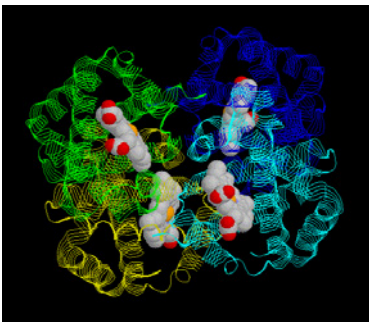


## Einleitung

Blut ist das zentrale „Organ“, das für die wichtigsten Körperfunktionen eine unverzichtbare Komponente darstellt. Blut ist für den Transport von Nährstoffen und Sauerstoff zu den Zellen, den Abtransport von Stoffwechselprodukten, die Temperaturregulation des Körpers und die Immunabwehr zuständig. Es setzt sich aus zellulären und nicht-zellulären Komponenten zusammen.

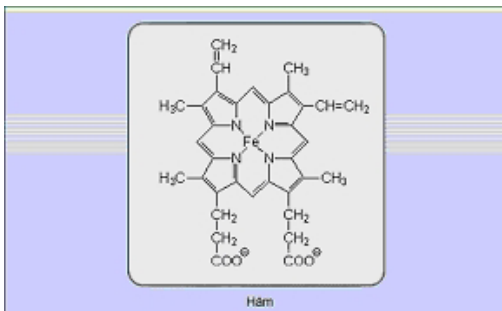
Hämoglobin ist ein Protein (Eiweißstoff) in den Erythrozyten, das den Sauerstoff bindet, transportiert und in den Geweben wieder abgibt. Normale Hämoglobinwerte liegen bei Frauen zwischen 12,0 und 16,0 Gramm pro Deziliter (zehnter Liter) Blut. Bei Männern sind es 14,0 bis 18,0 Gramm pro Deziliter (g/dl). HIV Infizierte haben häufig niedrige oder sinkende Hämoglobinwerte, meist als Folge einer zu niedrigen Zahl der



im Knochenmark produzierten Erythrozyten.

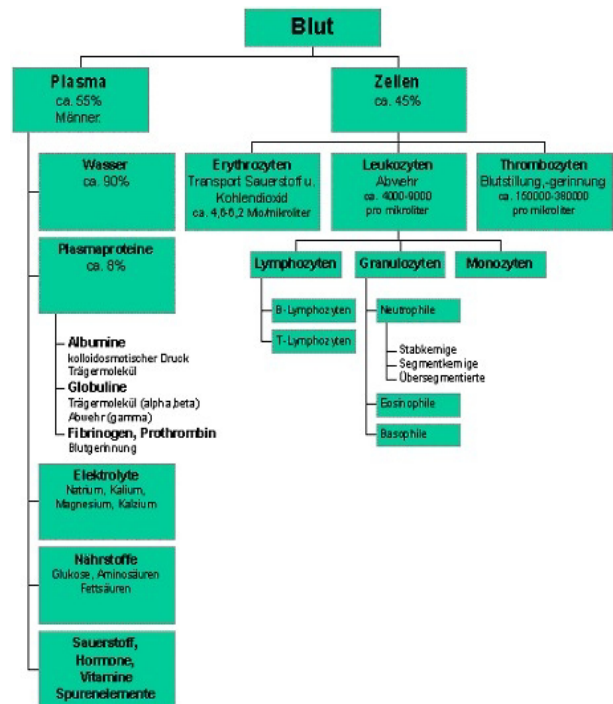
Medikamente, die das Knochenmark schädigen, führen zu einer geringeren Neubildung von roten Blutzellen

und senken so auch den Hämoglobinwert. Anämien werden bei HIV-Infizierten manchmal mit dem Medikament Erythropoetin (Erypo) behandelt. Mit diesem Hormon kann man die Produktion von Erythrozyten stimulieren, die Hämoglobinwerte erhöhen und so den Bedarf an Bluttransfusionen senken. Bei einer schweren Anämie lassen sich Transfusionen allerdings meist nicht vermeiden.



Die Bildung erfolgt aus je 4 (Proto-)Häm-Molekülen und – normalerweise – 4 paarweise identischen, über Kreuz aneinandergelagerten, bezüglich der Aminosäuresequenz u. Kombination unterschiedlichen Globinketten (z.B. HbA1 aus je 2  $\alpha$ - u.  $\beta$ -Ketten =  $\alpha_2\beta_2$ ; A2 =  $\alpha_2\alpha_2$ ; F =  $\alpha_2\beta_2$ ); die Ketten bestehen aus 141 ( $\alpha$ -Kette) bzw. je 146 ( $\beta$ ,  $\delta$ ,  $\epsilon$ ) Aminosäuren (»Resten«; Abb.) u. liegen paarweise als Dimer (z.B.  $\alpha_2\beta_2$ ), seltener vierfach als Tetramer (z.B.  $\beta_4$ ) oder achtfach als Oktomer (z.B. Hb Allegre) vor. Der Normalwert der Hb-Konzentration beträgt im Blut 134–173 g/l (männl. 153, weibl. 145), in Ery 299–357 g/l (vgl. Färbekoeffizient). Die Gesamtmenge beträgt beim Erwachsenen ~750 g (pro Ery 27–32 pg). Im Plasma – in geringer Menge vorhandenes – Hb ist normalerweise an Haptoglobin gebunden. Biologische Funktionen:

- 1.) Transport molekularen Sauerstoffs ( $O_2$ ) durch umkehrbare Bildung von Oxy-Hb (stufenweise Bindung von 4  $O_2$  an die 4 Häme ohne Änderung der Wertigkeit des Eisens = Oxygenierung); die spezifische, von  $O_2$ -Partialdruck, Temperatur u. Wasserstoffionenkonzentration bzw.  $CO_2$ -Spannung abhängige Sauerstoff- =  $O_2$ -Kapazität beträgt 1,34 ml  $O_2$ /g Hb (= HÜFNER\* Zahl; gemäß IUPAC 1,36 ml); bei normalem Hb-Gehalt und normaler  $O_2$ -Sättigung werden ca. 21 ml  $O_2$ /100 ml Blut befördert.
- 2.) Transport von Kohlendioxid ( $CO_2$ ), und zwar ca. 20% des Blut- $CO_2$  in Carbamino-Hb (Hb-NHCOO-).
- 3.) Puffersubstanz, u. zwar durch freie -COOH- u. -NH<sub>2</sub>-Gruppen (30% der Gesamtpufferkapazität des Blutes) sowie in Verbindung mit der Bildung von Oxy-Hb (Hb bindet als schwächere Säure aus



Unter Hämoglobin versteht man den roten Blutfarbstoff und seine Varianten. Im eigentlichen Sinne das normale, in den roten Blutkörperchen (Erythrozyten) enthaltene, vor allem in Normoblasten, Retikulozyten gebildete HbA1 (bis 98% des Gesamt-Hb), HbA2 (< 3%) und das fetale Hb (HbF). Eisen(II)-haltige Chromoproteide, bestehend aus Häm als prosthetischer Gruppe und aus Globin (ca. 94% des Hb) als immunspezifischem, die Hb-Antigenität bedingendem Eiweiß.

Die Bildung erfolgt aus je 4 (Proto-)Häm-Molekülen und – normalerweise – 4 paarweise identischen, über Kreuz

- 3.) Kohlendioxid freigesetzte Wasserstoffionen, die in der Lunge, bei Bildung der stärkeren Säure Oxyhämoglobin =  $\text{HbO}_2$ , frei werden). – Durch Einwirkung von Kohlenmonoxid (dessen Affinität zu  $\text{Hb} > 100\text{mal}$  größer ist als die des  $\text{O}_2$ ) erfolgt Umwandlung in Kohlenmonoxidhämoglobin, durch Oxidation erfolgt Bildung von Hämoglobin (=Methämoglobin), durch  $\text{H}_2\text{S}$  die Bildung von Sulfhämoglobin (vgl. Blutgifte).

Nach der bei Abbau, Zerfall der roten Blutkörperchen erfolgenden Freisetzung des Hb erfolgt dessen Abbau zu Gallenfarbstoffen, Eisen u. Globin.

Hb ist ein rotbraunes, wasser- u. alkalilösliches, optisch aktives (rechtsdrehend) Kristallpulver mit Molekulargewicht von ca. 68 000, dessen I.P. bei pH 6,8 u. dessen  $\lambda_{\text{max}}$  bei 554 nm liegt. Wird verwendet unter anderem als Nährbodenzusatz und für Enzymbestimmungen.

Die Bestimmung der Hb-Konzentration erfolgt durch Hämoglobinometrie (Hämoglobincyanid), sein Nachweis unter anderem mit Wasserstoffperoxid-haltiger alkoholischer Benzidin-Lösung (s.a. Blutnachweis).

### Hämoglobin-Arten:

#### 1. anomales / pathologisches Hämoglobin

erbliche Hb-Varianten durch Austausch einer Aminosäure der  $\alpha$ - oder  $\beta$ -Kette gegen eine andere (wird nomenklatorisch angegeben durch Aminosäuresymbol und Sequenzort) oder durch Zusammentreten von 4 gleichartigen Polypeptidketten (Tetramer). Der Krankheitswert ist verschieden (Hämoglobinopathien);  $\alpha$ -Varianten sind sofort,  $\beta$ -Varianten erst einige Wochen nach der Geburt, d.h. mit Ende der  $\beta$ -Kettensynthese, festzustellen.

#### 2. Hb A

Das normale »adulte« Hb des Erwachsenen; Hauptkomponente ist das HbA1 (s.a. glykosyliertes Hämoglobin) oder Hb0 (sein Globin:  $\alpha_2\beta_2$ ); seine »Minorkomponente« ist das HbA2 (macht etwa 1,5–2,5% aus; Globin:  $\alpha_2\beta_2$ ), das erst Wochen nach der Geburt auftritt u. bei  $\beta$ -Thalassämie vermehrt ist. Aus HbA1 entsteht, wahrscheinlich während der Ery-Alterung, HbA3 (mit Bindung von Glutathion).

#### 3. Hb C

Ein anomales Hb. Kommt vor bei der Hb-C-Krankheit (v.a. in Westafrika), die sich bei Homozygotie durch Anämie, viele Targetzellen u. Milzvergrößerung auszeichnet (bei Heterozygotie nur durch Targetzellen).

#### 4. Hb D

Ein anomales Hb mit zahlreichen  $\beta$ -Ketten-Varianten. Die Hb-D-Krankheit zeichnet sich bei Homozygotie durch Anämie aus. Die Hb-D-Sichelzellerkrankheit (bei doppelter Heterozygotie, d.h. für Hb S u. D) ist eine milde Sichelzellanämie.

#### 5. Hb E

Ein anomales Hb. Die Hb-E-Krankheit (bei Homozygotie) ist eine Anämie mit Targetzellen und Splenomegalie; die Hb-E-Thalassämie (bei Kombination einer Heterozygotie für Hb E mit  $\beta$ -Thalassämie) ist eine schwere Anämie, ähnlich der COOLEY\* Anämie.

#### 6. Embryonales Hämoglobin

Das frühfetale Hämoglobin.

#### 7. Hb F

Fetales Hb

Hämoglobin mit der Globin-Variante  $\gamma_2$ ; es macht nach der Geburt bis 80%, im 3. Lebensjahr nur noch 1–3% des normalen Hb aus (da die fetalen  $\gamma$ -Ketten durch  $\beta$ -Ketten ersetzt werden); ist aber vermehrt bei Thalassämie und bei erblicher Hb-F-Persistenz.

#### 8. Frühfetales Hämoglobin

Das »Hb GOWER« früher Entwicklungswochen; beim 35-mm-Embryo erfolgt der Ersatz seiner  $\alpha$ - durch  $\gamma$ -Ketten.

#### 9. Glycosyliertes Hämoglobin

Hb mit kovalent (u. nicht Enzym-katalytisch) gebundener Glucose = HbA1a–c. Kommt in kleinen Mengen in normalen Erythrozyten vor u. vermehrt bei Diabetikern (in Abhängigkeit vom Blutzuckerspiegel; eignet sich daher – entsprechend der Lebensdauer der Ery – zu rückwirkender Beurteilung des Kohlenhydrathaushalts dieser Kranken).

#### 10. Hb H

Ein anomales Hb ( $\beta_4$ -Tetramer), nachweisbar bei der Hb-H-Krankheit =  $\alpha$ -Thalassämie (eine mikrozytäre Anämie infolge Hemmung der  $\alpha$ -Ketten-Synthese).

#### 11. Instabiles Hämoglobin

Anormales Hb, das bereits bei Heterozygotie zur Hämoglobinopathie führt (hämolytische Anämie mit Bildung von HEINZ\* Körpern spontan oder erst nach Splenektomie).

#### 12. Hb M

Anomales Hämoglobin durch  $\beta$ -Ketten-Abweichungen; z.B. bei angeborener Methämoglobinämie.

#### 13. Reduziertes Hämoglobin

Mit Natriumdithionit-Lsg. behandeltes Hb. Diese Hämoglobinart ist eigentlich das sauerstoffarme («desoxygenierte») Hb im venösen Blut.

#### 14. Hb S

Das Sichelzell-Hb; ein anomales Hb (mit  $\alpha$ -Ketten-Variante). Die Hb-S-C-Krankheit (bei Trägern von Hb S und Hb C) ist eine – meist gutartige – Sichelzellanämie mit Milztumor.

#### 15. Methämoglobin

Physiologisches Hämoglobin, das anstellen eines Fe-II im Zentrum des Porphyrinringes ein Fe-III hat.

### Versuch 1: Absorptionsspektren von Hämoglobinvarianten

Da der Eisenporphyrinring des Häm im Hämoglobinmolekül konjugierte Doppelbindungen besitzt, absorbiert das Hämoglobin Licht im sichtbaren Spektralbereich. Die Absorptionsmaxima sind abhängig vom gebundenen Liganden, das heißt verschiedene Arten von Hämoglobin können anhand ihrer Absorptionsmaxima voneinander unterschieden werden.

Ziel des Versuchs war es, die Absorptionen verschiedener Hämoglobinarten anhängig von unterschiedlicher Wellenlänge zu messen. Die gemessenen Werte waren:

Wellenlänge	HbO <sub>2</sub>	Hb	HbCO	HbMet
470	1,343	0,8	0,731	1,42
480	1,25	0,77	0,68	1,38
490	1,26	0,8	0,7	1,422
500	1,263	0,86	0,782	1,47
505	1,24	0,9	0,85	1,445
510	1,21	1,02	0,92	1,4
520	1,18	1,2	1,06	1,28
530	1,28	1,42	1,25	1,19
535	1,3	1,554	1,385	1,156
540	1,412	1,734	1,55	1,138
545	1,362	1,835	1,699	1,001
550	1,22	1,99	1,82	0,985
555	1,15	2,037	1,83	0,9
560	0,999	2,023	1,84	0,842
570	1,084	1,853	1,648	0,824
575	1,94	1,69	1,518	0,825
580	1,17	1,568	1,37	0,828
590	0,73	1,255	1,08	0,754
600	0,539	0,863	0,697	0,685
610	0,472	0,645	0,484	0,632
620	0,443	0,57	0,436	0,605
630	0,43	0,513	0,398	0,594
635	0,402	0,499	0,36	0,564
640	0,362	0,463	0,342	0,503
650	0,235	0,416	0,302	0,327
660	0,136	0,386	0,276	0,19

Absorption verschiedener Hämoglobinarten



## Versuch 2: Bestimmung des Bilirubins im Serum

### Hämabbau

Häm wird in Knochenmark, Milz und Leber abgebaut; der limitierende Schritt ist die **Häm-Oxygenase**. Diese öffnet die  $\alpha$ -Methinbrücke zwischen den Pyrrol-Ringen I und IV des Häms unter Freisetzung je eines Moleküls Eisen und CO (bei Nichtrauchern ist dieser Schritt die einzige endogene CO-Quelle; durch Messung des CO kann die Bilirubinsynthese ermittelt werden). Dabei kommt es über  $\alpha$ -Hydroxihämin zur Bildung von Biliverdin. Wie der Name ausdrückt, ist diese Substanz grün. Die Häm-Oxygenase ist durch Fasten induzierbar. In den letzten Jahren konnte gezeigt werden, dass Die Häm-Oxygenase ein Stress-induzierbares Protein ist; ihre beiden Produkte sind wichtige Regulatoren: Biliverdin/Bilirubin sind Anti-Oxidantien und CO ist - wie NO - ein wichtiger Regulator des Gefäßtonus. Bei Säugern wird Biliverdin sofort durch die Biliverdin-Reduktase zu Bilirubin reduziert. Im Gegensatz zu Bilirubin ist Biliverdin gut wasserlöslich und untoxisch. Der teleologische Vorteil dieses Weiterabbaus ist ungeklärt. Es wird spekuliert, dass dies entweder die **plazentare Ausscheidung** von Bilirubin (Biliverdin kann die Plazentarschranke nicht durchschreiten) ermöglicht oder dass Bilirubin ein endogener Oxidationsschutz insbesondere für die ans Albumin gebundenen Fettsäuren ist.

Wird der Häm-pool mit radioaktivem Glycin markiert, erscheint ein früher Peak ("early labelled peak") nach etwa 4 Stunden und dauert einige Tage. Dieser macht etwa 20-25 % der gesamten **Bilirubinproduktion** aus und stammt vom Abbau verschiedener Hämoproteine vor allem aus der Leber und aus ineffektiver Erythropoese im Knochenmark. Der Hauptpeak erscheint nach 120 Tagen und stammt vom Abbau des Hämoglobins von alternden Erythrozyten. Dieser Abbau findet im retikulo-endothelialen System (Knochenmark, Milz, Leber) statt. Die normale Bilirubinproduktion des Menschen beträgt  $7 \pm 1$  mmol/kg/Tag; sie kann durch Hämolyse höchstens 8-fach gesteigert werden. Dies ist deutlich weniger als die maximale Ausscheidungskapazität von  $95 \mu\text{mol/kg/Tag}$ . Deshalb steigt das Bilirubin durch Hämolyse allein auf höchstens 70 mmol/l. Steigt das Bilirubin bei hämolytischen Prozessen höher an, muss entweder ein Funktionsverlust der Leber oder eine Störung des Bilirubin-Stoffwechsels postuliert werden. Unkonjugiertes Bilirubin wird im Blut fest an Albumin gebunden; die Bindungskapazität für Albumin ist 560 mmol/l. Wird diese Grenze überschritten, durchquert Bilirubin die Bluthirnschranke und führt zum Kernikterus. Niedrigere Bilirubinkonzentrationen können zum Kernikterus führen wenn das Bilirubin aus seiner Albuminbindung durch Medikamente verdrängt wird oder die Albuminkonzentration erniedrigt ist.

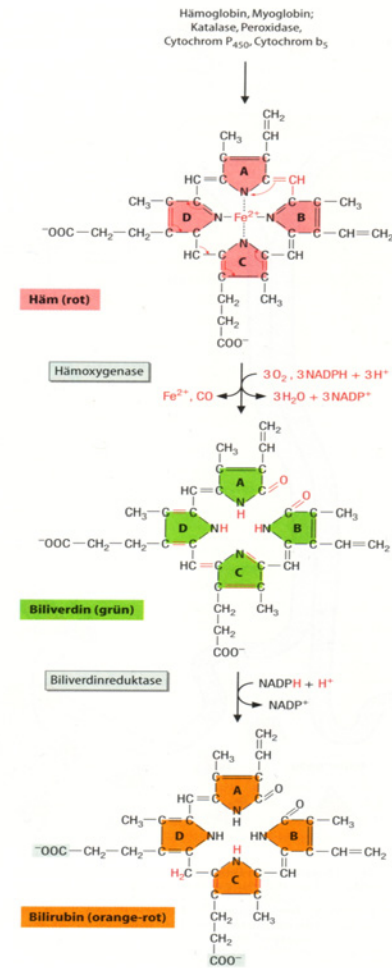
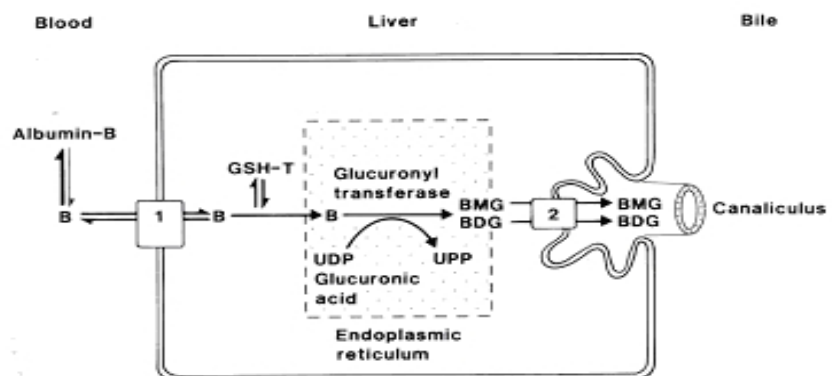


Abb. 21.12 Abbau von Häm zu Bilirubin

### Hepatischer Stoffwechsel des Bilirubins

Das unkonjugierte Bilirubin wird durch einen oder mehrere *carrier* über die sinusoidale Membran des Hepatozyten aufgenommen; der wichtigste ist OATP (*organic anion transport protein*; 1 in Abbildung 2.2.). Die Aufnahme wird - wie schon der Name verrät - kompetitiv durch andere organische Anionen wie BSP, ICG oder Röntgenkontrastmittel gehemmt.



Häm wird zu Gallenfarbstoffen abgebaut - der wichtigste ist das Bilirubin, welches mit diazotierter Sulfanilsäure einen Azofarbstoff, der in neutraler Lösung rot, in alkalischer Lösung blau ist, bildet. Es kommt als freies, an Albumin gebundenes Bilirubin vor, welches erst nach Zugabe eines Akzelators reagiert. Bilirubin wird hierbei erst durch Coffein und Benzoat vom Albumin getrennt und deshalb indirektes Bilirubin genannt, ist wasserunlöslich und wird folglich auch nicht über die Niere ausgeschieden. Eine weitere Erscheinungsform stellt das direkte Bilirubin dar, welches dem Namen zufolge auch direkt zu einem Farbstoff reagiert. Es handelt sich hierbei um wasserlösliches Bilirubinmono- und Bilirubindiglucuronid mit konjugierten Doppelbindungen - diese sind nierengängig.

### Bilirubinquantifizierung:

Messung mit Akzelator = Gesamtbilirubin

Messung ohne Akzelator = direktes Bilirubin

Gesamtbilirubin – direktes Bilirubin = indirektes Bilirubin.

### Bestimmung des Gesamtbilirubins

$$\hat{a}_{578\text{nm}} = 6,8 \cdot 10^4 \frac{l}{\text{mol} \cdot \text{cm}}$$

$$MG_{\text{Bilirubin}} = 585 \frac{g}{\text{mol}}$$

Extinktion bei  $\lambda = 578\text{nm}$ : 0,388

c =

$$c = \frac{0,388 \cdot \text{mol} \cdot \text{cm}}{6,8 \cdot 10^4 l \cdot 1\text{cm}} \cdot 585 \frac{g}{\text{mol}} \cdot \frac{2,45}{0,2} = 0,0409 \frac{g}{l} = 4,09 \frac{mg}{100ml}$$

**[Norm: 0,5 – 1]**

$$\frac{E}{\epsilon \cdot d} \cdot \frac{V}{v} \cdot F \cdot MG$$

### Bestimmung des direkten Bilirubins

$$\hat{a}_{546\text{nm}} = 5,12 \cdot 10^4$$

$$MG_{\text{Bilirubin}} = 585 \frac{g}{\text{mol}}$$

Extinktion bei = 546nm: 0,075

$$c = 0,0105 = 1,05 \frac{mg}{100ml}$$

**[Norm: bis 0,25]**

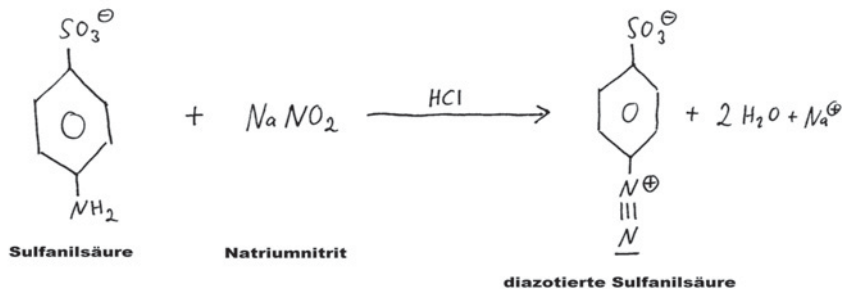
Beide Bilirubin - Werte sind zu hoch. Symptome sind beim Patienten sicherlich schon leicht als Skleren- und Hautikterus erkennbar! Eine sichere Diagnose kann erst nach Anamnese, eingehender körperlicher Untersuchung und Anwendung weitere Basisdiagnostika z.B. Sonographie, detailliertes Blutbild etc. gestellt werden. Ursächlich kommen drei Ikterusformen in Frage: prähepatischer, hepatischer und posthepatischer Ikterus.

## Versuch 3: Nachweis von Urobilinogen und Bilirubin im Harn mit Teststäbchen

Bilirubin wird im retikulo-endothelialen System (Leber, Milz, Knochenmark) als Abbauprodukt des Häms aus gealterten Erythrocyten gebildet, nach Transport in die Leber glucuronidiert und in die Galle sezerniert. Dort wird ein Teil mit dem Faeces ausgeschieden, der andere wird resorbiert (→ entero-hepatischer Kreislauf). Bei einer Hyperbilirubinämie (Ursachen: siehe Fragen zu Versuch 3) kann es zur Ausscheidung von Bilirubin und Urobilinogen im Urin kommen.

Mittels Teststäbchen lassen sich halbquantitative Bestimmungen von Bilirubin und Urobilinogen im Urin durchführen. Die entstehende Farbe beruht auf der Diazoreaktion: die Teststäbchen enthalten stabile Diazoniumsalze. In Bilirubin wird die Methylengruppe zwischen Ring C und D gespalten, es entstehen zwei diazonierte Dipyrrole und Formaldehyd.

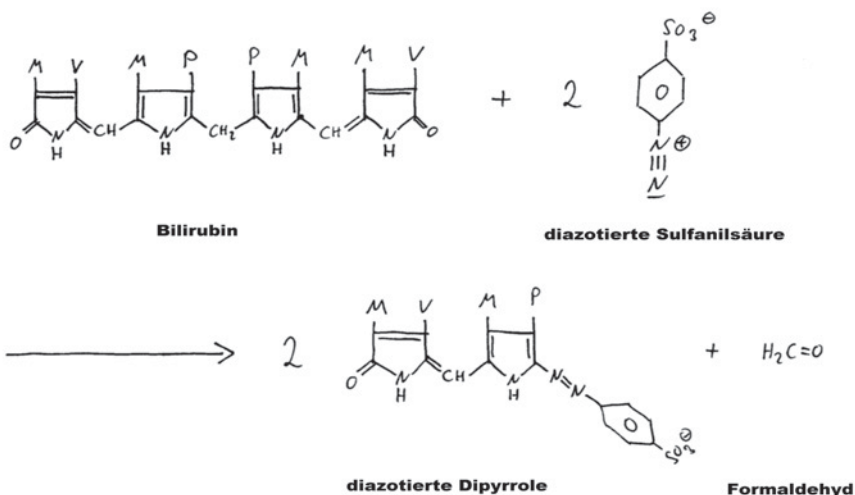
**Bildung von diazotierter Sulfanilsäure**



**Ergebnisse der Harnuntersuchung eines Probanden der Gruppe:**

Dichte	1,025
PH	6
Leukocyten	10-25
Leukocyten / $\mu$ l	
Nitrite	negativ
Eiweiß	30 (0,3)
Glucose	negativ
Ketone	negativ
Urobilinogen	normal
Bilirubin	+
Blut	negativ
Hämoglobin	negativ

**Farbreaktion, Bildung diazotierter Dipyrrrole**



**Versuch 4: Bestimmung des Eisens im Serum**

Eisen stellt ein essentielles Spurenelement im menschlichen Organismus dar. Der menschliche Organismus enthält ca. 3-5g Eisen, das wie folgt verteilt ist:

- mehr als 60% im Hämoglobin
- etwa 5% im Myoglobin
- etwa 2% in Oxidoreduktasen (Cytochrome, Peroxidasen, Katalasen)
- der Rest in verschiedenen Eisenspeichern

Der Versuch behandelt die Bestimmung der latenten und totalen Eisenbindungskapazität einer Serumprobe. Hierzu wird das zirkulierende Eisen (an Transferrin gebunden) mittels schwach sauren Phosphatpuffer abgespalten und mit Natriumascorbat zu  $Fe^{2+}$  reduziert (da Eisen als dreiwertiges Ion an Transferrin gebunden ist). Dann wird es durch sulfoniertes Bathophenanthrolin in eine rotgefärbte Verbindung überführt und photometrisch bestimmt. Somit erhält man die an Transferrin gebundene zirkulierende Eisenmenge. Zur Berechnung der latenten Eisenbindungskapazität ist nun wichtig zu wissen, das nur 1/3 des Transferrins mit Eisen beladen ist, die anderen 2/3 zirkulieren unbeladen als Apotransferrin. Somit lässt sich die latente EBK berechnen. Die Gesamt-EBK ist nun die Summe aus latenter EBK und eisengesättigtem Transferrin.

Dieser Versuch wurde an unserem Praktikumstag nicht durchgeführt, daher können keine Ergebnisse erbracht werden.

**Fragen zu Versuch 1:**

**• Wie kann man eine Oxyhämoglobin-Lösung von einer Kohlenmonoxid-Hämoglobinlösung unterscheiden?**

→ durch die Farbe

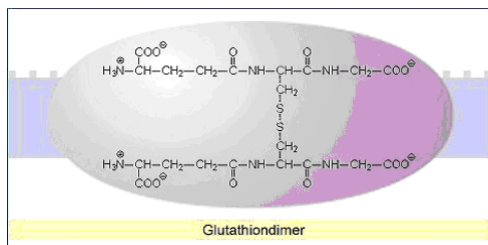
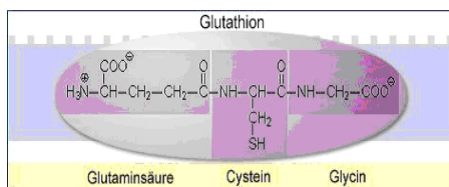
HbO<sub>2</sub> = hellrot  
HbCO = kirschrot

→ bei Analysen werden die Proben mit einem leichten Reduktionsmittel (z.B. Natriumdithionit) behandelt: das Oxyhämoglobin gibt den Sauerstoff ab und wird zu Desoxyhämoglobin. Das Kohlenmonoxid-Hämoglobin dagegen behält das Kohlenmonoxid in Bindung. Desoxyhämoglobin und Kohlenmonoxid-Hämoglobin können nun photometrisch bestimmt werden.

**• Durch Oxidation mit O<sub>2</sub> entsteht physiologischerweise stets eine kleine Menge Methämoglobin. Was geschieht damit im Organismus?**

Das Häm im Hämoglobin besteht aus einem Porphyrinring sowie einem Fe<sup>2+</sup>-Ion, das koordinativ in der Mitte des Porphyrinringes gebunden ist. Durch Oxidationsmittel wie z.B. O<sub>2</sub> (beim physiologischen Transportvorgang), Kaliumferricyanid, Wasserstoffperoxid oder aromatische Nitro- und Aminverbindungen wird das zweiwertige Eisen zu dreiwertigem Eisen oxidiert. Dreiwertiges Eisen (Fe<sup>3+</sup>) kann kein Sauerstoff zum Transport binden, es kommt zur Sauerstoffunterversorgung peripherer Organe und Gewebe.

Die sogenannte Autoxidation beschreibt die ständige Methämoglobin-entstehung im Erythrocyten bei Sauerstoffbeladung in der Lunge. Das Sauerstoffmolekül übernimmt ein Elektron vom Eisen, es entsteht Methämoglobin (Fe<sup>3+</sup>) und ein Superoxidanion (O<sup>2-</sup>).



Die Methämoglobinkonzentration im Erythrocyten übersteigt aufgrund NADH-abhängiger Methämoglobinreduktasen 1-2% nicht.

Die Methämoglobinreduktase reduziert das dreiwertige Eisen zu

zweiwertigem Eisen, womit die Sauerstofftransportfähigkeit wiederhergestellt ist. Die Superoxidanionen werden als erstes von einer Superoxid-Dismutase zu Wasserstoffperoxid und Sauerstoff umgewandelt - das Wasserstoffperoxid wird dann von einer Selen-haltigen Peroxidase (mit Glutathion als Cosubstrat) zu Wasser entgiftet (siehe Abbildung).

**• Wie erfolgt der Transport von CO<sub>2</sub> im Blut?**

Der größte Teil des CO<sub>2</sub> wird in Form von Bicarbonat im Blut transportiert. Ein kleiner Teil des CO<sub>2</sub> wird an das Hämoglobin oder an Plasmaproteine gebunden, während ein weiterer kleiner Teil physiologisch im Blut gelöst transportiert wird.

Sobald CO<sub>2</sub> in den Erythrocyten diffundiert finden folgende Reaktionen statt:

- 1.) CO<sub>2</sub> wird an Aminogruppe des Hämoglobin gebunden  

$$R-NH_2 + CO_2 \longrightarrow R-NHCOO^- + H^+$$
- 2.) CO<sub>2</sub> wird unter Katalyse der Carboanhydrase I hydratisiert, das entstandene H<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> dissoziiert in HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> und H<sup>+</sup>  
 → HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> diffundiert mit Konzentrationsgefälle ins Plasma  
 → H<sup>+</sup> wird ans Hämoglobin gebunden, O<sub>2</sub> wird ans Gewebe abgegeben  
 Der Erythrocyt verliert damit Anionen, zum Ausgleich bedient er sich des Chloridaustausch-Systems → Austausch von HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> gegen Cl<sup>-</sup> durch Protein 3

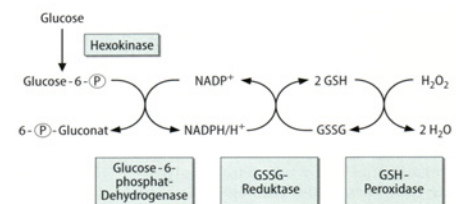
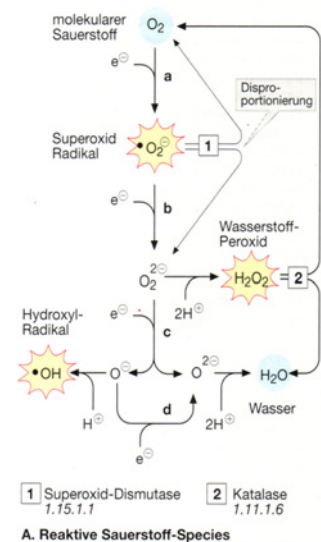


Abb. 31.8 Peroxidentgiftung durch die Glutathionperoxidase-Reaktion im Erythrocyten

In den Lungenkapillaren muss nun  $\text{CO}_2$  abgegeben und  $\text{O}_2$  aufgenommen werden.  $\text{CO}_2$  diffundiert aufgrund des  $\text{CO}_2$ -Partialdrucks in Gasphase in die Alveolen (und wird hier abgeatmet), Quellen hierfür sind:

- 1.) covalente Carbaminbindungen der Plasmaproteine und des Hämoglobins
- 2.) umgekehrte Reaktion der Carboanhydrase I ( Erythrocyten nehmen  $\text{O}_2$  auf und geben Proton ab, Proton reagiert mit aufgenommenen Bicarbonat aus dem Plasma unter Katalyse der Carboanhydrase I zu  $\text{H}_2\text{O}$  und  $\text{CO}_2$ )

### **Fragen zu Versuch 3:**

#### **• In welchen Organen findet der Porphyrinabbau statt?**

Der Porphyrinabbau findet in den retikulo-endothelialen Zellen von Leber, Milz und Knochenmark statt. Sie stellen den Abbauort von Erythrocyten dar: gealterte Erythrocyten bleiben aufgrund mangelnder Verformbarkeit in einem Filtermaschenwerk hängen und werden abgebaut. Das Häm wird über die Zwischenstufe Biliverdin zu Bilirubin abgebaut, welches an Albumin gebunden zur Leber transportiert und dort glucuronidiert und in die Galle sezerniert wird.

#### **• Wodurch ist die gelbe Farbe des Harns bedingt?**

Die Gelbfärbung des Harns beruht auf Urinfarbstoffen, die prozentual bedeutsamsten sind:

- Urochrom A (25%)
- Urochrom B (70%)
- Uroerythrin (4%)

Die Farbe des Urins unterliegt Beeinflussungen durch die Konzentrationen der gelösten Stoffe, etwaiger pathologischer Bestandteile und Arznei- sowie Nahrungsmitteln.

#### **• Welche Ikterus-Formen unterscheidet man?**

Ein Ikterus tritt bei einer Hyperbilirubinämie auf (Bilirubin  $> 2\text{-}3\text{mg} / 100\text{ml}$  Plasma), da sich das schlecht wasserlösliche Bilirubin in Geweben ablagert. Man unterscheidet:

- hämolytischer Ikterus (prähepatischer Ikterus)
  - alle Zustände, die mit Erhöhung des Erythrocyten-Abbaus einhergehen
  - gehäufte Bildung von Bilirubin (übersteigt Glucuronidierung und Ausscheidung)
  - Erhöhung des nicht-konjugierten Bilirubins
- hepatocellulärer Ikterus (intrahepatischer Ikterus)
  - Schädigung der Hepatocyten, Störung des Bilirubintransports in Gallenkapillaren
  - Erhöhung des konjugierten Bilirubins
- Verschlussikterus (posthepatischer Ikterus)
  - Blockade der ableitenden Gallenwege in bzw. nach der Leber mit Rückstau in Hepatocyten
  - glucuronidiertes Bilirubin tritt in Lymphsystem und Lebervenen über
  - Erhöhung des konjugierten Bilirubins

#### **• Welche Ursachen hat der Neugeborenen-Ikterus? Problematik der Rhesus-Unverträglichkeit in diesem Zusammenhang?**

→ physiologischer Ikterus

Jedes Neugeborene hat im Vergleich zum Erwachsenen eine Hyperbilirubinämie, 50% der Neugeborenen sind in den ersten fünf Lebenstagen ikterisch.

Grund: es findet eine erhöhte Produktion von Bilirubin aufgrund des Abbaus von fetalen Hämoglobin statt, die der Reifung der Ausscheidungsmechanismen zeitlich vorangeht.

→ pathologischer Ikterus

Kommt es in der Phase des physiologischen Ikterus zusätzlich zur verstärkten Hämolyse (z.B. durch Rhesus-Unverträglichkeit) kann es bei Nichtbehandlung (Therapie: Austauschtransfusionen) zur Schädigung von Hirnkernen kommen (= Kernikterus).

Die Problematik der Rhesus-Unverträglichkeit besteht, wenn die Mutter Rhesus-negativ und das Kind Rhesus-positiv ist. Eine geringe Menge des kindlichen Blutes gelangt spätestens bei der Geburt in den mütterlichen Kreislauf und induziert dort eine Antikörperproduktion. Für das erste Kind besteht also keine Gefahr. Kommt es allerdings zu einer zweiten Schwangerschaft mit einem Rhesus-positiven Kind treten die Antikörper über die Placenta in den kindlichen Körper ein und rufen eine Hämolyse mit schweren Schädigungen bis hin zum Tod des Kindes hervor. Heutzutage kann man allerdings die Antikörperbildung medikamentös unterdrücken, so dass eine Rhesus-Unverträglichkeit keine Gefahr mehr darstellt.

• **Welche Funktion erfüllt Haptoglobin? Was geschieht bei Haptoglobinmangel?**

Haptoglobin gehört zu den Plasmaproteinen (Gruppe:  $\alpha_2$ -Globulin). Es ist für die Bindung von freiem Hämoglobin zuständig. Ist zu wenig Haptoglobin vorhanden wird Hämoglobin glomerulär filtriert und im Urin ausgeschieden (= Hämoglobinurie).

**Fragen zu Versuch 4:**

• **Zählen Eisen und Kupfer zu den Spurenelementen? Welche anderen Metalle spielen im Organismus eine physiologische Rolle?**

Es gibt 3 Gruppen von Spurenelementen:

- A.) essentiell
- B.) möglicherweise essentiell
- C.) nichtessentiell

Eisen und Kupfer gehören zu den essentiellen Spurenelementen

<b>METALL</b>	<b>FUNKTION, MITWIRKUNG BEI</b>
→ Eisen (A)	= Elektronen- und Sauerstoff-Transfer
→ Kupfer (A)	= Oxidasen (Elektronentransfer)
→ Molybdän (A)	= Elektronentransfer
→ Kobalt (A)	= Funktion an Vitamin B12 gebunden
→ Zink (A)	= Cofaktor vieler Enzyme, Stabilisierung biologischer Membranen, Bestandteil DNA-bindender Proteine
→ Mangan (A)	= Knorpelstoffwechsel, aktiviert verschiedene Enzyme
→ Fluor (B)	= Remineralisierung der Zähne
→ Jod (A)	= Bestandteil von Schilddrüsenhormonen
→ Chrom (A)	= unbekannt
→ Selen (A)	= Bestandteil von Selenoproteinen
→ Cadmium (C)	
→ Blei (C)	
→ Quecksilber (C)	

• **Was versteht man unter Morbus Wilson?**

Morbus Wilson ist eine autosomal-rezessiv vererbte Erkrankung, die sich als hepaticolenticuläre Degeneration manifestiert. Ursache ist hierbei eine Störung im Kupferstoffwechsel: zum einen kommt es zur Abnahme des Kupfereinbaus in Caeruloplasmin, zum anderen verringert sich die biliäre Kupferausscheidung. Es folgt eine Akkumulation von Kupfer in der Leber, die mit Leberfunktionsstörungen verbunden ist. Weiterhin lagert sich Kupfer im Gehirn (→ betrifft Ncl. lenticularis der Basalganglien, führt zu Koordinationsstörungen) und in der Decemet-Membran des Auges (→ goldbraune, gelbe oder grüne Umrandung der Cornea, Kayser-Fleischer-Ring) ab.

Die Probleme werden durch einen Defekt im Gen verursacht, das für ein Kupfertransportprotein codiert. Die Therapie besteht in Einhaltung einer kupferarmen Kost sowie medikamentösen Kupferentzug (Chelatbildner).

• **Wie lässt sich die Krankheit diagnostizieren?**

Zum einen durch Basisuntersuchungen, die zu erweiterter Diagnostik führen können:

- Koordinationsstörungen
- Kayser-Fleischer-Ring

Desweiteren über Blut-Laboranalysen:

- Kupfer-Plasmaspiegel ↓
- Caeruloplasminspiegel ↓
- an Albumin gebundenes Kupfer ↑
- Ausscheidung von Kupfer, Aminosäuren und Harnsäure im Urin ↑

**Wie bestimmt man LEBK und Gesamt-EBK?**

- LEBK → latente Eisenbindungskapazität
- Gesamt-EBK → Gesamt-Eisenbindungskapazität

Eisen wird im Serum durch Transferrin ( $\beta$ -Globulin) transportiert. 1/3 des Transferrins ist mit dreiwertigem Eisen beladen, die anderen 2/3 sind unbeladen und dienen als latente Eisenbindungskapazität.

Die Gesamt-EBK ist die Summe aus beladenem und unbeladenem Transferrin.

Der Nachweis von Eisen wird über folgende Schritte durchgeführt:

- X Abspaltung des Eisens mit schwach saurem Phosphatpuffer
- X Reduktion mit Natriumascorbat
- X Überführung des Eisens in rotgefärbte Verbindung mittels sulfoniertem Bathophenanthrolin
- X photometrische Bestimmung

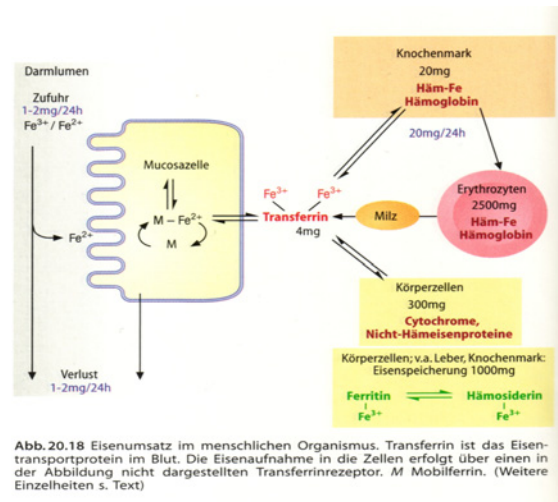


Abb. 20.18 Eisensatz im menschlichen Organismus. Transferrin ist das Eisen-transportprotein im Blut. Die Eisenaufnahme in die Zellen erfolgt über einen in der Abbildung nicht dargestellten Transferrinrezeptor. M Mobilferrin. (Weitere Einzelheiten s. Text)

**Worin unterscheidet sich eine renale Anämie von einer Eisenmangelanämie?**

Eisenmangelanämie → Eisenmangel hemmt die Hb-Synthese, es kommt zur hypochrom-mikrozytären Anämie.

Renale Anämie → es besteht ein Erythropoietin-Mangel durch Nierenschädigungen mit Zerstörung erythropoietinbildender Zellen.

Laborwerte:

**EISENMANGELANÄMIE**

- Serum-Fe < 0,4 mg/l
- Serum-Ferritin ↓
- MCH < 26 pg
- MCV < 70 fl
- Hb < 110 g/l

**RENALE ANÄMIE**

- Erythropoietin ↓
- schlechte Nierenwerte (Schädigung!)
- Hb ↓

**Was ist eine Hämochromatose? Welche Ursachen sind für ihre Entstehung verantwortlich?**

Unter Hämochromatose versteht man eine Eisenüberladung des Organismus. Freies Eisen wird zuerst in Ferritin (fasst 4500  $Fe^{3+}$ -Ionen) gespeichert – ist die Speicherkapazität erschöpft wird Eisen in Hämosiderin abgelagert. Diese beiden Formen stellen INTRACELLULÄRE Speicher dar.

EXTRACELLULÄR wird Eisen an Apotransferrin gebunden. Das entstehende Transferrin kann mit 2  $Fe^{3+}$ -Ionen beladen werden.

Wenn ein Organismus mit einer Substanz überladen wird kommen zwei Ursachen in Frage: entweder es findet eine übermäßige Aufnahme statt oder es kommt zur reduzierten Ausscheidung der Substanz. Da die Eisenausscheidung im menschlichen Organismus ohnehin sehr gering ist die Ursache eine erhöhte Aufnahme. Da die Ferritin-Speicher voll sind kommt es zur Beladung von Hämosiderin. Eine vermehrte Eisenspeicherung ohne Gewebsschäden wird als Hämochromatose bezeichnet. Kommt es zur Gewebsschädigung spricht man von einer Hämochromatose.

Auch hierbei handelt es sich um eine angeborene und damit vererbte Krankheit. Eine Mutation im „Hämochromatosegen“ (Chromosom 6, kurzer Arm) führt zu einer erhöhten Resorption von Eisen in den Darmmucosazellen.

Tabelle 20.7 Am Eisenstoffwechsel beteiligte Proteine (Auswahl)

Bezeichnung	Funktion
Mobilferrin	Transportprotein für $Fe^{2+}$ in Mucosazellen
Transferrin	Transportprotein für $Fe^{3+}$ im Blut (2 $Fe^{3+}$ /Molekül)
Transferrinrezeptor	Rezeptorprotein für Transferrin auf der Zellmembran; wird für die Aufnahme von Transferrin-2 $Fe^{3+}$ benötigt
Ferritin	Intrazelluläres Speicherprotein aus 24 identischen Untereinheiten; speichert bis zu 4500 mol $Fe^{3+}$ /mol Ferritin
Hämosiderin	$Fe^{3+}$ -Protein-Komplexe zusammen mit Ferritin bei Eisenüberladung von Zellen