

2 Hemoglobin a další hemoproteiny

Hemoglobin je jen jedním z proteinů patřících do velké skupiny zvané **hemové proteiny (hemoproteiny)**.

Do této skupiny dále patří, např.:

- **myoglobin** (vazba a depozice kyslíku ve svalech)
- **cytochromy** (přenašeče elektronů v elektron-transportním řetězci mitochondrií)
- **katalázy a peroxidázy** (rozklad a tvorba H_2O_2)
- **cytochrom P450** (hydroxylační systém/enzym)

Jejich společným znakem je to, že ve své molekule obsahují **hem** (cyklický tetrapyrrol). V této kapitole bude nejprve pojednáno o **syntéze hemu**, dále o **hemoglobinu** (jeho stavbě, funkci...) a nakonec o dalších vybraných **hemoproteinech**.

2.1 Syntéza hemu

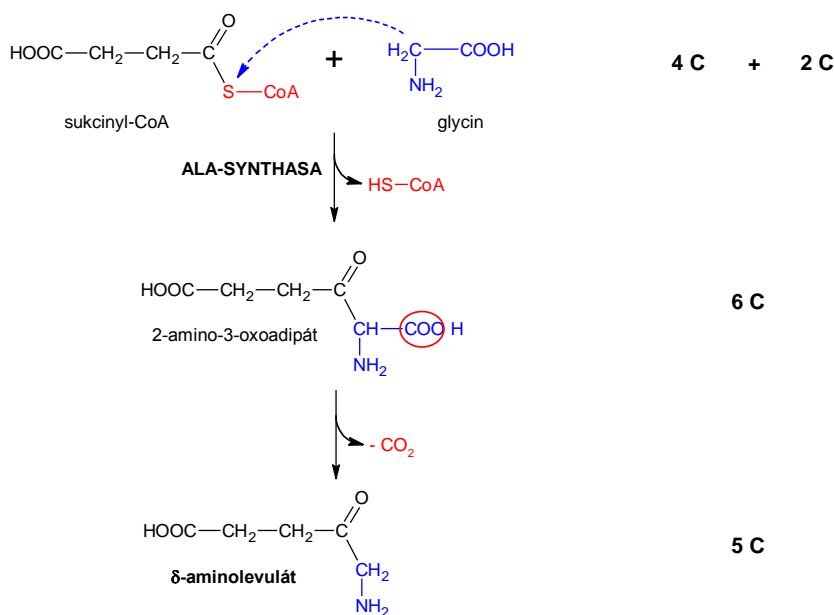
Hem je struktura, která je společná všem hemoproteinům, proto začneme kapitolu 2 právě jeho syntézou.

K syntéze hemu dochází v **mitochondriích** (první a poslední reakce) i **cytosolu** (ostatní reakce).

Pro první krok syntézy *de novo* potřebujeme:

- sukcinyl-CoA (meziprodukt citrátového cyklu)
- glycin (zdroj dusíku)
- enzym ALA-synthasu¹

Glycin a sukcinyl-CoA kondenzují a vzniká **2-amino-3-oxoadipát**, který následně dekarboxyluje na 5-amino-4-oxopentanovou kyselinu, kterou nazýváme **δ -aminolevulát**.

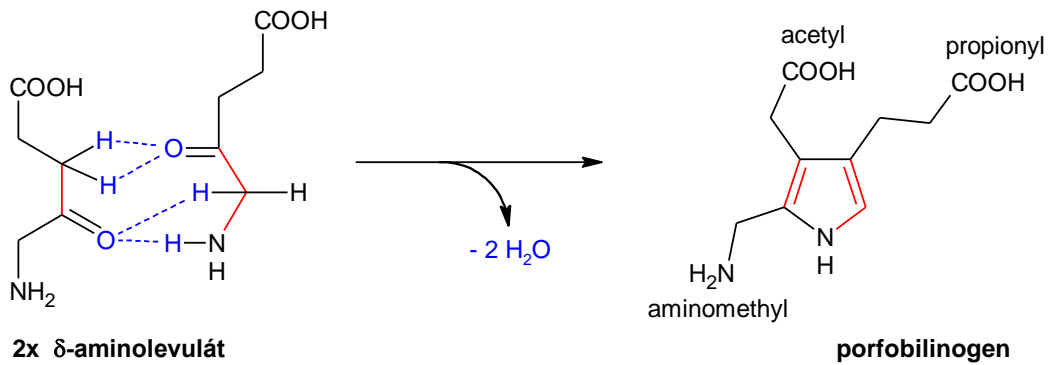


Tato reakce probíhá v mitochondriích.

Z mitochondrií se přesouváme do **cytosolu**. Zde dochází ke **kondenzaci dvou molekul ALA (δ -aminolevulátu)** za vzniku **substituovaného pyrrolu (porfobilinogenu)**:

¹ Vyskytuje-li se v buňce dostatek hemu, **inhibuje hem syntézu enzymu**.

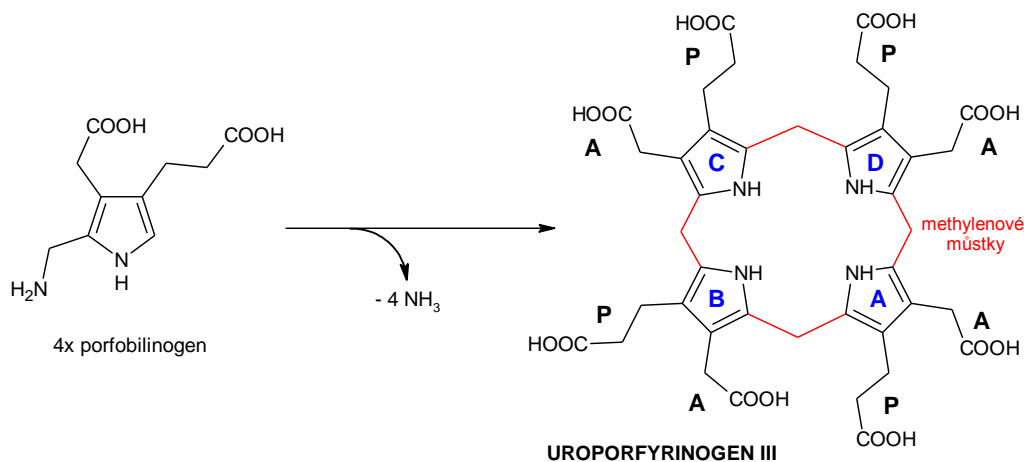
Řada léků **zvýšuje aktivitu právě ALA-synthasy**. To souvisí s tím, že každý lék je pro naše tělo **xenobiotikem** (cizí látkou) a naše tělo se xenobiotik zbavuje tak, že zvýší jejich rozpustnost, čehož dosahuje **hydroxylací**. Tuto hydroxylaci zajišťuje cytochrom P-450, který je stejně jako hemoglobin hemoproteinem – potřebuje pro svou funkci hem. Zvýšení aktivity ALA-synthasy zvýší syntézu hemu, který je následně využit pro syntézu cytochromu P-450.



Po té, co vzniknou 4 molekuly porfobilinogenu, mohou tyto kondenzovat dvěma způsoby:

- za vzniku **uroporfyrinogenu I** (minoritní počet případů)
- za vzniku **uroporfyrinogenu III** (hlavní produkt kondenzace)

Ke kondenzaci dochází **přes aminomethylovou skupinu**, přičemž se uvolní 4 molekuly **amoniaku**.

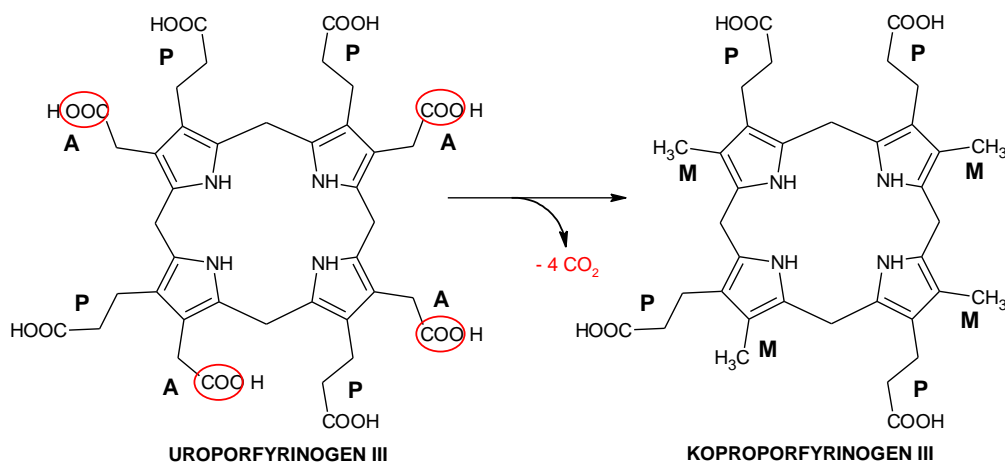


Ke schématu:

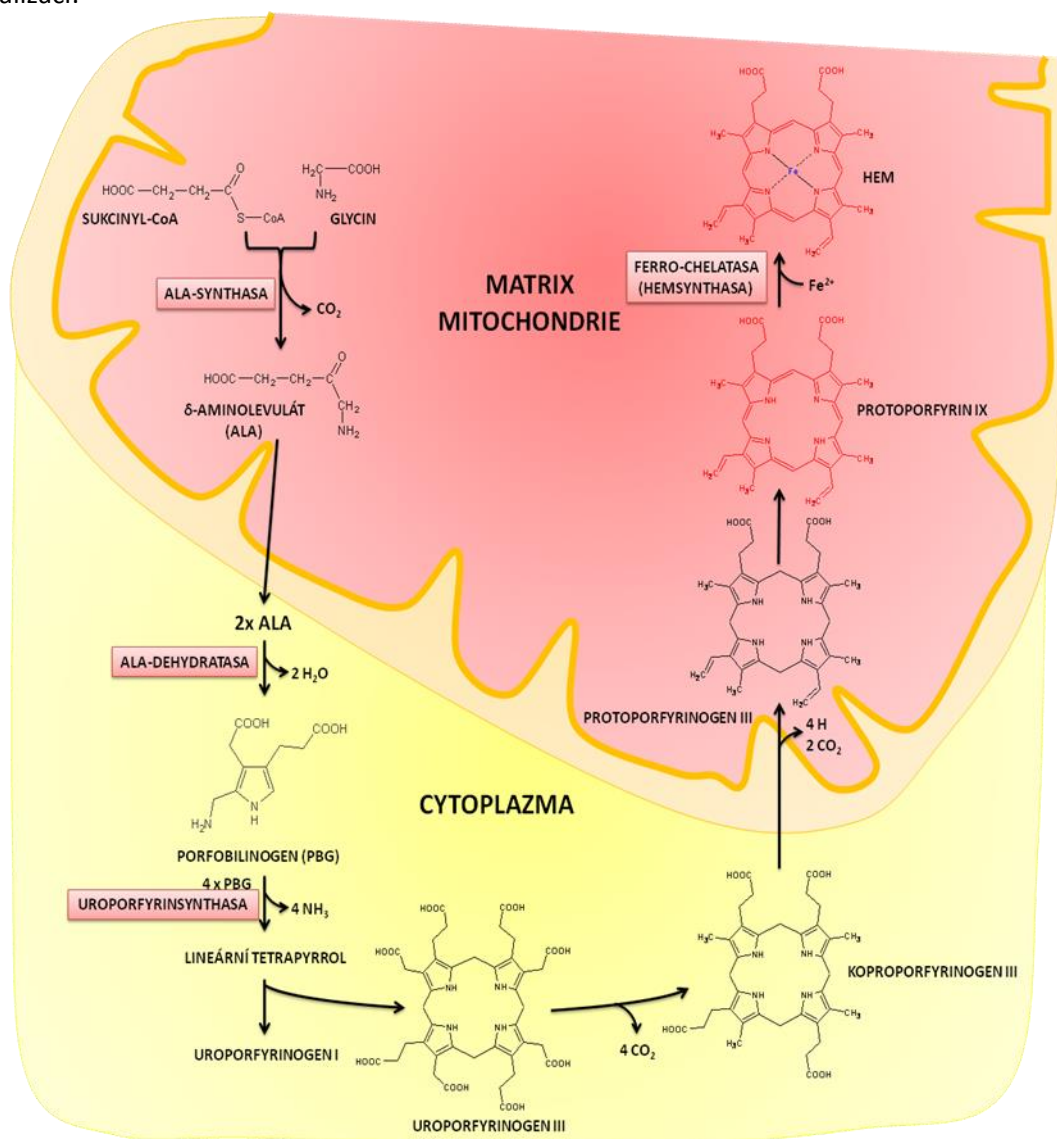
- modrá písmena (A,B,C,D) odpovídají tradičnímu označení kruhů
- černá písmena (A a P) označují název substituentu (A pro acetyl, P pro propionyl)

Další dvě reakce na uroporfyrinogenu III **obnáší úpravy postranních substituentů**:

- nejprve jsou všechny acetyly dekarboxylovány na **methyl** (vzniká **koproporfyrinogen III**)
- následně jsou dva propionáty dekarboxylovány a dehydratovány na **vinyl** (vzniká **protoporfyrinogen III**)



Na závěr shrnující schéma syntézy hemu, i s účastníky se enzymy a znázorněnou buněčnou lokalizací:



Degradace hemu

Degradací hemu vzniká **oxid uhelnatý (CO)** a **biliverdin**, který se následně přemění na **bilirubin**. K rozštěpení tetrapyrrolového kruhu dochází vlivem enzymového komplexu **hemoxygenasy** (reakce se účastní 3 atomy O_2 a 3 molekuly $NADPH+H^+$).

Problematika týkající se katabolismu hemu, bude podrobněji rozebrána ve 4. semestru.

Porfyrie

Porfyrie je obecný název pro **defekty**, které se objevují v syntéze hemu. Rozlišujeme:

a) porfyrie primární

Jsou způsobeny **defektními enzymy** účastníky se syntézy hemu. Dochází k akumulaci meziproduktů (ALA, PBG a porfyrinogenů).

Např. Erythropoetická porfyrie (Güntherova choroba). Jedná se o vzácné onemocnění – porfyrinogeny se hromadí v kůži, která je proto velmi senzitivní na světlo. Postižení jsou tak aktivní v noci, na kůži se objevují léze, dochází k deformaci uší, nosu, rtů a celého obličeje.

Ve středověku byli takto nemocní považováni za upíry.

b) porfyrie sekundární

Příznaky jsou podobné primárním porfyriím, ale k inaktivaci enzymů došlo **v důsledku onemocnění, či otravy** (např. ALA-synthasu lze „otravit“ olovem).

2.2 Struktura hemoglobinu

Hemoglobin je bílkovina jako každá jiná. Můžeme u něj tedy rozlišit strukturu:

- **primární** (uspořádání AK v řetězci)
- **sekundární** (prostorová orientace hlavního řetězce)
- **terciární** (prostorová orientace celého řetězce, včetně vedlejších zbytků AK)
- **kvartérní** (vzájemné uspořádání podjednotek)

Primární struktura hemoglobinu se věnovat nebudeme.

Sekundární struktura

V molekule hemoglobinu můžeme rozlišit (v sekundární struktura) **8 helikálních úseků**, které se označují písmeny **A-H**. Jednotlivé úseky se skládají z různého množství AK, proto jsou různě dlouhé – nejkratší helix je tvořen 7 AK, nejdelší 20 AK.

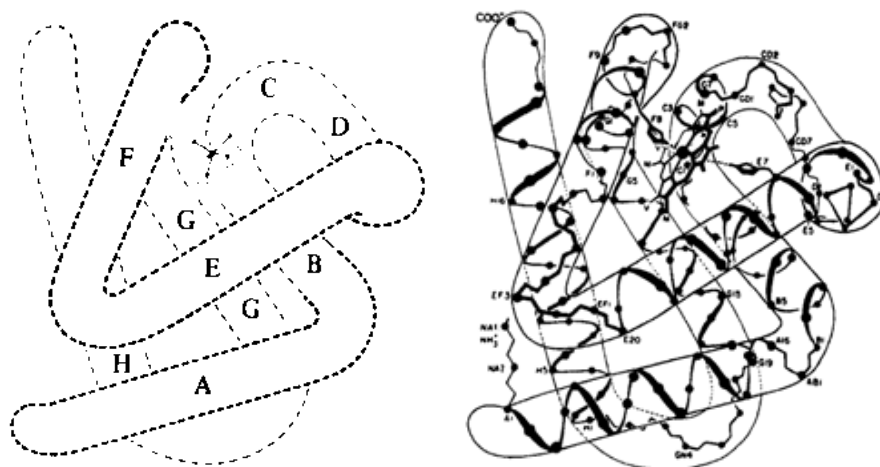
Jednotlivé helixy jsou **spojeny nehelikálními úseky** (jedná se o nepravidelné struktury).

Na začátku a konci řetězce rozlišujeme navíc tzv. **plápolající konce** (což jsou krátké úseky složené z několika aminokyselin).

Terciární struktura

Terciární strukturu můžeme odvodit z názvu molekuly – hemoglobin. *Globulus* znamená latinsky koule.

Jednotlivé helikální úseky se stáčíjí tak, aby zbytky hydrofobních aminokyselin směřovaly dovnitř „koule“ a zbytky hydrofilních aminokyselin směřovaly vně „koule“. Tím vzniká uvnitř hemoglobinu **hydrofobní kapsa**, ve které je umístěn hem a je tak chráněn před oxidací (která je velmi nežádoucí – vznikl by při ní hemoglobin).



K obrázku:

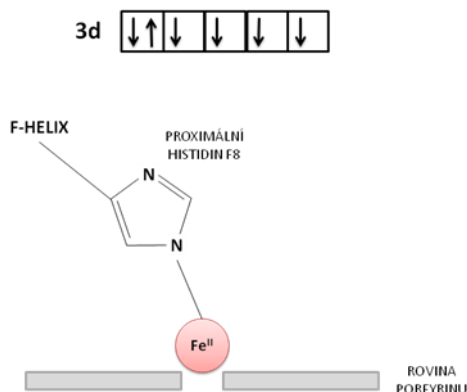
Na levé straně je znázorněno schematické uspořádání podjednotek, na pravé straně je stejný obrázek, akorát jsou znázorněny jednotlivé helixy, nehelikální úseky i plápolající konce. Zaměříme-li se na pravou část pozorněji, můžeme vidět, jak je v molekule uchycen hem (podrobněji viz níže).

Vazba hemu na globin

Hem je **cyklický tetrapyrrol**, globin je **bílkovina**. Jak bylo zmíněno výše, vytváří globin **hydrofobní kapsu**, ve které je hem uchycen a uschován.

Význam hydrofobní kapsy je velký: kdyby v ní hem nebyl uložen, tak by při styku s kyslíkem docházelo k oxidaci železa z Fe^{2+} na Fe^{3+} . Napojení na globin a uložení v hydrofobní kapse umožňuje kyslík **navázat a přenášet**.

V případě, že na železo není navázán kyslík, nachází se železo v tzv. **vysokospinovém stavu** a jeho koordinační číslo je rovno **5** (čtyřmi vazbami se váže na hem, jednou vazbou na histidin F8).



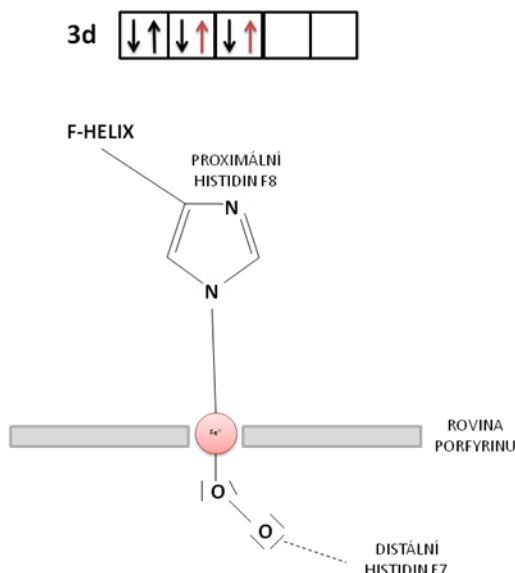
K obrázku:

Pomocí rámečků je znázorněno, jak jsou uspořádány elektrony ve valenční sféře atomu železa v případě vysokospinového stavu.

Pod rámečky je znázorněna situace v molekule hemoglobinu – železo se nachází nad rovinou porfyriu a je napojeno na proximální histidin F8.

V okamžiku, kdy se na železo napojí kyslík, dojde k následujícím dějům:

- 1) Vysokospinový stav železa se změní na **nízkospinový** (koordinační číslo železa je **6**).
- 2) Změnou na nízkospinový stav dojde ke **zmenšení iontového poloměru** (dáno tím, že se některé elektrony přesunuly z vnější vrstvy do vnitřní; viz obrázek).
- 3) Zmenšením iontového poloměru dojde ke **zmenšení odpuzování mezi železnatým iontem a dusíky v porfyriu kruhu**.
- 4) Zmenšení odpuzování a zmenšení iontového poloměru umožňuje **zasunutí železa do roviny porfyriu** (tímto zasunutím se mj. železnatý ion „přes kyslík“ dostává do vazby s distálním histidinem E7)
- 5) Zasunutí do roviny kruhu **způsobuje další změny v konformaci molekuly** (železnatý ion za sebou „táhne“ histidin F8 a ten s sebou táhne celou podjednotku, na kterou je napojen a ta opět mění strukturu ostatních podjednotek, protože je na ně rovněž napojena)



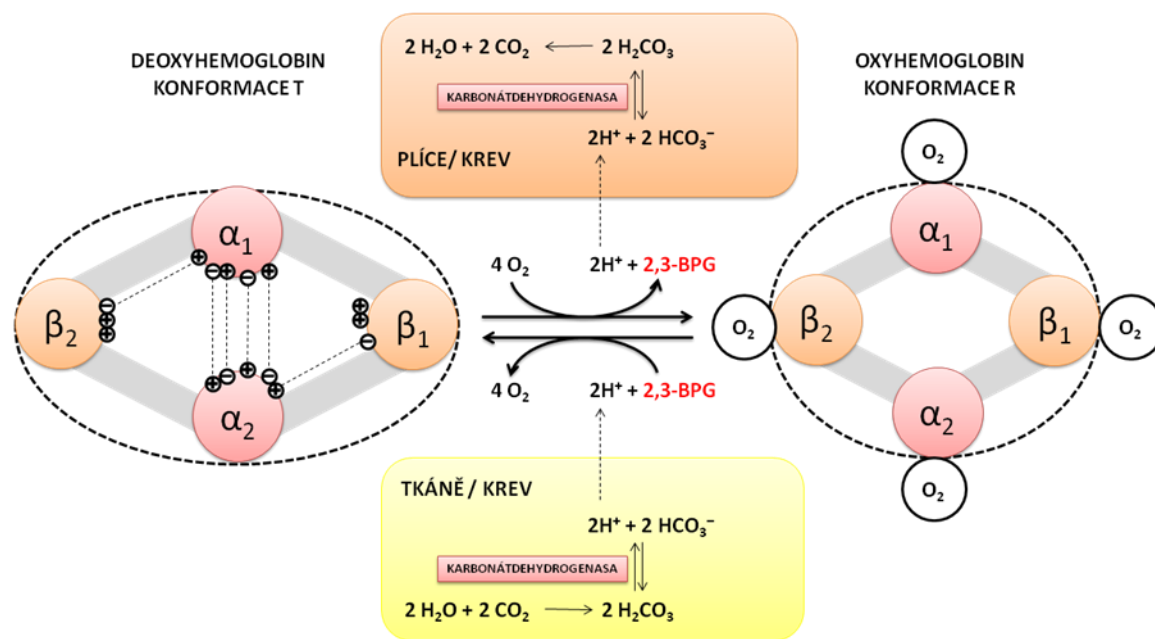
K obrázku:

Došlo ke změně elektronového uspořádání (nízkospinový stav). Tím se ion železa zmenšil, zmenšilo se odpuzování mezi ním a porfyriem a mohl se tak zasunout do roviny kruhu. Díky tomu, že se změnilo koordinační číslo, mohl se navázat kyslík, který nyní „komunikuje“ s histidinem E7.

Nyní víme, co se děje v oblasti kolem železnatého iontu. Tyto změny, jak bylo zmíněno v bodě 5, ale ovlivňují **konformaci celé molekuly**. Jak se tedy mění **kvartérní struktura**?

Není-li na hemoglobin navázán kyslík, vypadá kvartérní struktura tak, jak byla popsána výše. Mluvíme o **deoxyhemoglobinu**, který se nachází v **konformaci T** (od německého *taut* – napjatý). Konformaci T pomáhá udržovat 2,3-bisfosfoglycerát (2,3-BPG), o jehož roli bude pojednáno níže).

Po navázání kyslíku, dojde k přerušení elektrostatických interakcí mezi podjednotkami, vzniká **oxyhemoglobin** a dostává se do **konformace R** (od slova *relaxed* – uvolněná).



K obrázku:

Obrázek naznačuje celý proces vazby a uvolňování kyslíku.

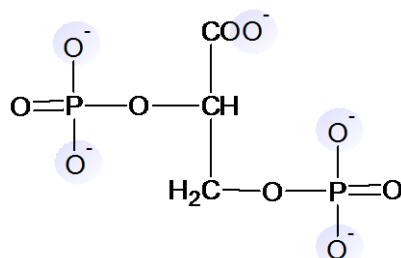
Začneme v plicích u hemoglobinu, na který se právě navázaly čtyři molekuly kyslíku (jedná se o oxyhemoglobin). Navázáním kyslíku došlo k přerušení elektrostatických vazeb mezi podjednotkami a hemoglobin zaujal konformaci R. Kromě narušení elektrostatických vazeb, došlo k uvolnění 2,3-BPG a **dvou protonů** (pocházejících z histidinu). **Tyto dva protony reagují s hydrogenkarbonátovým iontem a vlivem enzymu karbonátdehydrogenasy se přemění na kyselinu uhličitou, která se rozpadne na vodu a oxid uhličitý, který vydechneme plicemi.**

Oxyhemoglobin se následně přesouvá do tkání, jejichž **metabolismem vzniká voda a oxid uhličitý, který je potřeba odstranit.** Tyto dvě látky spolu reagují za vzniku kyseliny uhličitě, která se pod vlivem enzymu karbonátdehydrogenasy rozpadá na hydrogenuhlíčanový aniont a dva protony. Tyto dva protony se spolu s 2,3-BPG navážou na oxyhemoglobin, čímž z něj uvolní 4 molekuly kyslíku a změní jej na deoxyhemoglobin (dojde ke změně konformace R → T).

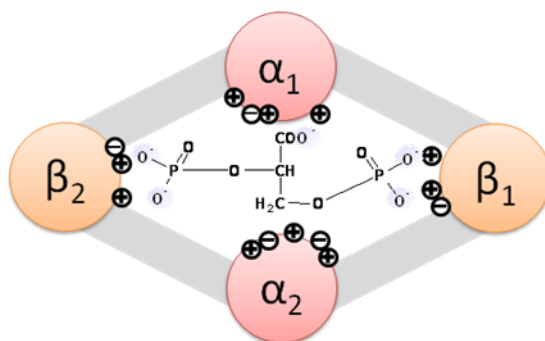
Kromě toho se na hemoglobin naváže CO₂, avšak nikoliv na železo, ale na volné –NH₂ skupiny (z aminokyselin tvořících globinové řetězce, nebo na plápolající N-konec). I tento CO₂ je vydechován při dýchání (naváže se kyslík, uvolní se oxid uhličitý a je vydechnut).

Význam 2,3-BPG

2,3-BPG je unikátní molekula – je **velice malá** a obsahuje **pět záporných nábojů**.



Jejím úkolem je stabilizovat **T konformaci**. Díky svému zápornému náboji je „kompatibilní“ s kvartérní strukturou hemoglobinu, do které se váže tak, jak je znázorněno na obrázku níže, tedy fosfátovými zbytky směrem k β -podjednotkám, karboxylovou skupinou k jedné z α -podjednotek:



Tímto způsobem dochází ke **stabilizaci T struktury**, tedy se **snižuje afinita hemoglobinu ke kyslíku** (= „pro kyslík je těžší přerušit elektrostatické interakce, tedy se mu hůře navazuje“).

Bohrův efekt

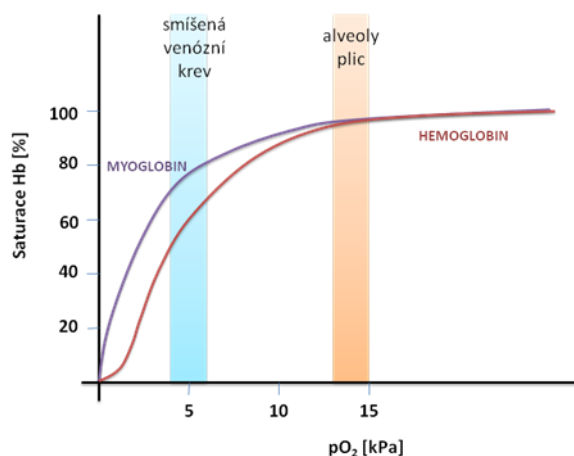
Bohrův efekt se týká acidobazických vlastností hemoglobinu (které souvisí s uvolňováním a přijímáním protonů H^+ a úzce s tím i s uvolňováním a vazbou kyslíku). Vychází z předpokladu, že **oxyhemoglobin (HbO_2) je silnější kyselinou, než deoxyhemoglobin (Hb)³.**

Jak bylo popsáno výše, dochází ve tkáních (ve kterých je **nízké pH – tedy hodně protonů**) k **vazbě dvou protonů na oxyhemoglobin**, přičemž po této vazbě následuje uvolnění kyslíku a oxyhemoglobin se mění na **deoxyhemoglobin**. Proto, že je deoxyhemoglobin slabší kyselinou (=méně ochotně odevzdává protony a ochotněji je přijímá), nedojde ke zpětnému uvolnění protonů do prostředí.

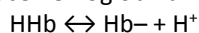
Následně se deoxyhemoglobin přesune do plic, kde je pH vyšší (protonů je zde méně), **uvolní své protony**, naváže na sebe kyslík a přemění se na oxyhemoglobin. Protože je oxyhemoglobin silnější kyselinou (=ochotně protony odevzdává, ale hůře je přijímá), nedojde ke zpětnému navázání protonů na oxyhemoglobin.

2.3 Saturace hemoglobinu kyslíkem

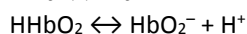
Saturaci hemoglobinu kyslíkem můžeme popisovat pomocí **saturační křivky**, která udává závislost saturace hemoglobinu kyslíkem (%) na parciální tlaku O_2 (kPa).



³ Disociace hemoglobinu:



$$pK_A=7,8$$



$$pK_A=6,2 \text{ (silnější kyselina)}$$

Ke grafu:

Jak vidíme, má **křivka esovitý (sigmoidní) tvar**. Ten je dán tzv. **kooperativním charakterem navazování kyslíku**.

Při vazbě kyslíku na hemoglobin musí kyslík přerušit elektrostatické interakce mezi jednotkami hemoglobinu. Po té, co je navázána první ze čtyř molekul (ta měla s navázáním největší práci, musela překonat všechny elektrostatické interakce), má druhá molekula situaci lehčí (některé vazby už jsou přerušeny), třetí ještě lehčí a čtvrtá se navazuje nejsnáze. Můžeme říct, že molekuly kyslíku „kooperují“, tedy si navzájem pomáhají.

V grafu je zanesena i křivka pro **myoglobin**, tedy svalové barvivo. Myoglobin se skládá pouze z jedné podjednotky, nelze tedy mluvit o kooperativním charakteru, tvar křivky je typicky hyperbolický.

Mj. je v grafu naznačena situace ve smíšené venózní krvi ($pO_2 < 5 \text{ kPa}$)⁴, kdy je hemoglobin zhruba ze 73% nasycen a v plicních alveolech ($pO_2 = 13-15 \text{ kPa}$), kdy je hemoglobin nasycen cca z 97%.

Tvar saturační křivky pro hemoglobin je ovlivňován různými faktory:

- změnami v **parciálních tlacích kyslíku a oxidu uhličitého**
(vyšší parciální tlak O_2 usnadňuje saturaci kyslíkem)
(vyšší parciální tlak CO_2 ztěžuje saturaci kyslíkem; usnadňuje uvolňování)
- změnami **pH**
(vyšší pH (=méně protonů) ztěžuje saturaci kyslíkem; usnadňuje uvolňování)
- koncentrací **2,3-BPG**
(vyšší koncentrace 2,3-BPG ztěžuje saturaci kyslíkem; usnadňuje uvolňování)
- změnami v **teplotě**
(vyšší teplota ztěžuje saturaci kyslíkem; usnadňuje uvolňování)

2.4 Typy a deriváty hemoglobinu; abnormální hemoglobiny

Lidský hemoglobin se vyskytuje v několika různých typech:

Tabulka 1 - Typy lidského hemoglobinu

Označení	Struktura	Poznámka	Podíl z celkového Hb u dospělých
HbA	$\alpha_2\beta_2$		~ 97%
HbA₀		- glykace v různých pozicích na Hb (označován jako HbA-Glc)	
HbA₁		- glykace pouze na $-NH_2$ β -globinu	
HbA_{1c}		- klinicky významný (dává informaci o glukosemii v posledních 2 měsících)	
HbA₂	$\alpha_2\delta_2$		~ 2,5%
HbF	$\alpha_2\gamma_2$	fetální hemoglobin	~ 0,5%

V lidské krvi se vyskytuje především standardní hemoglobin HbA (97%).

Ten může být glykovan v různých pozicích (viz tabulka, pro podrobnější informace viz Biochemie I – seminář, str. 16). O průběhu glykace proteinů bude pojednáno na další stránce.

Významným typem glykovaného hemoglobinu je HbA_{1c}, který se stanovuje v krvi např. u diabetiků, neboť udává informaci o glukosemii v posledních dvou měsících (lze tak tedy zjistit, zda diabetik „nepodvádí se svou dietou“). Referenční meze pro HbA_{1c} jsou:

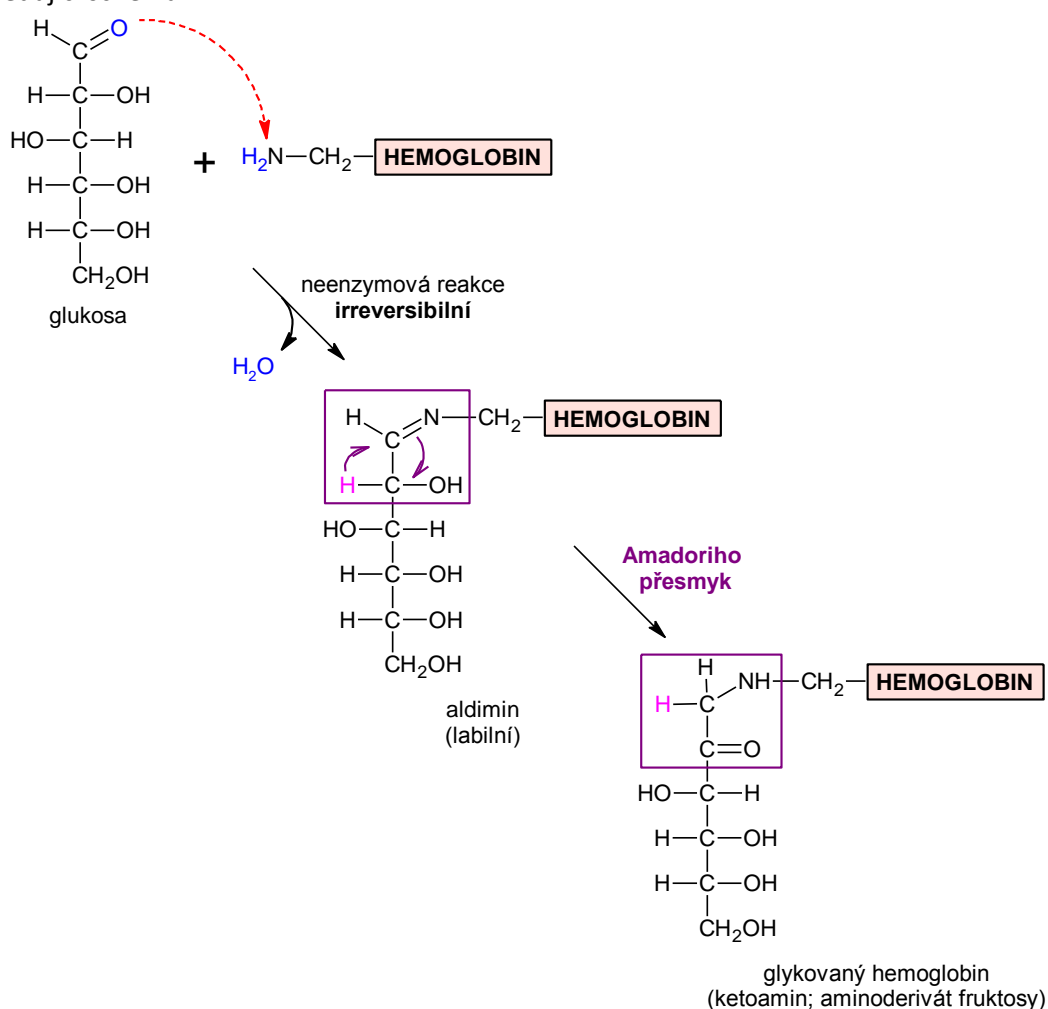
- pro muže: 140-180 g/l nebo 8,1-11,2 mmol/l
- pro ženy: 120-160 g/l nebo 7,4-9,8 mmol/l

HbF je fetální hemoglobin, který má velký význam v dětství, ale jeho vysoká koncentrace v krvi dospělých je patologická. HbF obsahuje místo β -jednotky γ -jednotku, která nese **méně kladných nábojů**, tudíž se na ni hůř navazuje 2,3-BPG, tudíž je **snadněji saturevatelná kyslíkem** (to je důležité u dětí, ale u dospělých už tak moc ne...).

⁴ Kritická hodnota pro hypoxii je 3,5 kPa.

Glykace hemoglobinu:

Glykovaný hemoglobin vzniká při **neenzymové glykaci proteinů**, jejíž průběh popisuje následující schéma:



Ke schématu:

Na -NH₂ skupinu hemoglobinu se napojí glukosa (současně se odštěpí voda). Reakce není nikterak katalyzovaná a je nevratná. Vzniká nestabilní aldimin, který se ihned přesmykne na ketoamin (tzv. Amadoriho přesmyk). V tomto přesmyku dochází k přesunu dvojně vazby (a tudíž i vodíků) a z glukosy se stává fruktosa.

Doposud jsme popisovali *typy* lidského hemoglobinu. Nyní se zaměříme na jejich *deriváty*, které vznikají po vazbě jednoduchých anorganických molekul (O₂, CO, CO₂) nebo oxidací železa.

Vyjďeme ze základního **deoxyhemoglobinu**:

- vazbou O₂ vzniká **oxyhemoglobin**
- vazbou CO₂ vzniká **karaminohemoglobin**
- vazbou CO vzniká **karbonylhemoglobin (karboxyhemoglobin⁵)**
- oxidací železa z Fe²⁺ na Fe³⁺ vzniká **hemoglobin (methemoglobin)**

Otrava oxidem uhelnatým může nastat v případě, že jsme vystaveni jeho vysoké koncentraci v ovzduší (např. při požárech, kdy dochází k nedokonalému spalování uhlíku). První pomocí je čerstvý vzduch, v závažnějších případech hyperbarická komora.

Karbonylhemoglobinu se v lidské krvi vždy vyskytuje určité množství – toto množství je ovlivňováno především prostředím, ve kterém žijeme. Pro lepší představu viz tabulku na následující stránce.

⁵ CO₂, jak bylo řečeno, se váže na -NH₂ skupiny v molekule Hb. **CO** se váže **na železo pevněji než kyslík**, čímž znemožňuje hemoglobinu plnit jeho funkci a může dojít k otravě!!!

Tabulka 2 - Karbynoylhemoglobin v krvi

Subjekt / Situace	CO-Hb (%)
novorozenec	0,4
dospělý (venkov)	1-2
dospělý (město)	4-5
kuřák	10-12
dopravní policista	12-15
otrava	20-50
smrt	55-60

Methemoglobinemie jsou onemocnění způsobená zvýšením hladiny methemoglobinu v krvi. Rozlišujeme dva typy:

- vrozenou** methemoglobinemii
Osoba s vrozenou methemoglobinemii má v krvi zvýšenou hladinu HbM, což znamená, že histidin F8 je v primární struktuře zaměněn za tyrosin. Hydrofobní kapsa kolem hemu je tak narušena a dochází snáze k oxidaci železa.
- toxickou** methemoglobinemii
Osoby s toxickou methemoglobinemii byly vystaveny působení anilinu, nitrobenzenu, alkylnitrátů, dusitanů, chlorečnanů a dalších látek, které způsobí oxidaci železa.

Kromě výše popsaných typů a derivátů hemoglobinu se v krvi můžeme setkat s **abnormálními hemoglobiny**, které vznikají **bodovými mutacemi** (u postižených jedinců hovoříme o **hemoglobinopatiích**; známe více jak 200 různých bodových mutací).

Např.

- HbS $\alpha_2\beta_2$... 6 Glu → Val
- HbC $\alpha_2\beta_2$... 6 Glu → Lys
- HbM $\alpha_2\beta_2$... F8 His → Tyr
... 67 Val → Glu

U osob s HbS dochází k **srpkovité anémii**. Postižení mají zaměněnou šestou AK v β -řetězci (místo glutamátu mají valin). Valin způsobuje, že jsou β -řetězce „lepivé“ a dochází tak k jejich agregaci – to se projeví v deformovaném tvaru erytrocytů, které vypadají jako srpky.

U osob s HbM dochází k již popsané methemoglobinemii.

Další poruchy, které souvisejí s hemoglobinem, mohou být způsobeny **nedostatečnou syntézou jednoho z bílkovinných řetězců**. Hovoříme o **thalasémiích**, jichž rozlišujeme dva druhy:

- α -thalasémii (není dostatečně syntetizována jednotka α)
- β -thalasémii (není dostatečně syntetizována jednotka β ; **častější⁶**)

2.5 Další hemoproteiny

Doposud jsme se věnovali hemoglobinu, hlavnímu přenašeči **kyslíku** mezi plícemi a tkáněmi. Zmínili jsme se i o **myoglobinu** (svalové krevní barvivo, které slouží k depozici kyslíku pro svaly; jedná se o monomer – má tedy hyperbolickou saturační křivku).

Tyto dva hemoproteiny mají společné to, že:

- **slouží pro transport (uchování) kyslíku**
- **hem je v nich vázán pevně (jako prostetická skupina)**
- **hem je schovaný v hydrofobní kapse a nedochází k oxidaci jeho železa (kdyby k ní došlo, ztratil by protein funkci)**

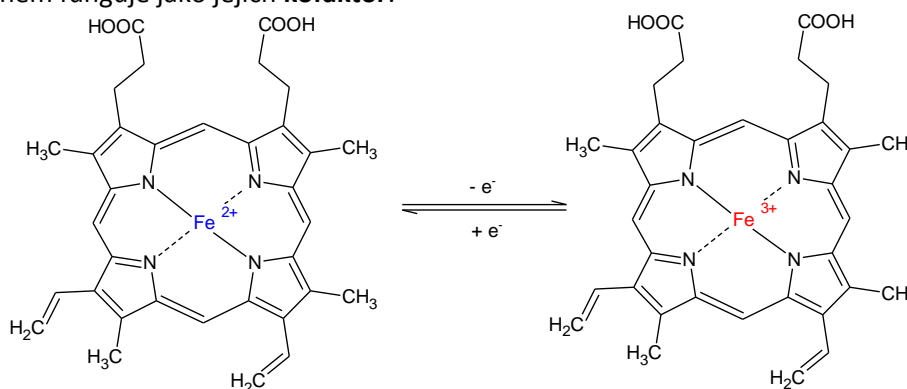
⁶ Poznámka: obecně lze říci, že více chyb se u Hb vyskytuje v β jednotce.

U ostatních hemoproteinů, o kterých se budeme nyní bavit, je tomu zcela jinak. Jejich hem je relativně exponovaný (není kolem něj hydrofobní kapsa) a změna oxidačního čísla železa je základem funkce daného hemoproteinu (přenos jednoho elektronu).

Tabulka 3 - Hemoproteiny a jejich funkce

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

Ostatní hemoproteiny většinou patří mezi **oxidoreduktasy**. Jejich úkolem je přenášet jeden elektron, hem funguje jako jejich **kofaktor**:



Katalasa a peroxidasy

Katalyzuje přeměnu $\text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow \frac{1}{2} \text{O}_2 + \text{H}_2\text{O}$

Peroxidasy katalyzují přeměnu peroxidů obecně.

Cytochromy

Cytochromy jsou **součástí dýchacího řetězce**, o jejich funkci a struktuře bude podrobněji pojednáno v kapitole o Dýchacím řetězci.

Cytochrom P-450 (CYP) ⁷

Existuje asi 150 izoforem tohoto proteinu/enzymu (syntézu některých z nich lze indukovat, čehož se využívá v lékařství). Vyskytují se ve všech tkáních **kromě svalů a erytrocytů**, nejvíce jsou zastoupeny **v játrech**, kde probíhá velké množství biotransformačních pochodů. V buňce je nalezneme v ER a v mitochondriích.

Cytochrom P-450 se účastní **hydroxylačních reakcí** a to jak hydroxylací substrátů **endogenních**, tak **exogenních**.

Na **endoplazmatickém retikulu** jsou hydroxylovány látky jako **skvalen, cholesterol, kalcioi, prostaglandiny** a mnohé další. Velký význam má i **desaturace MK** a **hydroxylace xenobiotik**.

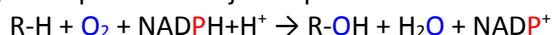
V **mitochondriích** dochází k hydroxylaci **steroidních hormonů**.

CYP funguje tak, že **zavádí do molekul atom kyslíku** za vzniku **-OH skupiny**: $\text{R-H} \rightarrow \text{R-OH}$.

Jedná se o **monooxygenasu** (z molekuly O_2 zabuduje do molekuly substrátu vždy jen jeden atom kyslíku; druhý atom kyslíku vytváří vodu, přičemž donorem vodíku je $\text{NADPH} + \text{H}^+$).

⁷ Odvození zkratky: P (pigment), 450 (vlnová délka v nanometrech, při které enzym výrazně absorbuje po navázání oxidu uhelnatého)

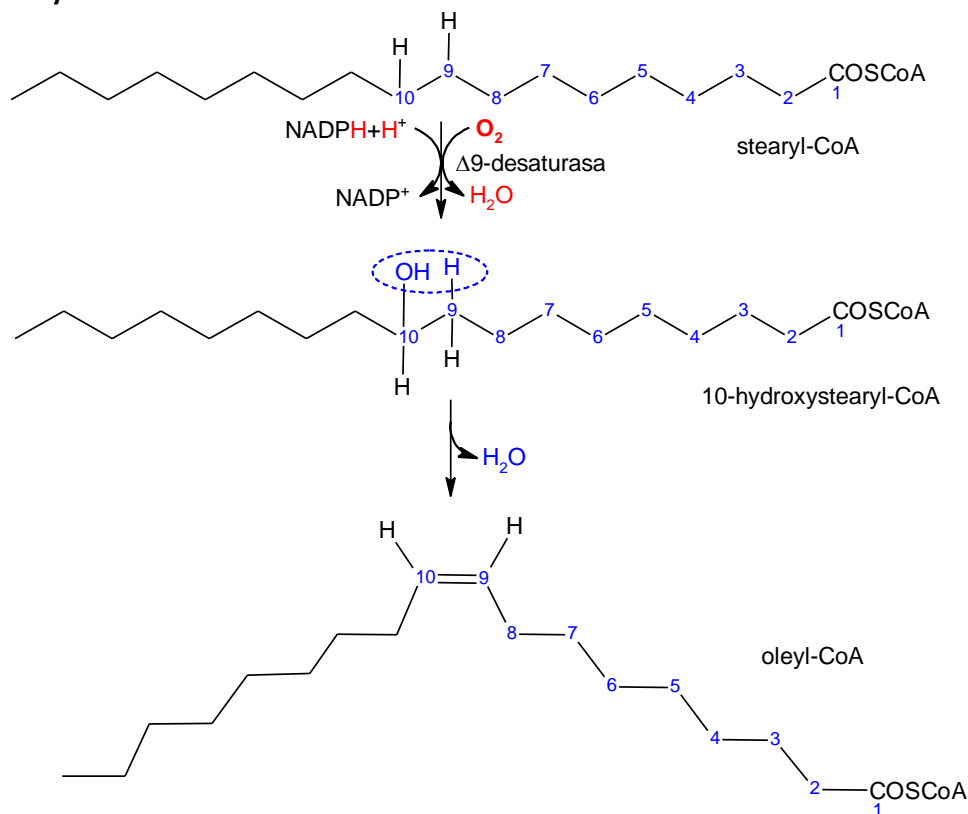
Obecně můžeme hydroxylaci zapsat následujícím způsobem:



Desaturasy MK

Desaturasy mastných kyselin se účastní (jak název napovídá) **desaturace MK**. Při desaturaci MK dojde ve výsledku k **vytvoření dvojné vazby** mezi dvěma uhlíky. Reakce ale probíhá ve dvou krocích:

- a) hydroxylaci
- b) dehydrataci



Hydroxylace katalyzované monooxygenasami nemusejí probíhat pouze výše poposaným mechanismem. Spíše pro zajímavost (ale s uvedenými reakcemi se v tomto textu ještě setkáme) je v následující tabulce uveden přehled různých hydroxylačních reakcí:

Tabulka 4 - Hydroxylační reakce (monooxygenasy)

Substrát	Produkt	Původ kyslíku	Koreduktant	Další složky
Fenylalanin	Tyrosin	O ₂	BH ₄	---
Xenobiotika	Xenobitoka-OH	O ₂	NADPH+H ⁺	FAD, hem (CYP)
Prolin	4-hydroxyprolin	O ₂	2-oxoglutarát	Fe ²⁺ , askorbát
Dopamin	Noradrenalin	O ₂	askorbát	Cu ²⁺