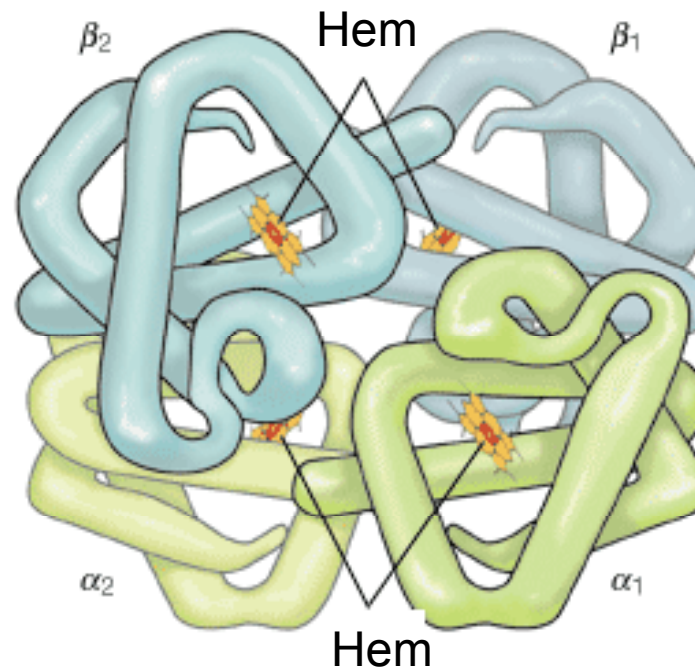
- primární
- sekundární
- terciární
- kvartérní



Úrovně struktury hemoglobinu

Kvartérní struktura HbA

tetramer (2 podjednotky α , 2 podjednotky β)



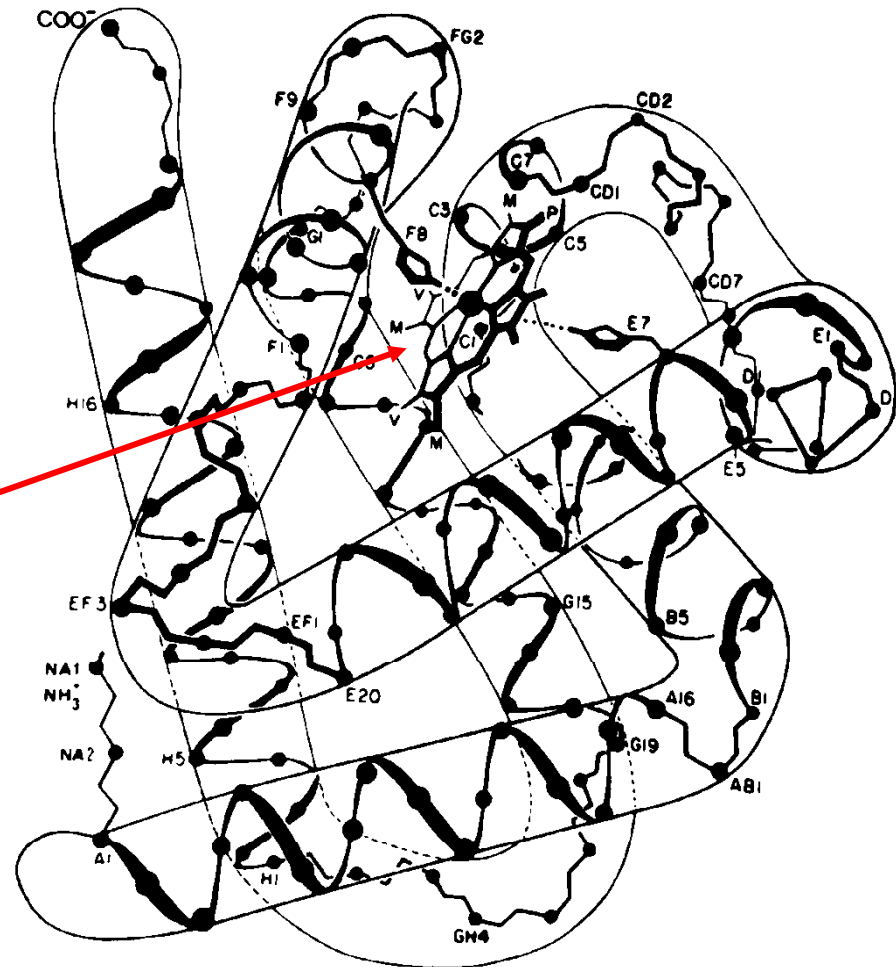
Úrovně struktury hemoglobinu

Sekundární a terciární struktura

8 helikálních úseků
(helixy A–H)

Hem

je uložen v hydrofobní
kapse každého globinu



Úrovně struktury hemoglobinu

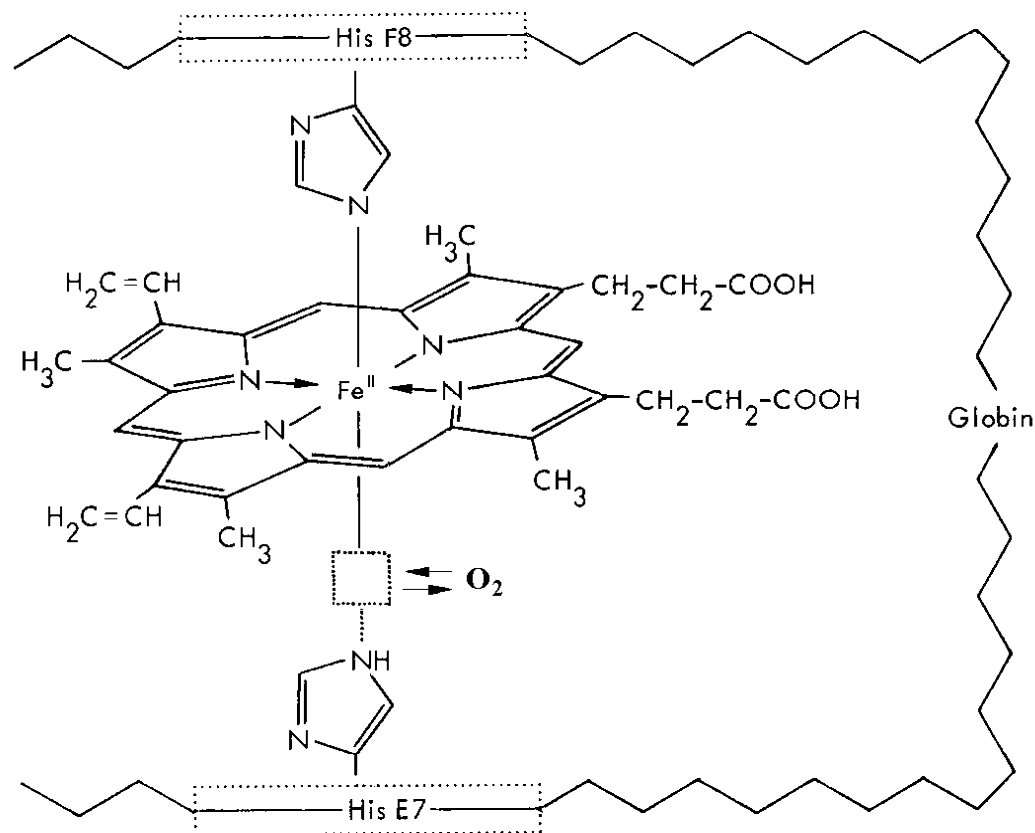
Primární struktura globinů

- Dána pořadím aminokyselin
- Každý řetězec má odlišný genetický kód

α -globin 141 aminokyselin

β -globin 146 aminokyselin

Struktura hemu



Hem :

Cyklický tetrapyrrol (porfyrin)
s centrálním atomem Fe

Konjugovaný systém
dvojných vazeb

Fe :

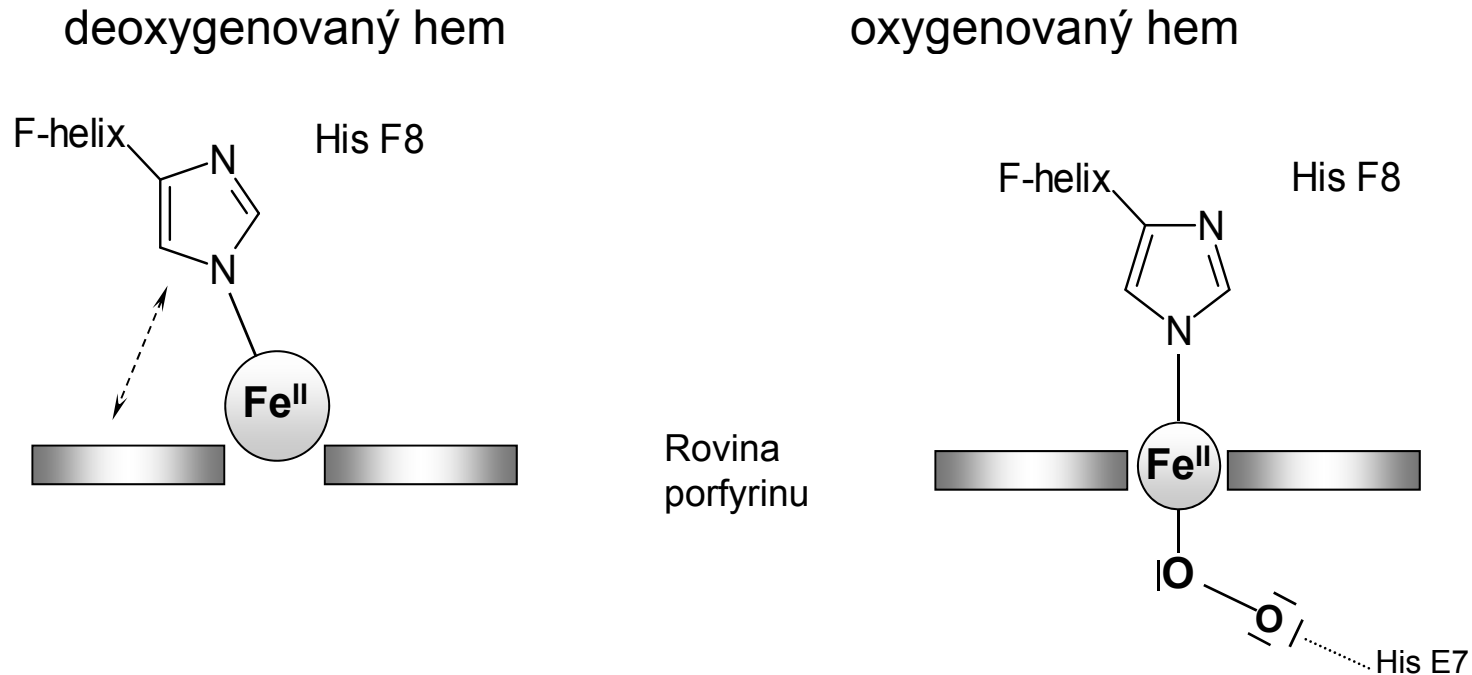
Oxidační číslo +II

Koordinální číslo:

5 (deoxygenovaná forma)

6 (oxygenovaná forma)

Vazba O₂ na hem vyvolá pohyb Fe²⁺ do roviny hemu



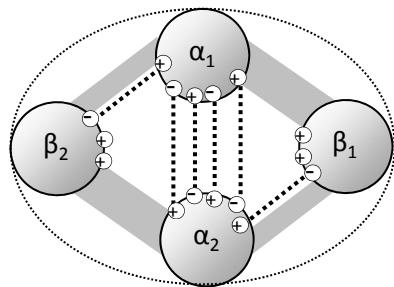
Hemové Fe^{II} je vázáno na globin prostřednictvím His F8

Navázání O₂ na Fe^{II} ⇒ zmenšení objemu Fe^{II} + pohyb Fe^{II} do roviny hemu
⇒ pohyb His F8 ⇒ změna konformace globinové podjednotky

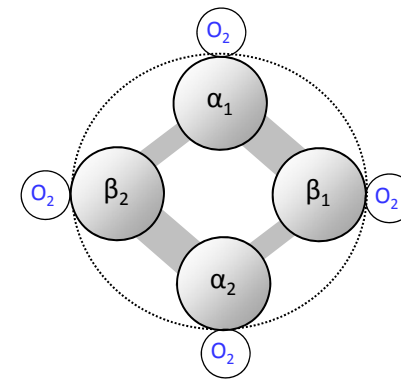
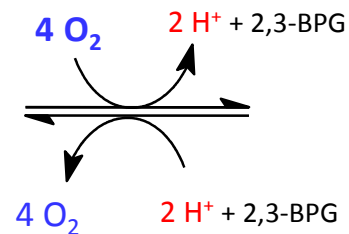
Konformační změna se přenáší i na další podjednotky.

Změny v kvartérní struktuře hemoglobinu při vazbě a uvolnění kyslíku

Navázání první molekuly O_2 kyslíku vyvolá přerušování iontových vazeb mezi podjednotkami. Navázání dalších molekul O_2 je usnadněno → **kooperativní efekt**



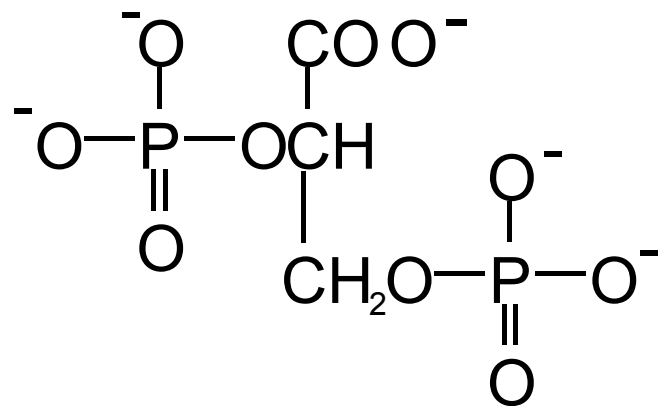
T-konformace



R-konformace

Uvolnění O_2 je usnadněno navázáním 2,3-bisfosfoglycerátu.
Navázání kyslíku je spojeno s uvolněním protonů (Bohrův efekt)

Úloha 2,3-bisfosfoglycerátu



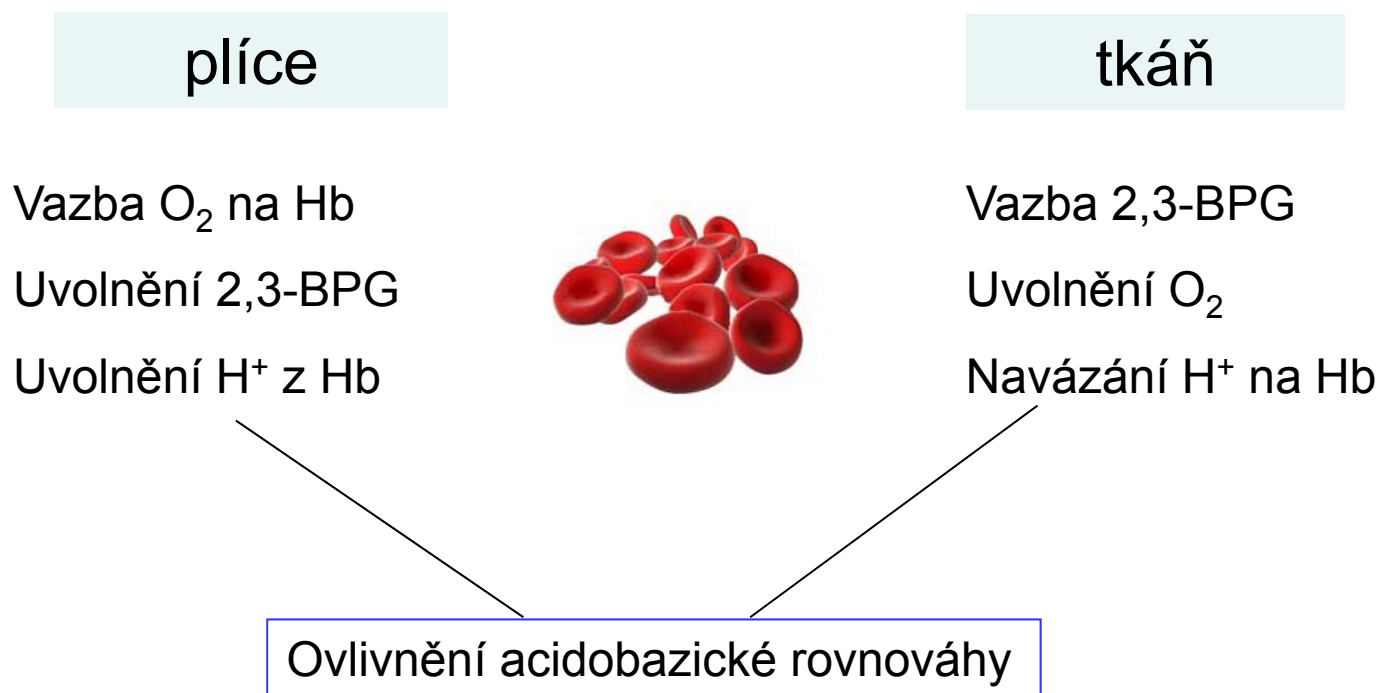
2,3-BPG - meziprodukt glykolýzy v erc

- váže se v kavitě tetrameru
- stabilizuje T-formu Hb
- uvolní se oxygenací Hb

Fetální Hb má nižší afinitu k 2,3-BPG než HbA

to umožňuje přenos O₂ mezi matkou a plodem

Pochody spojené s transportem kyslíku



Myoglobin

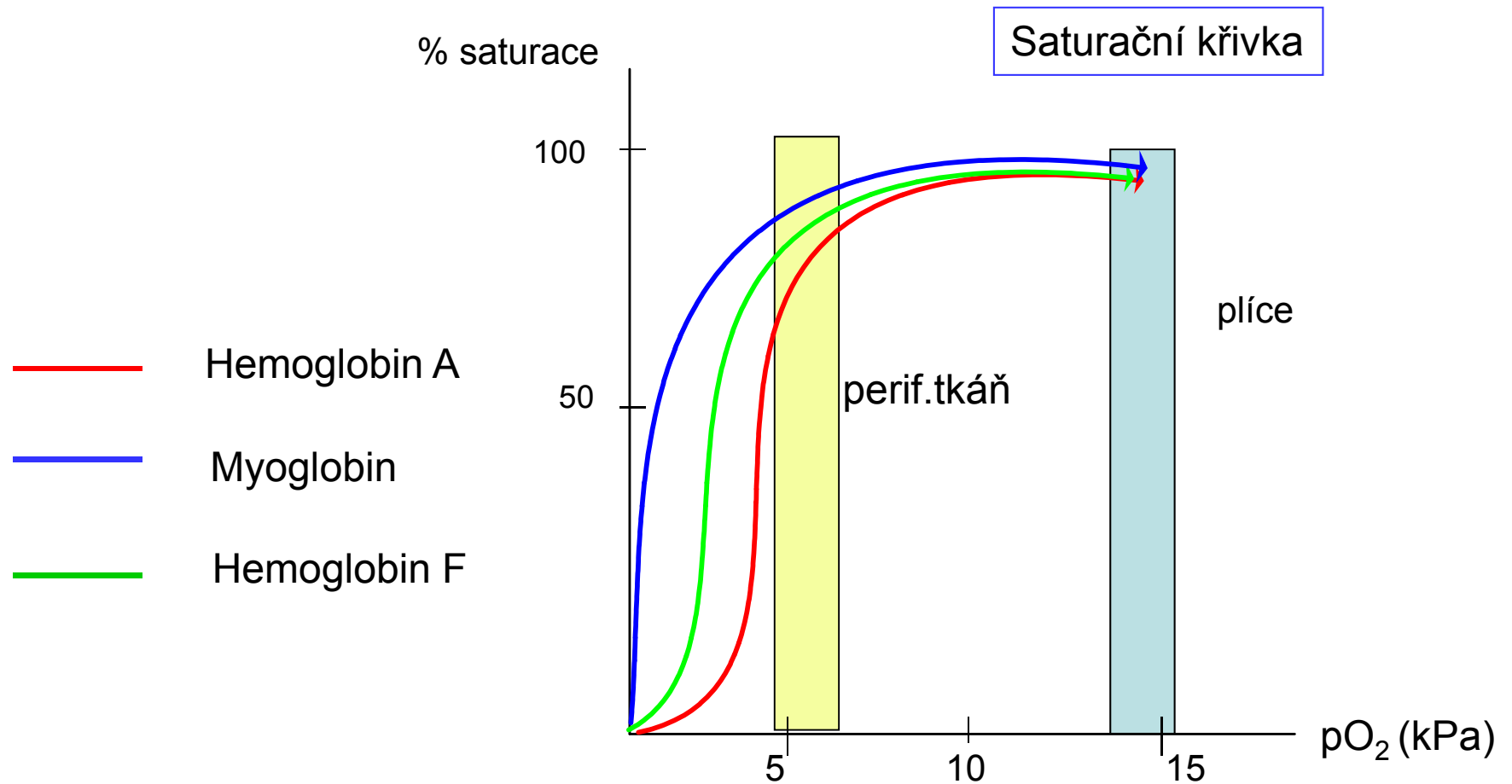
- Zásoba kyslíku ve svalu
- V cytoplasmě myocytů
- Váže O_2 uvolněné v kapilárách
- Monomer – pro kyslík má jediné vazebné místo
- Ostatní vlastnosti shodné s hemoglobinem
- Má větší afinitu ke kyslíku

Saturace Hb kyslíkem

vazba kyslíku: při úplném nasycení 4 mol O₂/mol Hb

saturace Hb kyslíkem: arteriální krev ~ 0,97

venózní krev ~ 0,73

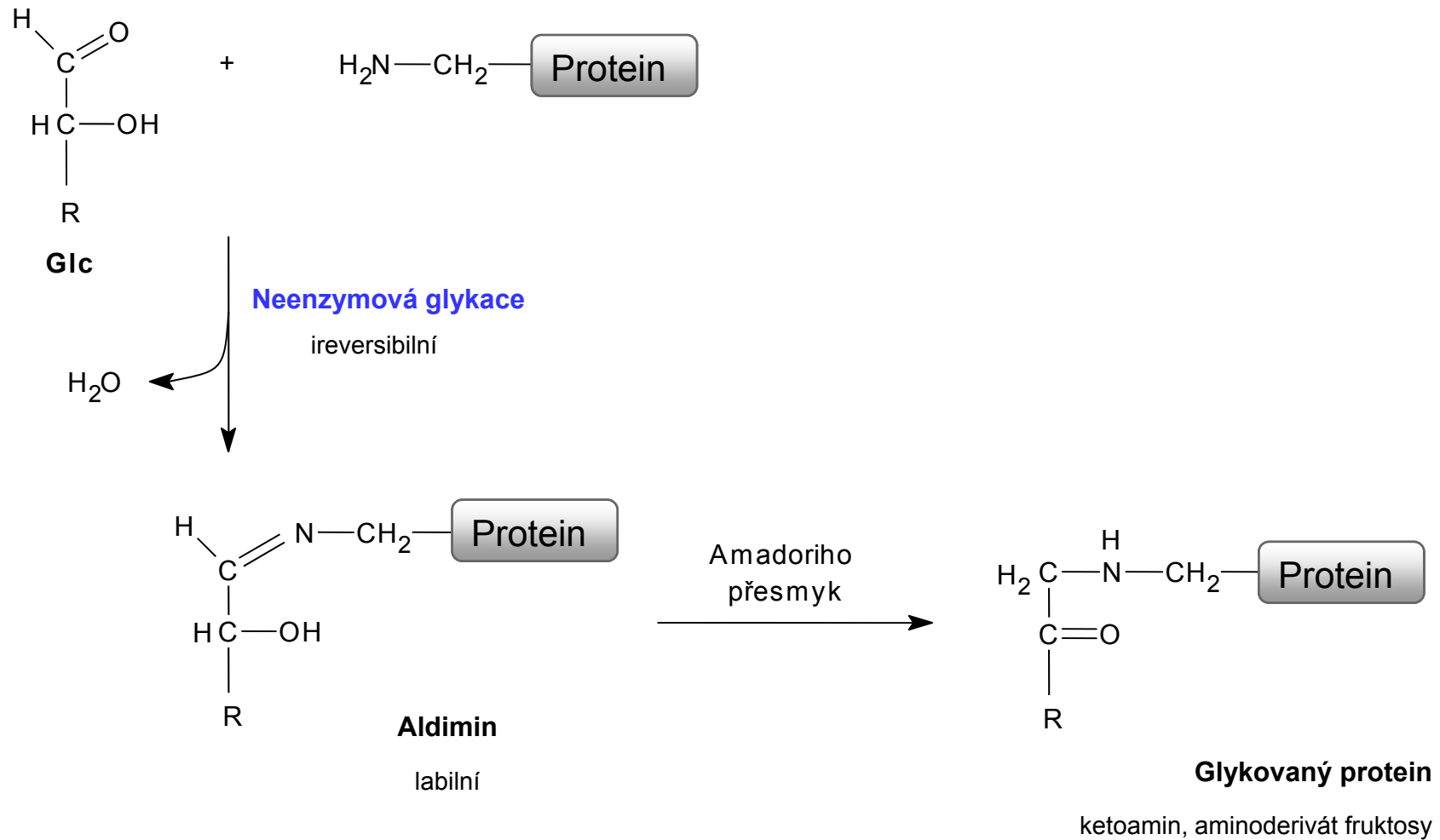


Typy lidského hemoglobinu

| Označení | Struktura | Podíl z celkového Hb u dospělých |
|---|--------------------|----------------------------------|
| HbA HbA _o *HbA1 | $\alpha_2\beta_2$ | ~ 97 % |
| HbA2 | $\alpha_2\delta_2$ | ~ 2,5 % |
| HbAF | $\alpha_2\gamma_2$ | ~ 0,5 % |

*HbA1 – glykovaný hemoglobin

Glykovaný hemoglobin



Glykovaný hemoglobin

- suma sacharidových aduktů na *N*-terminálních koncích Hb nebo ϵ -NH₂ skupinách Lys v Hb
- vzniká neenzymovou reakcí mezi Hb a Glc v krvi
- jeho tvorba je ireversibilní
- hladina glykovaného hemoglobinu
 - odráží koncentraci glukosy v krvi po celou dobu existence erytrocytu, tj. asi 120 dní
 - využívá se k posouzení úspěšnosti léčby/kompenzace diabetu v období 4–8 týdnů před vyšetřením

Glykovaný hemoglobin – terminologie

HbA₁

- glykace pouze na *N*-konci (Val) β -globinu
(Hb ztrácí jednu skupinu $-\text{NH}_3^+$)
- HbA₁ má negativnější náboj než HbA₀
→ lze stanovit elektroforézou (frakce a₁, a₂, b, **c**, d)
ionexovou chromatografií
- klinicky nejvýznamnější frakcí je **HbA_{1c}** *N*-(1-deoxy- β -D-fruktosyl)HbA

HbA-Glc

- glykace v jiných pozicích Hb
 - na *N*-konci α -globinu nebo na ϵ -NH₂ (Lys) α - a β -globinu

Deriváty hemoglobinu

Hemoglobin (methemoglobin)

obsahuje Fe^{3+} , ztrácí schopnost přenášet O_2

Karboxylhemoglobin

vazba CO namísto kyslíku, vazba je reverzibilní, avšak 210krát silnější než u kyslíku

COHb v krvi:

fyziologické: < 5%
kuřáci: < 15 %
smrtelné otravy: 60–90 %

Dědičné poruchy syntézy hemoglobinu

Příčiny

- **bodové mutace**

abnormální hemoglobiny

(hemoglobinopatie, *známo více než 200 forem*)

Př.: **HbS** $\alpha_2 \beta_2$ ⁶ Glu → Val
 HbC $\alpha_2 \beta_2$ ⁶ Glu → Lys
 HbM $\alpha_2 \beta_2$ ⁶⁷ His → Tyr $\alpha_2 \beta_2$ ⁶⁷ Val → Glu

- **nedostatečná / chybějící tvorba jednoho z řetězců (α , β)**

α -talasemie

β -talasemie

Funkce hemu – součást hemoproteinů

- vazba a přenos kyslíku (hemoglobin, myoglobin)
- přenos elektronů v dýchacím řetězci (cytochromy a, a₃, b, c)
- hydroxylace a detoxikace (cytochromy P-450)
- metabolismus kyslíkatých sloučenin (katalasa, peroxidasa)
- syntéza NO (NO-synthasa)

Syntéza hemu

- **v kostní dřeni (Hb) a játrech (cytochromy)**
- začátek a konec syntézy se odehrává v mitochondrii
- některé meziprodukty

δ -aminolevulová kyselina (ALA)

enzymy

ALA-synthasa

porfobilinogen (PBG)

uroporfyrinogen III

protoporfyrin IX

hemsythasa

(citlivá na nedostatek Fe,
inhibována těžkými kovy – Pb)

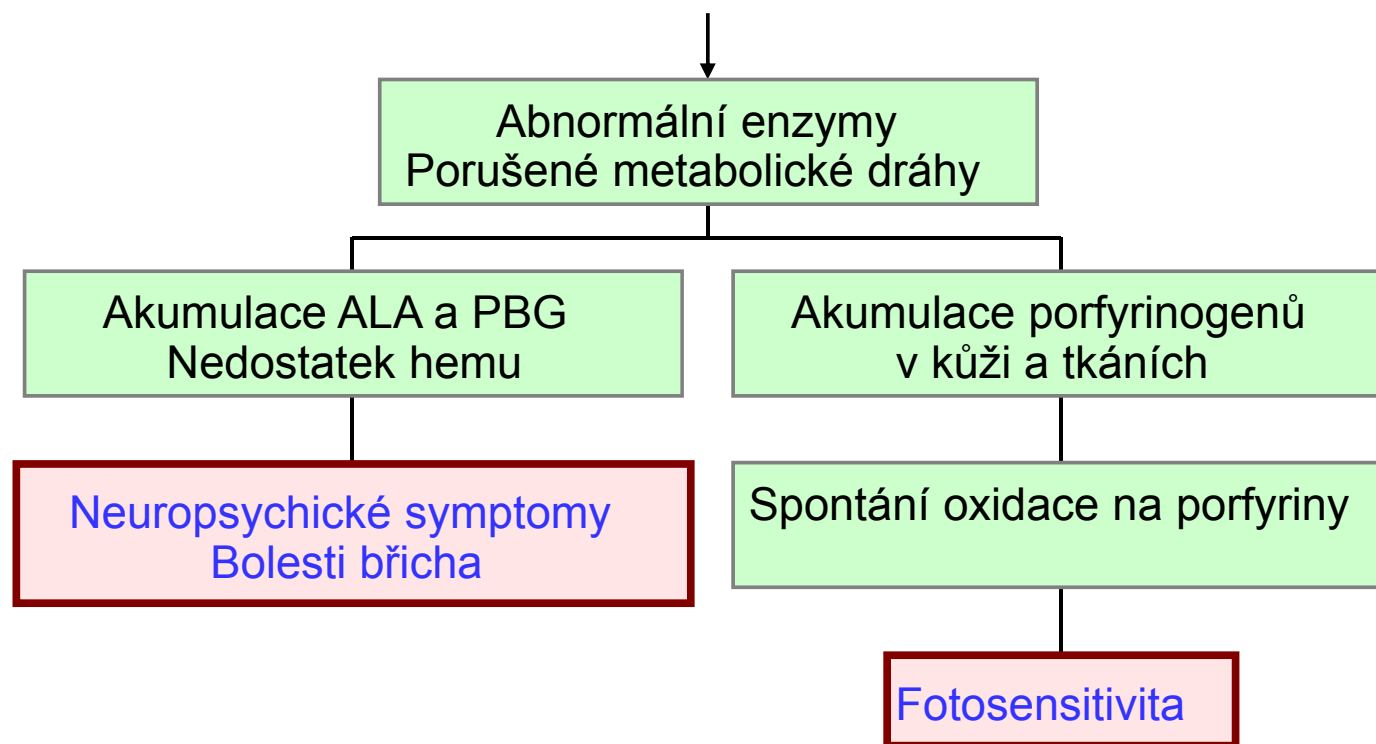
1. reakce syntézy hemu

sukcinyl-CoA + glycin \rightarrow δ -aminolevulová kyselina

- určuje rychlost syntézy hemu
- ALA-synthasa
 - závislá na pyridoxalfosfátu (vit. B₆)
 - v játrech – inhibována hemem a indukována léky
 - v kostní dřeni – pouze regulace na úrovni dostupnosti Fe

Poruchy syntézy hemu – porfyrie

- vrozené nebo získané



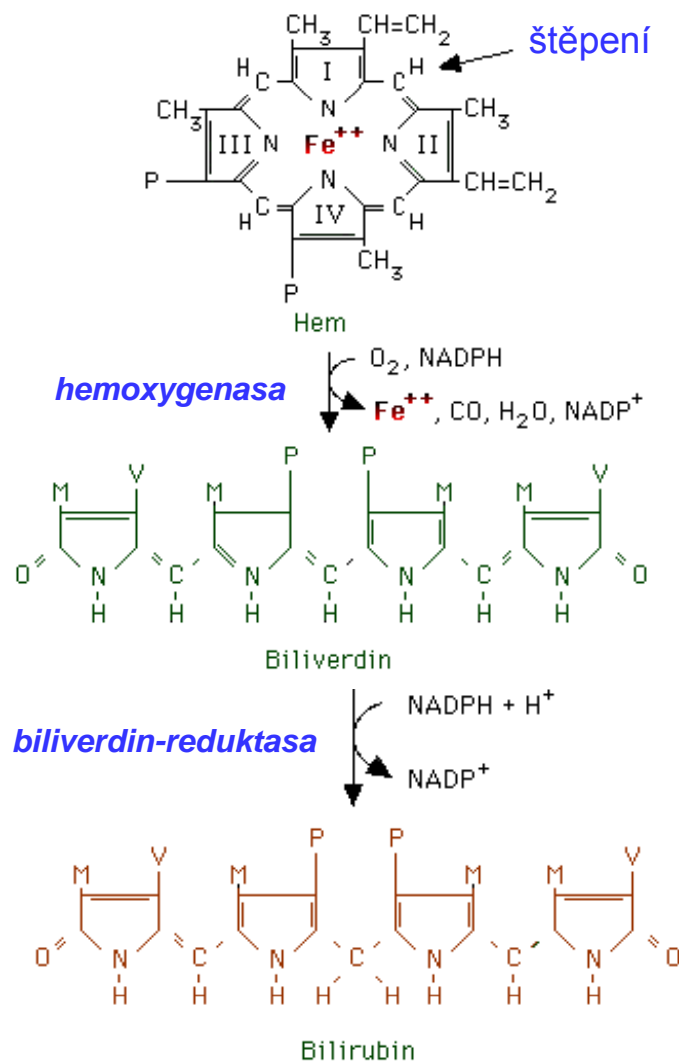
- **otrava olovem** – hromadí se ALA (krev, moč)

Odbourávání hemoglobinu a hemu

- Hb uvolněný z erytrocytů v oběhu je rychle vychytán **haptoglobinem** → RES
- volný hem je v krvi vázán na **hemopexin**
- v buňkách RES sleziny, kostní dřeně, jater (Kupferovy buňky)

hem → **biliverdin** → **bilirubin**

Oxidativní štěpení a vznik bilirubinu



- V mikrosomech **RES** jater, sleziny, kostní dřeně
- Oxidačním odštěpení methinového můstku (-CH=) vzniká CO
- Uvolnění Fe
- Vznik lineárního tetrapyrolu – biliverdinu (zelený)
- Redukce na bilirubin (oranžový)

- nepolární, ve vodě nerozpustný, toxický
- 80 % pochází z hemoglobinu
- vázaný na albumin → transport do jater
- aktivně vychytáván hepatocyty

Konjugace bilirubinu

- v mikrosomech hepatocytů konjugován s glukuronovou kys.
- UDP-glukuronyltransferasa
 - syntéza enzymu se plně vyvíjí až po narození
 - syntéza indukována léky - fenobarbital
- konjugovaný bilirubin
 - polární, rozpustný, vylučován do žluči
 - při jeho zvýšení v krvi → vyloučen do moče

Osud konjugovaného bilirubinu

- v ileu a na počátku tlustého střeva **dekonjugace**
- bilirubin redukován na bezbarvé **urobilinogeny** (ubg)
- část ubg reabsorbována, portální krví do jater, kde je využívána nebo přechází do cirkulace
- stopové množství ubg vylučováno ledvinami
- ubg snadno oxidován na barevné **urobiliny** - zbarvení stolice

Hyperbilirubinemie

- Koncentrace v krvi $> 20 \mu\text{mol/l}$
- Žluté zbarvení sklér, kůže a sliznic - **ikterus, žloutenka**
- Dělení podle **místa poruchy**

Prehepatální: nadměrný vznik hemoglobinu, nejčastěji hemolýza, překročená konjugační kapacita zdravých jater

Hepatální: poškození jaterních buněk

Posthepatální: porucha exkrece konjugovaného bilirubinu, uzávěr žlučových cest

Označování bilirubinu

| bilirubin | rozpustnost ve vodě | označení | výskyt |
|----------------------|--|----------------|---------------|
| nekonjugovaný | nerozpustný (vázán na albumin) | nepřímý | krev |
| konjugovaný | rozpustný | přímý | žluč (moč) |

delta-bilirubin

Hyperbilirubinemie → žloutenka = ikterus

| příčina | ikterus | Bil v séru | Bil v moči | Ubg v moči | Ubg ve stolici |
|---------------|---------------------|-------------------|------------|------------|----------------|
| prehepatální | hemolytický | ↑ nekonj. | - | ↑ | ↑ |
| hepatální | při poškození jater | ↑ nekonj. a konj. | + | ↓ | ↓ |
| posthepatální | obstrukční | ↑ konj. | + | - | - |

Novorozenecká hyperbilirubinemie

- zvýšený zánik erytrocytů
- nedokonalé jaterní konjugační a transportní systémy
- nekonjugovaná hyperbilirubinemie
- vrchol v prvních pěti dnech, téměř u 1/2 novorozenců