

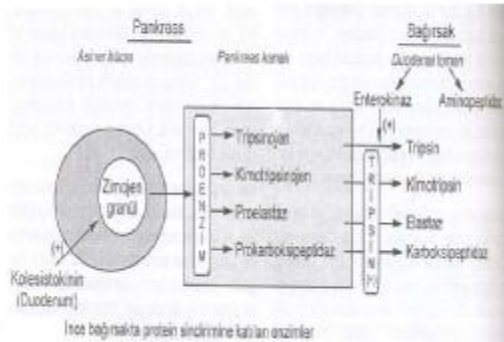
## Protein Metabolizması ve Plazma Proteinleri

Yrd. Doç. Dr. Ahmet GENÇ  
Adıyaman Üniversitesi  
Sağlık Hizmetleri Meslek  
Yüksekokulu

### Besin proteininin sindirimi

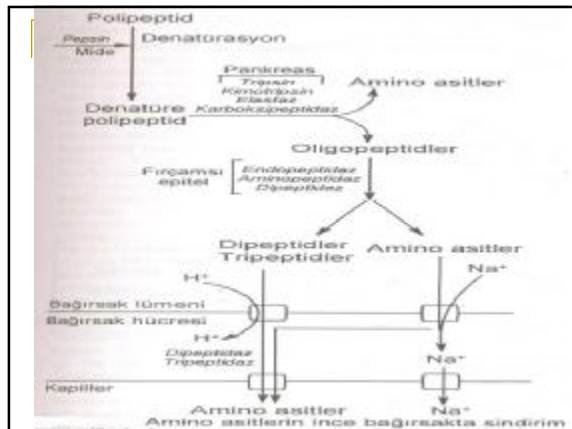
- ❑ Mide mukozasında bulunan salgı hücresinden salgılanan HCl, midede protein sindirimini başlatmaktadır
- ❑ Midenin alt kısımlarındaki mukoza hücrelerinden pepsinojen salgılanır
- ❑ İnce bağırsakta protein sindirimi, midede proteinlerin hidrolizinden açığa çıkan oligopeptidleri ve amin asitleri içeren sıvının duodenuma geçmesi ile başlamaktadır

İnce bağırsak salgısında bulunan enteropeptidaz (enterokinaz), kaskad şeklinde ilerleyen bu kovalent modifikasyonu başlatan enzimdir.



### Amino asitlerin ince bağırsaktan emilimi

- ❑ En fazla jejunumdan olmak üzere amino asitlerin L-izomerleri, ince bağırsağa aktif taşıma ile lümenen bağırsak hücresine alınmaktadır.
- ❑ Burada Na<sup>+</sup> iyonlarına bağımlı sekonder aktif taşımanın söz konusu olduğu ve B6 vitaminin rol oynadığı gösterilmiştir
- ❑ Ayrıca di- ve tripeptidler için H<sup>+</sup> iyonlarıyla eşleşmeli bir taşıyıcı sistem bulunmaktadır



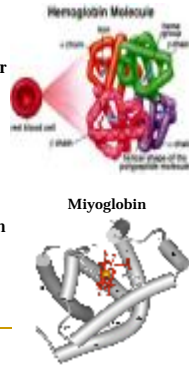
### Amino asitlerin vücutta dağılımı

İnce bağırsak hücresine giren amino asitlerin küçük bir bölümü, o hücrede protein sentezinde kullanılmaktadır.



## HEMOGLOBİN ve MİYOGLOBİN

- Hemoglobin: Kırmızı kan hücrelerinde bulunan, dokulara oksijen taşıyan tetramer yapıda bir metaloproteindir.
- Oksijeni akciğerden dokulara, karbondioksit ve protonları dokulardan akciğere taşımaktadır.
- Miyoglobin: Bütün memelilerde başlıca kas dokusunda bulunan oksijen depolayan monomer yapıda bir proteindir.
- Oksijene affinitesi yüksek olup, oksijen derişimindeki değışimlere duysuzdur



## Normal hemoglobin çeşitleri

### HbA

- Normal bir erişkinde % 97
- 2 $\alpha$  ve 2 $\beta$  globin zinciri

### HbA<sub>2</sub>

- % 2.2-3.7
- 2 $\alpha$  ve 2 $\delta$  globin zinciri

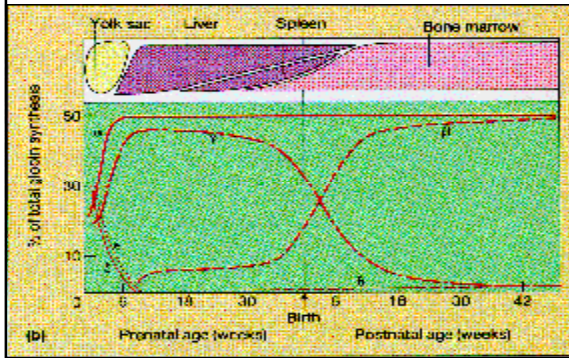
### Hb F :

- Normal erişkin bir insanda <% 1
- 2 $\alpha$  ve 2 $\gamma$  zincirinden oluşur
- Fetus ve yeni doğanın major hemoglobini

### Embriyonik dönemde

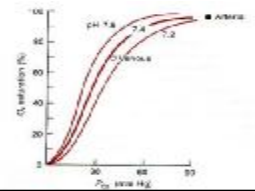
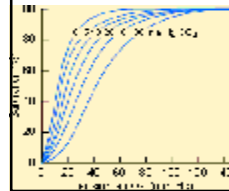
- Gower I ( $\zeta_2\epsilon_2$ )
- Gower II ( $\alpha_2\epsilon_2$ )
- Portland ( $\zeta_2\gamma_2$ )

## HEMOGLOBİN EVRİMİ



## Bohr Etkisi

- pH düştüğünde veya parsiyel CO<sub>2</sub> basıncı arttığında Hb O<sub>2</sub>'i kolayca bırakır. Her iki durumda da Hb' nin O<sub>2</sub>' ne olan ilgisi azalır ve O saturasyon eğrisi sağa kayar
- pH arttığında veya parsiyel CO<sub>2</sub> basıncı azaldığında Hb O<sub>2</sub>' ne ilgisi artar ve O saturasyon eğrisi sola kayar

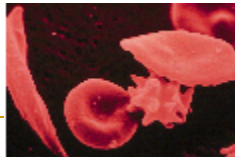


## HEMOGLOBİNOPATİLER

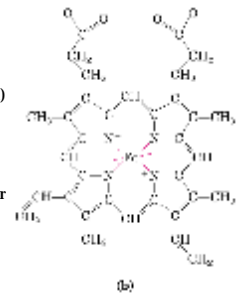
Hemoglobinopatiler, bir veya daha fazla globin zincir sentezinin azalması (talasemi) veya yapısal olarak anormal hemoglobinlerin sentezi (Hb) ile karakterizedir.

Hemoglobin molekülünün yapısında yer alan globin zincirleri üzerindeki aminoasit değışikliği sonucu anormal hemoglobinler meydana gelmektedir.

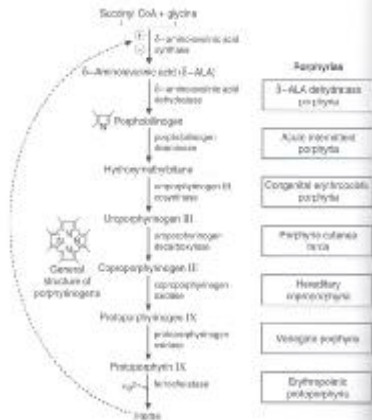
Hemoglobin proteini kodlayan globin genindeki mutasyonlar sonucunda globin zinciri az veya hiç sentezlenmemesine talasemi denir.



- Hemoglobin ve miyoglobin hem adı verilen proteine bağlı prostetik grubun içinde yer alır (Prostetik grup: proteine sıkıca bağlı olan ve işlevine katılan bileşik)
- Hem, protoporfirin adı verilen ferröz (Fe<sup>2+</sup>) durumundaki tek bir demir atomu bağlanmaktadır.
- Fe<sup>2+</sup> oksijeni geri-dönüşümlü olarak bağlar
- Hem, oksijen taşıyan proteinlerde ve bazı proteinlerde (sitokromlarda) bulunur

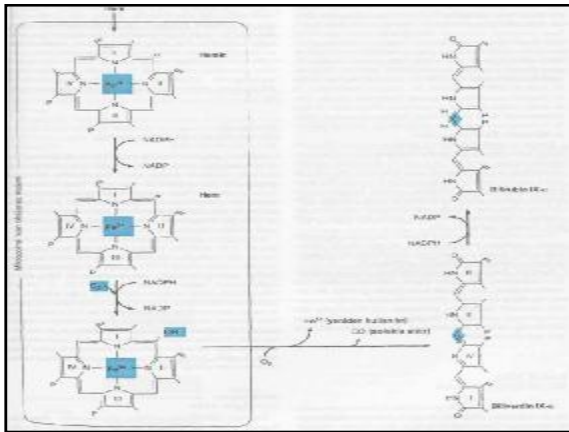


İnsanlarda hem biyosentezinde görevli bazı enzimlerde genetik defekt olması, eritrositlerde, vücut sıvılarında, karaciğerde spesifik porfirin prekürsörlerinin birikmesine yol açar; porfiriyalar diye bilinen bazı genetik hastalıklar ortaya çıkar.



## Hem Katabolizması Bilirubin Oluşturur

- Erişkin insanda her saat  $1-2 \times 10^8$  alyuvar yıkılır. Hemoglobinin globin kısmı amino asitlere yıkılırken, Hemin demiri tekrar kullanılmak üzere demir havuzuna katılır ama porfirin kısmı karaciğer, dalak ve kemik iliğinin retikuloendotel hücrelerinde yıkıma uğrar.
- Hem katabolizması mikroozmlarda hem oksijenaz enzim kompleksi tarafından yıkılır. Ferro demir tekrar ferri forma oksitlenir.
- Periferik dokularda oluşan bilirubin, plazma albümine bağlanarak karaciğere taşınır.
  - 1. Bilirubin karaciğer parankim hücreleri tarafından tutulur
  - 2. Bilirubin düz ER'da konjugasyonu yapılır
  - 3. Konjuge bilirubin safraya salınır

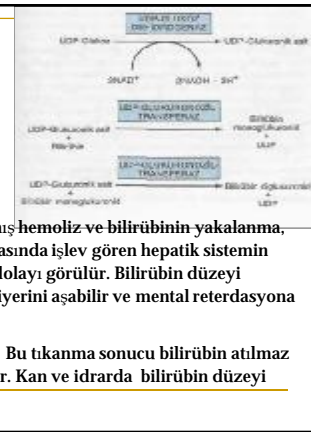


Konjuge bilirubin barsak bakterileri tarafından ürobilinojene dönüştürmektedir. Çoğu ürobilinelere dönüştürülerek atılır.

Hiperbilirubinemiler:

**Yenidoğan Sarılığı:** Hızlanmış hemoliz ve bilirubinün yakalanma, konjuge edilme ve salgılanmasında işlev gören hepatik sistemin olgunlaşmamış olmasından dolayı görülür. Bilirubin düzeyi yükseldiğinde kan-beyin bariyerini aşabilir ve mental retardasyona yol açabilir.

**Safra Yollarının Tıkanması:** Bu tıkanma sonucu bilirubin atılmaz ve hepatik venlerle geri emilir. Kan ve idrarda bilirubin düzeyi yükselir



## Plazma Proteinleri

□ Kan plazmasındaki çözülmüş katı maddelerin büyük çoğunluğunu proteinler oluşturmaktadır.

□ Sağlıklı erişkin bir insanda kan plazma veya serumunun total protein düzeyi ortalama 7 g/dL (5,7-8,0 g/dL) kadardır.

□ Total plazma proteininin 3,5-5,0 g/dL kadarını serum albümin, 2,5-3,2 g/dL kadarını globülinler oluşturur.

$$\% \text{ g total protein} = \% \text{ g albümin} + \% \text{ g total globülin}$$

## Plazma Proteinlerinin Genel Görevleri

- 1) Çoğu kanda taşıyıcılık görevi görür.
  - 2) Bir kısmı plazma ozmotik dengesini korur.
  - 3) Asit-Baz dengesini korurlar.
  - 4) Bir kısmı beslenme ve yapı taşı olarak kullanılır.
  - 5) Ayrıca özel proteinler mevcuttur.
    - a- Fibrinojen pıhtılaşmada rol oynar.
    - b- Globulinler, immün yanıt için gereklidir.
- Bunlar koruyucu ve savunucu proteinler olup, enzim niteliğindedirler.

## Plazma Proteinleri ve Başlıca Görevleri

A D I	FONKSİYONLARI
Haptoglobulin	Hb'i bağlar.
Hemopeksin	Hem'i bağlar.
Transferrin	Fe'i bağlar, taşır.
Seruloplasmin	Cu'ı bağlar ve taşır, Fe <sup>2+</sup> → Fe <sup>3+</sup> dönüştürür.
C3 Kopleman	İmmun sisteme ait enzim proteini.
Plasminojen	Fibrinolizise neden olur.
Fibrinojen	Kanı pıhtılaştırır.
Protrombin	Kanı pıhtılaştırır.
Albumin	Yağ asitleri, Bilirubin, Tiroksin, Kortizol, Hem, çok sayıda ilaçları bağlar ve taşır.

## Plazma Proteinlerinin Derişimi, Sıvısının Kan-Dokularda Dağılımında Önemli Rol Oynar

Molekül ağırlığı küçük olan Albumin osmotik dengede önemli rol oynar.

□ Arteriyollerde hidrostatik basınç ~37 mmHg iken interstisyel basınç 1 mmHg'dır.

□ Plazma proteinlerinin oluşturduğu osmotik (onkotik) basınç ~25mmHg'dır.

□ Böylece 11 mmHg basınç farkı sayesinde kan ile interstisyel (doku) bölge arasında, sıvı alış-verişi ve suyun venöz uçtan damarlara geri dönüşü gerçekleşir.

□ Total protein oranı % 5.5 gr veya Albumin % 2.5 gr altına düşerse, plazma sıvısı ve proteinler doku alanına fazlaca geçtiği için ödem gelişir.



## Plazma Proteinleri

- Çoğu karaciğerde sentez edilir
- Çoğu preproteindir. Bunlar hücre içini boydan boya geçerken çeşitli modifikasyonlara (proteoliz, glikozillenme, fosforlanma vb) uğrar
- Çoğu glikoproteindir (albumin hariç).
- Plazma proteinlerinin çoğu polimorfiktir
  - α1-Antitripsin, haptoglobulin, transferrin, serüloplasmin, immünooglobülinler
- Her plazma proteininin dolaşımında özgün bir yarı-ömrü vardır

□ Plazma veya serum proteinlerini birbirinden ayırmak için büyüklük, kütle, elektrik yükü veya diğer moleküllere olan affinite gibi özelliklerinin farklılığından yararlanılmaktadır.

□ Proteinlerin saflaştırılmasında ve kantitatif tayininde kullanılan yöntemler:

- Fraksiyonel çöktürme,
- Diyaliz
- Çeşitli kromatografi yöntemleri,
- Çeşitli elektroforez yöntemleri ve
- Ultrasantrifüjasyondur.

□ Bu yöntemler arasında rutin çalışmalarda en sık uygulanan selüloz asetat elektroforezidir.

## Protein Elektroforezi

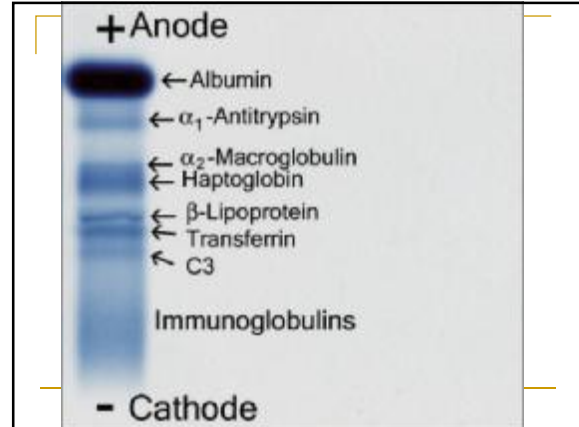
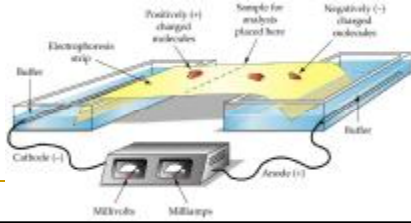
- n Elektroforez uygulanacak örnekte bulunması gereken temel koşul, yük taşıması veya yük taşımak üzere uyarılabilecek yapıda olmasıdır.
- n Elektroforez; Bir çözelti içinde yüklü partiküllerin uygulanan elektriksel alanda göç ederek ayrıştırılmasıdır. Farklı moleküller, farklı göç hızları göstererek birbirlerinden ayırt edilebilirler.
- n Yapılarındaki pozitif ve negatif yüklü amino asitler nedeni ile proteinler amfoter özellik göstermektedirler. Peptid bağı yapısına katılmamış asit veya baz özellikteki gruplar, proteinin içinde bulunduğu ortamın pH değerine bağlı olarak üç değişik yük taşıyabilmektedirler.

n Bir amino asit veya proteinin net yükünün sıfıra eşit olduğu pH değerine proteinin izoelektrik noktası (pI) denir. Çok sayıda amino asitten oluşan bir proteinin izoelektrik noktası pozitif yüklü grupların negatif yüklü grupların sayısına eşit olduğu noktadır.

n Bir protein kendi pI değerinden daha yüksek olan bir çözelti içerisine konulduğunda negatif, aksi halde pozitif yük taşımaktadır. Proteinleri meydana getiren amino asitlerin türü ve sayısı farklı olduğu için her bir proteinin pI değeri değişiktir.

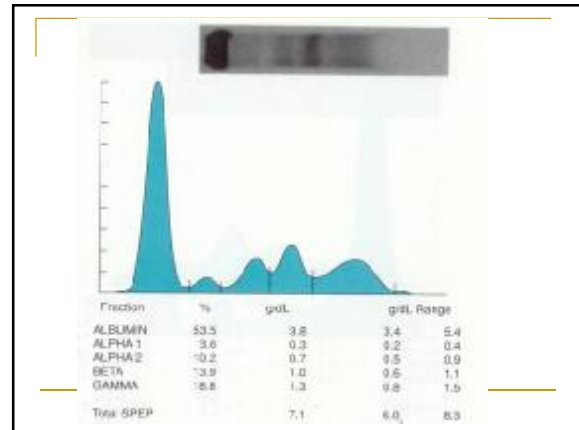
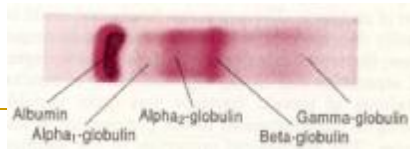
n Elektroforez yöntemini temel prensibini, farklı pH değerlerinde proteinlerin net yükünün değişmesi oluşturmaktadır.

- n Elektrik akımı uygulandığında proteinler negatif yüklenir, ve pozitif elektroda (anod) doğru ilerlemektedirler. Anoda doğru en hızlı ilerleyen serum proteini albumindir.
- n Proteinlerin ayırımını takiben, protein fraksiyonları destek striplerinin asit solusyonunda immersiyonu ile fikse edilir ve Ponceau S, Amido black veya Coomassie blue boyanır



q Serum proteinlerinin elektroforezinde anoda en hızlı göçen fraksiyon albümindir, en yavaş göçen fraksiyon  $\gamma$ -globülin fraksiyonudur.

q Elektroforez işlemi sonunda selüloz asetat bant üzerinde elde edilen serum protein fraksiyonları, bantın bir dansitometrede okutulması suretiyle kantitatif olarak belirlenebilir.



## Serum albümin

- q Serum albümini karaciğerde sentezlenir.
- q Total proteinin ~%60'ını oluşturmaktadır
- q Serum albüminin önemli işlevleri vardır:
  - q Bilirubin, uzun zincirli yağ asitleri, T<sub>3</sub>, T<sub>4</sub>, kortizol, aldosteron, Ca<sup>2+</sup>, Cu<sup>2+</sup>, bazı steroid hormonlar, bilirubin ve bazı ilaçları taşır.
  - q Endojen amino asit deposu olarak görev görür.
  - q Plazma onkotik basıncının devamlılığını sağlar.
  - q Kanın viskozitesini etkiler.
- q Serum albümin düzeyinin normal sınırlardan düşük olması hipoalbuminemi olarak tanımlanır. Serum albümin düzeyi 2,0 g/dL'nin altına düştüğünde ödem gelişir.

## $\alpha_1$ -globülin

- $\alpha_1$ -globülin fraksiyonunun önemli proteinleri:
  - q  $\alpha_1$ -antitripsin,  $\alpha_1$ -asit glikoprotein, alfa fetoprotein (AFP)
- $\alpha_1$ -antitripsin, karaciğer parankim hücreleri, mononükleer seri hücreler ve alveoler makrofajlarda sentezlenir. Plazmanın  $\alpha_1$  fraksiyonunun ana bileşenidir (>%90). Nadir olarak görülen kalıtsal  $\alpha_1$ -antitripsin eksikliği, klinik olarak hepatit ve siroz gelişir.
- Alfa fetoprotein (AFP), fetüsün ana proteini; karaciğerde sentezlenir. Hepatosellüler karsinom ve diğer karaciğer hastalıklarında, gebelikte, testis ve ovaryum kanserlerinde, mide kanserinde serum alfa fetoprotein (AFP) düzeyi artar.

## $\alpha_2$ -globülin

□  $\alpha_1$ - ve  $\alpha_2$ -globülinler arasında göç eden başlıca serum proteinleri, tiroksin bağlayan globülin ve seruloplazmindir.

□  $\alpha_2$ -globülin fraksiyonunun önemli proteinleri  $\alpha_2$ -makroglobülin ve haptoglobindir.

Tiroksin bağlayan globülin, bir glikoproteindir; tiroid hormonları olan T3 ve T4 için temel taşıyıcıdır.

Seruloplazmin, daha çok  $\alpha_2$ -globülin fraksiyonunda gözlenen, karbonhidrat içeren yüksek bakır içeren bir proteindir. Plazma bakırının %90' unu seruloplazmin ve %10' unu albümin taşır. Wilson hastalığında (bakırın safra ile atılmadığı ve karaciğer, böbrek, beyin ve alyuvarlarda biriktiği kalıtsal hastalıktır) ve malnütrisyonunda serum seruloplazmin düzeyi azalır.

$\alpha_2$ -makroglobülin,  $\alpha_2$ -globülin fraksiyonunun büyük çoğunluğunu oluşturur.  $\alpha_2$ -makroglobülin, plazmanın en önemli proteaz inhibitörlerinden biridir. Ayrıca plazma çinkosunun %10' unu (%90' unu albümin) taşır.

Haptogloblin, karaciğerde sentezlenen ve eritrosit dışındaki serbest hemoglobini bağlayan plazma glikoproteindir.

Hergün yıkılan Hb'nin ~%10' u dolaşıma salınır ve ve haptogloblin tarafından tutulur. Serbest Hb böbrek glomerüllerini geçer, tübüllere girer ve burada çökme eğilimi gösterir. Hb-haptogloblin kompleksi glomerülü geçemeyecek kadar büyüktür.

## $\beta$ -globülin

$\beta$ -globülin fraksiyonunun önemli proteinleri, hemopeksin ve transferrindir.

Hemopeksin, %20 oranında karbonhidrat içeren bir glikoproteindir. Hemopeksin, serbest "hem" bağlar. Hem-hemopeksin kompleksi, oluştuktan sonra karaciğer tarafından tutulur ve yıkılır. Karaciğerde, hem-hemopeksin kompleksi yapısındaki "hem" grubunun demiri ferritine verilmekte ve "hem" in geri kalan kısmı bilirubine çevrilmektedir.

Transferrin, 2 adet  $Fe^{3+}$  iyonu bağlayarak gereksinim duyulan bölgelere taşır. Demir, Hb, miyoglobin ve sitokromlar gibi birçok hemoprotein yapısında bulunmaktadır. Ayrıca, az miktarda bakır, çinko, kobalt ve kalsiyum da taşır. Transferrinin plazmaya girecek olan demiri bağlama yeteneğine total demir bağlama kapasitesi (TDBK, TIBC) denir.

## $\gamma$ -globülin

$\gamma$ -globülin fraksiyonunun önemli proteinleri immüloglobülinler (antikorlar), C1 kompleman sistem proteini ve C-reaktif protein (CRP)' dir.

□ C-reaktif protein (CRP): Bazı klinik olgularda bakteriyel enfeksiyonlar (yüksek CRP düzeyi) ile viral enfeksiyonların (düşük CRP düzeyi) ayırımında serum CRP düzeyi kullanılmaktadır.

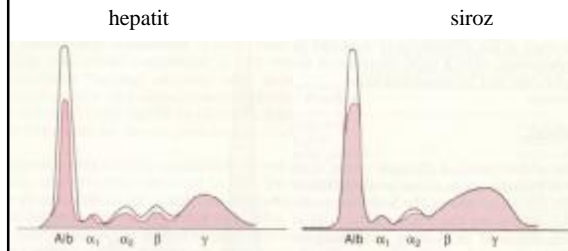
## İmmüloglobülinler

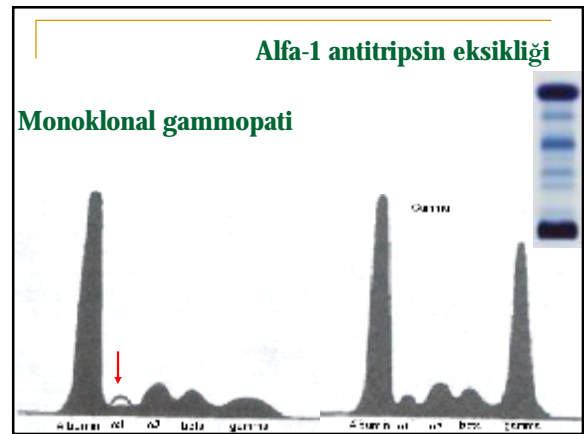
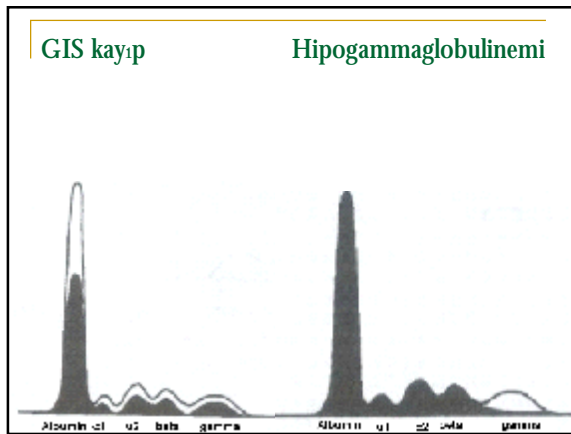
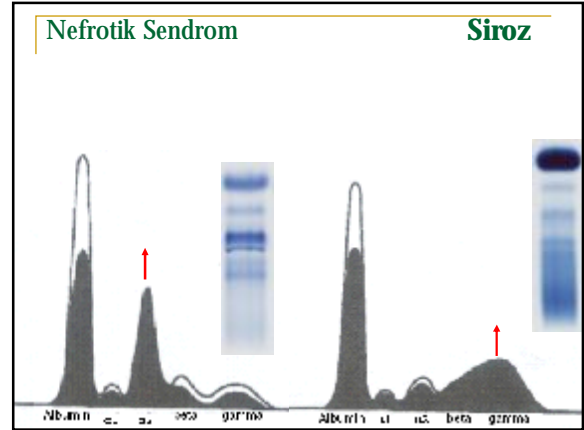
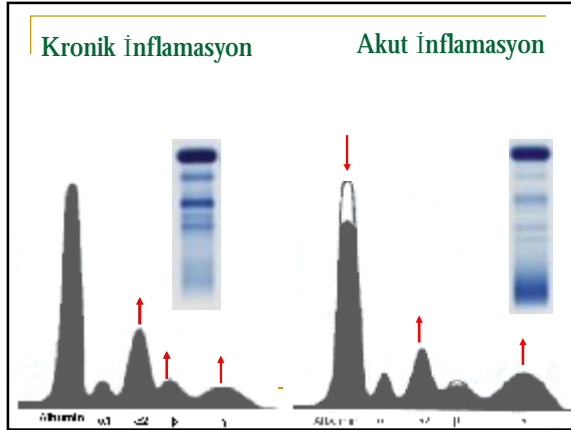
- IgA: Bakteri ve virüslerin mukoz zarlarını tutunmasını engeller
- IgD: Fonksiyonu tam olarak bilinmiyor
- IgE: Erken allerjik durumlarda veya parazit hastalıklarında yükselir
- IgM: Antijene primer yanıt olarak salgılanmaktadır
- IgG: Ig'lerin %75 kadarını IgG oluşturur ve doku aralarındaki toksinleri nötralize eder. Plsentayı geçebilen Ig' dir

Akut ve kronik karaciğer hastalıkları, kronik enfeksiyonlar, akut diffüz glomerülonefrit, karsinom ve otoimmün hastalıklarda serum  $\gamma$ -globülin fraksiyonu artar.

Nefrotik sendrom, ağır malabsorpsiyon ve malnütrisyon, primer ve sekonder immün yetmezlik durumlarında serum  $\gamma$ -globülin fraksiyonu azalır.

## Bazı hastalıklarda serum protein elektroforezi





### Kan Pıhtılaşması

□ Bir damarın kesilmesi veya zedelenmesinden sonra kanamanın durması hemostaz, kan damarlarını örten endotelin tahrip veya yok olmasına sonucunda tromboz görülür.

□ Bunlar kan pıhtılaşması (koagülasyon) olayını kapsar. Koagülasyon; trombosit kümelenmesine neden olan ve bu kümeyi çözen plazma proteinlerini içerir.

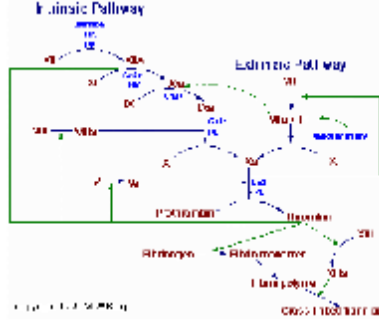
### Hemostaz

Hemostaz, damarların kontraksiyonu, trombosit tıkaçı oluşması, fibrin ağı (pıhtı) oluşması ve fibrinoliz (fibrin ağının çözülmesi) olmak üzere dört basamakta gerçekleşir.

Hemostazın birinci fazında yaralanan damar, kan akımını azaltmak için kontraksiyonla daralır.

Hemostazın ikinci fazında yaralanma yerinde gevşek bir trombosit tıkaçı veya beyaz trombüs oluşur. Yaralanma yerinde endotelin altındaki bağ dokusunda ortaya çıkan kollajen, trombositler için bir bağlanma yeri oluşturur. Trombositler kollajene bağlanırlar ve aktive olurlar.

Hemostazda fibrin ağının yani pıhtının oluşması, pıhtılaşma (koagülasyon) faktörlerinin art arda aktivasyonu ile kaskad şeklinde meydana gelen olaylar dizisi sonucunda gerçekleşir.



## Koagülasyon faktörleri:

Plazmada bulunan ve fibrin ağı oluşturan maddelerdir.

Faktör I	Fibrinogen
Faktör II	Protrombin
Faktör III	Tromboplastin
Faktör IV	Kalsiyum
Faktör V	Protein C
Faktör VI	Protein D
Faktör VII	Tromboplastin
Faktör VIII	Antihemofilin
Faktör IX	Tromboplastin
Faktör X	Tromboplastin
Faktör XI	Tromboplastin
Faktör XII	Tromboplastin
Faktör XIII	Tromboplastin

## Kanama Zamanı ve Pıhtılaşma Zamanı

- Parmak ucu alkolü bezle temizlenir ve kuruması beklenir.
- Bir lam parmağın altında tutulup lansetle parmak ucu delinir ve kronometre çalıştırılır ve bir damla kan lama damlatılır.
- Süzgeç kağıdı kullanılarak parmak ucundaki kan her 30 saniyede bir emilir.
- Kanama durunca kronometre zamanı kanama zamanı kaydedilir. Ortalama değer 1-3 dakikadır; >6 dakika anormal kabul edilir.
- Lamin üzerindeki damlanın pıhtılaşması kontrol edilir. Kan pıhtılaşınca pıhtılaşma zamanı kaydedilir ki bu, normalde 5-10 dakikadır.



## Protrombin zamanı (PTZ) tayini:



- Hacim %3,8'lik sodyum sitrat üzerine 9 hacim kan alınır. Tüp ters yüz edilerek karıştırılır.
- Antikoagulanlı kan 2500 rpm'de 10 dakika santrifüj edilir ve plazma kısmı derhal ayrılıp ayrı bir tüpe konur.
- Sulandırılmış simplastin-kalsiyumdan 0,2 ml tüpe alınır, 37°C'de 3-5 dakika inkübe edilir.
- Simplastin-kalsiyum üzerine yine 37°C'de 3-5 dakika inkübe edilmiş hasta plazmasından (kontrol çalışmaları için kontrol plazmasından) 1 ml konur ve kronometre çalıştırılır.
- Pıhtılaşma saniye olarak tespit edilir.
- Test hasta plazmasında ve kontrol plazmasında ikişer kere tekrarlanır, ortalamalar alınır.
- Hem normalin hem hastanın değerleri saniye ve INR olarak rapor edilir. Normal protrombin zamanı 12-15 saniye ve INR 0,9-1,2 dir.

## Hemofili A,

Kanın pıhtılaşma zamanında uzama ile birlikte kanamaya eğilim gösteren kalıtsal kanama bozukluğudur.

Faktör VIII eksikliğine bağlı olarak ortaya çıkar.

Kanama, protrombin zamanı, trombosit sayısı ve fonksiyonları ile plazma fibrinojeni çok defa normaldir. Pıhtılaşma zamanı hafif olgularda normal, şiddetli olgularda uzundur. APTZ uzamıştır.

## Hemofili B,

Faktör IX eksikliğine bağlı olarak ortaya çıkar.

Genetik geçiş göstermekte ve kliniği hemofili A'ya benzer.

Kanama, protrombin zamanı, trombosit sayısı ve fonksiyonları çok defa normaldir. Pıhtılaşma zamanı ve APTZ uzamıştır.



## K Vitamini eksikliği,

Az alım, absorpsiyon kusuru, K vitamini etkisine antagonist kumarin grubu ilaçların alınması sonucu ortaya çıkar.

Karaciğerde faktör II, VII, IX, X sentezi bozulmuştur.

En sıklıkla APTZ uzamıştır. Kanama zamanı ve trombositler normaldir.