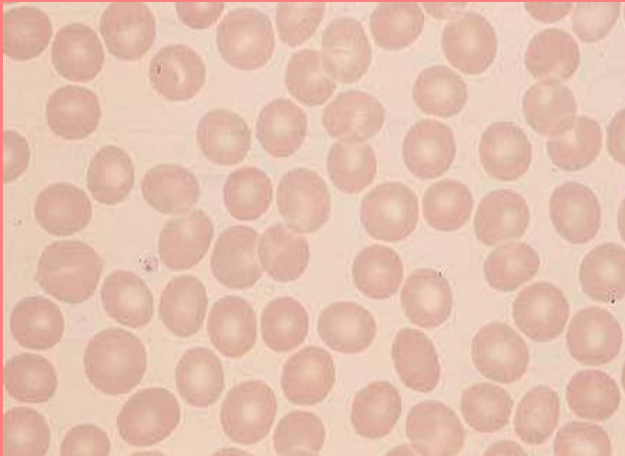


Základy Hematologie/ZHEM

Fyziologie erytrocytů

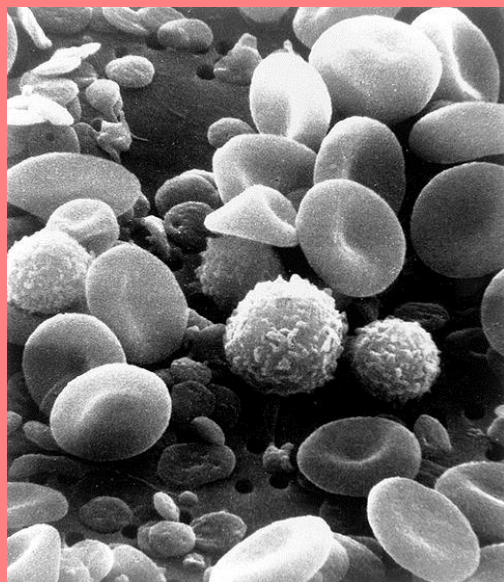


Radim Vrzal

Základní charakteristiky

Erytrocyt - bezorganelová buňka

- tvar: bikonkávní disk ➔ flexibilní pro průchod kapilárami
- funkce: transport dýchacích plynů
(hemoglobin)
- povrch $130-140 \mu\text{m}^2$, objem $85 \pm 10 \mu\text{m}^3$
- počet: muži $4,3-5,3 \cdot 10^{12}/\text{l}$, ženy $3,8-4,8 \cdot 10^{12}/\text{l}$



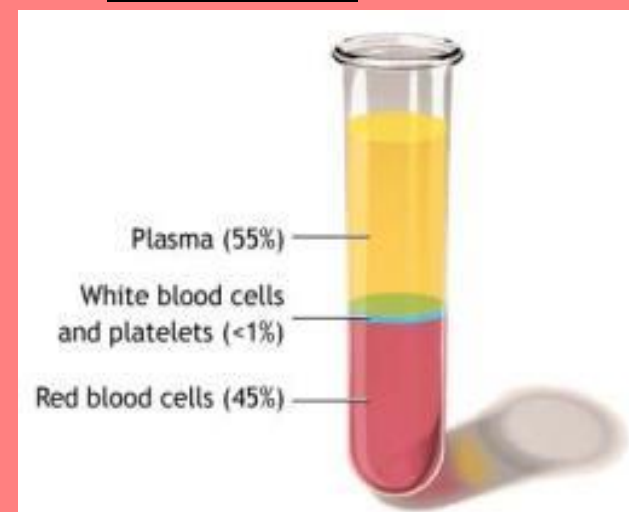
(muži ↑ než ženy)

- poměr objemu Erytrocytů a celé krve = Hematokrit

muži $0,44 \pm 0,05$

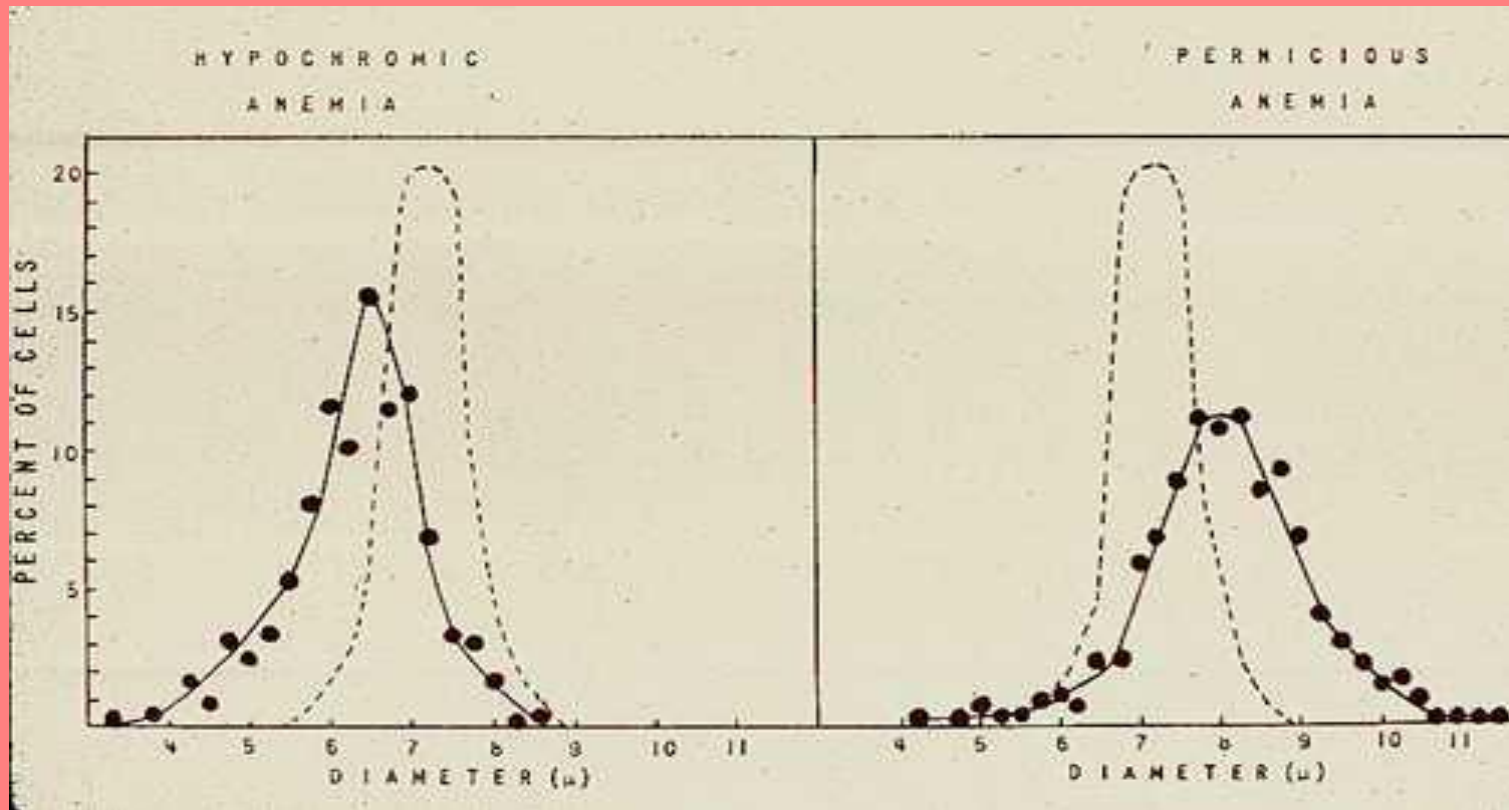
ženy $0,39 \pm 0,04$

- délka života: 110-120 dní



Základní charakteristiky II.

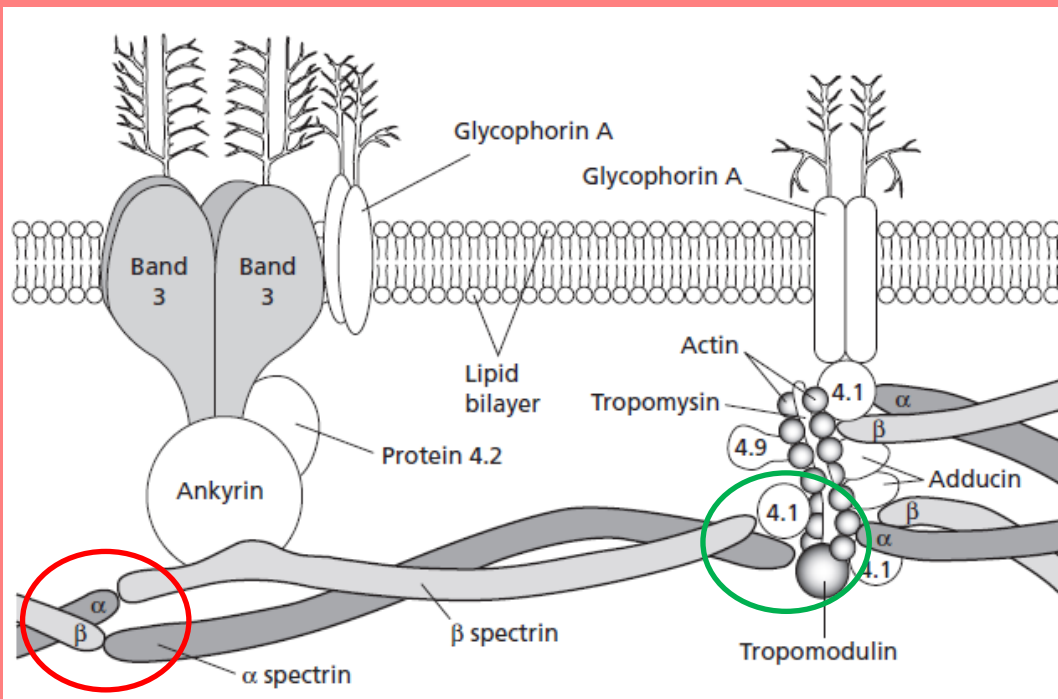
- Průměr Ery: $7,4 \pm 0,5 \mu\text{m}$
- Fyziologická anizocytóza = „normální“ výskyt Erytrocytů různého průměru - (mikrocyty, normocyty, makrocyty)



- posun charakterizuje patologický stav

Membrána erytrocytů

- 50% bílkoviny, 40% lipidy, 10% sacharidy
- výměna látek mezi IC a EC - Na^+ - K^+ , Ca^{2+} pumpy
(Na^+ ~ 7.5-13 mM v Erythrocytech, 130-144 mM v plazmě)
(K^+ ~105-140 mM v Erythrocytech, 3.8-5.4 mM v plazmě)
- strukturní podpora zajišťována vláknitým spektrinem α , β (band 1 a 2 - 25% membr. bílkovin- tvar, deformabilita, obnovení
- „proužek 3“ (Band 3, kapnoforin) – kanál pro ionty ($\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$) a kotvení skeletu (ankyrin, spektrin)

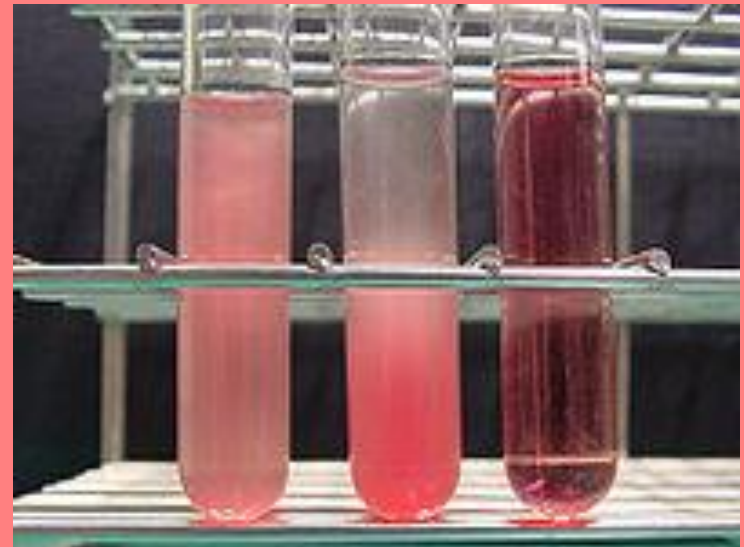


Glykoforiny – glykoproteiny s negativním nábojem (glyk A = vazba pro *Plasmodium falciparum*)

- antigeny krevních skupin (A/B/AB/O – Band 3), Rh faktor, ...

Membrána erytrocytů II.

- značně deformabilní → Erytrocyty přežijí - krevní proud, turbulentní víření, změny pH, změny osmolality
- porušení membrány = rozpad krvinek = **Hemolýza**
(fyziologicky nenastává v krevním řečišti)
- osmotická -hypo/hypertonické prostředí
- fyzikální – třepání, šlehání, ultrazvuk, teploty
- chemická - kyseliny, zásady, saponiny
- toxická – bakteriální toxiny, hadí jedy
- imunologická – působení komplementu (inkompatibilní transfuze)



Krevní skupiny a transfuze I

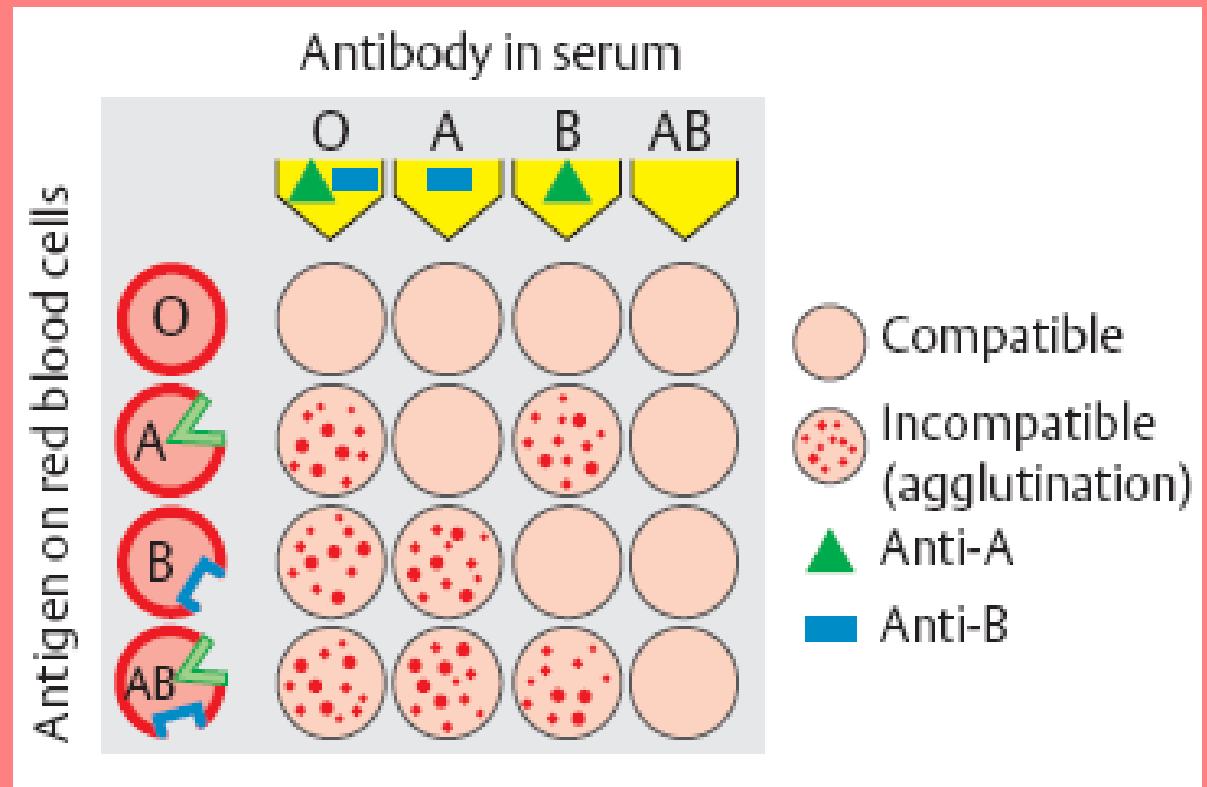
Krevní transfuze – přenos krve z jednoho jedince do druhého

Antigeny krevních skupin – děděné sacharidy či proteiny na povrchu Erytrocytární membrány

Nejvýznamnější → ABO (1901, K.Landsteiner)

Nepřítomny při
narození !!!

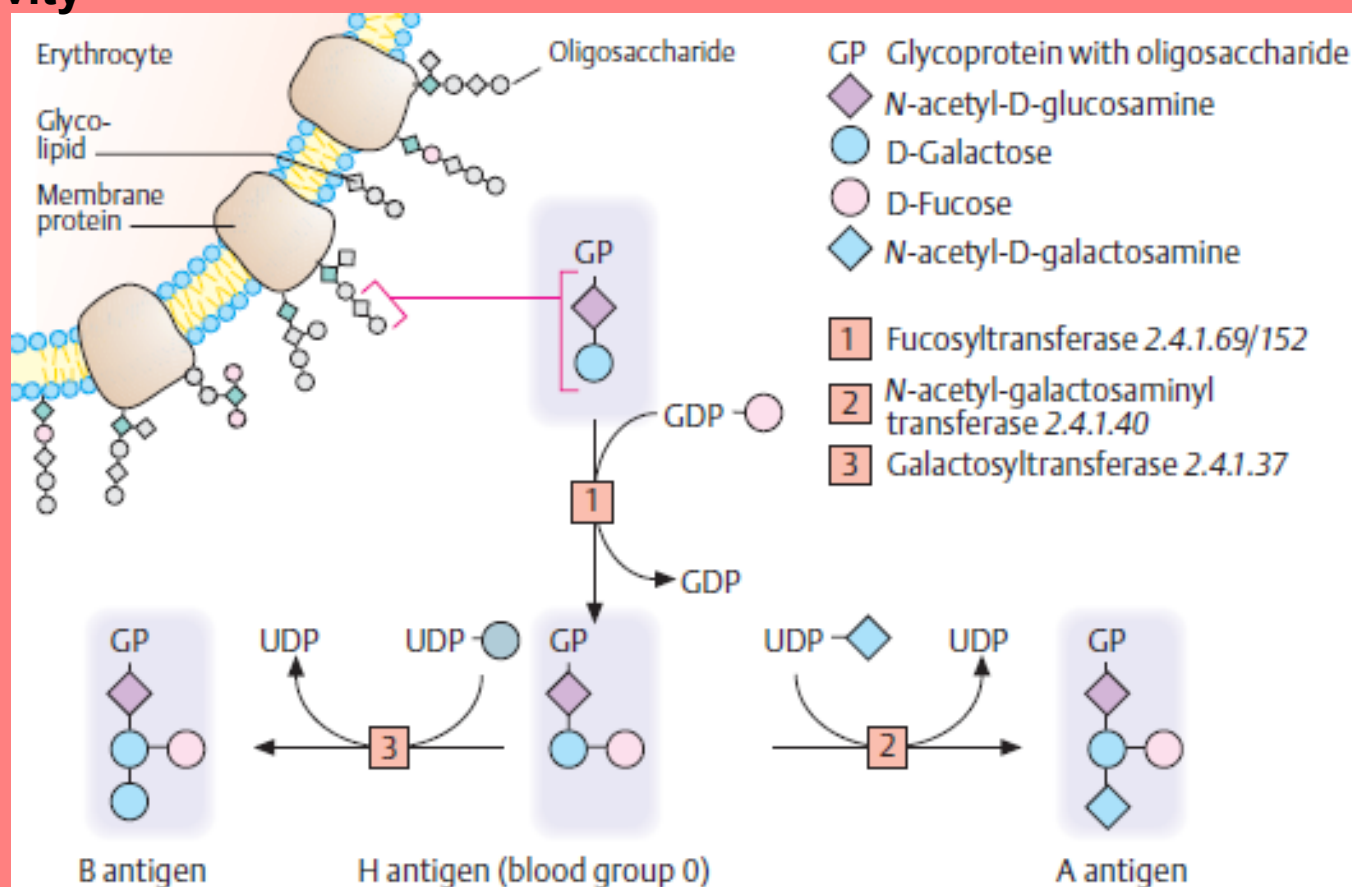
**Přítomnost anti-A a anti-B
protilátek (aglutininů) a
A,B antigenů
(aglutinogenů)**



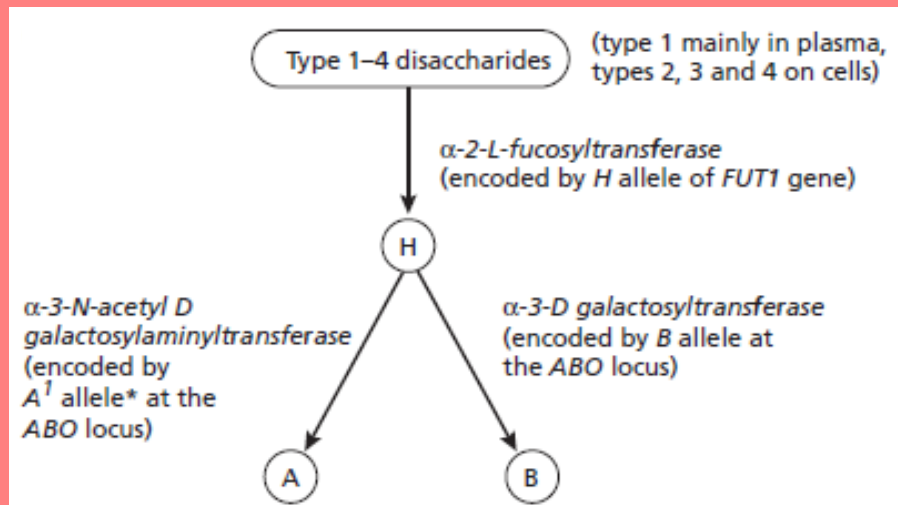
Krevní skupiny a transfuze II.

ABO gen - 9q34.1-9q34.2 = Nekóduje antigen

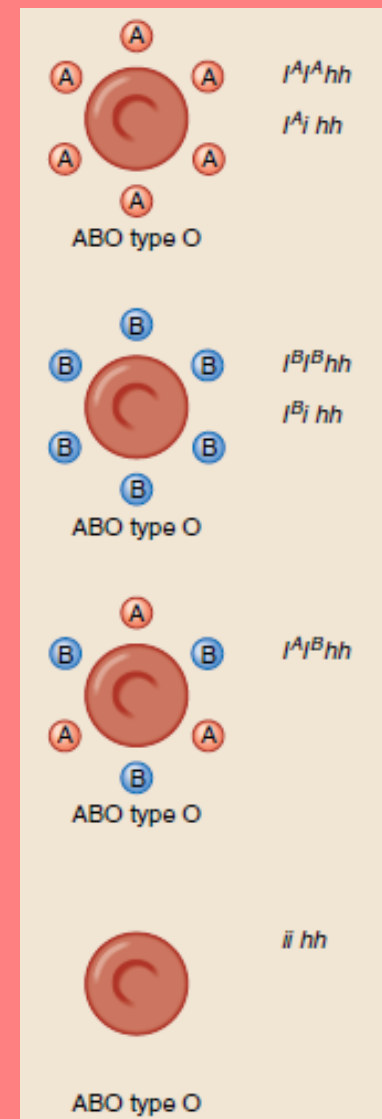
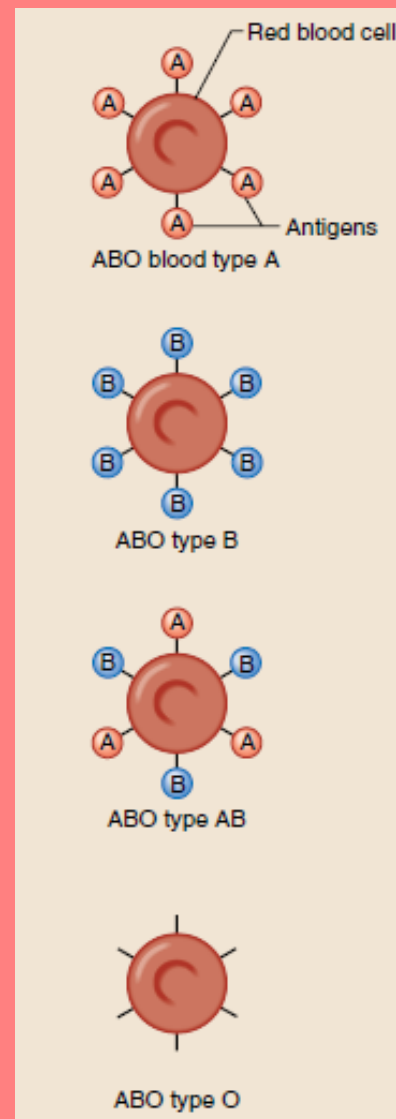
- transferasa A, alpha 1-3-N-acetylgalactosaminyltransferasa
- transferasa B, alpha 1-3-galactosyltransferase)
- transferasy A, B – rozdíl 4 AK v kat. doméně; fenotyp 0 – mutace v alelách → ztráta aktivity



Krevní skupiny a transfuze III.



Locus	Allele	Transferase
<i>FUT1</i>	<i>H</i>	α -2-L-fucosyltransferase
	<i>h</i>	nil
<i>ABO</i>	<i>A</i>	α -3-N-acetyl-D-galactosaminyltransferase
	<i>B</i>	α -3-D galactosyltransferase
	<i>O</i>	nil



Jedinec s genotypem *hh* může být jakéhokoliv genotypu AB0.



hh – vzácný, výjimka Reunion Island

Krevní skupiny a transfuze IV.

Systém Rh (rhesus monkey) krevních skupin

– proteiny na povrchu = antigeny → antigen-
pozitivní Erytrocyty imunizují antigen-negativní jedince

Dědičnost - blízce příbuzné geny

- 1 gen kódující D antigen (RhD)
- ostatní kódující C/c nebo E/e antigeny (RhCE)

Erytrocyty z Rh+ jedinců = RhD a RhCE = D+

Rh- jedinců = pouze RhCE = D-

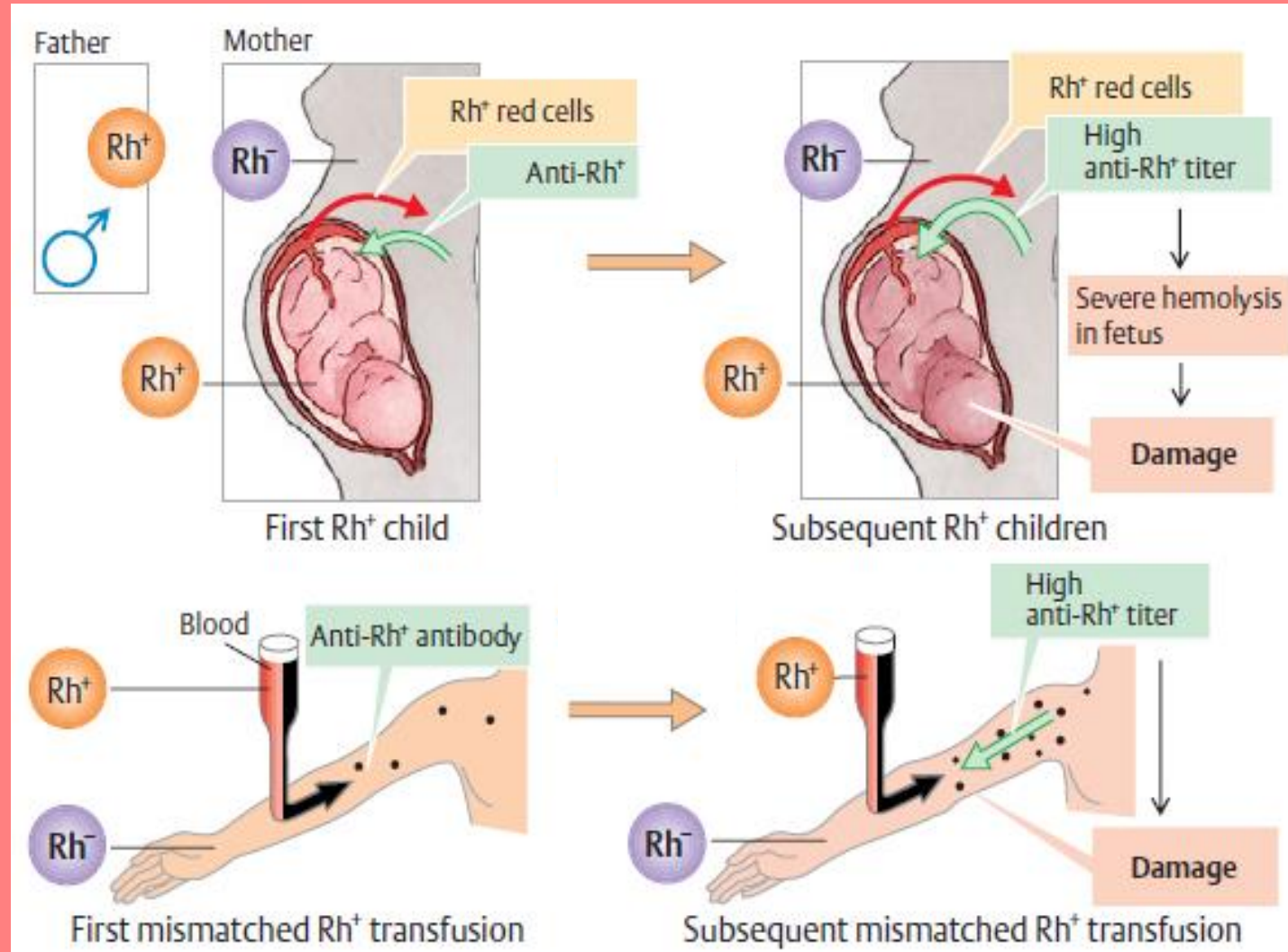
- Možných 8 kombinací antigenů – např. DCE (R_z , Rh_z), Dce (R_0 , Rh_0), ...

Imunogenní a nejdůležitější je antigen D (Wiener, 1937 - injekce lidských Erytrocytů do Rhesus monkey produkuje protilátky, které sráží krev u 85% bílých „New Yorkers“) → **85% Rh+**

Krevní skupiny a transfuze V.

Příjem Rh⁺ krve jedinci s Rh⁻ → produkce protilátek → hemolýza

- transfuze
- první těhotenství - vznik anti-D protilátek (IgG, přestup přes membránu)



Metabolismus

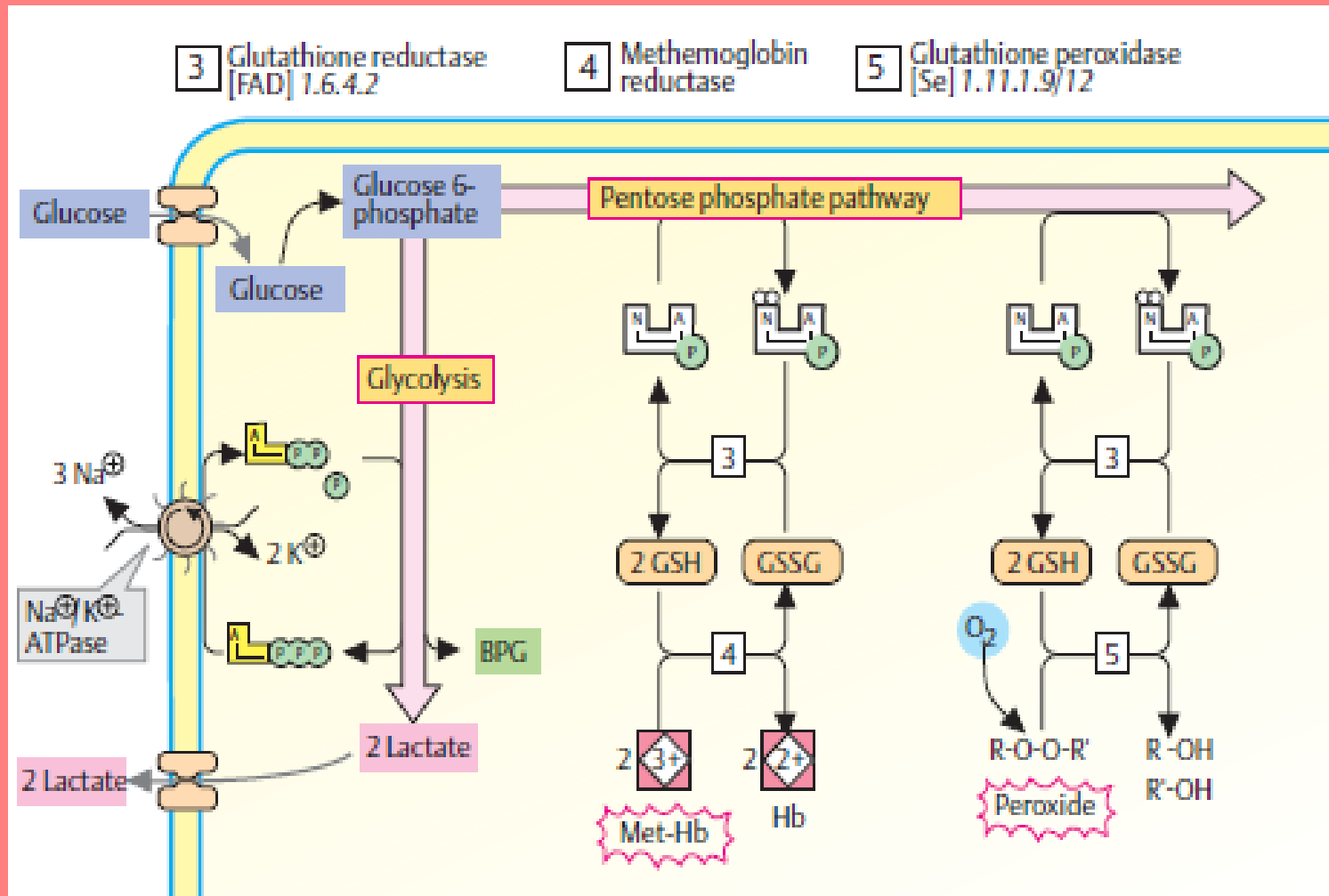
- anaerobní glykolýza (90% utilisace glukosy) = tvorba ATP , 2,3-BPG
- pentosafosfátový cyklus (10% utilisace glukosy) = tvorba NADPH



-udržení
vysokého K^+ ,
nízkého Na^+ ,
 Ca^{2+}

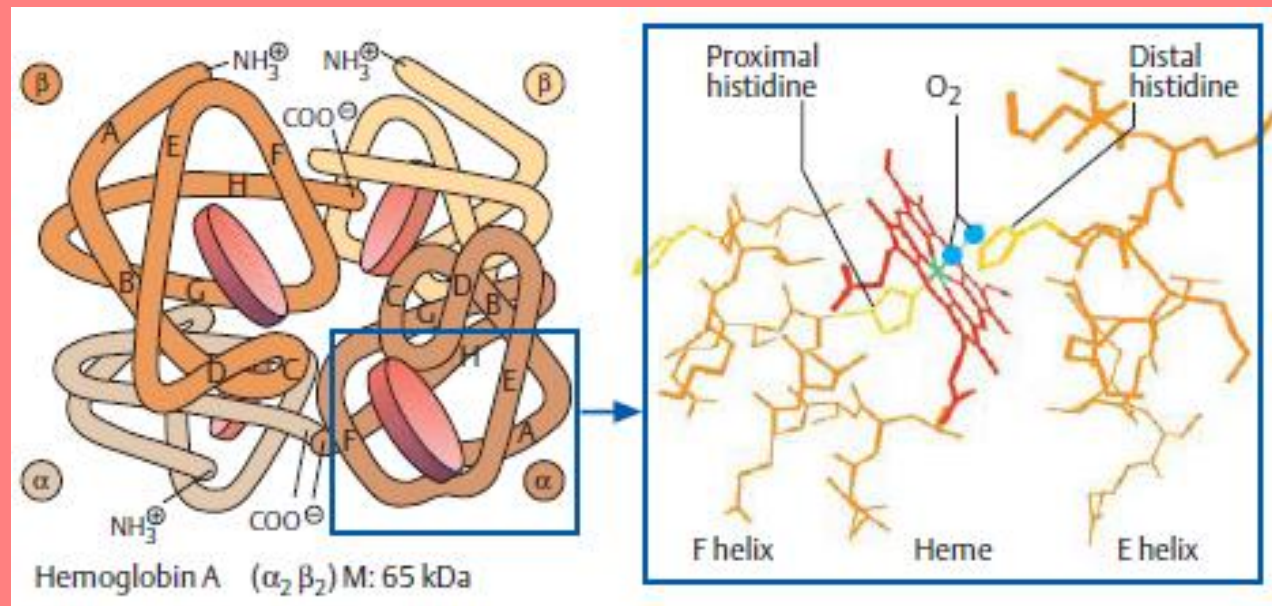
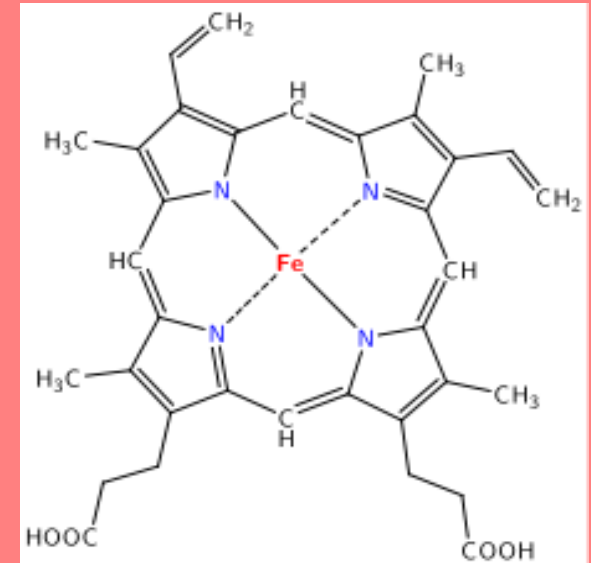
-udržení tvaru a
funkce
membránového
skeletu

- udržení
hemoglobinu ve
funkčním stavu



Hemoglobin (Hb)

- funkce: přenos O_2 , CO_2 , pufrovací systém
- = hem (protoporfyryn IX) + globin (4 polypeptidy; dvojice stejných)
- 1 Hb = 4 hemy = 4 x O_2
- hmotnost: 64 500 Da
- muž: 135-170g Hb/l, žena 120-158g Hb/l



Hemoglobin (Hb) II.

- $\text{CO}_2 + \text{Hb} = \text{karbaminohemoglobin}$

- $\text{CO} + \text{Hb} = \text{karboxyhemoglobin}$ (vyšší afinita než O_2)

- $\text{Fe}^{2+} \rightarrow \text{Fe}^{3+}$ v Hb = methemoglobin

- $\text{Hb} + \text{O}_2 = \text{oxyhemoglobin (R)}$

-Hb = deoxyhemoglobin (T)

-hlavní typy Hb:

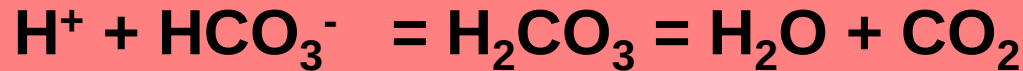
-embryonální/primitivní ($\alpha_2\varepsilon_2$) ~10 týdnů nitroděložního života

-fetální HbF($\alpha_2\gamma_2$) – větší afinita k O_2 než HbA

-dospělého člověka HbA($\alpha_2\beta_2$), HbA2 ($\alpha_2\delta_2$)~2%

Hemoglobin (Hb) III.

Reakce transportu O₂:



(HCO₃⁻ z plasmy, kompenzace přesunem Cl⁻ z Erytrocytů = chloridový posun)

Karbonátdehydratasa (carbonic anhydrase) – akcelerace
rovnováhy mezi CO₂ a HCO₃⁻

CO₂ – vazba na koncové AK 4 podjednotek → karbamátové
vazby

Hemoglobin (Hb) IV.

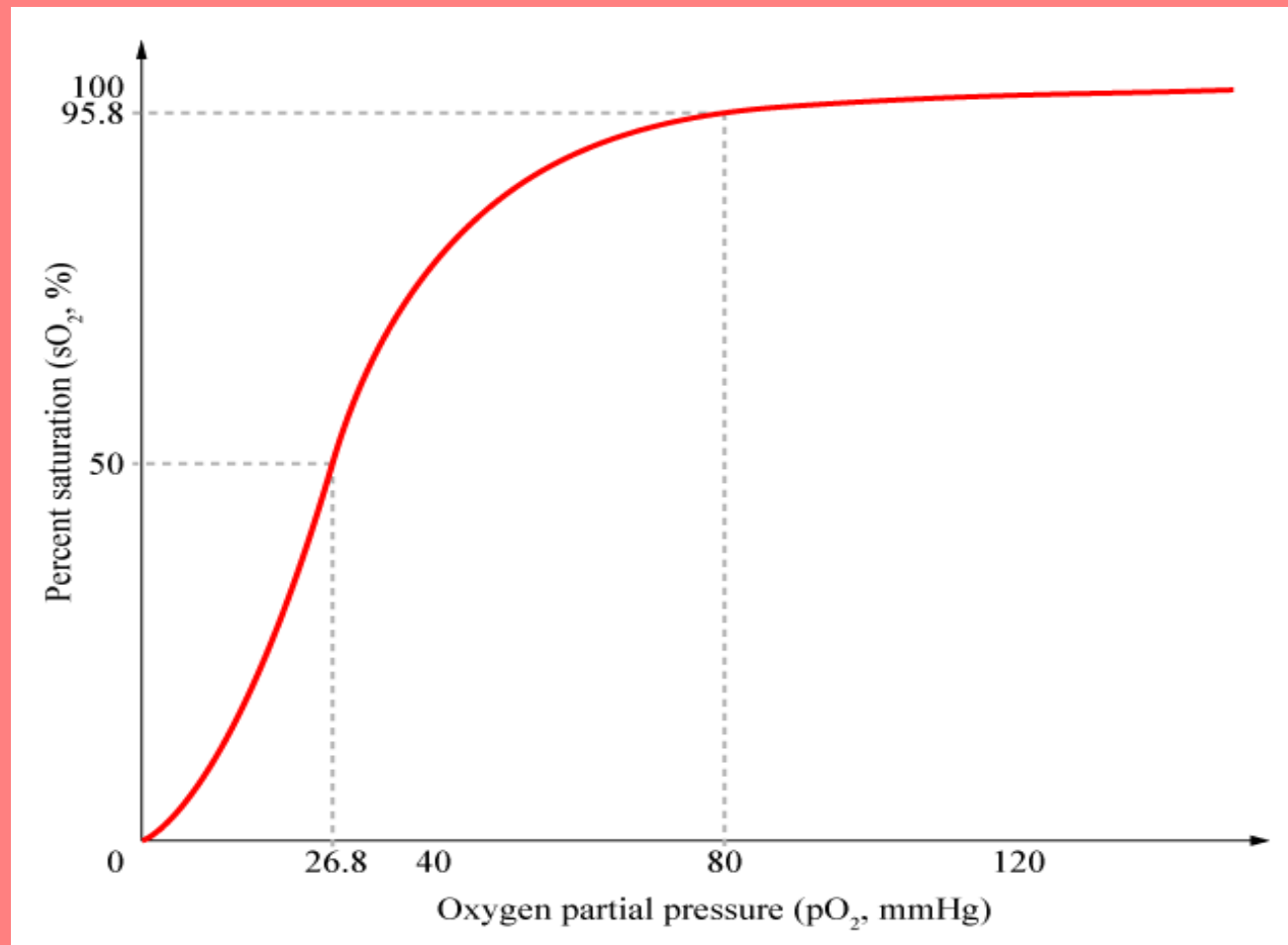
- Saturační křivka Hb = Sigmoidní tvar (důsledek alosterie Hb jednotek)
- Fyziologický význam = snažší uvolnění O_2 v tkáních s malým pO_2

- Arterie $pO_2 = 95$ mm Hg

- Vény $pO_2 = 40$ mm Hg

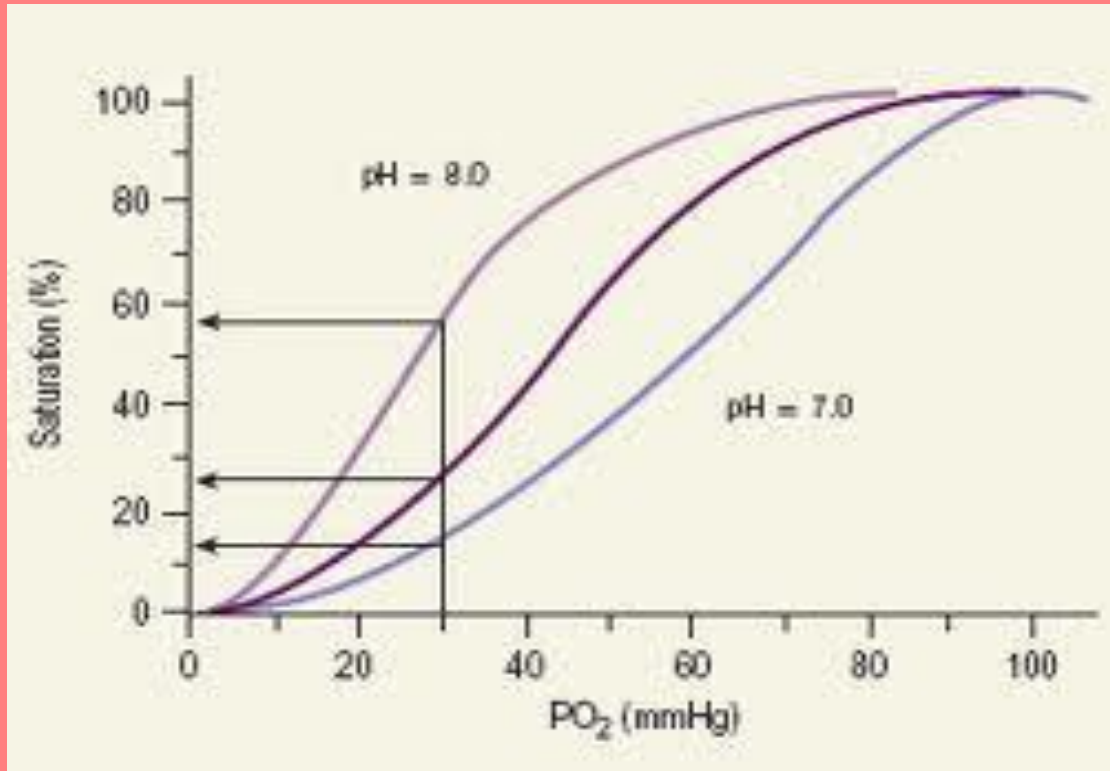
Saturace je ovlivněna:

- pH
- 2,3-BPG
- teplota



Faktory ovlivňující saturační křivku

- **pH** (Bohrův efekt) – heterotropní allosterický efekt (mezi vazbou O_2 a H^+)
 - produkce CO_2 tkáněmi → zvýšení H^+

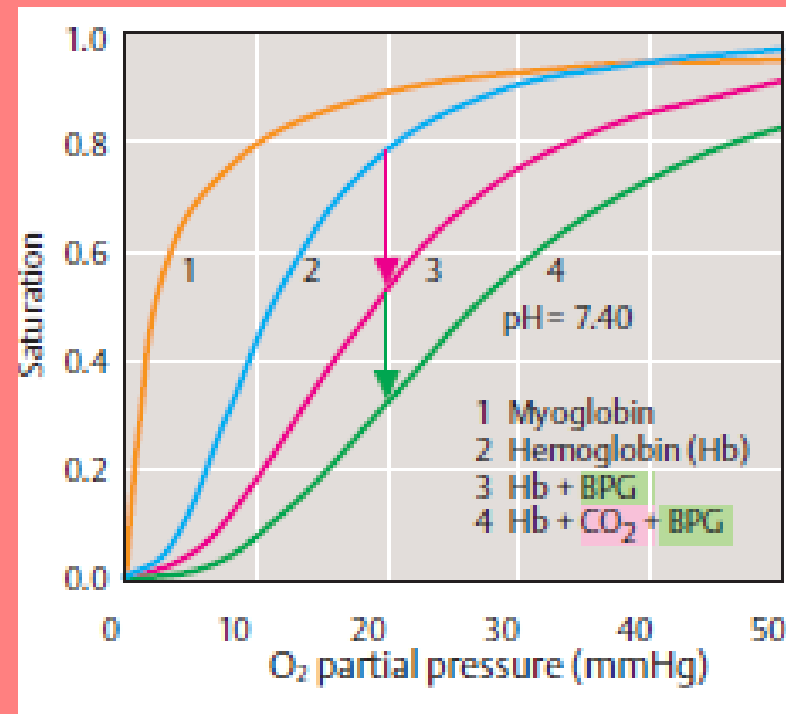
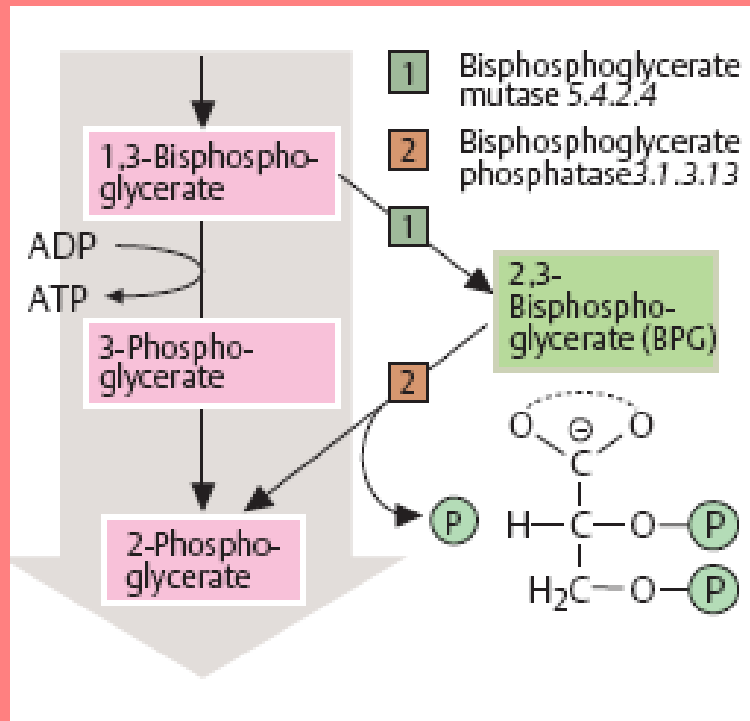
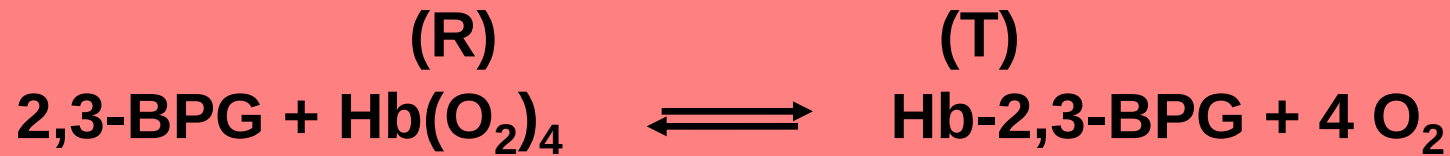


- **Alkalóza** (diuretika, Cushingův syndrom)
- **Acidóza** (diabetes melitus)

↓ pH → ↓ afinita k O_2 → ↑ vyšší uvolňování O_2

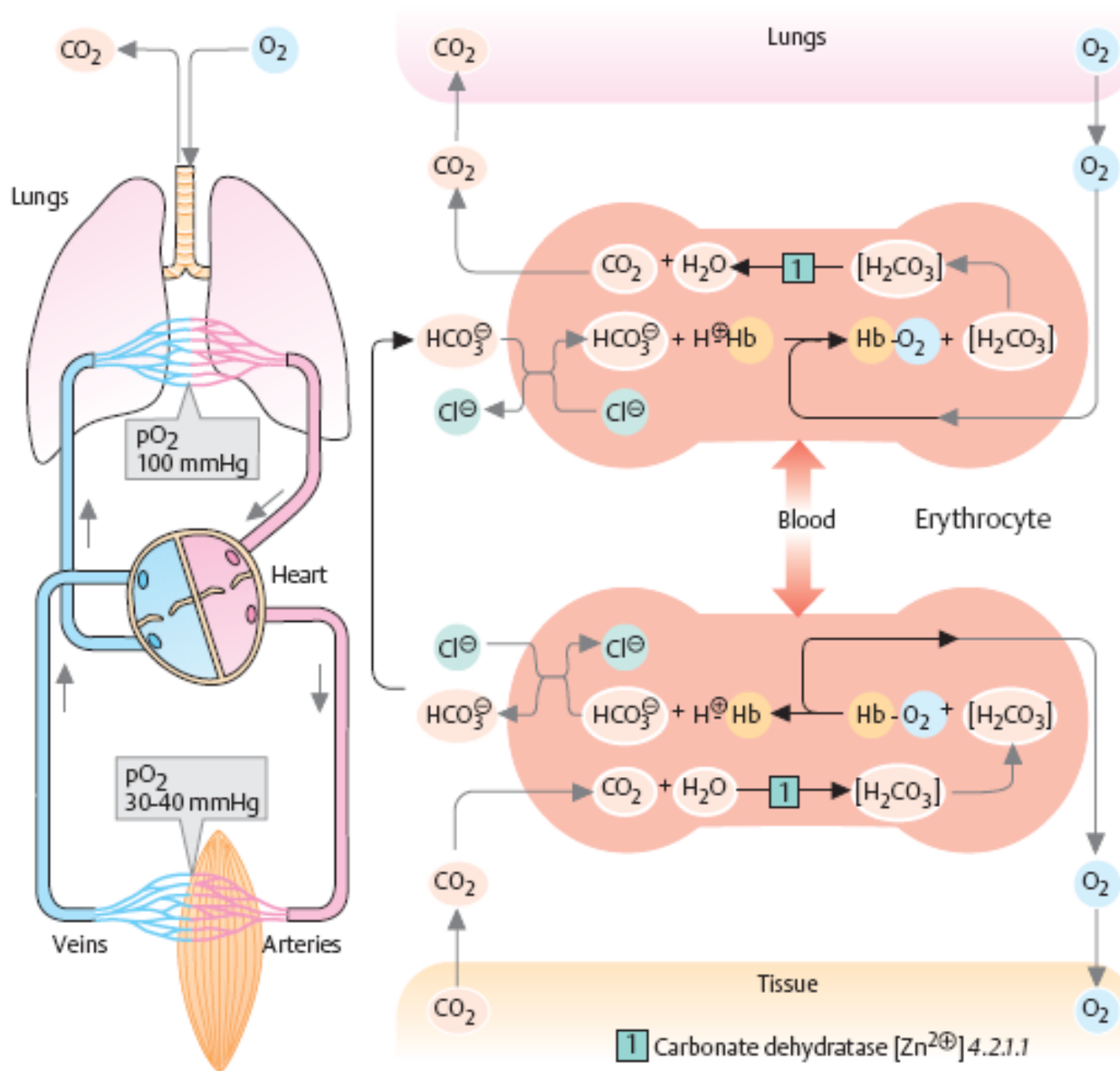
Faktory ovlivňující saturační křivku II.

- 2,3-BPG



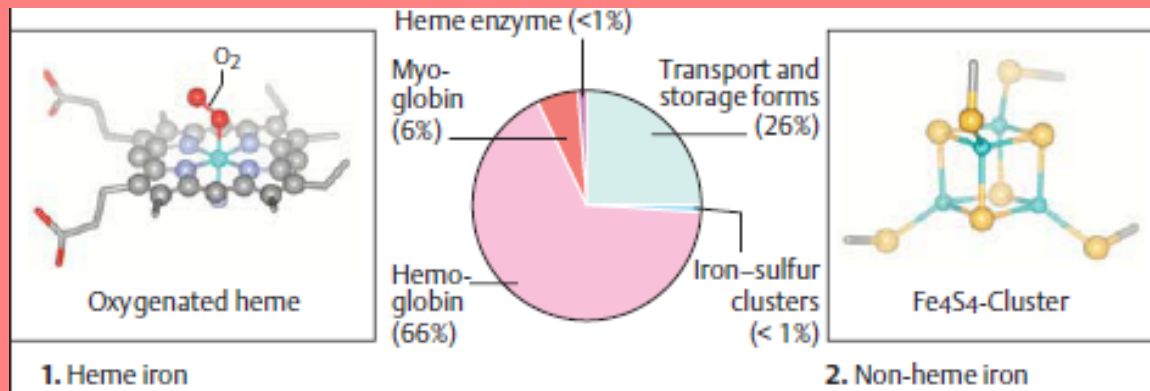
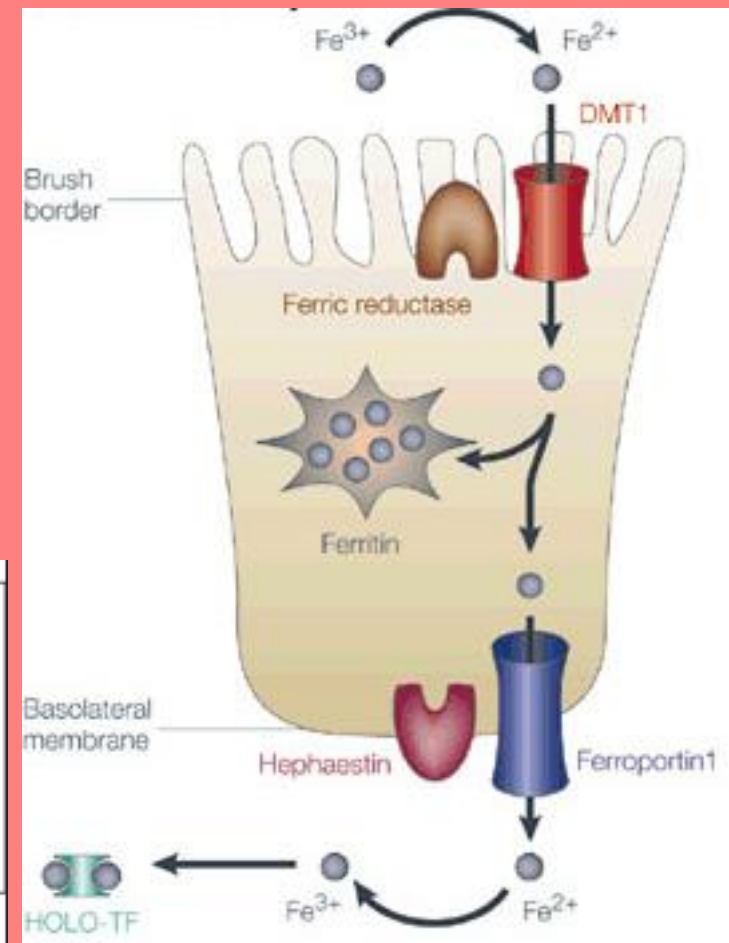
- Teplota – stejný účinek jako 2,3-BPG

Shrnutí fyziologické funkce erytrocytů

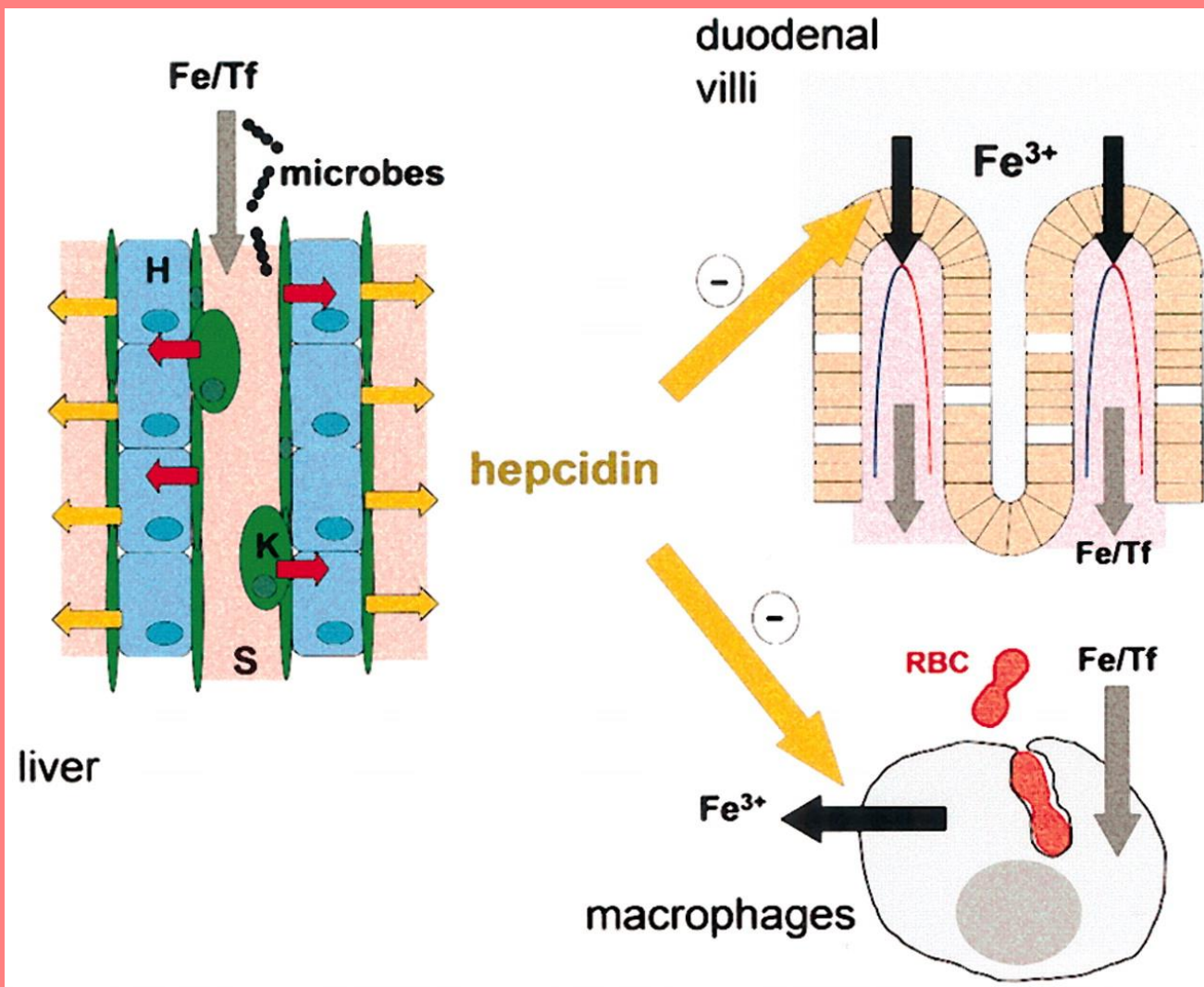


Metabolismus Fe

- Nepostradatelný biogenní prvek, v těle dospělého asi 4-5 g
- Absorbce ve formě Fe^{2+} - podpora vstřebávání např. vitamin C
- 5-10% potravy (zelenina – špenát, ořechy; živočišná strava- vnitřnosti, vejce)
- Zvýšený přísun – děti, těhotné a kojící ženy
- Vylučován v nepatrné míře močí, stolicí, menstruace
- Internalizace receptory zprostředkovanou endocytosou – redukce Fe^{3+} (duodenal cytochrome B, ferric reductase) a transport (divalent metal transporter-1; DMT-1)
- Regulátor - peptidový hormon Hepcidin



Metabolismus Fe II. - hepcidin



-Objeven 2000

-25 AK finální peptid

- produkován
hepatocyty (játra)

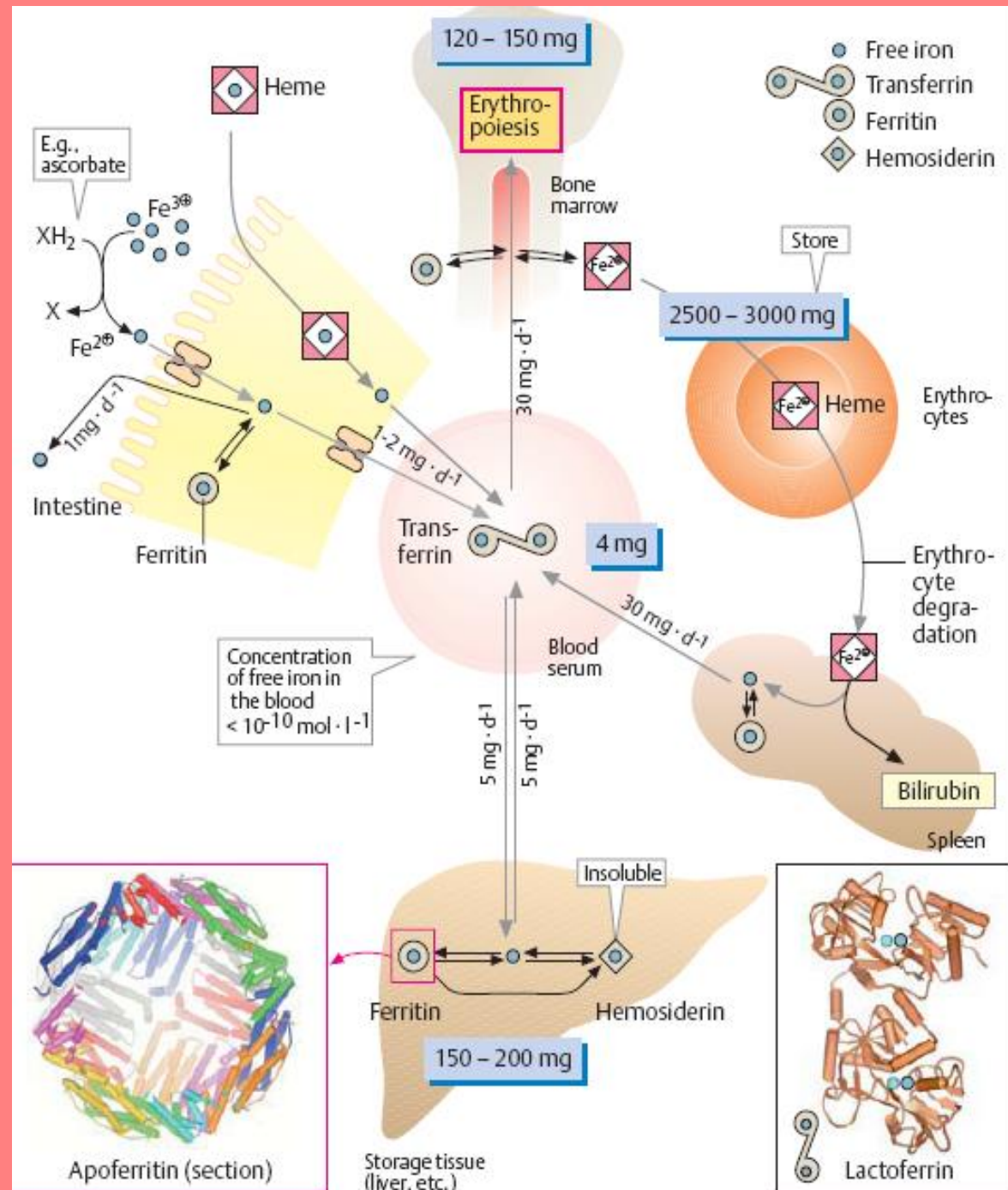
-Indukce zánětem
nebo zvýšeným
příjmem Fe →
suprese absorpce či
uvolnění

- Inhibice exprese
anemií nebo hypoxií

Metabolismus Fe III.

Formy :

- **feritin** (1934 - Laufberger)
 $\text{Fe}_2\text{O}_3 \cdot n \text{H}_2\text{O}$
- **hemosiderin** – asi
degradační produkt feritinu,
barví se na Berlínskou modř)
- **transferin** – přenos Fe v
krvi
- **laktoferin** – transportní
protein pro Fe v slinách,
slzách, mléce



Biosyntéza hemu

Hem – cofaktor enzymů (cytochromy, katalasa, peroxidasa), hemoglobinu, myoglobinu

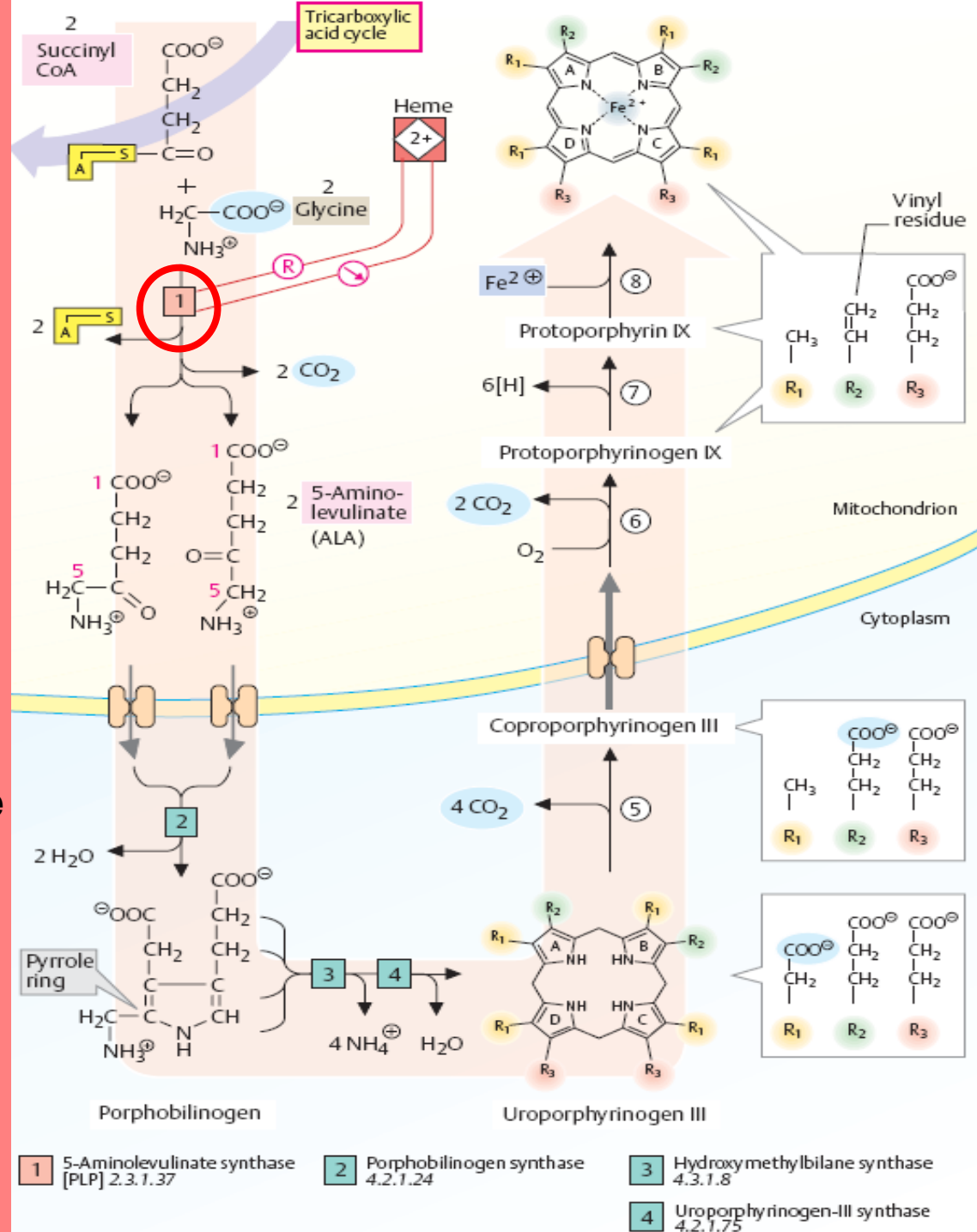
- Váže Fe^{2+}

= tetrapyrrol – 4 valence na Fe^{2+}

- Syntéza - ~85% kostní dřeň; játra

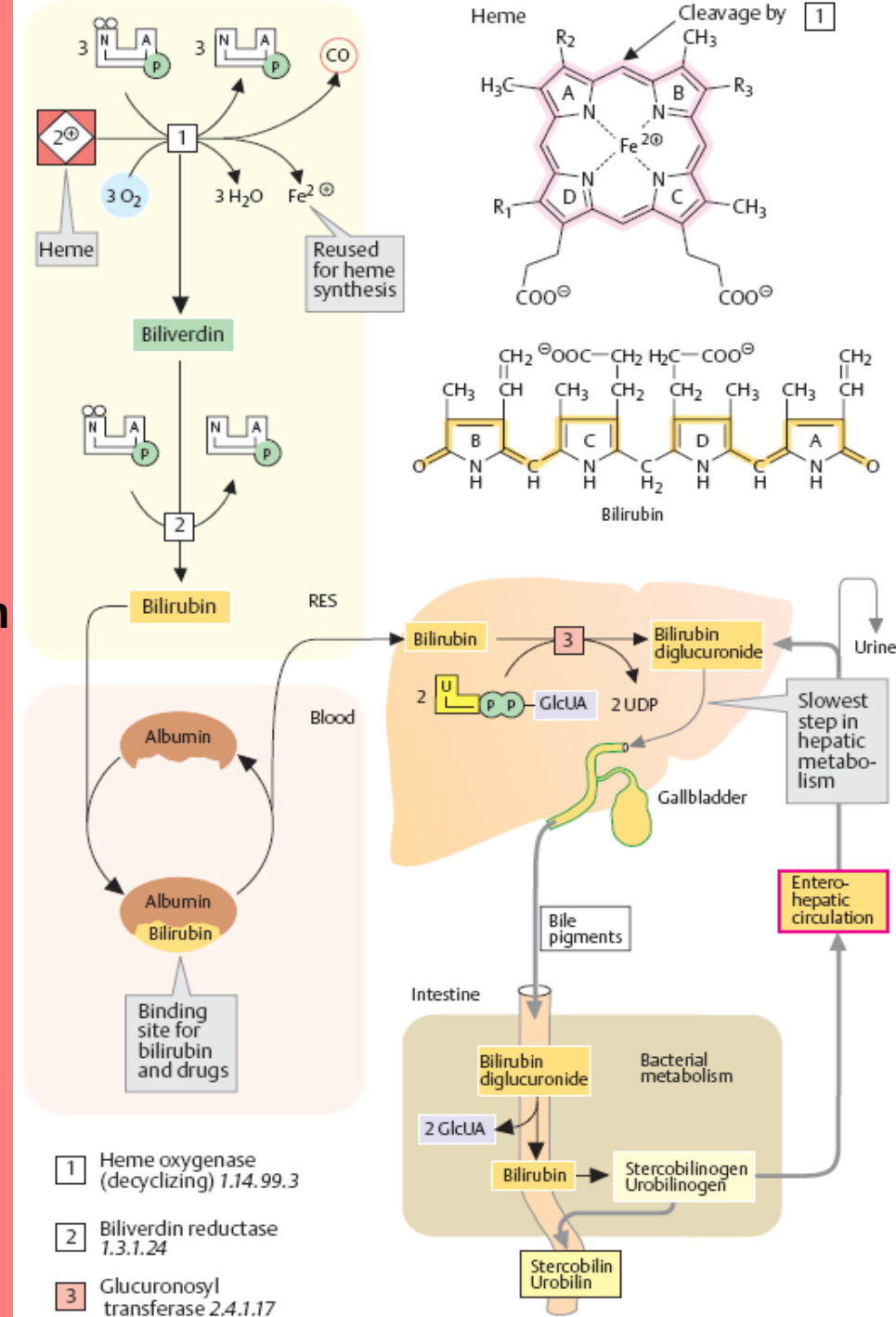
- Začátek i konec = mitochondrie

- Inhibice aktivity a proteosynthesy ALA synthasy (ALAS) (70-80 min half life)
Hemem či Fe (prekurzory Ery)



Odbourávání hemoglobinu

- Makrofágy v játrech a ve slezině → globin na AK, hem na bilirubin, Fe je reutilizováno
- Extrahepatálně – hemoglobin se váže na haptoglobin a hem na hemopexin → vychytávány játry a slezinou
- UGT1A1 – enzym konjugující bilirubin s kyselinou glukuronovou (konjugovaný bilirubin)
- Exkrece do žluči = žlučová barviva
- Bilirubin - konjugovaný ($< 3,4 \mu\text{M}$)
 - nekonjugovaný ($< 13,6 \mu\text{M}$)
 - celkový ($< 17 \mu\text{M}$)
- Porucha odbourávání → žloutenka
- Indukce UGT1A1 (UDP-GT) léky či kontaminanty – fenobarbital, dexamethazon, 3-methylcholanthren



Erythropoesa

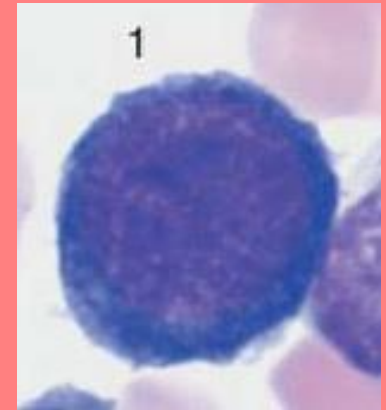
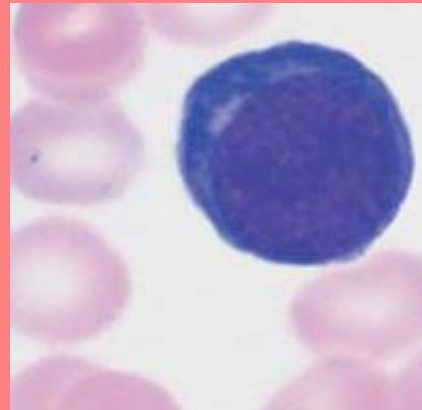
Pluripotentní kmenová buňka

Progenitorová buňka – **BFU-E** (burst forming unit erythroid) – schopná migrace, nejranější předchůdce erytrocytu, tvorba malých klastrů – diferenciace do **CFU-E** (colony forming unit erythroid) – tvorba menších kolonií, nárůst hustoty erythropoetinových receptorů (EpoR)

= nelze identifikovat mikroskopicky

Proerythroblast = normoblast

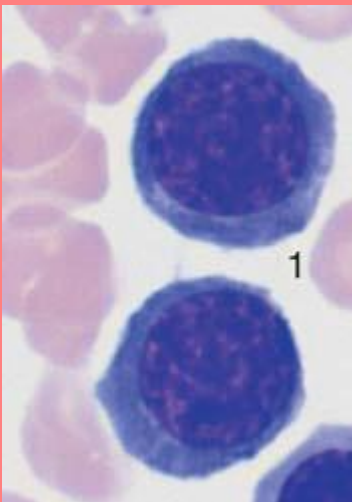
– první morfologicky poznatelná buňka v erythroidní řadě, 12-19 μm v průměru, modrofialová barva cytoplazmy, basofilní chromatin



Basofilní normoblast =

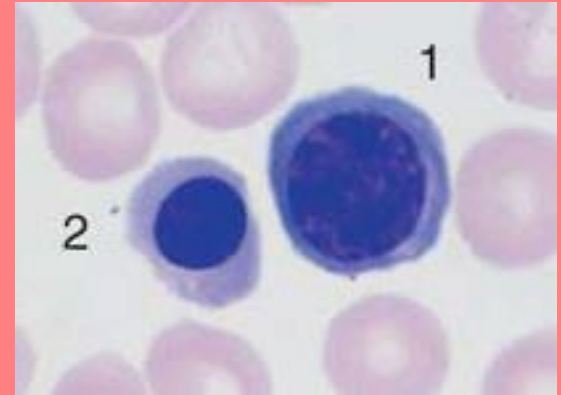
erythroblast – o ~50% menší než

ProErythroblast, paprskovitě uspořádaný chromatin, sytě fialové zbarvení, tmavomodrá barva plazmy



Erythropoesa II.

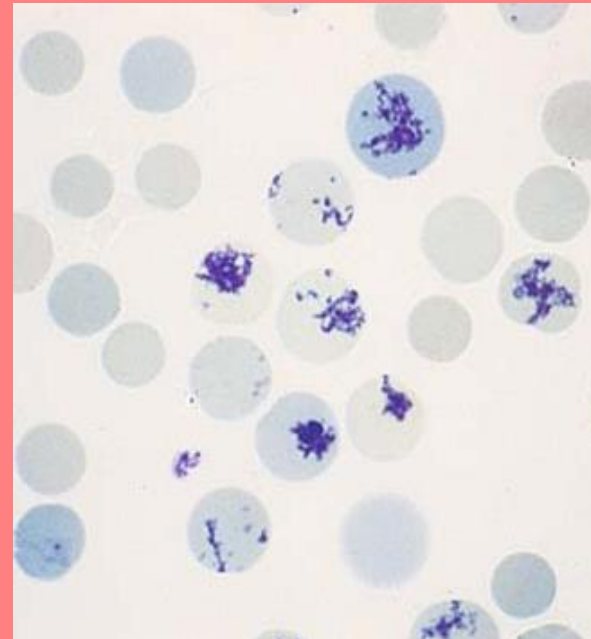
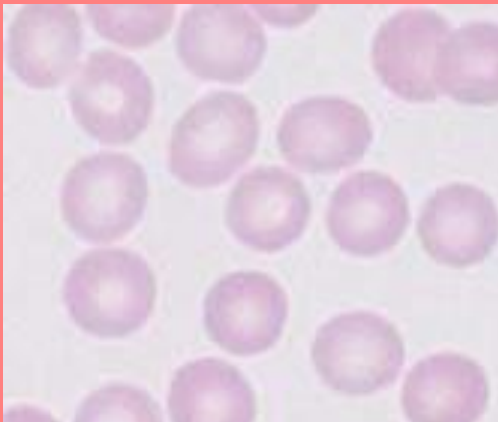
Polychromní normoblast (1) – sytě zbarvené jádro, tvar kulovitý, šedé zbarvení cytoplasmu v důsledku Hb, schopné se dělit



Ortochromní normoblast (2) = erythroblast – do růžova zbarvenou cytoplasmu, malé svraštělé jádro, nedělí se

Retikulocyt – bezjaderná buňka, mitochondrie, ribosomy; 0,5-1% v krvi

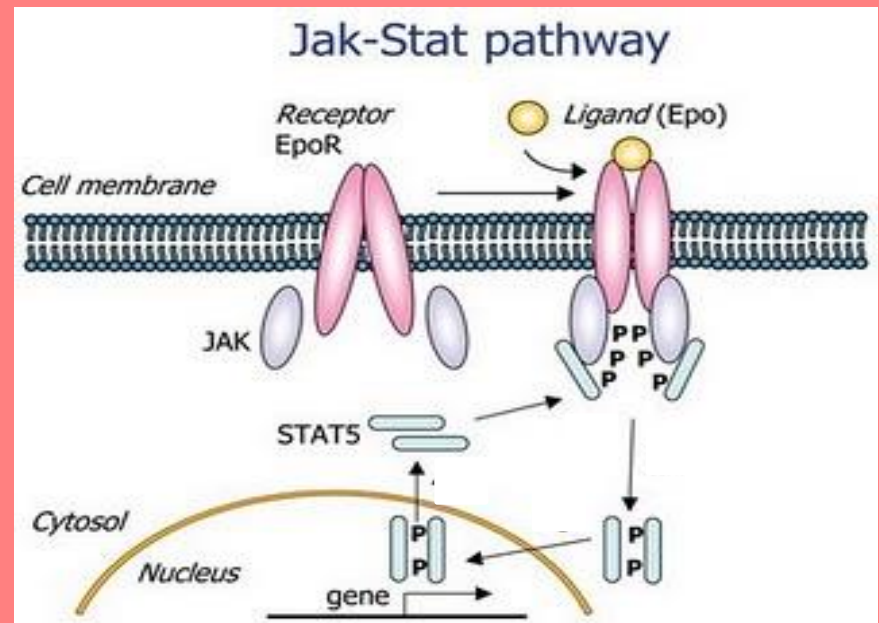
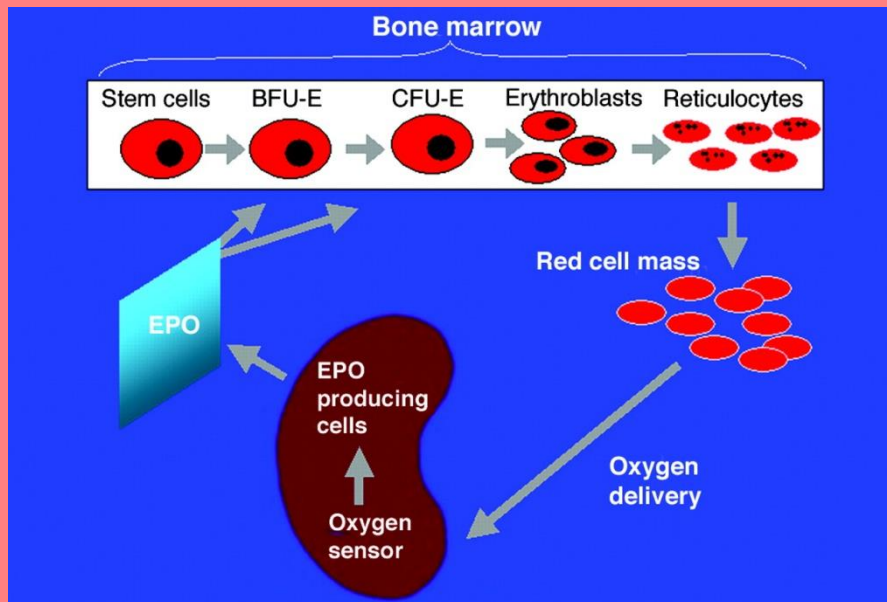
Erythrocyt = normocyt



Kontrola erythropoesy

- Probíhá v kostní dřeni
- Řízení – Hormonální – EPO = erythropoietin
 - bílkovina, vazba na EpoR (abundantní na Ery), tvořen převážně ledvinami (90%), játra (10%, Kupferovy buňky) - indukce a akcelerace diferenciaci a proliferaci erythroidálních buněk, nárůst exprese receptorů pro transferin, exprese genů pro globin a syntezu hemu

Hypoxie = $\downarrow pO_2 \rightarrow \uparrow$ tvorba EPO $\rightarrow \uparrow$ erythropoesa



Ontogeneze Erythropoesy/ Hematopoesy

Mezoblastové - žloutkový vak – start krvetvorby - 2.-3. týden embryonálního vývoje, velké jaderné Ery s embryonálními Hb; tvoří se základ brzlíku

Hepatolienální - 6.týden – přesun krvetvorby do jater a zánik tvorby ve žloutkovém vaku;

- 12.týden – slezina
- 8.týden – tvorba lymfocytů v thymu
- 10.-32.týden - Ery s HbF (90-95%)

Myeloické - 20.týden – zapojení kostní dřeně (medulární tvorba) a zánik v játrech a slezině

- rozsev mateřských buněk lymfocytů do lymfoidních orgánů
- 32.týden – start záměny HbF za HbA, konec asi 6-8 měsíců po narození

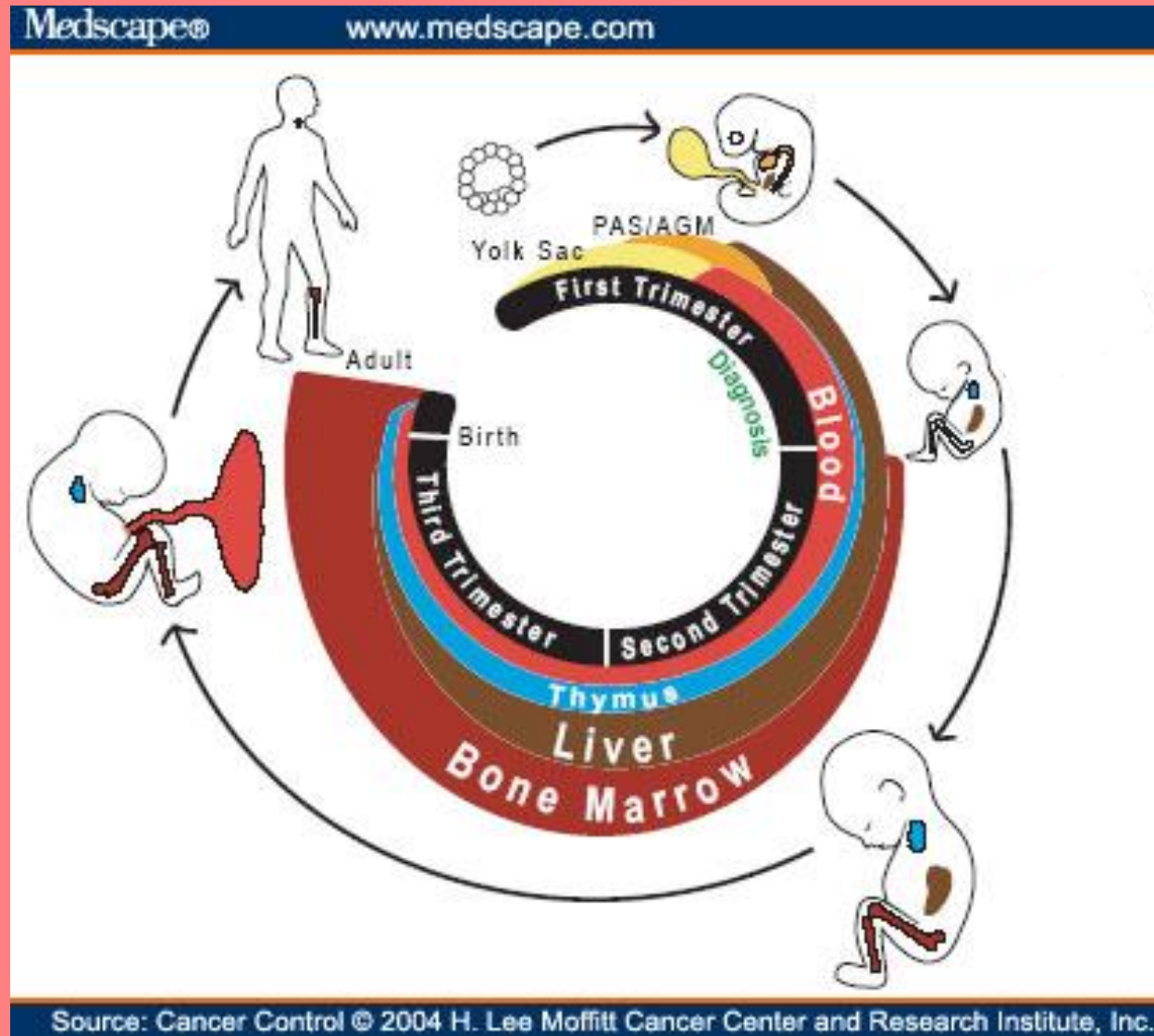
Ontogeneze Erythropoesy/ Hematopoesy II.

Novorozenec

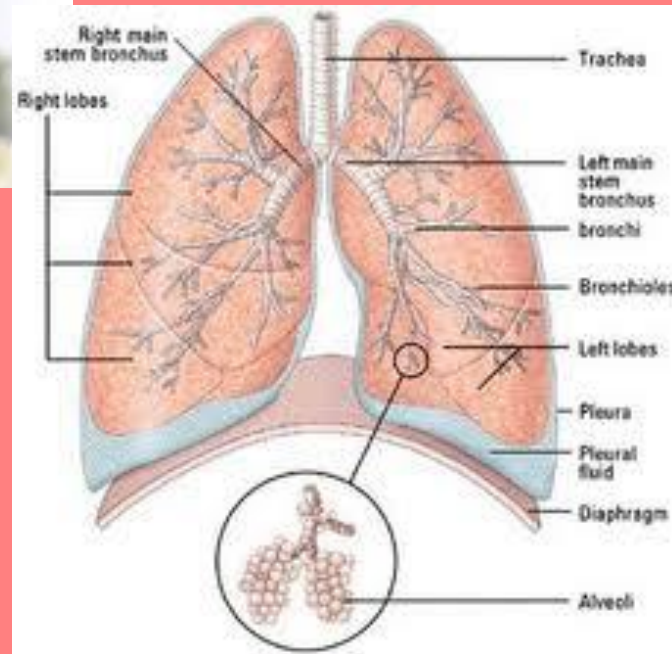
- všechny kosti jsou hematopoetické – trvá do 4.-5.roku života
- postupná náhrada tukovou tkání

Dospělý člověk

- žebra, obratle, kosti rukou a nohou, lebka, bederní kosti



Slovo závěrem.....



Čerstvý vzduch do vašich plic....

