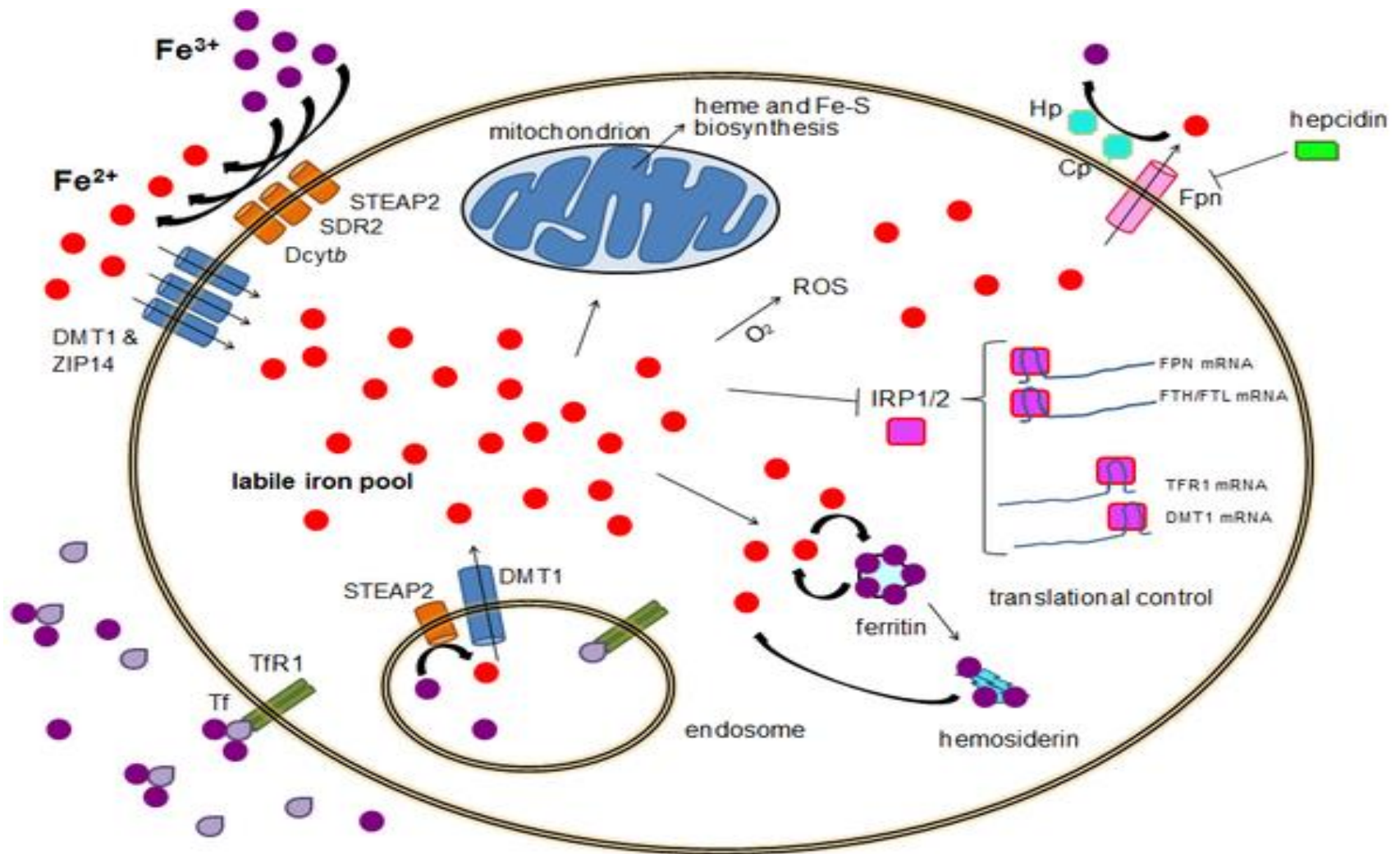


METABOLIZAM GVOŽĐA

Gvožđe - uloga

- Esencijalni bioelement – gvožđe –sumpor klaster (Fe-S) i hem grupe
- Transfer elektrona (fero – donor elektrona; feri – akceptor elektrona)
- Neophodan za dobijanje ATP (respiratorni lanac mitohondrija)
- Hemoglobin, mioglobin – transport O_2 i CO_2
- Neophodan za ćelijsku diobu, rast i sintezu DNA

% gvožđa	Jedinjenje	Priroda jedinjenja	Funkcija	Molekulska masa (kDa)	Masa jedinjenja (g)	Masa gvožđa (g)
1	Transferin	Nije hem	<i>Prenos gvožđa</i>	76	14,0	0,007
	Citohrom C	Hem enzim	<i>Oksidacija</i>	13,2	0,8	0,004
	Citohrom a, a₃ i b	Hem enzim	<i>Oksidacija</i>	/	?	?
	Peroksidaza	Hem enzim	<i>Razgradnja H₂O₂</i>	44,1	?	?
	Katalaza	Hem enzim	<i>/</i>	225	5,0	0,004
	Gvožđe-sumpor	Nisu hem enzimi	<i>Flavoproteini, oksidaza, hidroksilaze</i>	/	?	?
5	Nepoznato	/	<i>/</i>	/	/	0,20
10	Mioglobin	Hem	<i>Prenos kiseonika u mišićima</i>	17	120	0,40
9	Hemosiderin	Nije hem	<i>Čuvanje gvožđa</i>	Varira	1,2	0,36
10	Feritin	Nije hem	<i>Čuvanje gvožđa</i>	444	2,0	0,40
65	Hemoglobin	Hem	<i>Prenos kiseonika u krvi</i>			



DMT1 i ZIP14 – importeri gvožđa

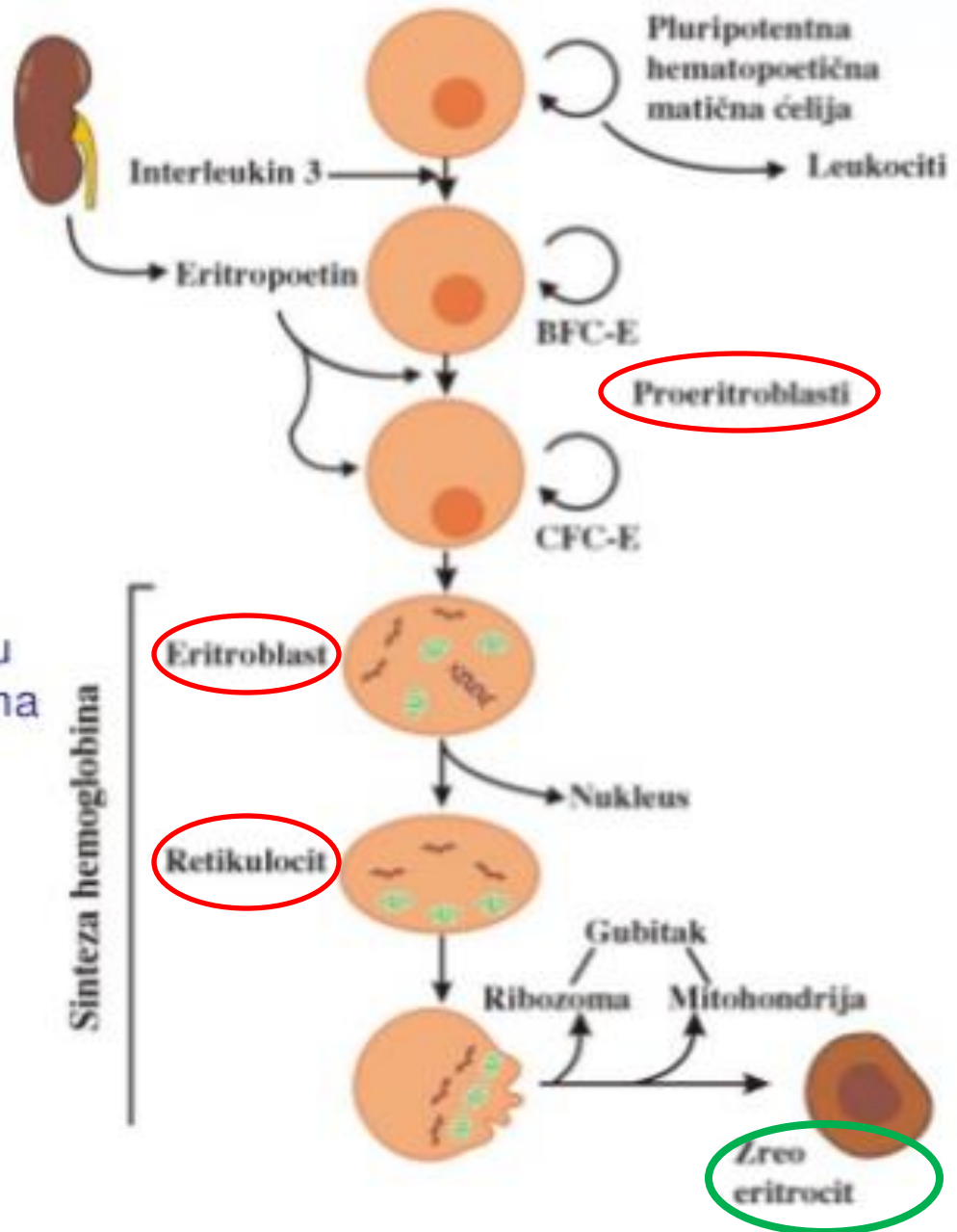
TfR1 – transferinski receptor 1

STEAP2, SDR2 i Dcytb – reduktaze gvožđa

ERITROCITI - HEMOGLOBIN

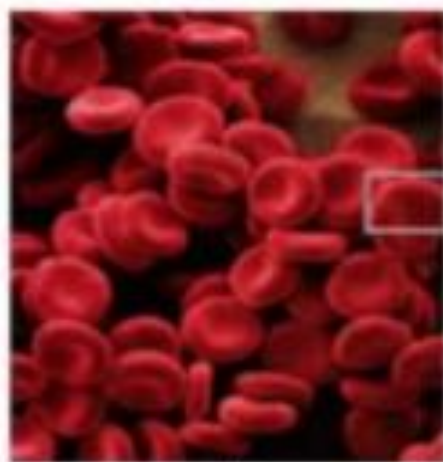
Sinteza eritrocita

- Životni vek eritrocita
- 120 dana
- Retikulociti
- 2 dana u cirkulaciji
- Sinteza proteina i enzima u eritroblastima i retikulocitima

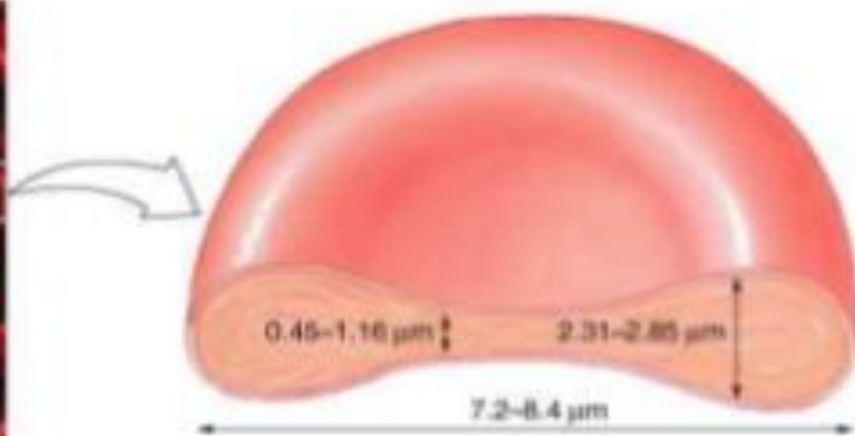


Metabolički procesi u eritrocitima

- Struktura i funkcija eritrocita
- Energija je neophodna za:
 - Održavanje gradijenta elektrolita
 - Održavanje hemoglobina u redukovanom obliku
 - Održavanje SH grupa enzima i membranskih proteina



(c)

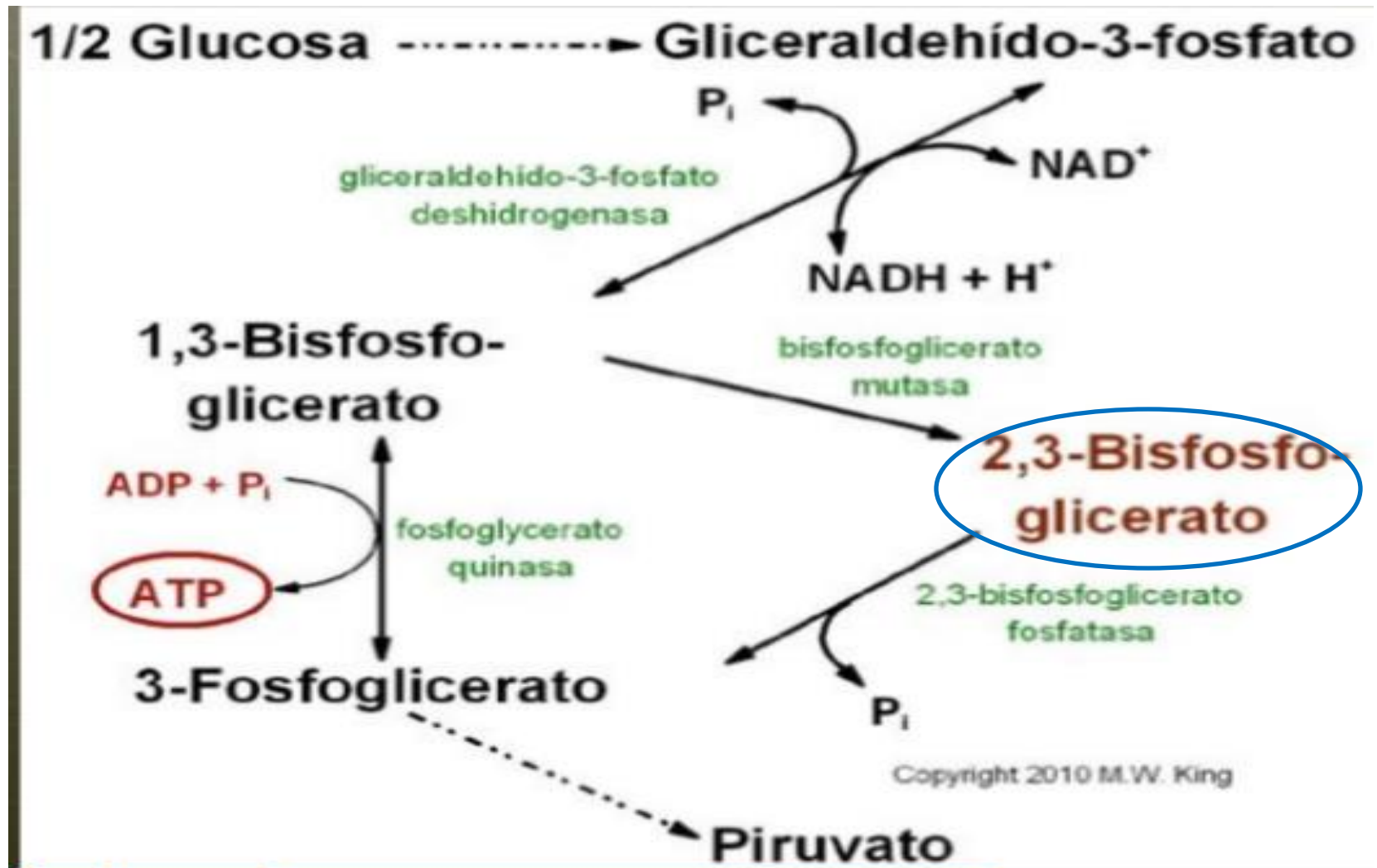


(d)

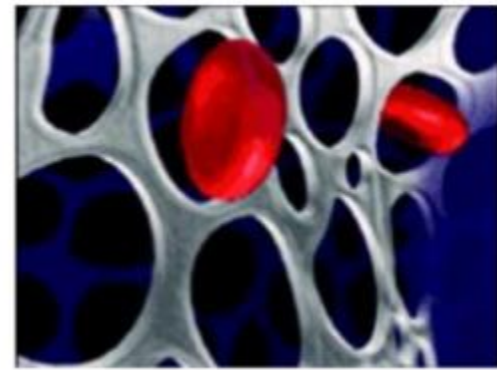
Metabolički procesi u eritrocitima

- Izvori energije u eritrocitima
 1. Anaerobna faza glikolize ili Embden Meyerhof-ov put
 2. Heksoza monofosfatni put ili pentozni šant
- Obezbeđuju ATP i redukcione ekvivalente NADPH i NADH

Rapaport-Lueberingov ciklus



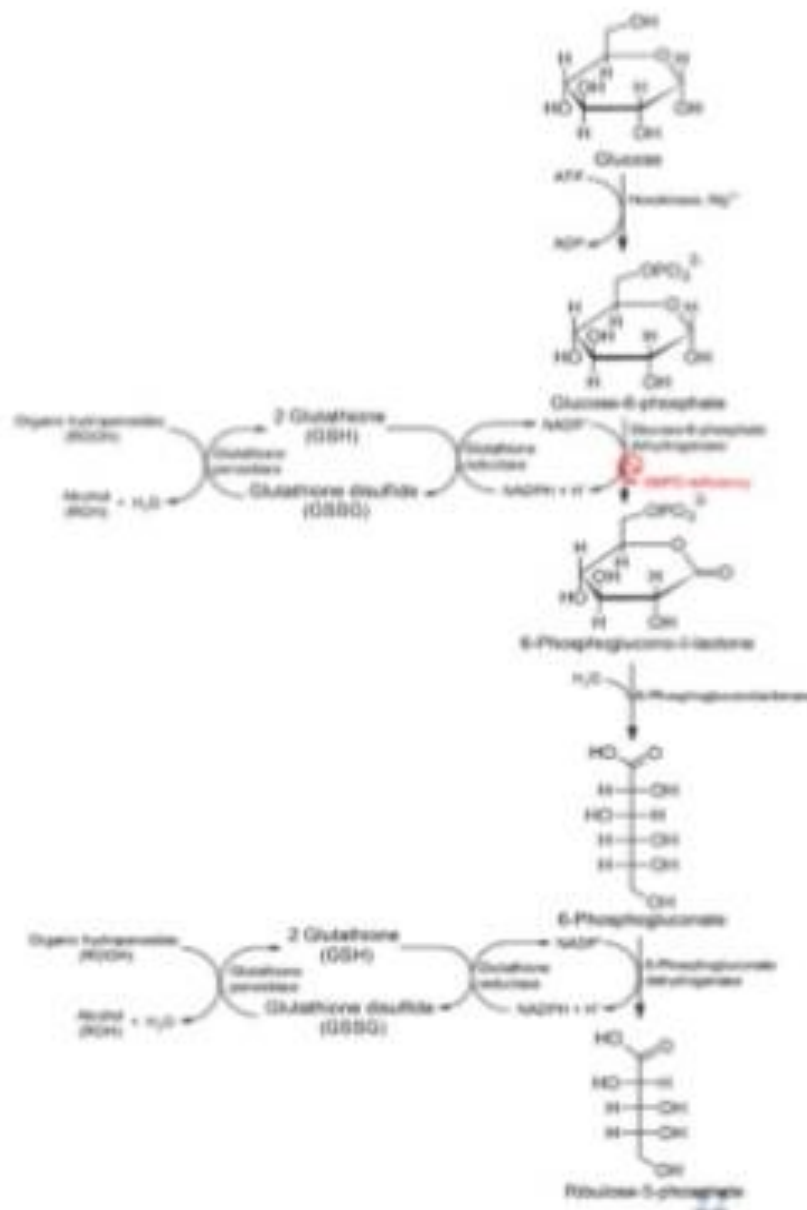
2,3 difosfoglicerat - uloga



- 2,3 DFG predstavlja najvažniji **organski fosfat** u eritrocitima.
- Stvara **kompleks sa Hgb**, i njegova koncentracija u eritrocitima prati koncentraciju Hgb.
- Intermedijer je ciklusa glikolize, koji nastaje uz aktivnost **DFG mutaze**.
- Njegova koncentracija je povećana u uslovima **hipoksije**.

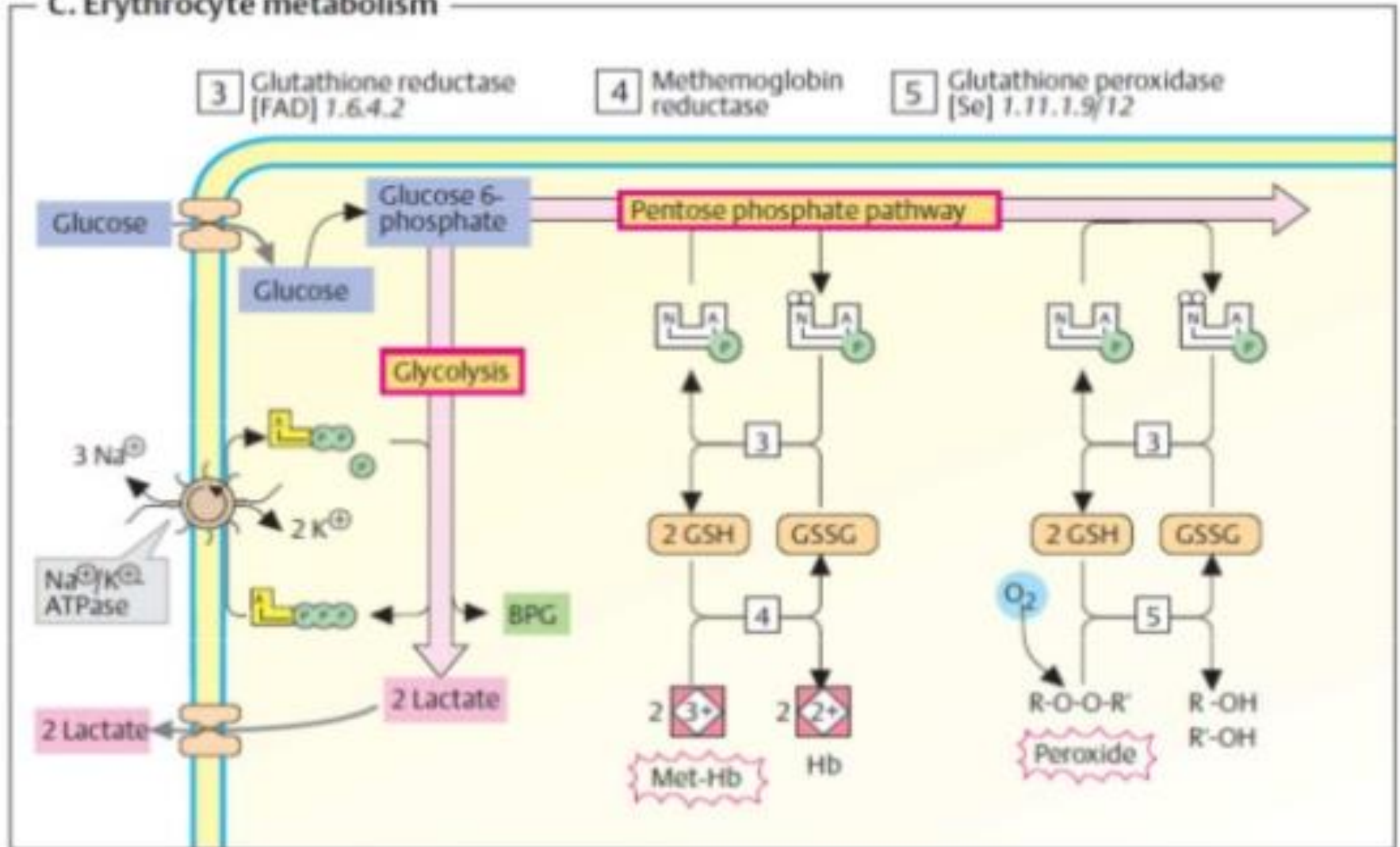
Heksoza-monofosfatni put

- Značaj heksozamonofosfatnog metaboličkog puta u eritrocitima
- Oslobađanje NADPH neophodnog za održavanje redukovano glutathiona

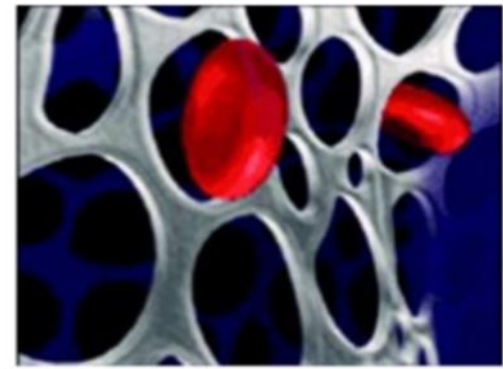


Metabolički putevi u eritrocitima

C. Erythrocyte metabolism



MEHANIZAM ODRŽAVANJA ERITROCITA I ZAŠTITE HEMOGLOBINA



Eritrociti **nemaju** sposobnost sinteze proteine → nemaju sposobnost da zamjene bilo koji oštećeni protein.

Tokom oksigenacije dolazi do oksidacije kiseonika i **produkcije ROS**, koji u većim količinama mogu biti uzrok **LIZE ćelije**.

DETOKSIKACIJA ROS u eritrocitima se sprovodi **ENZIMSKIM** sistemima:

1. SOD

2. GLUTATION PEROKSIDAZOM - zaduženi da održavaju fiziološku koncentraciju redukovanog GLUTATIONA (GSH).

Proteini koji vežu kisik

Kisik je slabo topljiv u vodenim otopinama pa same molekule otopljene u krvi ne mogu doprijeti do tkiva. Isto tako, difuzija kisika u tkiva je malog dometa (svega nekoliko milimetara). Zbog toga je bilo potrebno da multicelularni organizme razviju proteine koji transportiraju i pohranjuju kisik.

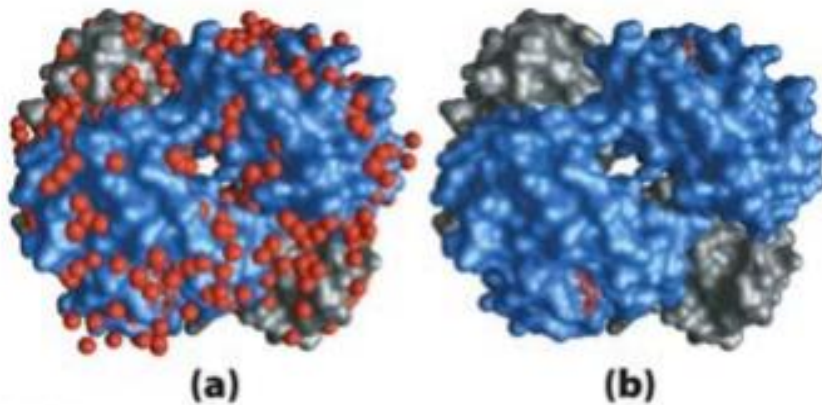


Figure 2-9
Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition
© 2008 W. H. Freeman and Company

Kristalna struktura hemoglobina. Hemoglobin je $\alpha_2\beta_2$ tetramer i svaka podjedinica ima vezanu prostetsku skupinu hem. U (a) molekule vode, crvene kuglice, čvrsto se vežu za protein. Dvije α podjedinice obojene su plavo, a dvije β podjedinice označene su sivom bojom. (b) prikaz hemoglobina bez vode. Vezani hem je obojen crveno.

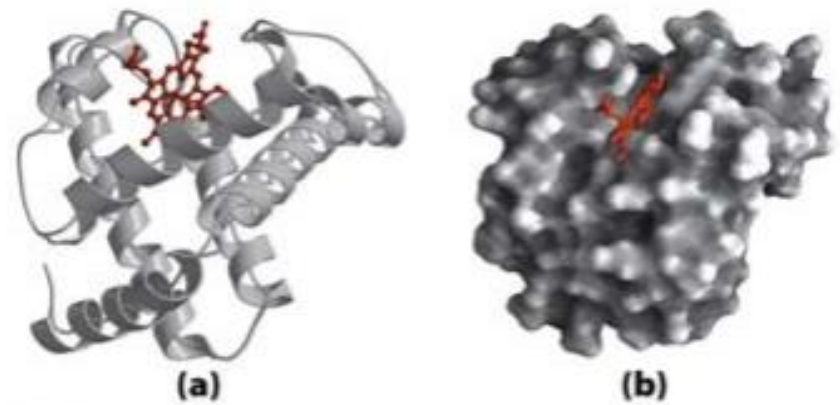
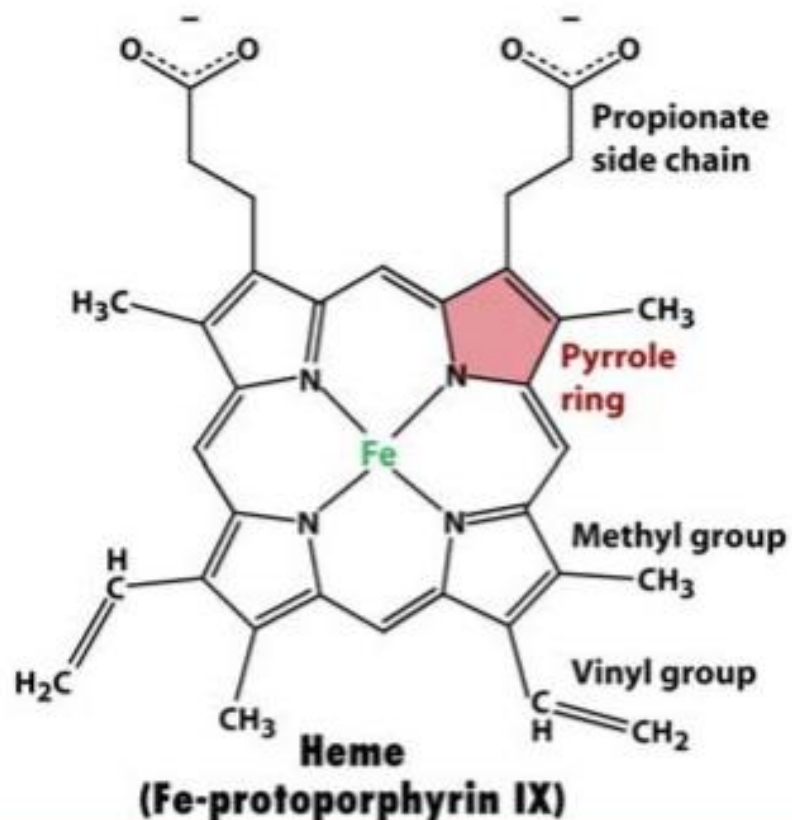


Figure 4-15a,b
Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition
© 2008 W. H. Freeman and Company

Shematski prikaz mioglobina (a) i njegova kristalna struktura (b). Mioglobin je jedan polipeptid na koji je vezana jedna prostetska skupina hema, označena crveno.

Proteini koji vežu kisik (hem)

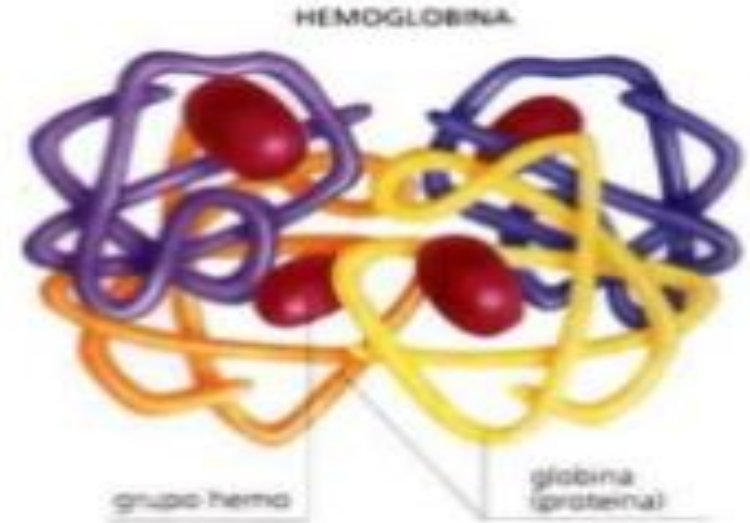


Niti jedna funkcionalna skupina aminokiselina ne može reverzibilno vezati kisik. Transport i vezanje kisika mogu obavljati tranzicijski metali kao što su Fe i Cu. Kako slobodni metali sa slobodnim kisikom stvaraju vrlo reaktivne hidroksilne radikale, u multiselularnim organizmima željezo je u kompleksu sa prostetskom skupinom, hem, koja je vezana za protein.

U slobodnoj prostetskoj skupini, tj. kada hem nije vezan za protein, Fe^{2+} ireverzibilno prelazi u Fe^{3+} i kisik se više ne može vezati. U proteinima koji sadrže hem, ova reakcija se ne događa jer je hem skupina zakrivljena u strukturi proteina.

Struktura protoporfirina IX, jednog od porfirina. Fe^{2+} ima šest koordinacijskih veza. Četiri veze su u ravlini i vežu se s pirolnim prstenovima, a još druge dvije koordinacijske veze Fe^{2+} okomite su na ovu ravninu.

HEMPROTEINI

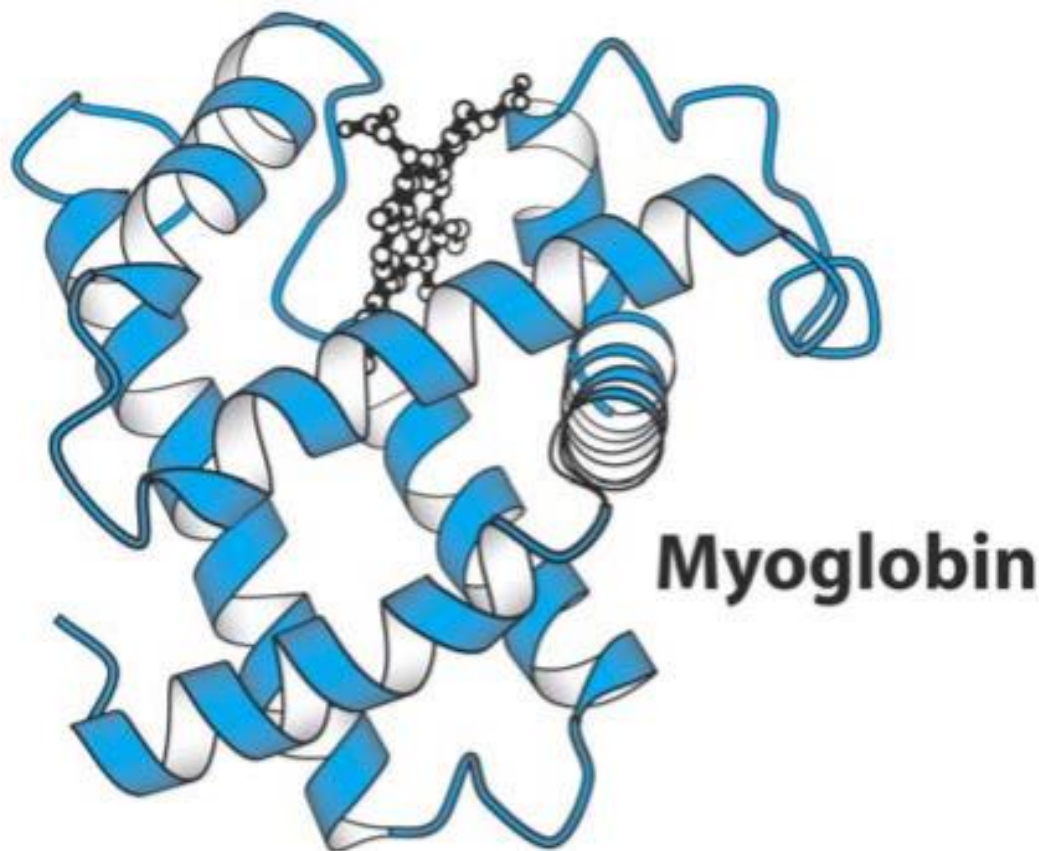


- ✓ *Specijalizovani proteini koji sadrže HEM.*
- ✓ *HEM je kompleks porfirina i fero Fe^{2+} .*
- ✓ *Fe^{2+} jeste oksidaciono i funkcionalno, karakteristično i za hemoglobin i za mioglobin.*
- ✓ *Hemproteini - citohromi, mioglobin, hemoglobin, citohrom P450, katalaza,...*
- ✓ *Hemoglobin i mioglobin su hemproteini zaduženi za transport kiseonika, pigmenti crvene boje, reverzibilno vežu kiseonik različitim afinitetom.*

MIOGLOBIN - rezervoar kiseonika u ćelijama gdje je intenzivan fizički rad.

- *Oslobađa kiseonik pri jako NISKOM pO_2 .*
- *Mioglobin je monomer, lanac od 153 AK, histidin zadužen za vezivanje HEM i globina.*
- *Razlikuje se po funkciji od hemoglobina kroz svoju kvaretnu strukturu.*

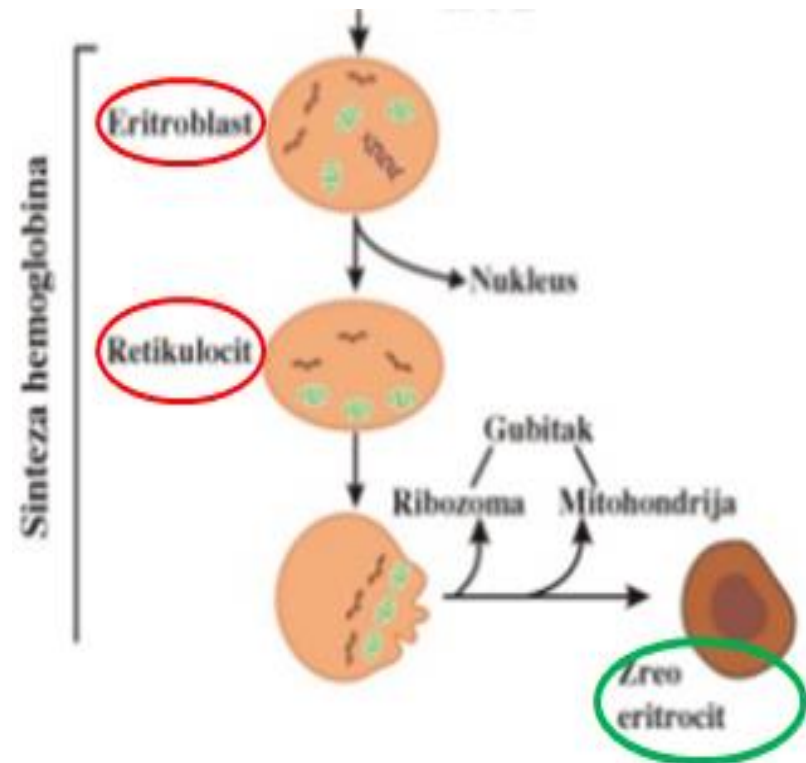
Vežanje kisika za mioglobin



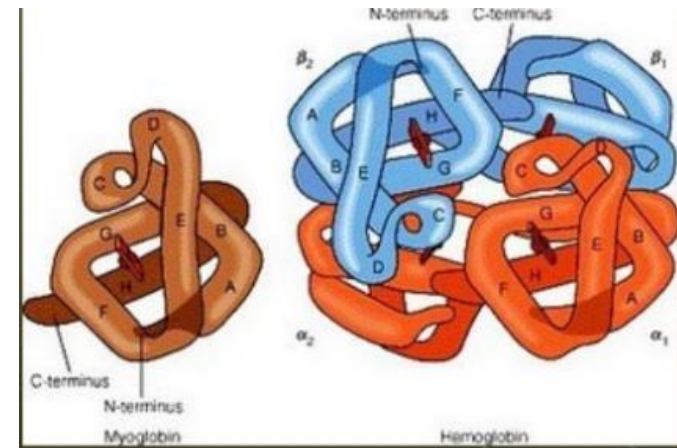
Mioglobin, $M_r = 16\,700$, mali je transportni protein koji veže i transportira kisik u tkiva, tj. omogućava difuziju kisika prvenstveno u mišiće. Pripada u veliku porodicu **globina**. Svi globini imaju vrlo slične primarne i terciarne strukture. Mioglobin ima 8 α zavojnica koje su povezane zavojima. Oko 78% aminokiselina mioglobina su α -zavojnice. Mioglobin ima jednu prostetsku skupinu te veže jednu molekulu kisika.

HEMOGLOBIN

- Predstavlja najvažniji protein u organizmu - uloga u prenosu kiseonika - **OKSIHEMOGLOBIN**.
- Tetramer je - 2 para identičnih polipeptidnih lanaca, a svaki lanac sadrži prostetičnu grupu HEM.
- Funkcionalna razlika u odnosu na mioglobin, jeste njegova uloga u transportu CO₂ od tkiva ka plućima- **DEOKSIHEMOGLOBIN**.



DERIVATI HEMOGLOBINA



KARBOKSIHEMOGLOBIN - spoj CO i Hgb, toksičan za okolna tkiva, ispoljava kompetitivnost sa kiseonikom za mjesto na Hgb, mioglobinu, citohromima.

SULFHEMOGLOBIN - S se vezuje za Hgb (upotreba lijekova sulfonamida); kompleks je ireverzibilan i nestaje tek po završetku životnog vijeka eritrocita. Uzrokuje cijanozu i anoksiju.

METHEMOGLOBIN - kompleks u kome se fero gvožđe prevodi u feri oblik - hipoksija i cijanoza. Fiziološki se neprekidno stvara u organizmu ali se njegova produkcija kontroliše koncentracijom 2,3 DFG. Hiperprodukcija methemoglobina uzrokuje nastanak HEMIHROMA (Heinzova tjelašca).

Promjene položaja Fe^{2+} prilikom vezanja kisika u hemoglobinu

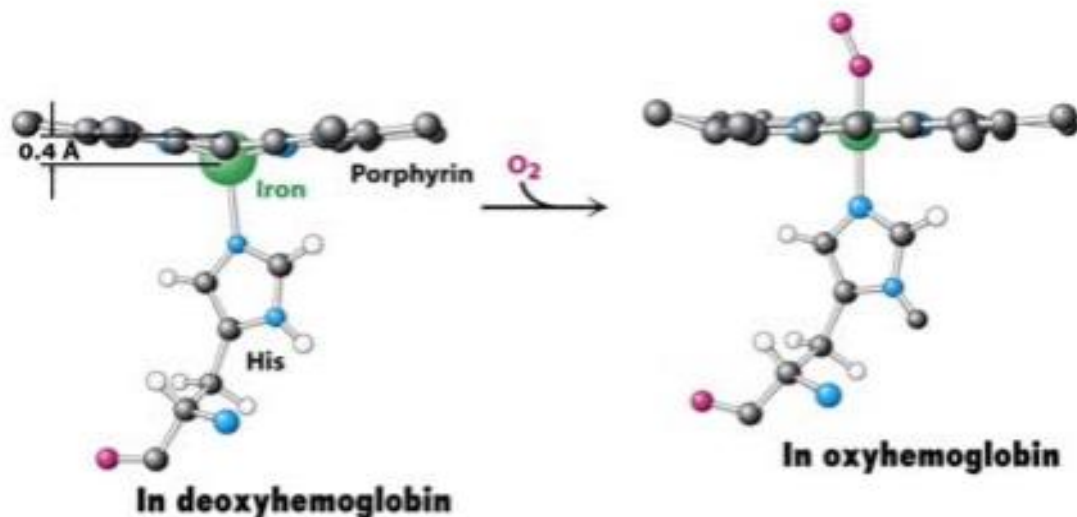


Figure 7-2
Biochemistry, Sixth Edition
© 2008 W. H. Freeman and Company

Kada se kisik veže za željezo porfirinskog prstena hemoglobina, elektronska struktura željeza u hemu se mijenja pa je to razlog da je venska krv koja nema kisika tamo crvena, dok je arterijska krv, koja je bogata kisikom, svjetlo crvena.

Vezanjem kisika mijenja se i konformacija hemoglobina

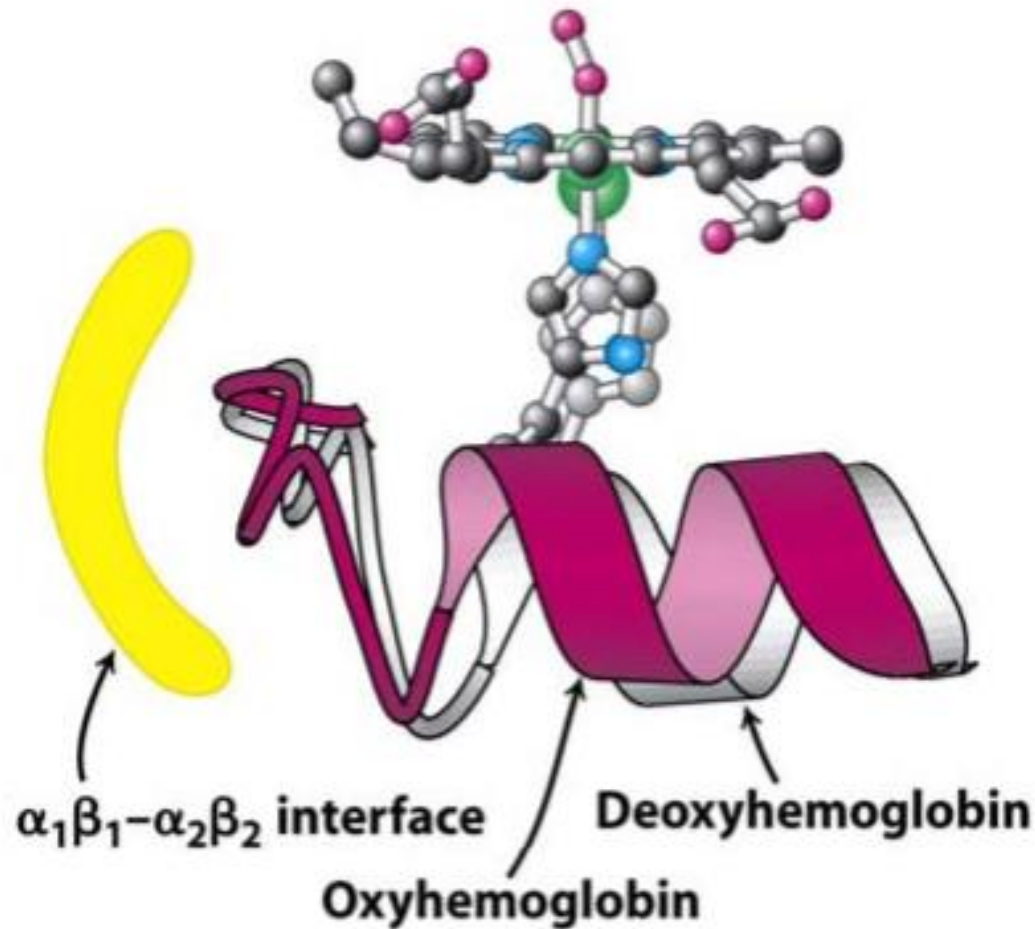
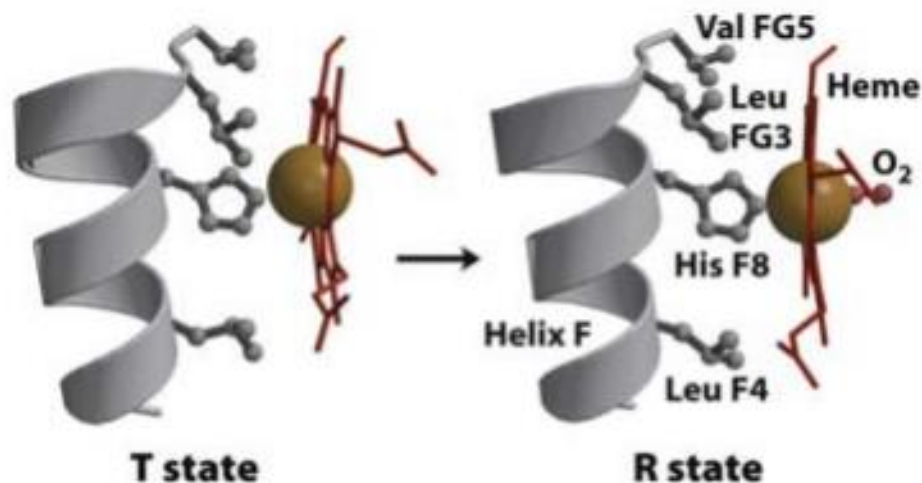


Figure 7-14
Biochemistry, Sixth Edition
© 2006 W. H. Freeman and Company

Kooperativno vezanje kisika za hemoglobin



Vezanje kisika uzrokuje promjene položaja Fe²⁺ obzirom na ravninu porfirinskog prstena hema kao i promjene konformacija bočnih aminokiselinskih ostataka i peptidne okosnice.

Figure 5-11
Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition
© 2008 W. H. Freeman and Company

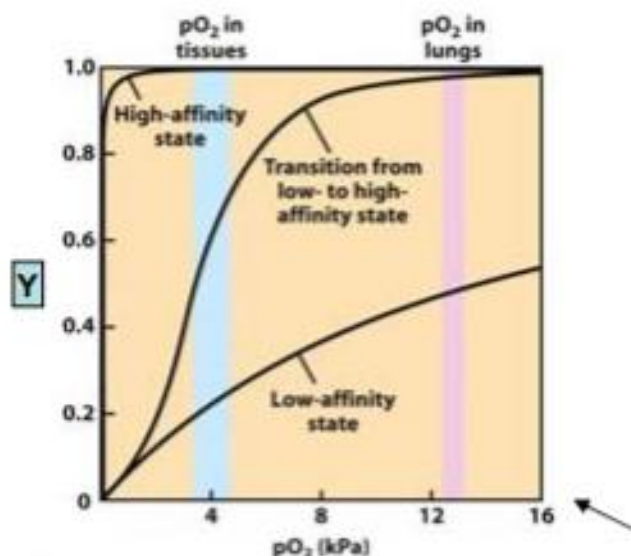


Figure 5-12

Hemoglobin mora efikasno vezati kisik u plućima gdje je pO₂ 13,3 kPa (100 torr), a mora otpustiti kisik u tkivima gdje je pO₂ oko 4 kPa (20 torr).

Hemoglobin prelazi iz stanja gdje veže kisik slabim afinitetom (T stanje) u stanje gdje se kisik veže jakim afinitetom (R stanje). Do promjena stanja dolazi kako se što više kisika veže. Zbog toga je krivulja vezanja kisika na hemoglobin **sigmoidna**, a ne pravokutna hiperbola kao što je to npr. za mioglobin. Vezanjem kisika na jedan lanac mijenja se afinitet za vezanje kisika na drugim lancima (podjedinicama). Sigmoidna krivulja vezivanja prikazuje **kooperativno vezivanje**.

Osim što prenosi kisik, hemoglobin prenosi i H^+ i CO_2

Utjecaj pH na afinitet vezanja kisika. Snižavanjem pH dolazi do lakšeg otpuštanja O_2 s hemoglobina.

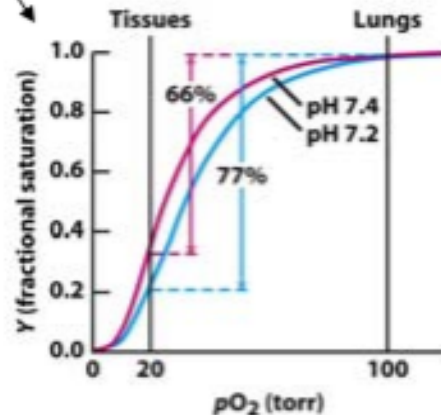


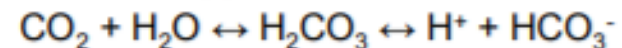
Figure 7-18 Biochemistry, Sixth Edition © 2008 W. H. Freeman and Company

Protoni se vežu na bočne ogranke aminokiselina i time se učvršćuju ionske veze. Ionske veze brojnije su u T stanju.



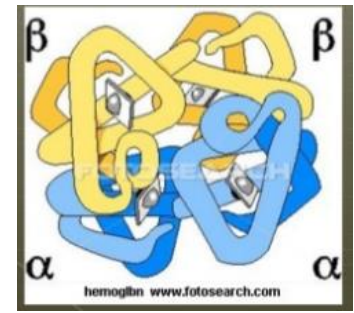
Figure 7-19 Biochemistry, Sixth Edition © 2008 W. H. Freeman and Company

CO_2 koji nastaje oksidacijama u mitohondrijima se hidratizira, a reakciju katalizira ugljikova anhidraza:

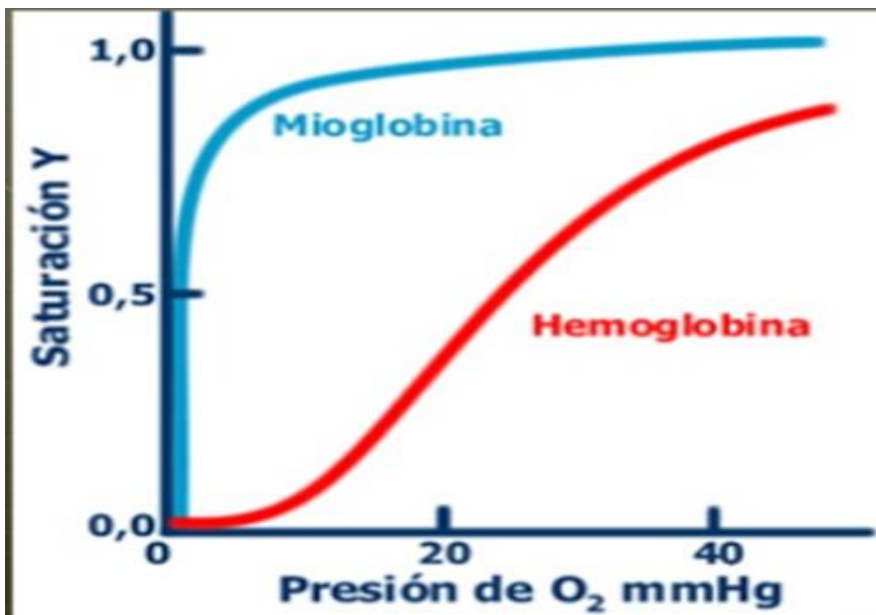


Hemoglobin transportira oko 40% ukupne količine H^+ i oko 15 – 20% CO_2 . Vezanje H^+ obratno je proporcionalno vezanju kisika što se događa kod relativno niskog pH i visoke CO_2 koncentracije kakve su u perifernom tkivu. Afinitet hemoglobina za kisik se smanjuje kako se H^+ i CO_2 vežu za hemoglobin, pa u perifernom tkivu dolazi do otpuštanja O_2 s hemoglobina. Obratno, u plućima gdje dolazi do otpuštanja CO_2 a time i do povećanja pH, kisik se bolje veže na hemoglobin pa se može ponovno transportirati u periferna tkiva. **Efekt pH i koncentracije CO_2 na vezanje kisika nazivamo Bohrovim efektom.**

KRIVA DISOCIJACIJE O₂

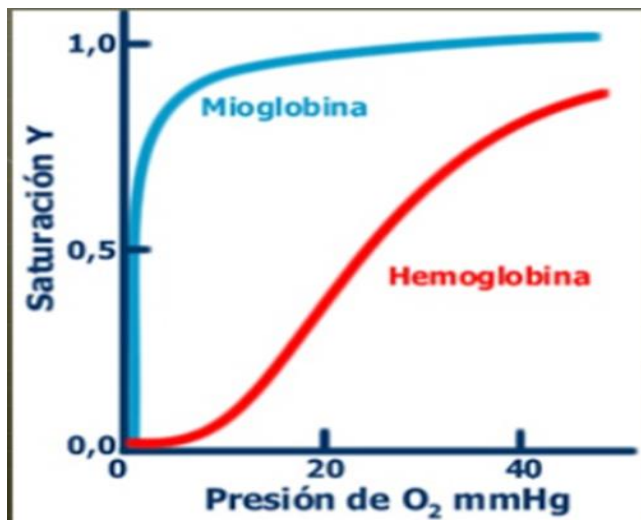


- Molekul hemoglobina za sebe veže 4 molekula O₂, a kriva koja predstavlja stepen zasićenja Hgb ili mioglobina - **KRIVA DISOCIJACIJE**.
- Međusobno se razlikuju za Hgb - **sigmoidna** a za mioglobin - **hiperbola**.
- Alosterni modulatori imaju veliki uticaj na vezivanje O₂ za Hgb - pO₂, pCO₂, pH i koncentracija 2,3 difosfoglicerata.



Borov efekat

- Afinitet hemoglobina za O_2 je osjetljiv na pH - Borov efekat. On se označava kao pomak udesno, na krivi zasićenja u uslovima acidoze.
- Veći afinitet za hemoglobin ima CO - KARBOKSIHEMOGLOBIN (ispoljava toksicne efekte u krvi), i u tim uslovima se sigmoidna kriva Hgb pomjera u hiperbolu (kao kod mioglobina).



Transport CO_2 od perifernih tkiva do pluća

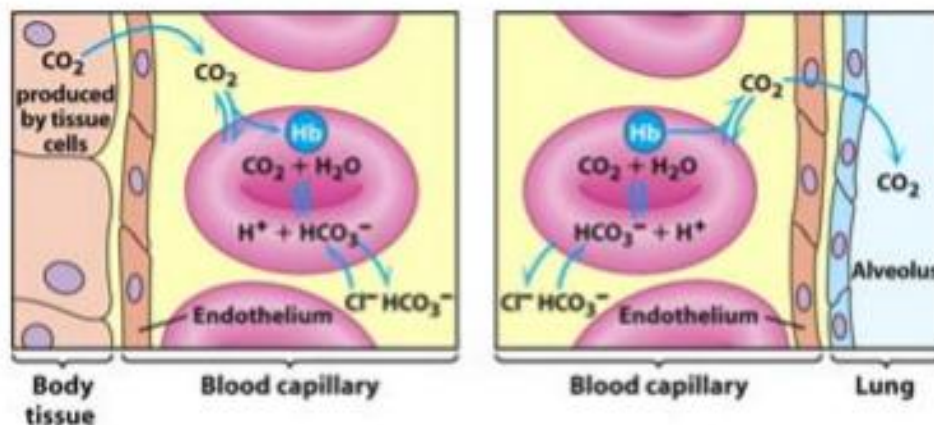
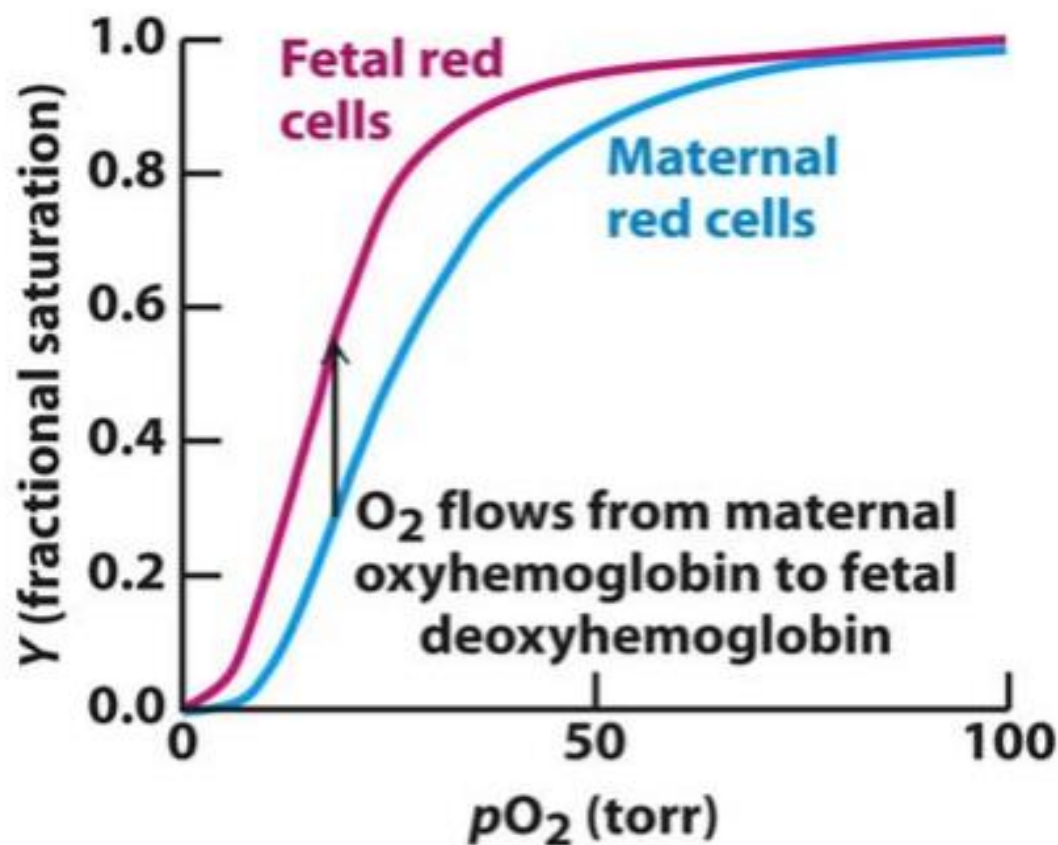


Figure 7-22
Biochemistry, Sixth Edition
© 2006 W. H. Freeman and Company

Većina CO_2 koji otpuštaju eritrociti transportira se do pluća kao HCO_3^- . Najveći dio HCO_3^- koji nastaje u eritrocitima iz eritrocita izbacuju stanični transporteri (pumpe) koji iz stanica "izbacuju" HCO_3^- , a u eritrocite "ubacuju" Cl^- . Ovim procesom dolazi do povećanja koncentracije HCO_3^- u serumu, pa se na ovaj način većina CO_2 iz perifernih tkiva transportira do pluća. U plućima, obratan je proces: HCO_3^- prelazi u CO_2 i CO_2 se izdiše.

Hidratacija CO_2 u perifernim tkivima doprinosi da se snižava pH u eritrocitima što pogoduje oslobađanju kisika s hemoglobina u tim tkivima, a ujedno pretvorba CO_2 u ugljičnu kiselinu omogućava da se najveći dio CO_2 prenosi do pluća.

Fetalni hemoglobin ima veći afinitet za kisik nego majčin hemoglobin



Fetalni hemoglobin slabije veže 2,3-bisfosfoglicerat, pa je afinitet vezanja kisika fetalnog hemoglobina veći nego što je to za majčin hemoglobin

HbA0($\alpha 2 \beta 2$)
90 %

HbA2($\alpha 2 \delta 2$)

HbF($\alpha 2 \gamma 2$)

HbA1

HbA1c

Stvara se spontano, ne enzimskim djelovanjem, kontinuirano u toku života.

- Njegova referentna zastupljenost je od **5-8.5 %**.
- U hemolitičkoj anemiji, koncentracija je **snížena**.
- **Klinički značaj** - u postavljanju dijagnoze i praćenju terapijskog efekta liječenja DM.

HEMOGLOBINOPATIJE

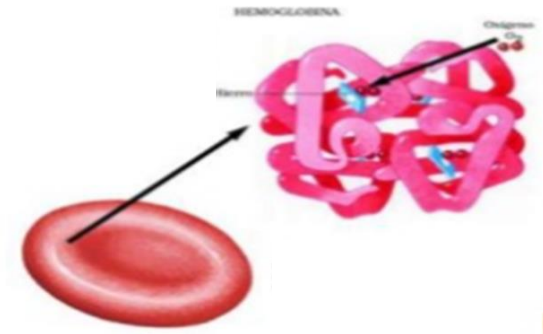


Oboljenja uzrokovana - **a) produkcijom abnormalnih struktura Hgb**
b) smanjenom sintezom Hgb
c) kombinacijom prethodna dva.

Strukturne promjene Hgb dovode do ispoljavanja sledećih klinič. simptoma:

- hemolitičke anemije
- cijanoze
- eritrocitoze
- hipohromne anemije

ANEMIJA SRPASTIH ĆELIJA



Genetsko oboljenje, gdje se deoksigenacijom uzrokuje polimerizacija globina - **SRPASTI ERITROCITI**.

Simptomi bolesti: hipoksija, mikrocitna okluzija, cijanoza, sklonost infekcijama, anemija.

Postoji nekoliko podtipova anemija - HgbSS, HgbSC,...

Osobe sa ovim genskim defektom NE MOGU da obole od malarije!!!!

Mutacija u genu hemoglobina uzrokuje srpastu anemiju



Figure 1-22
Microscopic view of red blood cells.
© 2009 W. H. Freeman and Company

Srpasta anemija javlja se kad pojedinci nasljeđuju alele za srpasti hemoglobin od oba roditelja, tj. obje alele za β -podjedinicu hemoglobina su mutirane. Kad se srpasti hemoglobin (hemoglobin S) deoksigenira, on postaje netopljiv, za razliku od normalnog hemoglobina A.

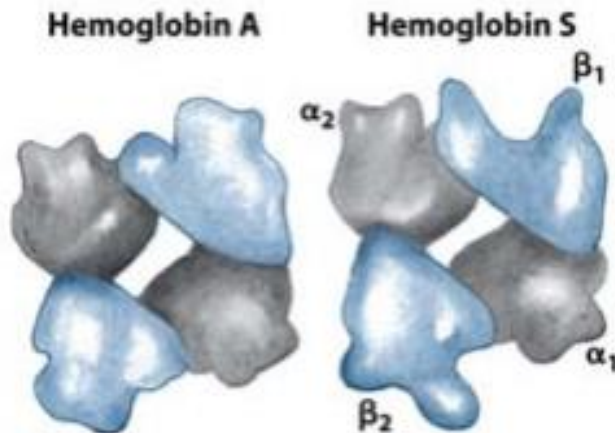
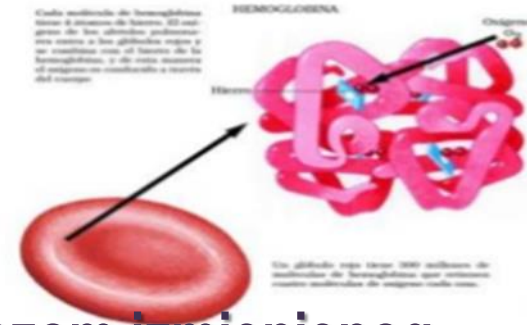


Figure 1-23a
Comparison of Hemoglobin A and Hemoglobin S.
© 2009 W. H. Freeman and Company

Srpasti hemoglobin nastaje zbog ugradnje aminokiseline **Val** umjesto **Glu** na poziciji 6 β podjedinice hemoglobina. Ugradnja ove hidrofobne aminokiseline razlog je da dolazi do promjene konformacija β podjedinica.

TALASEMIJE

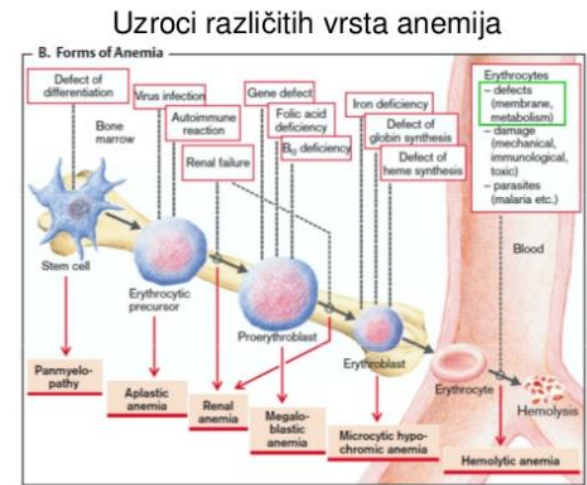


Naslijedne **hemolitičke bolesti**, karakterisane sa sintezom izmjenjenog **globinskog lanca**, ispoljavaju se kao **homozigotne** ili **heterozigotne**.

Prvi put detektovane u oblasti Mediterana i to kao ***alfa i beta talasemije***. Eritrociti osoba, sa nekom od naslednih talasemija su osjetljivi na oksidativne procese i oštećenja uzrokovana sintetisanim ROS, koji dovode do niza ***MORFOLOŠKIH i FUNKCIONALNIH PROMJENA*** eritrocita koji vode ka:

- anemiji
- cijanozi
- hemosiderozi
- hiperbilirubinemiji
- hemihromatozi
- trombocitopeniji
- leukocitopeniji

NASLIJEDNO PRISUSTNO POVEĆANI FETALNI HEMOGLOBIN



Nasljedno, benigno stanje, koje karakteriše *kotinuiranu sintezu HgbF*.

Spada u *δ-β talasemiju*.

Ispoljava se kao homozigotna i heterozigotna bolest.

Zastupljena u različitim oblastima svijeta - Afrika, Azija, Grčka,...

Simptomi: *eritrocitoza, mikrocitoza i retikulocitoza*.

