

6A. Hemoglobin

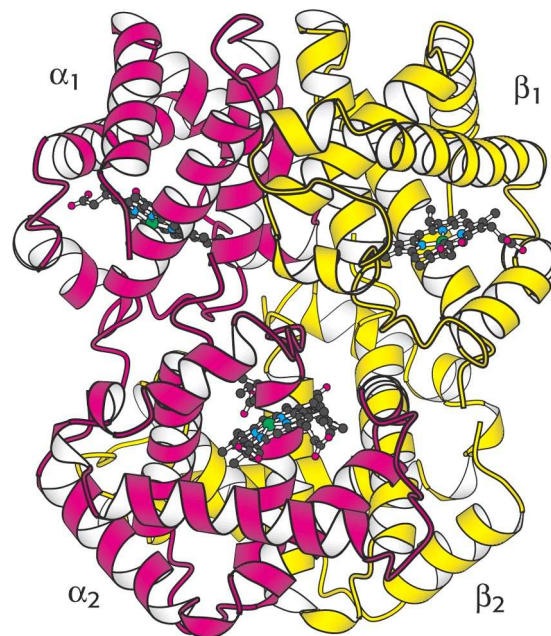
Struktura hemoglobinu (Hb)

Funkční hemoglobin je tetramer složený ze

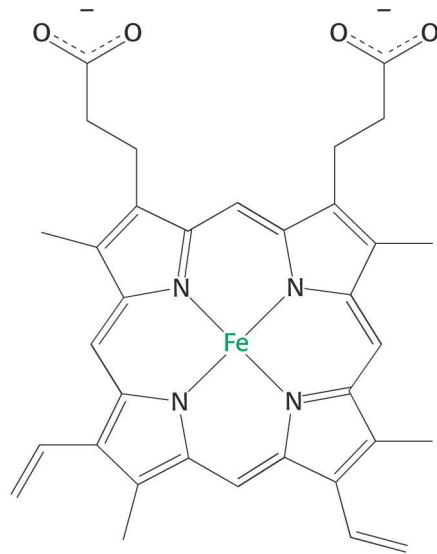
- 2 podjednotek α (lehké řetězce, 141 aminokyselin) a
- 2 podjednotek β (těžké řetězce, 146 aminokyselin)
- symbolicky označujeme tento tetramer jako $\alpha_2 \beta_2$

Označuje se HbA (adult) ev. HbA₁ chceme-li odlišit od minoritního (2,5%) HbA₂ o složení $\alpha_2 \delta_2$ rovněž se v organismu vyskytujícího

V každé podjednotce je vázán jeden hem jako prostetická skupina koordinační vazbou 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



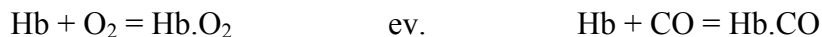
Heme
(Fe-protoporphyrin IX)

Struktura hemo, Fe je fyziologicky jako Fe^{2+} , oxidace na Fe^{3+} je nefyziologická (místo hemu jde o hemin, místo hemoglobinu máme methemoglobin)

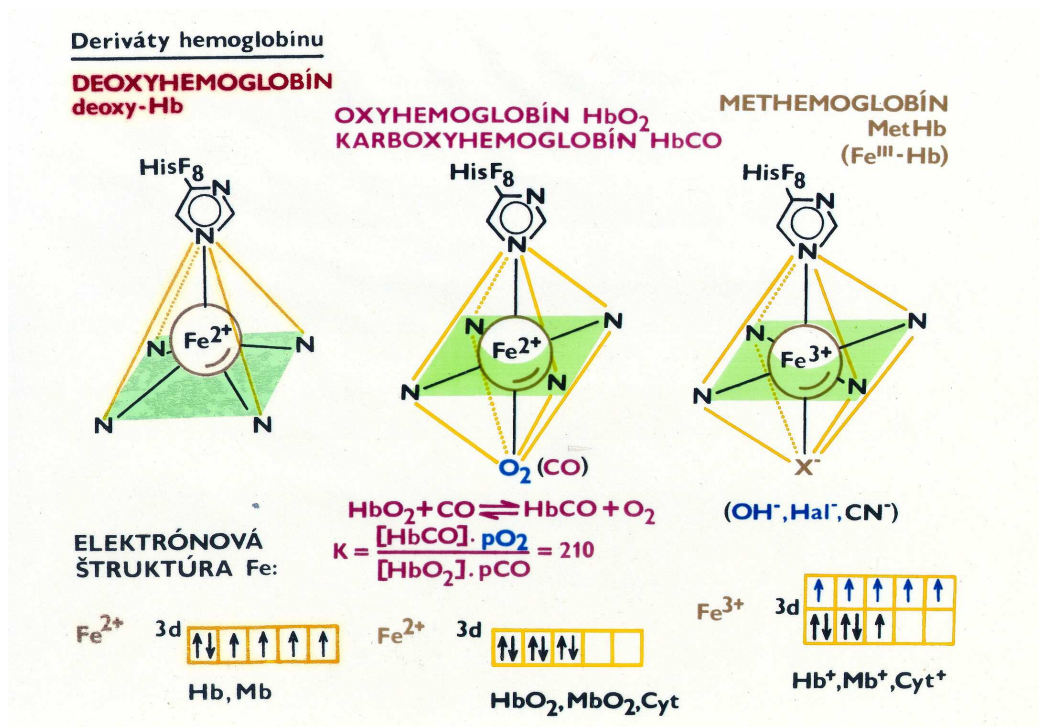
Funkce hemoglobinu

Fe^{2+} je vázán 4 vazbami na porfyrinový kruh, 5. koordinační místo je obsazeno proximálním His 93. Fysiologickým ligandem 6. koordinační místa je O_2 , vázat se mohou i jiné ligandy, velmi pevně se váže CO (otrava svítlyplněm, spalinyami nedokonalého hoření apod.)

Vazba je vratná a lze ji popsat rovnicemi



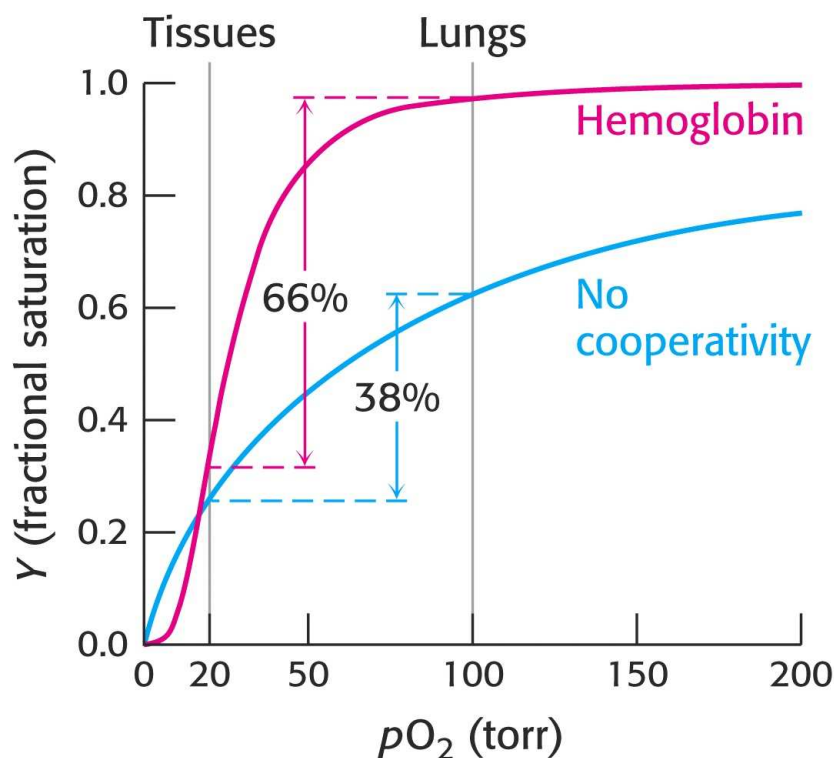
Hb nazýváme dexoyHb, Hb · O₂ – oxyHb, Hb · CO – karbonylHb



Formy a struktury Hb s různými ligandy. Povšimněte si vlivu obsazení 6. koordinačního místa ligandem, kdy se Fe^{2+} přemísťuje do roviny porfyrinového kruhu. Vedle změn elektronové struktury vidíme rovnici reakce mezi Hb, O_2 a CO, hodnota K nás přesvědčí, že CO je mnohem pevněji vázán než kyslík. Přesto lze otravě zabránit eliminací CO a zvýšeným přívodem kyslíku.

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

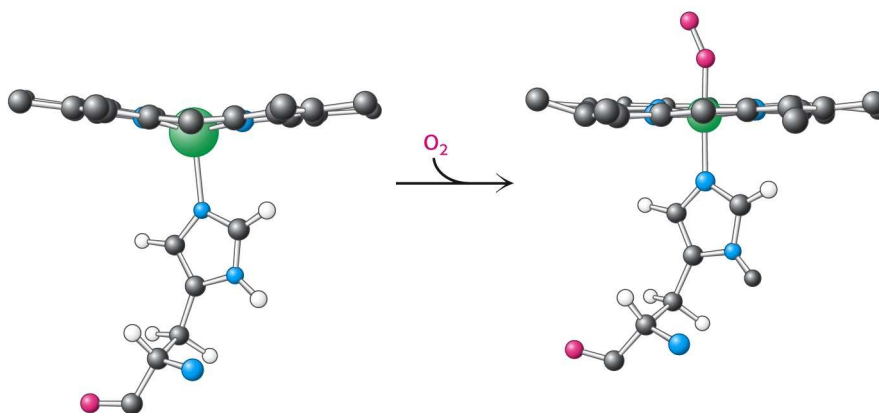
Stupeň nasycení Hb kyslíkem (tj. $HbO_2 / (HbO_2 + Hb)$) závisí na jeho parciálním tlaku pO_2 v okolním prostředí. Průběh této závislosti vidíme na dalším obrázku – červená křivka.



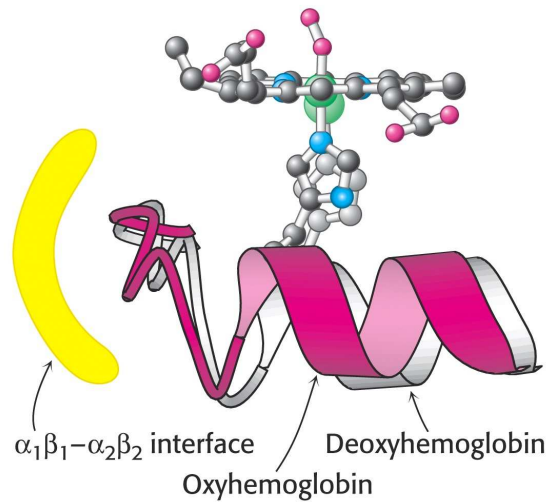
Závislost stupně nasycení Hb kyslíkem (Y) na pO₂ – torr = 133 Pa.

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.

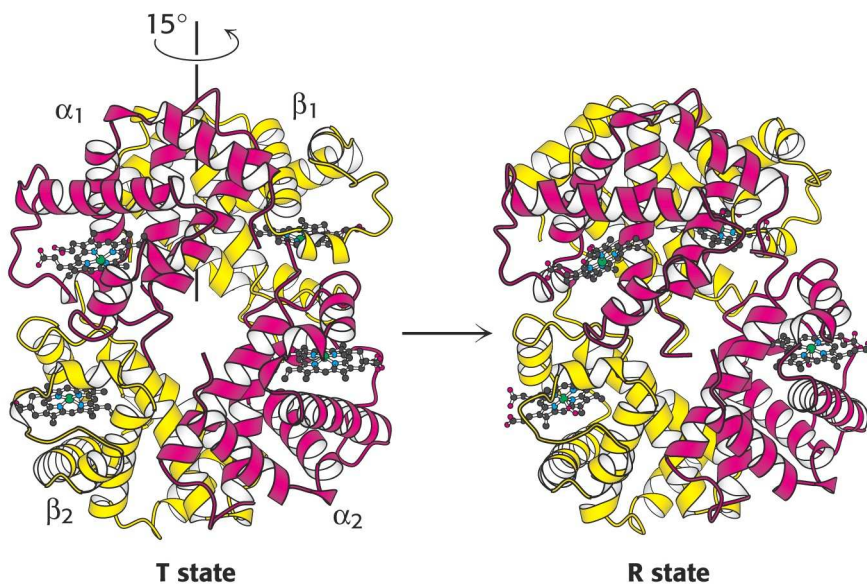
Základem pro toto chování je změna struktury vyvolaná vazbou kyslíku na Fe²⁺ jedné z podjednotek – viz též nahoře):



Fe²⁺ za sebou táhne His 93 a s ním celé raménko (úsek) F příslušného řetězce, které pak jako páka způsobí konformační změnu celé molekuly hemoglobinu.

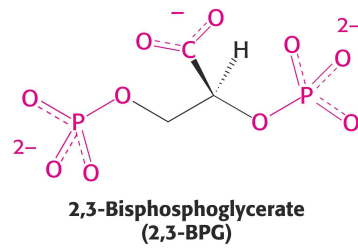


Schematické znázornění konformační změny vlivem vazby kyslíku na hem. Změna se přenesla na ostatní podjednotky. Molekula Hb přechází z těsnější konformace T (tense) s nízkou afinitou ke kyslíku do uvolněné konformace R (relaxed) s vyšší afinitou. Toto chování je jedním z typů **allosterie**.

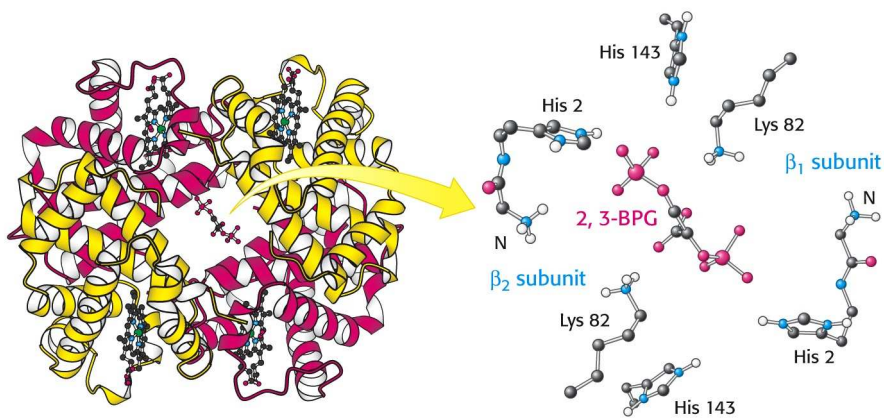


Modely konformačních stavů T a R

Zvýšení efektivity přenosu kyslíku je dosaženo též vlivem některých metabolitů, které působí na allosterické chování Hb jako tzv. allosterické efektory. Mimo CO_2 a H^+ takto působí i meziprodukt glykolýzy 2,3-bisfosfoglycerát



Tento metabolit stabilisuje deoxy-Hb interakcí svých kyselých skupin s His 143 β -řetězců:



Tak si lze představit snazší uvolňování kyslíku při intenzivnější glykolýze.

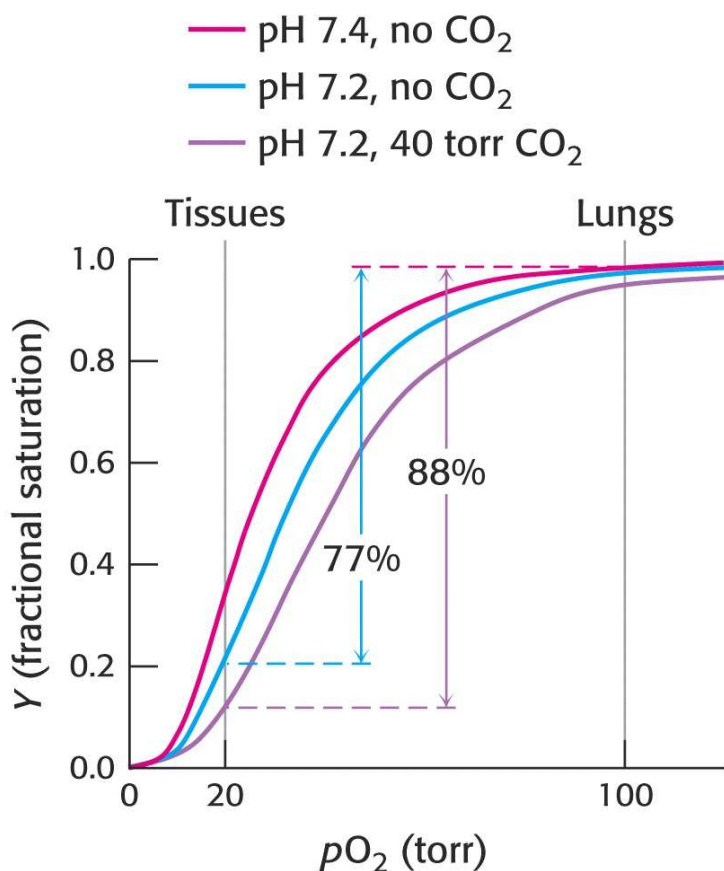
Vliv pH na vazbu kyslíku na Hb.

Hb a HbO₂ se liší acidobasickými vlastnostmi, Hb je slabší kyselinou než HbO₂. Toto pozitivně ovlivňuje efektivitu přenosu kyslíku.

Produkce CO₂ ev. laktátu v tkáních (pracující sval) zde zvyšuje [H⁺]. Poněvadž HbO₂ je silnější kyselinou, je zde posílena jeho deoxygenace (tvoří se basičtější Hb). Naopak v plicích dochází při ventilaci CO₂ ke zvýšení pH a upřednostní se oxygenace (tvorba kyselějšího HbO₂).

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.

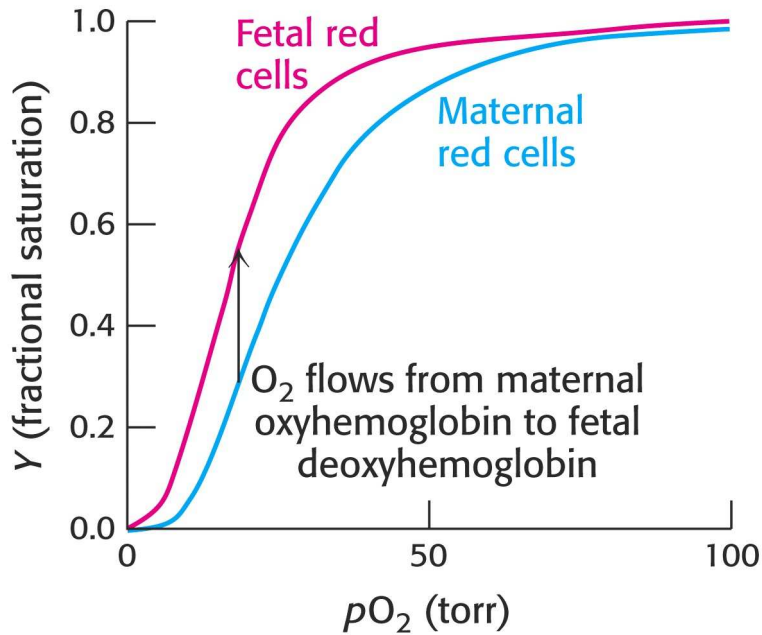


Vliv pH a CO₂ na saturaci Hb. Kromě vlivu samotného rozdílu pH je patrný také specifitější vliv CO₂. množství využitelného kyslíku se zvýší o ca 11%.

CO₂ produkovaný při katabolických procesech ve tkáních (sval) je částečně transportován jako HCO₃⁻ v krvi, částečně se váže na terminální -NH₂ 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 γ a začne se syntetisovat β -řetězec (je to též příkladem regulace proteosyntézy!) HbF (fetal) je degradován (novorozenecká žloutenka při intenzivním odbourávání hemu) a nahrazován HbA (adult – „dospělý“).

Patologické hemoglobiny

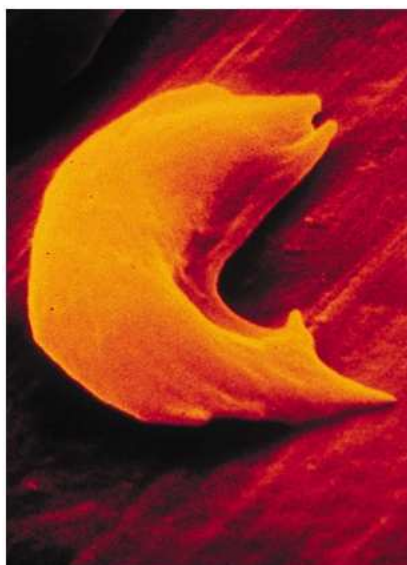
Mutací – záměnou aminokyselin v jednotlivých řetězcích Hb dochází ke změně jejich vlastností a výskytu odlišných typů Hb – patologických, neboť jejich vlastnosti jim neumožňují fungovat potřebným způsobem.

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

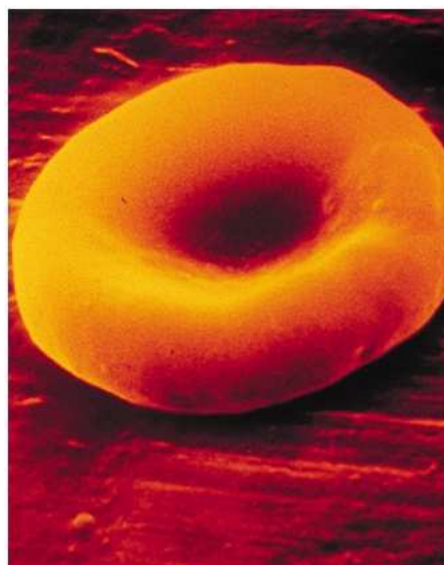
HBB Sequence in Normal Adult Hemoglobin (Hb A):							
Nucleotide	CTG	ACT	CCT	GAG	GAG	AAG	TCT
Amino Acid	Leu	Thr	Pro	Glu	Glu	Lys	Ser
	3			6			9

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

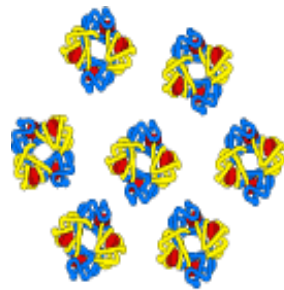


© Stanley Flegler/Visuals Unlimited

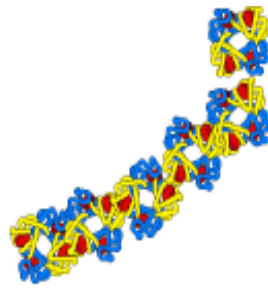
srpkovitý erytrocyt – sickle cell

normální erytrocyt

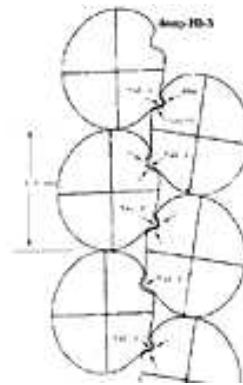
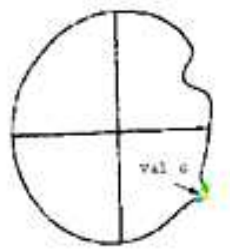
Základem morfologických změn je nová vlastnost HbS. Díky přítomnosti nepolárního zbytku Val 6 vytváří místo tetrameru řetězkové aglomeráty připomínající strukturu aktinu – významné součásti cytoskeletu:



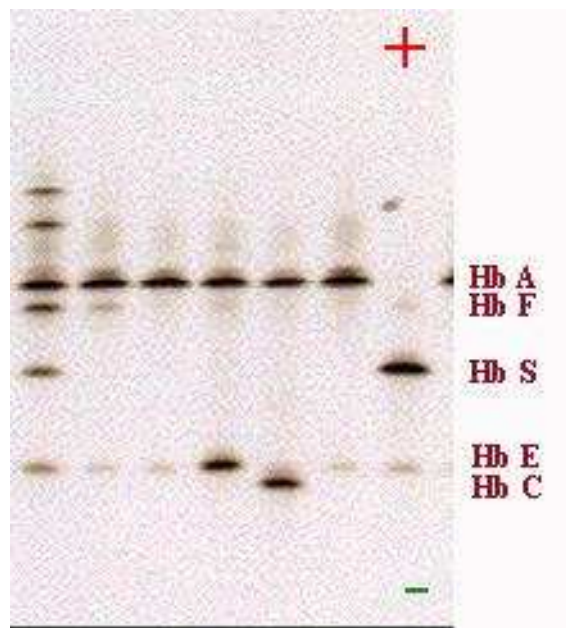
NORMAL
HEMOGLOBIN



CLUMPED
HEMOGLOBIN

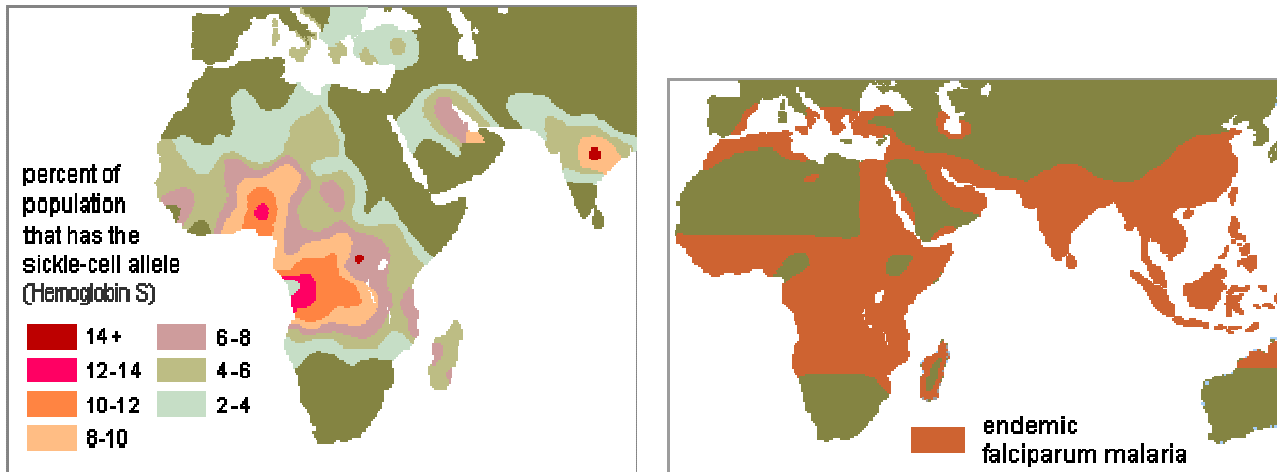


Vliv záměny 6Glu-Val na kvarterní strukturu HbS ve srovnání s HbA.



Elektroforetické rozlišení jednotlivých forem Hb. HbS má o 2 Glu⁻ méně, HbF má místo 2 His⁺ 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.

