

# HEMOGLOBIN

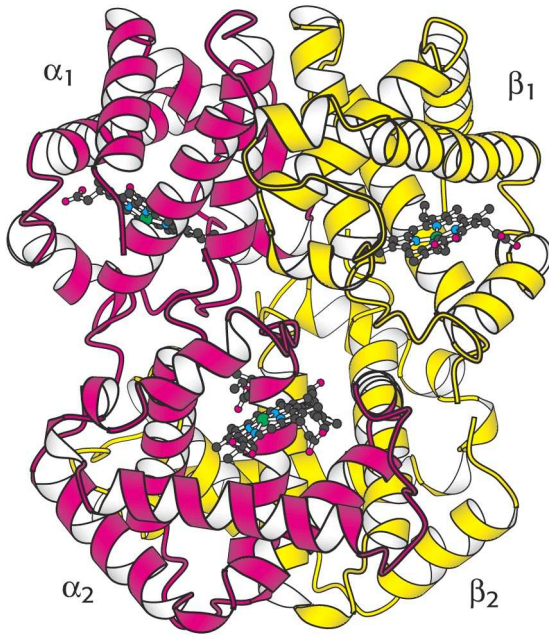
## Struktura hemoglobinu (Hb)

Funkční hemoglobin je tetramer složený ze

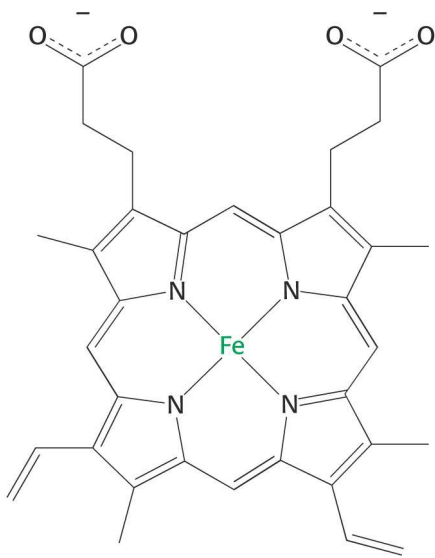
- 2 podjednotek  $\alpha$  (lehké řetězce, 141 aminokyselin) a
- 2 podjednotek  $\beta$  (těžké řetězce, 146 aminokyselin)
- symbolicky označujeme tento tetramer jako  $\alpha_2 \beta_2$

Označuje se HbA (adult) ev. HbA<sub>1</sub> chceme-li odlišit od minoritního (2,5%) HbA<sub>2</sub> o složení  $\alpha_2 \delta_2$  rovněž se v organismu vyskytujícího

V každé podjednotce je vázán jeden hem jako prostetická skupina koordinační vazbou  $\text{Fe}^{2+}$  na zbytky His (přímo na proximální His 93, zprostředkovaně na distální His 64)



**MODEL HEMOGLOBINU**, v řetězcích se dále rozlišují oblasti (ramena) A – H



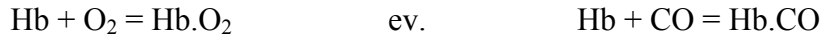
**Heme**  
**(Fe-protoporphyrin IX)**

**STRUKTURA HEMU**, Fe je fyziologicky jako  $\text{Fe}^{2+}$ , oxidace na  $\text{Fe}^{3+}$  je nefyziologická (místo *hemu* jde o *hemin*, místo *hemoglobinu* máme *methemoglobin*)

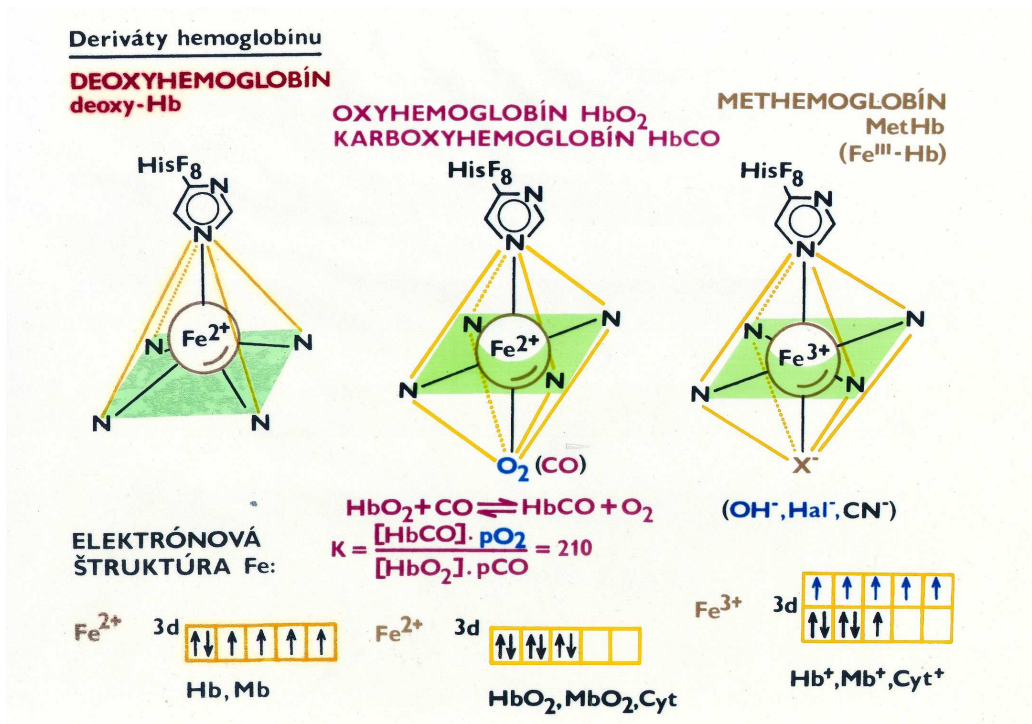
## Funkce hemoglobinu

$\text{Fe}^{2+}$  je vázán 4 vazbami na porfyrinový kruh, 5. koordinační místo je obsazeno proximálním His 93. Fysiologickým ligandem 6. koordinační místa je  $\text{O}_2$ , vázat se mohou i jiné ligandy, velmi pevně se váže CO (otrava svítíplynem, spaliny nedokonalého hoření apod.)

Vazba je vratná a lze ji popsat rovnicemi



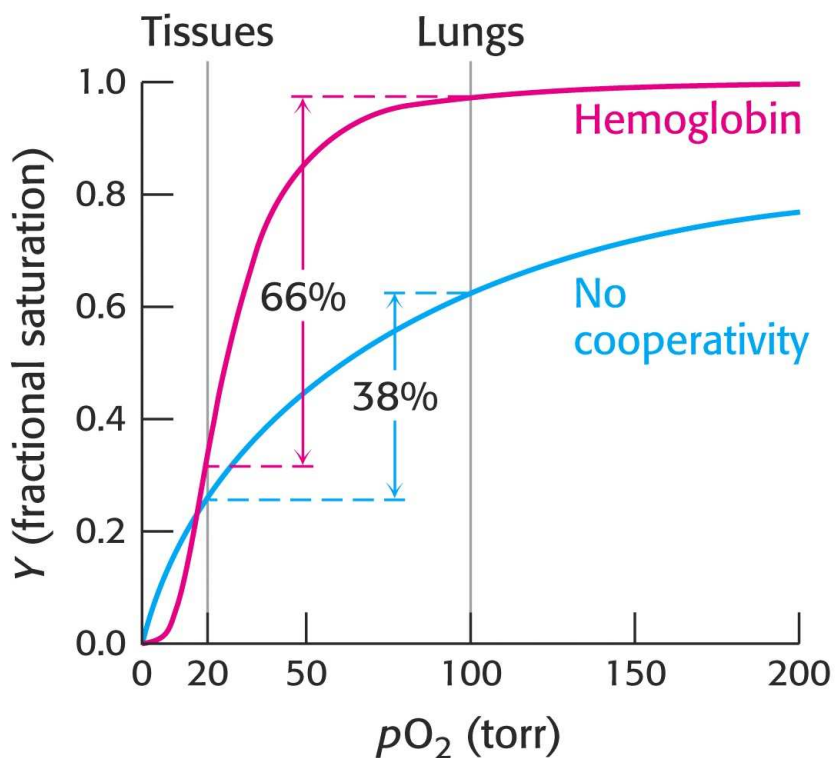
*Hb nazýváme deoxyHb, Hb.O<sub>2</sub> – oxyHb, Hb.CO – karbonylHb*



**FORMY a struktury Hb s různými ligandy.** Povšimněte si vlivu obsazení 6. koordinačního místa ligandem, kdy se  $\text{Fe}^{2+}$  přemisťuje do roviny porfyrinového kruhu. Vedle změn elektronové struktury vidíme rovnici reakce mezi Hb,  $\text{O}_2$  a CO, hodnota K nás přesvědčí, že CO je mnohem pevněji vázán než kyslík. Přesto lze otravě zabránit eliminací CO a zvýšením přívodem kyslíku.

**Fysiologickou funkcí Hb je ovšem přenos kyslíku v krvi (z plic ev. žaber do tkání).**

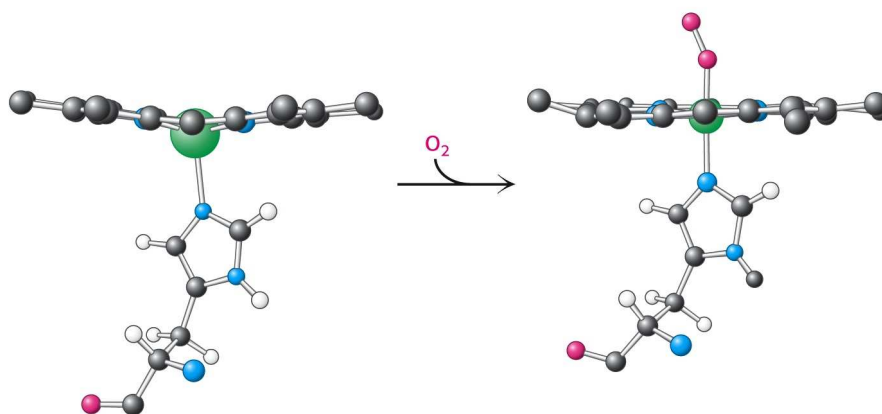
Stupeň nasycení Hb kyslíkem (tj.  $\text{HbO}_2 / (\text{HbO}_2 + \text{Hb})$ ) závisí na jeho parciálním tlaku  $p\text{O}_2$  v okolním prostředí. Průběh této závislosti vidíme na dalším obrázku – červená křivka.



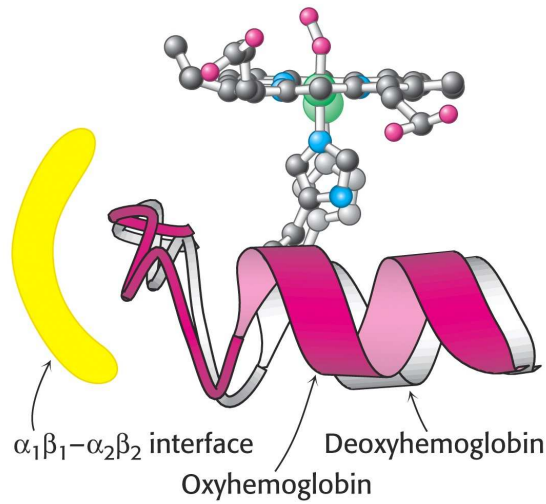
### ZÁVISLOST STUPNĚ NASYCENÍ Hb kyslíkem (Y) na $pO_2$ – torr = 133 Pa.

Hb se sytí kyslíkem v plicích, uvolňuje ho v tkáních. Proces je zefektivněn kooperativitou (vzájemným ovlivněním) vazných míst pro kyslík (4 hemy v celém tetrameru). U Hb to znamená, že po navázání první molekuly kyslíku na jeden hem dochází ke konformační změně způsobující zvýšení afinity zbylých vazných míst pro kyslík – viz červená křivka. Pokud k tomuto efektu nedochází (například u myoglobinu, který je monomerním), je přenos kyslíku méně efektivní – viz modrá křivka.

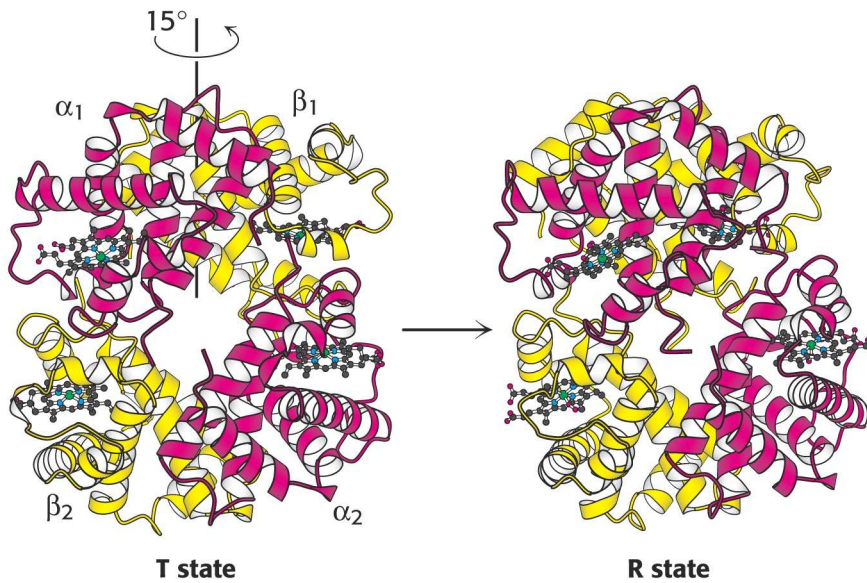
Základem pro toto chování je změna struktury vyvolaná vazbou kyslíku na  $Fe^{2+}$  jedné z podjednotek – viz též nahore):



$Fe^{2+}$  za sebou táhne His 93 a s ním celé raménko (úsek) F příslušného řetězce, které pak jako páka způsobí konformační změnu celé molekuly hemoglobinu.

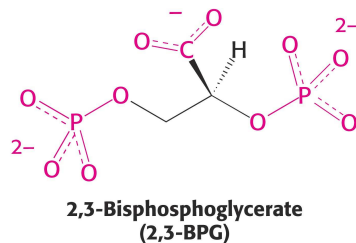


**SCHEMATICKÉ ZNÁZORNĚNÍ konformační změny vlivem vazby kyslíku na hem.** Změna se přenesla na ostatní podjednotky. Molekula Hb přechází z těsnější konformace T (tense) s nízkou afinitou ke kyslíku do uvolněné konformace R (relaxed) s vyšší afinitou. Toto chování je jedním z typů *allosterie*.

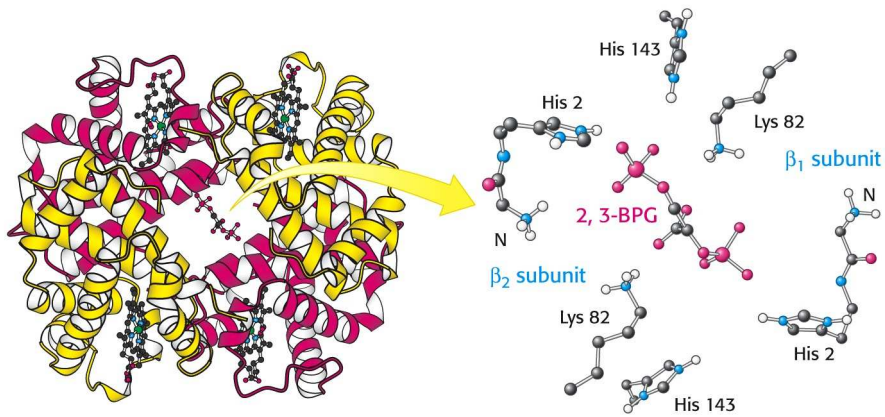


**MODELŮ konformačních stavů T a R**

Zvýšení efektivity přenosu kyslíku je dosaženo též vlivem některých metabolitů, které působí na allosterické chování Hb jako tzv. allosterické efektoři. Mimo  $\text{CO}_2$  a  $\text{H}^+$  takto působí i meziprodukt glykolýzy:



Tento metabolit stabilisuje deoxy-Hb interakcí svých kyselých skupin s His 143  $\beta$ -řetězců:



Tak si lze představit snazší uvolňování kyslíku při intenzivnější glykolýze.

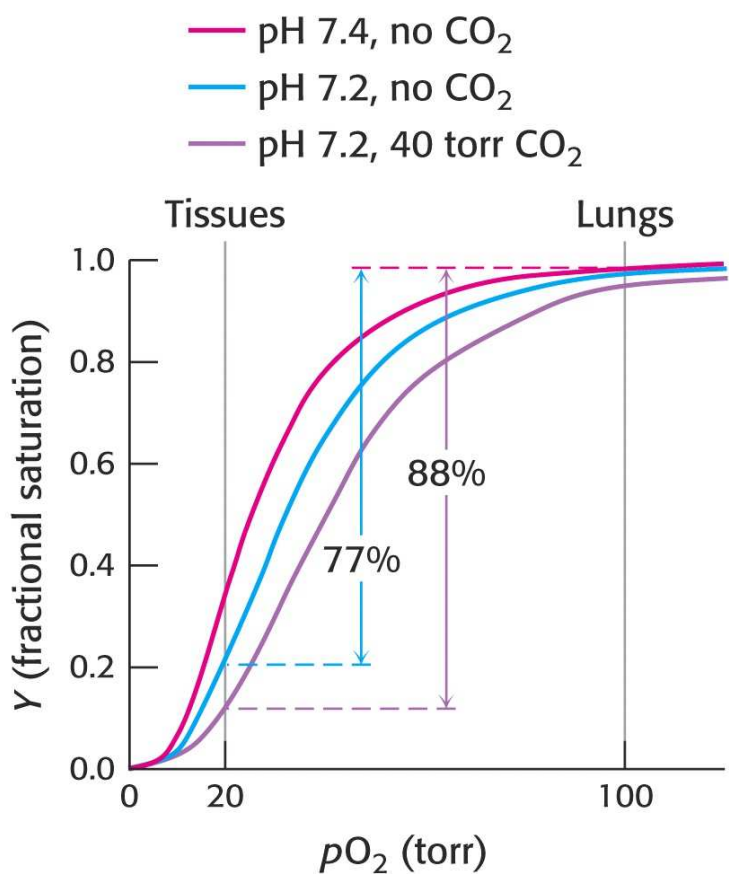
## Vliv pH na vazbu kyslíku na Hb.

Hb a HbO<sub>2</sub> se liší acidobasickými vlastnostmi, Hb je slabší kyselinou než HbO<sub>2</sub>. Toto pozitivně ovlivňuje efektivitu přenosu kyslíku.

Produkce CO<sub>2</sub> ev. laktátu v tkáních (pracující sval) zde zvyšuje [H<sup>+</sup>]. Poněvadž HbO<sub>2</sub> je silnější kyselinou, je zde posílena jeho deoxygenace (tvorí se basičtější Hb). Naopak v plicích dochází při ventilaci CO<sub>2</sub> ke zvýšení pH a upřednostní se oxygenace (tvorba kyselejšího HbO<sub>2</sub>).

Toto chování Hb se nazývá **Bohrovým efektem** (popsal dánský fyziolog Carsten Bohr, otec Nielse Bohra).

Předpokládá se podobný mechanismus u translokace protonů přes membránu pomocí oxidačně-redukčních změn komplexů dýchacího řetězce nebo fotosyntetických reakčních center.

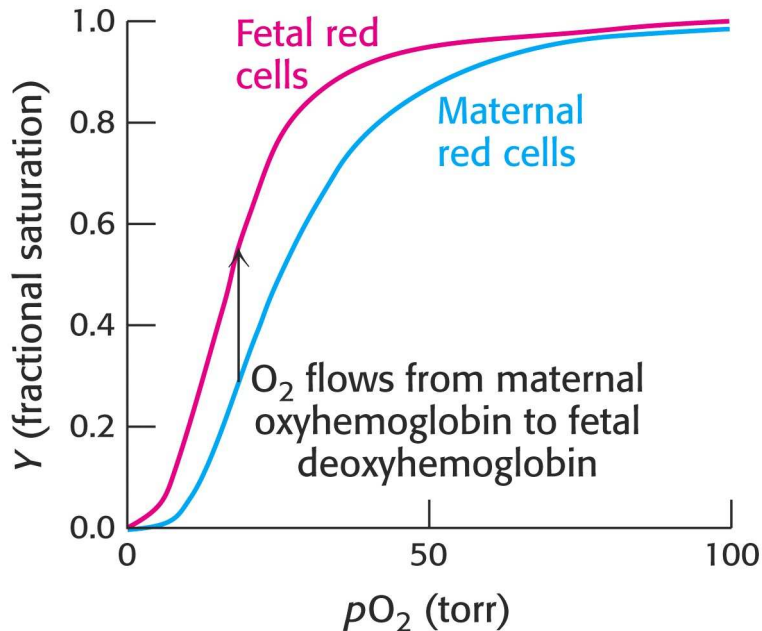


**VLIV pH a CO<sub>2</sub> na saturaci Hb.** Kromě vlivu samotného rozdílu pH je patrný také specifitější vliv CO<sub>2</sub>. množství využitelného kyslíku se zvýší o ca 1 l

CO<sub>2</sub> produkovaný při katabolických procesech ve tkáních (sval) je částečně transportován jako HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> v krvi, částečně se váže na terminální -NH<sub>2</sub> za vzniku karbamátu. První forma přispívá ke zvýšení účinnosti transportu kyslíku cestou Bohrova efektu, ve druhém případě se uplatní jako allosterický efektor – viz obr. nahoře.

## Fetální Hb

HbA je efektivní přenašeč kyslíku v organismu přijímajícím kyslík plicemi. Zárodek placentárních savců je zásobován kyslíkem přes placentu matky, kde je nižší  $pO_2$  a pro jeho efektivní využití potřebuje Hb schopný ho dostatečně vázat. Proto syntetisuje fetální Hb – HbF, tetramer o složení  $\alpha_2\gamma_2$ .



**SROVNÁNÍ SATURACE HbF a HbA.** Vyšší afinita HbF pro kyslík umožňuje jeho přečerpávání z placentární krve do krve plodu.

Po porodu, kdy novorozenec začne dýchat plicemi, se zastaví syntéza polypeptidového řetězce  $\gamma$  a začne se syntetisovat  $\beta$ -řetězec (je to též příkladem regulace proteosyntézy!) HbF (fetal) je degradován (novorozenecká žloutenka při intenzivním odbourávání hemu) a nahrazován HbA (adult – „dospělý“).



## Patologické hemoglobiny

Mutací – záměnou aminokyselin v jednotlivých řetězcích Hb dochází ke změně jejich vlastností a výskytu odlišných typů Hb – patologických, neboť jejich vlastnosti jim neumožňují fungovat potřebným způsobem.

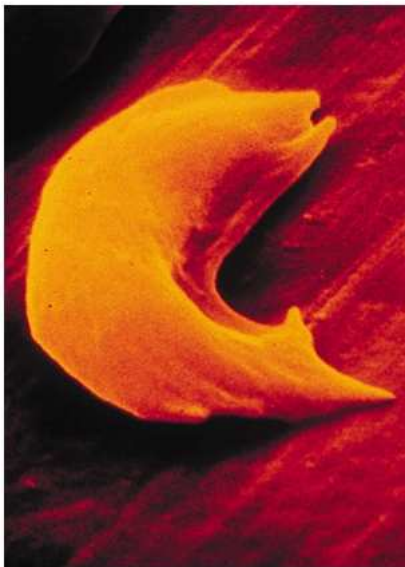
Zde bude popsán pouze HbS, nazvaný tak podle projevu této poruchy – *srpkovitá anémie*. Tato mutace spočívá v záměně 6Glu-Val v  $\beta$ -řetězci:

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

Morfologickým projevem této mutace je změněný tvar erytrocytů, které nabývají srpkovitého tvaru (sickle cells – odtud HbS). Fysiologický projev spočívá v nedokonalém transportu kyslíku v krvi – odtud *srpkovitá anémie*.



© Stanley Flegler/Visuals Unlimited

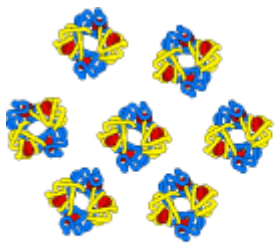
srpkovitý erytrocyt – sickle cell



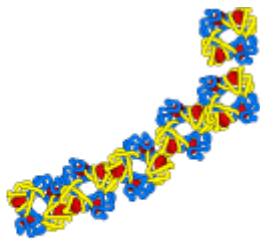
© Stanley Flegler/Visuals Unlimited

normální erytrocyt

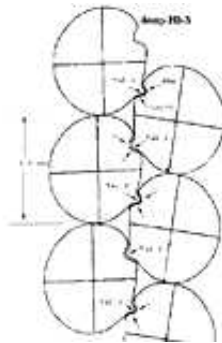
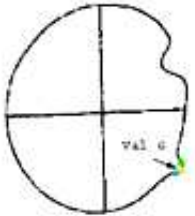
Základem morfologických změn je nová vlastnost HbS. Díky přítomnosti nepolárního zbytku Val 6 vytváří místo tetrameru řetězkové aglomeráty připomínající strukturu aktinu – významné součásti cytoskeletu:



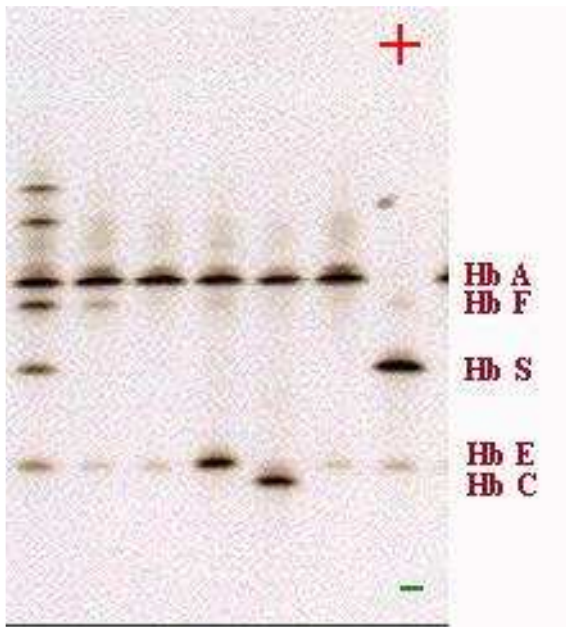
NORMAL  
HEMOGLOBIN



CLUMPED  
HEMOGLOBIN

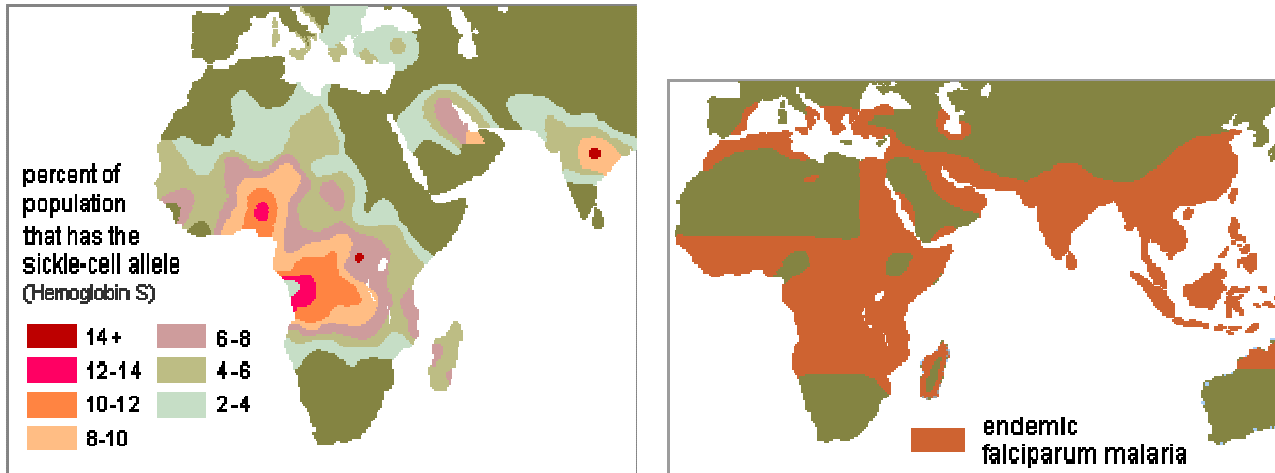


**Vliv záměny 6Glu-Val na kvarterní strukturu HbS ve srovnání s HbA.**



**ELEKTROFORETICKÉ ROZLIŠENÍ** jednotlivých forem Hb. HbS má o 2 Glu<sup>-</sup> méně, HbF má místo 2 His<sup>+</sup> 2 Ser.

Nedokonalá funkce HbS znevýhodňuje nositele vadného genu (allely). Pro homozygoty (obě allele vadné) je to fatální, heterozygoti (mají 1 allelu dobrou) dlouhodobě přežívají s příznaky anémie. Přetrvávání vadné allele bylo předmětem zkoumání, zda nepřináší svému nositeli nějakou výhodu, pro kterou se stále udržuje v populaci. Srovnávací studie přinesly zjištění, že výskyt vadné allele dobře koreluje s výskytem malárie – viz obrázek dole:



Další studie prokázaly, že nositelé tohoto genu vykazují větší odolnost vůči parazitu.

*Pravděpodobným vysvětlením může být, že k tvorbě řetízků HbS a deformaci erytrocytů dochází především v kyselém prostředí. Plasmodii infikované erytrocyty vykazují vyšší produkci laktátu glykolýzou a tak jsou častěji deformovány, následně rozpoznány jako vadné a zlikvidovány.*

