

Structure et Fonction de l'Hémoglobine

/ Structure

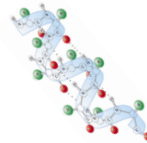
1) Description : les partenaires et leurs associations à l'O₂

MYOGLOBINE



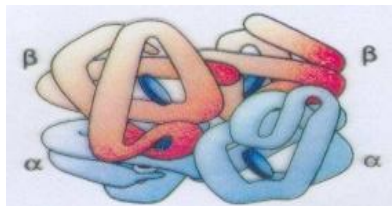
- Protéine
- **Enroulement spécifique** de la séquence primaire : plusieurs **coudes** séparant les **structures hélicoïdales** (hélices α)

Rappel : Dans l'hélice α les chaînes latérales des AA sont tournées **vers l'extérieur** et sont capables d'**interagir** avec le milieu **extérieur** et **intérieur**

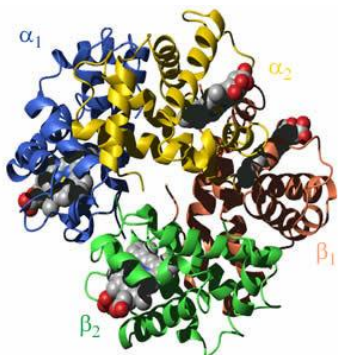


- Au centre : **groupement hémique** = site de fixation de l'O₂

HEMOGLOBINE (HbA)



- Constituée de **4 Myoglobines** donc elle possède **4 groupements hémiques** :
 - 2 myoglobines α
 - 2 myoglobines β
- Ce qui fait **2 sous-unités α - β**



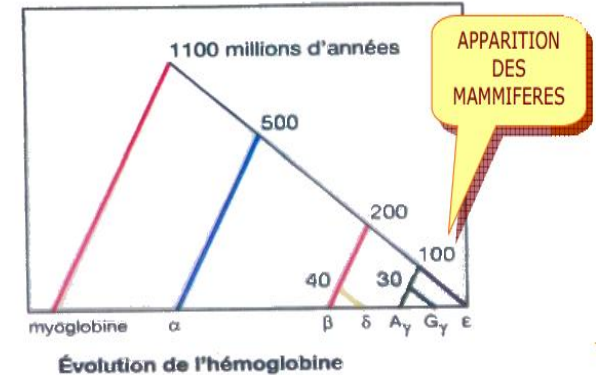
La structure terminale de l'hémoglobine :

- **En superficie** = partie **protectrice** qui prend le risque d'être **mutée** ou de subir des **agressions**
- **Au centre** = une **poche** aux interactions hydrophobes mais suffisamment hydrophile pour que l'O₂ vienne s'y glisser

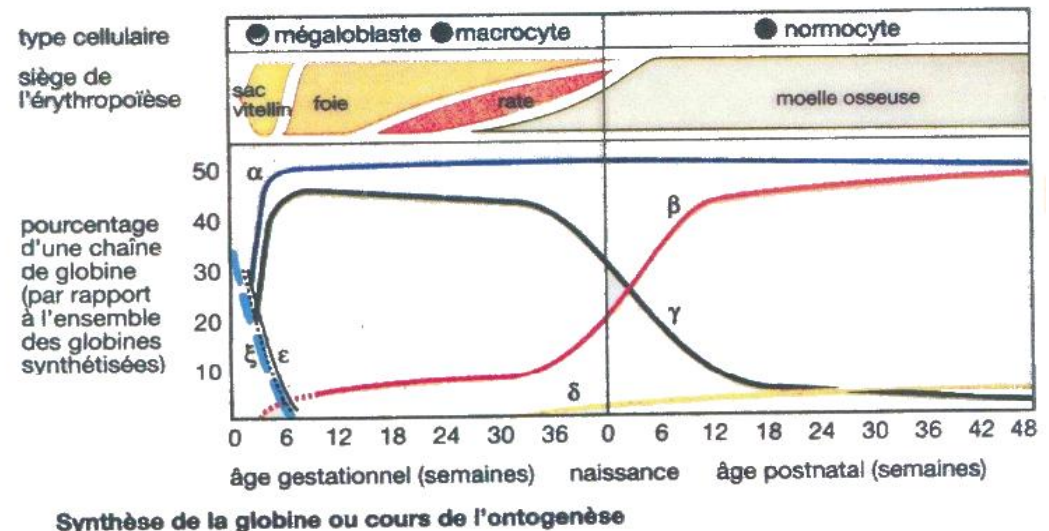
2) Evolution ancestrale de l'Hb

Il y a (en millions d'années) :

- **1100** : Apparition de la **myoglobine**
- **500** : Apparition la **sous-unité α** de la myoglobine
- **200** : Apparition de la **sous-unité β**
- **100** : Apparition des **mammifères** et de la **sous-unité $A\gamma$**
- **40** : Apparition de la **sous-unité δ** , une variante de β
- **30** : Apparition de la **γG** qui dérive de γA
- En dernier : Apparition de la **s-u ϵ**



3) Evolution de l'Hb au cours de l'ontogenèse



Les différentes sous-unités en fonction du type de globine (la Famille) : Chaque sous-unité est représentée par **un gène** de la famille

Famille Globine de type α	Famille Globine de type β
<ul style="list-style-type: none"> ❖ ξ (ξ) 35% au départ ↓ jusqu'à 6 semaines d'âge gestationnel (SAG) ❖ α ↑ quand ξ commence à ↓ Atteint un plateau à 6 SAG 	<ul style="list-style-type: none"> ❖ γ ↑ à partir de 3 SAG Phase de plateau ↓ 36 SAG Mais perdue chez l'adulte ❖ ϵ ↓ dès le départ en parallèle de ξ ❖ δ ↑ au bout de 36 SAG Perdue chez l'adulte ❖ β

Le siège de l'érythropoïèse au cours de l'ontogenèse

❖ **Avant la Naissance**

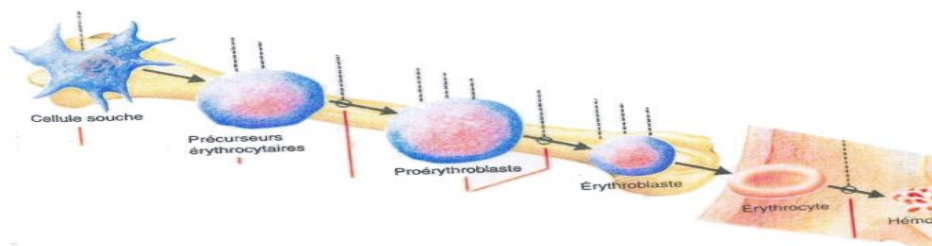
- 1- **Sac Vitellin**
- 2- **Foie et Rate** -Types cellulaires associés : **mégalo blastes / macrocytes**

❖ **Après la Naissance**

Moelle Osseuse – Types cellulaires associés : **normocytes**

Localisation tissulaire et cellulaire de la synthèse de l'hémoglobine

La synthèse d'érythrocyte compense leurs dégradations = **turn-over**



A partir du stade d'**ERYTHROBLASTE** il y a : Synthèse de **globine** / Synthèse de l'**hème** / Intégration de Fer

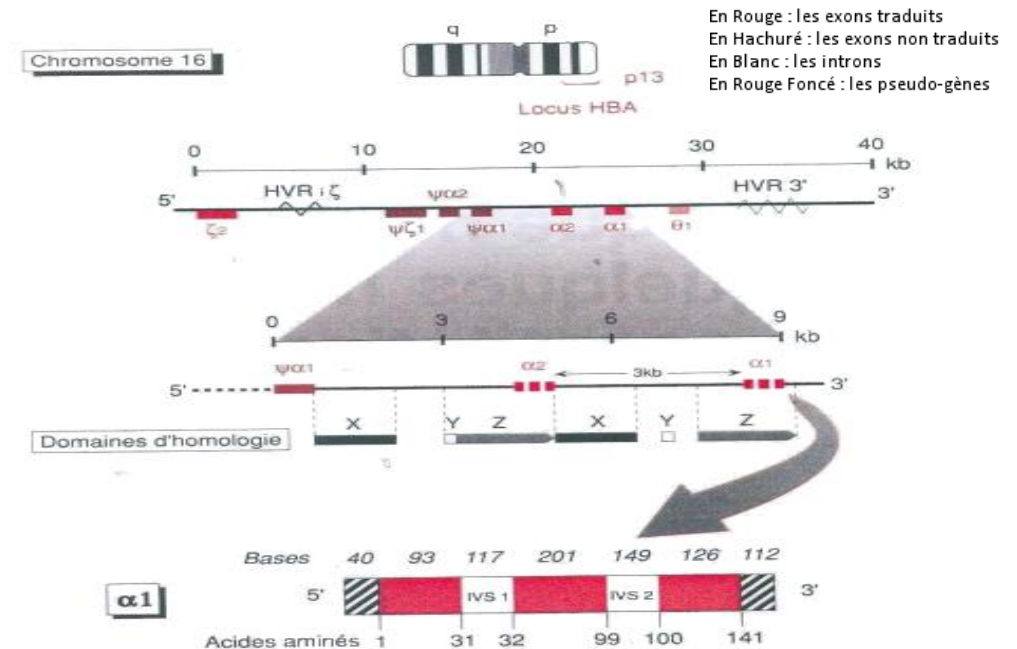
II/ Gènes des protéines

1) Localisation des familles de gènes au niveau des chromosomes, leur description et leur épissage

a) Famille des gènes de l' α -globine humaine

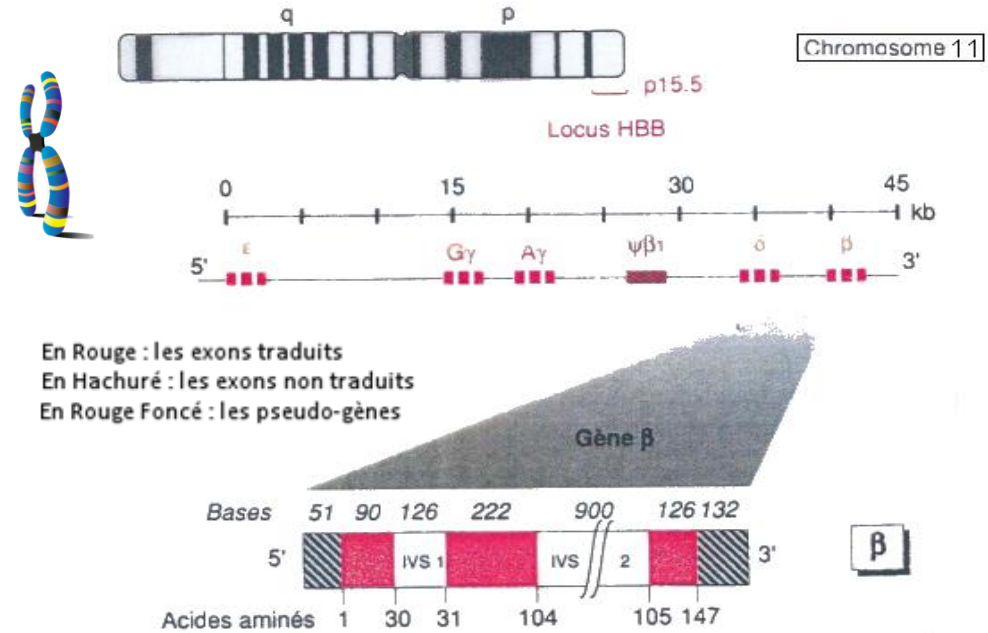
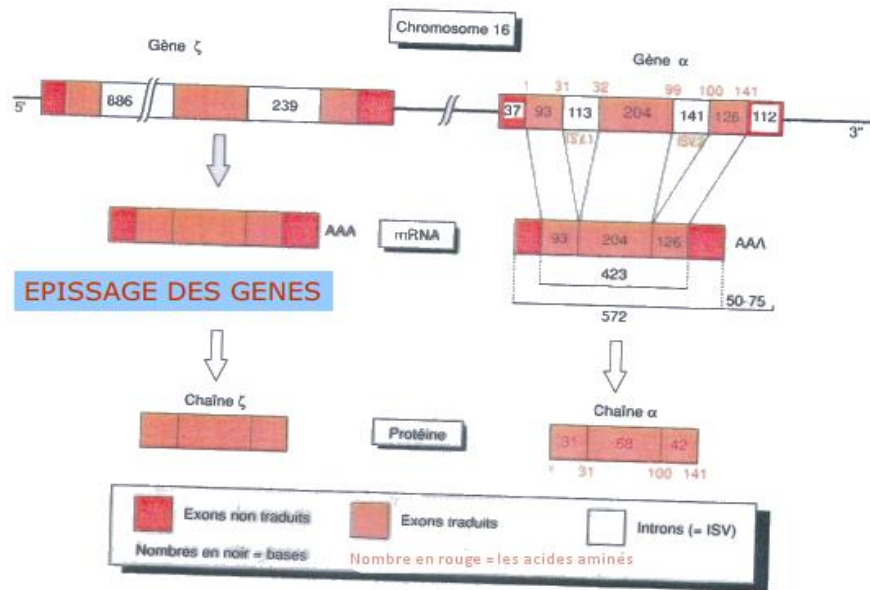
Chromosome	16
Locus	HBA
Bras	p13
Gènes	$\alpha 1$ $\alpha 2$ ζ

Seuls $\alpha 1$ et $\alpha 2$ sont importants, les autres cessent de fonctionner au début de la gestation



Pour **tous les gènes** de l' α -globine :

- La séquence d'intérêt du gène regroupe **3 exons** séparés par **2 séquences intermédiaires (IV1 et IV2)** éliminées par l'**épissage**
- Formation de l'ARNm mature qui sera traduit en **$\alpha 1$ -globine** ou **$\alpha 2$ -globine** chez l'adulte



En Rouge : les exons traduits
En Hachuré : les exons non traduits
En Rouge Foncé : les pseudo-gènes

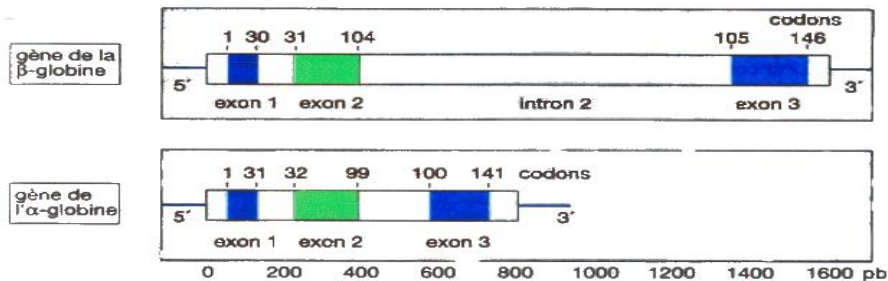
b) Famille des gènes de la β-globine humaine

Chromosome	11
Locus	HBB
Bras	p15.5
Gènes	ε Gγ Aγ ψβ δ β

ψβ = pseudo-gène β
β = gène β propre

- Comme le pré-ARNm du gène α, le pré-ARNm du gène β a une structure en 3 parties de la séquence utile responsable après épissage de l'ARNm mature qui sortira du noyau pour se faire traduire en β-globine.
- A l'inverse du gène α (α1 et α2), le gène β est seul → Importance dans certaine pathologie

On a un troisième gène de la myoglobine sur le **chromosome 22** qui a aussi cette même structuration en 3 parties (exons).

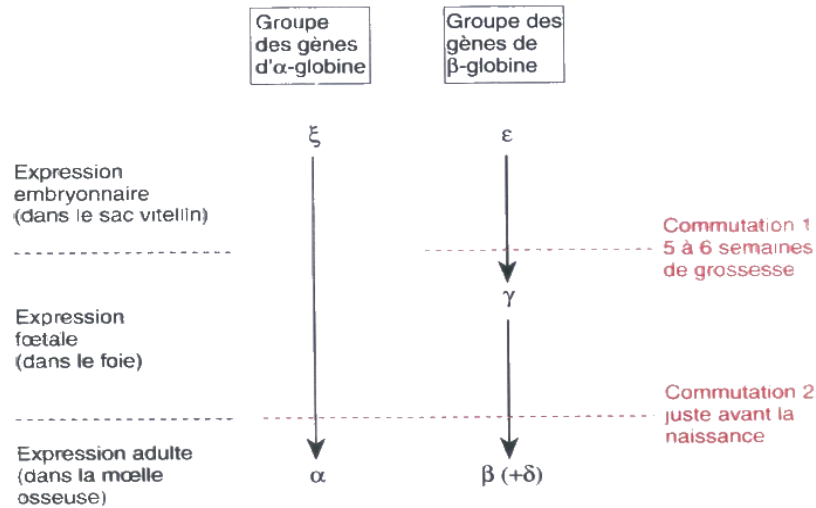


3) Régulation

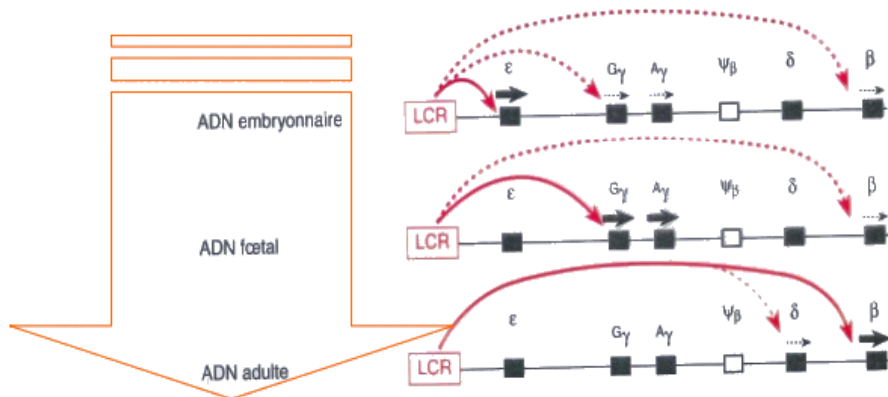
La commutation = changement de fonction des gènes (ils passent de l'état **activé** à l'état **inactivé**)

Famille α : Une seule commutation : après la naissance ξ → α

Famille β : 2 commutations : 5 à 6 semaines de gestation ε → γ
Après la naissance γ → β (+δ)



Ces gènes sont régulés par les **LCR** (*Locus control region*) = **promoteur** en amont des gènes de la famille α ou β.



Flèche Rouge pleine = effet activateur puissant de la LCR
Flèche en pointillé = effet activateur faible

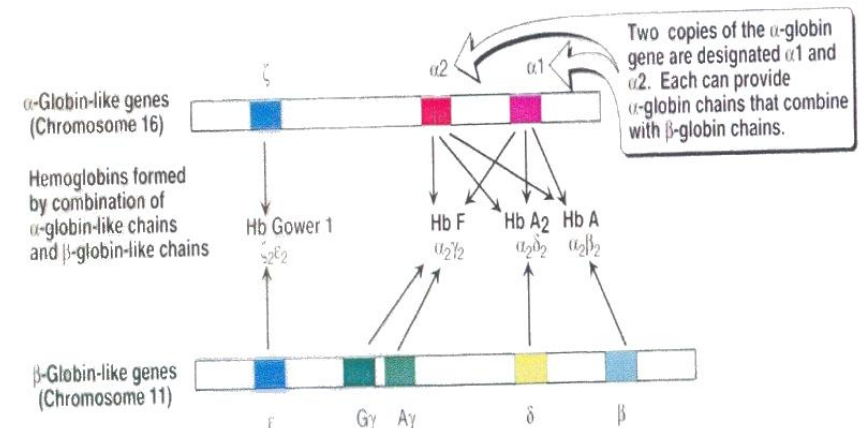
L'expression des gènes au sein de l'érythrocyte dépend :

Du tissu	Sac vitellin – Rate – Foie – Moelle Osseuse
Du temps	Le temps permet la commutation des gènes en fonction de leur activation par les LCR
De la méthylation	Des doublets CG à proximité des gènes de globine
De certaines substances	EPO, hydroxyurée, 5-azacytidine

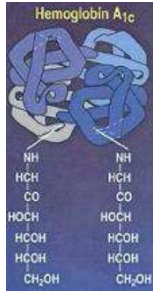
Aspect thérapeutique

Pharmacologiquement, il est possible de faire une « **réversion de ces commutations switch** » et ainsi guérir toute maladie qui serait la conséquence d'une globine défectueuse en activant le gène d'une sous-unité normalement inactive d'une même famille.

Exemple : β Thalassémie = déficience du gène de la su β → Activation de la su γ (de la famille β). On obtient une Hb avec **2 su α** et **2 su γ**. **Acide butyrique** est un exemple de médicament.



III/ Les différents types d'Hb chez un adulte normal



Forme	Composition de la chaîne	Fraction de l'Hb totale
Hb A	$\alpha 2-\beta 2$	90 %
Hb A2	$\alpha 2-\delta 2$	2 à 5 %
Hb F (Hb fœtale)	$\alpha 2-\gamma 2$	< 2%
Hb A1c (Hb glycosylée)	$\alpha 2-\beta 2$ -glucose	3 à 9%

Remarques

- Ici Toutes les s.u. α sont **identiques**
- Il existe de l'**Hb fœtale** chez l'adulte
- **Hb A1c** = Hb A avec un groupement glucose en Nter de la globine = marqueur de **dépistage du diabète (Hb A1c > 9%)** et de **surveillance** (prise de sang à renouveler tous les 3 mois car l'Hb contenue dans les GR vit 120 j)



Autres globines

Elles transportent aussi l'**oxygène** et ressemblent beaucoup à la myoglobine (1 seule s.u.) :

- ❖ **Neuroglobine** : dans les **neurones** et les **cellules β -pancréatiques**
- ❖ **Cytoglobine** : **Ubiquitaire**



Ces globines cèdent leur O_2 en cas d'**hypoxie importante**.

Par exemple : le K_m de l' O_2 de la neuroglobine < K_m de l' O_2 de l'Hb. Donc l' O_2 cède plus difficilement de la neuroglobine que de l'Hb.

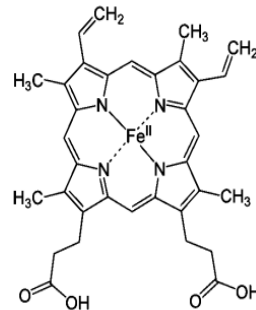
IV/ Métabolisme de l'Hème

1) Synthèse

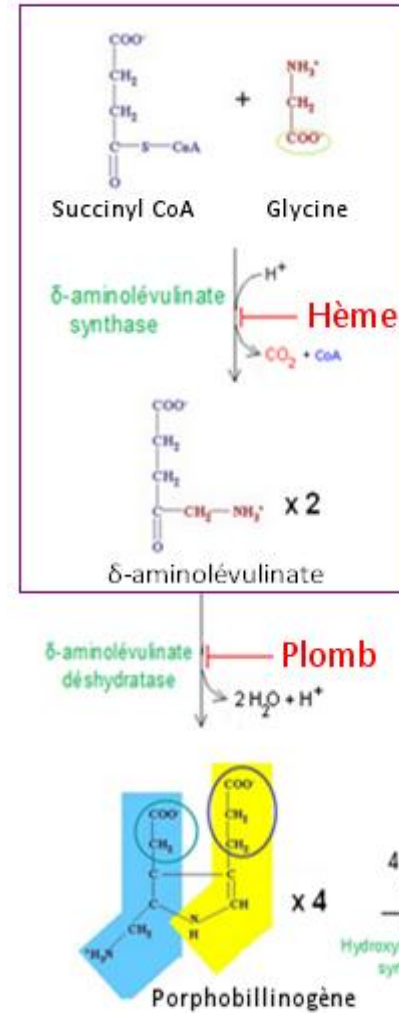
L'hème est composé :

Au centre d'un noyau de fer ferreux (Fe^{2+}) lié à une **porphyrine** (noyau tétrapyrrolique) par des azotes. Des groupements carboxyles au bout de deux chaînes saturées de carbones se rattachent à la porphyrine.

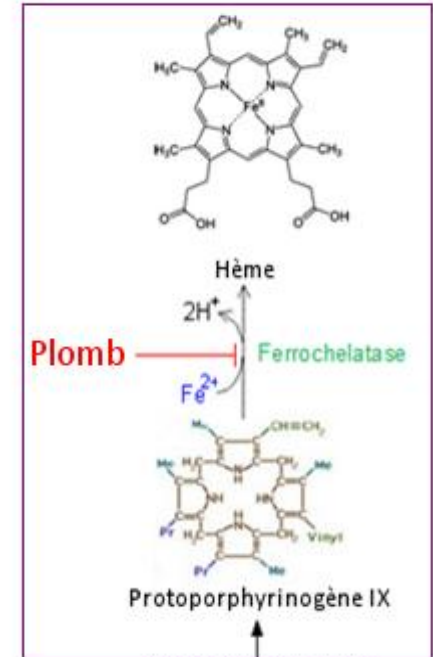
Pathologie : Une mauvaise oxydation du Fer (Fe^{2+} (ferreux) \rightarrow Fe^{3+} (ferrique)) entraîne un **inconvenient respiratoire**.



Sa Synthèse



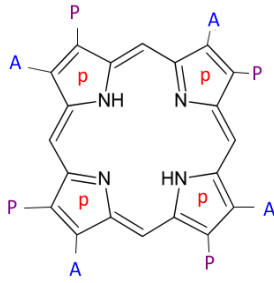
Mitochondrie



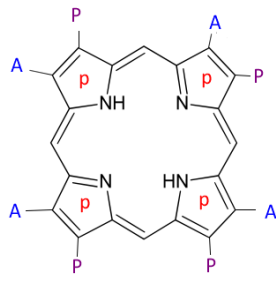
Remarque :

- ❖ On part de 2 molécules du cycle de Krebs : la **glycine** et l'**acide succinique**
- ❖ $\delta\text{-aminolévulinate synthase}$ est rétroinhibée par le **groupement hémique final**
- ❖ Le **Plomb** (exemple : suite à une intoxication au plomb) :
 - Inhibe la $\delta\text{-aminolévulinate déshydratase}$
 - Trouble la fixation du Fe^{2+} sur la **Protoporphyrinogène IX**

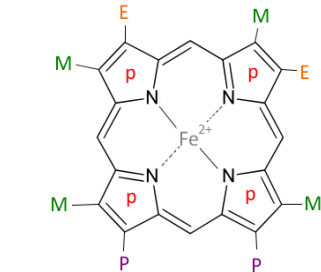
UE TSSI



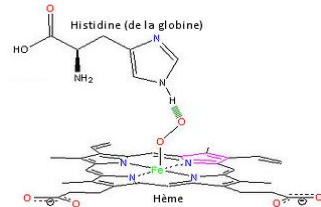
Uroporphyrine I



Uroporphyrine III



Hème



p = pyrrole

Chaîne latérale

P = Propionate (-CH₂-CH₂-COOH)

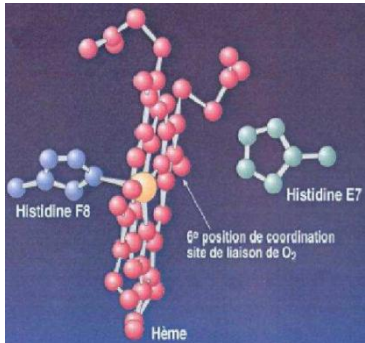
A = Acétate (-CH₂-COOH)

M = Méthyle (-CH₃)

E = Ethylène (-CH=CH₂)

Uroporphyrine I = Structure avec un centre de symétrie

Uroporphyrine III = Structure physiologiquement importante chez l'Homme



Hème =

- ❖ Structure **hydrophobe** (à cause des insaturations E), **sauf** au niveau des **2 Histidines**
- ❖ Les Chaînes carboxyliques (P) seront tournées vers l'**extérieur**
- ❖ 2 Histidines de la globine sont liées au Fe²⁺ :
 - **Histidine F8** (interaction **forte** avec le Fer)
 - **Histidine E7** (interaction **faible** avec le Fer)

O₂ se fixe en biais sur le Fe²⁺

Les substances que l'on retrouve dans les selles ou l'urine lors des analyses

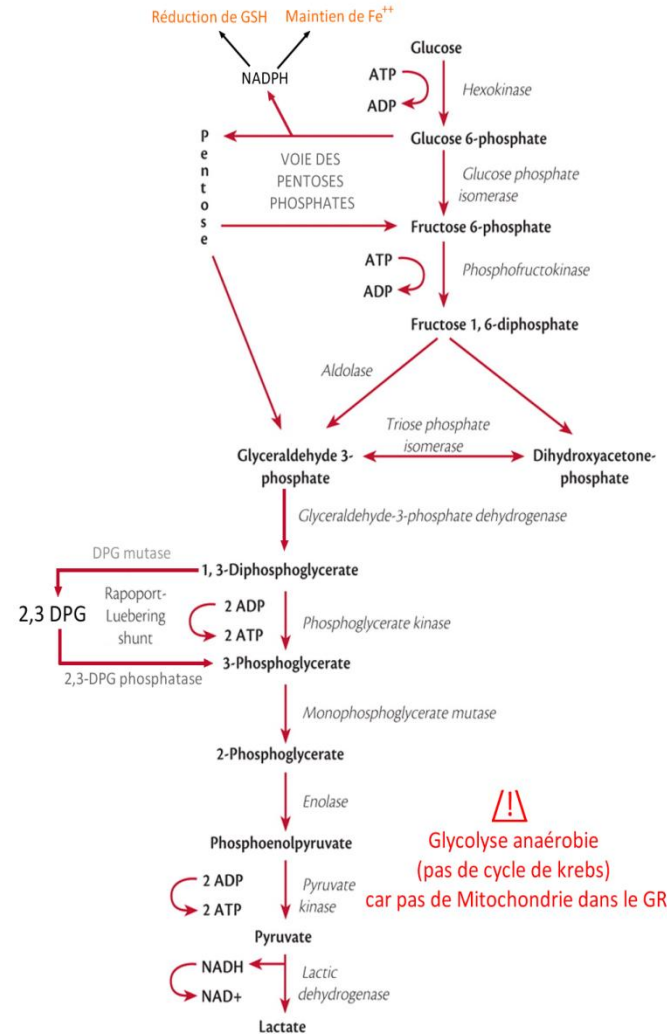
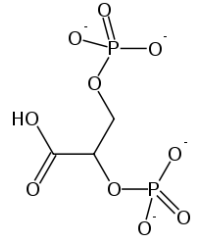
Urines	δ-aminolévulinate	Uroporphyrinogène III
	Porphobilinogène (PBG)	Coproporphyrinogène III
	Hydroxyméthylbilane → Uroporphyrinogène I	
Selles	Coproporphyrinogène III	
	Protoporphyrinogène	
	Protoporphyrine	

Ces traces (marqueurs de la synthèse de l'hème) sont utiles pour les cliniciens

Biochimie

2,3 BPG (2,3-Biphosphoglycérate) OU 2,3 DPG (2,3-Diphosphoglycérate)

- ❖ C'est un **Sucre**, un **glycérate**
- ❖ En **C1** : **-ate** car c'est un aldéhyde (*Selon le prof, pour moi c'est plutôt parce que c'est un groupement carboxylate -COO⁻*)
- ❖ En **C2** et **C3** = groupement **phosphate**
- ❖ C'est un **Cofacteur** du mécanisme de fixation de l'O₂ : il permet une meilleure fixation de l'oxygène



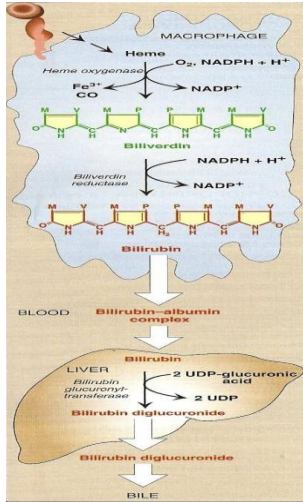
- ❖ Glycolyse du GR comporte **2 shunts** :

- **Voie des PP** = création de **NADPH** qui permet :
 - Le maintien du fer ferreux de l'hème
 - la réduction du Glutathion (GS-SG)
- Shunt de **Rapoport-Luebering** = formation du **2,3 DPG**

Synthèse des groupements porphyrines (tétrapyrroles)

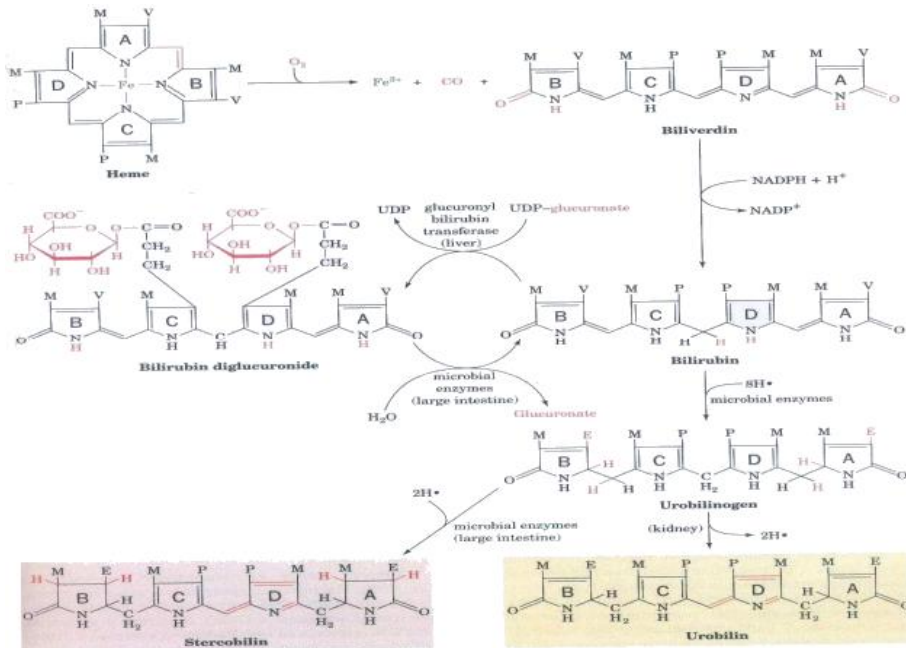
Les précurseurs sont les **Acides-Aminés nutritifs** + les **Acides Aminés du métabolisme**

2) Dégradation (Catabolisme)



L'hème, structure **hydrophobe**, est :

- 1) Transformé en **bilirubine** dans le macrophage
- 2) Circule liée à l'albumine dans le sang jusqu'au **foie**
- 3) Elle entre dans les hépatocytes pour être **conjuguée à 2 sucres** (acide glucuronique) au niveau de ses **groupements propioniques** et rendre la structure plus **hydrophile**
Pour éliminer un composé hydrophobe, l'organisme doit le rendre hydrophile en l'**hydroxylant** ou en le **glycosylant**.
- 4) L'Urobiline peut être transformée en **urobilinogène** (reins) ou en **stercobiline** (intestins)



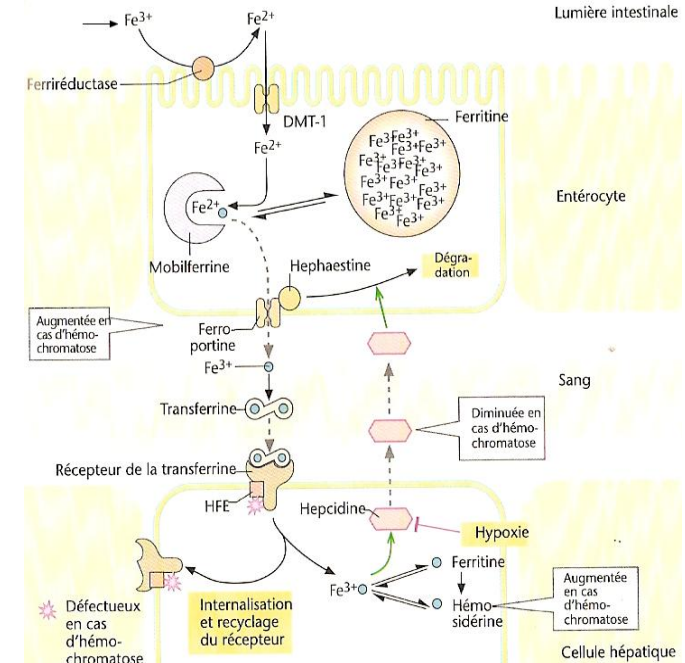
V/ Le Fer

1) Absorption

Le Fer provient de la **nourriture** 3 à 15 % du fer du bol alimentaire est absorbé (essentiellement de la viande) :



- Peut-être sous forme Fe^{2+} (contenu dans l'hème de la viande) ou Fe^{3+} (Le Fe^{3+} sera réduit en Fe^{2+} par la feroreductase)
- Le Fe^{2+} est absorbé par DMT-1, il peut :
 - Se fixer à la **ferritine** sous forme de Fe^{3+} (pour être stocké)
 - Rejoindre la circulation sanguine et se lier à la **transferrine** (sous forme Fe^{3+}) pour être transporté



Il peut être récupéré aussi par **recyclage** de l'Hb phagocytée par le macrophage.

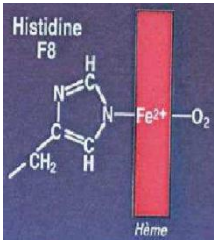
2) Transport / Mise en réserve

Il est transporté par la transferrine :

- ❖ **Au foie** : Pour être stocké sous forme de **ferritine** ou d'**hémosidérine**
- ❖ **A la moelle osseuse** : lieu de synthèse des **GR**

VI/ Fonctions de l'Hb

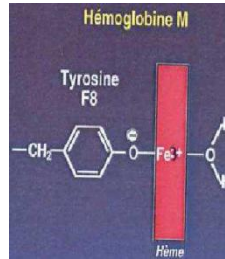
1) Cinétique et Structure



Hème constitue un Plan où :

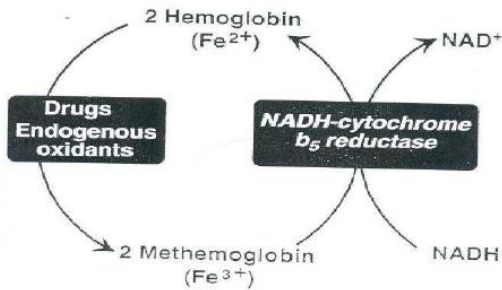
- L'**histidine F8** se fixe en perpendiculaire à gauche de Fe^{2+}
- L'**oxygène** se fixe en perpendiculaire à droite de Fe^{2+}

Il peut y avoir **mutation** de la séquence de la globine et avoir une **Tyrosine F8** à la place d'une Histidine F8 (c'est l'Hb M). HbM fixe de l' H_2O au lieu de l'**oxygène** avec au centre un Fe^{3+} .



Etat d'oxydation du Fer

L'état d'oxydation du Fe^{2+} **n'est pas constant** et peu s'oxyder en Fe^{3+} (c'est embêtant !!) et ça devient **une méthémoglobine**.



L'organisme fait appel à une enzyme : **NADH-cytochrome-b₅-réductase** pour réduire la méthémoglobine en Hb grâce à son cofacteur **NADH**.

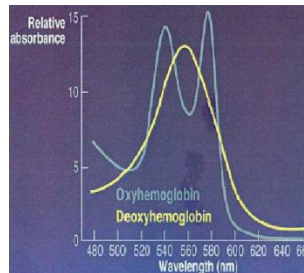
Empoisonnement au Cyanure

Le **Cyanure** a une forte affinité pour la **méthémoglobine**.

Donc en cas d'intoxication on peut oxyder le Fe^{2+} en Fe^{3+} grâce à l'**amyl-nitrite** pour limiter l'action du CN en formant le complexe [**CN-Méthémoglobine**].

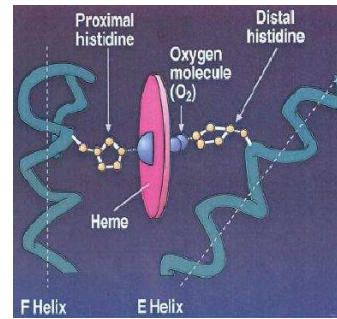
Absorbance de l'Hb dépend de son état d'oxygénation

- ❖ **Hb hyperoxygénée** présente 2 pics d'absorption : **540 et 580 nm**
- ❖ **Hb désoxygénée** présente un seul pic d'absorption à **560 nm**

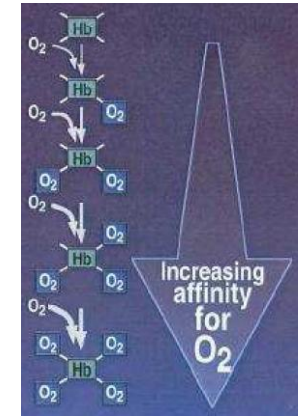


En pratique on se place à 560 nm pour mesurer la densité de l'Hb désoxygénée

Fixation de l'oxygène à l'Hb



On note le rôle majeur des **2 histidines** dans la fixation de l' O_2



Régulation de la fixation de l'O₂

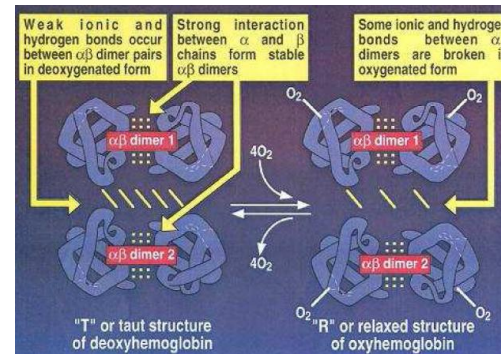
L'affinité de l' O_2 sur l'hème augmente au fur et à mesure que l'Hb fixe de l'oxygène = **Coopération allostérique**.

(Exemple : une Hb qui a 3 hèmes déjà oxygénés aura une plus grande affinité pour l'oxygène qu'une Hb avec 1 seul hème oxygéné)

L'Hb se divise en 2 dimères α - β avec 2 types d'interactions :

- Interaction entre sous-unités α et β d'un même dimère = **liaison forte**
- Interaction entre les 2 dimères α - β = **liaison faibles** (liaisons ioniques et hydrogènes)

Au cours de son oxygénation la force des interactions **entre dimères** diminue.



T = Forme de l'Hb désoxygénée

R = Forme de l'Hb oxygénée

Pathologies sont dues à la présence ou à l'absence de cofacteurs favorisant l'une ou l'autre des formes (T ou R)

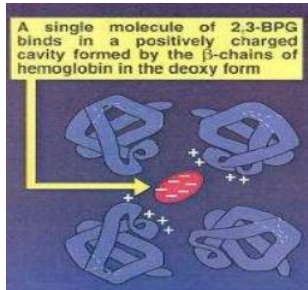
UE TSSI

Myoglobine VS Hb

- ❖ La Myoglobine a **une plus grande affinité pour l'O₂** que l'Hb
Car d'après le graphique (Taux de Myoglobine ou d'Hb oxygénée en fonction de la pression partielle en O₂), on remarque que la myoglobine sature plus rapidement que l'Hb.

Ceci s'explique par le mode de régulation de l'Hb (protéine tétramère) face à la myoglobine (protéine monomère). On retrouve l'analogie entre la cinétique des enzymes allostériques et des enzymes michaeliennes.

Donc le Log (Hb oxygénée / Hb non oxygénée) en fonction de la pO₂ a une pente + importante que le Log (Myoglobine oxygénée / Myoglobine non oxygénée).



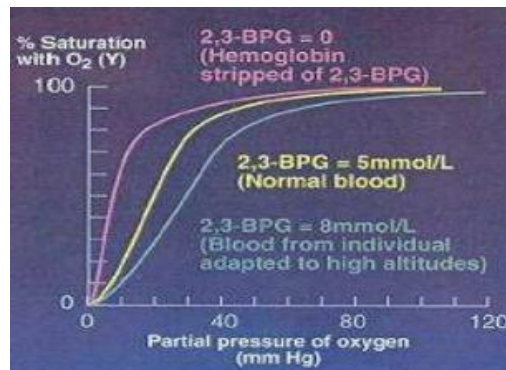
Le rôle du 2,3 BPG dans la cinétique de fixation de l'O₂ à l'hème

La molécule de 2,3 BPG se positionne au centre des s.u. de l'Hb :

- Elle est chargée (-)
- Les globines sont chargées (+)

Saturation en O₂ de l'Hb en fonction de la pO₂ et de la présence de 2,3 BPG

- **N = 5mmol/L** : la courbe de saturation en O₂ en fonction de la pO₂ est normale
- **En l'absence de 2,3 BPG** : la courbe ressemble à celle de la myoglobine
- **[2,3 BPG] > N** : Sang des individus habitués à l'altitude

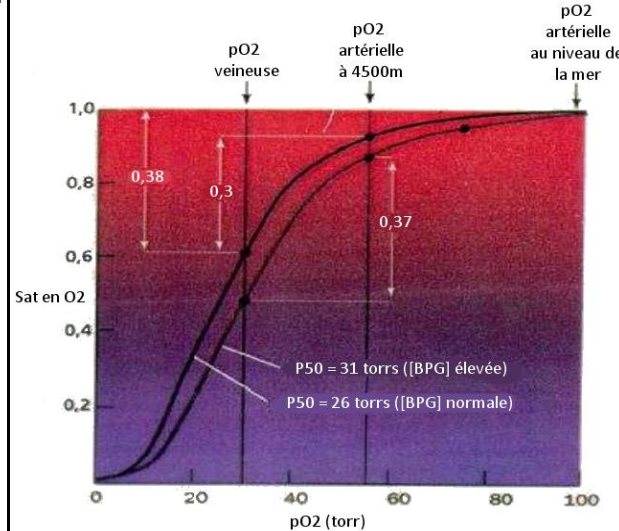
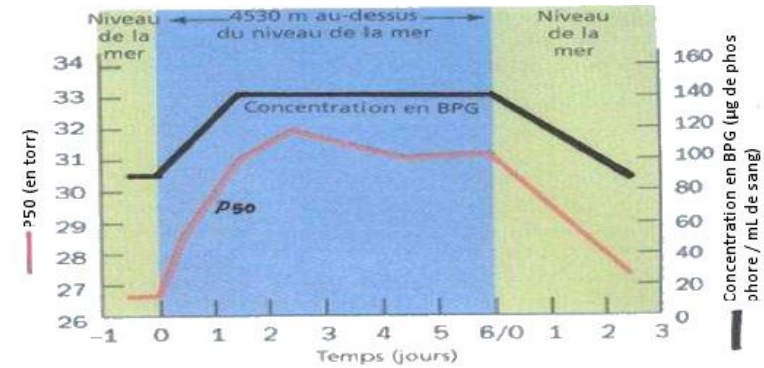


Biochimie

Les effets de l'altitude

En altitude la pO₂ ↓
↑ Besoins en oxygène
Donc ↑ **2,3 BPG** pour libérer plus facilement l'O₂ du sang.

$P_{50} = pO_2$ pour laquelle 50% de l'Hb est oxygénée = Km



En regardant les **ratios de saturation** (rds):

$$\frac{HbO_2 \text{ art} - HbO_2 \text{ vein}}{Hb \text{ totale}} = \text{Sat art} - \text{Sat vein}$$

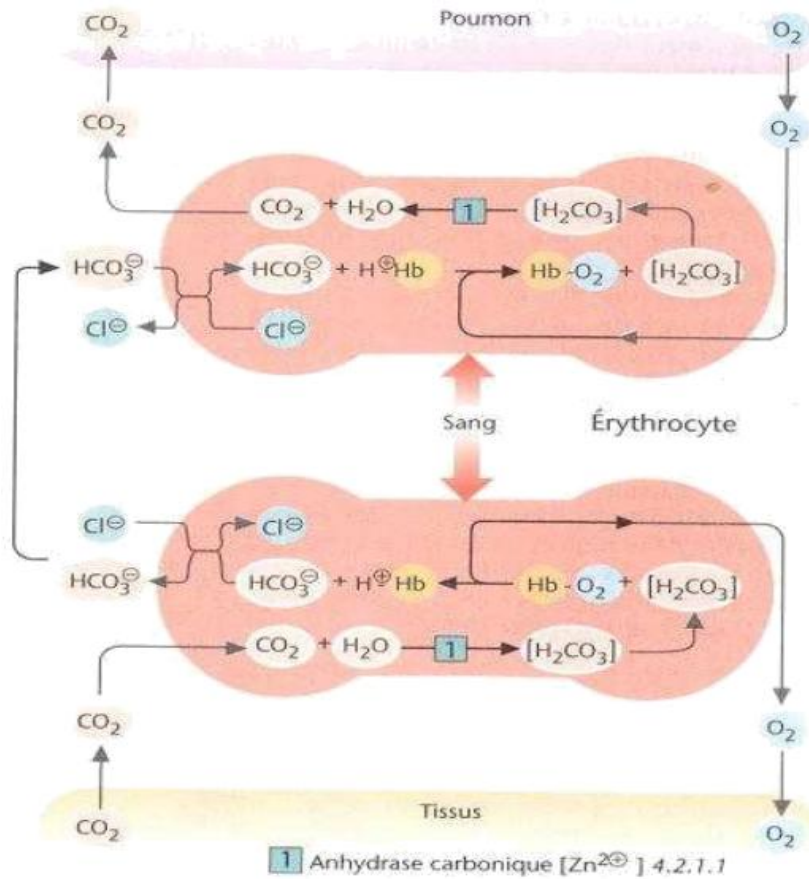
	Niveau Mer	Altitude
[2,3 DPG] normale	0,38	0,3
[2,3 DPG] élevée	X	0,37

Ratio sat en fonction de la [2,3 DPG] et de l'altitude

Les rôles de 2,3 BPG :

- ❖ Il diminue l'affinité de l'O₂ pour l'Hb (**inhibiteur**)
- ❖ Il permet la **bonne fixation de l'O₂** sur l'Hb
- ❖ Il participe à la **cohésion** des s.u. (Charges)

2) Les Liaisons



Tissu : Le CO₂ est changé en bicarbonate (anhydrase carbonique). HbO₂ libère l'oxygène et se lie à un proton. Un ion bicarbonate est libéré.

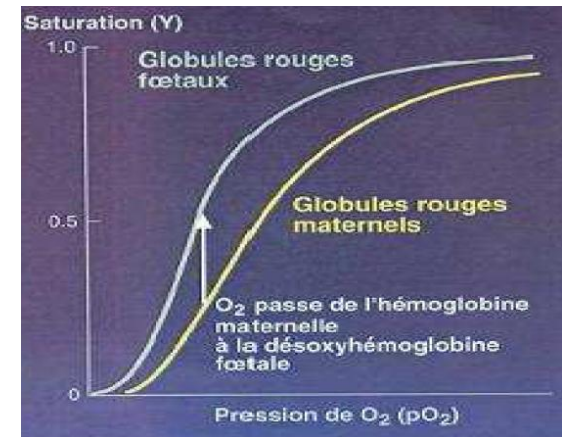
Effet Bohr = Le CO₂ et les ions H⁺ facilitent la libération d'O₂

Poumon : Oxydation de l'Hb-H⁺. Le bicarbonate devient eau + CO₂. Le CO₂ repart dans le poumon.

Un **antiport Cl⁻ / HCO₃⁻** est sur la membrane du GR → Le **Chlore** est un **cofacteur annexe** de la fixation de l'O₂ sur l'Hb.

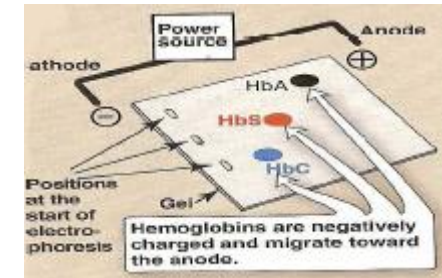
VII/ GR fœtaux, GR maternels

- Les **GR fœtaux** ont une **plus grande affinité** pour l'O₂ que les **GR maternels** (Ils doivent récupérer l'oxygène de l'Hb de la mère)
- Les [2,3 DPG] sont différentes



VII/ Les pathologies liées à l'Hb

1) Globinopathies

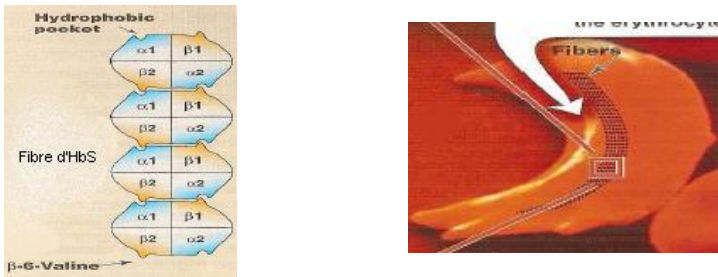


	HbA	HbS	HbC
Acide-Aminé en position 6 à partir de Nter	Glutamate Charge (-)	Valine Chaîne latérale hydrophobe et non chargée	Lysine Charge (+)
Electrophorèse	Migre le plus près du +	Intermédiaire	Migre le moins
Maladie	Patient Sain	Drépanocytose mais résistance au Paludisme	X

DREPANOCYTOSE

Maladie **autosomique récessive**

Empilement de l'Hb qui forme **une fibre** → GR en forme de **faucille** →



→ Occlusion des capillaires → **Anoxie** → **microinfarctus** → Douleur

Il en résulte : une hémolyse des GR atteints → **Anémie falciforme**

Les populations les plus touchées : Afrique + Sujets noirs d'Amérique du Nord

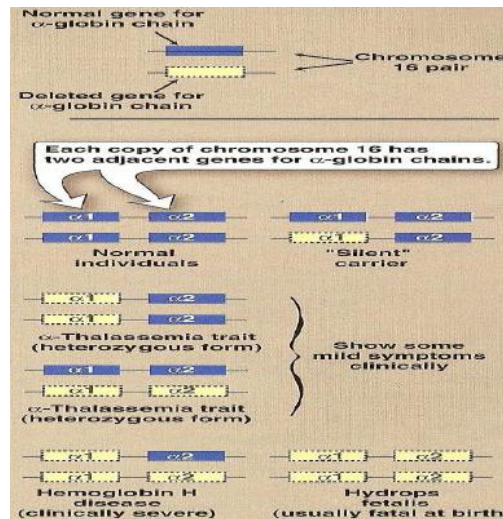
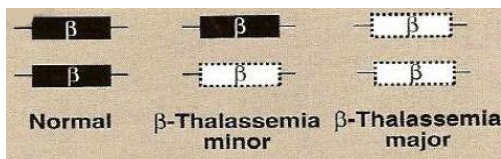
Entre drépanocytose et immunité au paludisme (*plasmodium falciparum*)

HbA/HbA	Sujet sain qui peut facilement contracter le paludisme
HbS/HbA	Résistant au paludisme / Absence de drépanocytose
HbS/HbS	Sujet atteint de drépanocytose

THALASSEMIE

Anomalie génétique de la myoglobine → **Synthèse d'une myoglobine défectueuse**

Population touchée : les méditerranéens (thalassa = mer)



Hb normales	$\alpha_2\beta_2$ HbA	$\alpha_2\gamma_2$ HbF	$\alpha_2\delta_2$ HbA2
β-Thalassémie	atteint $\alpha_2\beta_2$	non atteint $\alpha_2\gamma_2$	$\alpha_2\delta_2$
α-Thalassémie	$\alpha_2\beta_2$	$\alpha_2\gamma_2$	$\alpha_2\delta_2$
Hb dans les thalassémies	β_4	γ_4	δ_4

Maladie généralement silencieuse qui peut être fatale chez un individu homozygote

2) Maladies liées aux porphyrines

Déficit enzymatique dans la synthèse de la porphyrine (hème) ou intoxication au plomb :

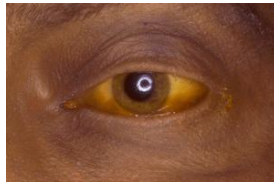
Enzyme touchée	Signes
δ -aminolévulinate synthase	Dépôt de Fer en forme d' anneau
δ -aminolévulinate déshydratase ou intox au Pb	Accumulation δ-aminolévulinate dans les urines

Anémie sidéroblastique (= Anémie sans manque de Fer)

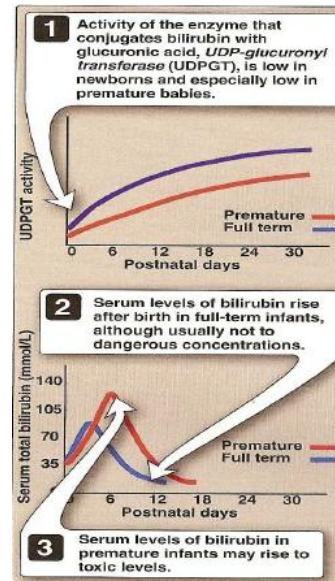
On peut avoir d'autres déficits enzymatiques qui suivent le même mécanisme : **Blocage enzymatique** → Accumulation du substrat en amont → Pathologie (A partir du Porphobilinogène on parlera de porphyrie avant c'est une intox au plomb ou une déficience enzymatique)

3) Pathologies du métabolisme du Fer

Mauvais transport du Fer → **Hémolyse** → Accumulation de **bilirubine non conjuguée** = **Jaunisse Hémolytique**



Rappel : En néonatalogie → Déficit en **UDP-bilirubine-glucuronyl-transferase (UDPGT)** → **Traitement** : on met l'enfant sous UV



- On note la faible activité enzymatique de l'UDPGT (**ligne rouge**)

- On note la forte concentration de bilirubine (**pic rouge**)

4) Pathologies Erythrocytaires

- ❖ Une **carence en Fer**
- ❖ Un déficit en **Glucose-6-phosphate déshydrogénase** (1^{er} enzyme de la **voie des pentoses phosphates**) → Déficit en **NADPH** → **Glutathion** reste sous sa forme **oxydée** → Stress oxydatif → Maladie du **Favisme** (le patient ne peut plus manger de fèves)

