

Лекция № 17.

Тема: «Обмен гемопротенинов. Метаболизм эритроцита. Обмен железа»

План.

1. Характеристика гемопротенинов.
2. Синтез гема и его регуляция.
3. Нарушение синтеза гема (порфиринурии).
4. Распад гема, образование токсичного и обезвреженного билирубина.
5. Диагностика желтух.
6. Метаболизм эритроцита и обмен железа.

1. Характеристика гемопротенинов.

Гемопротенины делят на две группы:

1. Белки - переносчики кислорода (гемоглобин и миоглобин)
2. Белки-ферменты (цитохромы, каталаза, пероксидаза)

Все геминные белки содержат в качестве небелковой группы структурно похожие порфирины. Но различаются по структурной организации белковой части молекулы, что обеспечивает разнообразие их функций.

Гемоглобин (Hb) имеет молекулярную массу 80000 Да. Это сложный белок с четвертичной структурой: состоит из нескольких субъединиц. У HbA 4 субъединицы. Каждая субъединица состоит из небелковой части - гема и белка глобина (4 гема и 4 глобина (2 α 141 и 2 β 146 АК) в молекуле гемоглобина). Этот тип гемоглобина составляет приблизительно 95-97% от всего количества гемоглобина в крови. Гем имеет тетрапиррольную структуру, т.е. состоит из 4-х замещенных пиррольных колец, соединенных между собой с помощью метиновых мостиков. Эта структура называется порфирином (без железа). Протопорфирин, в который включено железо, называется ГЕМ.

HbA₂ (2 альфа- и 2 дельта-цепи) у взрослого примерно 2%.

HbF - фетальный гемоглобин. HbF (2 альфа и 2 гамма-цепи) - примерно 2% у взрослого. В крови новорожденного такого гемоглобина содержится примерно 80%. В отличие от HbA этот тип гемоглобина имеет гораздо большее сродство к кислороду.

Роль гемоглобина в организме человека - перенос кислорода. В легких происходит связывание гемоглобина с O₂ - из дезоксигемоглобина (Hb) образуется оксигемоглобин (Hb*O₂). Присоединение кислорода идет за счет образования координационных связей. Присоединение кислорода не меняет валентности железа.

Hb способен без изменения степени окисления Fe присоединять и CO₂. Это соединение называют карбгемоглобином (Hb*CO₂). Такая форма не являетсястойкой и поэтому гемоглобин очень легко отдает CO₂. В таком виде из тканей к легким переносится всего от 3 до 10% CO₂.

Возможно образование соединения с оксидом углерода (II) - угарным газом (CO). Такое соединение называют карбоксигемоглобин (Hb*CO). Присоединение также происходит за счет координационных связей, но CO обладает высоким сродством к Hb, и, поэтому Hb теряет способность переносить кислород. Вытеснить CO из комплекса с Hb можно только при повышении концентрации кислорода в крови. Например, путем вдыхания чистого кислорода или усиленной вентиляцией легких воздухом.

При отравлении парами нитробензола, оксидами азота, а также при поступлении в организм других окислителей может произойти окисление Hb в **метгемоглобин (Hb*OH)**. При этом Fe^{+2} переходит в Fe^{+3} , а Hb - в Hb*OH (MetHb). Эта форма Hb неспособна переносить кислород и реакция перехода в метгемоглобин необратима.

Миоглобин - белок мышечной ткани. По строению похож на одну субъединицу Hb, т.е. состоит из одного гема и одного глобина. Эта полипептидная цепь (глобин) похожа на полипептидную цепь Hb. Молекулярная масса миоглобина - примерно 17 000 Да. Миоглобин имеет очень высокое сродство к кислороду, гораздо больше, чем Hb. Это позволяет миоглобину гораздо более эффективно связывать и запасать кислород для обеспечения им митохондрий в работающей мышце.

Гемоглобинопатии.

В крови человека иногда встречаются *аномальные формы гемоглобина*, которые отличаются от нормального Hb по аминокислотному составу полипептидных цепей. При этом изменяются изоэлектрическая точка, заряд, форма белковой молекулы. Заболевания, которые связаны с изменением структуры полипептидных цепей называются гемоглобинопатиями.

Серповидноклеточная анемия - характеризуется появлением **HbS**. В бета-цепи глутаминовая кислота заменена на валин вследствие мутации. Это приводит к изменению свойств Hb. Возрастает гидрофобность молекулы. Молекулы агрегируют. Эритроцит под микроскопом выглядит как серп. Такой эритроцит хуже связывает кислород.

Симптоматика появляется у гомозигот уже в 6-месячном возрасте. Развиваются хроническая гемолитическая анемия и рецидивирующие, болезненные кризы, связанные с окклюзией мелких сосудов серповидными эритроцитами. Окклюзия приводит к ишемии тканей и инфарктам. Чаше других органов и тканей поражаются печень, селезенка, кости, легкие, головной мозг и сетчатка глаз.

Талассемии. В ряде случаев наблюдается одно из нарушений синтеза нормальных цепей Hb. Если нарушается синтез бета-цепей - то заболевание называется: бета-талассемия. Если нарушен синтез альфа-цепей, то альфа-талассемия.

α -талассемии распространены преимущественно в регионах Дальнего Востока и Африки, а β -талассемии — в странах Средиземноморья. Талассемии наследуются как аутосомно-кодминантные заболевания, и каждая из них может возникнуть как у гомо-, так и у гетерозигот. Поскольку снижен синтез только одной глобиновой цепи, остальные цепи обнаруживаются в относительном избытке, тем не менее в эритроцитах создается недостаточная концентрация гемоглобина, они становятся гипохромными и микроцитарными. Избыток глобиновых цепей может способствовать гемолизу. Из-за массивного гемолиза эритроцитов и экстрамедуллярного гемопоэза развивается спленомегалия.

2. Синтез гема и его регуляция.

Hb содержится в эритроцитах, составляя 95% от их сухой массы. Эритроциты живут 100-120 дней. Ежедневно образуется 250 млрд эритроцитов. Синтез гемоглобина происходит в кроветворных органах (с наибольшей скоростью в клетках печени и костного мозга), причем гем и глобин синтезируются по отдельности. Глобин синтезируется в процессе трансляции на рибосоме. Затем гем и глобин соединяются, и образуется третичная и четвертичная структура гемоглобина.

Гем синтезируется во всех тканях, но с наибольшей скоростью в костном мозге и печени. В костном мозге гем необходим для синтеза гемоглобина в ретикулоцитах, в гепатоцитах - для образования цитохрома P450.

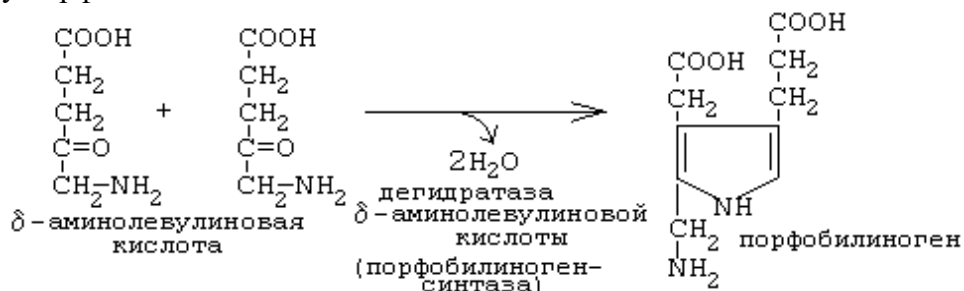
Первая реакция синтеза гема - образование 5-аминолевулиновой кислоты из глицина и сукцинил-КоА идёт в матриксе митохондрий, где в ЦТК образуется один из субстратов этой реакции - сукцинил-КоА. Эту реакцию катализирует пиридоксаль-зависимый фермент аминотрансфераза:



Источник энергии для данной реакции – макроэргическая связь сукцинил-КоА.

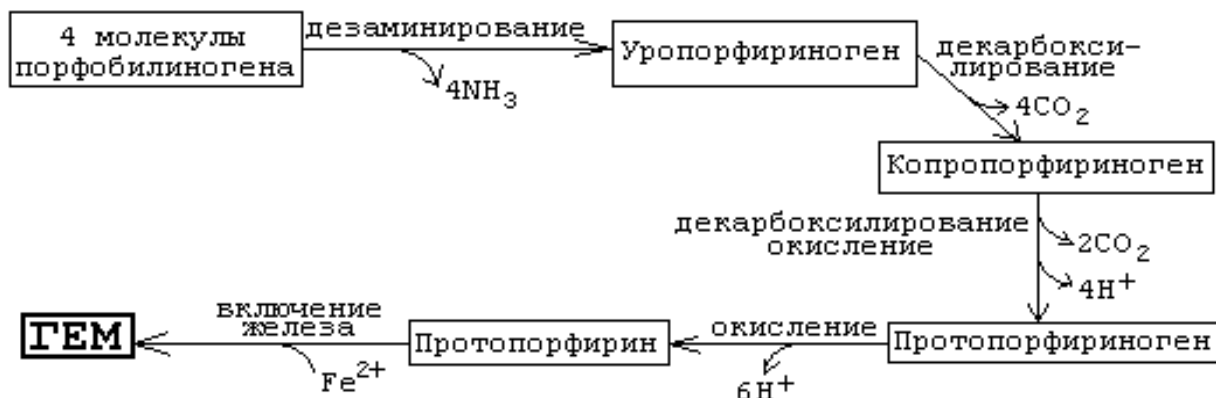
Дельта(5)-аминолевулинатсинтаза является ключевым ферментом биосинтеза гема. Коферментом дельта-аминолевулинатсинтазы является пиридоксаль-фосфат (производное витамина В₆). Фермент ингибируется по принципу отрицательной обратной связи избытком гема.

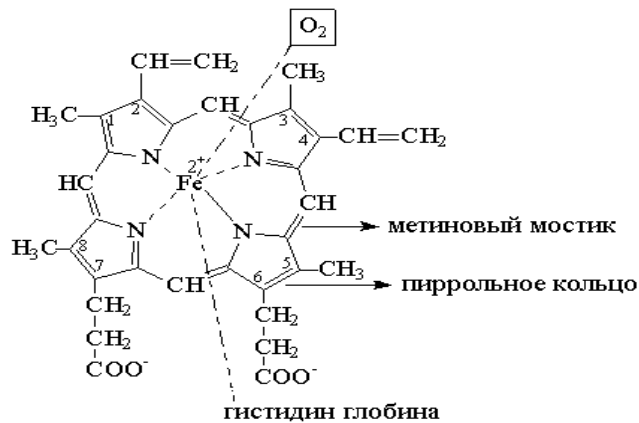
Из митохондрий 5-аминолевулиновая кислота поступает в цитоплазму. В цитоплазме проходят промежуточные этапы синтеза гема: соединение 2 молекул 5-аминолевулиновой кислоты молекулу порфобилиногена:



Порфобилиногенсинтаза тоже угнетается избытком гема.

В дальнейшем в цитозоле происходит дезаминирование порфобилиногена с образованием гидроксиметилбилана, ферментативное превращение гидроксиметилбилана в молекулу уропорфириногена III, декарбоксилирование последнего с образованием копропорфириногена III. Гидроксиметилбилан может также неферментативно превращаться в уропорфириноген I, который декарбоксилируется в копропорфириноген I. Из цитоплазмы копропорфириноген III опять поступает в митохондрии, где проходят заключительные реакции синтеза гема. В результате двух последовательных окислительных реакций копропорфириноген III превращается в протопорфириноген IX, а протопорфириноген IX - в Протопорфирин IX. Фермент феррохелатаза, присоединяя к протопорфиру IX двухвалентное железо превращает его в гем.





Источником железа для синтеза гема служит депонирующий железо белок ферритин. Синтезированный гем, соединяясь с α и β -полипептидными цепями глобина, образует гемоглобин. Гем регулирует синтез глобина: при снижении скорости синтеза гема синтез глобина в ретикулоцитах тормозится.

Регуляция биосинтеза гема. Регуляторную реакцию синтеза гема катализирует пиридоксаль-зависимый фермент аминолевулинатсинтаза. Скорость реакции регулируется аллостерически и на уровне трансляции фермента. Аллостерическим ингибитором и корепрессором синтеза аминолевулинатсинтазы является гем. В ретикулоцитах синтез этого фермента на этапе трансляции активирует железо.

3. Нарушение синтеза гема (порфиринии).

Известны генетические дефекты ферментов, участвующих в синтезе гема. При этом происходит накопление в организме предшественников протопорфирина. Эти болезни называются "порфирии". Есть порфирии, при которых накапливается уропорфириноген. Моча у таких больных имеет красный цвет, а зубы при ультрафиолетовом облучении сильно флуоресцируют, кожа - имеет повышенную чувствительность к солнечному свету. При некоторых порфириях происходит накопление порфобилиногена, что сопровождается нервно-психическими расстройствами.

4. Распад гема, образование токсичного и обезвреженного билирубина.

Длительность жизни эритроцита 120 дней. При физиологических условиях в организме взрослого человека разрушается около 200-250 млрд эритроцитов в сутки. Мало измененные эритроциты разрушаются в селезенке, значительно измененные – в костном мозге и печени. Распад гемоглобина начинается с распада на гем и глобин. Белок глобин затем гидролизует до АК.

Распад гема происходит в 3 этапа: 1 – в РЭС, 2 – в печени, 3 – в кишечнике.

Катаболизм гема.

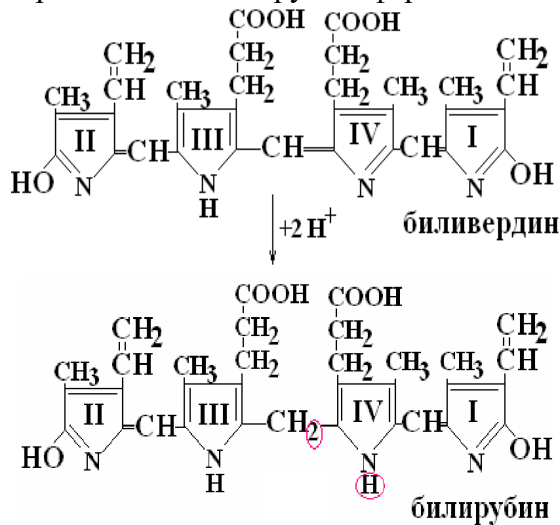
I этап происходит в РЭС.

1 реакцию катализирует гемоксигеназа, кофермент НАДФН, вит.С.

Сначала происходит разрыв связи между I-м и II-м кольцами. После ее действия образуется пигмент желтого цвета биливердин.

Ионы Железа образует комплекс с белком трансферрином, и этот комплекс поступает в ткани, где оно снова может быть использовано для синтезов или депонироваться в виде комплекса с белком ферритином в печени.

2 реакция катализируется ферментом НАДФН-зависимая биливердинредуктаза,:



Этот билирубин называется **непрямым**.

Непрямой билирубин (75%)

- Токсичный, т.к. нерастворим в воде и не обезврежен в печени,
- Неконъюгированный, т.к. не конъюгирован с глюкуроновой кислотой.
- Свободный, потому что не связан ни с каким другим веществом ковалентными связями.
- Непрямой, потому что не дает прямой реакции с диазореактивом Эрлиха (для определения этого вида билирубина необходимо предварительно осадить альбумины).

Непрямой билирубин выходит из клеток селезенки в кровь и доставляется в печень. Непрямой билирубин плохо растворим в воде, поэтому он адсорбируется на альбумине крови. Такой комплекс называется свободным или **непрямым билирубином**.

II этап катаболизма гема происходит в печени.

Непрямой билирубин с кровью попадает в печень. На поверхности гепатоцитов от него отщепляется альбумин, а билирубин проникает в гепатоцит и взаимодействует там с УДФ-Глюкуроновой Кислотой (УДФ-ГК).

В гепатоцитах токсичный билирубин обезвреживается в реакции с УДФ-ГК, образуется прямой билирубин: 20% моноглюкуронида и 80% диглюкуронида билирубина.

Характеристика прямого билирубина (25%):

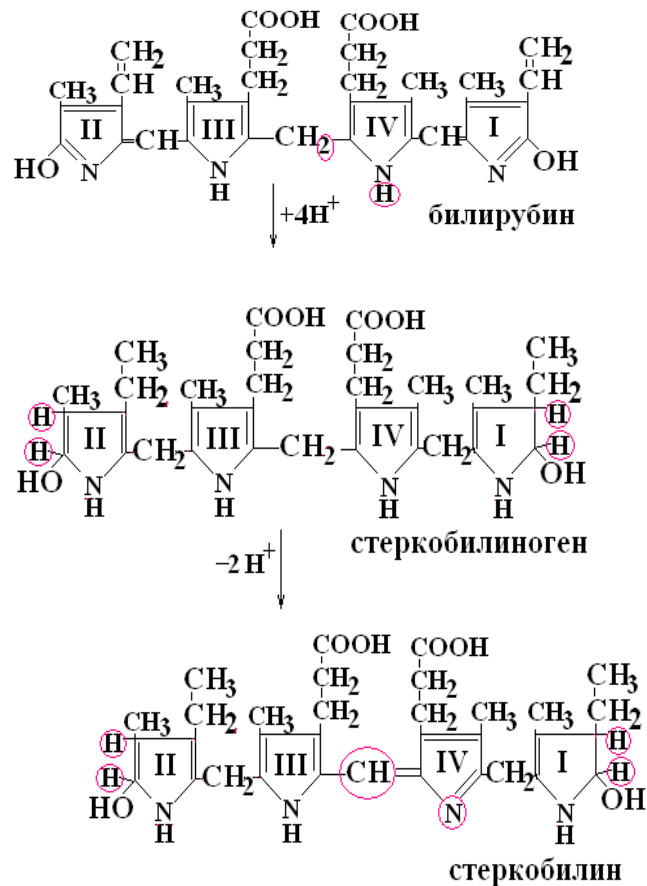
- обезвреженный, т.к. растворим в воде
- прямой, т.к. прямо реагирует с диазореактивом Эрлиха,
- конъюгированный, т.к. конъюгирован с Глюкуроновой Кислотой.

III этап катаболизма гема происходит в кишечнике.

Образовавшийся в печени прямой билирубин выводится с желчью в тонкий кишечник. Дальнейшие превращения билирубина в кишечнике катализируются ферментами микрофлоры кишечника:

1 реакция - отщепление остатков глюконовых кислот под действием фермента β -глюкуронидаза микрофлоры кишечника.

2 реакция - восстановления под действием ферментов микрофлоры кишечника с образованием бесцветных соединений - уробилиногенов:



Из тонкого кишечника часть уробилиногена всасывается в кровь и с кровью воротной вены доставляется в печень, из печени поступает в кровь и удаляется с мочой в форме *уробилина* (1-4 мг).

Основное количество уробилиногена из тонкого кишечника поступает в толстый кишечник, где он восстанавливается до стеркобилиногена. Стеркобилиноген (бесцветный) под действием кишечной микрофлоры окисляется с образованием пигмента коричневого цвета *стеркобилина*. *Стеркобин* – пигмент кала. В сутки с калом выводится около 300 мг стеркобилина.

Показатели пигментного обмена:

- Билирубин общий: 2-17 мкМ или 0,1-1 мг%
- Билирубин прямой: 0,5 мкМ или 0-0,3 мг% (25%)
- Стеркобин: 300 мг/сутки (кал)
- Уробилин: 1-4 мг/сутки (моча).

5. Дифференциальная диагностика желтух.

Определение содержания общего билирубина и фракций билирубина имеет большое значение для диагностики желтух различной этиологии.

Повышение концентрации билирубина в крови выше 2 мг% вызывает развитие явной желтухи. От 1 до 2 мг% - скрытая желтуха. Повышение уровня билирубина в крови – *гипербилирубинемия*.

Виды желтух

Выделяют 3 основных вида желтых:

1. Допеченочная или гемолитическая.
2. Печеночная или паренхиматозная.
3. Постпеченочная или обтурационная

1. Допеченочная или гемолитическая желтуха

Причины:

- а) переливание несовместимой крови,
- б) действие гемолитических ядов (яд гюрзы),
- в) малярия,
- г) серповидно-клеточная анемия,
- д) наследственные заболевания, связанные с нарушением обмена Нв,
- е) применение больших доз сульфаниламидных препаратов,
- ж) физиологическая гемолитическая болезнь новорожденных (из-за незрелости фермента УДФ-глюкуронилтрансферазы).

Диагностика гемолитической желтухи:

- Общий билирубин в крови повышен,
- Непрямой билирубин в крови – 3-6 мг% (повышен),
- Кал и моча – оранжевые из-за избытка стеркобилина.

2. Печеночная или паренхиматозная желтуха

Причина: Поражение гепатоцитов (острые вирусные инфекции, хронический и токсический гепатит).

При данной желтухе функция конъюгирования в печени снижена и в крови повышается содержание непрямого билирубина, развивается шафранная окраска кожных покровов, кожный зуд, желтая окраска склер и слизистых оболочек ЖКТ. В результате деструкции гепатоцитов нарушается экскреция прямого билирубина в желчные капилляры, поэтому в кале уменьшается содержание стеркобилина (кал ахоличный). Прямой билирубин поступает в кровь и выводится с мочой (в норме отсутствует), поэтому моча темная.

Диагностика паренхиматозной желтухи:

- Общий билирубин в крови (20 мг% и более),
- Непрямой билирубин в крови: выше нормы,
- Прямой билирубин в крови: выше нормы,
- Кал светлый (ахоличный),
- моча темная (прямой билирубин).

3. Постпеченочная или обтурационная или механическая

Причина: нарушение оттока желчи в 12- перстную кишку (из-за закупорки желчного протока камнем или опухоли поджелудочной железы, желчного пузыря, печени, 12-п.к. и пр.).

При этом прямой билирубин не поступает в кишечник (кал обесцвеченный (ахоличный), прямой билирубин диффундирует в кровь и выводится с мочой (моча гиперхоличная).

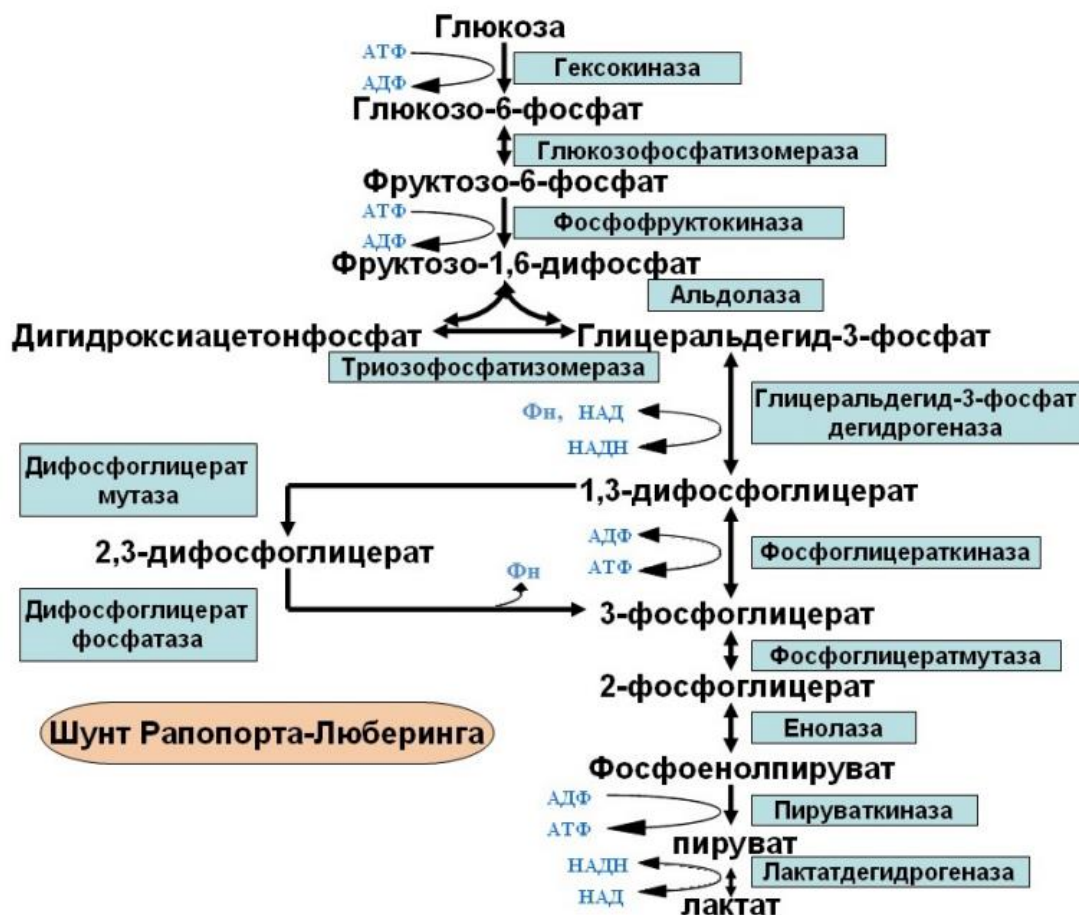
Диагностика механической желтухи:

- Общий билирубин: выше нормы (15-20 мг%),
- Непрямой билирубин: норма,
- Прямой билирубин: резко выше,
- Моча темная, гиперхоличная (содержит прямой билирубин),
- кал серый (ахоличный).

6. Метаболизм эритроцита. Обмен железа

Эритроциты занимают 36-48% объема крови. В крови взрослого человека содержится 250 млрд эритроцитов. Примерно 95% массы сухого вещества эритроцитов приходится на гемоглобин. Во взрослом эритроците отсутствуют ядро, рибосомы и МХ. Главным источником энергии в эритроците является процесс анаэробного гликолиза. Важные метаболиты гликолиза – АТФ (2 молекулы) и 1,3-дифосфоглицерат. АТФ используется для поддержания жизнедеятельности эритроцита. 1,3-дифосфоглицерат превращается в 2,3-дифосфоглицерат, который участвует в оксигенации гемоглобина. Роль 2,3ДФГ – уменьшает сродство гемоглобина к кислороду. 2,3-ДФГ взаимодействует только с дезоксигемоглобином.

Образование 2,3-ДФГ в эритроцитах осуществляется в уникальном шунте Рапопорта-Люберинга, который является ответвлением гликолиза и обходит реакцию, катализируемую фосфоглицераткиназой.



2,3-ДФГ является одним из главных метаболитов в эритроцитах, определяющих сродство гемоглобина к кислороду, способствуя более полной отдаче кислорода в ткани. Известно, что тетрамерная молекула гемоглобина может находиться в двух состояниях: Т-состоянии,

«напряженном», с низким сродством к кислороду, и R-состоянии, «расслабленном», с высоким сродством к кислороду. Молекула гемоглобина состоит из двух α - и двух β -субъединиц. Центр связывания 2,3-ДФГ расположен в полости между β -субъединицами гемоглобина, образованной между N-концевыми аминокеттами β -субъединиц, которая выстлана положительно заряженными группами аминокеттов. Отрицательно заряженная молекула 2,3-ДФГ по своей величине и конфигурации соответствует размеру углубления на молекуле гемоглобина в T-состоянии и образует ионные связи с положительно заряженными группами гемоглобина. Каждый тетрамер гемоглобина может присоединять одну молекулу 2,3-ДФГ. Считается, что связывание 2,3-ДФГ обеспечивается наличием в полости двух α -аминокетт β -цепей гемоглобина и имидазольными остатками гистидинов, которые взаимодействуют с фосфатными группами молекулы 2,3-ДФГ, в то время как карбоксильная группа находится в пределах связывания ϵ -аминокетты лизина одной из β -цепей. При этом 2,3-ДФГ стабилизирует молекулу гемоглобина путем образования «солевых мостиков», которые обеспечивают перекрестное сшивание двух β -субъединиц.

В альвеолярном воздухе концентрация кислорода больше, чем в венозной крови, поэтому кислород диффундирует в кровь и связывается с гемоглобином. Это приводит к освобождению гемоглобина от 2,3-ДФГ. В мышечных клетках парциальное давление кислорода в 4 раза меньше, чем в крови, поэтому оксигемоглобин отдает кислород в мышечную клетку. Работающие мышцы извлекают из эритроцита до 85% кислорода.

Длительность жизни эритроцита 120 дней. При разрушении эритроцита разрушается гемоглобин, в результате чего освобождаются белок глобин и железо. Глобин разрушается катепсинами до АК. Железо, образованное при распаде гема используется повторно для синтеза гема, но часть железа (примерно 1 г) выводится из организма с желчью.

Обмен железа.

В организме человека содержится 3-4 г железа, из них около 2,5 г (70%) - железо гемоглобина, около 27% - железо ферритина, 4% - железо миоглобина и 0,1 % - железо в составе трансферина. Транспортными формами железа в организме являются ферритин и трансферрин. В составе *трансферрина* железо находится в 3-хвалетном состоянии. Главная функция трансферина – транспорт железа к местам депонирования и использования.

Ферритин – крупный белок с $M=500$ кДа. Функция ферритина – депонирование железа в клетках печени, селезенки и костного мозга. В ферритине имеются центры связывания железа. Одна молекула ферритина способна связать до 4500 атомов железа. Железо в комплексе с ферритином находится в 3-хвалетном состоянии. При освобождении железа оно меняет валентность под действием специального редокс фермента феррооксидазы (церулоплазмин плазмы крови).

При ряде патологий (кровопотери, беременность, язвы и опухоли ЖКТ, операции на ЖКТ, недостаточное поступление железа с пищей - у детей) развивается железодефицитная анемия. При этом уменьшается размер эритроцитов и содержание в них гемоглобина, снижается насыщение трансферина железом, в плазме и тканях снижается содержание ферритина.

Кроме этого анемии могут развиваться при авитаминозах B_6 и B_{12} .