

СТАТЬИ

УДК 612.111.6

ЭРИТРОЦИТАРНЫЙ ГЕМОГЛОБИН: ВИДЫ, ЗНАЧЕНИЯ, АЛЬТЕРНАТИВНЫЕ И ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЕ ФУНКЦИИ

Абрашева М.В., Андреева А.И., Виноградова О.Е., Викторovich Н.Н.

ФГБОУ ВО «Чувашский государственный университет им. И.Н. Ульянова», Чебоксары, e-mail: office@chuvvsu.ru

В данной статье описаны плеiotропные эффекты эритроцитарного гемоглобина (Hb) и их значимость для здоровья человека. Гемоглобин наиболее известен как переносчик кислорода, однако его биохимические функции этим не ограничиваются. Рассмотрены следующие аспекты функционирования Hb: каталитические функции, обусловленные гемовым (нитритредуктазная, NO-диоксигеназная, монооксигеназная, алкилгидропероксидазная) и белковым (эстеразная, липоксигеназная) компонентами молекулы; участие в метаболизме оксида азота; образование мембраносвязанной формы Hb и ее роль в регуляции метаболизма эритроцита; физиологические функции продуктов катаболизма гемоглобина (железо, CO, билирубин, пептиды). Особое внимание уделено тому, как коронавирусная инфекция действует на компоненты крови, а также действие MetHb у пациентов с COVID-19; важные факторы, определяющие тяжесть метгемоглобинемии. Причины гипоксии при коронавирусной инфекции и ее последствия. Рассматриваются физиологический (нормальный) и патологический гемоглобин. Приведены примеры нозологических форм. Также указывается значимость применения иммунохимических методов индикации гемоглобина как клинико-диагностического маркера, где большое значение имеет не только изменение количества общего гемоглобина крови, но и отдельных его типов, изменение соотношения которых в клинической практике используют для диагностики различных патологических состояний.

Ключевые слова: гемоглобин, активные формы кислорода, антиоксидантная система, иммунохимический метод, эритробластоз, COVID-19, интерлейкины

RED BLOOD CELL HEMOGLOBIN: TYPES, VALUES, ALTERNATIVE AND ADDITIONAL FUNCTIONS

Abrasheva M.V., Andreeva A.I., Vinogradova O.E., Viktorovich N.N.

Chuvash State University named after I.N. Ulyanov, Cheboksary, e-mail: office@chuvvsu.ru

This article describes the pleiotropic effects of red blood cell hemoglobin (Hb) and their significance for human health. Hemoglobin is best known as an oxygen carrier, but its biochemical functions are not limited to this. The following aspects of Hb functioning are considered: catalytic functions due to the heme (nitrite reductase, NO-dioxygenase, monooxygenase, alkyl hydroperoxidase) and protein (esterase, lipoxygenase) components of the molecule; participation in nitric oxide metabolism; formation of the membrane-bound form of Hb and its role in the regulation of erythrocyte metabolism; physiological functions of hemoglobin catabolism products (iron, CO, bilirubin, peptides). Special attention is paid to how coronavirus infection affects blood components, as well as the effect of MetHb in patients with COVID-19; important factors determining the severity of methemoglobinemia. Causes of hypoxia in coronavirus infection and its consequences. Physiological (normal) and pathological hemoglobin are considered. Examples of nosological forms are given. The significance of the use of immunochemical methods of hemoglobin indication as a clinical and diagnostic marker is also indicated, where not only the change in the amount of total hemoglobin in the blood is of great importance, but also its individual types, the change in the ratio of which is used in clinical practice for the diagnosis of various pathological conditions.

Keywords: hemoglobin, reactive oxygen species, antioxidant system, immunochemical method, erythroblastosis, COVID-19, interleukins

Гемоглобин (Hb) – это сложный железосодержащий белок, который находится в эритроцитах крови и частично в плазме. Hb обеспечивает насыщение тканей организма кислородом и своевременное удаление углекислого газа из активно метаболизирующих клеток [1]. Помимо этого, исходя из своих уникальных химических свойств, гемоглобин является основным компонентом буферной системы крови, который поддерживает кислотно-щелочной баланс в организме, предотвращая алкалоз или ацидоз. Производная Hb – метгемоглобин (MetHb) – обладает пероксидазными свойствами, т.е. способен расщеплять перекись водорода и способен прочно связывать синильную кислоту и дру-

гие токсичные вещества, тем самым снижая степень отравления организма.

Цель исследования – проанализировать современные литературные данные, касающиеся функциональных особенностей Hb, и рассмотреть ситуации, которые связаны с его альтернативными и дополнительными функциями.

Материалы и методы исследования

Проведен поиск и анализ публикаций, посвященных альтернативным и дополнительным функциям эритроцитарного Hb в базах данных PubMed, WebofScience.

Гемоглобин – это гетеротетраммерный белок, состоящий из двух субъединиц α

и двух субъединиц β , каждая из которых содержит один гем, способный обратимо связывать кислород [1]. Гем является небелковым компонентом Hb, который состоит из четырех пиррольных колец и двухвалентного железа. Молекула O_2 связана с ионом Fe (II) гема, соответственно, одна молекула Hb может связывать четыре молекулы O_2 . Структура гема представлена на рис. 1 [2].

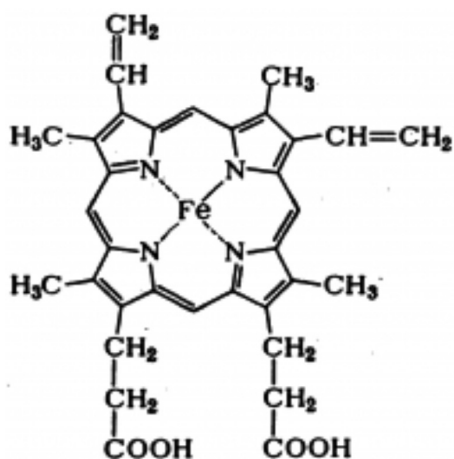


Рис. 1. Структура гема [2]

Гемоглобин переносит связанный с гемом кислород из легких во все ткани организма посредством связанных с оксигенацией сдвигов конформационного равновесия между напряженным состоянием (состояние T; дезоксигенированный) и расслабленным состоянием (состояние R; насыщенный кислородом). R-форма Hb обладает более высоким сродством к кислороду, чем T-форма. На равновесие между T- и R-формами Hb влияют аллостерические эффекторы: 2,3-дифосфоглицерат, CO_2 и ионы водорода [3].

В эритроцитах человека обнаружено несколько форм Hb. Они отличаются друг

от друга последовательностью аминокислот, которые входят в состав глобина.

Выделяют физиологический (нормальный) и патологический Hb.

HbA – это «зрелый» гемоглобин, который имеется у каждого человека. При рождении его содержание составляет 80%, а затем повышается до 95–98%.

HbF – фетальный гемоглобин. Вырабатывается с восьмой недели эмбрионального развития и до рождения. В отличие от HbA, HbF обладает большим сродством к кислороду.

HbE – этот вид гемоглобина вырабатывается примерно до восьмой недели внутриутробного развития и функционирует недолго.

В настоящее время известно более 250 видов патологического Hb. Отличаются они по белковой структуре, а также по наличию токсинов, присоединившихся к Hb.

MetHb – метгемоглобин – содержит трехвалентный ион железа. Он формируется при действии на Hb оксидов азота и хлоратов. MetHb не способен связывать кислород, из-за этого возникает гипоксия тканей.

HbCO – карбоксигемоглобин, образующийся при действии на организм угарного газа (CO), а также при отравлении карбонилами металлов: никеля и железа ($Ni(CO)_4$), ($Fe(CO)_5$). HbCO постоянно находится в крови в небольшом количестве, но его концентрация может колебаться от условий и образа жизни.

HbS – гемоглобин серповидно-клеточной анемии. Серповидно-клеточная анемия – это наследственное заболевание системы крови, для которого характерно нарушение образования нормальных цепей гемоглобина. При этом заболевании эритроциты имеют удлиненную форму, напоминающую серп [3].

Состояния, связанные с проявлением в крови мутантных форм Hb, называют гемоглинозами. Классификация гемоглинозов представлена на рис. 2 [4].



Рис. 2. Классификация гемоглинозов [4]

Гемоглинозы делятся на гемоглинопатии и талассемии. Гемоглинопатии характеризуются качественными изменениями структуры Hb. Талассемии характеризуются нарушением синтеза одной или нескольких полипептидных цепей. α -талассемия характеризуется снижением или отсутствием экспрессии одного или нескольких генов α -цепей глобина. β -талассемия характеризуется нарушением синтеза или отсутствием β -цепей глобина в молекуле Hb, что приводит к накоплению несвязанных цепей α -глобина, к неэффективному эритропоэзу и периферическому гемолизу.

Реакции гемоглобина с оксидом азота и его производными. Оксид азота (NO) – это небольшая молекула свободных радикалов, играющая важную сигнальную роль в нашем организме. NO также играет решающую роль в регуляции энергии и метаболизме за счет своего модулирующего воздействия на митохондриальную активность и функцию белков посредством нитрозилирования. Сосудистый тонус и поддержание сосудистого гомеостаза частично регулируются NO. Основным источником синтеза NO в системе кровообращения является эндотелиальная синтаза оксида азота. Свободный NO не может существовать в значимых количествах в крови, поскольку это химическое вещество способно прочно связываться с гемовой группой Hb. Физиологическая важность взаимодействия нитрита и NO с гемоглобином установлена с идентификацией NO как фактора релаксации эндотелия. Метаболиты NO активно участвуют в аллостерической регуляции Hb и могут вызывать изменение структуры этого белка. Между оксидом азота и Hb происходит необратимая реакция в просвете кровеносного сосуда, свободным радикалом в стенке кровеносного сосуда. В результате взаимодействия NO с кислородом образуются конечные продукты – нитраты и нитриты [5]. Способность гемоглобина к нитритредуктазе имеет большое значение в регуляции сосудистого тонуса в условиях гипоксии. Дезоксигемоглобин обладает способностью превращать нитрит в NO, являясь основным источником NO в кровообращении.

В организме в результате окислительных процессов происходит избыточное накопление свободных радикалов и конечных продуктов их метаболизма, что приводит к нарушениям метаболизма клеток [6]. Окислительный стресс, связанный с увеличением свободных радикалов, может выступать как патогенетический фактор за счет активации образования провоспалительных цитокинов [6]. В ответ на окислительный стресс совместно регулируемые гены

кодируют синтез белков, которые дезактивируют свободные радикалы.

Гемоглиновая буферная система. Для поддержания жизнедеятельности организма важно постоянство pH крови. В этом участвуют буферные системы. Самой мощной буферной системой является гемоглиновая. Кислую часть буфера составляет оксигенированный гемоглобин H-HbO₂. Он почти в 80 раз легче отдает ионы водорода, чем восстановленный H-Hb.

Изменение кислотности Hb вызывается связыванием гемоглобина H⁺ или O₂. Механизм реализации функции гемоглиновой буферной системы заключается в присоединении или отдаче иона H⁺ остатком гистидина в белковой части Hb. Гемоглиновая система участвует в связывании протонов, которые выкачиваются в результате окислительных процессов, а также в протонировании гидрокарбоната оксигемоглобином, с дальнейшим выделением углекислого газа [4]. Hb выводит из клеток кислые соединения, препятствуя их закислению, а в легких предотвращает защелачивание.

Связывание гемоглобина с мембраной. Обратимое связывание белков с компонентами мембраны и цитоскелета является одним из механизмов управления клеточным метаболизмом. Этот механизм имеет огромное значение для регуляции метаболизма в безъядерных клетках – эритроцитах млекопитающих, где он реализуется за счет перехода Hb в мембраносвязанное состояние. Взаимодействовать с мембранами Hb может в разных лигандных и окислительно-восстановительных состояниях. Через взаимодействие с основным интегральным белком мембраны эритроцита – белком полосы 3 дезоксигенированный Hb в зависимости от кислородных условий изменяет энергетический обмен, морфологию и деформируемость эритроцитов, высвобождение регуляторов сосудистого тонуса – NO и АТФ. Сигнальную функцию выполняют также и продукты окислительной денатурации Hb – необратимые гемихромы. Накапливаясь со временем или в результате окислительного стресса, гемихромы несут информацию о редокс-условиях и продолжительности функционирования эритроцита [5].

Методологии количественного определения гемоглобина. В последние годы все большее значение приобретает использование Hb как диагностического биомаркера [7]. Существуют колориметрические методы, гемоглобинцианидный метод, методики количественного анализа Hb путем электрофореза в агарозе, крахмальном

геле, ацетате целлюлозы и др. Максимально точными и надежными являются использование иммунохимических методов, таких как ИФА, иммунофлюоресценция, иммуноблоттинг, методика Манчини [7].

Одним из важных показателей является концентрация Hb. Снижение концентрации наблюдается при анемиях. Повышение уровня Hb встречается при гемоглобинуриях [2].

Увеличение уровня HbF при рождении наблюдается у недоношенных, а также у новорожденных, родившихся у женщин с поздним гестозом и хронической внутриутробной гипоксией. Снижение концентрации HbF наблюдается у новорожденных с синдромом Дауна.

Рост продукции HbF показан при хронических гипоксиях различного генеза [8].

Метгемоглобин и карбоксигемоглобин при COVID-19. После вспышки новой коронавирусной инфекции, уделено место метгемоглобину (MetHb) и карбоксигемоглобину (COHb), поскольку у тяжелобольных пациентов часто наблюдаются повышенные концентрации данных соединений гемоглобина в крови. Подобные соединения относятся к так называемым дисгемоглобинам – дериватам Hb, которые не могут в норме транспортировать кислород, в результате чего наступает тканевая гипоксия.

У пациентов после COVID-19 наблюдается пониженная концентрация Hb. В 2020 г. после проведенных исследований ученые выдвинули предположение, что инфекция взаимодействует в организме с железосодержащим белком и впоследствии разрушает его. Этот вывод был сделан на основе того, что в организмах пациентов с анемией был выявлен в большом количестве гем [8].

Синдром матового стекла, обнаруживаемый в легких на КТ – это скопление [8], атакованного вирусом и утратившего способность к переносу кислорода [8]. Ученые обнаружили, что у пациентов наблюдается низкий уровень ферритина – белка, который является «хранилищем» железа в организме. На фоне недостаточного количества ферритина развивается анемия.

Исследования показали, что коронавирусная инфекция коррелируется появлением в крови большого количества мегакарицитов, в результате чего кровь становится густой. Эритроцитам труднее перемещаться по густой крови, в результате чего возникает гипоксия.

Ученые полагают, что причиной гибели пациентов может быть атака вируса на красный костный мозг, внутренний эндотелий и эритроциты [8].

На сегодняшний день существует множество факторов, доказывающих увели-

чение содержания карбоксигемоглобина и метгемоглобина в крови человека при COVID-19 [9].

Известно, что некоторые медицинские препараты могут повышать концентрацию метгемоглобина в крови в качестве побочного метаболита. Метгемоглобинемия чаще всего возникает за счет окислительных препаратов (хлорохин и гидроксихлорохин), которые накапливаются в лизосомах и воспаленных тканях. Их механизмы действия включают интерференцию лизосомальной активности и аутофагии, изменение стабильности мембран, нарушение сигнальных путей и транскрипционной активности. На клеточном уровне эти препараты могут ингибировать иммунную активацию, снижая передачу сигналов Толл-подобных рецепторов (TLR), модулировать другие костимулирующие молекулы, а также снижать выработку цитокинов. Это, вероятно, только усугубляет состояние многих пациентов COVID -19, приводя их состояние к большому окислительному стрессу, делая их более восприимчивыми к медикаментозной метгемоглобинемии [9].

Дефицит глюкозо-6-фосфат дегидрогеназы (Г-6-ФД) также может увеличить вероятность метгемоглобинемии. Недостаточность Г-6-ФД имеет серьезные патологические последствия в эритроцитах. Для лиц с дефицитом Г-6-ФД инфекция SARS-CoV-2 представляет собой дополнительный фактор риска [8]. Г-6-ФД катализирует реакцию образования восстановленного NADPH, который, в свою очередь, участвует в поддержании антиоксидантной системы защиты эритроцитов от свободных радикалов.

MetHb может образовываться как побочный продукт физиологической реакции в виде адаптивной повышенной передачи сигналов оксида азота (NO) вследствие острой анемии. Анемия может быть связана с инфекцией или системной воспалительной реакцией, называемой «анемией воспаления», как часть физиологической реакции на заболевание [9]. Согласно исследованию Bellmann-Weiler et al. [9] из 259 госпитализированных пациентов с COVID-19 24,7% были анемичны при поступлении, причем большинство страдало воспалительной анемией (68,8%). Во время госпитализации процент пациентов с анемией увеличился (около 68,8% на 7-й день). Значительно более высокая смертность во время госпитализации была также обнаружена у пациентов с анемией при поступлении. Анемия связана с повышенной концентрацией NO, приводящей к вазодилатации. Она предотвращала тканевую гипоксию, но в то же

время вызывала NO-основанное окисление Hb в MetHb. MetHb активирует путь NF-kB в эндотелиальных клетках, связанный с продукцией хемокинов (IL-8) и цитокинов (IL-6). Активация путей NF-kB и MAPK с последующим высвобождением хемокинов IL-8 и хемокинового моноцитарного хемоаттрактантного белка-1 (MCP-1) также наблюдалась в эндотелиальных клетках, подвергнутых воздействию MetHb [8]. Это подчеркивает, что повышение уровня MetHb в крови оказывает влияние на выработку цитокинов/хемокинов – факт, который может иметь особое значение для COVID-19, поскольку при тяжелом течении заболевания наблюдается «цитокиновый шторм». И следует иметь в виду, что гипоксия также вызывает выработку IL-8 и IL-6 [9].

Карбоксигемоглобинемия у пациентов COVID-19 может указывать на увеличение эндогенной продукции СО или снижение выведения СО. Эндогенная продукция СО обусловлена активацией гемоксигеназной ферментной системы, катализирующей распад гема и высвобождение СО в ходе реакции. Затем СО может реагировать с Hb, что приводит к образованию СОHb. К увеличению продукции СОHb приводит и образование свободных радикалов в результате окислительного стресса. Так как анемия и гемолиз происходят в течение заболевания у пациентов COVID-19, гемолитическая анемия также может быть ответственна за повышение СОHb. Поскольку внутриклеточное истощение NADPH и последовательный окислительный стресс с поврежденными эритроцитами (гемолиз) характерны для дефицита Г-6-ФД, неудивительно, что дефицит Г-6-ФД у пациентов COVID-19 связан с повышенным уровнем MetHb и СОHb [8].

При нарушении дыхания происходит снижение элиминации СО. Пациенты с COVID-19 характеризуются нарушением дыхания. Повышенный уровень СОHb может быть объяснен снижением выведения СО и, следовательно, более высокой вероятностью образования СОHb. Механическая

вентиляция легких тоже имеет место быть, поскольку увеличение вдыхаемой фракции кислорода приводит к увеличению концентрации выдыхаемого СО, что приводит к снижению продукции СОHb [9].

Заключение

По данным Всемирной организации здравоохранения, нарушения, связанные с патологией гемоглобина, представляет собой серьезную проблему общественного здравоохранения. Необходимо разрабатывать программы по скрининговым лабораторным дифференциально-диагностическим тестам, специальные биохимические, иммунологические и морфологические методы определения гемоглобина крови.

Список литературы

1. Космачевская О.В., Топунов А.Ф. Альтернативные и дополнительные функции эритроцитарного гемоглобина. Обзор // Биохимия. 2019, Т. 84. № 1. С. 3–23.
2. Дементьева И.И., Чарная М.А., Морозов А.Ю. Анемии: руководство (Библиотека врача-специалиста). М.: ГЭОТАР-Медиа, 2013. С. 304.
3. Tejero J., Gladwin M.T. The globin superfamily: functions in nitric oxide formation and decay. *Biol. Chem.* 2014. No. 395. P. 631–639.
4. Виноградов С.Ю., Диндяев С.В., Криштоп В.В., Торшилова И.Ю. 4. Функциональная морфология тканей. Учебно-методическое пособие для студентов медицинских вузов. Иваново, 2011. С. 85.
5. Зинчук В.В., Глебов А.Н. Формирование независимых механизмов кислородсвязывающих свойств крови при окислительном стрессе // Журнал ГрГМУ. 2007. № 1. С. 17–25.
6. Шамитова Е.Н., Викторovich Н.Н. Изучение влияния дефицита витамина А на физиологическое состояние легких // Современные проблемы науки и образования. 2019. № 4. [Электронный ресурс]. URL: <https://science-education.ru/ru/article/view?id=29001> (дата обращения: 06.06.2021).
7. Кривенцев Ю.А., Кривенцева Л.А. Гемоглобины человека как диагностические маркеры // Научное обозрение. Медицинские науки. 2018. № 1. С. 16–20.
8. Пшеничная Н.Ю., Веселова Е.И. COVID-19 – новая глобальная угроза человечеству // Эпидемиология и инфекционные болезни. 2020. Т. 10. № 1. С. 6–13.
9. Bellmann-Weiler R., Lanser L., Barket R., Rangger L., Schapfl A., Schaber M., Fritsche G., Wöll E., Weiss G. Prevalence and predictive value of anemia and dysregulated iron homeostasis in patients with COVID-19 infection. *J. Clin. Med.* 2020. No. 9. P. 2429–2436.