

HEMOGLOBINE

- I. Introduction
- II. Méthodes d'étude
- III. Structure de l'hémoglobine
- IV. Ontogenèse & Génétique de l'hémoglobine
- V. Biosynthèse & Catabolisme de l'hémoglobine
- VI. Fonctions de l'hémoglobine
- VII. Anomalies de l'hémoglobine
- Conclusion.

I. Introduction :

Le terme d'Hb a été utilisé pour la première fois en 1862 par Hoppe-Seyler pour désigner le pigment respiratoire transportant l'oxygène, contenu dans le globule rouge (95% des protéines intracellulaires, 1/3 du poids sec du GR).

C'est une protéine humaine de coloration rouge, considérée comme un complexe hétéroprotéique, synthétisée par la lignée érythroblastique.

Son principal rôle est le transport de l'oxygène des poumons vers les tissus.

La molécule d'Hb est très étudiée de par sa disponibilité et son implication dans plusieurs pathologies dont les plus importantes sont les anémies.

II. Méthodes d'étude :

1. Examen hématologique : Hémogramme (étude quantitative des paramètres érythrocytaires, étude de la morphologie érythrocytaire) ;

2. Méthodes biochimiques :

-*Dosage de l'hémoglobine* : méthode manuelle ou automatique, par technique colorimétrique, la DO est mesurée à 450 nm et l'intensité de la coloration est proportionnelle à la quantité d'Hb.

VN : NNé : 13.5 - 19.5 g/dl, enfant : 11 - 14 g/dl, adulte ♀ : 12 - 15g/dl, adulte ♂ : 13 - 17 g/dl.

-*Electrophorèse de l'Hb* (à pH alcalin, à pH acide, ELP capillaire) : séparation sous l'effet d'un *champ électrique* ; *Focalisation isoélectrique* (séparation selon la différence de point isoélectrique des Hb)

-*Chromatographie en phase liquide à haute performance* (HPLC), ;

-*Dosage de l'Hb A2, Dosage de l'Hb F* : technique densitométrique / chromatographique ;

3. Méthodes cytochimiques : *Test de falciformation* (formation de drépanocytes par incubation d'une goutte de sang entre lame et lamelle en conditions d'hypoxie) ; *Test de solubilité* (l'HbS réduite par action d'hydrosulfite de NA précipite dans une solution de phosphate et produira immédiatement un

trouble net dans le tube) ; *Test de kleihauer* (basé sur la résistance de l'Hb F à l'éluion lorsque les GR sont à pH acide) ; *Recherche d'inclusions ou de corps de Heinz* ;

4. Etude de la fonction oxyphorique de l'Hb ;

5. Etude génétique : biologie moléculaire.

III. Structure de l'hémoglobine :

La molécule d'Hb est un sphéroïde de 65 X 55 X 50 Å dont le PM est d'environ 65 KDa.

C'est une chromoprotéine qui a une structure globuleuse formée de quatre sous unités identiques deux à deux. Chacune comporte une partie protéique et un groupement non protéique.

* *Partie protéique : les chaînes de globine*

C'est la partie variable de l'Hb. Les globines sont formées d'une seule chaîne polypeptidique.

Structure primaire : Correspond à l'enchaînement linéaire des acides aminés et qui définit des chaînes de type α (141 aa, Arginine C-ter) et des chaînes non α (146 aa, Histidine C-ter).

Structure secondaire : résulte de l'enroulement hélicoïdal des chaînes polypeptidiques formant huit segments hélicoïdaux (A à H) stabilisés par des liaisons H de faible énergie.

Structure tertiaire : la molécule se replie sur elle-même, au niveau des segments non hélicoïdaux, en une structure globulaire compacte ménageant la « poche d'hème » (aa apolaires et un environnement hydrophobe).

Un monomère comporte : une poche d'hème, une poche de surface, une cavité interne où se fixe le 2,3 DPG.

Structure quaternaire : résulte de l'assemblage des 4 S/U structurales (tétramère). 3 catégories d'aires de contact :

- . Contact entre S/U de même dimère $\alpha 1\beta 1 - \alpha 2\beta 2$: zone rigide (stabilité),

- . Contact entre chaînes non homologues de différents dimères $\alpha 1\beta 2 - \alpha 2\beta 1$: faibles, moins étendues (transition allostérique),

- . Contact entre chaînes homologues $\alpha 1\alpha 2 - \beta 1\beta 2$: peu nombreuses, polaires.

* *Partie non protéique : le groupement prosthétique (L'hème)*

Il résulte de l'association entre une protoporphyrine IX et d'un atome de fer ferreux Fe^{++} central, hexa-coordinable.

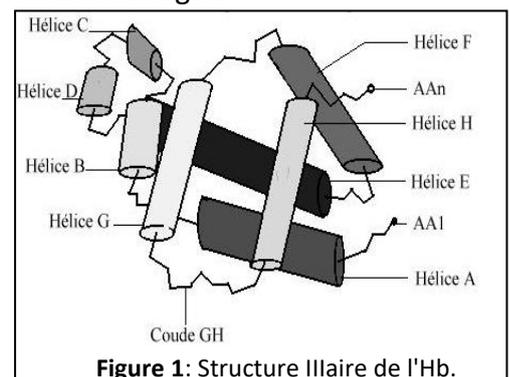


Figure 1: Structure tertiaire de l'Hb.

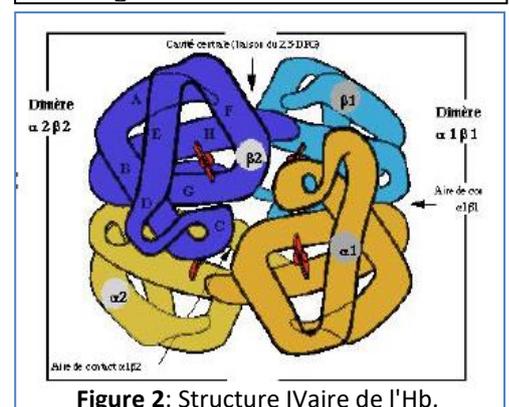


Figure 2: Structure quaternaire de l'Hb.

La protoporphyrine est formée de 4 noyaux pyrroles, unis par des ponts méthényles (coloration), et substituée par 8 chaînes latérales, méthyl, vinyl ou acide propionique (liaison à la globine).

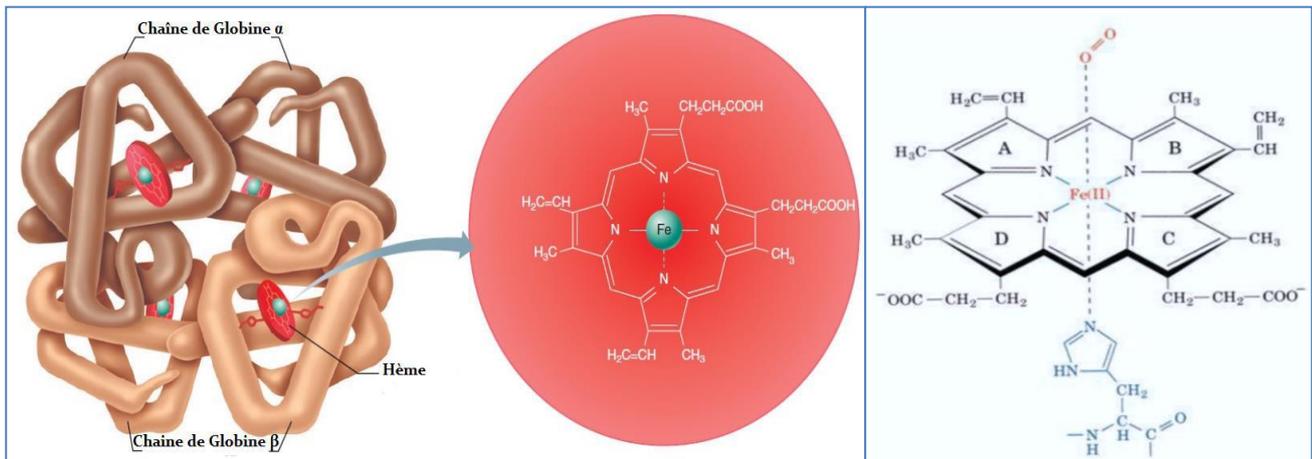


Figure 3 : Représentation du tétramère d'Hb α₂β₂ ; Structure organique de l'hème, la protoporphyrine IX et l'atome de fer avec les liaisons de coordination.

IV. Ontogénèse et Génétique de l'hémoglobine :

1. Ontogénèse :

L'évolution ontogénique de la synthèse des chaînes de globine s'effectue parallèlement au changement du lieu de l'érythropoïèse. Il existe deux commutations :

La 1^{ère} entre la vie embryonnaire à la vie foetale : la synthèse des chaînes ζ et ε est remplacée par celle des chaînes α et γ ;

La 2^{ème} entre 32^{ème} et 36^{ème} semaine de gestation. La synthèse des chaînes γ est progressivement remplacée par celle des chaînes β et δ.

L'assemblage des chaînes est à l'origine de différents types d'Hb présentes à chaque stade de vie.

De même, la proportion relative des Hb évolue en fonction du changement de lieu de l'érythropoïèse. Il faut attendre 6 mois après la naissance pour que le profil électrophorétique adulte soit réalisé.

2. Génétique de l'hémoglobine :

Les gènes des globines sont répartis en 2 familles. L'ordre sur les chromosomes, de 5' en 3', est le même que celui de leur expression au cours du développement.

La famille des gènes α : les gènes sont localisés sur le 16(p12, ter). Cette famille comporte 3 gènes fonctionnels (ζ, α1, α2).

Le gène ζ -codant pour la chaîne ζ- est prédominant jusqu'à la 6^{ème} semaine de vie embryonnaire.

Au 2^{ème} trimestre, débute l'expression des gènes α1 et α2 codant pour la chaîne α.

La famille des gènes β : est plus diversifiée. Les gènes se situent dans la région 11p125p128. Le complexe comporte, de 5' à 3', les gènes suivants (ε, Gγ, Aγ, δ, β).

Le gène ϵ est embryonnaire. L'expression du gène β débute à la fin du 1^{er} trimestre de grossesse. Le gène δ est fonctionnel après la naissance avec une expression faible et constante tout au long de la vie.

Figure 4 : Sites d'érythropoïèse et expression des chaînes de globine du stade embryonnaire au stade adulte.

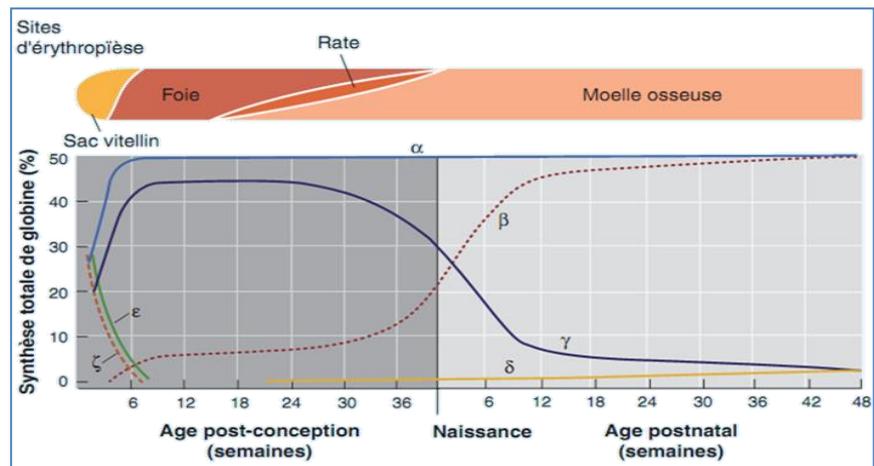


Figure 5 : Structure et organisation des deux familles de gènes de globine.

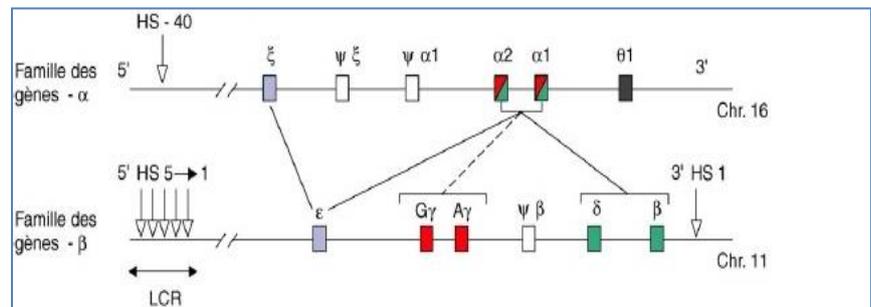


Tableau I: Les Hb humaines normales en fonctions du stade de développement.

Age	Type d'Hb rencontrées	Proportions des différentes Hb	Chaînes de globine
Embryon	Hb Gower 1	/	$\zeta_2\epsilon_2$
	Hb Gower 2	/	$\alpha_2\epsilon_2$
	Hb Portland	/	$\zeta_2\gamma_2$
Fœtus	Hb F	80 - 90%	$\alpha_2\gamma_2$
	Hb A	10 - 20%	$\alpha_2\beta_2$
Adulte	Hb A	97%	$\alpha_2\beta_2$
	Hb A2	1 - 3.2 %	$\alpha_2\delta_2$
	Hb F	< 1%	$\alpha_2\gamma_2$

V. Biosynthèse et Catabolisme de l'hémoglobine :

1. Biosynthèse de l'hémoglobine :

La biosynthèse de l'Hb commence au niveau des proérythroblastes, devient intense à partir de l'érythroblaste polychromatophile, s'achève dans le réticulocyte.

* *Biosynthèse de la globine :*

Lieu : noyau de l'érythroblaste,

Etapes : selon le modèle commun de la synthèse protéique (transcription des gènes, maturation de l'ARNm, traduction, modifications post-traductionnelles). Selon les séquences d'aa, leur nombre et leur nature on distingue les chaînes ($\alpha = 141aa$; $\beta, \gamma, \delta = 146aa$).

Régulation : La synthèse de la globine est induite par l'hème d'où une synchronisation de synthèse des parties héminiques et globiniques de l'Hb. L'EPO stimule également la transcription des gènes.

Chez l'adulte : $\alpha/\text{non } \alpha = 1$.

*** Biosynthèse de l'hème :**

Lieu : alternativement dans la mitochondrie et dans le cytosol des mêmes cellules.

Étapes : Elle s'effectue indépendamment de celle de la globine.

A partir de la glycine et l'ac. succinique, une série de précurseurs intermédiaires sont synthétisés : les porphyrines. Elle est parachevée dans la mitochondrie par l'incorporation de Fe^{++} grâce à l'hème synthétase.

Régulation : assurée par l'hème libre (rétrocontrôle négatif), EPO, fer, vit B6...

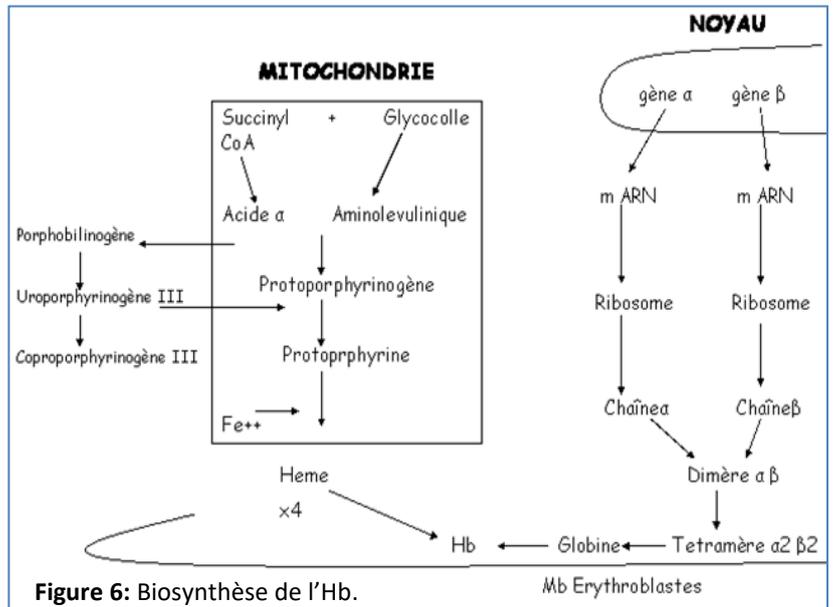


Figure 6: Biosynthèse de l'Hb.

*** Liaison hème-globine :**

Elle se déroule dans le cytosol. Chacune des quatre chaînes de la globine fixe un hème par l'intermédiaire d'une histidine. La 5^{ème} liaison offerte au fer. Une 6^{ème} liaison est contractée lors de la fixation de l'oxygène.

2. Catabolisme de l'hémoglobine :

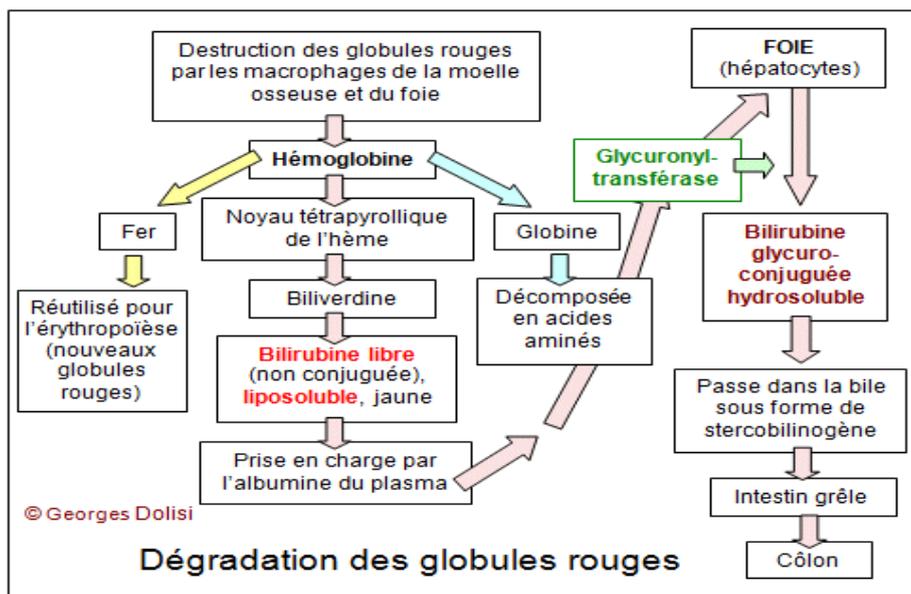


Figure 7 : Catabolisme de l'Hb.

VI. Fonctions de l'hémoglobine :

1. Fonction principale : Transport de l'oxygène

Une molécule d'Hb fixe 4 molécules d'O₂ et constitue l'oxyhémoglobine.

Dans le sang artériel, près de 97% de l'Hb est combiné à l'O₂.

1 g d'Hb A peut transporter 1.34 ml d'O₂, soit un taux normal de 14g d'Hb par 100ml de sang possède une capacité de transporter 20ml d'O₂.

De plus, l'Hb est capable de libérer facilement une grande partie de cet O₂ au niveau tissulaire.

L'efficacité du transport de l'O₂ peut être mesurée par la courbe de dissociation de l'O₂.

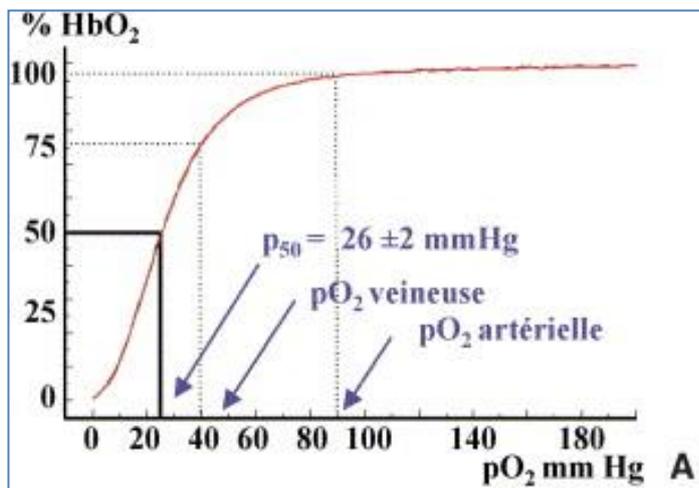
a. Courbe de dissociation de l'O₂ :

En 1904, Bohr traça la courbe représentant la variation du % d'oxy-Hb en fonction de la pression partielle en O₂ (PaO₂) : courbe sigmoïde (hyperbole pour la myoglobine ou des chaînes isolées d'Hb).

La courbe de dissociation de l'Hb renseigne sur 2 paramètres :

- **L'affinité de l'Hb pour l'O₂** : Elle s'exprime au niveau de la courbe par la P50.

P50 : pression partielle en O₂ pour laquelle 50% de l'Hb est oxygénée. Dans le sang, à 37°C, elle est de 26mmHg. Sa valeur varie en sens inverse de l'affinité qui dépend du pH, les anions, le CO₂ et la température.



pH ↓
 CO₂ ↑
 2,3DPG ↑
 T° ↑

Affinité ↓ → P50 ↑
 → Déviation de la courbe vers la droite.

pH ↑
 CO₂ ↓
 2,3DPG ↓
 T° ↓

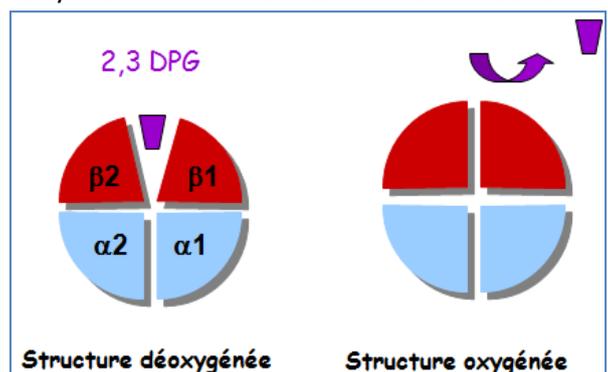
affinité ↑ → P50 ↓
 → déviation de la courbe vers la gauche.

Figure 8: Courbe de dissociation de l'Hb.

- Le phénomène de coopération : transition allostérique

L'Hb fixe lentement la 1^{ère} molécule d'O₂ sur une première S/U du tétramère mais la fixation de la 2^{ème} molécule en est facilitée et sera plus rapide, elle influencera ensuite la fixation de la 3^{ème} molécule (SaO₂ = 75%) et ainsi de suite (SaO₂ = 100%). L'affinité de l'Hb s'accroît en fonction du taux d'Hb déjà oxygénée : **C'est l'effet de coopération.**

Figure 9 : Effet de l'oxy/désoxygénation sur la structure de l'Hb.



La molécule d'Hb évolue entre deux états :

- *Etat relâché R* : correspondant à l'oxyhémoglobine, forte affinité pour O₂ ;
- *Etat tendu T* : correspondant à la dés-oxyhémoglobine, faible affinité pour O₂.

Le 2,3 DPG stabilise la forme T. Lors de l'oxygénation, les deux chaînes β se rapprochent et expulsent le 2,3 DPG.

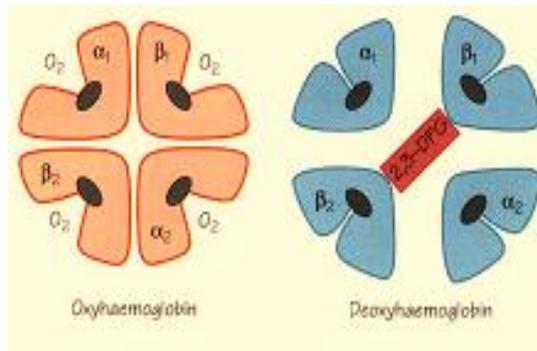
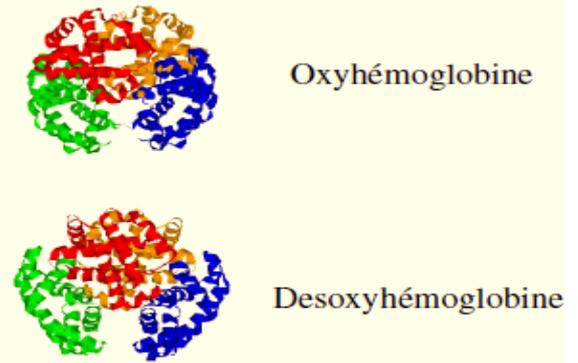


Figure 10 : Formes Oxygénée & Désoxygénée de Hb.

La symétrie est conservée mais il y a un déplacement des sous-unités d'environ 2Å.



2. Fonctions secondaires :

a. Elimination du CO₂ :

L'Hb désoxygénée fixe 10% du CO₂ sur les groupements aminés latéraux de la globine (carbamihémoglobine/carbhémoglobine).

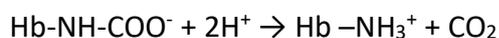
b. Effet tampon : effet Bohr

L'Hb fonctionne comme un tampon en fixant les protons H⁺ au niveau des ponts salins, ce qui permet de maintenir stable le pH érythrocytaire.

Dans les tissus : $\text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O} \leftrightarrow \text{H}_2\text{CO}_3 \leftrightarrow \text{HCO}_3^- + \text{H}^+$ (anhydrase carbonique)



Dans les poumons: $\text{HCO}_3^- + \text{H}^+ \leftrightarrow \text{H}_2\text{CO}_3 \leftrightarrow \text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O}$



c. Transport de CO et NO :

L'affinité de l'Hb pour le CO est 250 fois plus forte que pour l'O₂ mais se fixe moins rapidement que l'O₂. Une fois fixé, le CO se libère très difficilement de l'Hb.

L'Hb peut avoir un rôle dans le stockage et le transport du NO. Il se lierait à l'HbO₂ et s'en détacherait lors de la désoxygénation, permettant une meilleure oxygénation des tissus périphériques par son effet vasodilatateur.

VIII. Anomalies de l'Hémoglobine :

❖ Anomalies constitutionnelles :

a. **Anomalies de structure** : ce sont des anomalies qualitatives de la globine, résultent d'une mutation ponctuelle, parmi ces anomalies on a :

La drépanocytose : anémie hémolytique constitutionnelle corpusculaire, liée à l'apparition de l'Hb S suite à la mutation (β : ac glutamique \rightarrow Valine).

L'hémoglobinoase C (β 6 Glu \rightarrow Lys) ; **L'hémoglobinoase E** (β 26 glu \rightarrow lys) ; **L'hémoglobinoase D**.

b. **Anomalies de la synthèse de la globine** : il s'agit d'un désordre héréditaire de la synthèse d'une ou de plusieurs chaînes de de globine : '**Syndromes thalassémiques**' (β thalassémie ; α thalassémie ; δ thalassémie ; ...).

❖ Anomalies acquises :

- La Méthémoglobinémie : le fer de l'hème est oxydé (Fe^{3+}), à la fois responsable de cyanose et impropre au transport de l' O_2 . Il existe plusieurs causes possibles : toxiques (agents Oxydants). Il existe une Méthémoglobinémie constitutionnelle due à un déficit en diaphorase.

- La sulfhémoglobinémie: résulte de la modification par oxydation de l'Hb qui devient incapable de fixer l' O_2 . Un groupe thiol est fixé au noyau tétrapyrrolique dont il réduit l'un des cycles.

- Une augmentation de l'Hb F est observée dans des circonstances acquises diverses en particulier certaines hyperthyroïdies.

Conclusion :

Malgré un niveau de connaissance important sur la molécule d'Hb et sur ses gènes, le développement de traitement susceptible de remédier aux maladies génétiques de l'hémoglobine ou de remplacer l'hémoglobine naturelle reste toujours difficile.

djinane.bouhsane@univ-constantine3.dz

Références :

1. H.Wajcman. Hémoglobines : structure et fonction. EMC – Hématologie. Volume 2, Issue 3, September 2005, Pages 145-157. <https://doi.org/10.1016/j.emch.2005.08.001>.
2. James Sturgis, Jean-Pierre Duneau. Physicochimie de Macromolécules.
3. Nathalie Couquea, Elisabeth Trawinskia, Jacques Elion. Génétique des maladies de l'hémoglobine. REVUE FRANCOPHONE DES LABORATOIRES - AVRIL 2016 - N°481.
4. <https://www.rcsb.org/>.
5. <http://www.chups.jussieu.fr/polys/biochimie/SFbioch/POLY.Chp.3.html>.
6. De la structure à la fonction d'une protéine : l'hémoglobine. www.jmol.org.
7. M. BAAZIZ. Techniques d'analyse-structure3D. Visualisation tridimensionnelle des molécules à l'aide de RasTop.