

# Hemoglobin

© Biochemický ústav LF MU (MK, ET) 2018



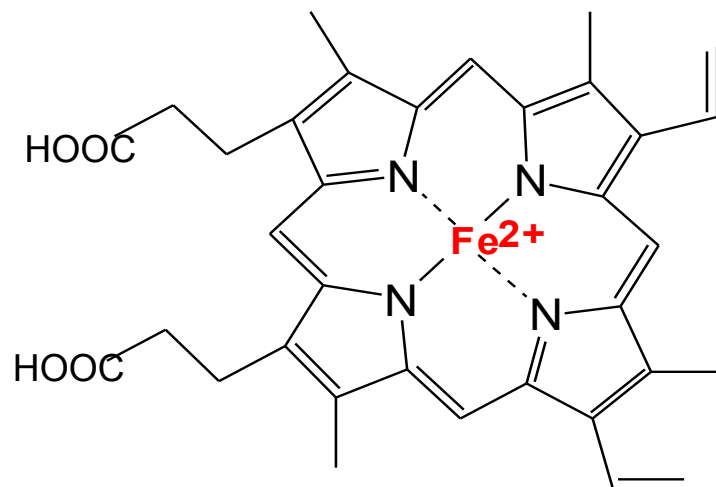
# Hemoglobin

Složená bílkovina - **hemoprotein**

- bílkovina = globin
- nebílkovinná část = hem:

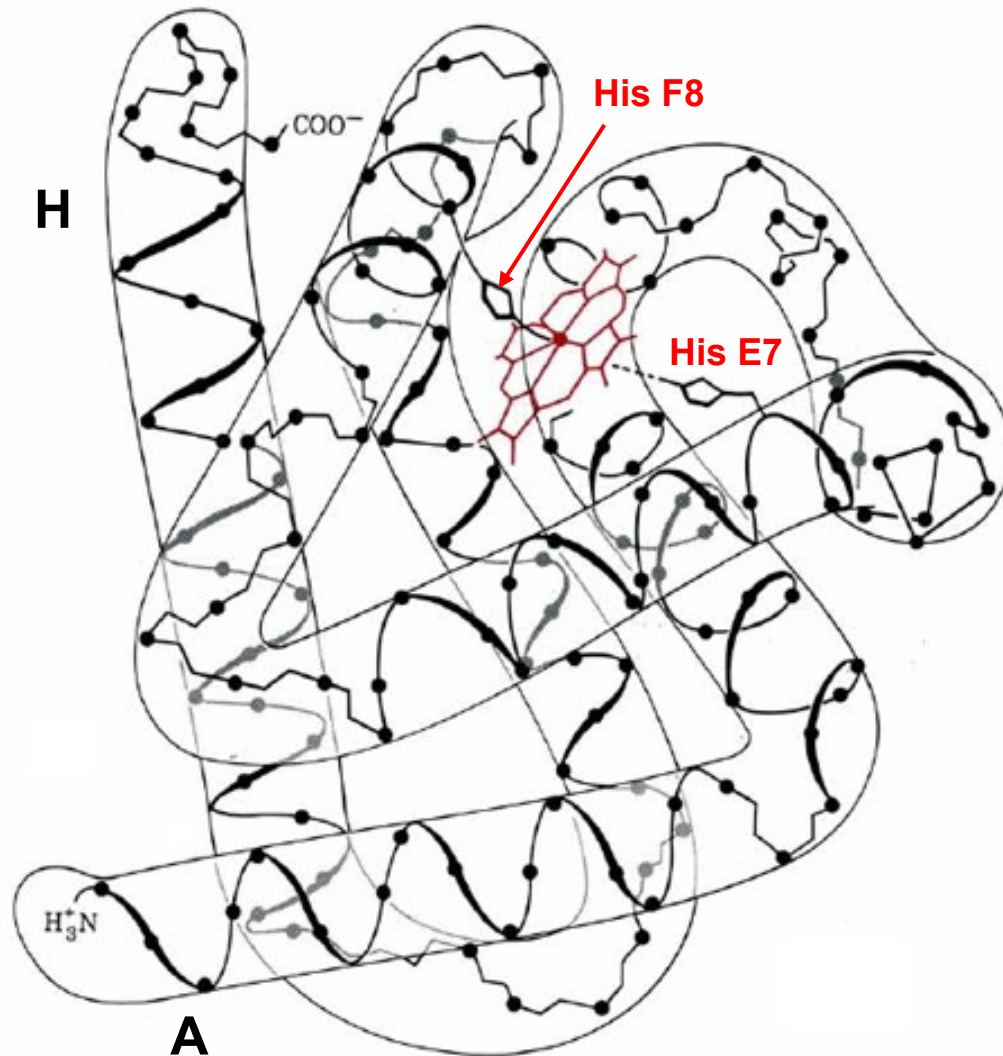
tetrapyrolové jádro

**Fe<sup>2+</sup>** !



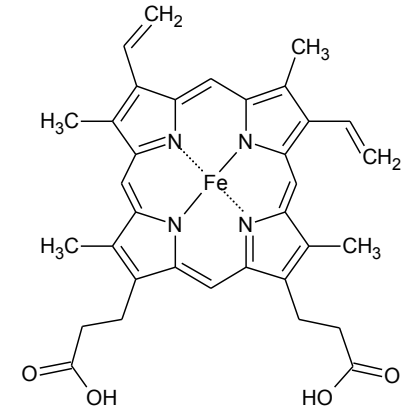
Koncentrace hemoglobinu v krvi: 120 – 175 g/l

# Sekundární a terciární struktura globinů



# Struktura hemu

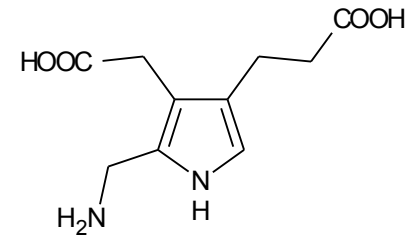
- Prostetická skupina řady hemoproteinů (hemoglobin, myoglobin, cytochromy, hemové enzymy)
- Hem je chelát protoporphyrinu (cyklického tetrapyrrolu) a kationtu železa
- Čtyři pyrrolové kruhy jsou spojeny methinovými -CH= můstky
- Hemoglobin: na pyrrolech jsou různé substituenty: 4x methyl, 2x vinyl, 2x propionát (hemy jiných hemoproteinů mají jiné substituenty)
- Protože celý skelet obsahuje systém konjugovaných dvojných vazeb, hem je sloučenina **planární** a **intenzivně červená**
- Hem je vázán na globin pomocí His F8, oxyHb má jako šestý ligand dikyslík, His E7 napomáhá koordinaci dikyslíku
- Hem je v hydrofobní kapse – ochrana před oxidací  $\text{Fe}^{2+}$



# Syntéza a katabolismus hemu

## Syntéza

- 70-80 % kostní dřeň (hemoglobin), 15 % játra (cytochrom P450 aj.)
- glycin + sukcinyl-CoA →→ **porfobilinogen** (= substituovaný pyrrol)
- 4 porfobilinogen →→ **protoporfyrin** →→ hem

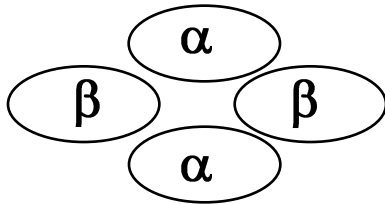


## Katabolismus

- RES (slezina, kostní dřeň, Kupferovy buňky v játrech)
- oxidační rozštěpení cyklického tetrapyrrolu na lineární tetrapyrrol
- hem →→ biliverdin + **CO** + Fe<sup>2+</sup> (katalyzuje: hemoxygenasa)
- biliverdin →→ **bilirubin** (žlučové barvivo)

# Hemoglobin je tetramer

4 podjednotky globinu: podjednotky  $\alpha$  a  $\beta$

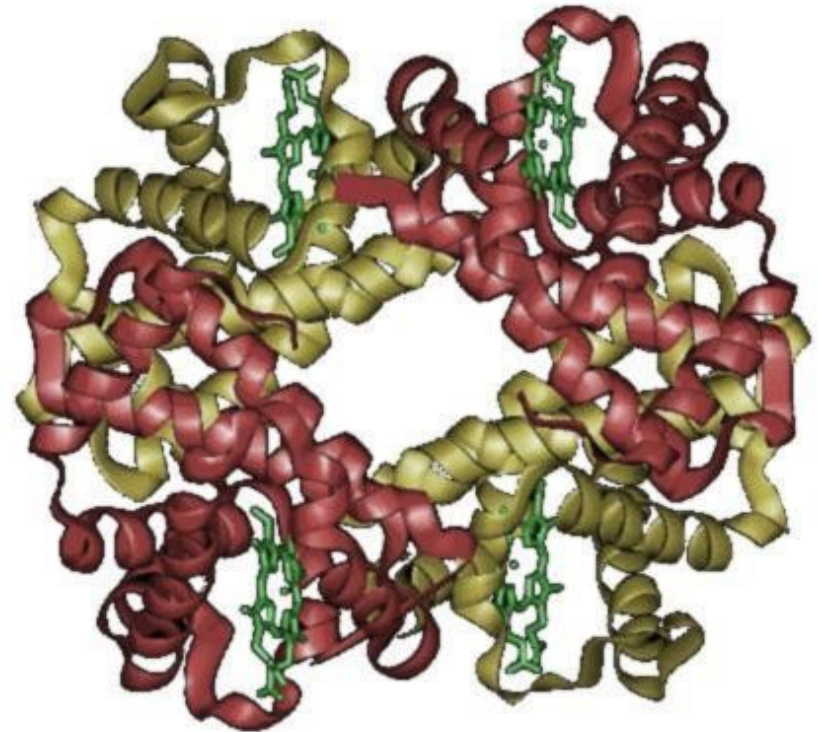


HbA - složení  $\alpha_2\beta_2$   
(hlavní hemoglobin dospělých)

Genetická informace: řetězce  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\delta$

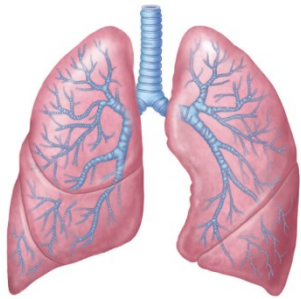
Typy hemoglobinu: HbA<sub>2</sub> ( $\alpha_2\delta_2$ )

HbF ( $\alpha_2\gamma_2$ )

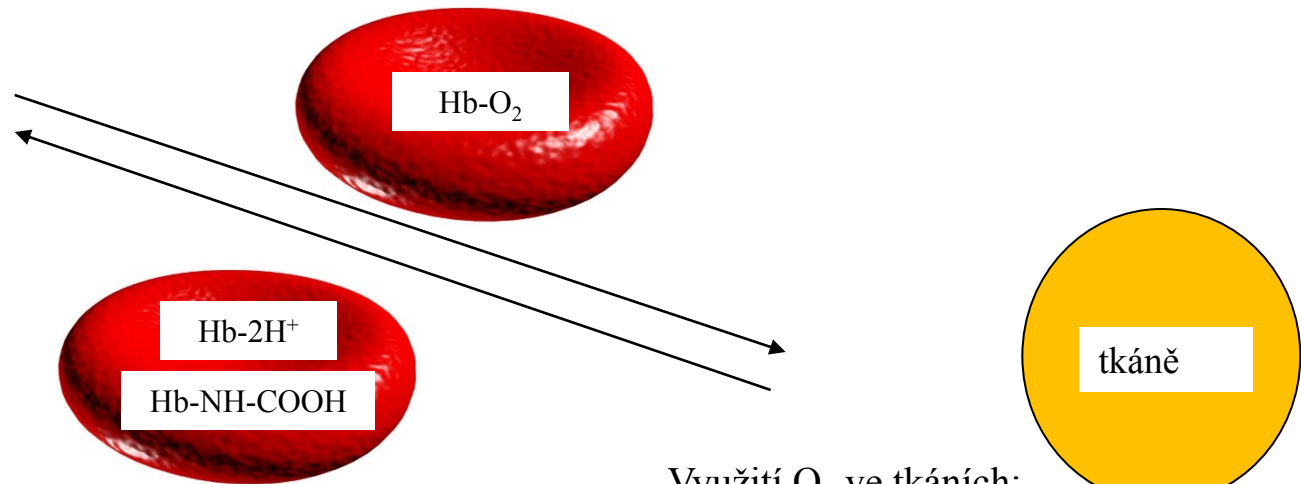


# Transportní funkce hemoglobinu

- Transport  $O_2$  z plic do tkání
- Transport  $H^+$  a malého množství  $CO_2$  ze tkání do plic



$O_2$  ve vzduchu: 21%  
 $pO_2$  ve vzduchu: 21 kPa  
 $pO_2$  v alveolech: 13-15 kPa

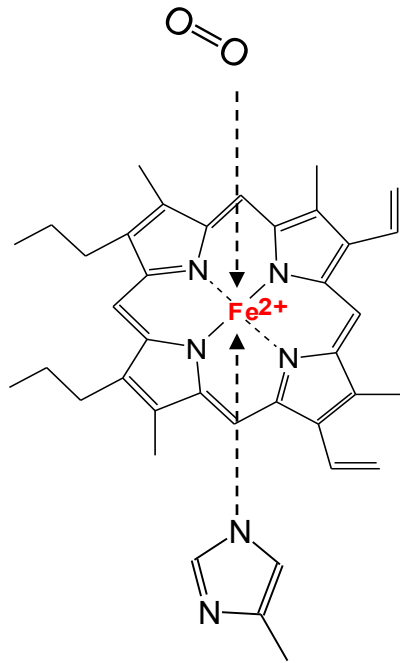


Využití  $O_2$  ve tkáních:

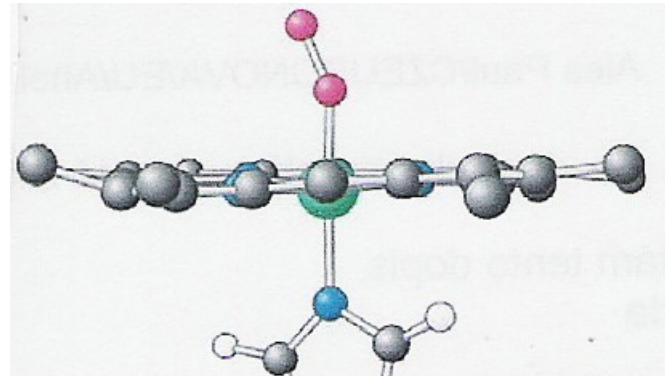
- Dýchací řetězec
- Hydroxylace
- Produkce ROS

# Transport kyslíku

vazba  $O_2$  na hemoglobin - na  $Fe^{2+}$



Peptidový řetězec globinu



$Fe^{2+}$  váže 6 ligandů: čtyři vazby na N pyrrolů  
pátá vazba na His globinu  
šestá vazba na dikyslík



Vazba kyslíku v plicích – **transport** – uvolnění kyslíku v tkáních

**oxyhemoglobin**



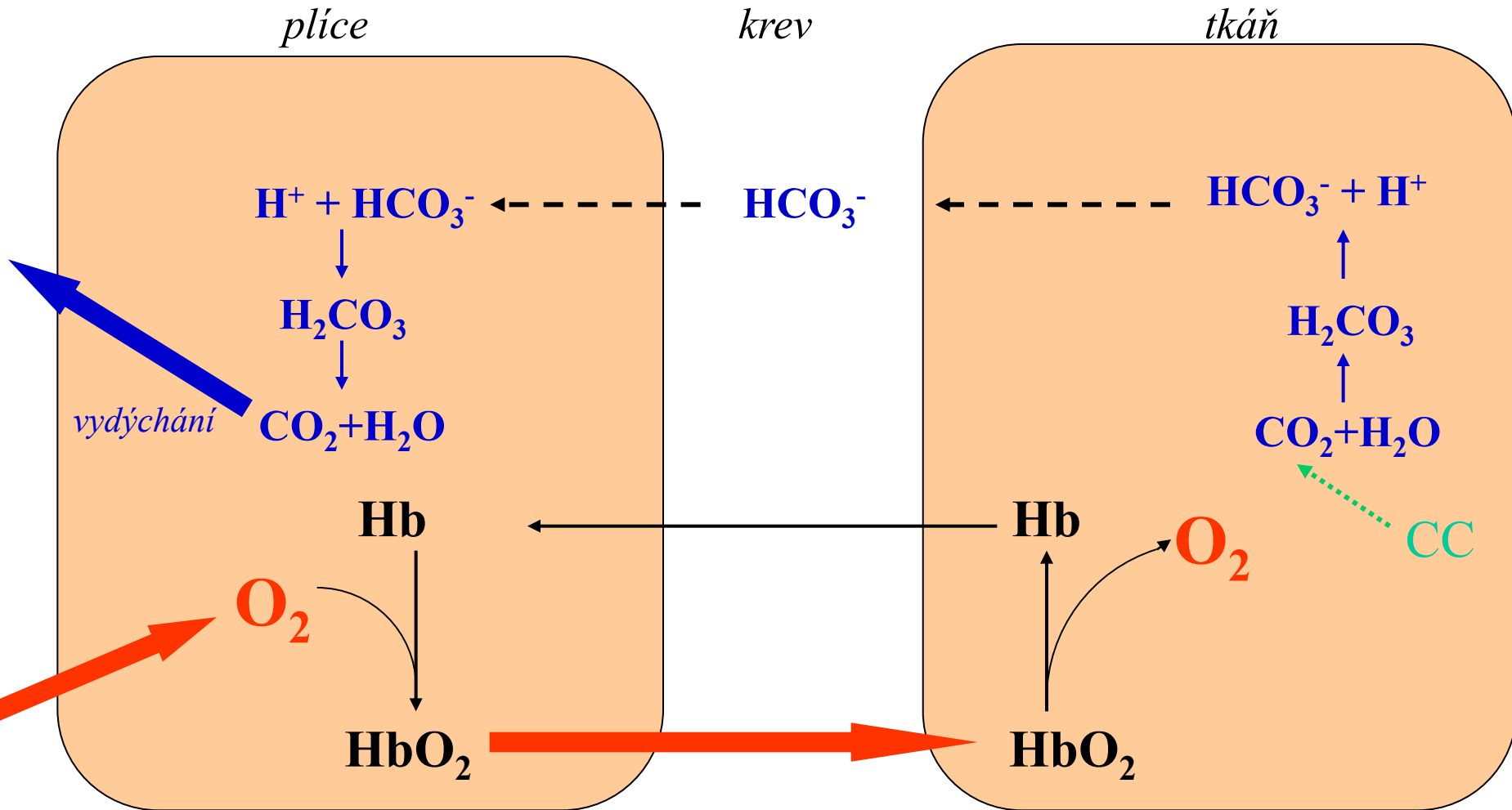
**deoxyhemoglobin**

**HbO<sub>2</sub>**

**Hb**

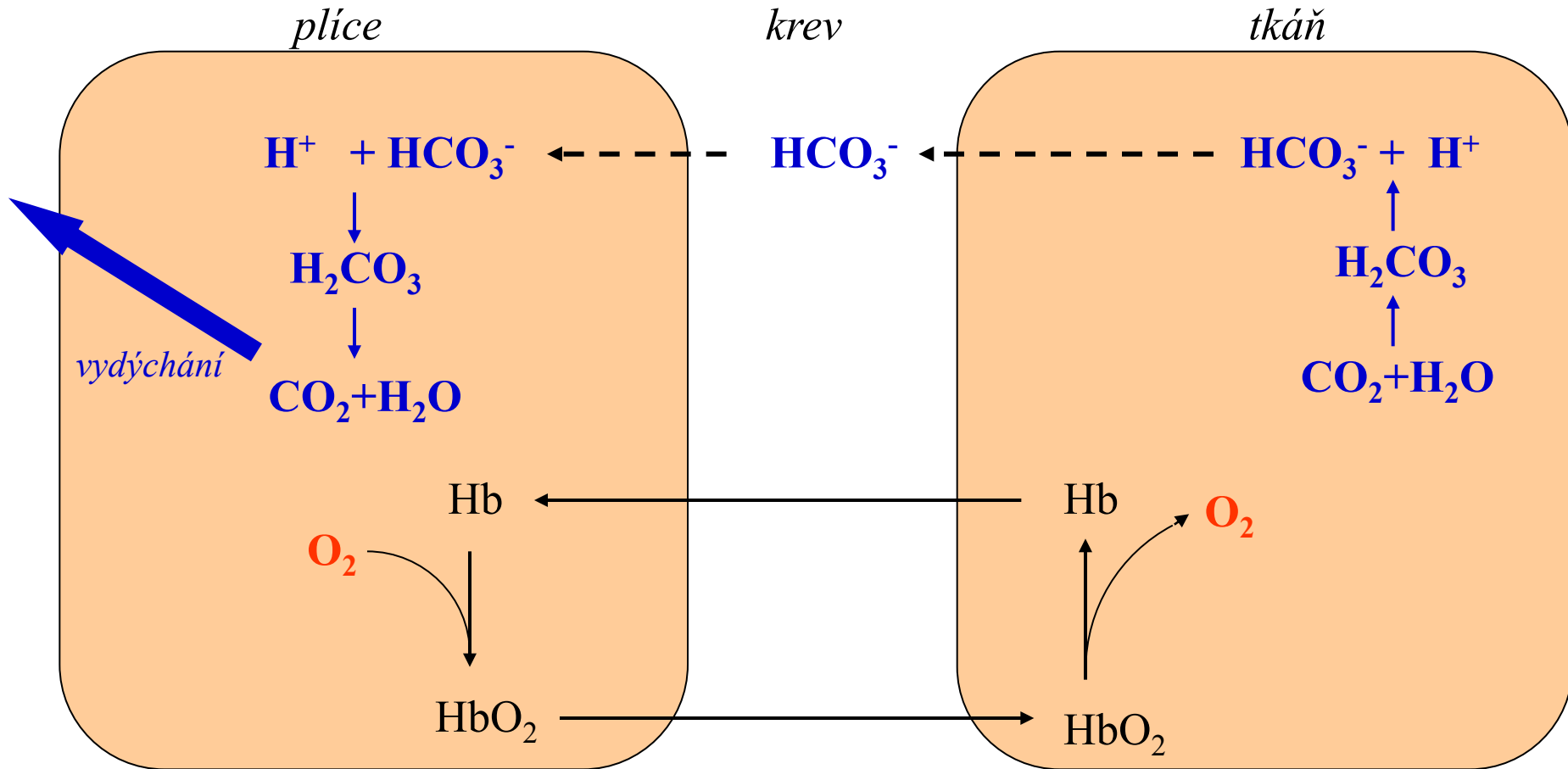


# Zjednodušené schéma transportu $O_2$ a $CO_2$ mezi plícemi a tkáněmi



Uvolnění  $O_2$  z  $HbO_2$  v tkáních je podporováno <sup>10</sup> 2,3-bisfosfoglycerátem

# Zjednodušené schéma transportu CO<sub>2</sub> mezi plícemi a tkáněmi



HbO<sub>2</sub> uvolňuje  $\text{H}^+$ ,  
které reagují s  $\text{HCO}_3^-$

Hb váže  $\text{H}^+$ , které se  
uvolnily disociací  $\text{H}_2\text{CO}_3$

**Hb funguje také jako pufr.**

# Transport plynů krví

**transport O<sub>2</sub>**

**transport CO<sub>2</sub>**

HbO<sub>2</sub>

ve formě HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> 85 %

vázaný na bílkoviny (karbaminoHb) 10 %

fyzikálně rozpuštěný 5 %

## Deriváty hemoglobinu

Karbaminohemoglobin (Hb-NH-COOH)

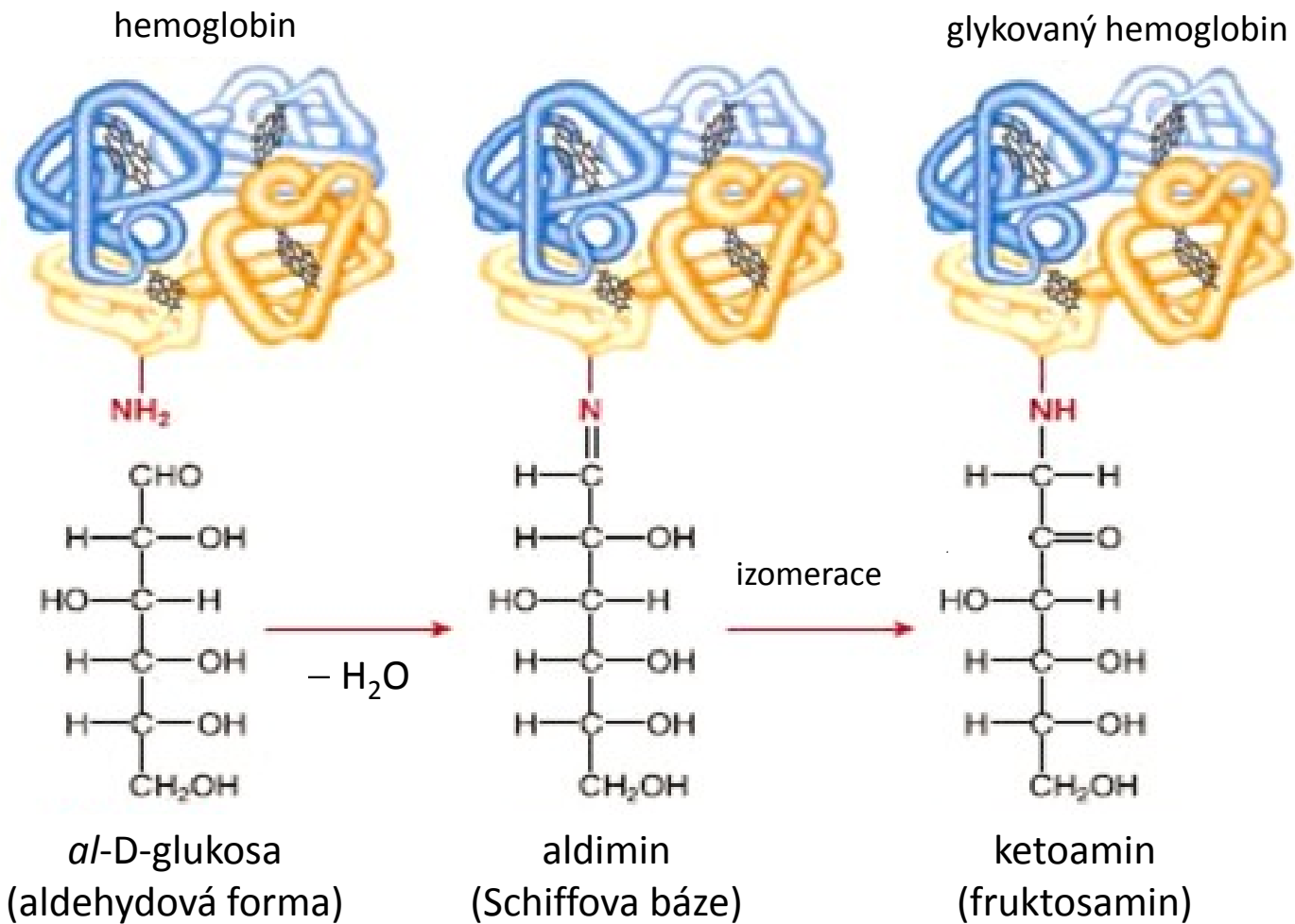
Glykovaný hemoglobin (HbA<sub>1c</sub>)

Karbonylhemoglobin (Hb-CO)

Methemoglobin (Hb-Fe<sup>3+</sup>)

Vznikají fyziologicky v malém množství.

# Glykovaný hemoglobin vzniká neenzymovou reakcí



# Glykovaný hemoglobin jako analyt

- **HbA<sub>1c</sub>** – nejdůležitější frakce glykovaného hemoglobinu A

## Význam stanovení HbA<sub>1c</sub>

- Množství HbA<sub>1c</sub> odráží koncentraci glukosy v krvi po celou dobu existence erytrocytu, tj. asi 120 dní, a využívá se proto k posouzení úspěšnosti léčby/kompenzace diabetu v období přibližně 8 týdnů před vyšetřením.
- Výhoda: není nutné lačnění, odběr lze provést kdykoliv (na rozdíl od FPG, *fasting plasma glucose*, nebo oGTT).

## Referenční interval (dospělí)

HbA <sub>1c</sub> (mmol/mol)	Interpretace
20 – 42	fyziologické hodnoty
43 – 53	kompenzovaný diabetes
> 53	dekompenzovaný diabetes, nutná změna léčby

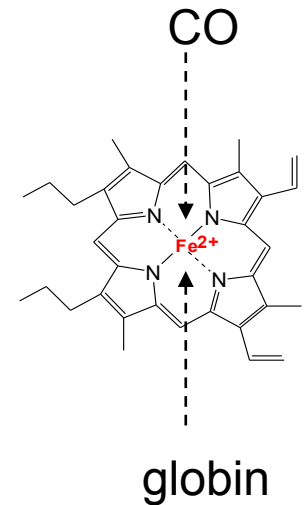
# Zábrana transportu kyslíku

- **karbonylhemoglobin - HbCO**

vazba **CO** na hemoglobin

- **methemoglobin**

oxidovaná forma hemoglobinu (obsahuje **Fe<sup>3+</sup>**)





# Karboxylhemoglobin

## HbCO

- vazba CO na hemoglobin (na  $\text{Fe}^{2+}$ )
- CO se váže pevněji než  $\text{O}_2$  (až 200x)
- karmínově červené zbarvení
- otrava CO !

prostředí obsahující 0,1% CO – smrtelná koncentrace



- terapie – ventilace s vysokým  $\text{pO}_2$ , hyperbarická léčba

# Příznaky otravy CO

Hodnoty HbCO v % (*)	Příznaky
10	Při větší námaze dušnost
20 - 40	Bolesti hlavy, dušnost, únava, zvracení
40 - 60	Hyperventilace, tachykardie, křeče
60 - 80	Kóma, smrt

\* - hodnoty HbCO v % z celkového Hb

# Karboxylhemoglobin v krvi

Jedinec	HbCO (%) *
Novorozenec	0,4
Dospělý (venkov)	1-2
Dospělý (město)	4-5
Kuřák	10-12
Dopravní policista	12-15

\* - % HbCO z celkového hemoglobinu (Hb)

# Methemoglobin

- oxidovaná forma hemoglobinu (obsahuje  $\text{Fe}^{3+}$ )
- **nepřenáší  $\text{O}_2$**
- vznik: působení - chlorečnanů, dusitanů, dusičnanů
- odstranění methemoglobinu: enzymaticky  
(methemoglobinreduktasa)
- **methemoglobinemie**: ohroženi jsou především kojenci  
(limit pro  $\text{NO}_3^-$  v pitné vodě = 50 mg/l)

# Methemoglobin v krvi

(Procenta z celkového hemoglobinu)

<b>Hb-Fe<sup>3+</sup> (%)</b>	<b>Komentář</b>
Pod 15 %	většinou bez obtíží
15 – 20 %	cyanóza, mírné obtíže, bolest hlavy, dušnost
20 – 45 %	výrazná cyanóza
45 – 70 %	tmavě čokoládová cyanóza, pod nehty, na rtech, ušních boltcích
Nad 70 %	letální průběh

# Hemoglobinopathie a další choroby

Porucha	Biochemická podstata
Sideropenická anémie	nedostatečný příjem nebo ztráty Fe, nejčastější anémie
Megaloblastická anémie	<ul style="list-style-type: none"><li>• snížená absorpce vitamínu B<sub>12</sub> (nejčastěji deficit vnitřního faktoru)</li><li>• deficit folátu (snížený příjem, absorpce, zvýšená potřeba)</li></ul>
Srpková anémie	bodová mutace, abnormální hemoglobin S
Methemoglobinemie	zvýšená koncentrace methemoglobinu, vrozená nebo získaná
Thalasemie	mutace v genu pro $\alpha/\beta$ -řetězec

# Hemoglobin jako analyt

$M$  (tetramer) = 64 000 g/mol

Muži	135 – 175 g/l	2,1 – 2,7 mmol/l
Ženy	120 – 160 g/l	1,9 – 2,5 mmol/l
Snížené hodnoty	<ul style="list-style-type: none"><li>• nadměrný rozpad erytrocytů (hemolytická anémie, hemoglobinopatie)</li><li>• snížená produkce hemoglobinu (např. thalasemie)</li><li>• krvácení do zažívacího traktu (vředová choroba aj.)</li><li>• poruchy výživy jako nedostatek železa, kys. listové a vitamínu B<sub>12</sub></li><li>• poškození nebo onemocnění kostní dřeně</li><li>• selhání ledvin (nedostatečná produkce erytropoetinu)</li></ul>	
Zvýšené hodnoty	<ul style="list-style-type: none"><li>• polycytemia vera (nadměrná tvorba erytrocytů)</li><li>• nádory ledvin produkující nadbytek erytropoetinu</li><li>• pobyt ve vysokých nadmořských výškách (kompenzace nízkého pO<sub>2</sub>)</li><li>• dehydratace</li></ul>	

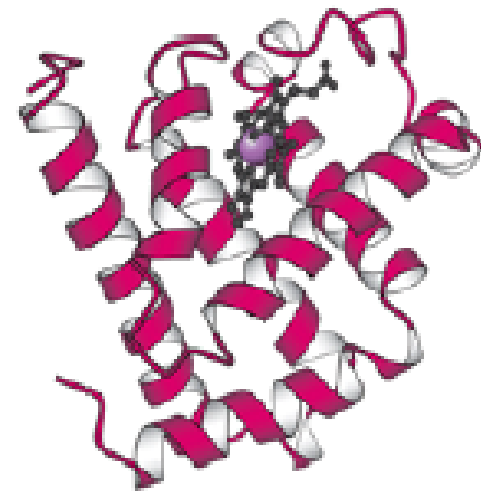
# Myoglobin

- monomer

1 globin, 1 hem

(Fe<sup>2+</sup>)

- vazba kyslíku
- svaly, srdce

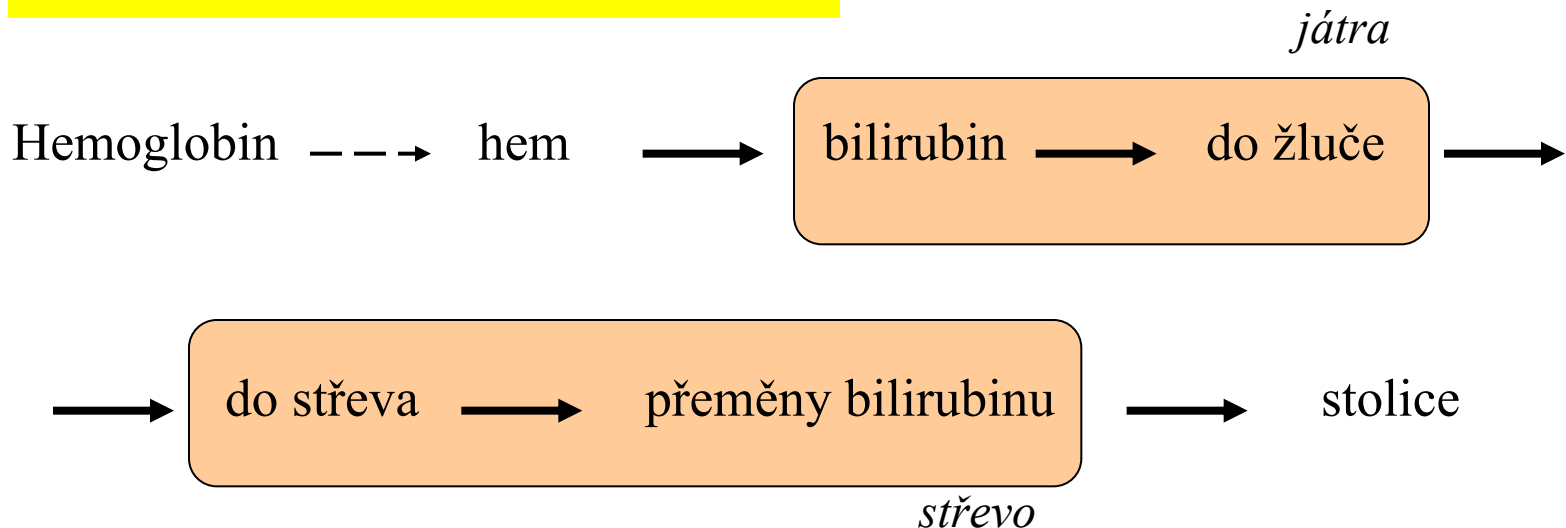




# Odbourání hemoglobinu

- probíhá v retikuloendotelovém systému (RES):  
slezina, kostní dřeň, játra
- erythrocyty: doba života 120 dní  
rozpad ery, uvolňuje hemoglobin  
odbourání hemoglobinu

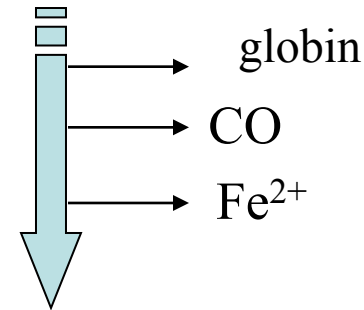
## Základní schéma odbourání



# Přeměna hemoglobinu na bilirubin

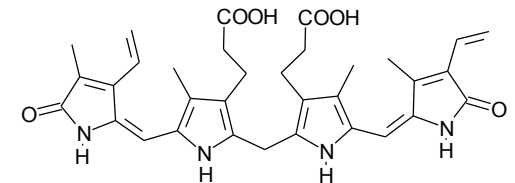
- z hemoglobinu se odštěpuje:
  - globin, CO, Fe<sup>2+</sup>
- uvolňuje se hem
- degradace hemu:
  - biliverdin – zelený →
  - bilirubin - oranžový (nekonjugovaný)
- nekonjugovaný bilirubin –
  - transport do jater (ve vazbě na albumin)

**hemoglobin**



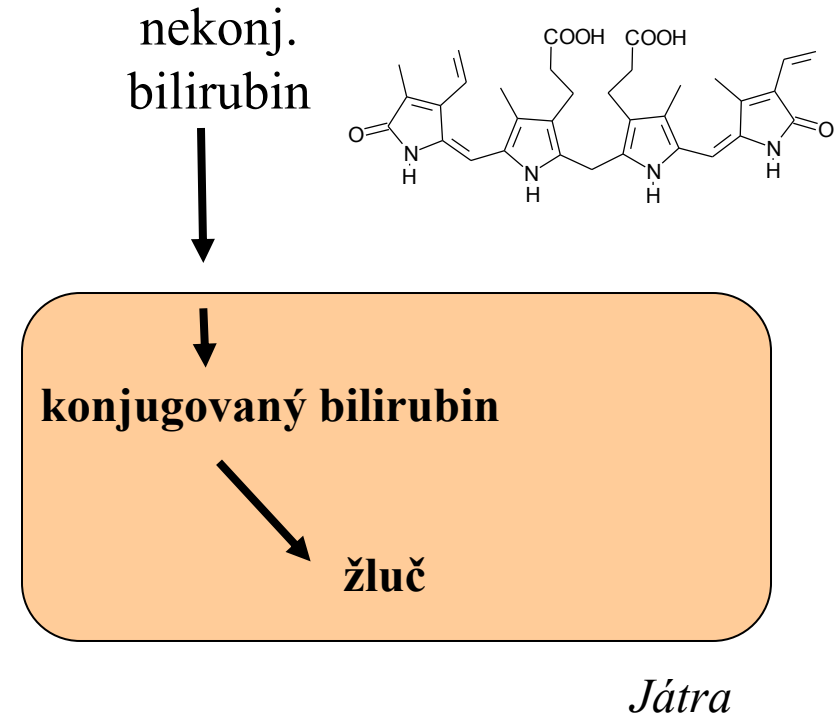
**hem**

**bilirubin**



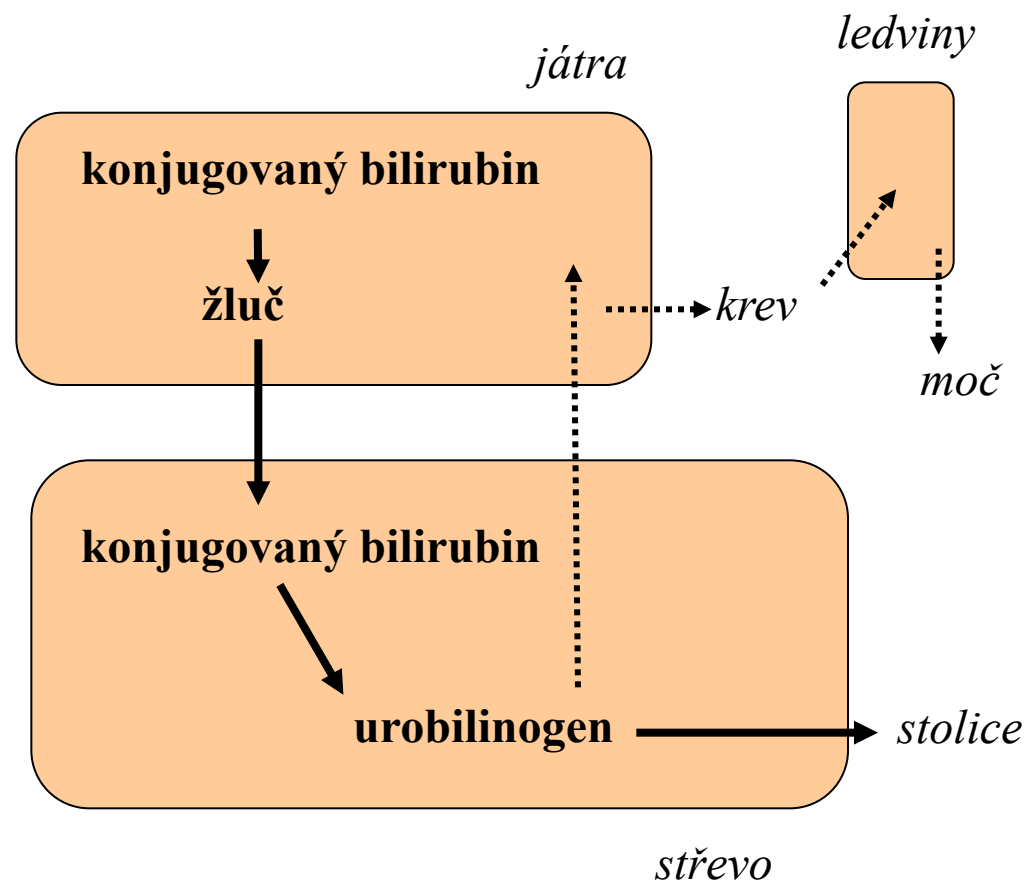
# Tvorba konjugovaného bilirubínu

- nekonj. bilirubin vstupuje do jater
- **játra:**
  - vznik konjugovaného bilirubínu
  - konjugace bilirubínu s kyselinou glukuronovou
  - vylučuje se do žluče



# Vylučování a přeměny konjugovaného bilirubinu

- konjugovaný bilirubin se dostává do žluče a pak do střeva
- **střevo:**
  - přeměna na urobilinogen a pak na další produkty
  - vyloučení degradačních produktů bilirubinu (urobilinogenu) stolicí
  - část urobilinogenu zpět do jater, poté opět do žluče
  - malé množství urobilinogenu přechází do krve



# Hyperbilirubinemie



Ikterus - žloutenka

Zvýšená koncentrace celkového bilirubinu v séru

## Příčina

## Typ hyperbilirubinemie

- zvýšené odbourání hemoglobinu ..... **hemolytický**  
nekonjugovaný bilirubin ↑
- porucha ve funkci jater ..... **hepatocelulární**  
konjugovaný i nekonjug bilirubin ↑
- snížená propustnost žlučovodů ..... **obstrukční**  
konjugovaný bilirubin ↑

# Novorozenecká žloutenka

- nezralost jaterního systému
- zvýšená hladina nekonjugovaného bilirubinu
- fototerapie

