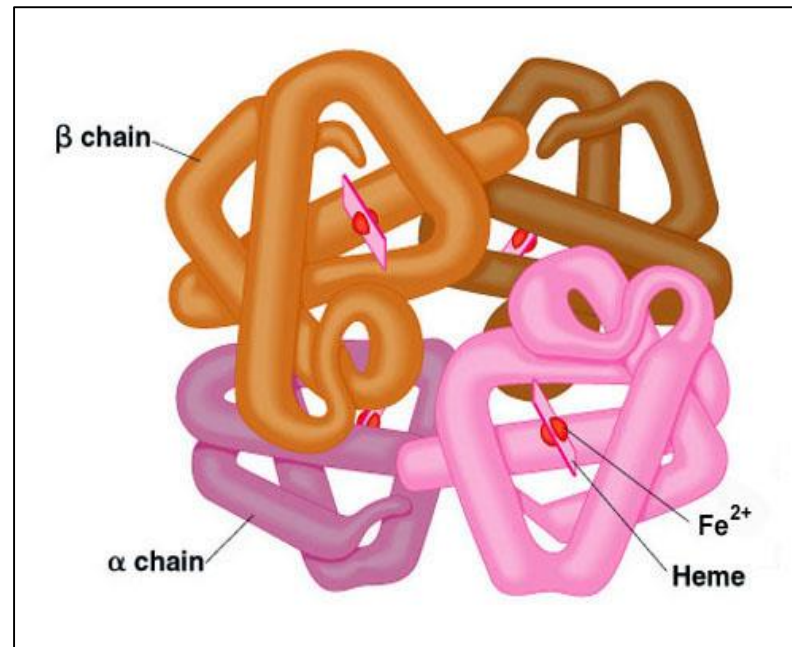


## 2.3 Struktura, funkce a metabolismus hemoglobinu a myoglobinu



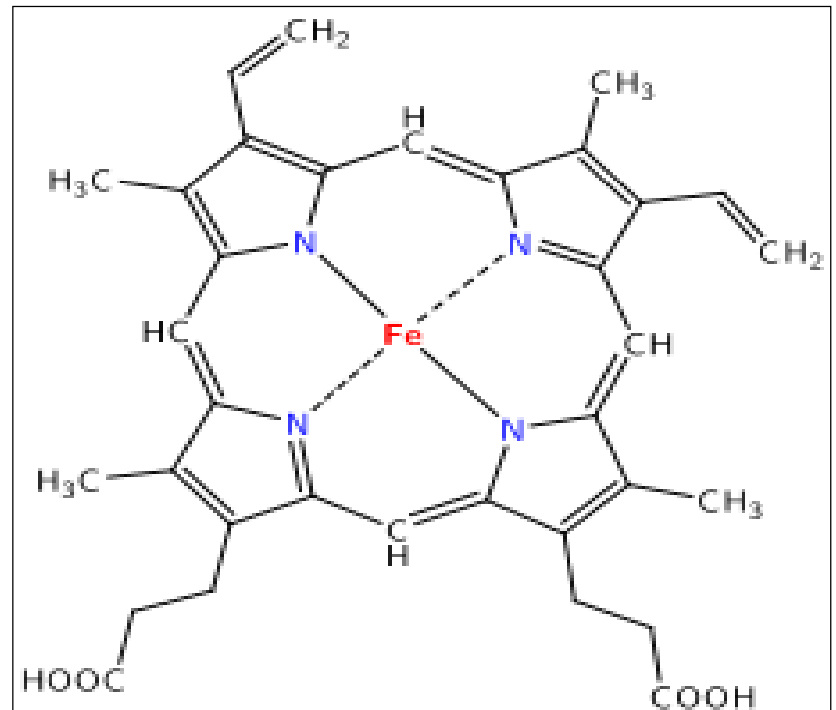
# 2.3 FUNKCE PROTEINŮ

- Funkce mnoha proteinů zahrnuje reverzibilní **vazby** další molekuly
- LIGAND
- VAZEBNÉ MÍSTO (BINDING SITE)
- VAZBA LIGANDU NA PROTEIN - často spojena se změnou konformace
- KOOPERATIVNÍ EFEKT
- ALOSTERICKÝ EFEKT
- Protein: - ligand  
- vazebné místo
- Enzymy: - substrát  
- aktivní místo

# Struktury obsahující hem

## Hemoproteiny

- **Hemoglobin (Hb)**
- **Myoglobin (Mb)**
- **Cytochromy**
- **Kataláza** (rozklad  $\text{H}_2\text{O}_2$  na  $\text{H}_2\text{O}$  a  $\text{O}_2$ )
- **Peroxidázy**



Cyklický tetrapyrrol  
Fe, Cu , Mg

# Reverzibilní vazba proteinu na ligand

## Kyslík vázající proteiny

- **MYOGLOBIN, HEMOGLOBIN**
- $O_2$  špatně rozpustný ve vodných roztocích, difúze pouze několik milimetrů
- AK neváží  $O_2$
- Evoluce- proteiny transportující a uchovávající  $O_2$
- Hemoproteiny (hem, reverzibilní vazba  $O_2$ )
- Hem-  $Fe^{2+}$

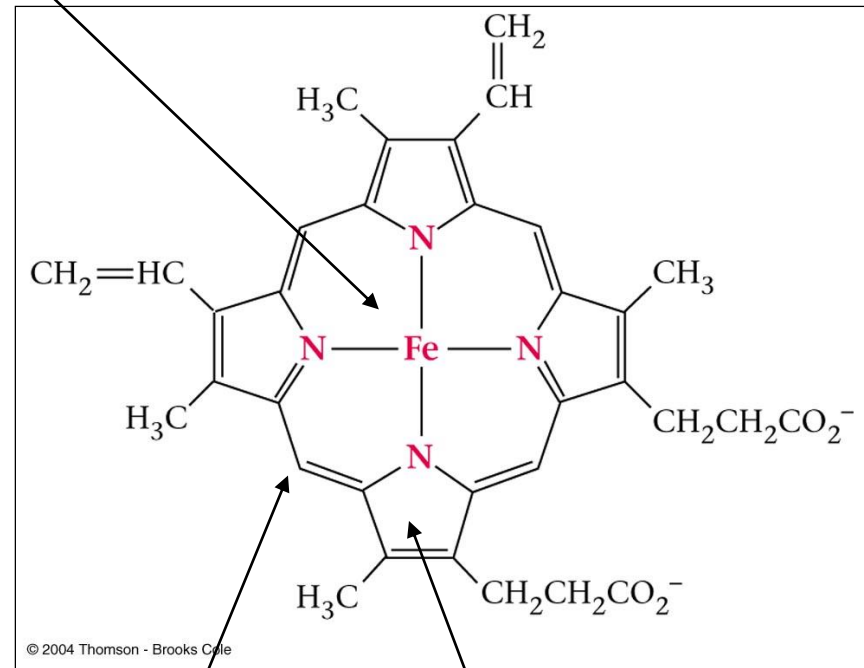


# Struktura hemu

## Hem je metaloporfyrin (cyklický tetrapyrrol)

Hem obsahuje:

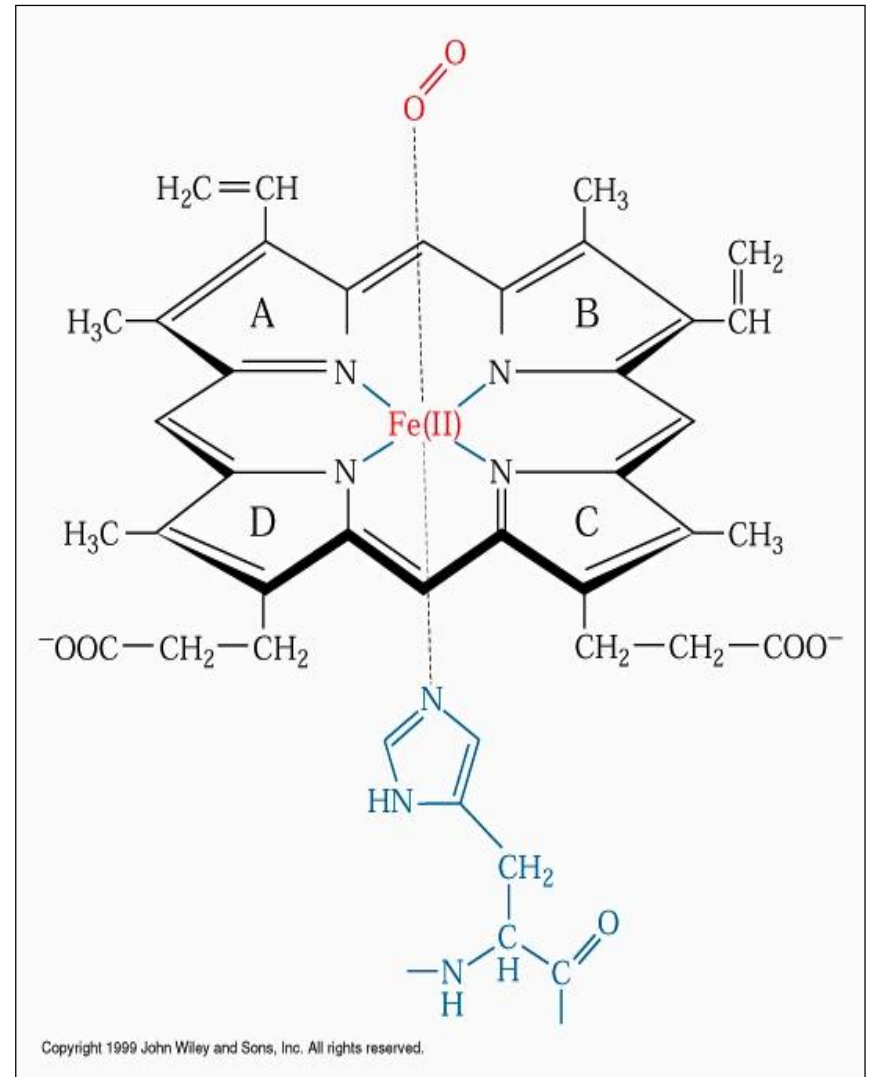
- konjugovaný systém dvojných vazeb → **červené zbarvení**
- 4 atomy dusíku (N)
- 1 železnatý kation ( $\text{Fe}^{2+}$ )  
→ vázán uprostřed tetrapyrrolového skeletu koordinačně kovalentními vazbami



methinový můstek    pyrrol

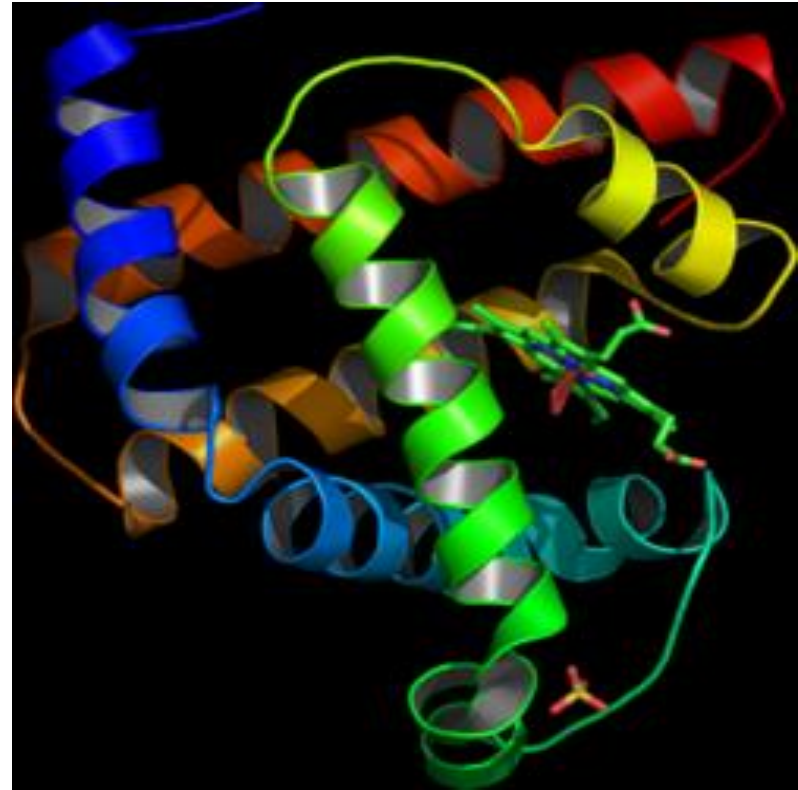
# Vlastnosti železa v hemu

- **Koordinální číslo železa v hemu = 6**
- 6 vazeb:
- 4x pyrolový kruh
- 1x vazba na protein
- 1x vazba kyslíku



# Myoglobin (Mb)

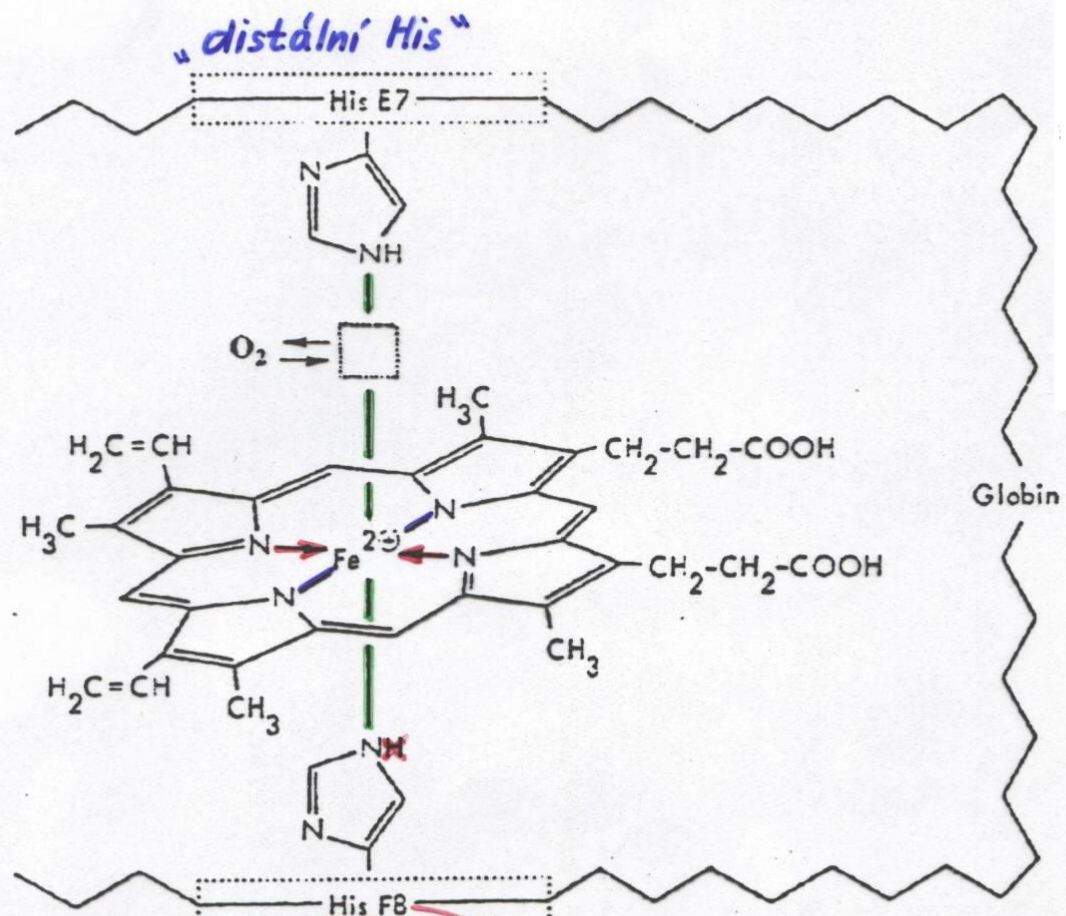
- je jednovláknový globulární protein  
(153 aminokyselin, 17 kDa)  
obsahující **1 hem**
- Uchovává a transportuje  $O_2$  v  
**kosterním a srdečním svalu**
- obsažen v cytosolu buněk
- slouží jako marker poškození  
myokardu při ICHS
- $\alpha$ -helix 75% molekuly, A-H (8  
 $\alpha$ -helixů),
- povrch polární,
- uvnitř nepolární až na His E7-  
distální, His F8-proximální ,  
**HYDROFOBNI KAPSA**



*Obrázek byl převzat z <http://en.wikipedia.org/wiki/Myoglobin>*

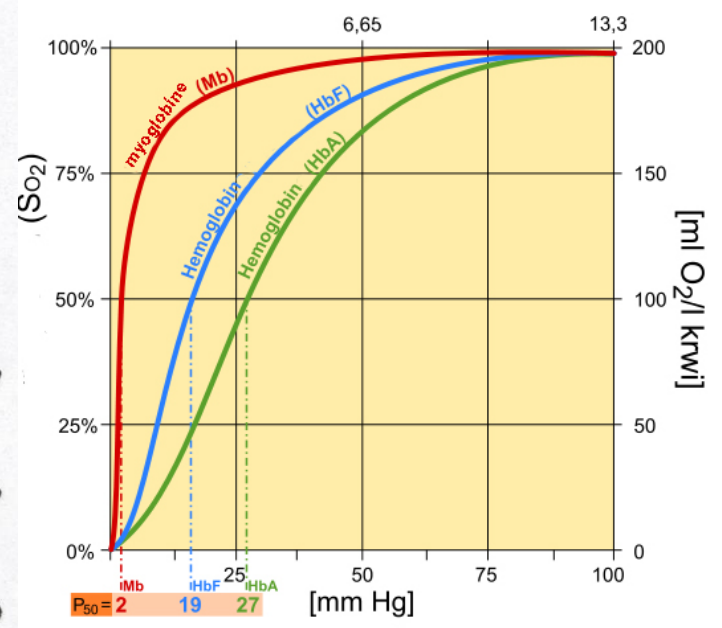
# Struktura hemu

## TEST



*"proximální His"*

8. aminokyselina úseku F je His





# Hemoglobin (Hb)

- je hemoprotein přítomný v cytoplazmě erytrocytů
- transportuje  $O_2$  a  $CO_2$  mezi plícemi a různými tkáněmi
- hem náleží mezi cyklické tetrapyroly (porfyriny)
  
- fyziologické koncentrace Hb v krvi:

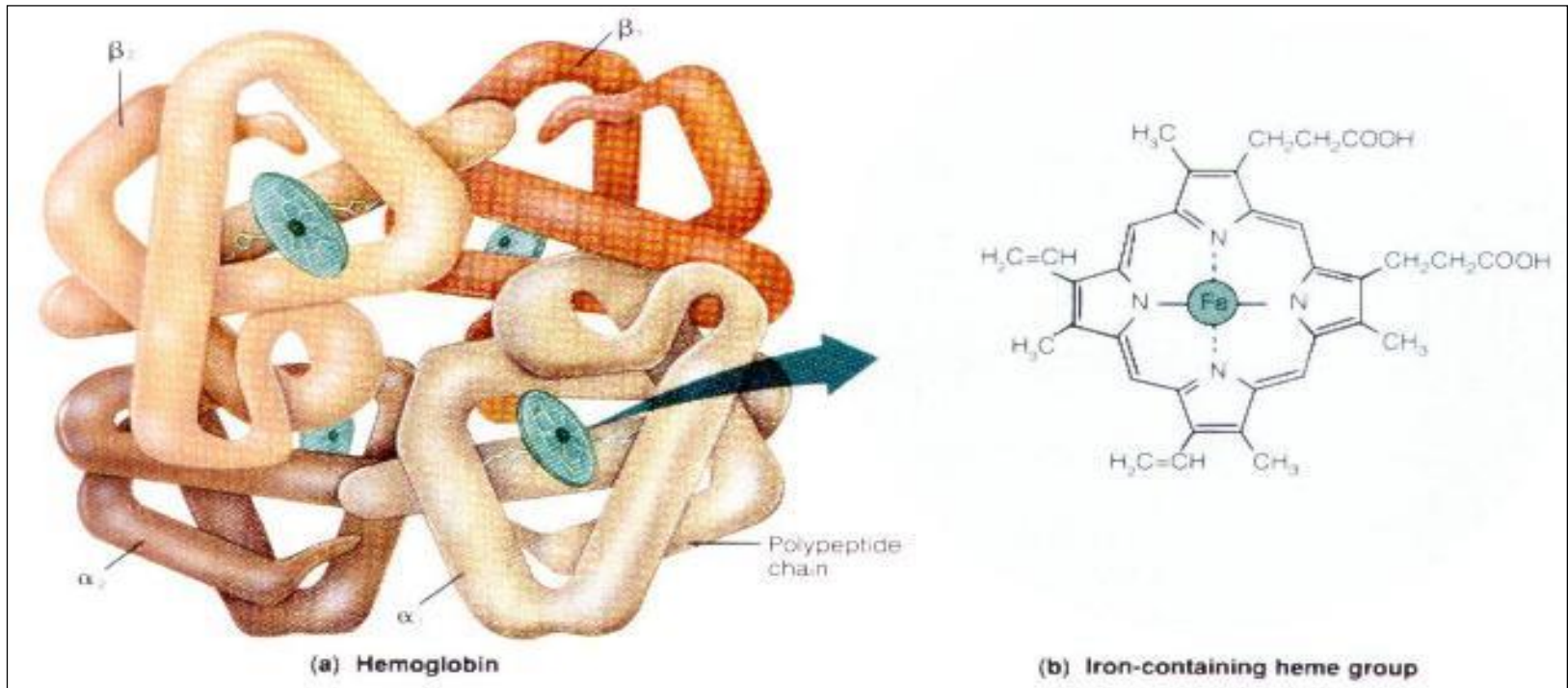
Dospělí jedinci:

muži 135 - 175 g/l

ženy 120 - 168 g/l

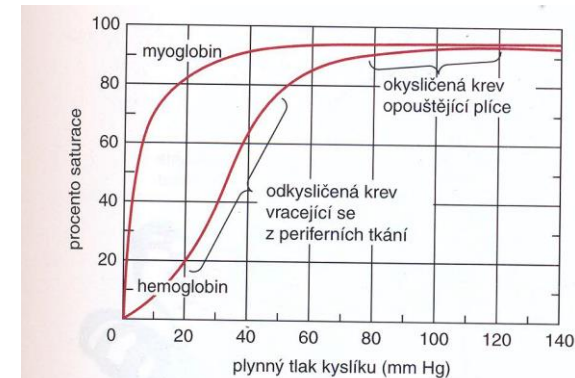
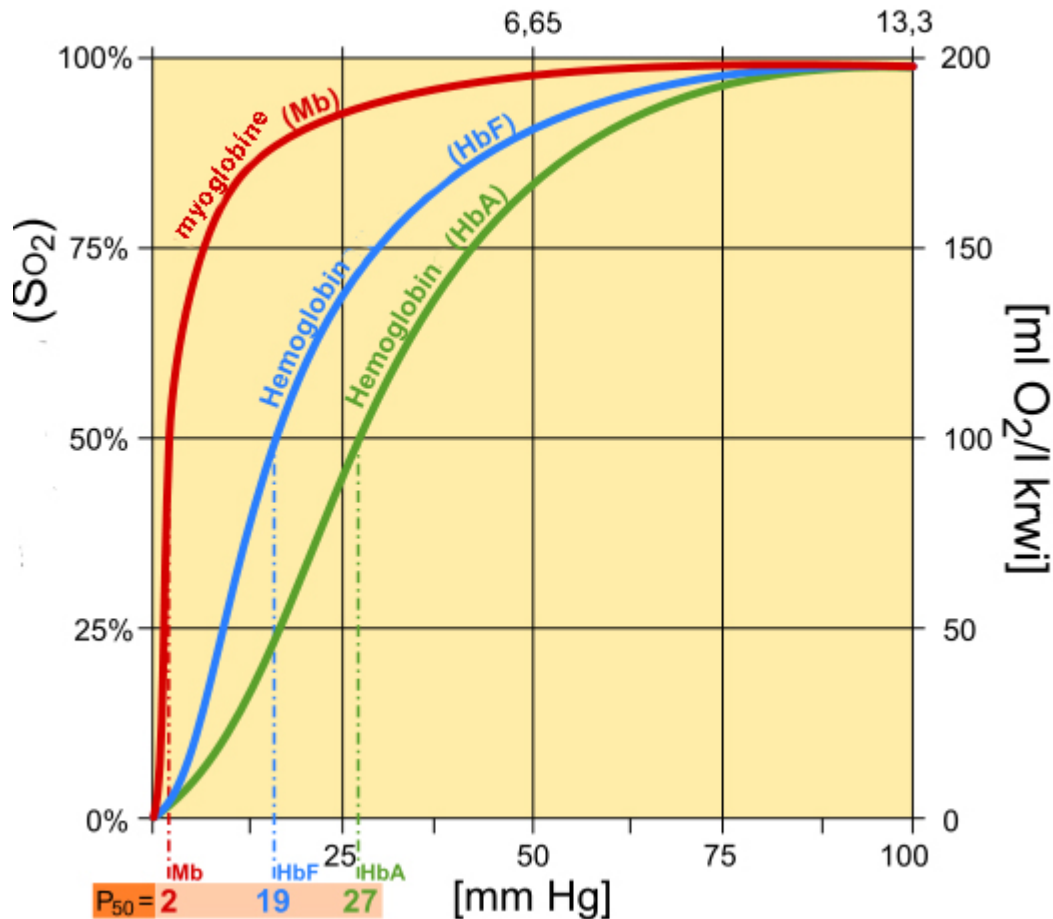
# Struktura hemoglobinu

- sférická molekula skládající se ze 4 peptidových podjednotek (globinů) = **kvartérní struktura**
- Hb dospělých jedinců (Hb A) je tetramer obsahující 2  $\alpha$ - a 2  $\beta$ -globiny  $\rightarrow$  každý globin obsahuje **1 hemovou skupinu** s centrálním  $\text{Fe}^{2+}$  iontem



# Saturační křivky Myoglobinu a Hemoglobinu

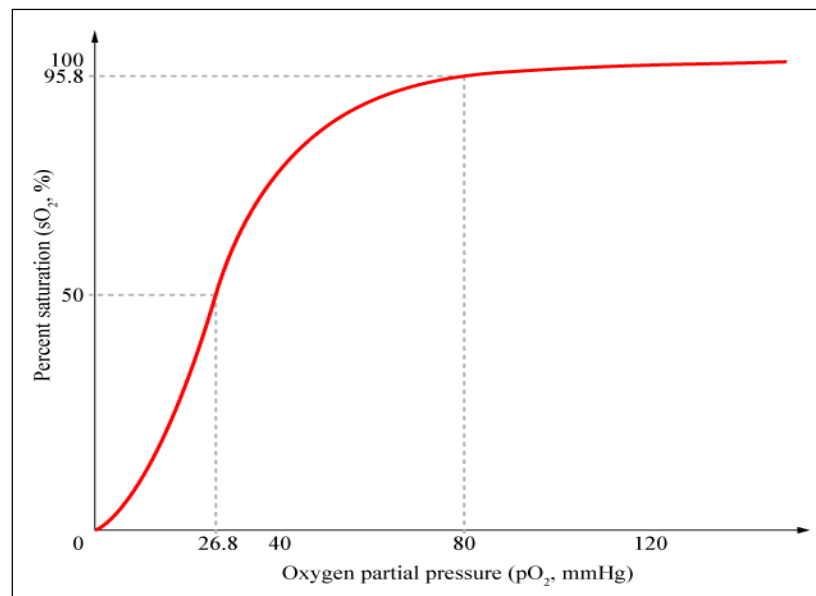
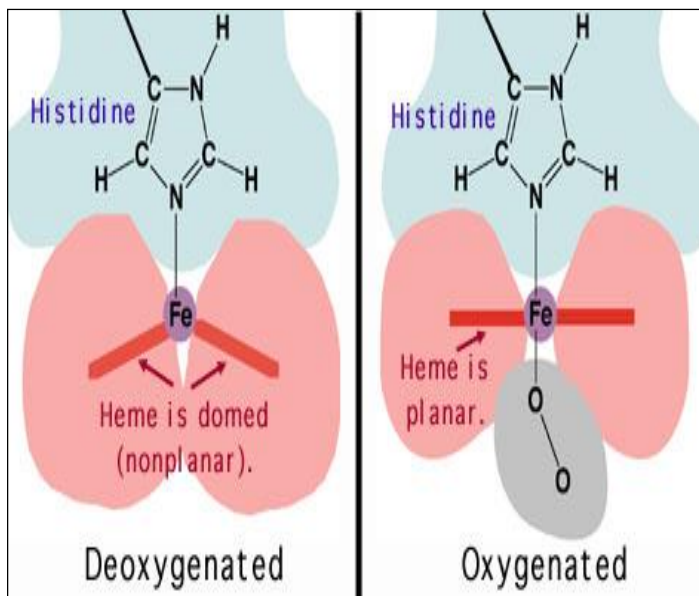
( $P_{O_2}$ )



**OBR. 6-4.** Křivky syčení kyslíkem pro hemoglobin a myoglobin. Tlak kyslíku v arteriích je asi 100 mm Hg; tlak ve smíšené venózní krvi je asi 40 mm Hg; kapilární tlak kyslíku (v aktivním svalu) je asi 20 mm Hg; minimální tlak kyslíku vyžadovaný pro cytochromoxidasu je asi 5 mm Hg. Spojování řetězců do tetramerní struktury (hemoglobin) umožňuje přenos kyslíku s mnohem větší účinností, než by bylo možné v případě jednotlivých řetězců. (Upraveno se svolením ze Scriver CR et al: *The Molecular and Metabolic Bases of Inherited Disease*. 7<sup>th</sup> ed. McGraw-Hill, 1995.)

**Alosterické vlastnosti  
Kooperativní efekt**

# Funkce hemoglobinu



- Hb je pufr (Hb/Hb-H<sup>+</sup>) v erythrocytech

- Hb je přenašeč O<sub>2</sub> a CO<sub>2</sub>

Vazba O<sub>2</sub> je kooperativní. Hb váže O<sub>2</sub> slabě při nižších pO<sub>2</sub> a silněji při vyšších pO<sub>2</sub>. Vazba první molekuly O<sub>2</sub> na Hb zesiluje možnost vazby dalších molekul O<sub>2</sub> → **allosterický efekt** → **esovitá (sigmoidální) saturační křivka Hb**

Obrázky byly převzaty z

<http://www.chemistry.wustl.edu/~edudev/labTutorials/Hemoglobin/MetalComplexinBlood.html>

<http://en.wikipedia.org/wiki/Hemoglobin>

# Hemoglobin, Tetramer, kooperativita

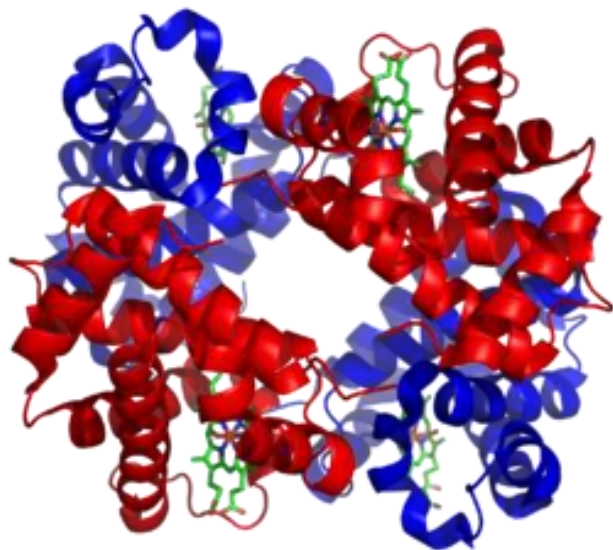
## Kvartérní struktura

Hemoglobin se skládá se **čtyř podjednotek** –  
dvou podjednotek  $\alpha$  a dvou podjednotek  $\beta$ .

Mezi podjednotkami existují dva typy  
interakcí:

- hydrofobní**
- elektrostatické**

TEST



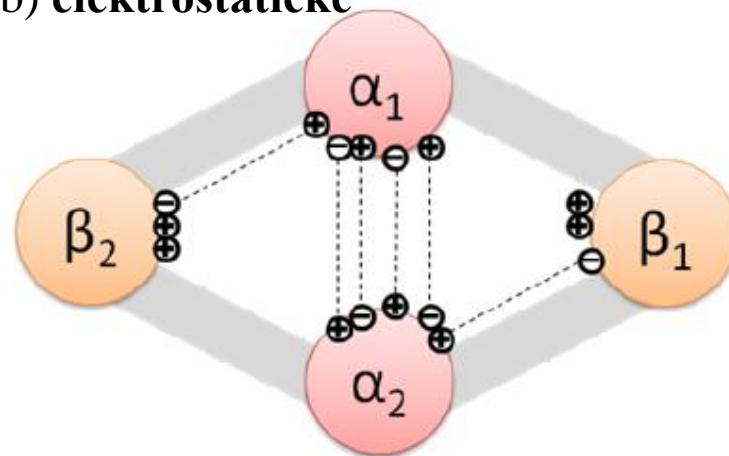
Lidský hemoglobin,

**Dvě alfa**

**Dvě beta**

podjednotky,

**4 skupiny hemu**



**Hydrofobní interakce** se nacházejí mezi podjednotkami  $\alpha$  a  $\beta$  (na obrázku naznačeny šedým pásem). Hydrofobní interakce existují mezi jednotkami jak v oxygenovaném, tak v deoxygenovaném hemoglobinu.

**Elektrostatické interakce** jsou relativně **silné** a nacházejí se mezi jednotkami  $\alpha$  a  $\alpha$ ;  $\beta$  a  $\beta$  nebo i  $\alpha$  a  $\beta$  (na obrázku jsou naznačeny čárkovaně). V okamžiku, kdy se na hemoglobin naváže kyslík, jsou elektrostatické interakce narušeny

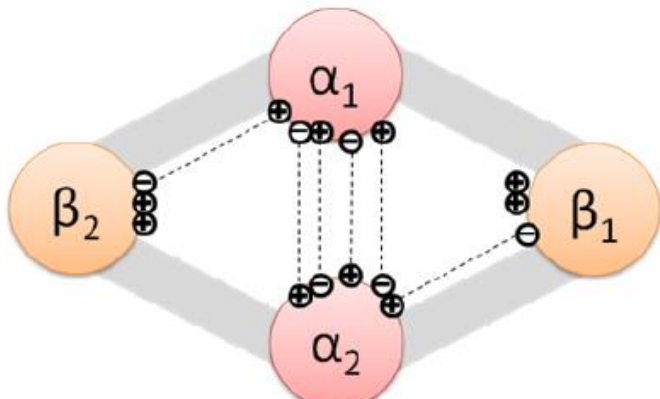
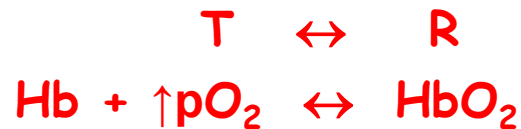
NOVÁK, Jan. Biochemie I. Brno: Muni, 2009, s. 6

# Oxygenace hemoglobinu

Hb může existovat ve 2 různých formách: **T-forma** a **R-forma**.

**T-forma** (T = „tense“, napjatý, deoxy) má mnohem nižší afinitu k  $O_2$  než R-forma. Globinové podjednotky Hb jsou navzájem udržovány **elektrostatickými interakcemi**. Vazba první molekuly  $O_2$  do podjednotky T-formy vede k lokální konformační změně, která oslabí asociaci mezi podjednotkami → **R-forma** („relaxed“, oxy).

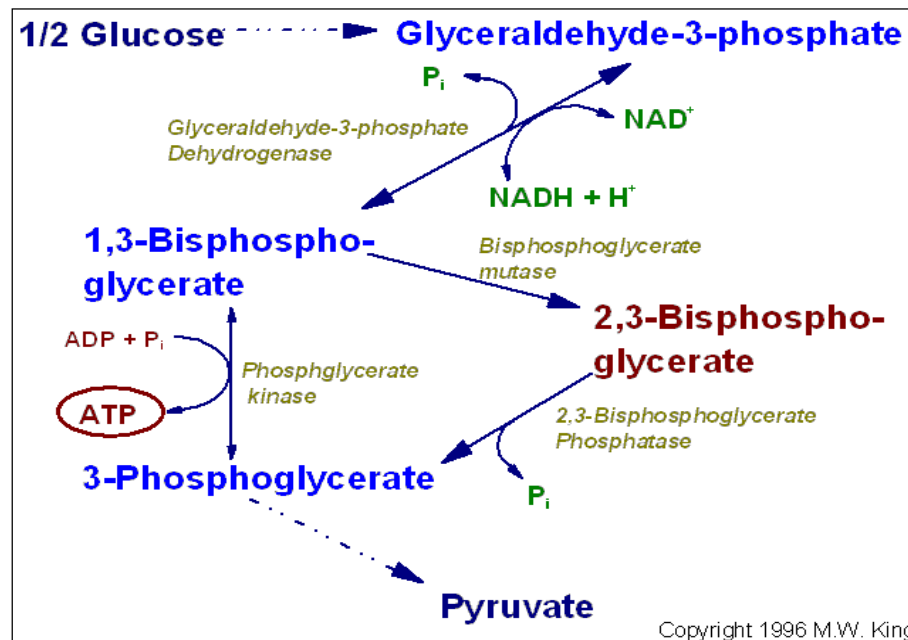
Zvýšení parciálního tlaku kyslíku vede k přeměně T-formy na R-formu.



Hydrofobní interakce v T stavu, narušeny vazbou  $O_2$

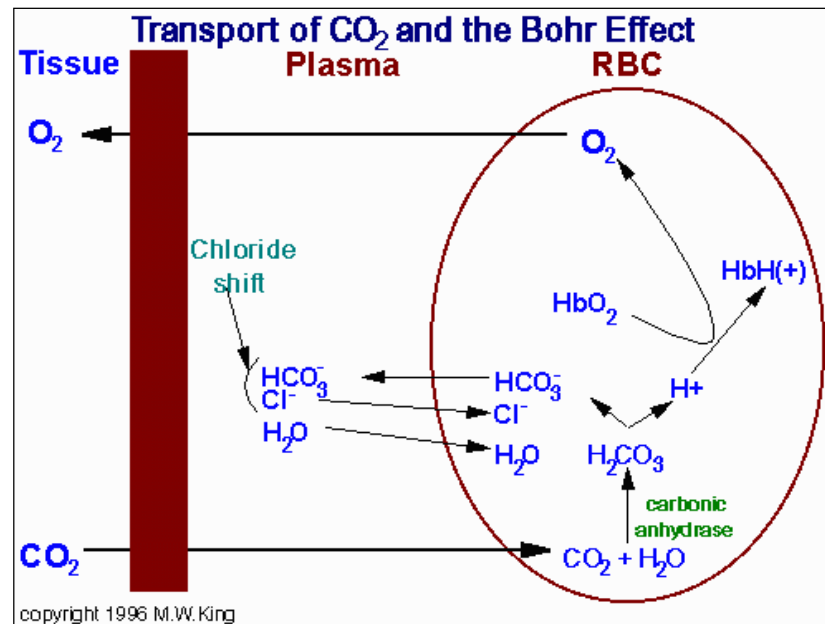
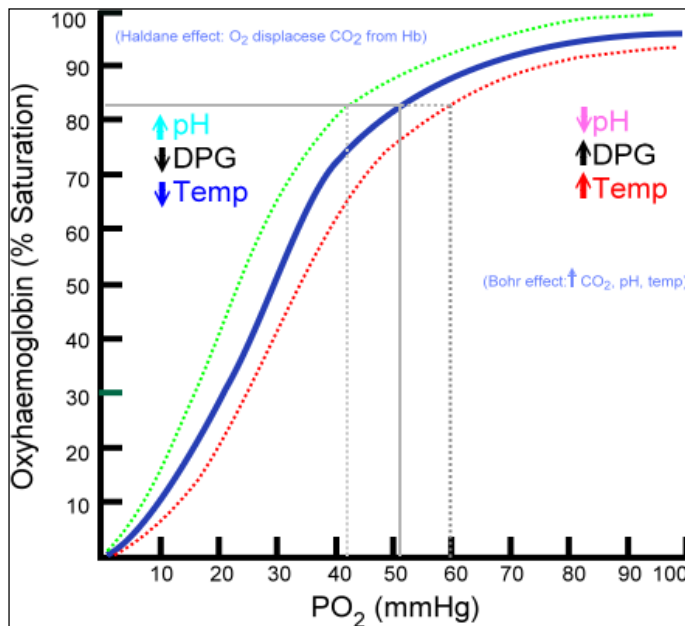
# Metabolismus erytrocytu

- ATP je produkováno **anaerobní glykolýzou** → ATP je využíváno v transportu iontů přes buněčnou membránu
- glykolýza produkuje **2,3-BPG** a **laktát**
- asi 5 - 10% Glc je metabolizováno **pentózovým cyklem** → produkce **NADPH** → je využíváno k udržování glutathionu v redukovaném stavu



# Činitelé, kteří ovlivňují vazbu kyslíku:

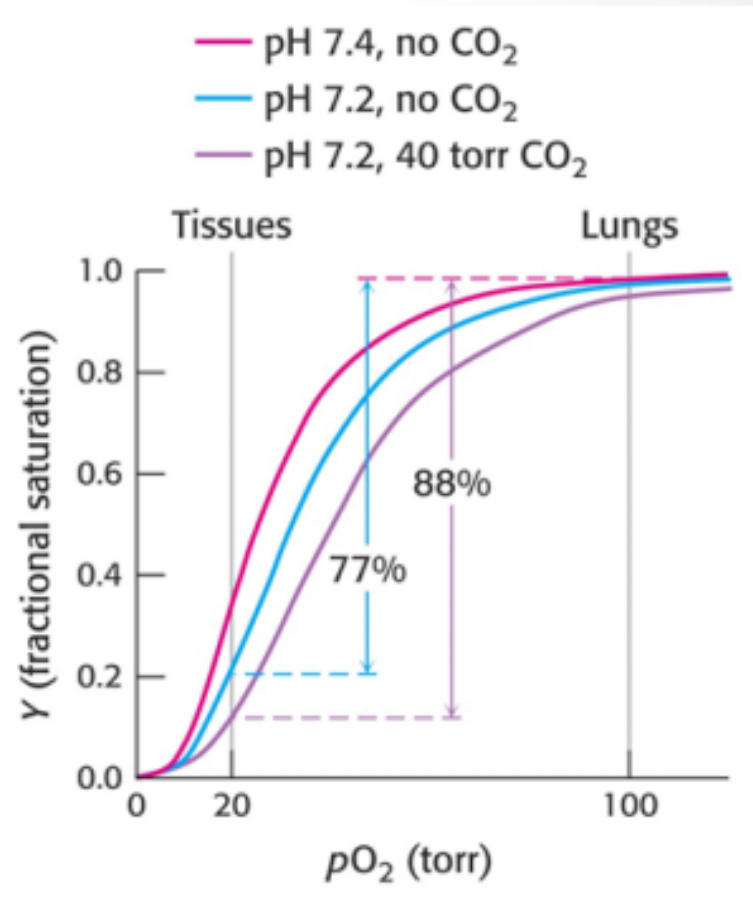
- **2,3-bisfosfoglycerát (2,3-BPG)** se váže pouze na deoxyHb ( $\beta$ -globiny) → deoxyHb je takto stabilizován
- **H<sup>+</sup> ionty (nižší pH)** - vazba H<sup>+</sup> na Hb snižuje jeho afinitu ke O<sub>2</sub> → **Bohrův efekt**
- **CO<sub>2</sub>** - vyšší koncentrace CO<sub>2</sub> v plazmě způsobuje posunutí saturační křivky doprava = **Bohrův efekt**





# Vliv pH na vazbu kyslíku na Hb

- **Vliv pH a CO<sub>2</sub>**
- **na saturaci Hb.**
  - Kromě pH je patrný také specifitější vliv CO<sub>2</sub>
  - Množství využitelného kyslíku se zvýší o dalších ca 11%
  - Hb je slabší kyselinou než HbO<sub>2</sub>
  - Bohrův efekt
  - Preference pracujícího svalu - laktát



# Deriváty hemoglobinu

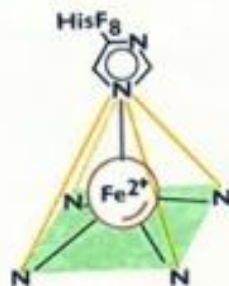
- **Oxyhemoglobin** (oxyHb) = Hb s navázaným  $O_2$
- **Deoxyhemoglobin** (deoxyHb) = Hb bez navázaného  $O_2$
- **Methemoglobin** (metHb) obsahuje  $Fe^{3+}$  místo  $Fe^{2+}$  v hemové skupině
- **Karbonylhemoglobin** (HbCO) - CO se váže na  $Fe^{2+}$  hemu v případě otravy CO nebo při kouření. CO má 200x vyšší afinitu k  $Fe^{2+}$  než  $O_2$ .
- **Karbaminohemoglobin** (HbCO<sub>2</sub>) - CO<sub>2</sub> je nekovalentně vázán na globinový řetězec Hb. HbCO<sub>2</sub> transportuje CO<sub>2</sub> v krvi (asi 23%).
- **Glykovaný hemoglobin** (HbA1c) je tvořen spontánně neenzymatickou reakcí s Glc (globiny). Pacienti s DM mají vyšší koncentrace HbA1c (> 7%) než zdraví lidé v důsledku déletrvajících hyperglykemií.

TEST

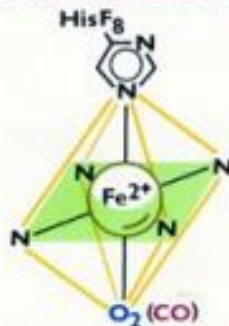
# Funkce hemoglobinu

## Deriváty hemoglobinu

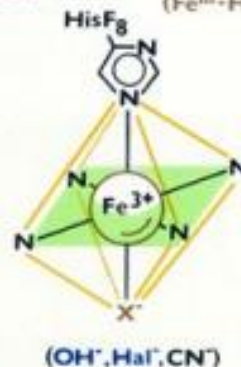
### DEOXYHEMOGLOBIN deoxy-Hb



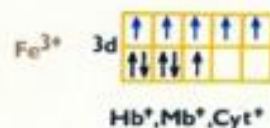
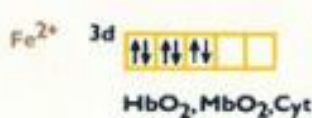
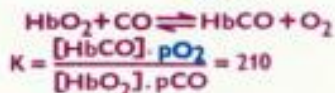
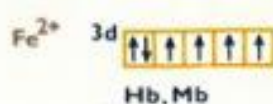
### OXYHEMOGLOBIN HbO<sub>2</sub> KARBOXYHEMOGLOBIN HbCO



### METHEMOGLOBIN MetHb (Fe<sup>III</sup>-Hb)



### ELEKTRONOVÁ ŠTRUKTÚRA Fe:



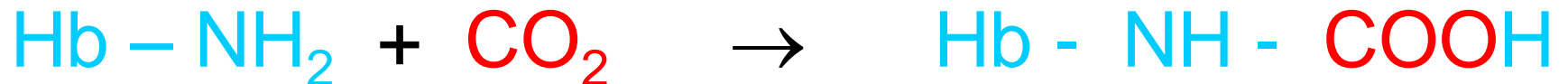
**Formy a struktury Hb s různými ligandy.** Povšimněte si vlivu obsazení 6. koordinačního místa ligandem, kdy se Fe<sup>2+</sup> přemísťuje do roviny porfyrinového kruhu. Vedle změn elektronové struktury vidíme rovnici reakce mezi Hb, O<sub>2</sub> a CO, hodnota K nás přesvědčí, že CO je mnohem pevněji vázán než kyslík. Přesto lze otravě zabránit eliminací CO a zvýšeným přívodem kyslíku.

# Transport CO<sub>2</sub> krví :

1/ 85 % HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>

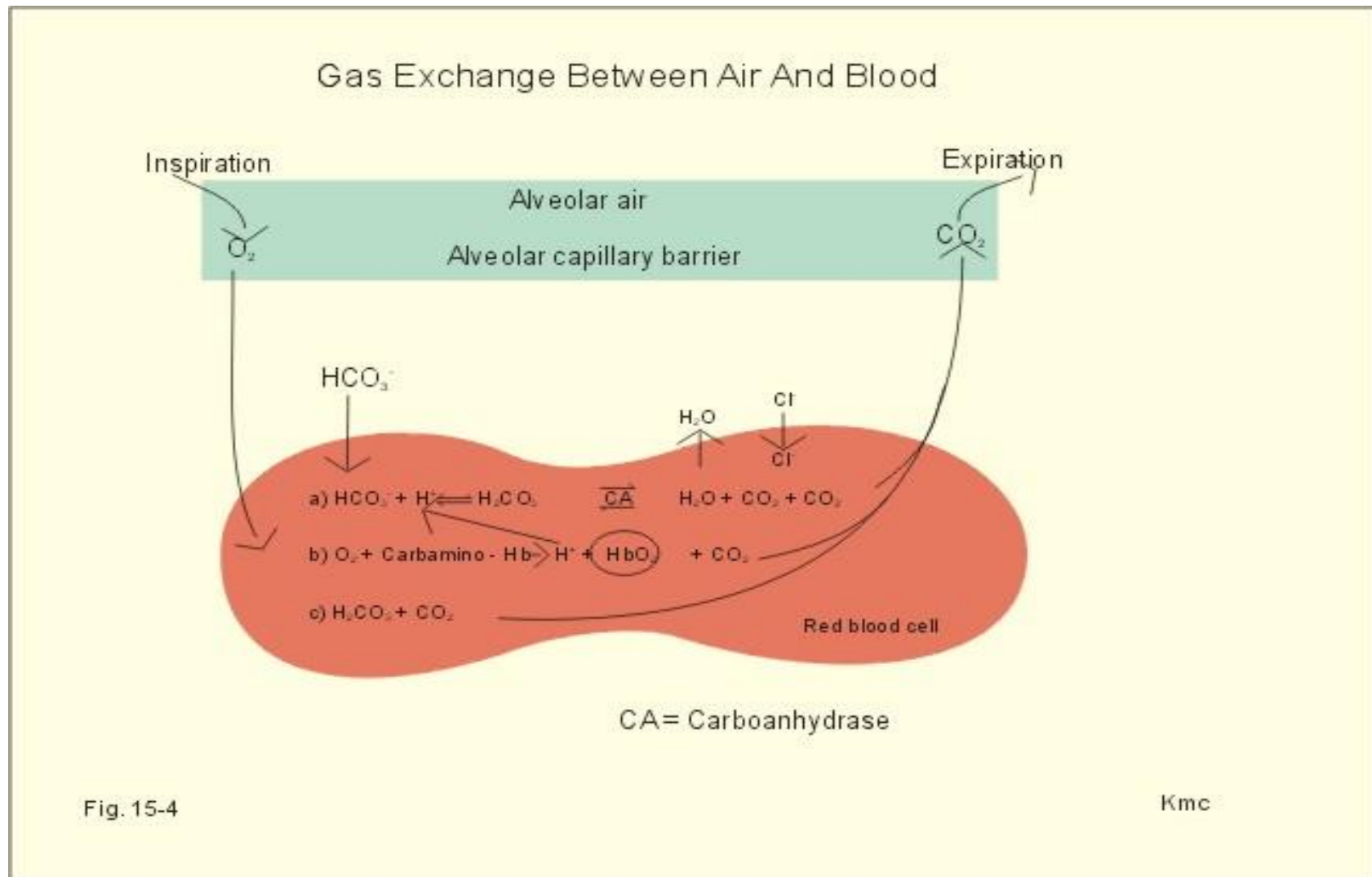
2/ 10-15 % karbamát (Hb)

3/ 5 % fyzikálně rozpuštěný  
(chemicky nezreagovaný CO<sub>2</sub>)

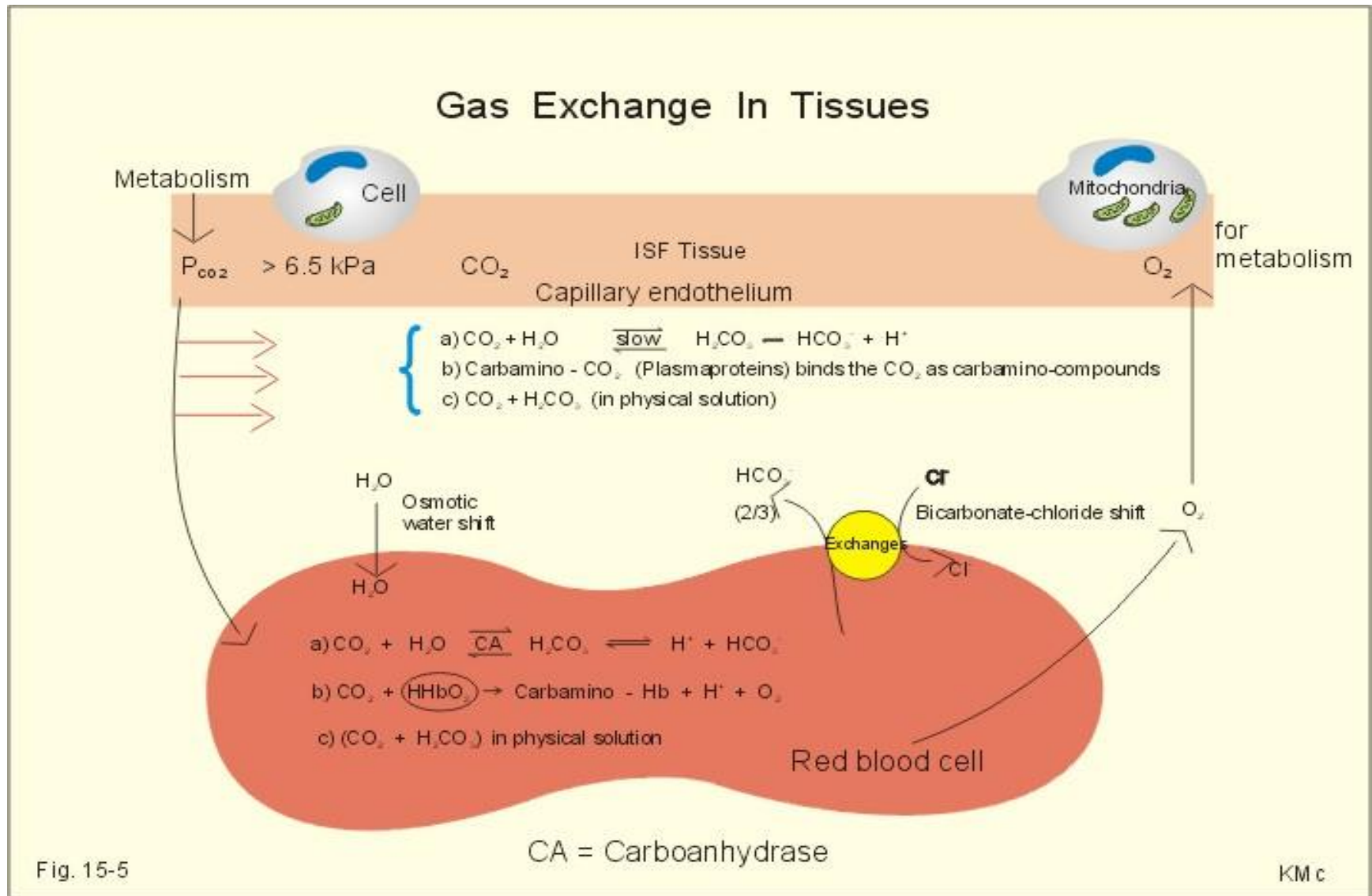


karbaminová kys. = karbamová kys. = amino.mravenčí H<sub>2</sub>N - COOH

# Transport $O_2$ a $CO_2$ v plicích



# Transport $O_2$ a $CO_2$ mezi tkáněmi a krví



# Typy hemoglobinu

➤ Hb dospělých jedinců (HbA) = 2  $\alpha$ - a 2  $\beta$ -podjednotky

HbA<sub>1</sub> je hlavní forma Hb u dospělých a dětí starších 7 měsíců.

HbA<sub>2</sub> (2  $\alpha$ , 2  $\delta$ ) je minoritní forma, tvoří pouze 2 - 3% celkového HbA.

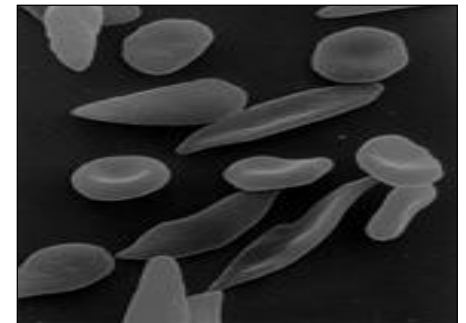
➤ Fetální Hb (HbF) = 2  $\alpha$ - a 2  $\gamma$ -podjednotky

- u fétu a novorozenců HbF váže O<sub>2</sub> při nižších parciálních tlacích než HbA → **Hb F má vyšší afinitu ke O<sub>2</sub> než HbA**

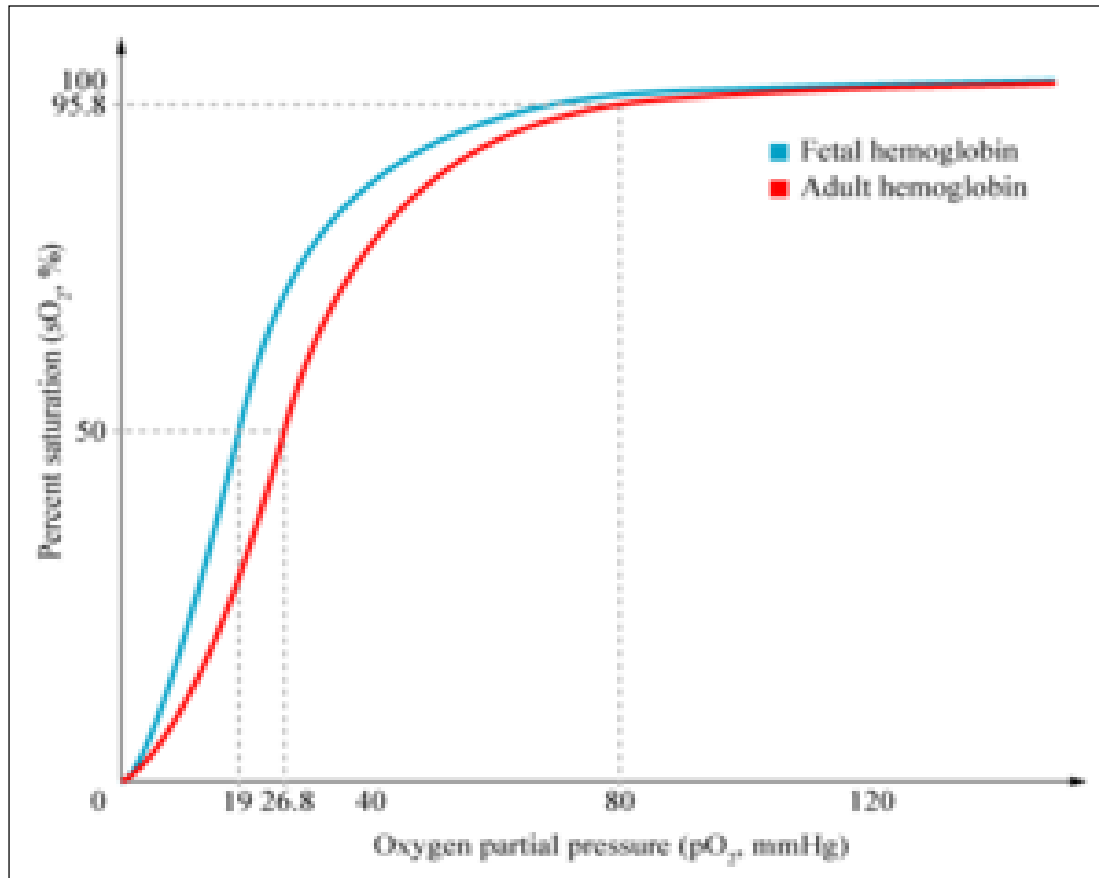
Po narození HbF je nahrazován HbA během několika prvních měsíců života.

➤ HbS - v  $\beta$ -globinu Glu je nahrazen Val

- abnormální typ Hb u srpkovité anémie



# Fetální HbF vs. Hb dospělých jedinců HbA

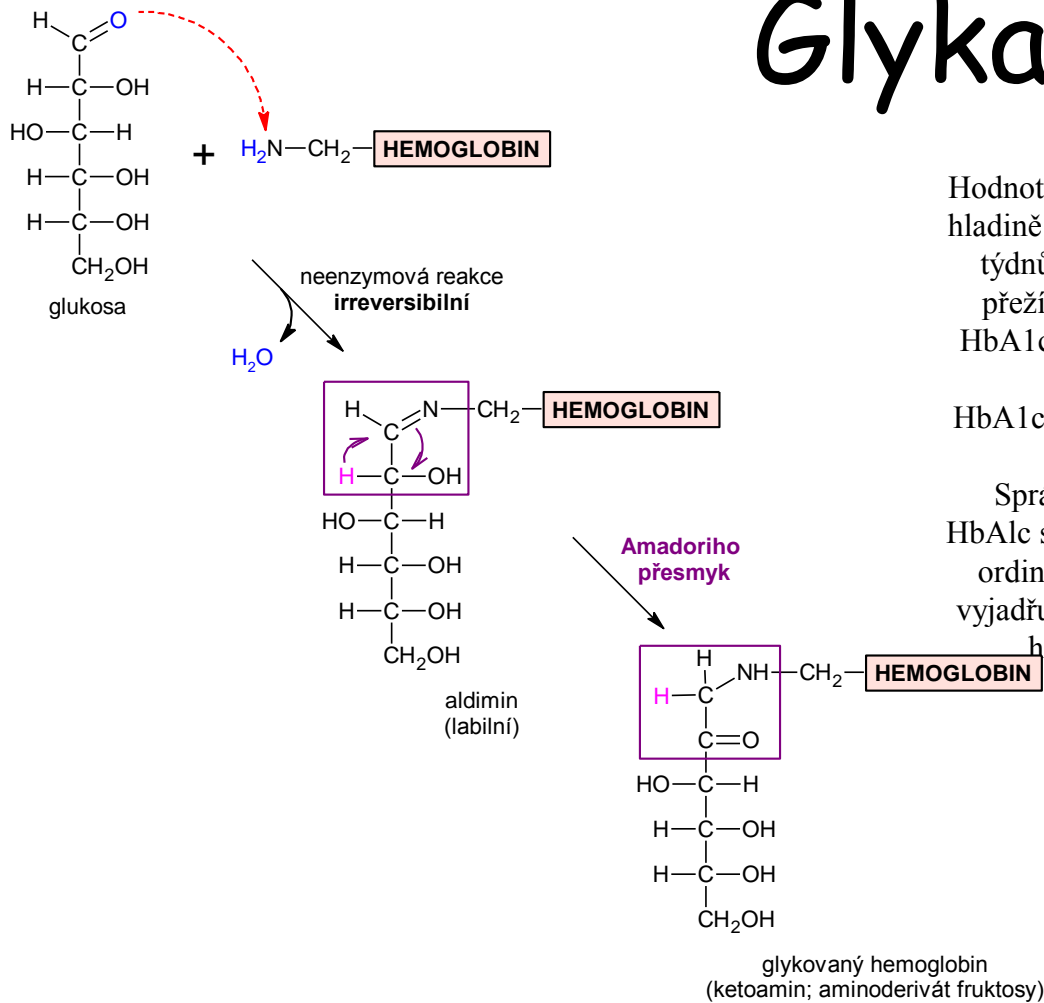


Jednotky tlaku:  
1 mmHg = 1 Torr  
1 mmHg = 133,22 Pa  
1 Pa = 0,0075 mmHg  
1 kPa = 7,5 mmHg



# Glykace Hb

NOVÁK, Jan. Biochemie I.  
Brno: Muni, 2009, s..13



Hodnota HbA1c poskytuje nepřímou informaci o průměrné hladině cukru v krvi (dále glykémie) v časovém období 4-6 týdnů. Délka období odpovídá biologickému poločasu přežívání červených krvinek, tzv. erytrocytů. Hodnota HbA1c odráží hodnoty glykémie za celé toto období před provedením odběru krve.

HbA1c je proto stále považován za nejdůležitější parametr kompenzace cukrovky.

Správné hodnoty glykovaného hemoglobinu HbA1c se odebírá v zpravidla při odběrech v diabetologické ordinaci. Pacient nemusí být nalačno. Hodnoty HbA1c vyjadřujeme v procentech (%) jako procento glykovaného hemoglobinu z celkového hemoglobinu v krvi.

- U pacienta s diabetes mellitus (cukrovkou) se rozlišují 3 stupně kompenzace:

Stupeň kompenzace Hodnota HbA1c

- Výborná kompenzace do 4,5 %
- Uspokojivá kompenzace 4,5% - 6,0%
- Neuspokojivá kompenzace nad 6,0%

- U zdravého člověka netrpícího diabetem se hodnoty HbA1c pohybují v rozmezí 2,8 – 4,0 %.

# Patologické hemoglobiny

- Mutace v jednotlivých řetězcích Hb
- Příklad HbS

## HBB Sequence in Normal Adult Hemoglobin (Hb A):

Nucleotide	CTG	ACT	CCT	GAG	GAG	AAG	TCT
Amino Acid	Leu	Thr	Pro	Glu	Glu	Lys	Ser
	3			6			9

## HBB Sequence in Mutant Adult Hemoglobin (Hb S):

Nucleotide	CTG	ACT	CCT	GTG	GAG	AAG	TCT
Amino Acid	Leu	Thr	Pro	Val	Glu	Lys	Ser
	3			6			9

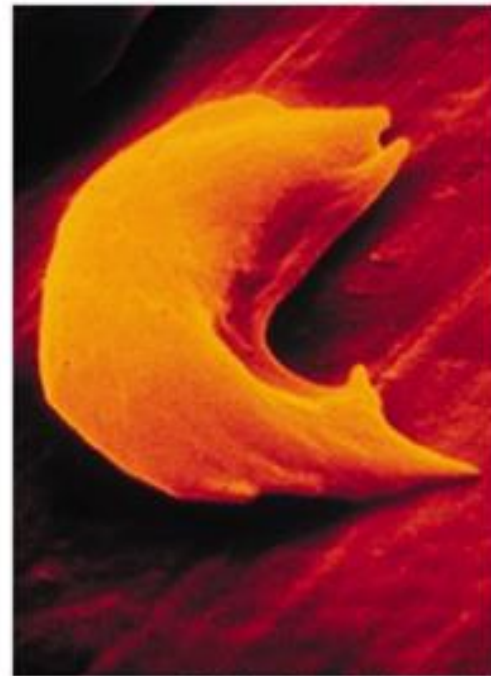
# Srpkovitá anemie

## Morfologický projev této mutace

- Změněný tvar erytrocytů, které nabývají srpkovitého tvaru (sickle cells – odtud HbS)



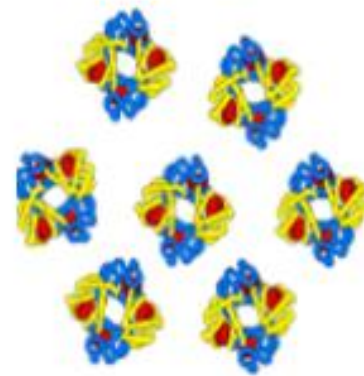
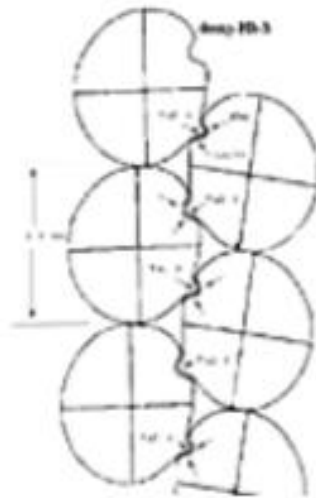
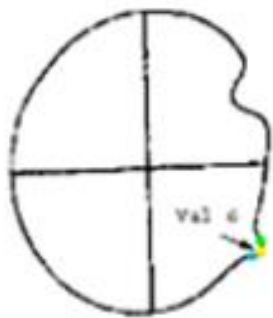
© Stanley Flegler/Visuals Unlimited



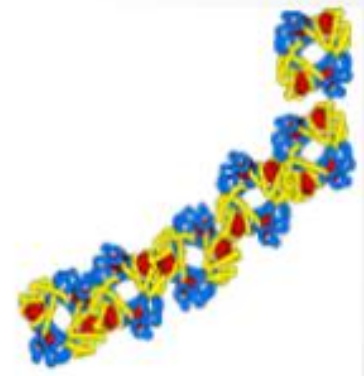
© Stanley Flegler/Visuals Unlimited

# Srpkovitá anemie

- Základem morfologických změn je nová vlastnost HbS.
  - Záměna Glu-6-Val vytváří nepolární oblast
  - Místo tetrameru řetězové aglomeráty připomínající strukturu aktinu – významné součásti cytoskeletu



NORMAL  
HEMOGLOBIN



CLUMPED  
HEMOGLOBIN

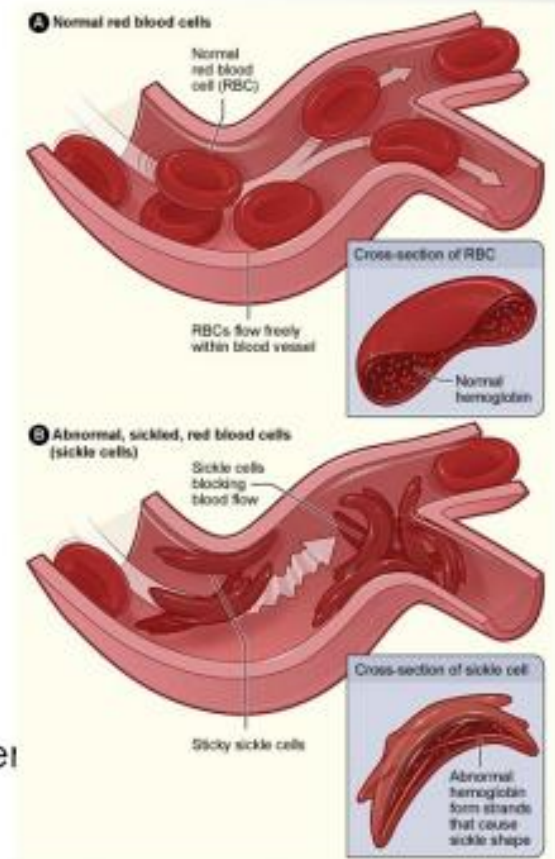
# Srpkovitá anémie

Fysiologický projev – ca 10 odvozených poruch

- o Nedokonalý transportu kyslíku v krvi – odtud **srpkovitá anémie**
- o Nevhodný tvar, životnost ca 20 dní (ca 120 u normálních)
- o Ucpávání cév

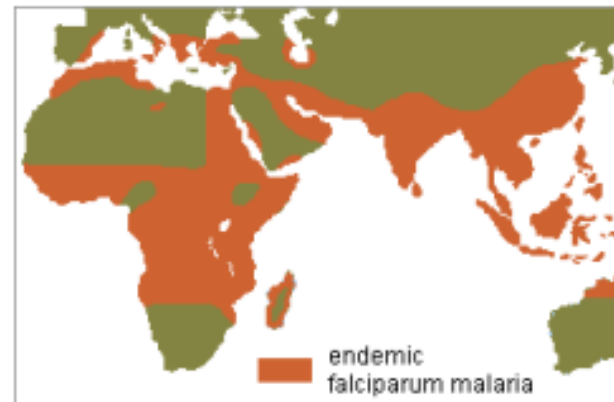
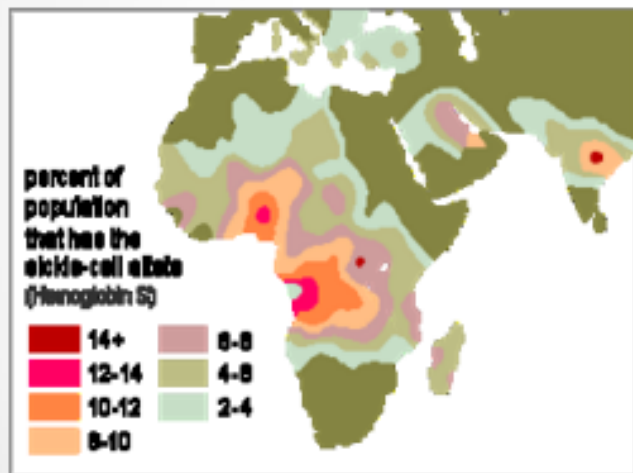
## SYMPTOMS

- Fever.
- Swelling of the hands and feet.
- Enlargement of the belly (heart, liver, and spleen).
- Frequent lung infections.
- Fatigue.
- Irritability.
- Yellowing of the skin (jaundice).
- Severe bone and joint pain.
- Delayed puberty.
- Shortness of breath.
- Pain in the belly, especially in the upper right side of the abdomen
- Nausea.
- Prolonged, sometimes painful erections (priapism).
- Rapid or labored breathing.
- Frequent infections.



# Srpkovitá anemie

- Význam mutace
  - Nevýhoda – anemie, malá výkonnost
  - Výhoda – odolnost proti *P. falciparum*



- Korelace výskytu genu HbS a malarie

# Porfyrie - poruchy syntézy hemu

- vrozené nebo získané
- klasifikace podle defektního enzymu biosyntézy
- **prekurzory hemu (porfyrinogeny) se hromadí v těle (kůže) a jsou vylučovány močí nebo stolicí (tmavé zbarvení)**
- **neuropsychické poruchy, fotosenzitivita**

# Thalasémie - heterogenní skupina chorob s poruchou syntézy $\alpha$ - nebo $\beta$ -globinu

- **$\alpha$ -thalasémie** vzniká při delecí genu pro  $\alpha$ -globin
- **$\beta$ -thalasémie** vzniká při bodové mutaci jednoho genu pro  $\beta$ -globin
- ery jsou více náchylné k destrukci → **anémie**
- jsou časté v oblastech endemického výskytu **malárie** - **heterozygóti thalasémie jsou vůči malárii odolnější**
- vyšetření Hb (DNA diagnostika) se provádí v rizikových zemích u novorozenců a jako předsňatkové vyšetření



# Syntéza hemoglobinu

- probíhá v erytroblastech v kostní dřeni,  
**ne v erythrocytech!**
- 4 jednotlivé podjednotky (globiny) jsou spojeny  
nekovalentními vazbami → tetramer

# ZÁKLADNÍ PRINCIPY STRUKTURY A FUNKCE

## HEMOGLOBIN:

Transport O<sub>2</sub> krev-tkání, jen v erythrocytech (RBC), váže O<sub>2</sub> reverzibilně, saturace při vys konc. O<sub>2</sub>, O<sub>2</sub> se uvolňuje při nižším tlaku v tkáních, regulace afinity Hb k O<sub>2</sub>

## MYOGLOBIN

Srdeční a kosterní svalstvo, váže O<sub>2</sub> více pevně než Hb, O<sub>2</sub> pufr v tkáních, jinak hypoxii, nemění afinitu k O<sub>2</sub> s rostoucí konc. O<sub>2</sub>

Charakteristika Myoglobinu a hemoglobinu		
	HEMOGLOBIN	MYOGLOBIN
<b>Funkce</b>	Transport O <sub>2</sub>	Zásoba O <sub>2</sub>
<b>Umístění</b>	Pouze v erythrocytech	Pouze v kosterním, srdečním svalstvu
<b>Afinita O<sub>2</sub> v tkáních</b>	Nízká	Vysoká
<b>Afinita O<sub>2</sub> v plicích</b>	Vysoká	Vysoká
<b>Závislost afinity na pO<sub>2</sub></b>	Ano	Ne
<b>Allosterická regulace</b>	Ano	Ne
<b>Kvarterní struktura</b>	Ano - tetramer	Ne - monomer

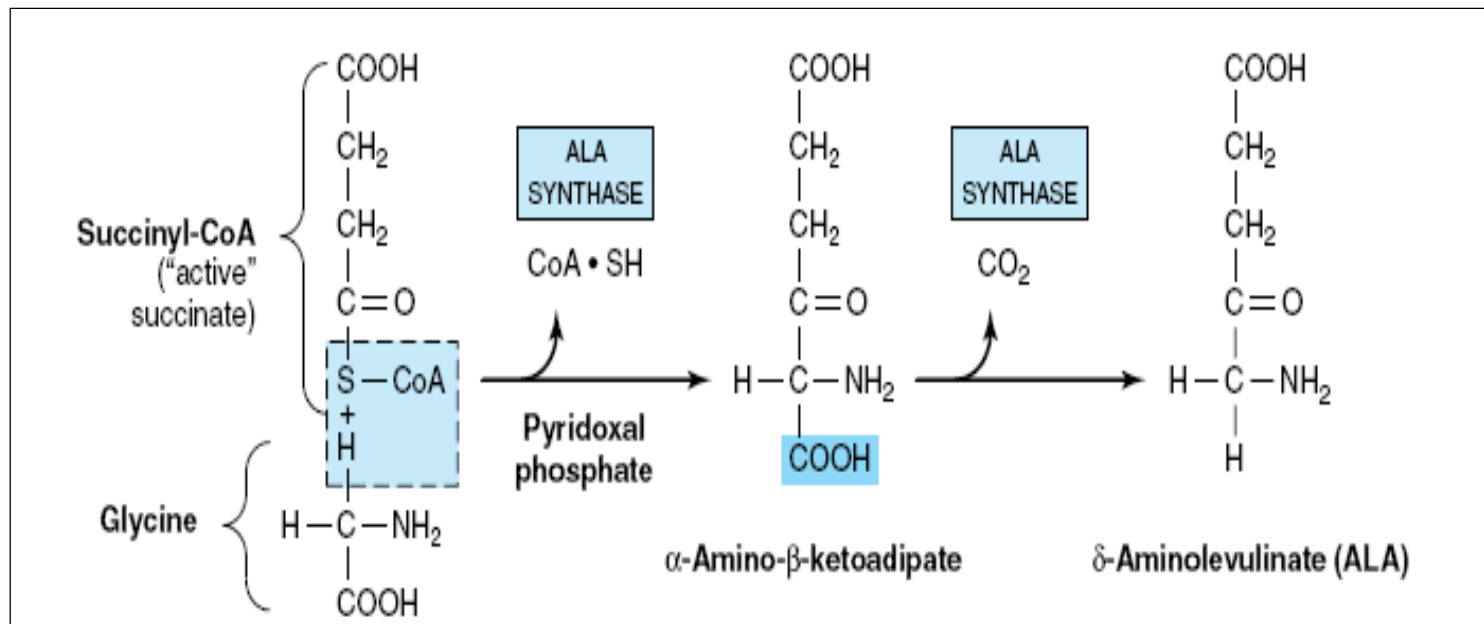
Protein	Redoxní stav železa	Funkce
Hemoglobin	$\text{Fe}^{2+}$	transport kyslíku krví
Myoglobin	$\text{Fe}^{2+}$	zásoba kyslíku ve svalech
Katalasa	$\text{Fe}^{2+} \leftrightarrow \text{Fe}^{3+}$	rozklad peroxidu vodíku
Peroxidasy	$\text{Fe}^{2+} \leftrightarrow \text{Fe}^{3+}$	rozklad peroxidů
Cytochromy	$\text{Fe}^{2+} \leftrightarrow \text{Fe}^{3+}$	složky dýchacího řetězce
Cytochrom P-450	$\text{Fe}^{2+} \leftrightarrow \text{Fe}^{3+}$	hydroxylace
Desaturasy MK	$\text{Fe}^{2+} \leftrightarrow \text{Fe}^{3+}$	desaturace MK

# Biosyntéza hemu -

- hlavně v kostní dřeni (Hb) a játrech (cytochromy)
- buněčná lokalizace: mitochondrie a cytoplazma
- substráty: **sukcinyl-CoA + glycin**
- významné meziprodukty:
  - kys.  $\delta$ -aminolevulová (= 5-aminolevulová, ALA)
  - porfobilinogen (PBG = derivát pyrolu)
  - uroporfyrinogen III (= porfyrinogen - prekurzor hemu)
  - protoporfyrin IX (= přímý prekurzor hemu)
- klíčový regulační enzym: **ALA-syntáza**

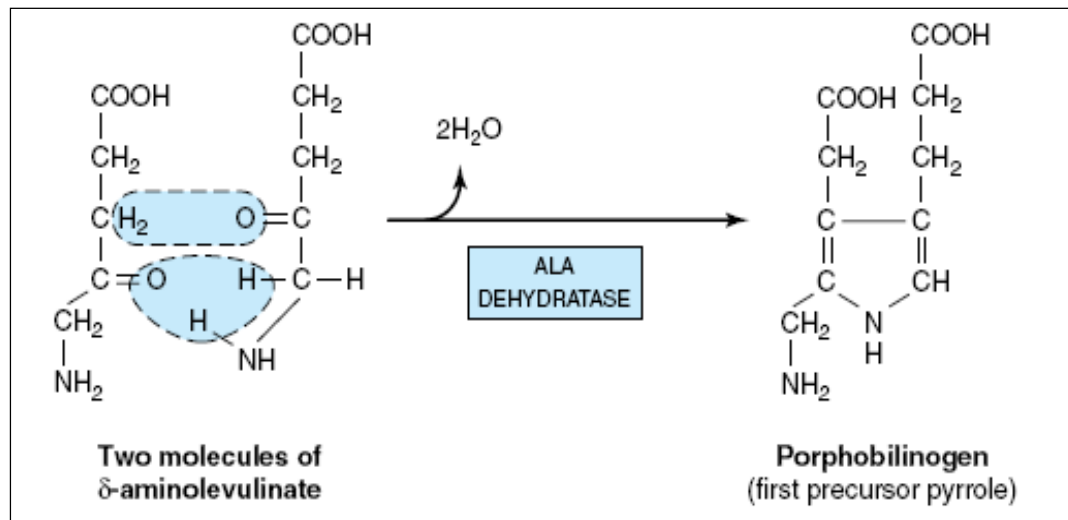
# Kyselina $\delta$ -aminolevulová (ALA)

- syntéza hemu začíná v mitochondrii
- **sukcinyl-CoA** a **Gly** podléhají kondenzaci  $\rightarrow$  **ALA**
- reakce je katalyzována enzymem **ALA-syntázou**



# Porfobilinogen (PBG)

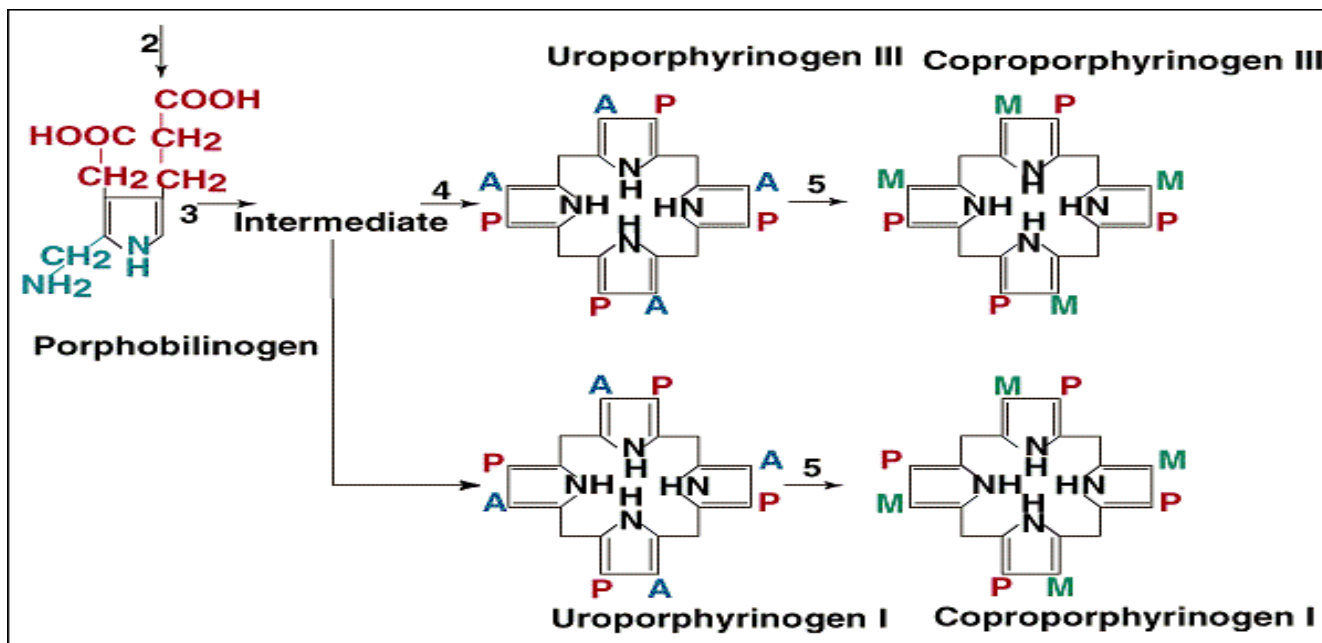
- ALA je transportována z mitochondrie do **cytoplasmy**
- kondenzace 2 molekul ALA → **porfobilinogen**
- reakce je katalyzována **porfobilinogen syntázou (ALA-dehydratáza)**



Obrázek převzat z knihy *Harper's Illustrated Biochemistry 26th ed./ R.K.Murray; McGraw-Hill Companies, 2003, ISBN 0-07-138901-6.*

# Uroporphyrinogen → koproporphyrinogen III

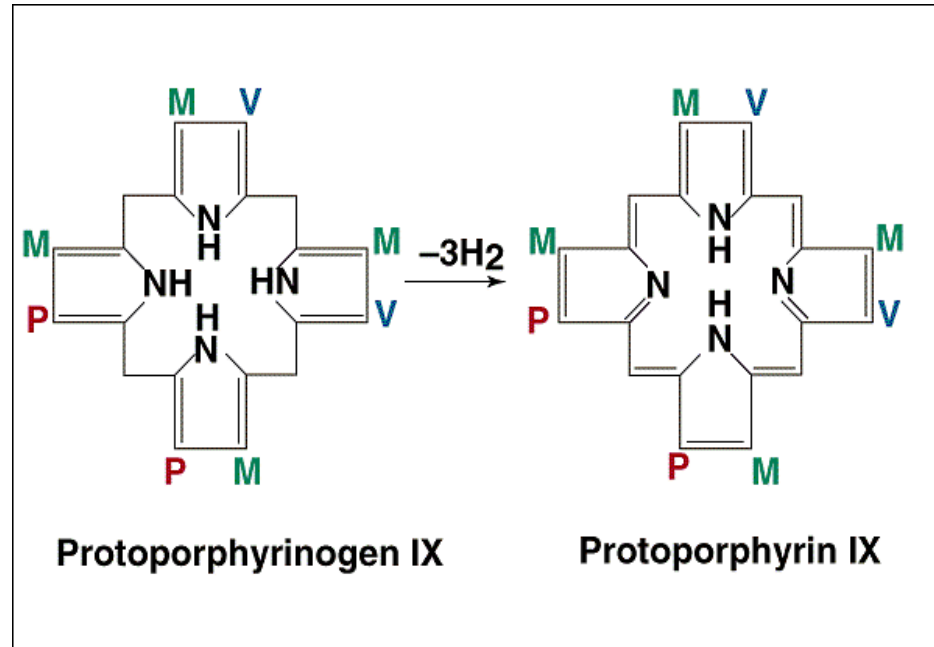
- enzym **hydroxymethylbilan syntáza** katalyzuje spojení 4 molekul PBG za vzniku **uroporphyrinogenu III**
- 4 zbytky kys. octové jsou dekarboxylovány na methylové zbytky → **koproporphyrinogen III** vstupuje do **mitochondrie**



Copyright © 1997 Wiley-Liss, Inc.

Obrázek byl převzat z učebnice T. M. Devlin et al.: *Textbook of Biochemistry With Clinical Correlations*, 4th ed., Wiley-Liss, Inc., New York, 1997.

# Protoporphyrinogen IX $\rightarrow$ protoporfyrin IX



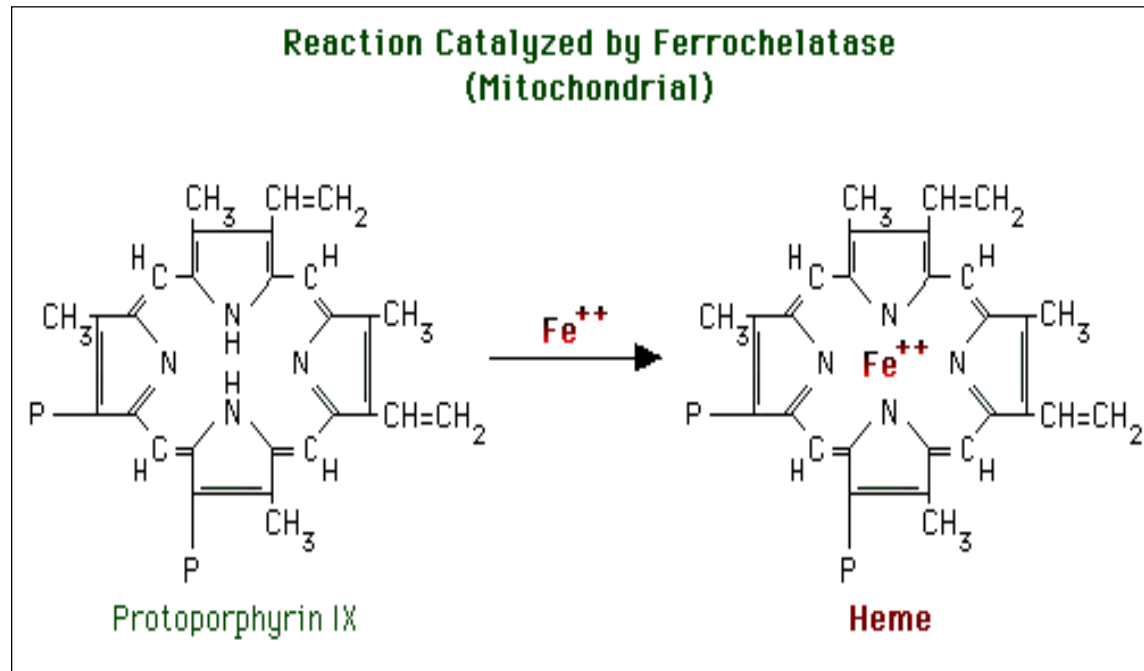
Copyright © 1997 Wiley-Liss, Inc.

- **protoporfyrin IX** (obsahuje systém dvojných konjugovaných vazeb) vzniká oxidací protoporfyrinogenu IX

*Obrázek byl převzat z učebnice T. M. Devlin et al.: Textbook of Biochemistry With Clinical Correlations, 4th ed., Wiley-Liss, Inc., New York, 1997.*



# Hem

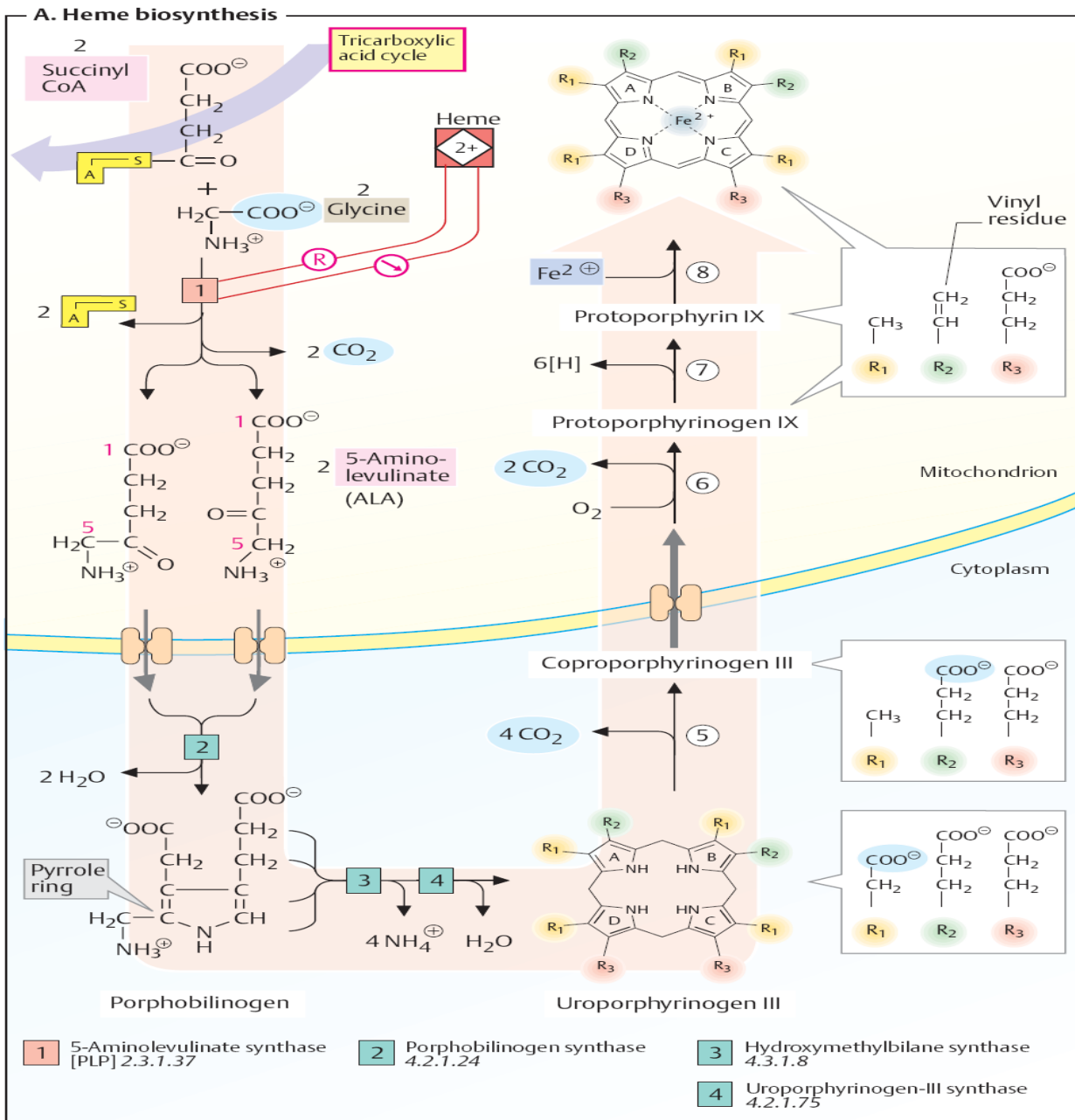


- iont  $Fe^{2+}$  je inkorporován do protoporfyrinu IX
- reakce je katalyzována enzymem **ferrochelatázou** (**hemsyntázou**)

Obrázek byl převzat z [http://www.porphyrin.net/mediporph/\\_netbiochem/synthesis/ferrochelatase.html](http://www.porphyrin.net/mediporph/_netbiochem/synthesis/ferrochelatase.html)

# Regulace biosyntézy hemu

- Enzym **ALA-syntáza** je hlavní regulační enzym, který je inhibován **hemem** na úrovni transkripce i allosterycky. ALA-syntáza vyžaduje přítomnost **pyridoxalfosfátu**. **Některá léčiva a steroidní hormony** mohou zvyšovat expresi genu pro ALA-syntázu.
- Enzym **porfobilinogen syntáza** je inhibován **Pb<sup>2+</sup>** ionty v případě otravy olovem.
- Enzym **ferrochelátáza (hemsyntáza)** je také inhibován **olovnatými ionty** v případě otravy olovem. Její aktivita je ovlivněna dostupností **Fe<sup>2+</sup>** a kyseliny askorbové.



# Degradace hemu

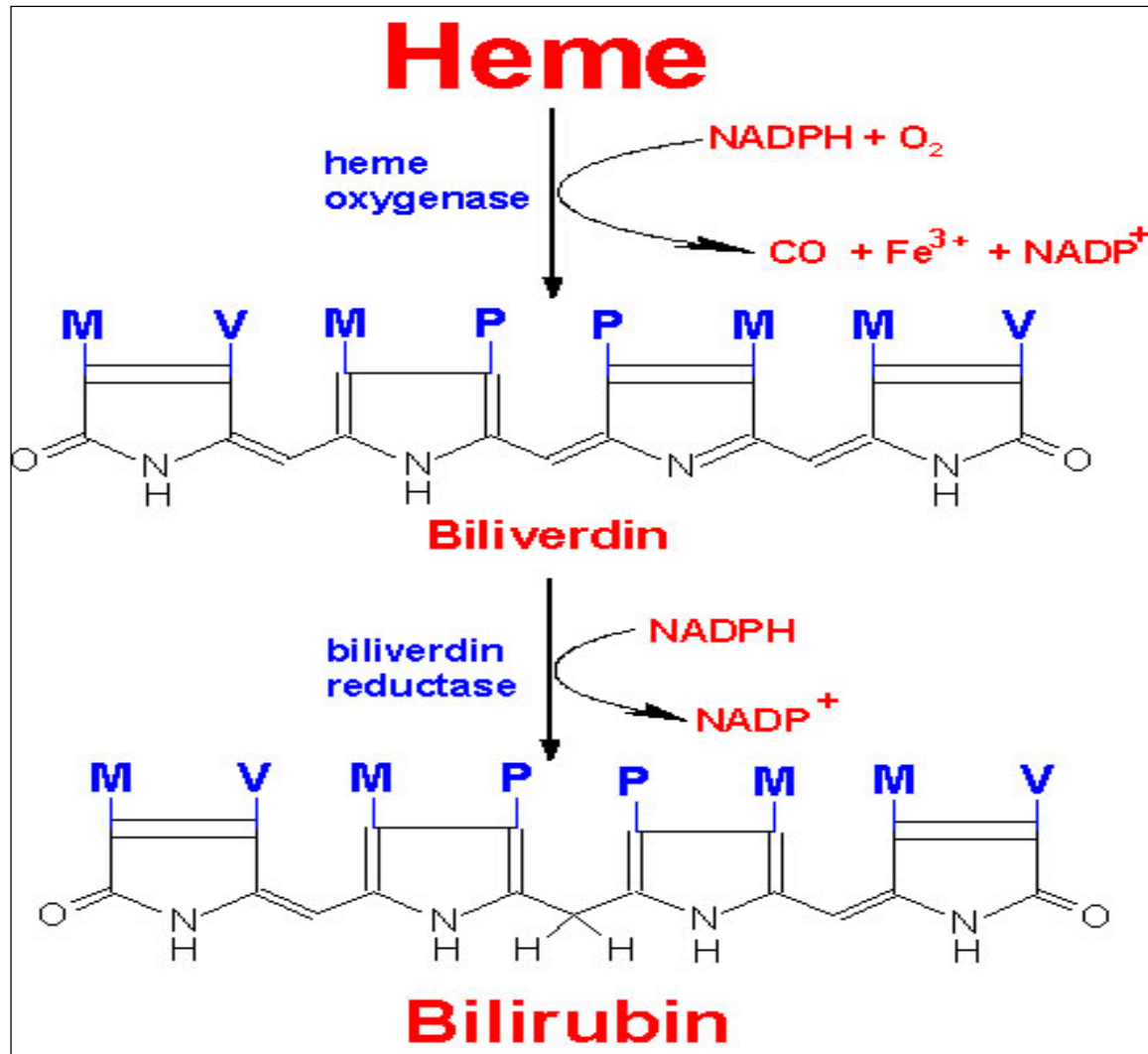
V lidském těle přibližně 100 - 200 mil. ery je degradováno každou hodinu. Degradace začíná v endoplasm. retikulu retikuloendoteliálních buněk RES (játra, slezina, kostní dřeň a kůže).

Hb je degradován na:

- globiny → aminokyseliny → metabolismus
- hem → bilirubin
- $Fe^{2+}$  → transport v komplexu s transferrinem a další využití v biosyntéze hemu

Nejen Hb, ale i ostatní hemoproteiny obsahují hemové skupiny, které jsou degradovány stejnou dráhou.

# Přeměna hemu na bilirubin



Obrázek byl převzat z <http://themedicalbiochemistrypage.org/heme-porphyrin.html>

# Další osud bilirubinu (Bil)

Bilirubin (Bil) je uvolněn z RES do krve.

**ALE! Bil je velmi špatně rozpustný v plasmě**, a proto je v krvi transportován ve vazbě na albumin („**nekonjugovaný Bil**“ = „**nepřímý Bil**“).



JÁTRA

V hepatocytech, Bil je konjugován se 2 molekulami **kys. glukuronové** → bilirubin diglukosiduronát (rozpustný ve vodě, „**konjugovaný Bil**“ = „**přímý Bil**“)



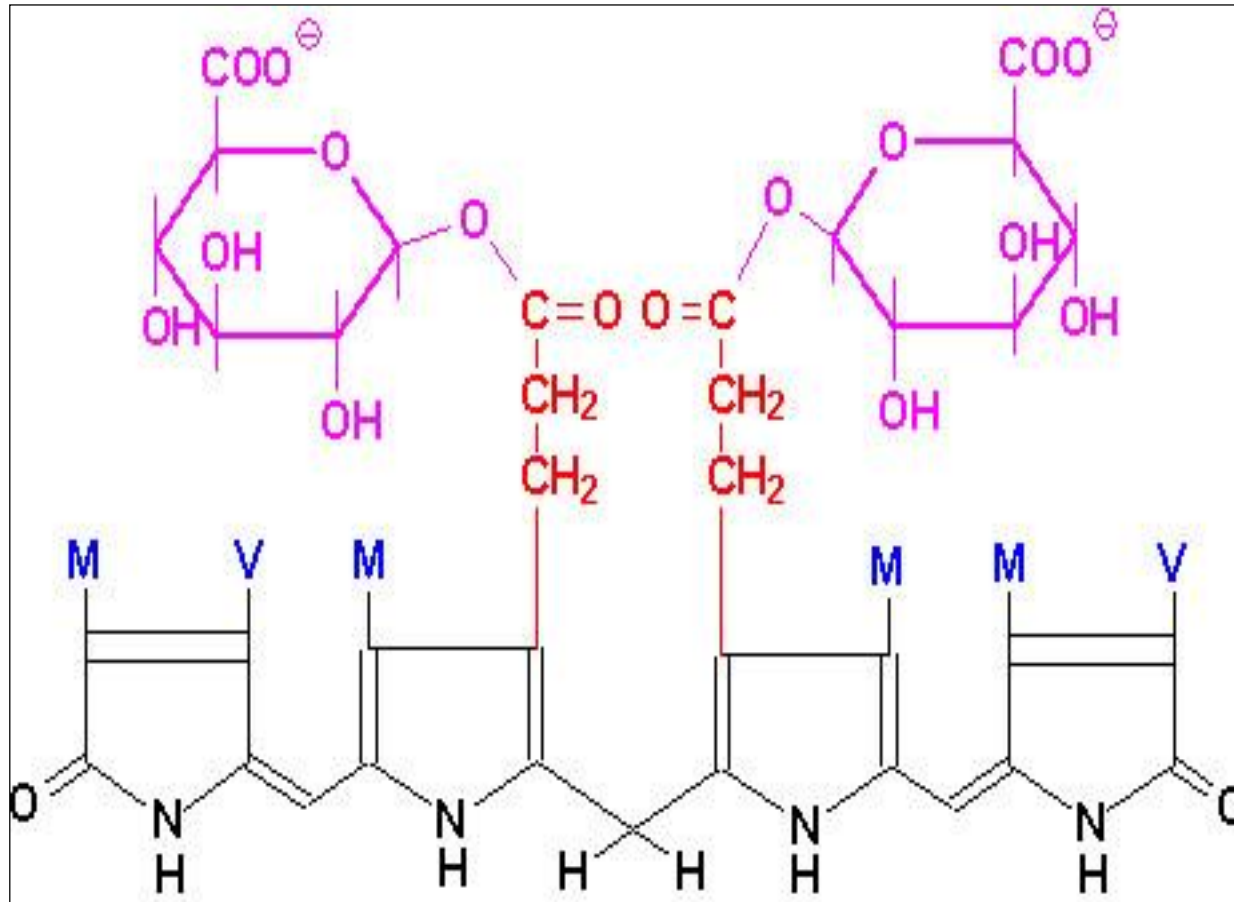
ŽLUČ



STŘEVO

Bil je redukován na urobilinogen a sterkobilinogen

bilirubin-diglukosiduronát = konjugovaný bilirubin  
je rozpustný ve vodě → tzv. „**přímý bilirubin**“



Obrázek byl převzat z <http://themedicalbiochemistrypage.org/heme-porphyrin.html>

## Ve střevě:

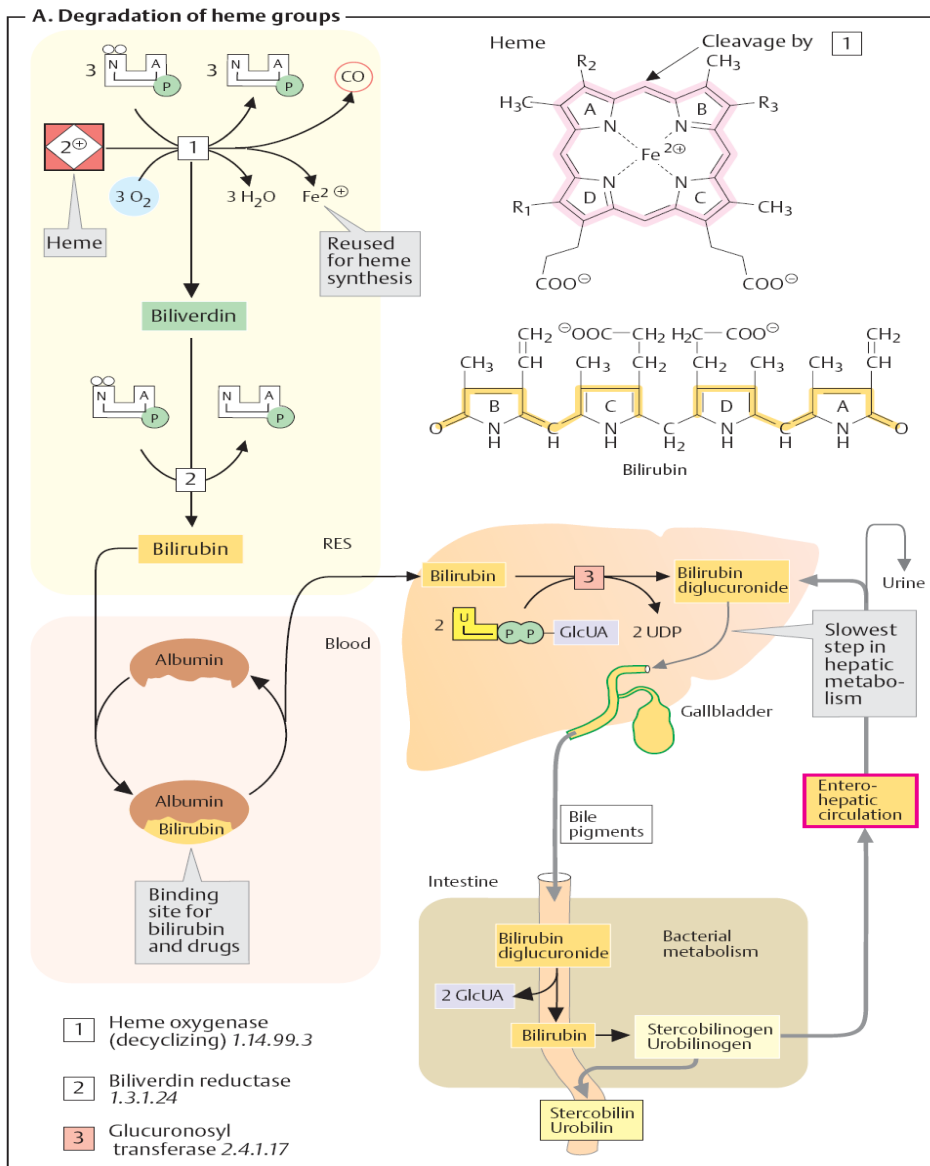
Urobilinogen a sterkobilinogen mohou být:

a) reabsorbovány a vracejí se zpět do jater (**enterohepatální cirkulace**)

b) oxidovány (v přítomnosti  $O_2$ ) na barviva **urobilin** (**oranžový**) a **sterkobilin** (**žlutý**) → jsou vylučovány ve stolici

Urobilinogen (UBG) se také vyskytuje v moči.





## Žlučová barviva

- bilirubin
- urobilin
- sterkobilin

# Stanovení bilirubinu v séru

- Bil reaguje *přímo* s barvivou, jakmile jsou přidány do vzorku séra  
→ **konjugovaný bilirubin = přímý bilirubin** (do 3.4  $\mu\text{mol/l}$ )
- volný Bil nereaguje s barvivou dokud není přidán alkohol (methanol) nebo kofein do vzorku séra. Stanovení tohoto typu bilirubinu je *nepřímé* → **nekonjugovaný bilirubin = nepřímý bilirubin**
- **celkový bilirubin** zahrnuje oboje - nekonjugovaný a konjugovaný Bil (do 17  $\mu\text{mol/l}$ )



# Železo v hemu - poznámka

Železo je vázáno v tetrapyrrolovém kruhu tak, že formálně byla dvě pyrrolová jádra zbavena na svých dusících  $H^+$ . Takto vznikl na každém ze dvou dusíků volný elektronový pár. Dvojice elektronů je využita (na každém z obou jader) k vytvoření dativní kovalentní vazby s  $Fe^{2+}$ .

$Fe^{2+}$  zároveň přináší do molekuly hemu 2 kladné náboje, „ztracené“ při odnětí 2  $H^+$ .

Hem v hemoglobinu je tedy elektricky neutrální a váže také elektricky neutrální molekuly ( $O_2$ ,  $CO$ ).

Oxidace železa na  $Fe^{3+}$  ( $\rightarrow$  hemoglobin, methemoglobin) vede k získání 1 kladného náboje v molekule hemu.

Hem pak jako kation váže anionty (např.  $CN^-$ , ale nemůže už vázat elektricky neutrální molekuly – není tedy schopen přenášet kyslík).

Tyto skutečnosti jsou významné mj. pro toxikologii.

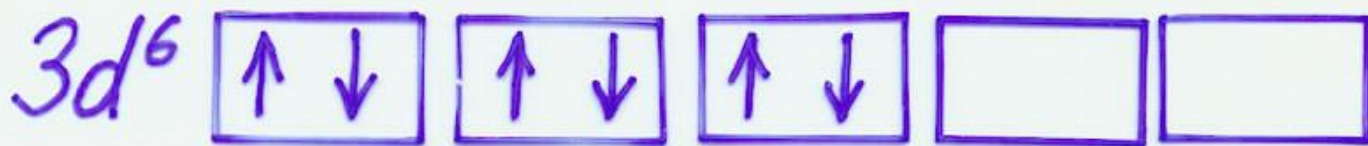
# Názvosloví :

ferro- → ferrosi- → Fe<sup>2+</sup>  
~ hemo- (hemoglobin)

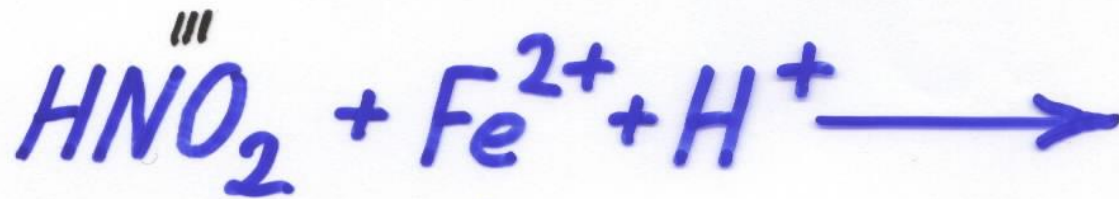
ferri- → Fe<sup>3+</sup>  
~ hemi- (hemoglobin)



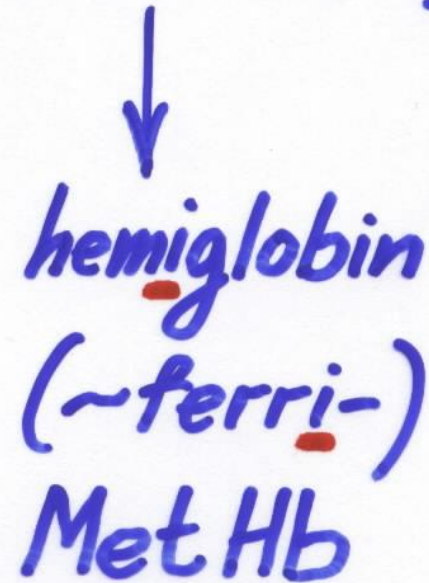
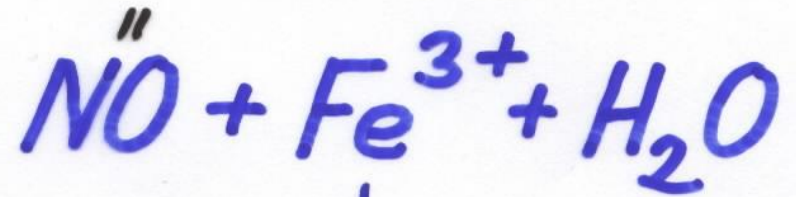
„vysokospinový stav“  
(součet spinů je vysoký)  
větší objem Fe



„nízkospinový stav“



ferrosi-



ferr-