

ФГБОУ ВО УГМУ Минздрава России
Кафедра биохимии

Дисциплина: Биохимия

ЛЕКЦИЯ № 17

**Биохимия эритроцитов,
гемоглобина и лейкоцитов**

Лектор: Гаврилов И.В.
Факультет: лечебно-профилактический,
Курс: 2

Екатеринбург, 2016г

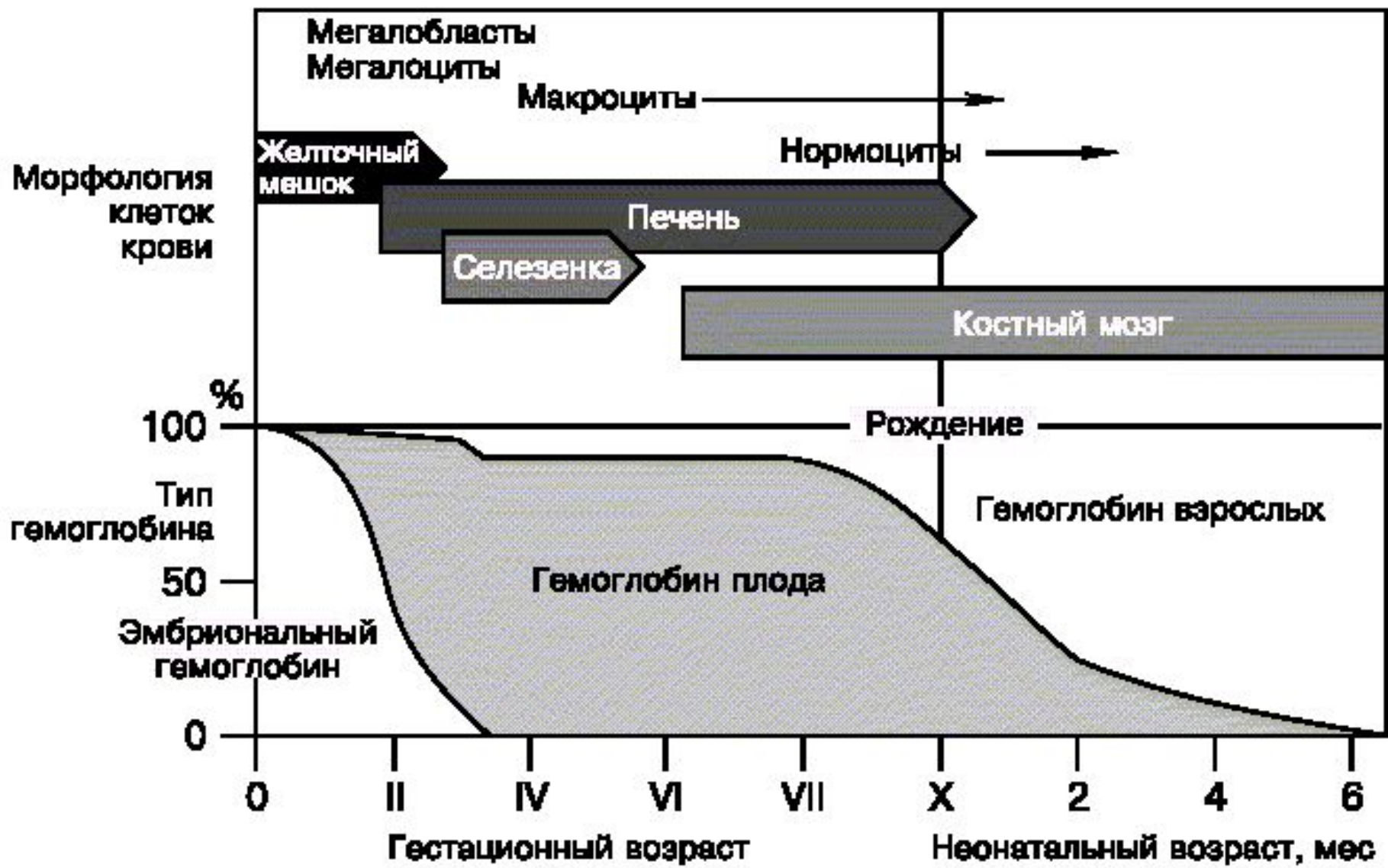
План лекции

- Эритроцит: особенности структуры, химического состава, метаболизма белков, жиров, углеводов.
- Гемоглобин и миоглобин: строение, функции, обмен, диагностическое значение определения в крови и моче.
- Производные и виды гемоглобина, особенности состава, строение, функции, биологическое клиническое и диагностическое значение.
- Эритроцит: пиридинзависимые реакции (НАД, НАДФ), физиологическая роль, биохимические нарушения при их недостатке, клинические проявления.
- Механизмы транспорта O₂ и CO₂ кровью: реакции, биологическое значение.
- Эритроцит: пентозофосфатный и 2,3-дифосфоглицератный шунты гликолиза (схема); особенности функционирования, причины и последствия нарушений.
- Эритроцит: система глутатиона, механизм действия, биологическое и клиническое значение.
- Гемоглобин (HbA₂): строение, механизм связывания и отдачи O₂ тканям, аллостерическая регуляция, значение.
- Эритроцит: пути обмена углеводов (схема), их значение, причины и последствия нарушений.
- Эритроцит: механизм образования активных форм кислорода, метгемоглобина и антиоксидантной защиты.

Эритроциты



- форменные элементы крови
- образуются в **костном мозге**,
- циркулируют в крови около 100-120 дней,
- разрушаются макрофагами в **селезёнке**, печени, и костном мозге.
- обновляется в сутки 1% эритроцитов
- В организме около $25 \cdot 10^{12}$ эритроцитов.
- Концентрация у ♂ $3,9 \cdot 10^{12}$ - $5,5 \cdot 10^{12}$ /л, у ♀ - $3,7 \cdot 10^{12}$ - $4,9 \cdot 10^{12}$ /л.
- эритропоэз стимулируют андрогены, тормозят женские половые гормоны.



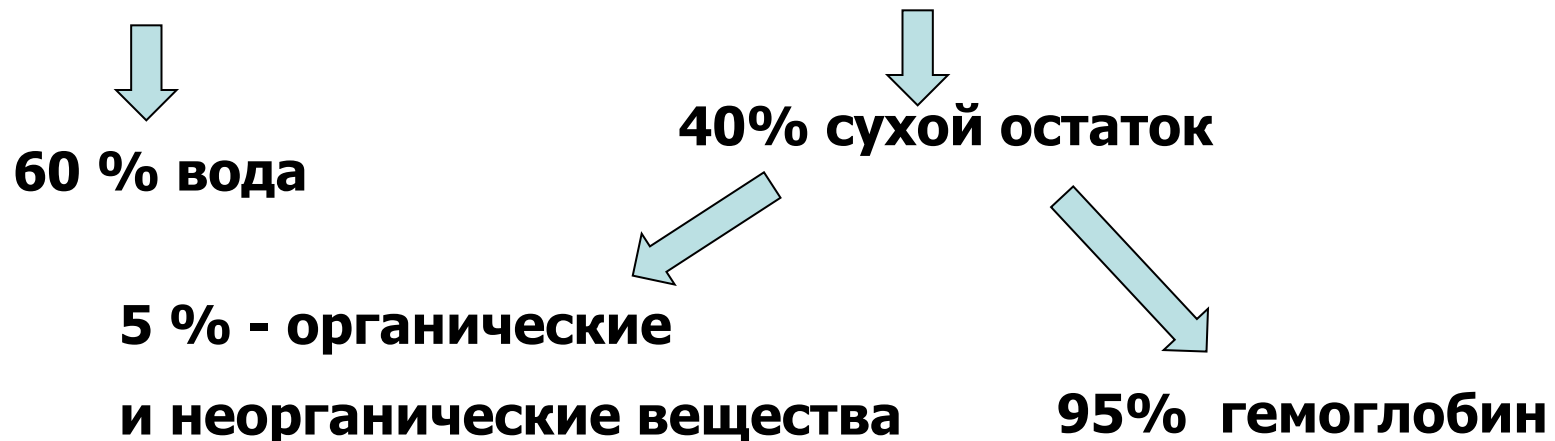
ФУНКЦИИ ЭРИТРОЦИТОВ

1. Газообмен: транспорт O_2 и CO_2
2. Регуляция КОС
3. Адсорбция и транспорт на клеточной мембране различных веществ (аминокислот, антител, токсинов, лекарств).
4. Участвуют в регуляции вязкости крови, вследствие пластичности (вязкость крови в мелких сосудах меньше, чем крупных).
5. Участвуют в свертывании крови, выделяя эритроцитарные факторы свертывания (эритроцитин)

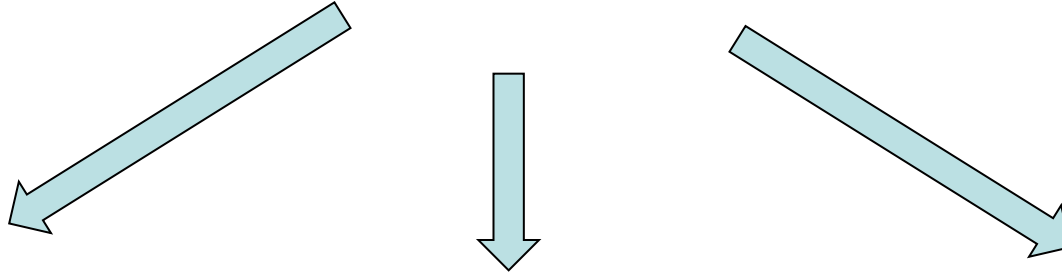
Строение эритроцита

- безъядерные клетки, утратившие ядро и большинство органелл, имеют цитоплазму и плазмолемму (клеточную мембрану), толщиной около 20 нм.
- 80% имеют форму *дискоцитов* (максимальный газообмен, большая пластичность при прохождении капилляров).
- Диаметр от 7,1 до 7,9 мкм,
- толщина в краевой зоне - 1,9 - 2,5 мкм, в центре - 1 мкм.
- Поверхность равна 125 мкм², а объём (MCV) – 75-96 мкм³.

I. Цитоплазма эритроцита:



II. Плазмолемма



Липиды:

холестерин

Внешний слой:

- фосфатидилхолин,
- сфингомиелин,
- Гликолипиды 5%.

Внутренний слой:

- фосфатидилсерин
- фосфатидилэтаноламин

Углеводы:

- Олигосахариды гликолипидов и гликопротеидов образуют гликокаликс

Белки (15 шт):

- Спектрин
- Актин
- Белок 3 полосы
- Гликофорин
- Белок полосы 4.1
- Анкирин
- Na⁺/K⁺-АТФ-аза
- Ca²⁺-АТФ-аза

Часть белков плазмолеммы образуют цитоскелет

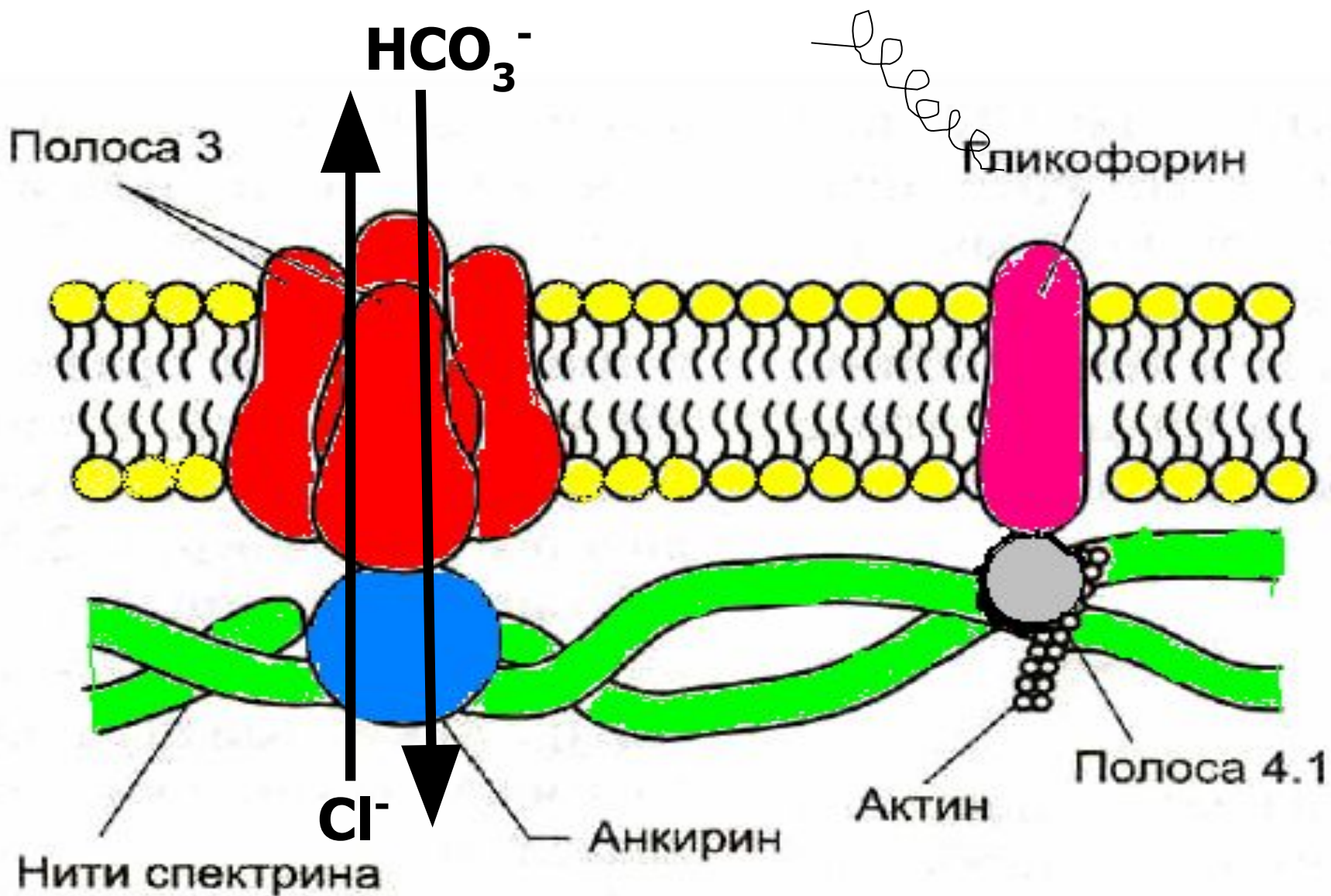
Строение

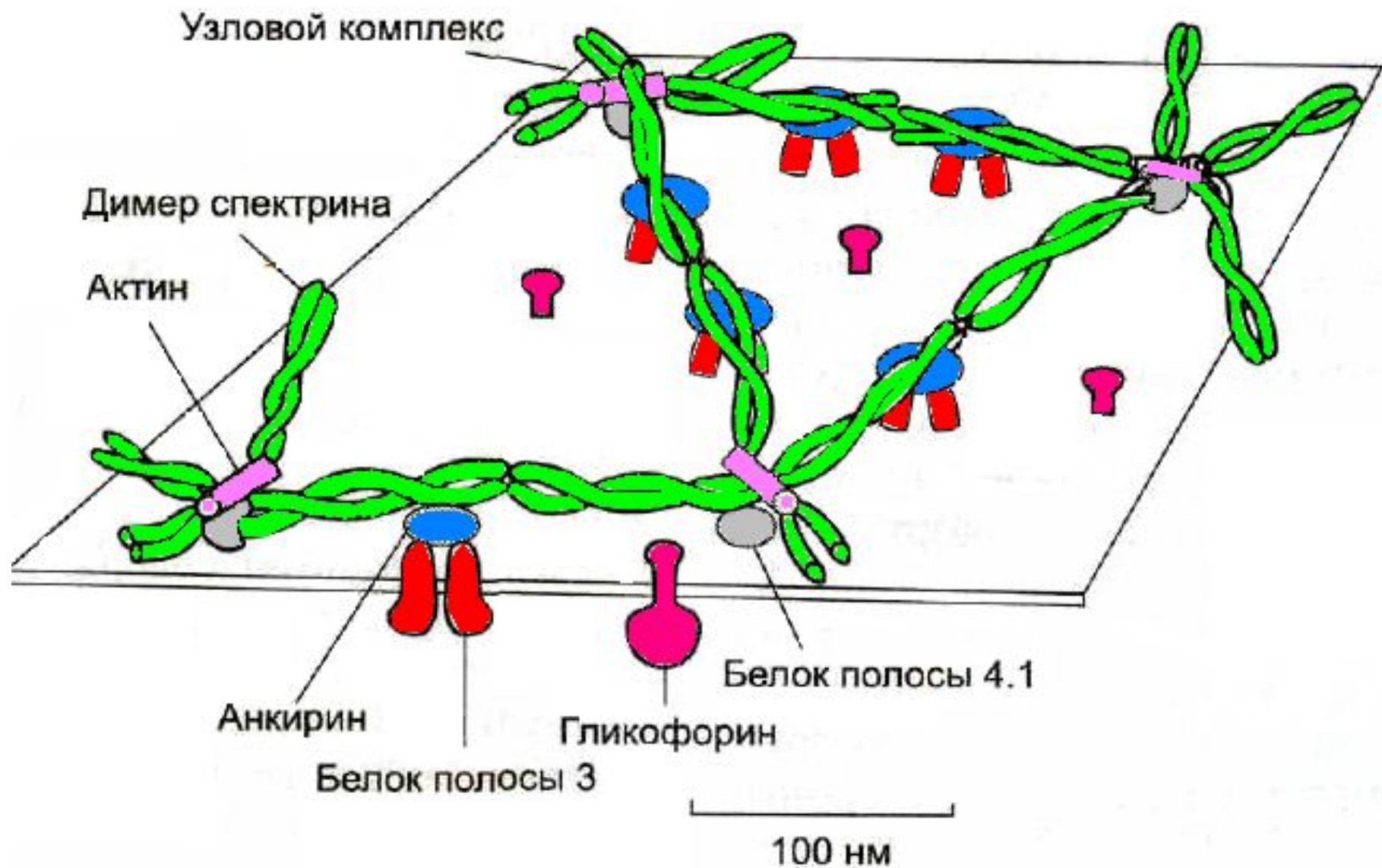
- фибриллярный белок **спектрин** образует сеть
- глобулярные белки, пронизывающие мембрану: **гликофорин** , **белок полосы 3**, белок полосы 4.1, актин, анкирин фиксируют сеть спектрина на мембране

Функция

1. придают эритроциту двояковогнутую форму и высокую механическую прочность
2. Под действием различных факторов способны с затратой АТФ изменять конформацию и в целом - форму эритроцита

олигосахарид





Самые распространенные мембранные белки (более 60%) спектрин, гликофорин и белок полосы 3

Спектрин

- основной белок цитоскелета эритроцитов (25% массы всех белков),
- имеет вид фибриллы 100нм, состоящей из 2 перекрученных друг с другом цепей α -спектрина и β -спектрина.
- образуют сеть, которая фиксируется на цитоплазматической стороне плазмалеммы с помощью анкирина и белка полосы 3 или актина, белка полосы 4.1 и гликофорина.

Белок полосы 3

трансмембранный гликопротеид, полипептидная цепь много раз пересекает бислой липидов, является компонентом цитоскелета и анионным каналом, который обеспечивает трансмембранный транспорт HCO_3^- и Cl^-

Гликофорин

трансмембранный гликопротеин (30 кДа), пронизывает плазмолемму в виде спирали. С наружной поверхности эритроцита к нему присоединены 20 цепей олигосахаридов, которые несут отрицательные заряды. Формирует цитоскелет и выполняют рецепторные функции.

Углеводы

- олигосахариды гликолипидов и гликопротеидов, на внешней поверхности плазмолеммы образуют гликокаликс.
- Олигосахариды гликофорина являются агглютиногенами (А и В) (определяют антигенные свойства эритроцитов). Обеспечивают агглютинацию эритроцитов под влиянием α - и β -агглютининов, находящихся в составе γ -глобулинов.
- На поверхности эритроцитов имеется агглютиноген - резус-фактор (Rh-фактор). Он присутствует у 86% людей, у 14% - отсутствует.

ОСОБЕННОСТЬ ОБМЕНА ВЕЩЕСТВ И ЭНЕРГИИ В ЭРИТРОЦИТЕ

- Эритроцит высокоспециализированная клетка, хорошо приспособленная для транспорта газов.
- Для эритроцита не характерны анаболические процессы.
- Необходимые структурные молекулы и ферменты синтезируются заранее в процессе дифференцировки и созревания эритроцитов
- Синтез АТФ из АДФ только в анаэробном гликолизе

Особенности обмена нуклеотидов

1. рибозо-5ф + аденин \rightarrow АМФ
2. АМФ + АТФ \rightarrow АДФ + АДФ
3. АДФ + Фн \rightarrow АТФ (гликолиз)
4. $\text{SH}_2 + \text{НАД}^+ \rightarrow \text{S} + \text{НАДН}_2$ (гликолиз)
5. $\text{SH}_2 + \text{НАДФ}^+ \rightarrow \text{S} + \text{НАДФН}_2$ (ПФШ)

Особенности обмена углеводов

Глюкоза

ГЛЮТ-1

инсулиннезависим

Глюкоза

Гексокиназа

Глюкозо-6ф

2,3 дифосфоглицератный шунт

2,3-ДФК

Анаэробный гликолиз

ПФШ

НАДФН₂

АТФ, НАДН₂

Сродство Нв к O₂

Мембр. насосы
Синтез глутатиона
Движ. цитоскелета

Метгемогл.
Редукт.
система

Антиоксид.
система

АНТИОКИСЛИТЕЛЬНЫЕ ФЕРМЕНТЫ

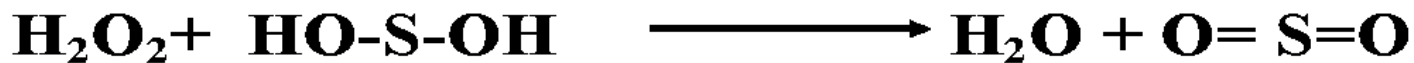
Супероксиддисмутаза (СОД)



Каталаза



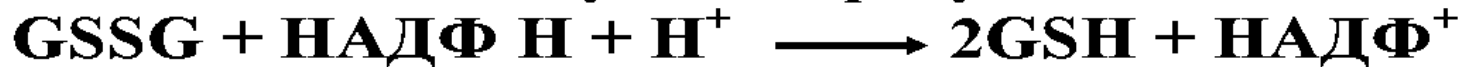
Пероксидаза



Глутатионпероксидаза (Se)



Глутатионредуктаза



(метод оценки ПРЭ)

Обмен метгемоглобина

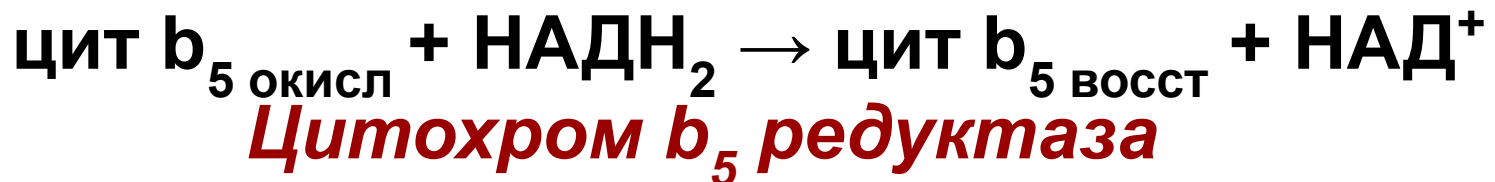
В течение суток до 3% гемоглобина может спонтанно окисляться в метгемоглобин:



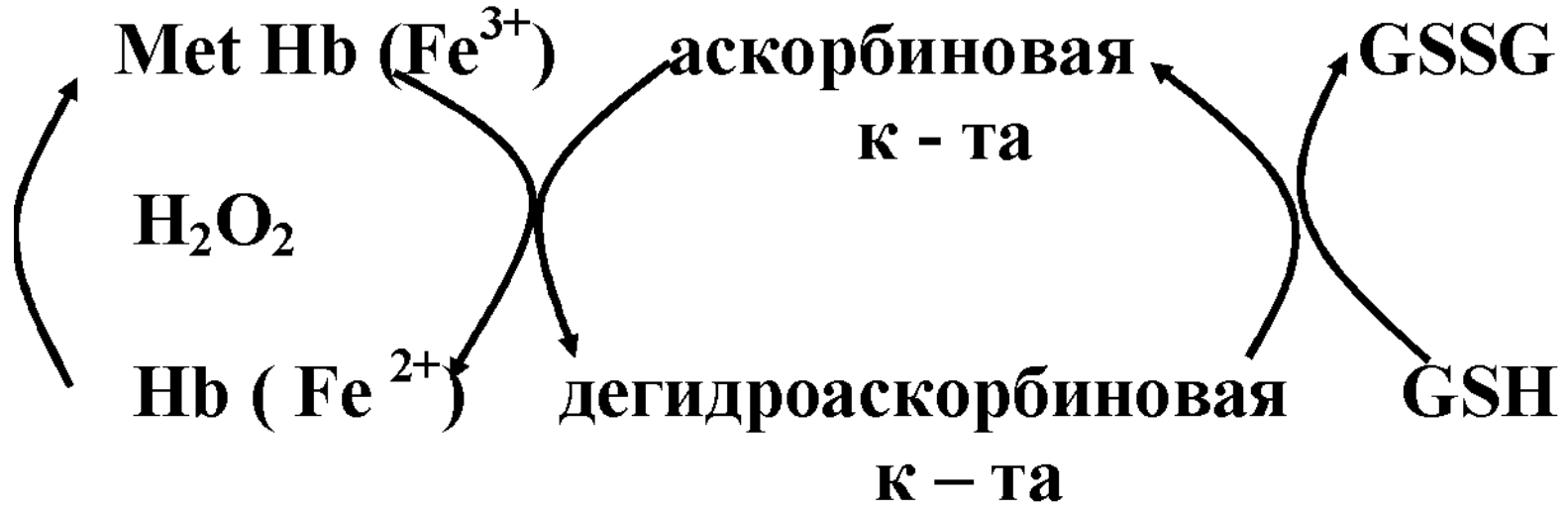
Восстановление MetHb до Hb осуществляет метгемоглобинредуктазная система.

Она состоит из:

- цитохрома b_5
- цитохром b_5 редуктазы (флавопротеин),
- Для работы нужен НАДН₂

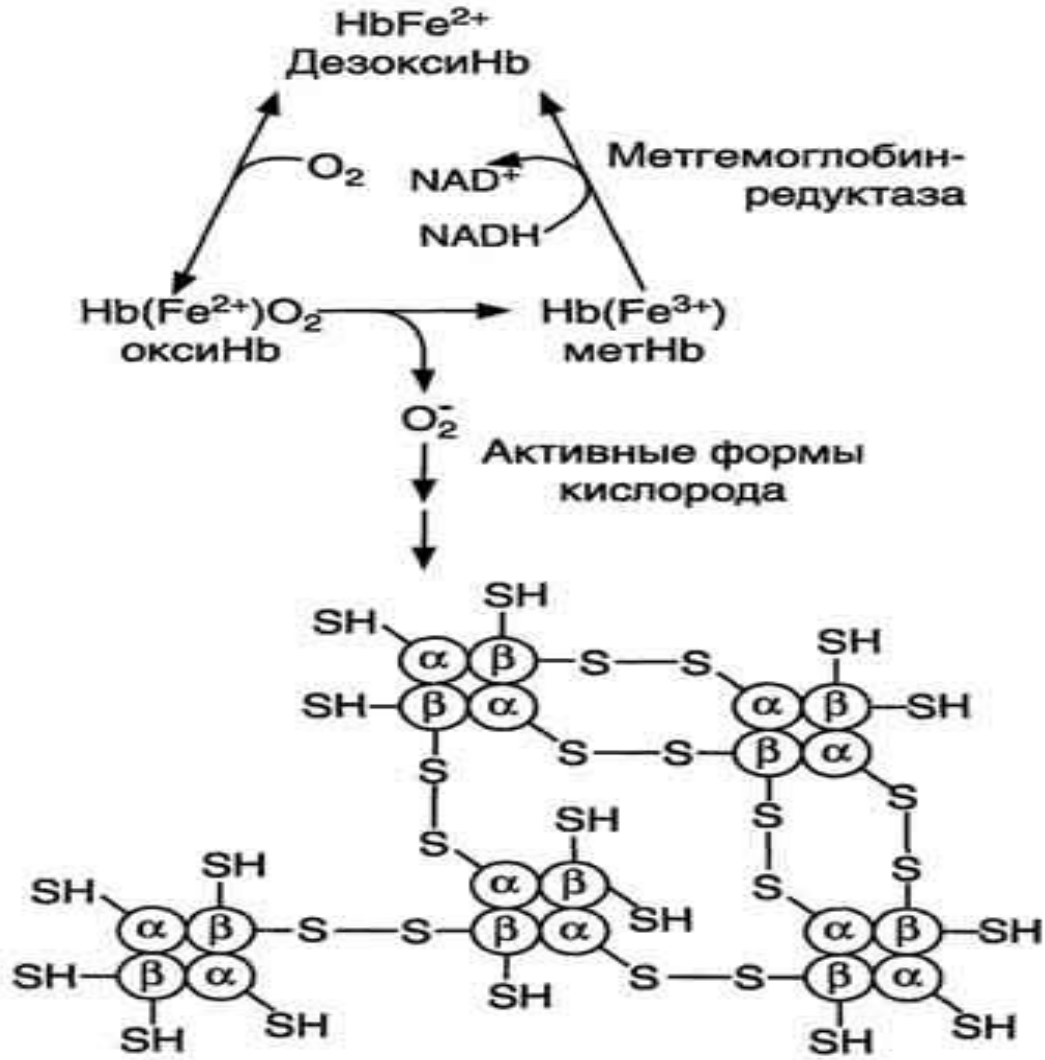


Восстановление метгемоглобина также может осуществляться неферментативным путём за счёт витамина B_{12} , аскорбиновой кислоты или глутатиона



Генетический дефект ферментов гликолиза и метгемоглобинредуктазной системы приводит к накоплению метгемоглобина и увеличению образования активных форм кислорода. Те вызывают образование дисульфидных мостиков между протомерами метгемоглобина, что приводит к их агрегации с образованием телец Хайнца. Последние способствуют разрушению эритроцитов и гипоксии.

ОБРАЗОВАНИЕ ТЕЛЕЦ ХА
ПРИ СЕРДЦЕВЫХ ПОКБЕТОН



Насосы – потребители АТФ

Na⁺/K⁺-АТФ-аза - мембранный фермент поддерживает градиент концентрации Na⁺ и K⁺

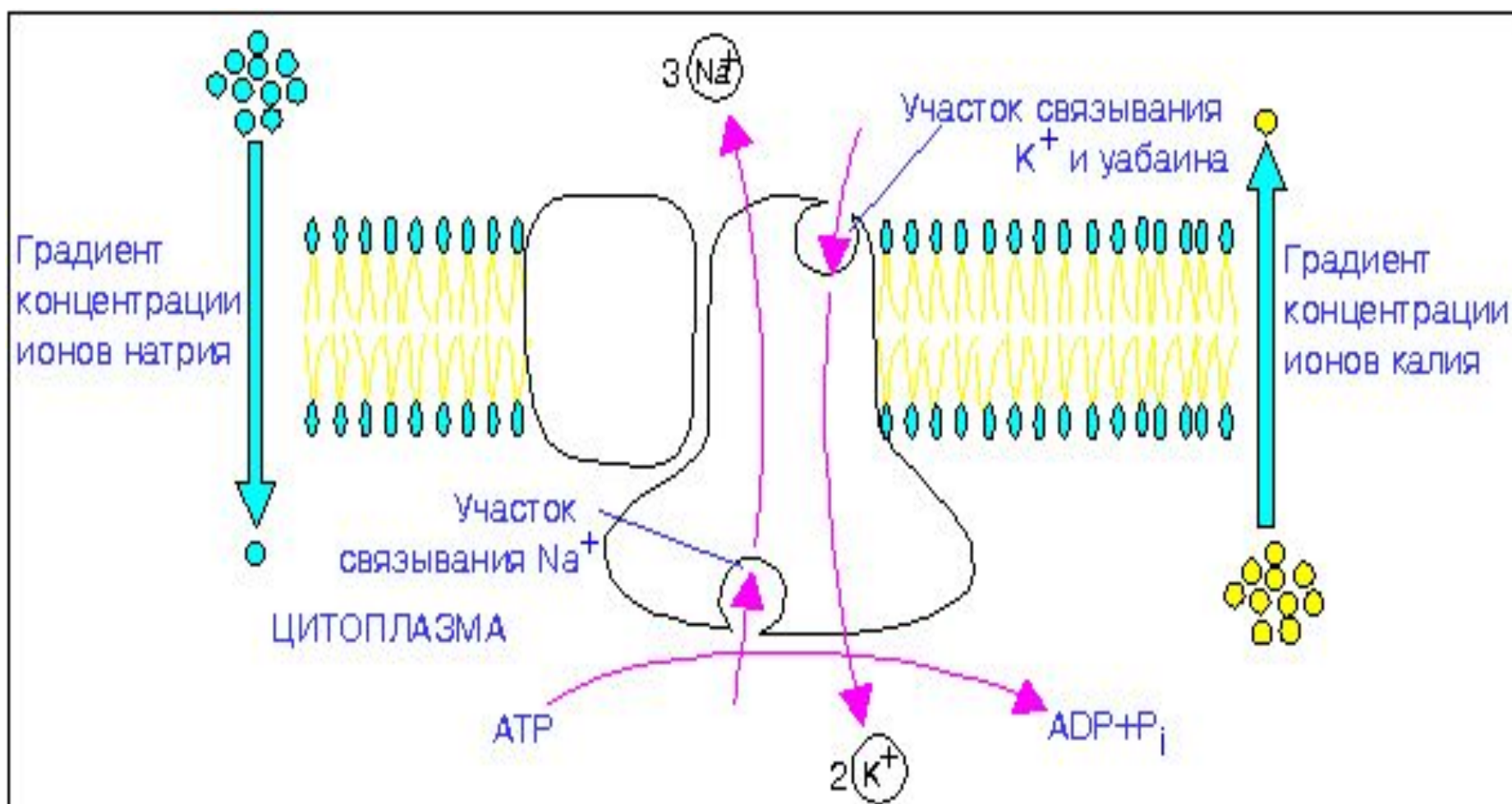
Патология (сфероцитоз): ↓ Na⁺/K⁺-АТФ-азы →

↑ Na⁺ в клетке → ↑ осмотического давления →

↑ воды в эритроците → ↑ гемолиз

(метод оценки ОРЭ)

Ca²⁺-АТФ-аза - мембранный фермент, выводит из эритроцитов кальций и поддерживает трансмембранный градиент [Ca²⁺]



Схематическое изображение $(\text{Na}^+ + \text{K}^+) \text{-ATP-азы}$, активно качающей Na^+ наружу, а K^+ внутрь клетки против их градиентов концентрации.

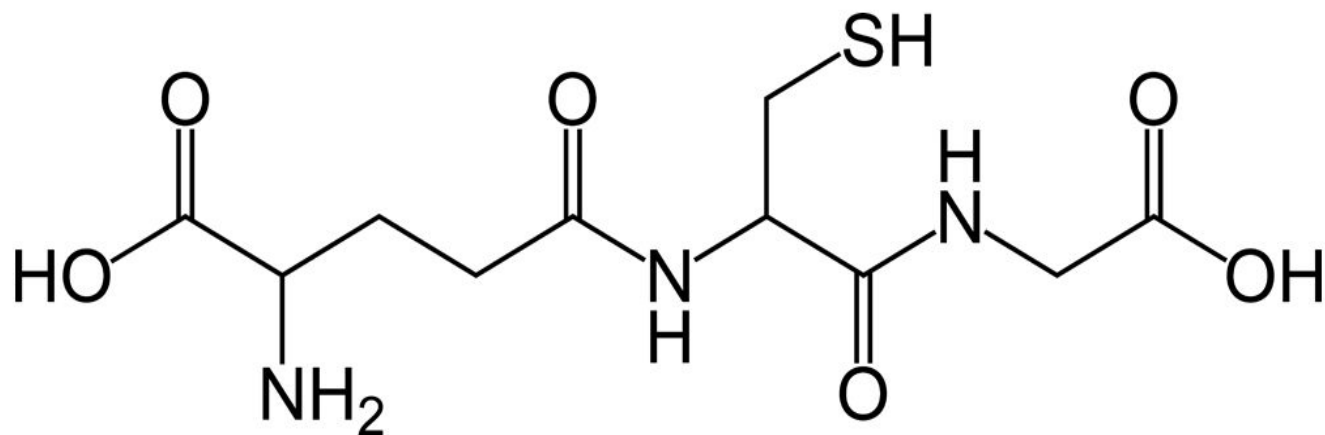
Особенности липидного обмена

- **В зрелом эритроците липиды не синтезируются, эритроцит может обмениваться липидами с липопротеинами крови.**
- **Катаболизм липидов неферментативный, повреждение и разрушение липидов происходит в реакциях ПОЛ.**

Особенности белкового обмена

- **В зрелом эритроците белки не синтезируются, т.к. у него нет рибосом, но в цитоплазме синтезируется глутатион**
- **Катаболизм белков неферментативный, происходит под действием неблагоприятных факторов: СРО, взаимодействия с тяжёлыми металлами и токсинами**

Структура трипептида глутатиона (L-глутамил-L-цистеинилглицин, GSH)



Биосинтез глутатиона

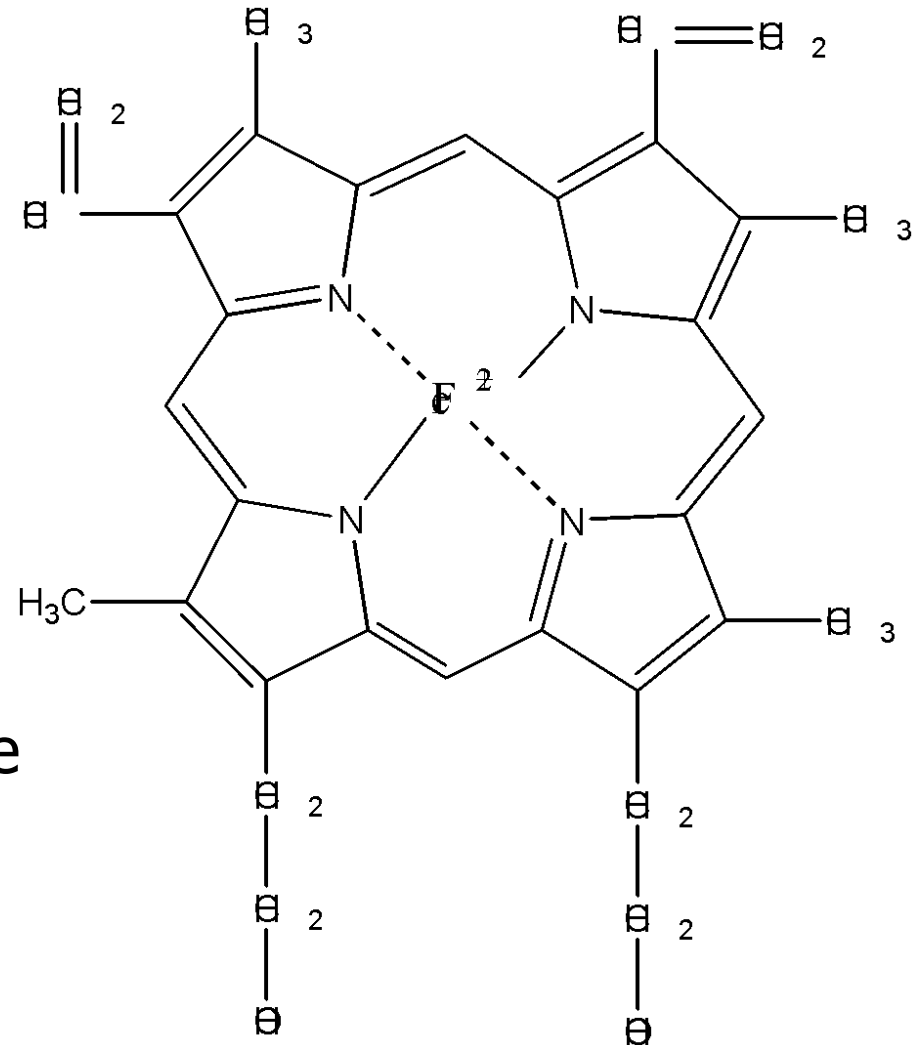
- Глутатион синтезируется из аминокислот L-цистеина, L-глутаминовой кислоты и глицина.
- Синтез происходит в две АТР-зависимые стадии:
 1. Из L-глутамата и цистеина синтезируется γ -глутамилцистеин, фермент - γ -глутамилцистеин синтетаза.
 2. Глутатион синтетаза присоединяет глицин к С-концевой группе γ -глутамилцистеина.

Особенность метаболизма при старении эритроцитов

- ↓ образование АТФ
- Нарушаются энергозависимые процессы восстановления формы эритроцитов → сфероцитоз, гемолиз
- ↓ антиокислительная защита (АОЗ) → ↓ повреждение клеточных мембран → гемолиз
- ↓ 2,3 ДФГ и ↑ сродство Hb к O₂
- ↓ транспортная функция Hb

СТРОЕНИЕ ГЕМА

Гем - это порфирин, в центре которого находится Fe^{2+} .
 Fe^{2+} включается в молекулу порфирина с помощью 2 ковалентных и 2 координационных связей.



Молекула гема имеет плоское строение. При окислении железа, гем превращается в гематин (Fe^{3+})

Гем является простетической группой многих белков:

- гемоглобина,
- миоглобина,
- цитохромов митохондриальной ЦПЭ, цитохрома P₄₅₀,
- ферментов каталазы, пероксидазы, цитохромоксидазы, триптофанпироллазы.

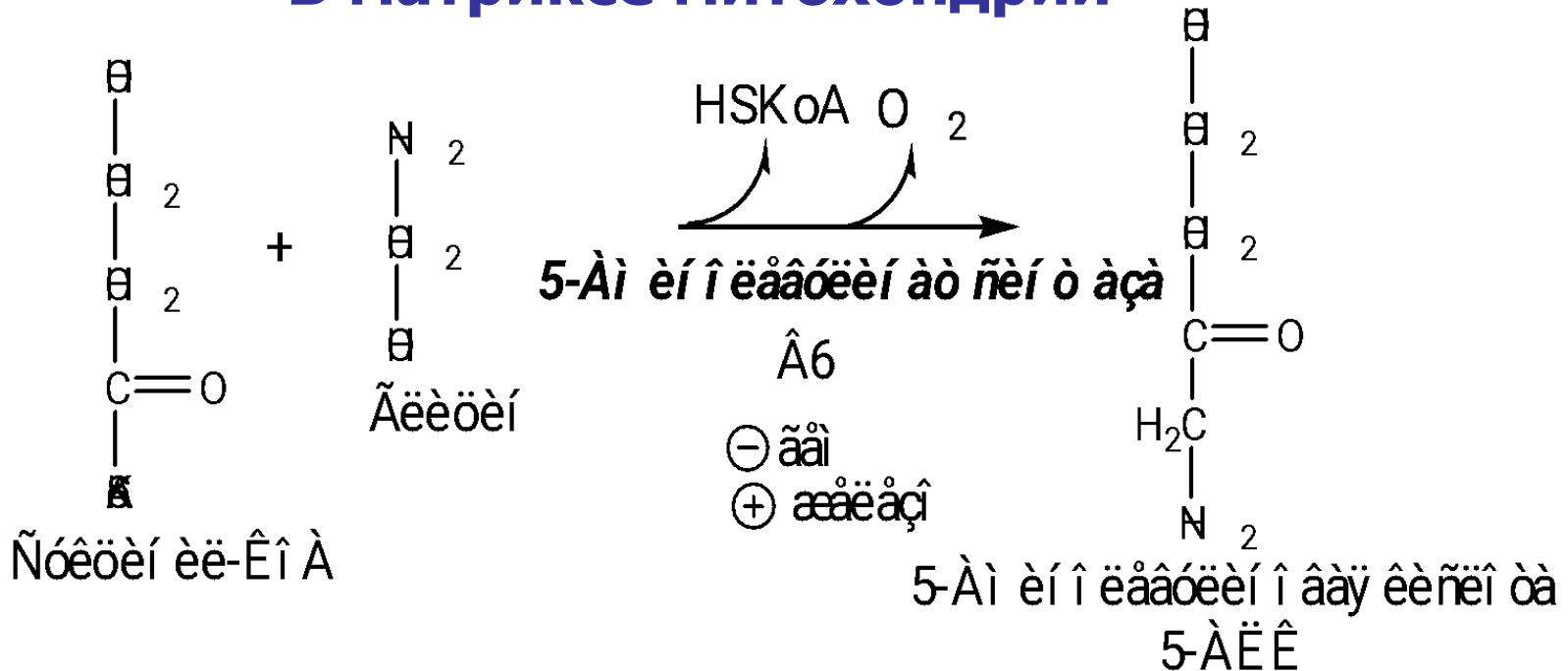
Наибольшее количество гема содержат эритроциты (Hb), мышечные клетки (миоглобин) и клетки печени (цитохром P450).

Гемы разных белков могут содержать разные типы порфиринов. В геме гемоглобина находится протопорфирин IX, в состав цитохромоксидазы входит формилпорфирин и т.д.

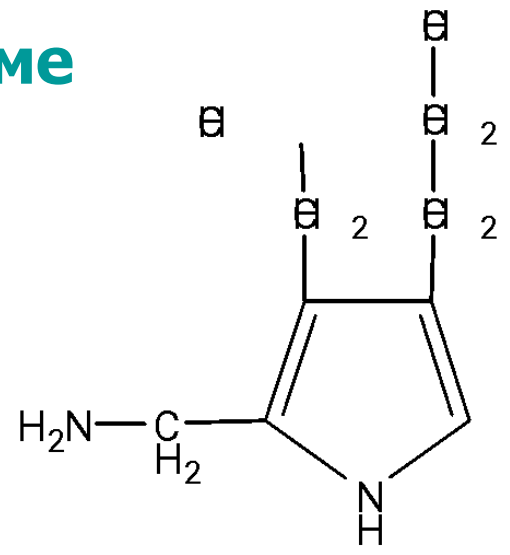
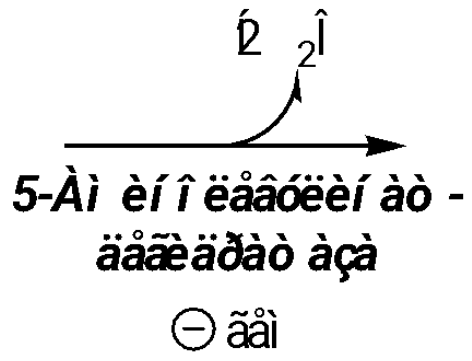
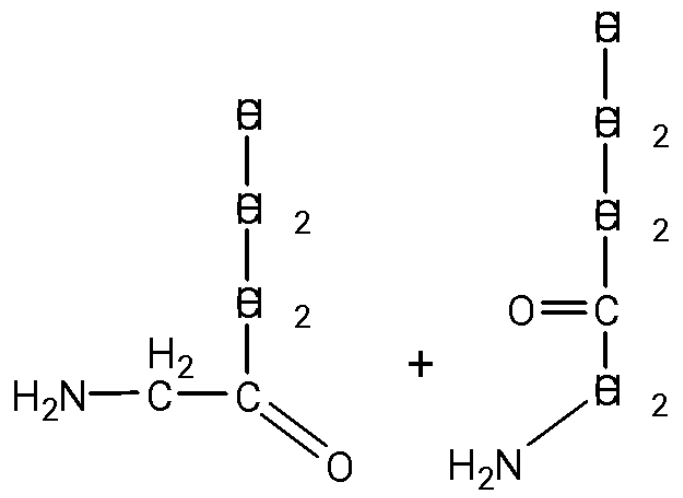
СИНТЕЗ ГЕМА

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

В матриксе митохондрий



В цитоплазме



5-Àì èí î ëääóëèí î âàÿ
 êèñëí òà (5-ÀËË)

5-Àì èí î ëääóëèí î âàÿ
 êèñëí òà (5-ÀËË)

ì î ðòî áèèèí î äãí

Порфобилиногендезаминаза

Гидроксиметилбилан

Уропорфириноген III косинтаза

Уропорфириноген III

Уропорфириногендекарбоксилаза

Копропорфириноген III

Копропорфриноген III оксидаза

Протопорфириноген IX

Протопорфириногеноксидаза

Протопорфирин IX

Феррохелатаза

Гем

НАРУШЕНИЯ СИНТЕЗА ГЕМА. ПОРФИРИИ

Порфирии - гетерогенная группа заболеваний, вызванная нарушениями синтеза гема вследствие дефицита одного или нескольких ферментов.

Классификации порфирий

Порфирии делят по причинам на:

Наследственные. Возникают при дефекте гена фермента, участвующего в синтезе гема;

Приобретенные. Возникают при ингибирующем влиянии токсических соединений (гексохлорбензол, соли тяжелых металлов - свинец) на ферменты синтеза гема.

В зависимости от локализации дефицита фермента порфирии делится на:

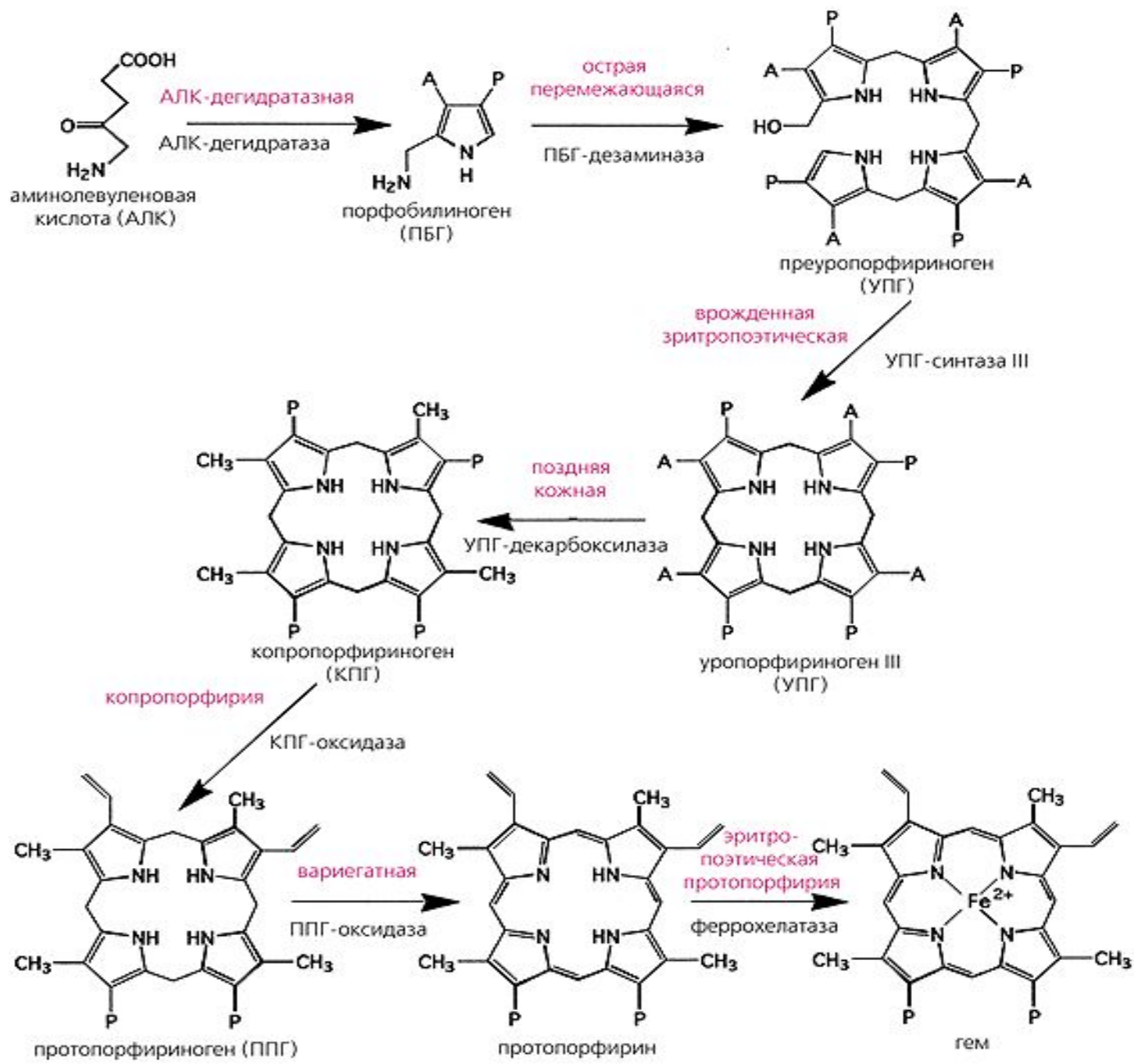
печеночные – наиболее распространены. К ним относятся острая перемежающаяся порфирия (ОПП), поздняя кожная порфирия, наследственная копропорфирия, мозаичная порфирия;

эритропоэтические – врожденная эритропоэтическая порфирия (болезнь Гюнтера), эритропоэтическая протопорфирия.

В зависимости от клинической картины, порфирии делят на:

острые.

хронические.



Негативные последствия порфирий связаны с дефицитом гема и накоплением в организме промежуточных продуктов синтеза гема – порфириногенов и продуктов их окисления. При эритропоэтических порфириях порфирины накапливаются в нормобластах и эритроцитах, при печёночных — в гепатоцитах.

Порфириногены ядовиты

Аминолевулинат и порфириногены являются нейротоксинами, они при порфириях вызывают нейропсихические расстройства

Приводят к вялому параличу конечностей и парезу дыхательной мускулатуры

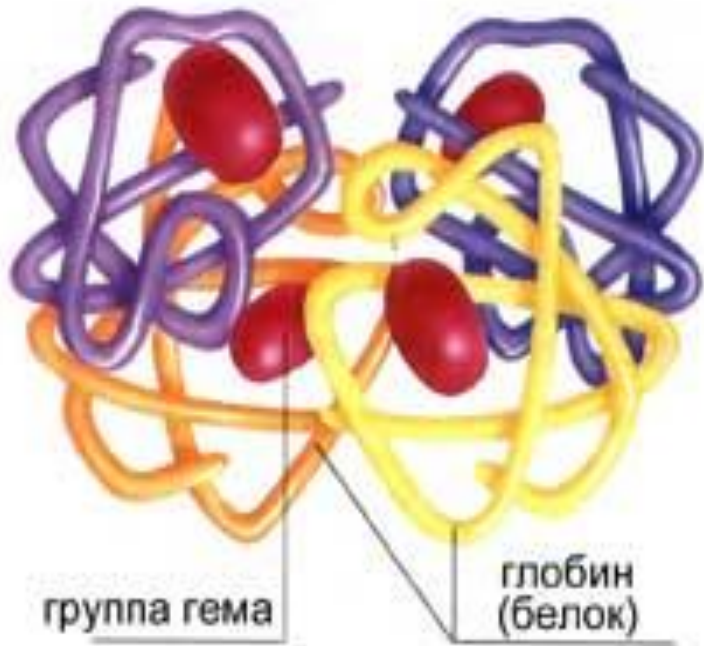
В коже на солнце порфириногены превращаются в порфирины. O_2 при взаимодействии с порфиринами переходит в синглетное состояние. Синглетный O_2 стимулирует ПОЛ клеточных мембран и разрушение клеток, поэтому порфирии часто сопровождаются фотосенсибилизацией и изъязвлением открытых участков кожи.



Порфириногены бесцветны и не флуоресцируют, а порфирины имеют интенсивную красную флуоресценцию в ультрафиолетовых лучах.

Избыток порфиринов который выводится с мочой, придает ей темный цвет («порфирин» в переводе с греч. означает пурпурный).

Гемоглобин



- Тетрамерный хромопротеин
- 4 гема и 4 глобина (α, β, γ, δ и т.д.)
- Масса – 65 кДа
- У мужчин 130-160г/л
- У женщин 120-140г/л

Функции Нв:

1. Обеспечивают перенос O_2 от легких к тканям. В сутки 600 л;
2. Участвует в переносе CO_2 и протонов от тканей к легким;
3. Образует гемоглобиновый буфер, регулирует КОС крови

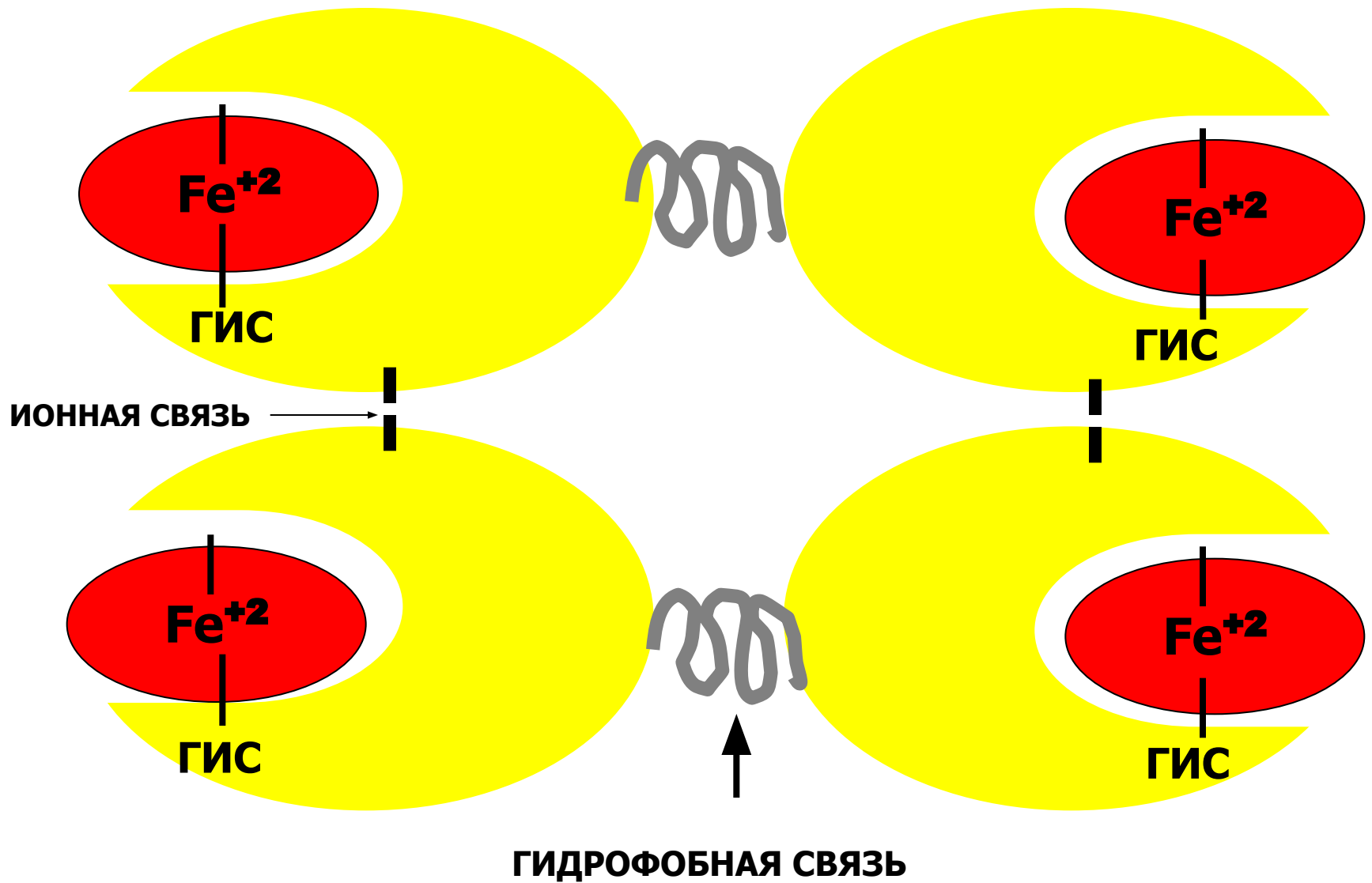
Синтез гемоглобина

Гемоглобин начинает синтезироваться на стадии базофильного эритробласта, а заканчивается у ретикулоцитов.

- Гем индуцируется синтез цепей глобина на рибосомах. Гены цепей глобина расположены в 11 и 16 хромосоме.
- Цепи глобина формируют глобулы и соединяются с гемом.
- Глобулы нековалентно соединяются в гемоглобин.

В ретикулоцитах также идет синтез пуринов, пиримидинов, фосфатидов, липида.

Структура гемоглобина



Виды гемоглобина

```
graph TD; A[Виды гемоглобина] --> B[Физиологические]; A --> C[Патологические];
```

Физиологические

- **Эмбриональный:**

1. Gover I -4ε,
2. Gover II -2α 2ε
3. Фетальный - 2 α 2γ

- **Hb Взрослого:**

1. Гемоглобин A1 - 2α 2β
2. Гемоглобин A2 - 2α 2δ
3. Гемоглобин A3 - 2α 2δ -глутатион
4. Гемоглобин A1c -глюкоза

Патологические

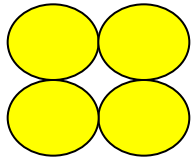
- **Более 100 видов:**

1. HbS (Серповидноклет. Анемия)
2. HbH (Талассемия)

Схема образования видов гемоглобина

эпсилон

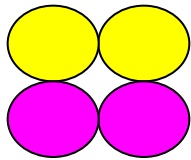
ϵ



Hb F1

Синтезируется в 1 недели развития плода (желточный мешок)

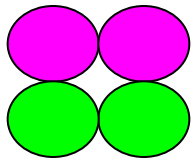
α



Hb F2

Синтезируется в 1 -2 месяц развития плода

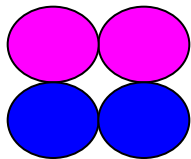
γ



Hb F

Синтезируется к 3 месяцу развития плода, к моменту рождения составляет 50%-80%

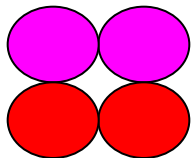
β



A1

У взрослого человека **98 %**. Синтезируется с 8 месяца развития плода

δ



A2

У взрослого человека **2 %**

дельта

Талассемия

Генетическое заболевание, обусловленное отсутствием или снижением синтеза одной из цепей гемоглобина.

Причиной являются мутации генов-операторов, контролирующих транскрипцию структурных генов α , β , γ , δ -цепей гемоглобина.

В результате несбалансированного образования глобиновых цепей образуются тетрамеры гемоглобина, состоящие из одинаковых протомеров.

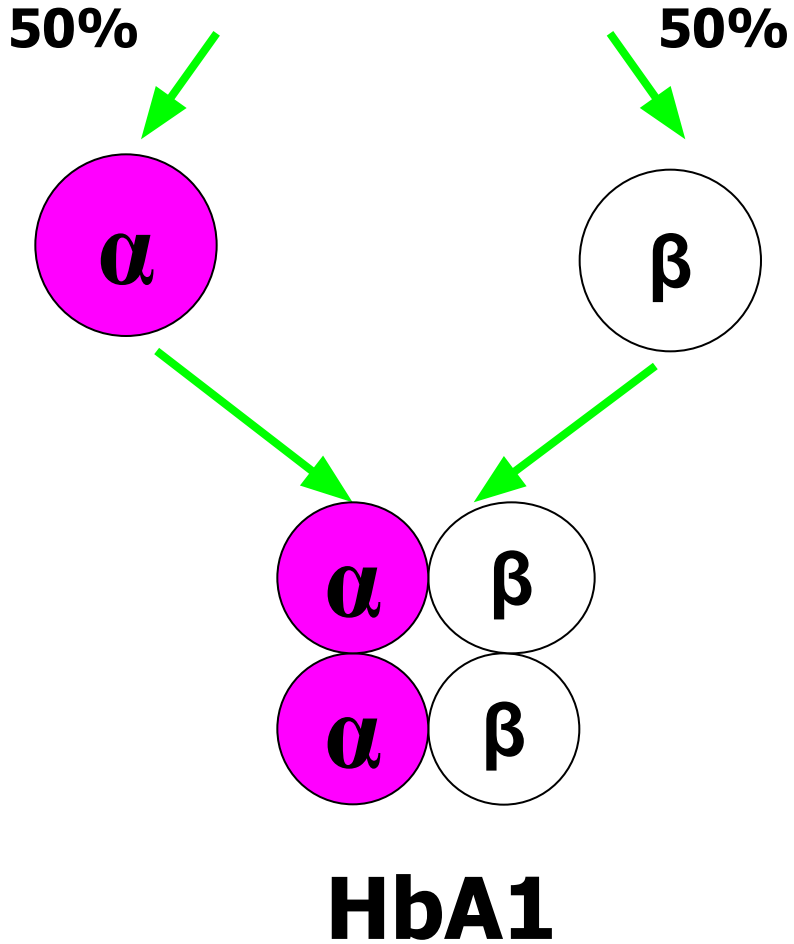
В зависимости от того, формирование какой глобиновой цепи нарушается, выделяют α , β , γ , ε - талассемии.

Также талассемии делятся на *гомозиготные* и *гетерозиготные*

Патология биосинтеза гемоглобина

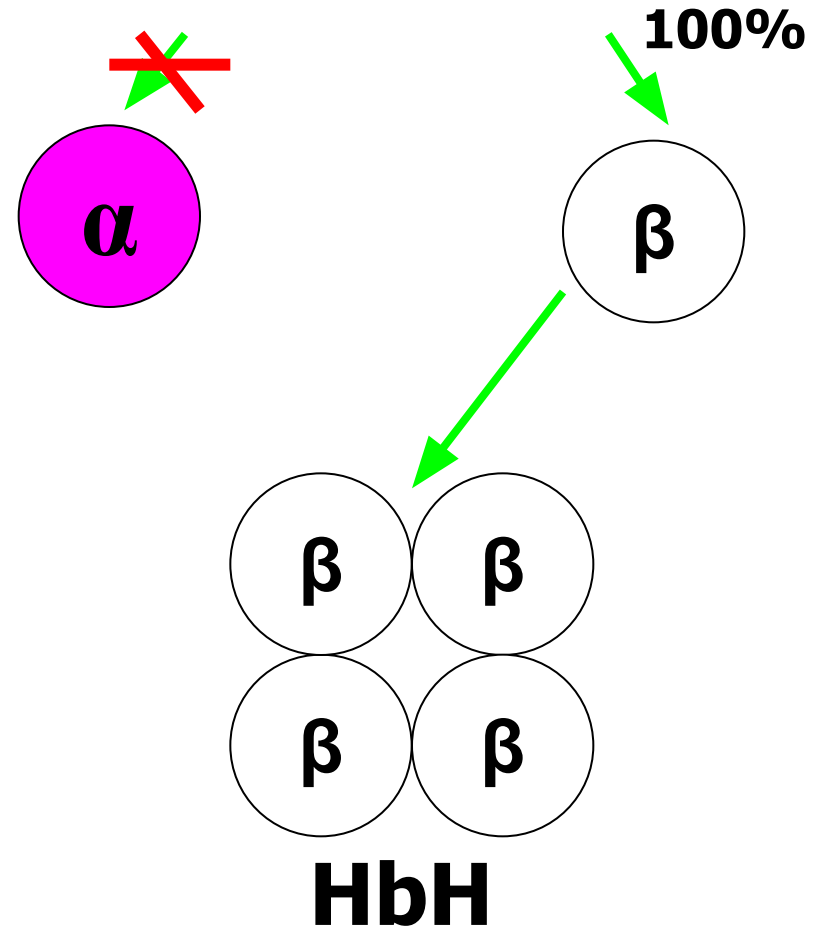
Норма

Биосинтез



Патология

Биосинтез



α -талассемия

При талассемии:

- 1). нарушаются пропорции в составе гемоглобина.
- 2). эритроциты приобретают не нормальную форму (мишеневидную, каплевидную). Такие эритроциты в пределах 1 дня захватываются ретикулярной соединительной тканью (например, селезенкой) и подвергаются распаду (по этой причине селезёнка оказывается гипертрофированной), что приводит к развитию гемолитической анемии

β -Талассемия

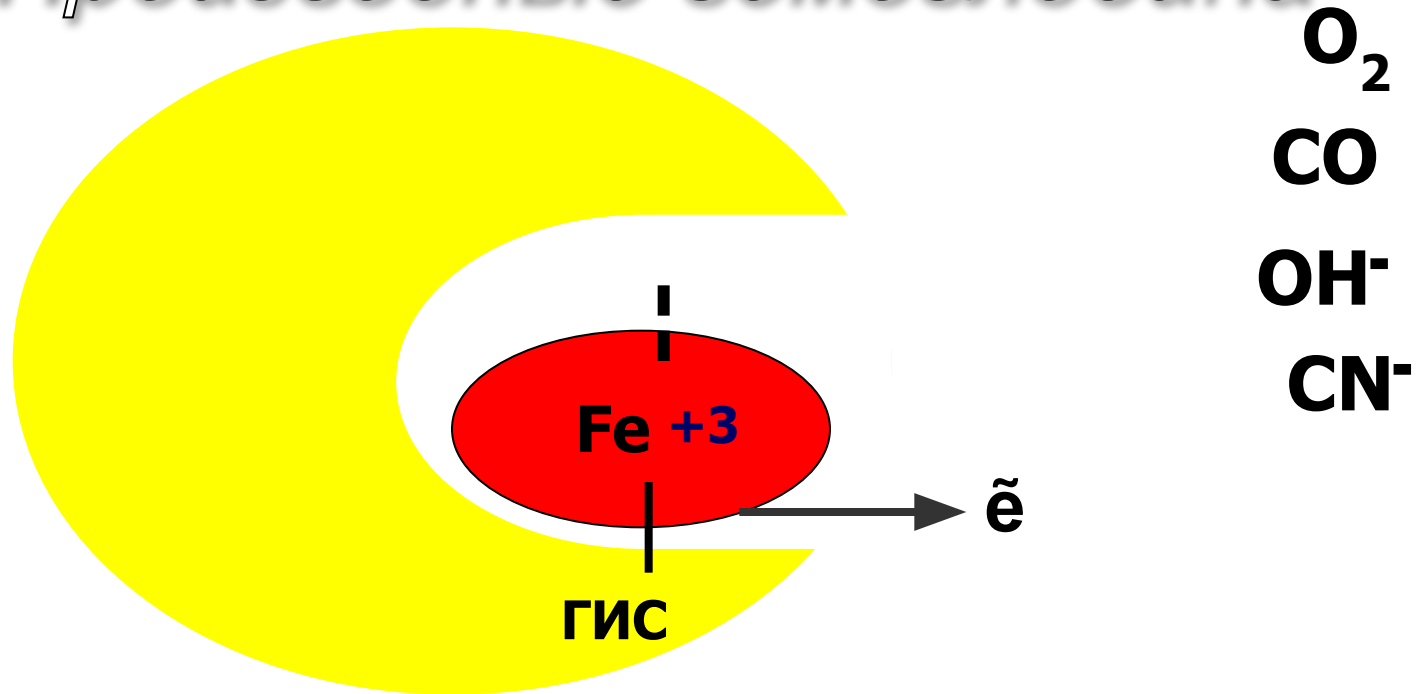
Симптомы через полгода после рождения, когда прекращается синтез γ -цепи НвФ. Прогрессирует анемия. Увеличиваются селезенка и печень. Лицо приобретает монголоидные черты (из-за чрезмерного разрастания костного мозга скулы выдаются вперед, нос приплюснут), при рентгенологическом исследовании черепа наблюдается феномен «игл ежа» («hair – standing –on –end»).



Серповидноклеточная анемия

- β -субъединицах HbS в шестом положении вместо ГЛУ находится ВАЛ. Гидрофобные участки HbS, соединяются с гидрофобным карманом другой молекулы дезоксиHb (в оксиHb нет такого кармана).
- Происходит полимеризация HbS и его осаждение в виде длинных волокон. Волокна нарушают нормальную форму эритроцитов, превращая её из двояковогнутого диска в серповидную, которая блокирует капилляры. Такие эритроциты преждевременно разрушаются, способствуя развитию анемии.
- В гомозиготном состоянии заболевание может оказаться смертельным.
- Серповидная красная кровяная клетка «неудобна» для развития малярийного плазмодия.
- Из-за полимеризации дезоксиформы S гемоглобина существенное ухудшение состояния больных наблюдается в условиях высокогорья при низких давлениях кислорода.

Производные гемоглобина



ДЕЗОКСИГЕМОГЛОБИН
КАРБОНОКСИГЕМОГЛОБИН
ЦИАНИДМЕТАГЕМОГЛОБИН

оксигемоглобин HbO_2 (Fe^{2+})

- соединение молекулярного кислорода с гемоглобином.

Процесс называется оксигенацией, обратный процесс - дезоксигенацией

Производные гемоглобина:

Карбоксигемоглобин HbCO (Fe²⁺)

Связь гема с СО в двести раз прочнее, чем с O₂. В норме содержится 1% HbCO. У курильщиков концентрация HbCO - до 20%. При отравлении СО, из-за недостаточного снабжения тканей кислородом может наступить смерть

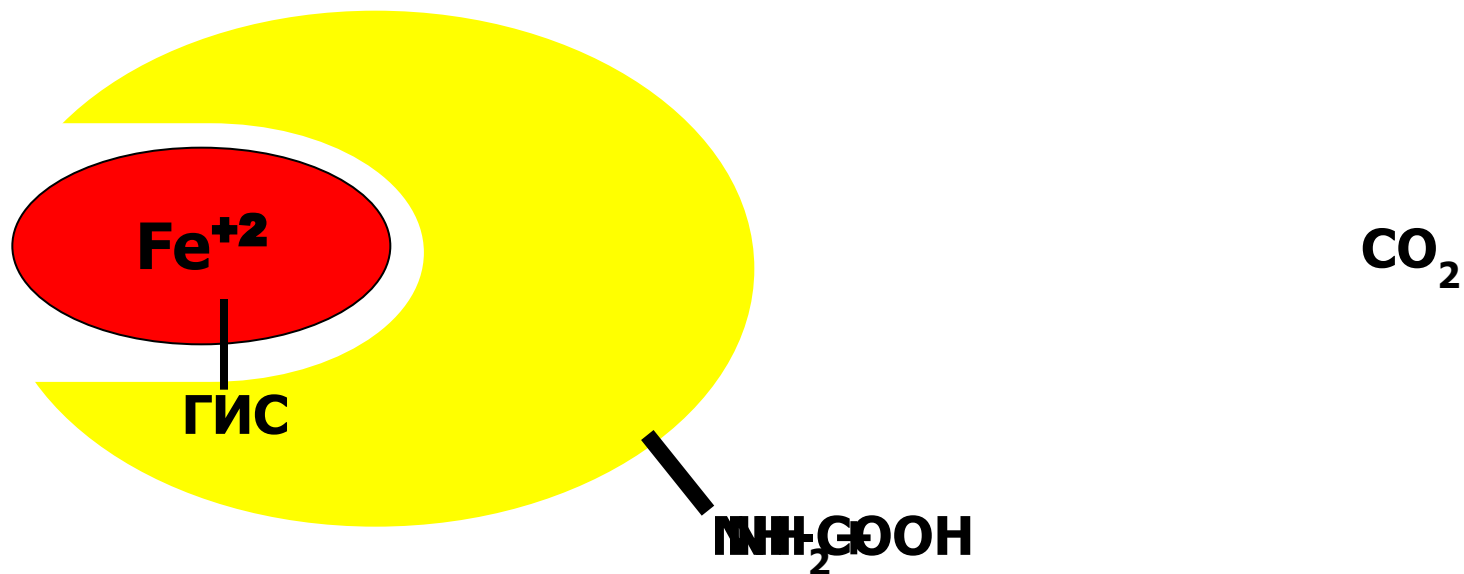
метгемоглобин MtHb (Fe^{3+})

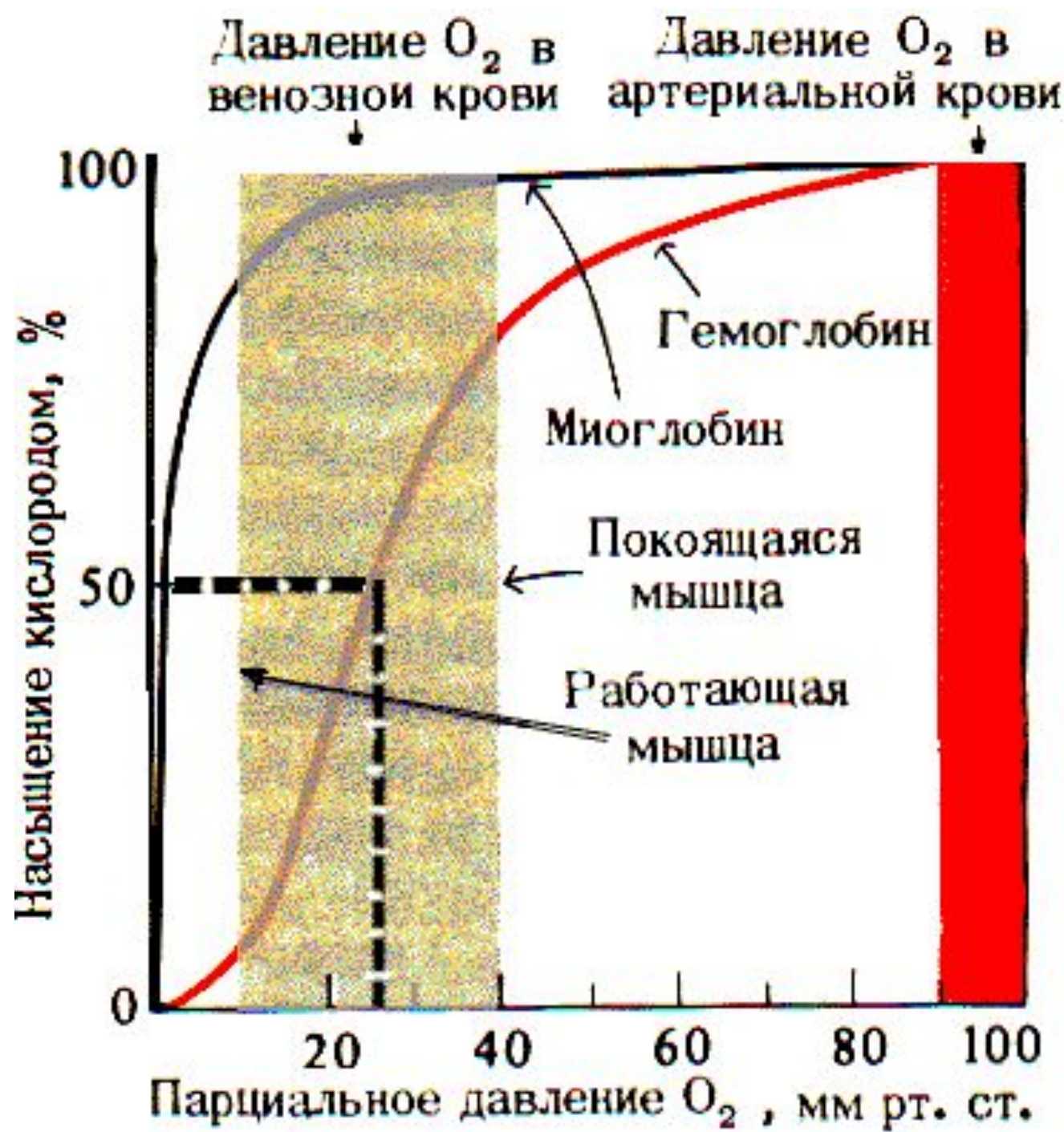
- **Образуется при воздействии на гемоглобин окислителей (оксидов азота, хлоратов).**
- **В норме в крови содержится <1%.**
- **Накопление метгемоглобина при некоторых заболеваниях (недостаточность Гл-6-фосфатДГ), метгемоглобин не способен к переносу кислорода**

Цианметгемоглобин HbCN (Fe³⁺)

образуется при присоединении CN⁻ к метгемоглобину. Эта реакция спасает организм от смертельного действия цианидов. Поэтому для лечения отравлений цианидами применяют метгемоглобинообразователи (нитрит Na)

ОБРАЗОВАНИЕ КАРБГЕМОГЛОБИНА



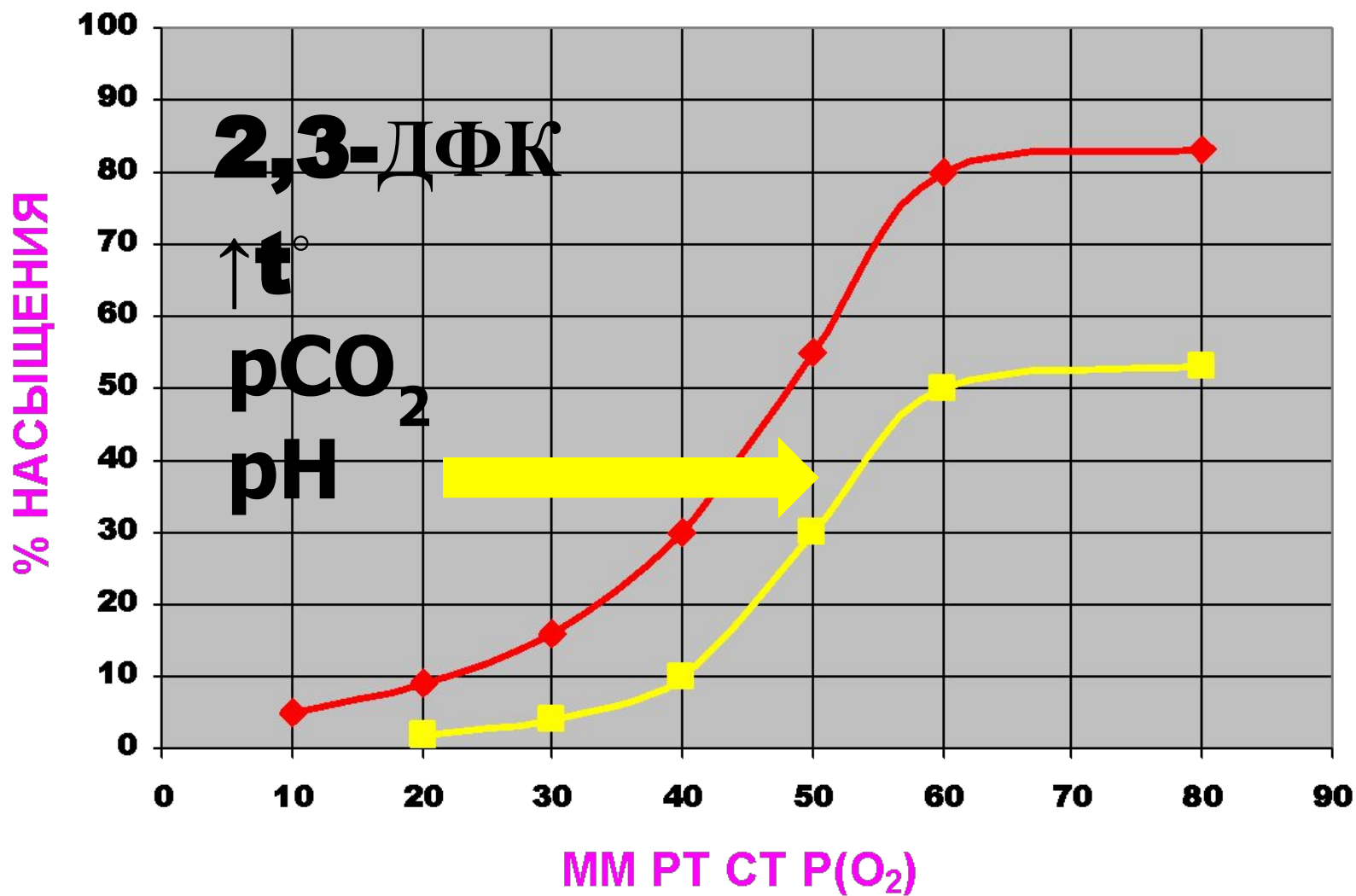


Алlostерическая регуляция насыщения гемоглобина кислородом

На насыщение гемоглобина O_2 влияют:

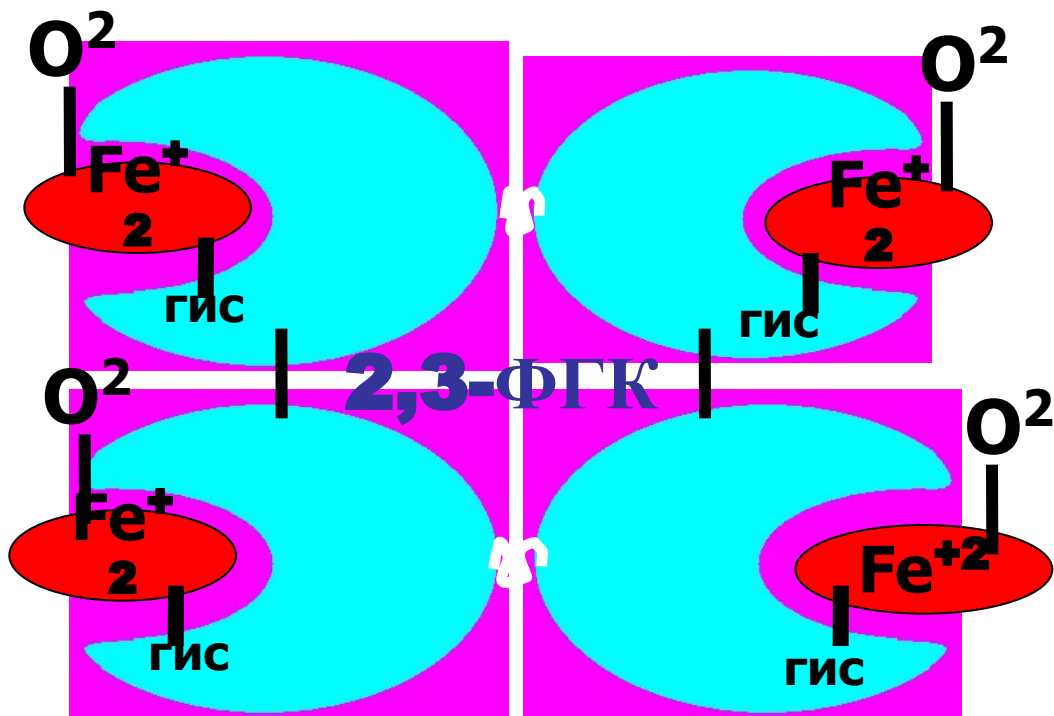
- Температура
- pH – эффект Бора
- Концентрация 2,3-ДФГ
- pCO_2
- Давление

Кривая диссоциации O_2 для Hb



Сердце

Почки



Головной мозг

Мышцы

Обмен веществ в лейкоцитах

- - полноценные клетки, содержат все органеллы.
- - присущи все виды обмена (кроме глюконеогенеза).
- **Метаболизм** быстро реагирует на изменение условий среды – в кровотоке клетка становится аэробом, в ткани - анаэробом

Антимикробная система фагоцита

1. Зависимая от кислорода

- а) Зависимая от миелопероксидазы (х I_2 , Cl_2)
- в) Неависимая миелопероксидазы (H_2O_2 , $*O^-_2$)

2. Независимая от кислорода

- а) кислые гидролазы
- б) лизоцим
- в) лактоферрин
- г) катионные белки
- д) рН до 3,7

АФК

- АФК используются фагоцитами для разрушения вирусов, онкоклеток

оксидаза

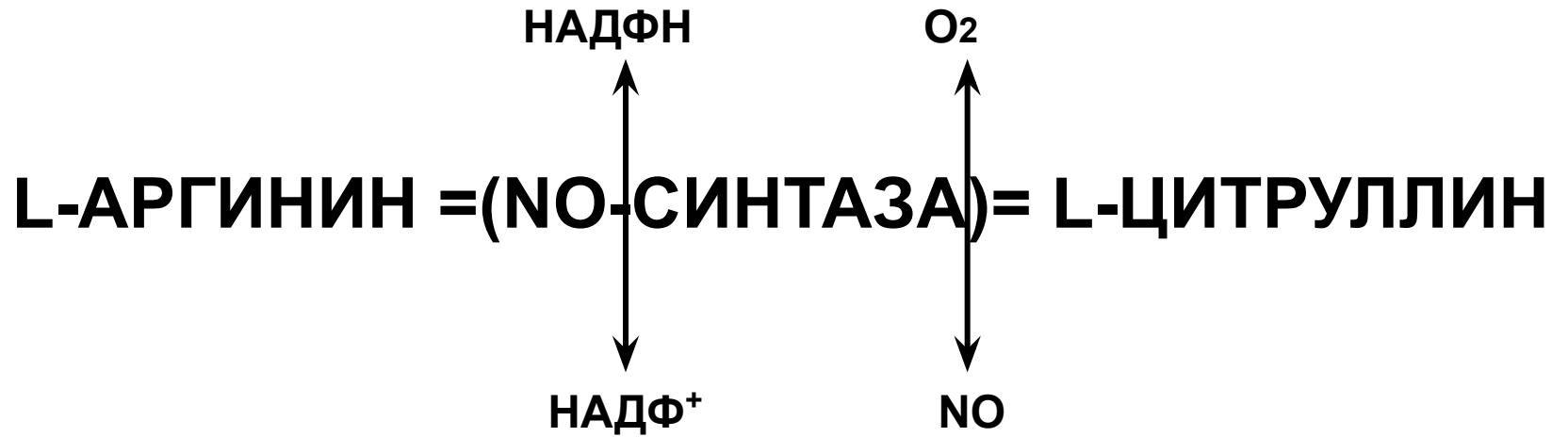
- $\text{НАДФН}_2 + 2\text{O}_2 \text{ -----> НАДФН}^+ + 2\text{O}_2^{2-}$
- $\text{O}_2^{2-} + 2\text{H}^+ = \text{H}_2\text{O}_2$

миелопероксидаза

- $\text{H}_2\text{O}_2 + \text{Cl}^- \text{ -----> H}_2\text{O} + \text{ClO}^-$

гипохлорид и пероксид разрушают стенку бактерий

Образование NO

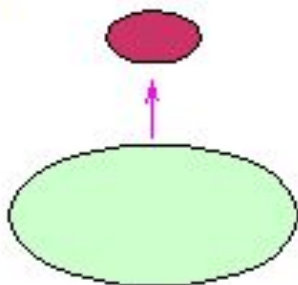


ФАГОЦИТОЗ

- **Фагоцитоз-процесс активного поглощения и переваривания клетками организма попавших в него живых и убитых микробов или других инородных частиц.**
- **Фагоцитоз осуществляется макрофагами и нейтрофилами, но присущ и другим лейкоцитам.**

Этапы фагоцитоза

1



ХЕМОТАКСИС

2



АДГЕЗИЯ

3



АКТИВАЦИЯ
МЕМБРАНЫ

4



НАЧАЛО
ФАГОЦИТОЗА

5



ОБРАЗОВАНИЕ
ФАГОСОМЫ

6



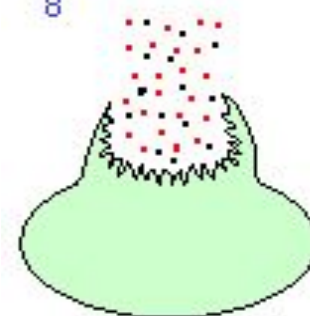
СЛИЯНИЕ

7

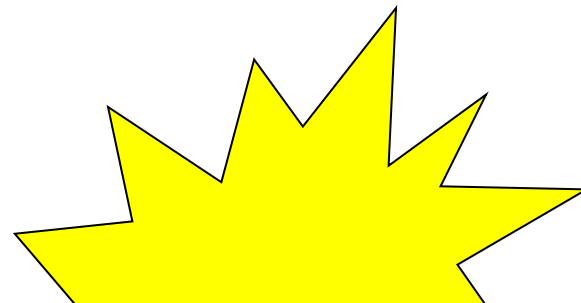
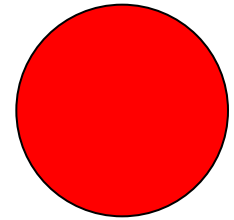
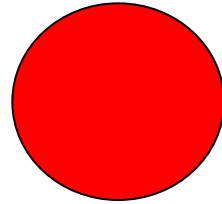
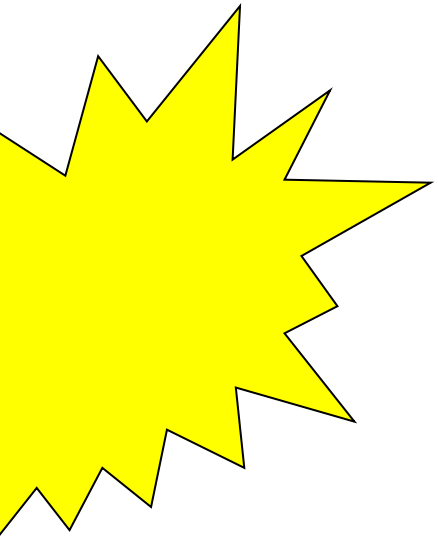


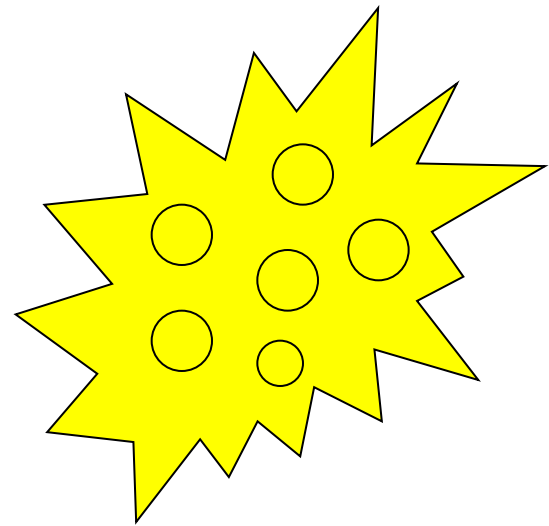
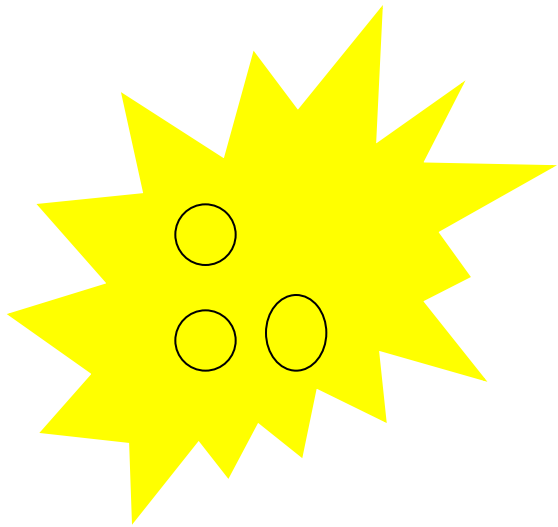
УНИЧТОЖЕНИЕ

8



ВЫБРОС
ПРОДУКТОВ
ДЕГРАДАЦИИ





Спасибо за внимание!