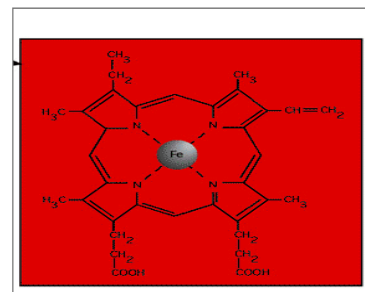
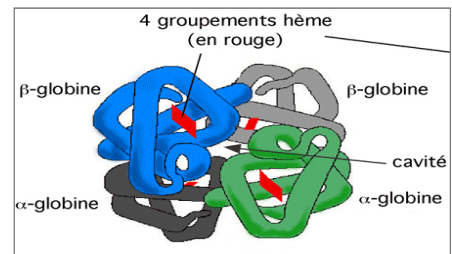


- L'hémoglobine est la molécule qui, présente dans les globules rouges, permet le transport de l'oxygène vers les tissus.
- Elle contribue aussi, dans une moindre mesure, à l'évacuation des ions H^+ et du CO_2 .
- L'oxygène circule sous forme majoritairement liée à l'hémoglobine. En effet 98 % de l'oxygène total contenu dans le sang est fixé à l'hémoglobine.

BIOSYNTHÈSE DE L'HÉMOGLOBINE

Introduction

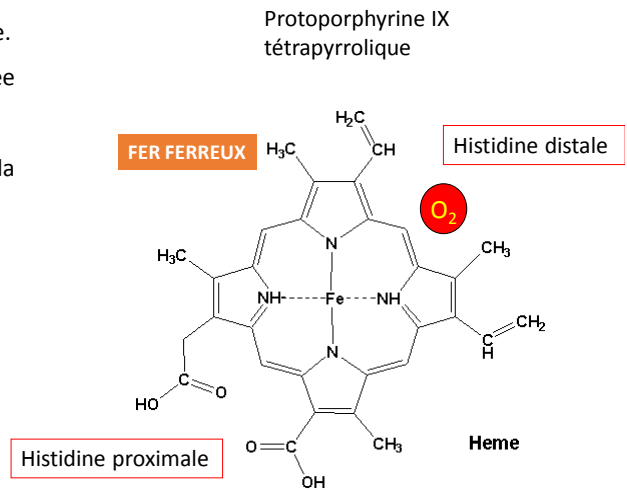
- L'hémoglobine est une protéine complexe (hétéroprotéine)
- Tetramère de globines (identique 2 à 2) liées a des groupes prosthétiques ou hèmes (avec un atome de Fe)
- L'hème est un groupe tétrapyrrolique (protoporphyrine).
- L'hémoglobine se trouve dans les globules rouges qui la synthétisent lors de leur période de différenciation.
- Une faible part est plasmatisque et associée à des protéines suite à la dégradation des globules rouges ou hémolyse.



BIOSYNTHÈSE DE L'HÉMOGLOBINE

Biosynthèse de l'hème

- Le terme porphyrine provient du grec porphura= pourpre.
- En 1896, Nencki proposa leur structure chimique fondée sur le modèle pyrrolique.
- Des pigments biologiques fluorescents (confèrent la couleur verte à la chlorophylle et rouge au sang).
- De façon générale, les porphyrines sont des corps cycliques formés de quatre anneaux pyrroliques et dont l'une des principales propriétés est de former des complexes avec les ions métalliques (hème, cytochrome, catalase, chlorophylle...).
- L'hème est la porphyrine des hémoglobines, qui va permettre la fixation de l'hémoglobine grâce à son atome de fer central.



BIOSYNTHÈSE DE L'HÉMOGLOBINE

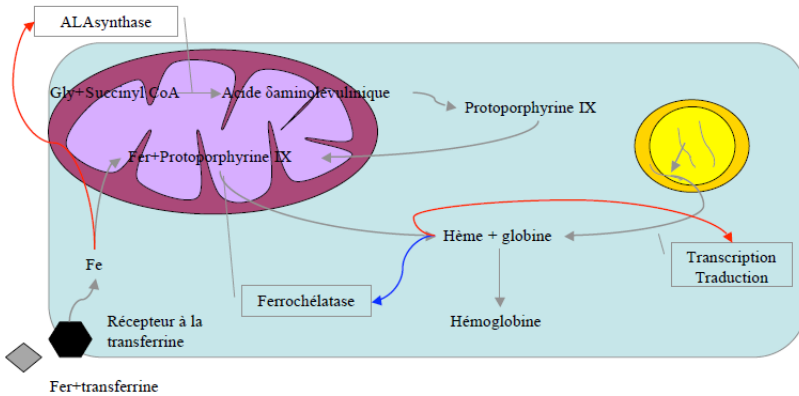
Biosynthèse de l'hème

- La synthèse de l'hème a lieu principalement dans la moelle osseuse (**85%**) et le foie.
- Au niveau cellulaire interviennent au moins **8 enzymes** différentes, ayant des localisations cytoplasmique et mitochondriale.
- Dans les mitochondries, la protoporphyrine est formée à partir de la Glycine et le succinyl CoA.
- L'acide succinique provient du cycle de Krebs, d'où la nécessité de fonctionnement optimal de ce cycle pour alimenter la cellule en succinate. Le succinyl CoA peut également provenir du cycle de Krebs.

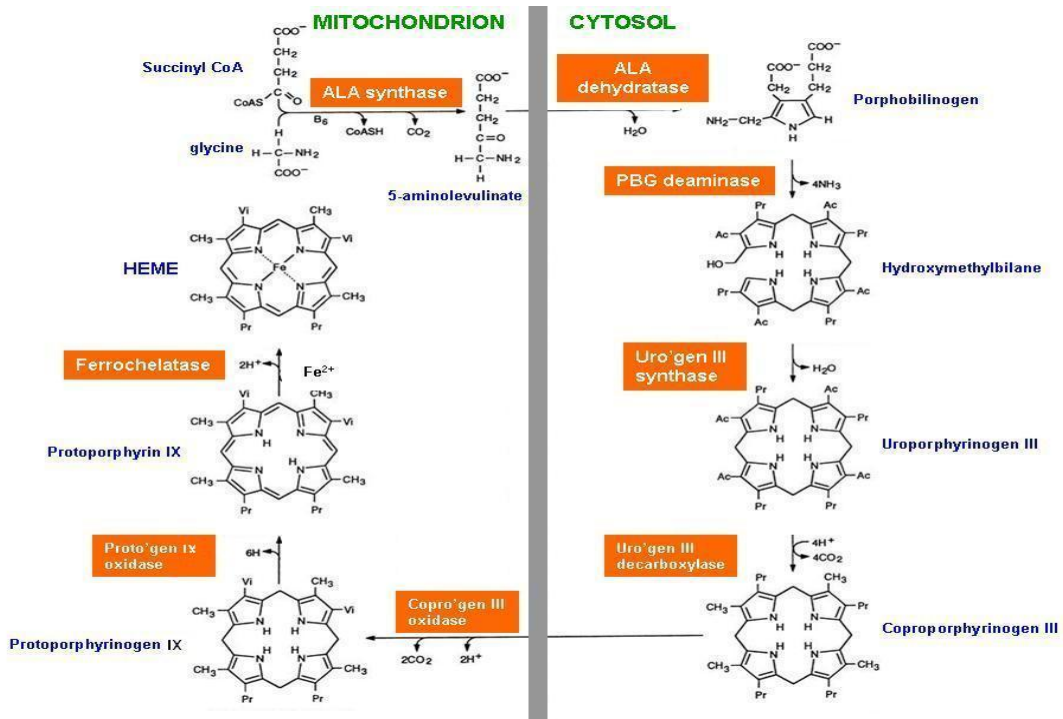
BIOSYNTHESE DE L'HÉMOGLOBINE

Biosynthèse de l'hème

Cette synthèse débute dans la mitochondrie, se poursuit dans le cytosol et s'achève dans la mitochondrie (3 dernières étapes).



- Au cours du développement d'un érythrocyte, la transferrine et la ferritine cèdent un atome de fer.



Régulation

1. Dépend de la disponibilité des substrats :

- Fe⁺⁺ pour la ferrochélatase
- Succinate pour l'ALA synthétase

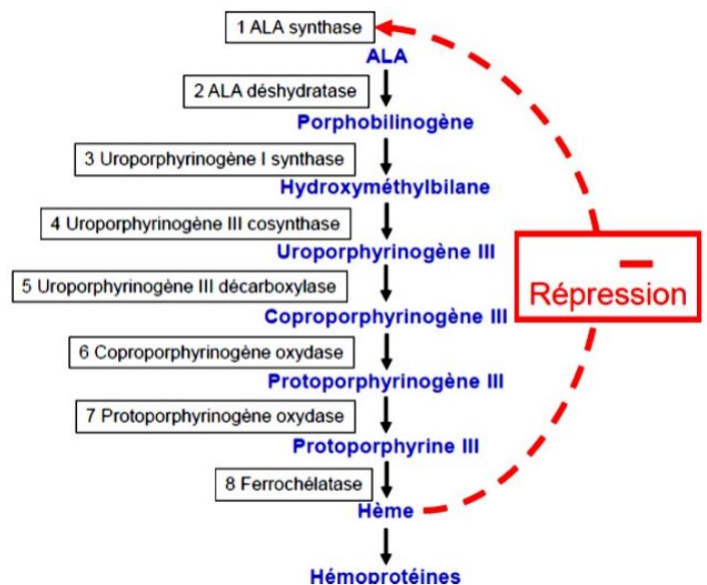
2. Régulation allostérique:

Enz allostérique est rétro-inhibée par l'hème.

- ❑ le but de la régulation varie selon le lieu de synthèse: **foie / Cellules erythroïdes**

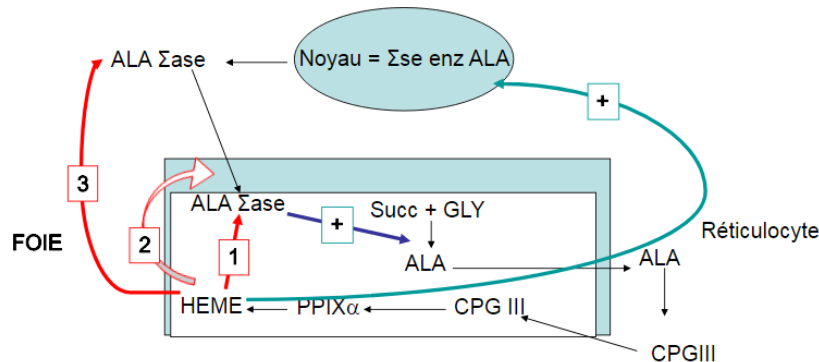
Régulation

- L'enzyme limitante est l'**ALA-synthase** (enz. allostérique). Elle subit le feed-back négatif de l'hème, qui agit au niveau post-traductionnel, en bloquant :
 - la translocation de la pro-ALA-synthase dans la mitochondrie et au niveau de la synthèse de l'enzyme
 - en diminuant la stabilité de son ARNm.
- La **PBG-déaminase** pourrait être une seconde enzyme limitante, particulièrement au niveau hépatique.



Régulation

1. Dans le foie: Synthèse adaptée à la demande cellulaire (Cytochrome, catalase)



L'hème exerce un **rétrocontrôle négatif** sur la première enzyme, L'ALAS1. Dans la cellule, il y a une quantité d'hème relativement faible, qui est un pool régulateur.

Régulation

Cellules erythroïdes

Synthèse de l'hème coordonnée avec celle de la globine

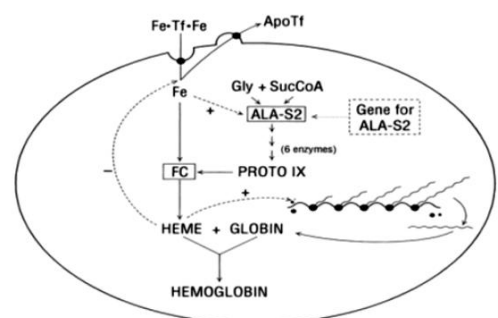
- Si hème disponible, synthèse activée
- Si hème absent, une kinase AMPc dépendante inactive le facteur d'initiation eIF2 en le phosphorylant, \rightarrow empêche la synthèse de la globine

Ainsi dans la moelle osseuse (réticulocytes):

- l'hème doit être synthétisé en gde qté pour assurer la synthèse de l'hémoglobine
- sa synthèse dépend de la synthèse des enzymes de la voie dont l'hème est un inducteur.

➤ Au niveau de la moelle osseuse, c'est tout a fait différent, **ce n'est pas l'hème qui a le rôle majeur de la régulation, c'est le fer.**

➤ Le fer va avoir un **rétrocontrôle positif**, cette fois ci, sur l'ALAS2, c'est à dire le gène spécifiquement erythroïde.

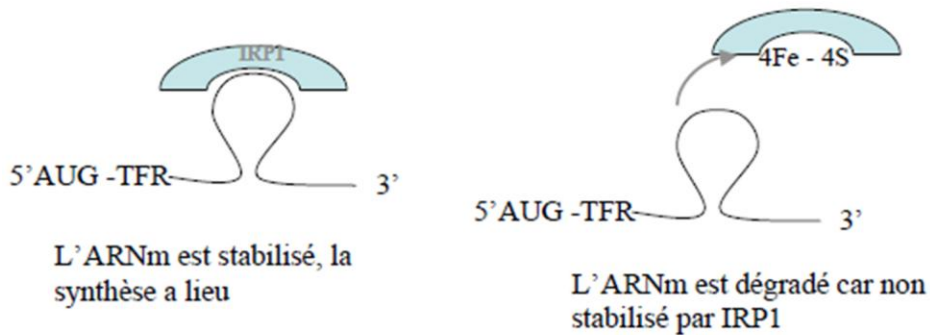


Régulation

NB:

Régulation du récepteur à la transferrine

En présence de fer, la synthèse de ce récepteur ne s'effectue plus. La cellule a déjà suffisamment de fer...



BIOSYNTHESE DE L'HÉMOGLOBINE

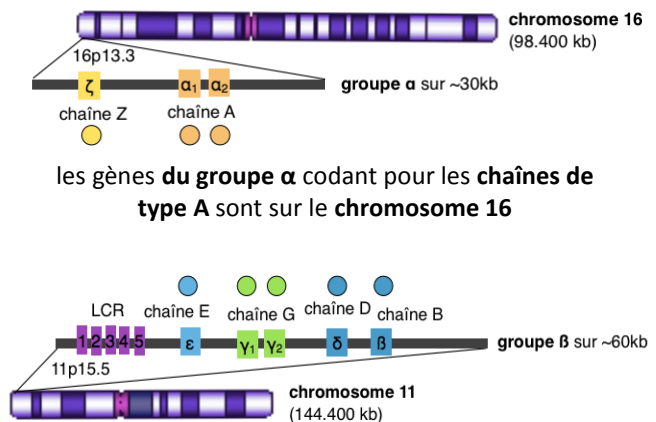
LA GLOBINE

C'est la partie protéique de la molécule.

L'hémoglobine contient 4 chaînes de globines, on distingue :

les chaînes α à 141 acides aminés, les chaînes β , les chaînes γ et les chaînes δ (Toutes trois à 146 acides aminés).

Les gènes des chaînes de globine de l'hémoglobine sont regroupés en deux groupes (*clusters*) positionnés sur deux chromosomes différents :



Les gènes du groupe β codant pour les chaînes de type B sont sur le chromosome 11.

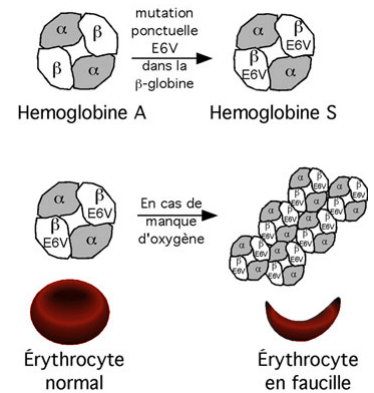
LA GLOBINE

Il existe donc différentes combinaisons pour différentes hémoglobines humaines :

- L'hémoglobine normale de l'adulte est l'**HbA** : $\alpha_2\beta_2$ (97-98%), ces sous-unités sont assemblées de telle façon qu'elles laissent une cavité au centre du tétramère.
- L'hémoglobine mineure de l'adulte est l'**HbA2** : $\alpha_2\delta_2$ (2%),
- L'hémoglobine fœtale est l'**HbF** : $\alpha_2\gamma_2$ (moins d'1%, synthétisée entre le 3^{ème} et le 8^{ème} mois de vie fœtale).

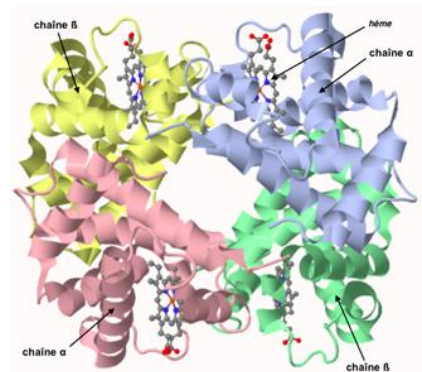
Bien d'autres possibilités existent donnant des hémoglobines anormales.

- Il peut s'agir d'une anomalie de répartition: 4 chaînes β pour l'hémoglobine **H**, responsable de mort in-utero.
- Des anomalies de composition en acides aminés comme dans l'hémoglobine **S** responsable de la drépanocytose : l'acide glutamique en 6 de la chaîne β est remplacé par une valine.



LA GLOBINE: De la structure primaire à la forme de la protéine

L'hémoglobine est le type même de protéine complexe avec 4 niveaux de structure. Elle est composée de 4 chaînes identiques 2 à 2. Si la structure primaire repose sur la linéarité de la molécule polypeptidique (un copolymère de 20 types d'aa), 3 niveaux de structure supplémentaires expliquent la forme de la molécule d'Hb dans l'espace :

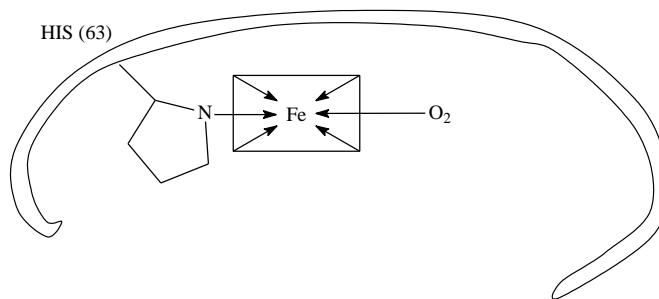


- Structure secondaire : les chaînes sont formées chacune de 7 **hélice α** pour les chaînes A et de 8 **hélices α** pour les chaînes B, hélices reliées par des zones plus ou moins déroulées et dessinant des **coudes**.
- Structure tertiaire : l'hème est lié de façon covalente à un aa de type histidine (His) (aa n°87 de la chaîne) au sein d'une poche hydrophobe. La forme de chaque chaîne est stabilisée par des **liaisons faibles** (pas de pont disulfure).
- Structure quaternaire : elle résulte de l'association des 4 chaînes de globine par des **liaisons faibles**. Les chaînes non homologues sont fortement intriquées et liées alors que les chaînes homologues ont peu de contacts entre elles.

LIAISON HÈME-GLOBINE

Cette union se déroule dans le cytosol. Chacune des quatre chaînes de la globine fixe un hème par l'intermédiaire d'une **histidine** qui fournit un doublet électronique d'un azote de son cycle.

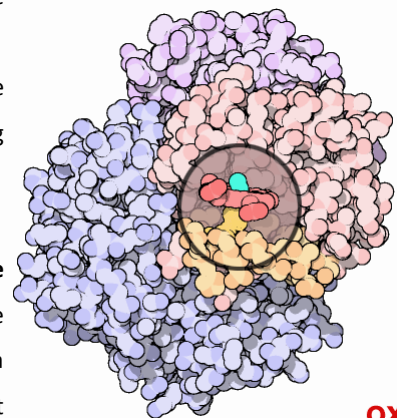
C'est la 5ème liaison offerte au fer, les quatre premières l'étant avec les quatre azotes des quatre cycles tétrapyrroliques. Une sixième liaison est contractée lors de la fixation de l'oxygène.



DE LA FORME À LA FONCTION : TRANSPORT DES GAZ SANGUINS

- L'Hb contenue dans les globules rouges est la forme principale de transport du dioxygène (qui s'ajoute au dioxygène dissous dans le plasma).
- Un gramme d'Hb fixe entre 1,34 et 1,39 mL d'O₂ selon les conditions de température, de pH et de pression partielle de dioxygène dans le sang (donc de l'O₂ disponible).
- Une molécule d'Hb peut transporter jusqu'à 4 molécules de dioxygène.

Lors de la fixation du dioxygène au Fe de l'hème, l'Hb change de **forme** (image animée ci-contre). Ce changement de forme - réversible ou même instable - facilite la fixation du dioxygène sur la forme **désoxygénée** et la libération du dioxygène à partir de la forme **oxygénée**. (Cette cavité ne sert pas à lier l'oxygène, mais elle a un rôle à jouer dans la régulation du rôle de l'hémoglobine).



oxy

DE LA FORME À LA FONCTION : TRANSPORT DES GAZ SANGUINS

Les structures tertiaire et quaternaire de l'hémoglobine jouent un rôle primordial dans son rôle comme transporteur.

La protéine existe sous deux formes: **La forme T** (pour tendue) qui a une faible affinité pour l'oxygène et la **forme R** (pour relâchée) de haute affinité.

Ces deux formes existent en un équilibre rapide qui dépend du pH ambiant et de la présence d'oxygène.

À pH élevé et en présence d'oxygène; la **forme R** est privilégiée (et l'hémoglobine cherche donc à capturer de l'oxygène);

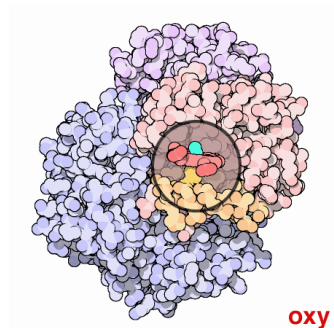
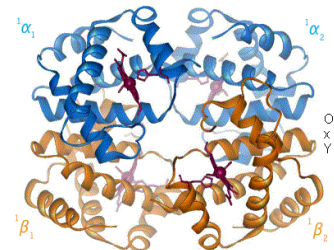
À pH bas et quand l'oxygène est rare, la **forme T** est privilégiée et l'hémoglobine relâche l'oxygène.

DE LA FORME À LA FONCTION : TRANSPORT DES GAZ SANGUINS

Dans le modèle représenté sur l'animation, on observe lors de la fixation du dioxygène un mouvement de glissement et de rotation des chaînes entre elles.

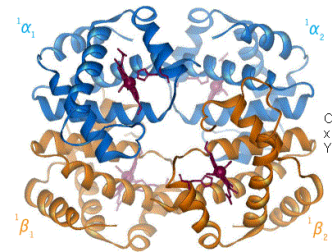
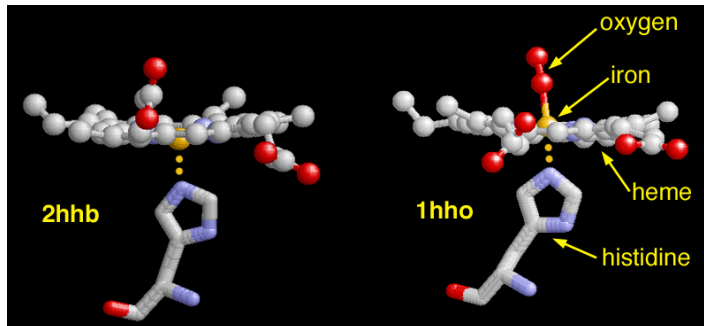
Lors de la transition de la configuration désoxygénée (T) vers la configuration oxygénée (R), le **2,3-DPG** est expulsé de la cavité centrale.

NB: Les conditions physiologiques de fonctionnement de la molécule dépendent aussi d'autres facteurs: la présence de substances susceptibles de modifier le degré d'oxydation du fer. En effet, le Fe peut fixer le dioxygène s'il est sous la forme Fe^{2+} , mais pas sous la forme oxydée Fe^{3+} , il est donc nécessaire que l'Hb soit protégée contre l'oxydation (la métHb est la forme oxydée inactive).



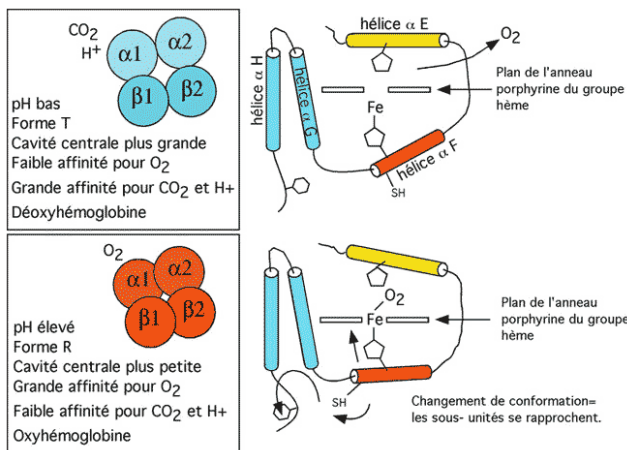
DE LA FORME À LA FONCTION : TRANSPORT DES GAZ SANGUINS

Lorsque le dioxygène **se fixe** sur le FeII, l'atome de Fe **est tiré** vers la molécule de dioxygène légèrement au-dessus du plan de l'hème, ce qui fait que l'histidine à laquelle le Fe est lié par covalence en-dessous du plan de l'hème (H87), est à son tour **tirée** vers le groupe Fe-O₂, ce qui provoque le mouvement de **rotation** de toute la chaîne.



DE LA FORME À LA FONCTION : TRANSPORT DES GAZ SANGUINS

Lors d'une transition de T vers R, les sous-unités α_1 - β_1 se rapprochent des sous-unités α_2 - β_2 , **réduisant** la taille de la cavité centrale entre les sous-unités.



Quand le pH baisse, la réaction inverse se produit:

les hélices reprennent leur position typique de la **forme T**, la cavité centrale grandit, et l'atome de fer est déplacé par rapport au groupe hème. Il relâche alors son oxygène.

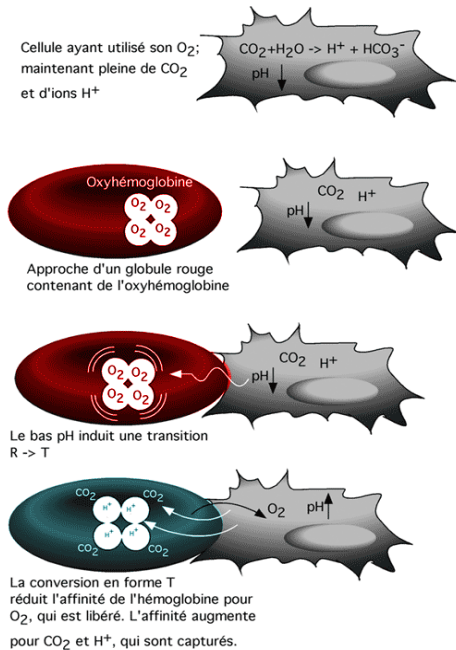
En présence d'oxygène et à pH plus élevé, le mouvement de différentes hélices alpha de l'hémoglobine fait que l'atome de fer se déplace par rapport au groupement hème et vient se positionner sur le même plan. Cette configuration est propice à l'association du fer à une molécule de O₂.

DE LA FORME À LA FONCTION : TRANSPORT DES GAZ SANGUINS

La sensibilité de l'hémoglobine au pH procède du fait que les cellules contenant beaucoup de CO_2 ont un pH plus acide, (parce que $\text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{H}_2\text{CO}_3$)

L'hémoglobine ayant déchargé sa charge d'oxygène peut alors contribuer à évacuer l'excédent de CO_2 et d'ions H^+ des cellules. Elle est responsable d'environ 20% de cette évacuation.

- Les ions H^+ ne se lient pas au groupe hème: ils se lient à l'histidine 146 de la β -globine et à deux autres résidus dans l' α -globine de la forme T.
- Le CO_2 , lui, se lie à l'extrémité N-terminale de chacune des quatre chaînes de globine pour former l'hémoglobine **carbaminée**.



DE LA FORME À LA FONCTION : TRANSPORT DES GAZ SANGUINS

- Contrairement au CO_2 , le monoxyde de carbone CO compétitionne directement avec O_2 pour le lien libre sur l'atome de fer du groupe hème. Il a en outre une affinité **240 fois** plus élevée. C'est pourquoi le CO est beaucoup plus toxique que le CO_2 : alors que le CO_2 est libéré facilement (par simple compétition) quand le patient intoxiqué est mis en présence de O_2 , le CO, lui, reste fixé très longtemps sur le groupe hème, puisque l'équilibre entre le CO et O_2 sur le groupe hème favorise grandement le premier.
- Le 2,3-BPG est présent à haute concentration dans les globules rouges. Il se lie à la cavité centrale de la déoxyhémoglobine (la forme T) en interagissant avec des chaînes latérales chargées positivement dans les sous-unités de β -globine.
- La transition en forme R l'expulse de la cavité. Le 2,3-BPG réduit l'affinité de l'hémoglobine pour l'oxygène.

Désoxyhémoglobine

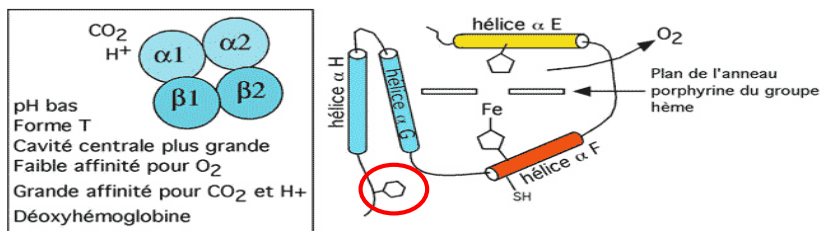
La structure quaternaire de l'hémoglobine associe deux à deux des chaînes de type α ou β (Hb A1).

En milieu plus acide, l'hémoglobine fixe des protons ce qui inhibe la fixation de l'oxygène (effet Bohr).

L'hémoglobine se présente alors sous la forme désoxygénée ou désoxyhémoglobine.

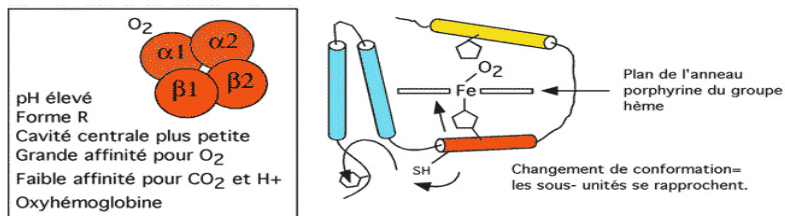
La désoxyhémoglobine a au contraire une affinité plus forte pour le 2,3-BPG.

Ces différences sont le résultat de modifications légères des structures secondaires des sous-unités, en particulier des acides aminés de l'extrémité COOH terminale : **la Tyr H22** dont le radical aromatique est tourné vers la crevasse hydrophobe dans la désoxyhémoglobine, va se tourner vers l'extérieur de la molécule lors de la fixation de l'oxygène.



Oxyhémoglobine

La chaîne α a plus d'affinité pour l'oxygène et passe en premier à la forme oxygénée. Le passage d'une chaîne α à la forme oxygénée modifie sa structure (transconformation) et par l'intermédiaire des liaisons électrostatiques qui unissent les chaînes cette transconformation va modifier la structure des trois autres protomères (allostérie) de telle façon que leur affinité pour l'oxygène va augmenter (la constante de dissociation diminue) : il y a une véritable coopérativité entre les chaînes pour la fixation de l'oxygène.

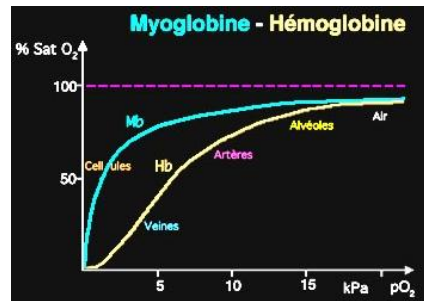


Myoglobine ; hémoglobine

La **myoglobine** est une protéine qui transporte l'oxygène dans le cytoplasme des cellules. Sa vitesse de transport de l'oxygène en fonction de la pression de ce gaz, est de type **Michaelien** et la courbe qui la représente est une hyperbole.

L'**hémoglobine** est une protéine qui transporte l'oxygène dans les globules rouges. Sa vitesse de transport de l'oxygène en fonction de la pression de ce gaz, est de type allostérique et la courbe qui la représente est une sigmoïde.

La coopération entre les protomères confère à l'hémoglobine une grande affinité pour l'oxygène dans les poumons où il est abondant, et au contraire une faible affinité pour l'oxygène dans les tissus où il est transmis aux cellules.

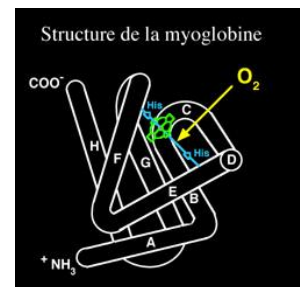


Structure de la myoglobine

La myoglobine est une protéine transporteuse d'oxygène, fonctionnellement identique à l'hémoglobine, mais constituée d'une seule sous-unité.

Cette sous-unité contient sept hélices α : chacune de ces structures est désignée par une lettre capitale : A, B, C, D, E, F, G, H. Les acides aminés de la myoglobine ou de l'hémoglobine sont désignés par la lettre de l'hélice à laquelle ils appartiennent et par leur rang dans la structure primaire de cette hélice : exemple l'Arg H23 est le 23^{ème} acide aminé de l'hélice H à l'extrémité COOH terminale des sous-unités.

Le noyau hème est situé dans une crevasse de la structure tertiaire, où les acides aminés sont hydrophobes. Des liaisons hydrophobes et quelques liaisons électrostatiques lient la porphyrine à la chaîne polypeptidique.



L'atome de fer est hexacoordiné, quatre pour les azotes de la porphyrine et deux pour deux His de la protéine. L'une de ces liaisons est le site de fixation de la molécule d'oxygène.