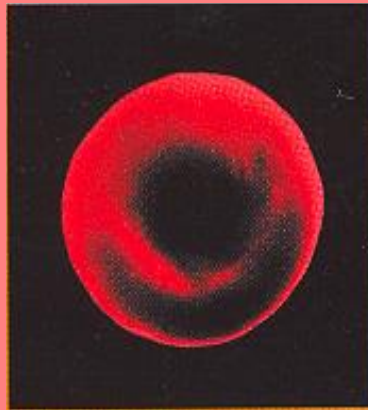
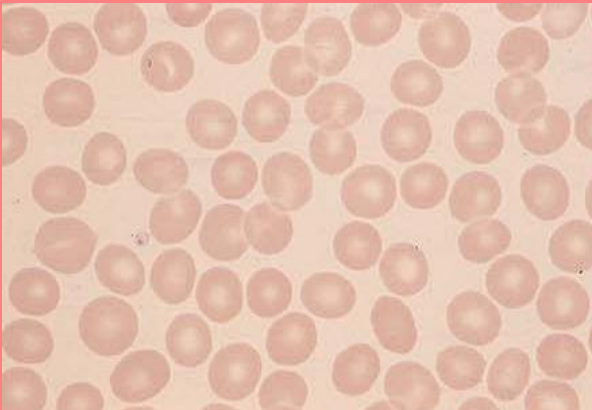


# Základy Hematologie KBB / ZHEM

## *Lekce 2 – Fyziologie erytrocytů*

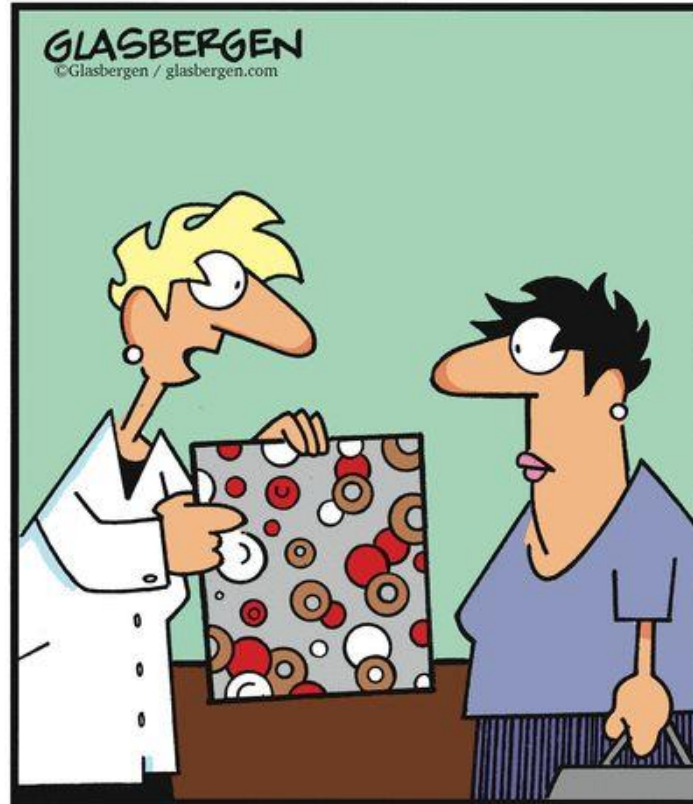


**Radim Vrzal**

*radim.vrzal@upol.cz*

**Katedra buněčné biologie a genetiky, budova 51**

# Začínáme....



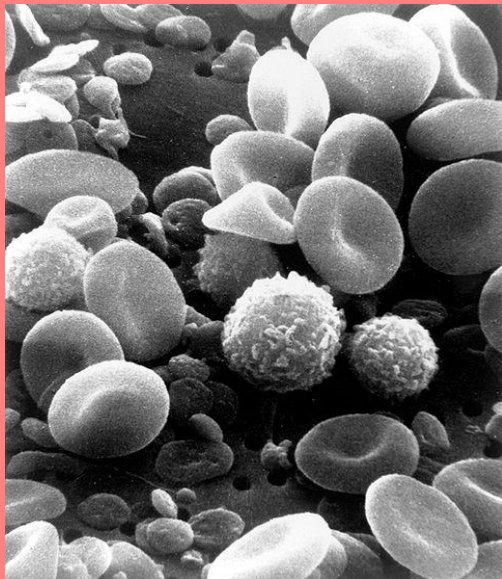
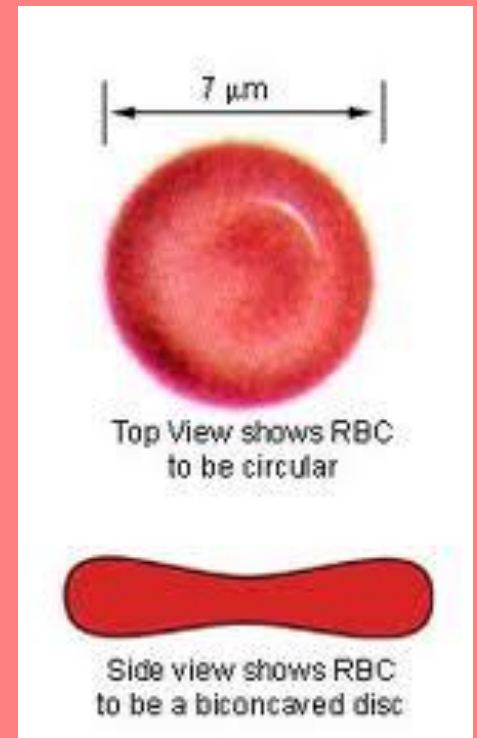
**“The red circles are your red blood cells.  
The white circles are your white blood cells.  
The brown circles are donuts. We need to talk.”**

**Není donut jako donut.....**

# 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  $85 \pm 10 \mu\text{m}^3$  (fL)
- počet: muži  $4,3-5,3 \cdot 10^{12}/\text{L}$ , ženy  $3,8-4,8 \cdot 10^{12}/\text{L}$



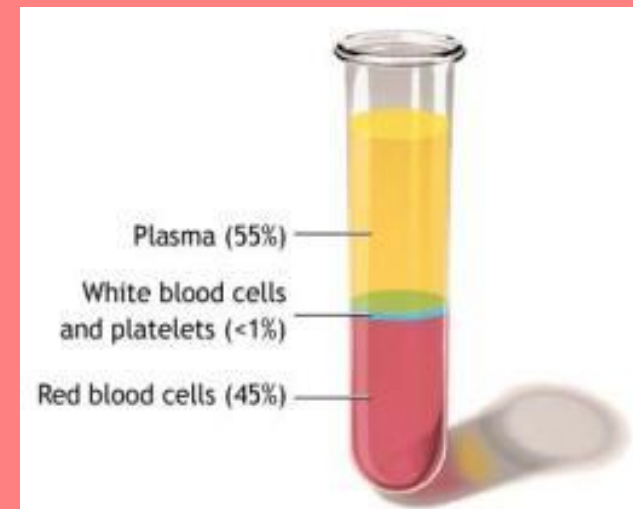
(muži ↑ než ženy)

- poměr objemu Erytrocytů a celé krve = **Hematokrit**

muži  $0,44 \pm 0,05$

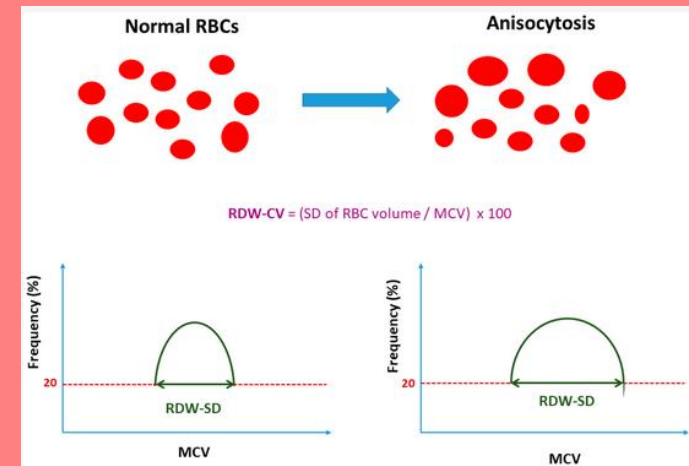
ženy  $0,39 \pm 0,04$

- délka života: **110-120 dní**

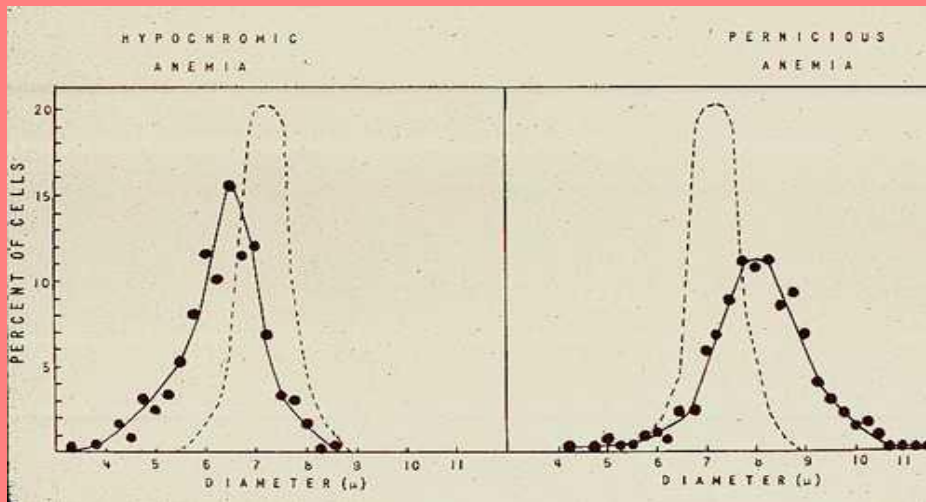


# Základní charakteristiky II.

- Průměr Ery:  $7,4 \pm 0,5 \mu\text{m}$
- Šíře distribuce erytrocytů – variační koeficient =  $\text{RDW-CV} = 10\text{-}15\%$
- Fyziologická anizocytóza (variace velikosti) = „normální“ výskyt Erytrocytů různého průměru - (mikrocyty, normocyty, makrocyty)



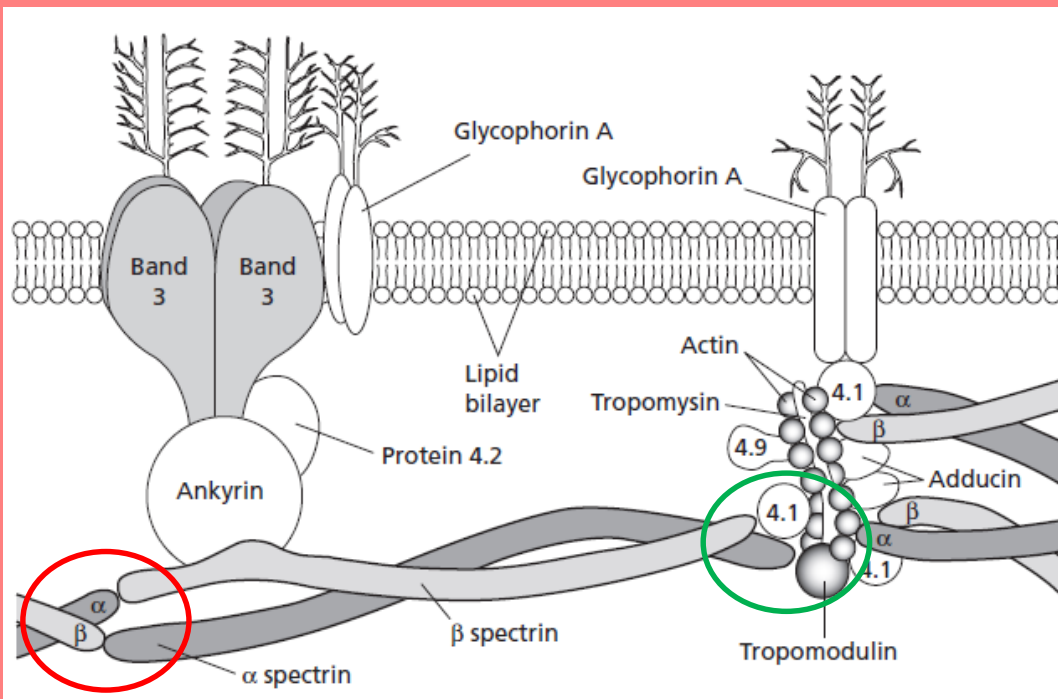
## Price – Jonesova křivka



- posun charakterizuje patologický stav

# Membrána erytrocytů

- 50% bílkoviny, 40% lipidy, 10% sacharidy
- výměna látek mezi IC a EC -  $\text{Na}^+$ - $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$  pumpy  
( $\text{Na}^+$  ~ 7.5-13 mM v Erythrocytech, 130-144 mM v plazmě)  
( $\text{K}^+$  ~105-140 mM v Erythrocytech, 3.8-5.4 mM v plazmě)
- strukturní podpora zajišťována vláknitým spektrinem  $\alpha$ ,  $\beta$  (band 1 a 2 - 25% membr. bílkovin- tvar, deformabilita, obnovení
- „proužek 3“ (Band 3, kapnoforin, CD233) – kanál pro ionty ( $\text{Cl}^- / \text{HCO}_3^-$ ) a kotvení skeletu (ankyryn, spektrin)

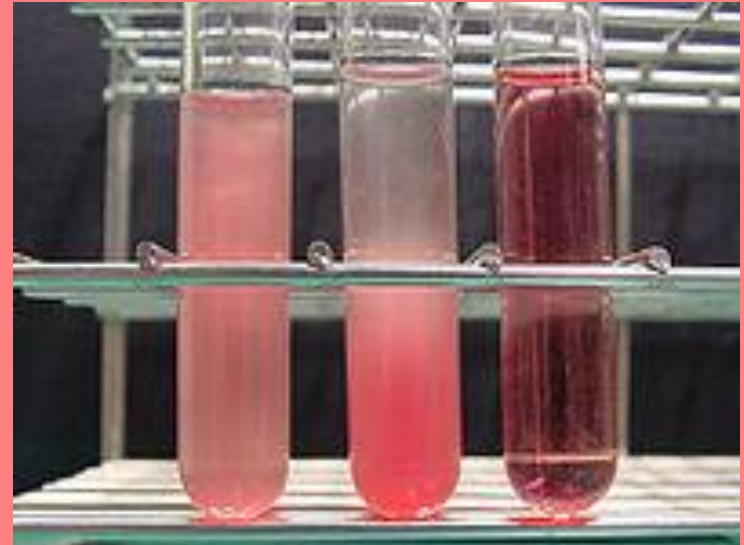


Glykoforiny – glykoproteiny s negativním nábojem (glyk A = vazba pro *Plasmodium falciparum*)

=> 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)



# A ted' něco o transfuzi.....



# Krevní skupiny a transfuze I.

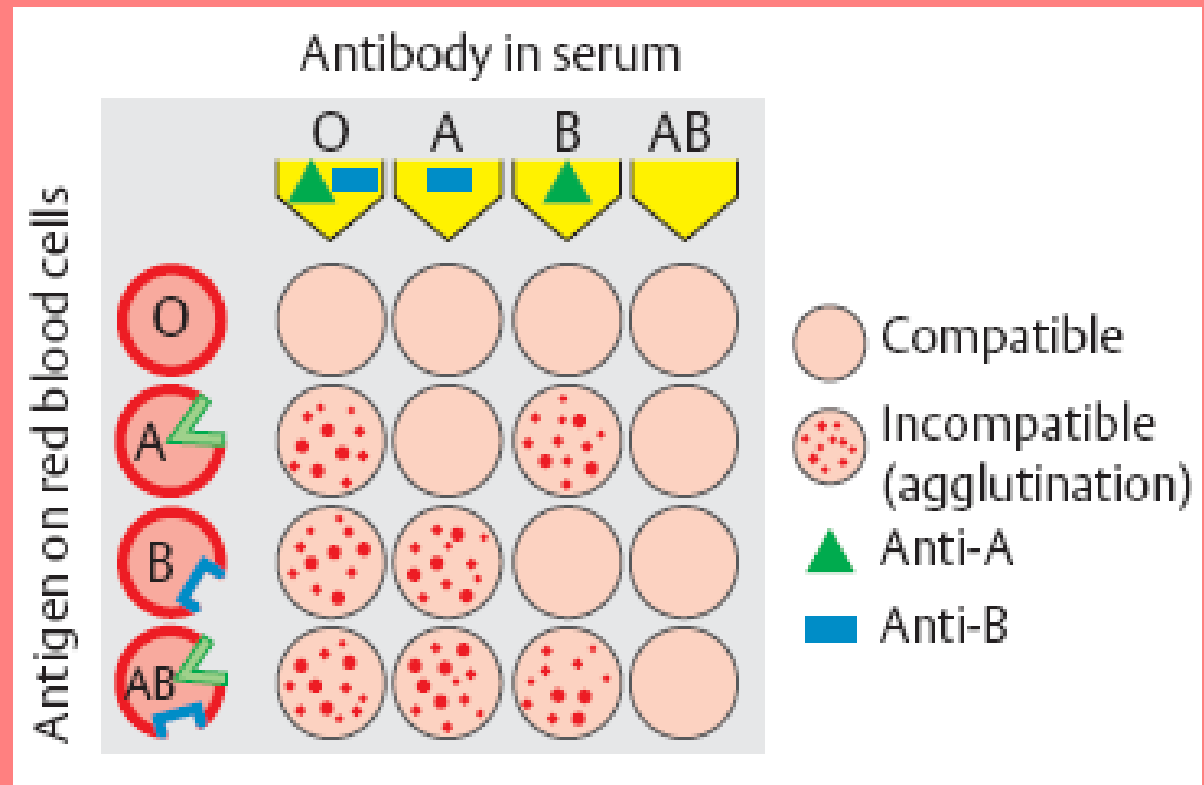
Co je **krevní transfuze** = přenos krve z jednoho jedince do druhého

(In)kompatibilita = Antigeny krevních skupin – děděné „sacharidy“ či proteiny na povrchu erytrocytární membrány

Nejvýznamnější → **ABO** ( 1901, K.Landsteiner)

**Nepřítomny při narození !!!**

- anti-A a anti-B protilátky (aglutininy)
- A,B antigeny (aglutinogeny)

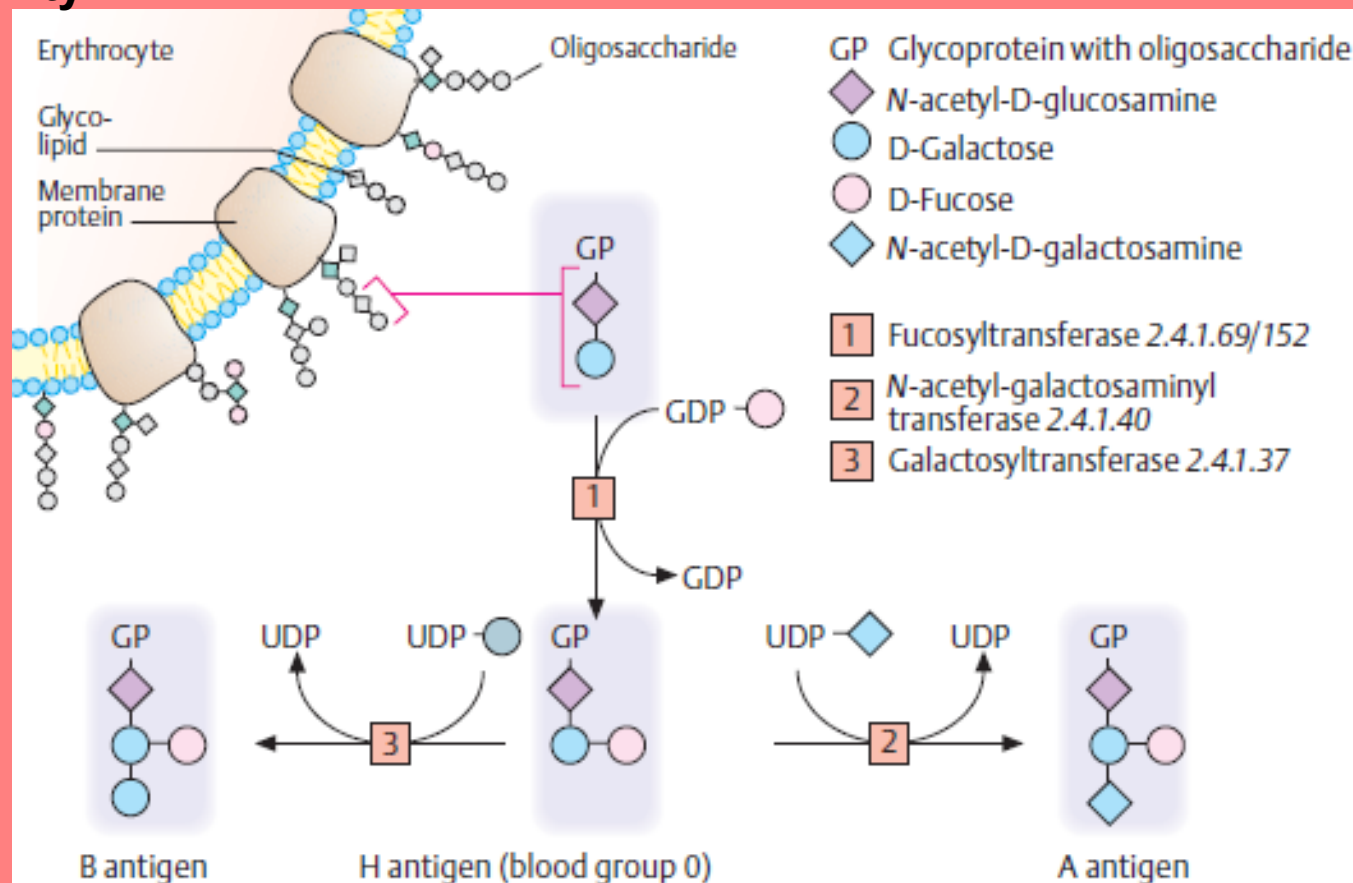




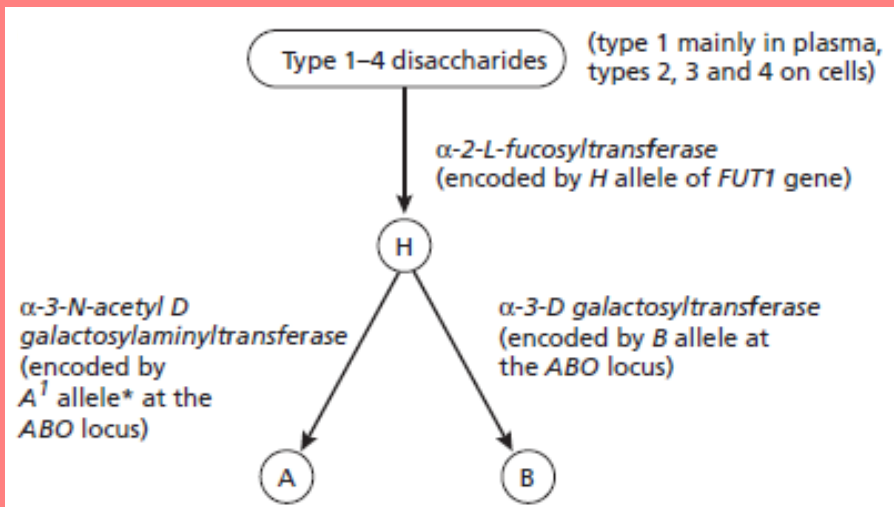
# Krevní skupiny a transfuze II.

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

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



# Krevní skupiny a transfuze III.

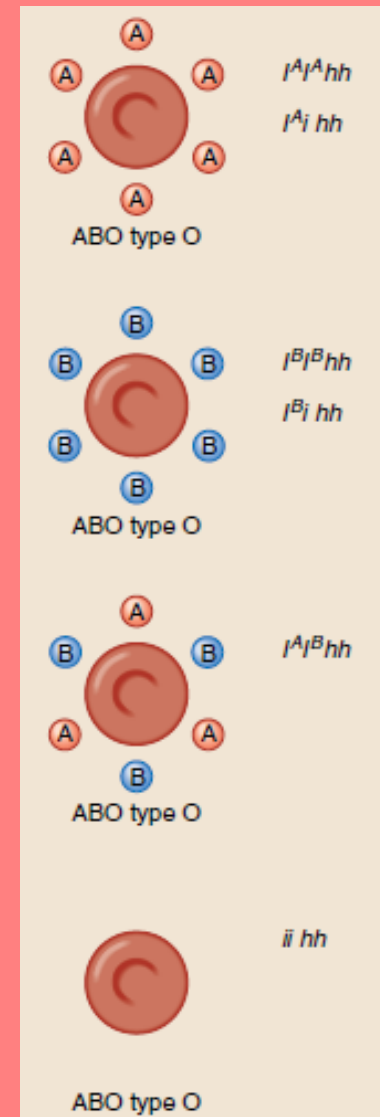
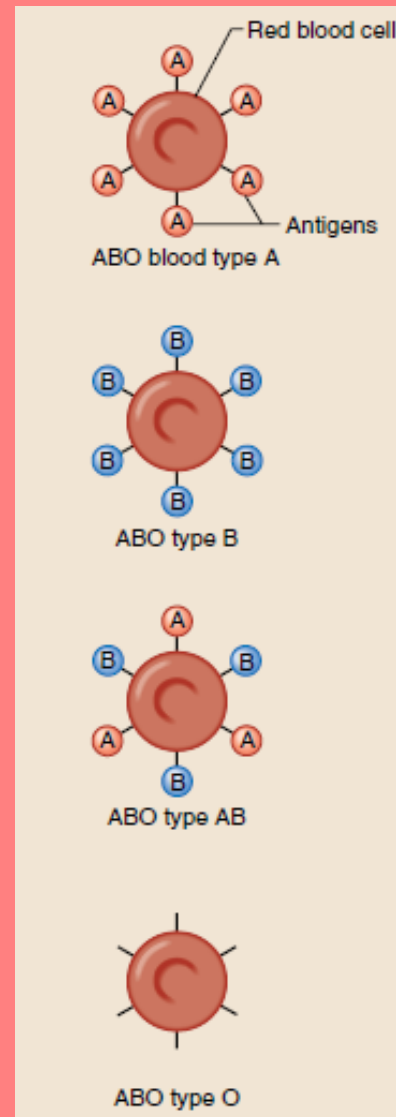


Locus	Allele	Transferase
<i>FUT1</i>	<i>H</i>	$\alpha$ -2-L-fucosyltransferase
	<i>h</i>	nil
<i>ABO</i>	<i>A</i>	$\alpha$ -3-N-acetyl-D-galactosaminyltransferase
	<i>B</i>	$\alpha$ -3-D galactosyltransferase
	<i>O</i>	nil

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



**hh** – vzácný, výjimka Reunion Island

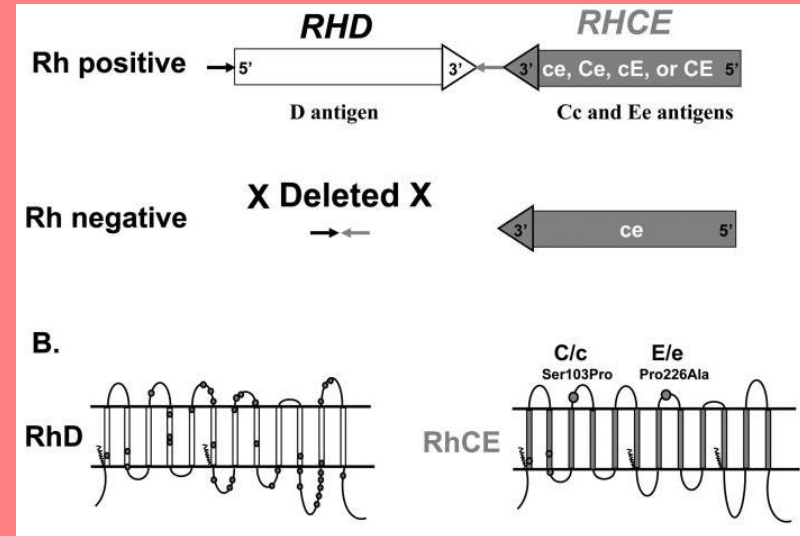
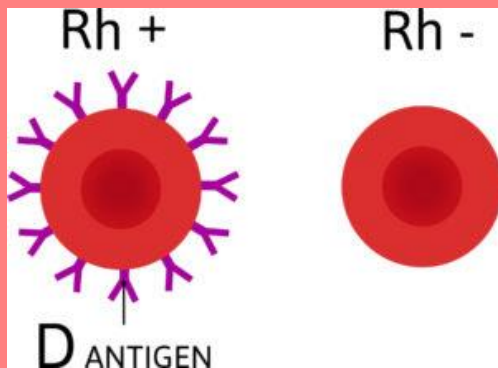


# Krevní skupiny a transfuze IV.

Systém **Rh** (rhesus monkey) krevních skupin = transmembránový protein RHD → antigen-positivní Erythrocyty imunizují antigen-negativní jedince

Dědičnost - blízce příbuzné geny

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



Rh+ jedinci = RhD a RhCE = **D+**

Rh- jedinci = pouze RhCE = D- = **nepřítomnost RHD**

- Možných více kombinací antigenů – např. DCE ( $R_2$ ,  $Rh_2$ ), Dce ( $R_0$ ,  $Rh_0$ ), ...

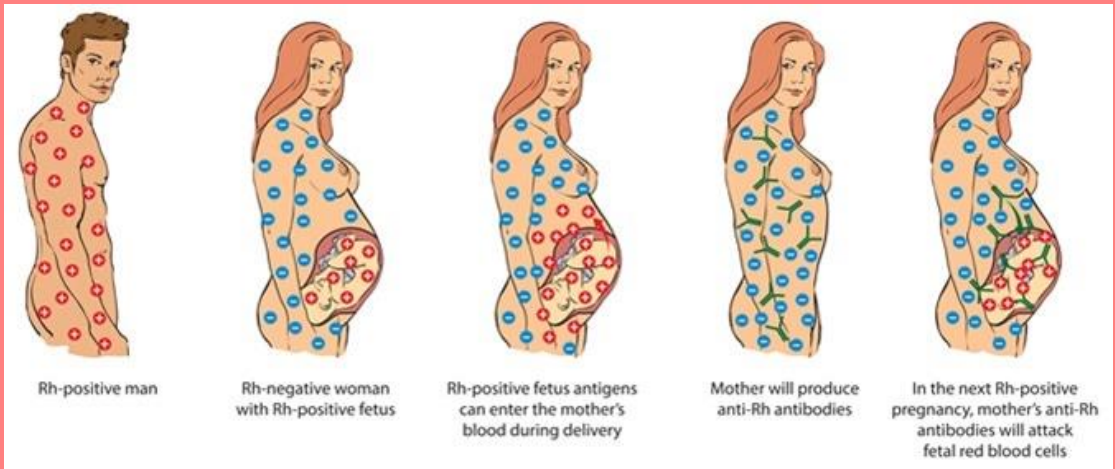
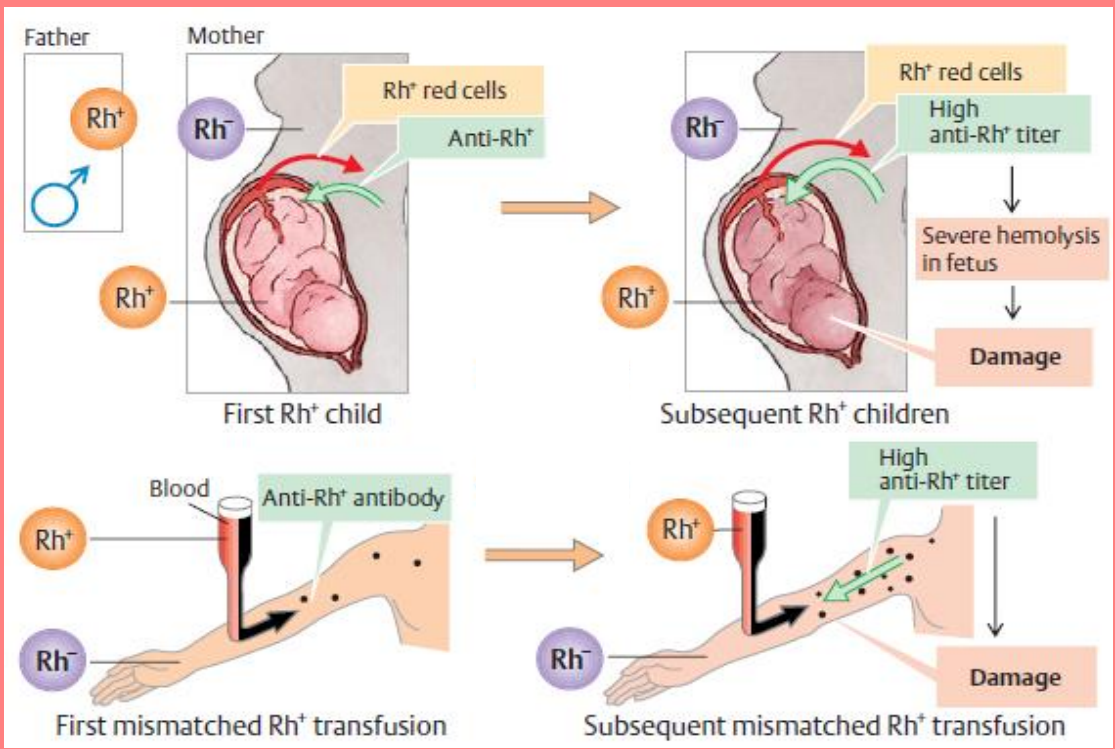
**Imunogenní je antigen D** (Wiener, 1937 - injekce lidských Erythrocytů do Rhesus monkey produkuje protilátky, které sráží krev u 85% bílých „New Yorkers“) → **85% Rh+**

# Krevní skupiny a transfuze V.

**Příjem Rh+ krve jedinci s Rh- → produkce protilátek → hemolýza**

- transfuze
- první těhotenství
- vznik anti-D protilátek

**(IgG, přestup přes placentární bariéru)**



# Krevní skupiny a transfuze V.

## If Your Blood Type Is...

Type	You Can Give Blood To	You Can Receive From
A+	A+ AB+	A+ A- O+ O-
O+	O+ A+ B+ AB+	O+ O-
B+	B+ AB+	B+ B- O+ O-
AB+	AB+	Everyone
A-	A+ A- AB+ AB-	A- O-
O-	Everyone	O-
B-	B+ B- AB+ AB-	B- O-
AB-	AB+ AB-	AB- A- B- O-

Populační rozdíly (v průměru)

- nejčetnější 0+

- nejnižší frekvence AB-

ČR:

A 42%

O 39%

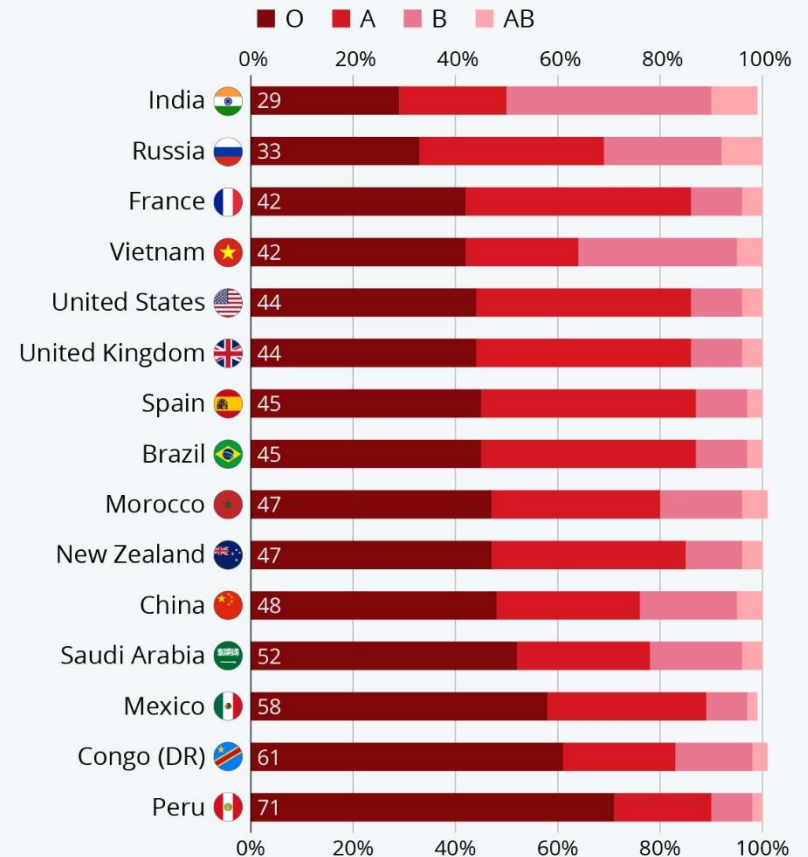
B 15%

AB 4%

Rh+ 85%

## The Rarest and Most Common Blood Types Around The World

Blood type distribution in selected countries (in %)\*

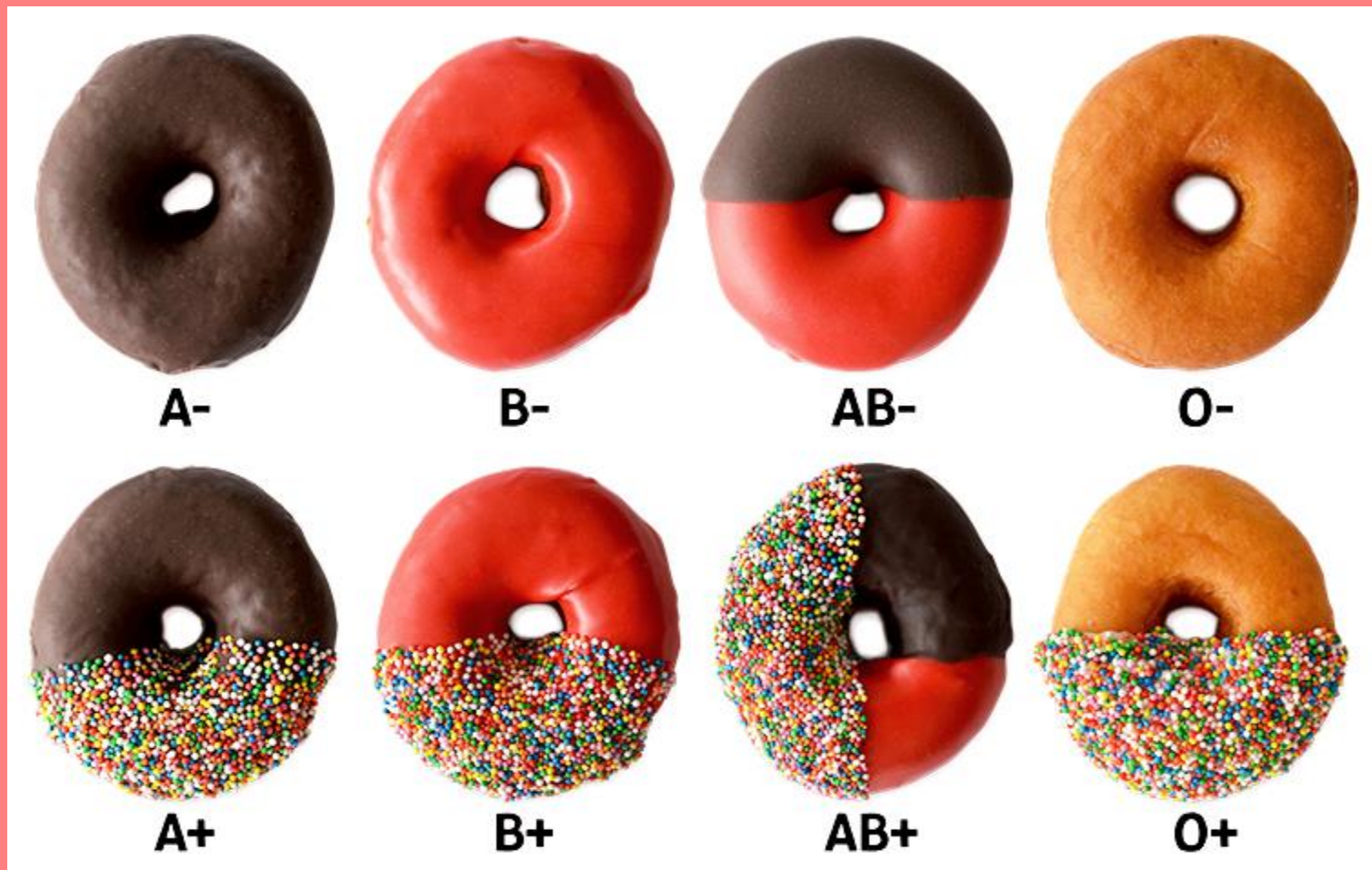


\* latest available data. Rounded figures.

Source: rhesusnegative.net



# Závěrem....



..není donut jako donut !!!

# Metabolismus

- **anaerobní glykolýza** (90% utilisace glukosy) = tvorba **ATP, 2,3-BPG**

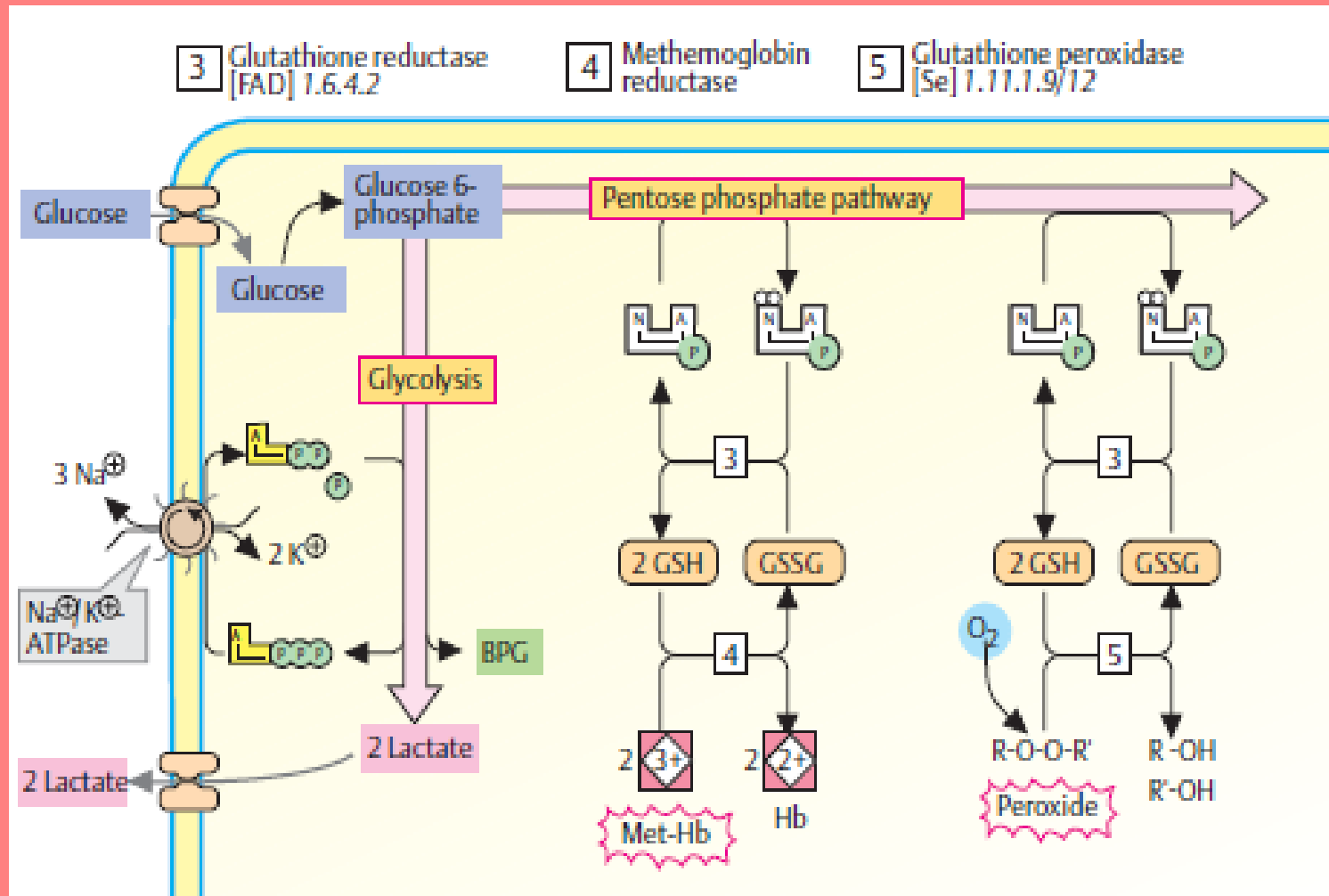
- **pentosafosfátový cyklus** (10% utilisace glukosy) = tvorba **NADPH**



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

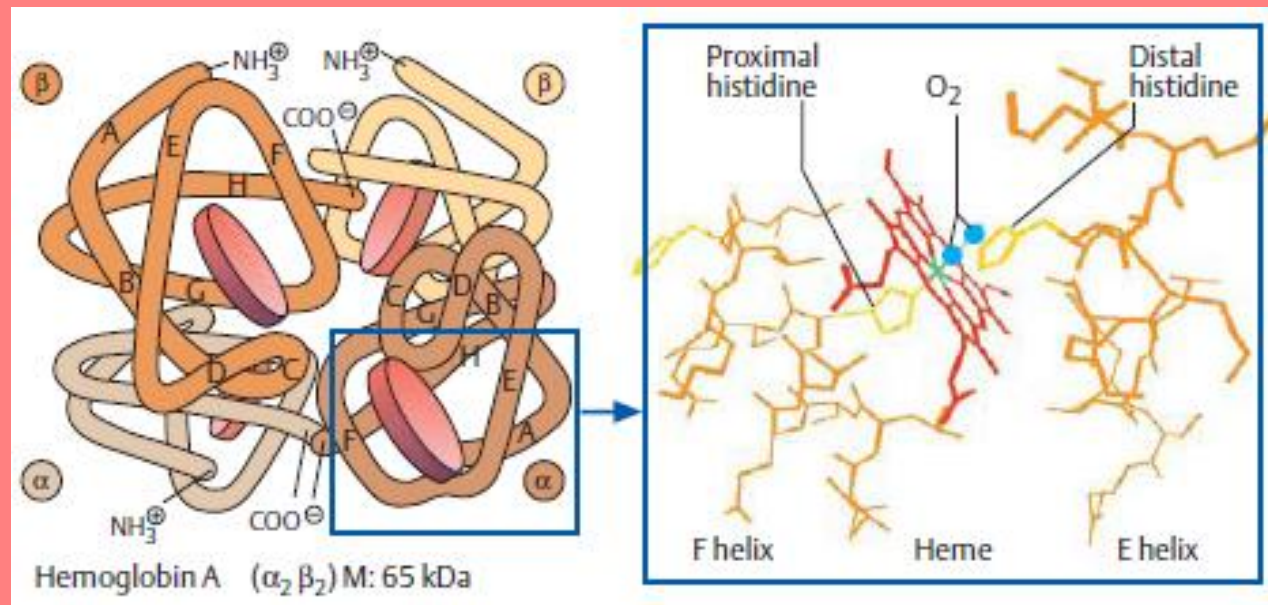
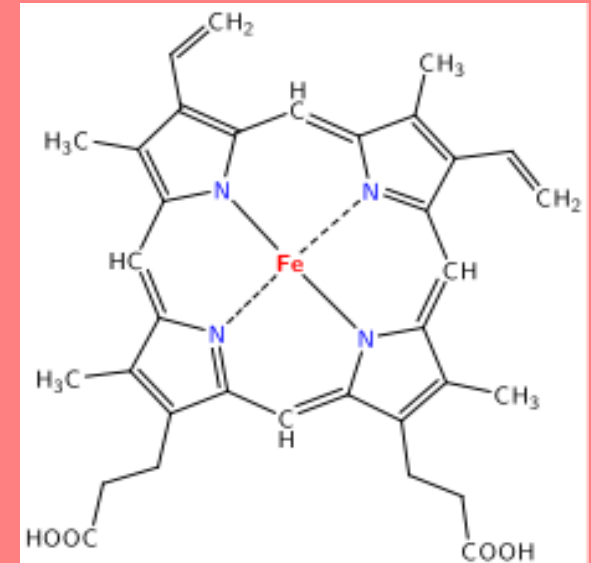
-udržení tvaru a funkce membránového skeletu

- 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.

-CO<sub>2</sub> + Hb = **karbaminohemoglobin**

-CO + Hb = karboxyhemoglobin (vyšší afinita než O<sub>2</sub>)

-Fe<sup>2+</sup> → Fe<sup>3+</sup> v Hb = **methemoglobin**

-Hb + O<sub>2</sub> = 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<sub>2</sub> než HbA

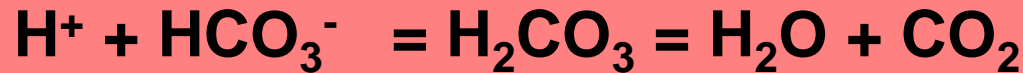
-**dospělého člověka HbA** ( $\alpha_2\beta_2$ ) ~ 96-98%

HbA<sub>2</sub> ( $\alpha_2\delta_2$ ) ~1.5-3.5%

HbF ~ 0.5-0.8%

# Hemoglobin (Hb) III.

Reakce transportu O<sub>2</sub>:



(HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> z plasmy, kompenzace přesunem Cl<sup>-</sup> z Erytrocytů= chloridový posun)

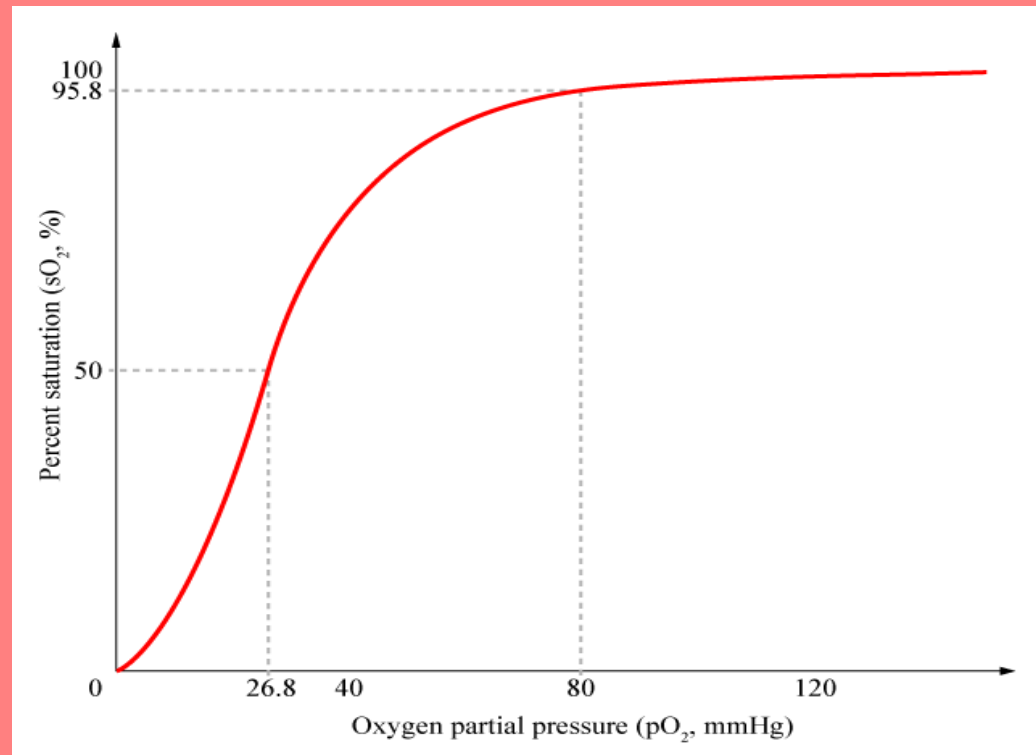
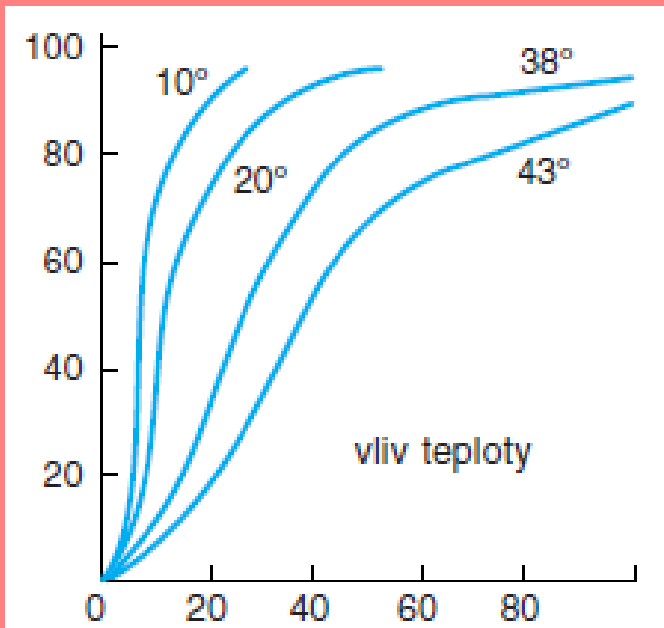
**Karbonátdehydratasa** (carbonic anhydrase) – akcelerace

rovnováhy mezi CO<sub>2</sub> a HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>

CO<sub>2</sub> – vazba na koncové AK 4 podjednotek → karbamátové vazby (hemoglobinový pufrací systém)

# Hemoglobin (Hb) IV.

- Saturační křivka Hb = **Sigmoidní tvar** (důsledek alosterie Hb jednotek = homotropní efekt)
- Fyziologický význam = **snazší uvolnění  $O_2$  v tkáních s malým  $pO_2$**



**Saturace je ovlivněna:**

- **pH**
- **2,3-BPG**
- **teplota**

- Arterie  $pO_2 = 95$  mm Hg

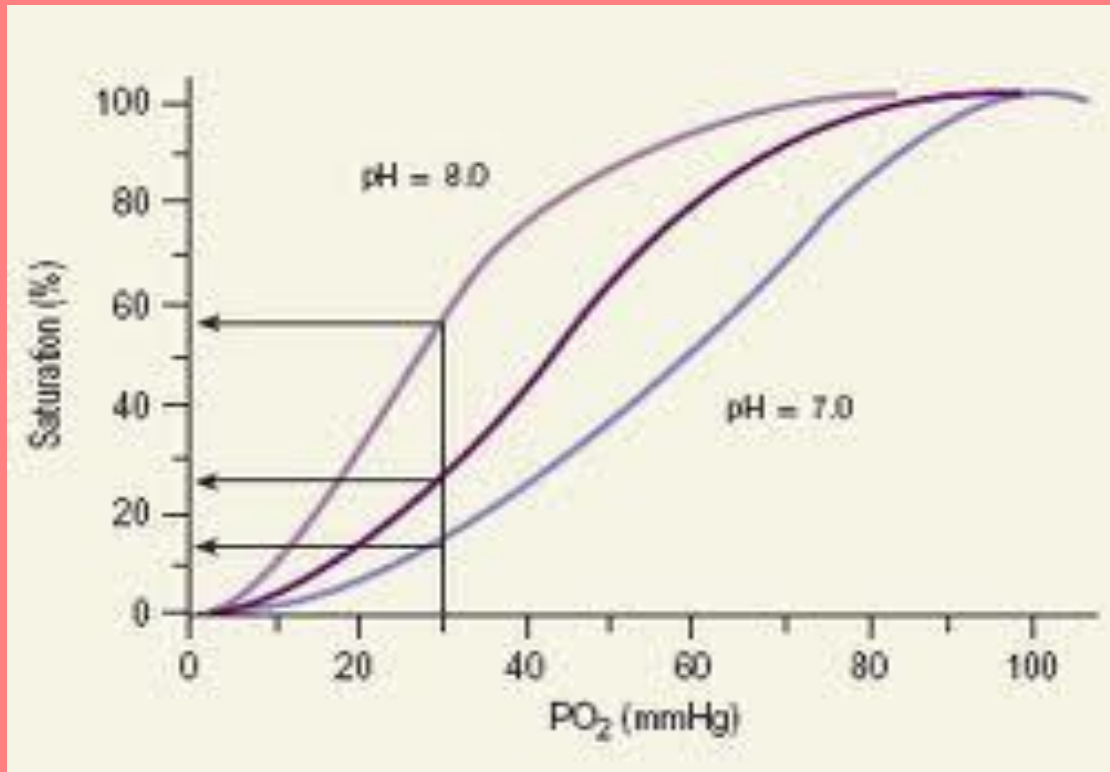
- Vény  $pO_2 = 40$  mm Hg

# Faktory ovlivňující saturační křivku

- pH (Bohrův efekt) – **heterotropní allosterický efekt**

(mezi vazbou  $O_2$  a  $H^+$ )

- produkce  $CO_2$  tkáněmi → zvýšení  $H^+$



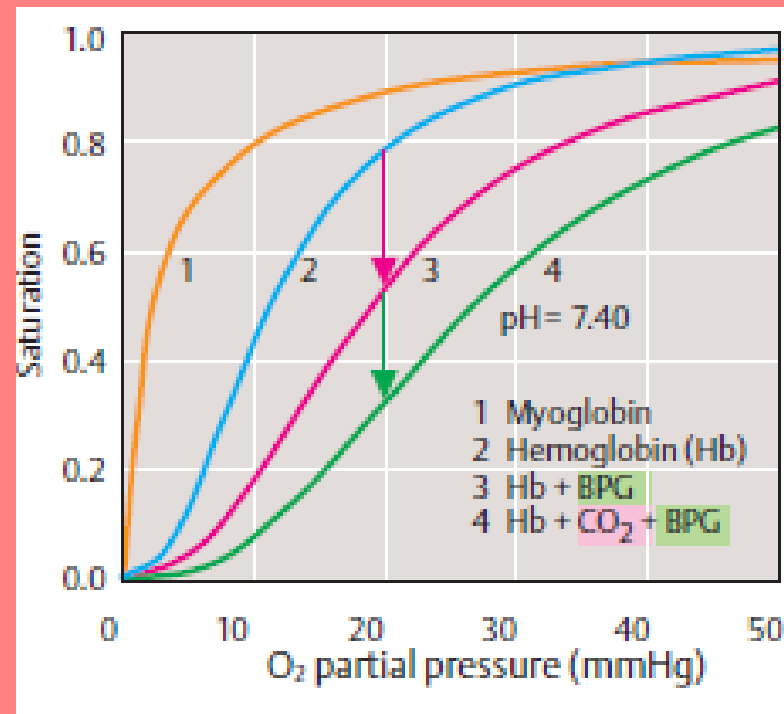
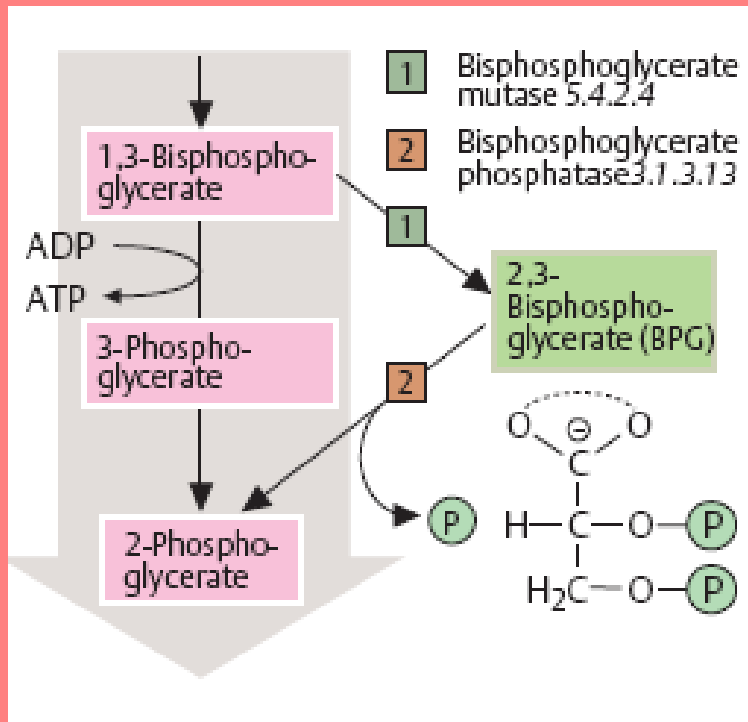
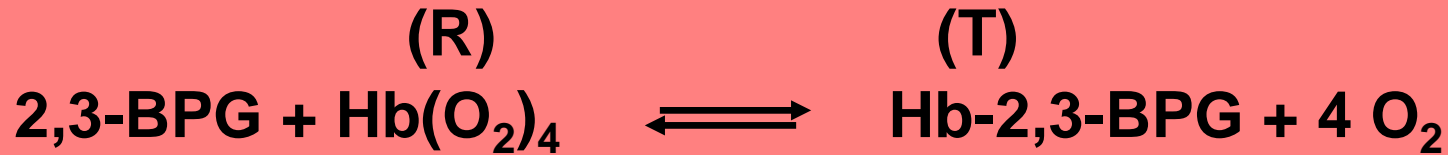
-**Alkalóza** (diuretika, Cushingův syndrom)

-**Acidóza** (diabetes melitus)

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

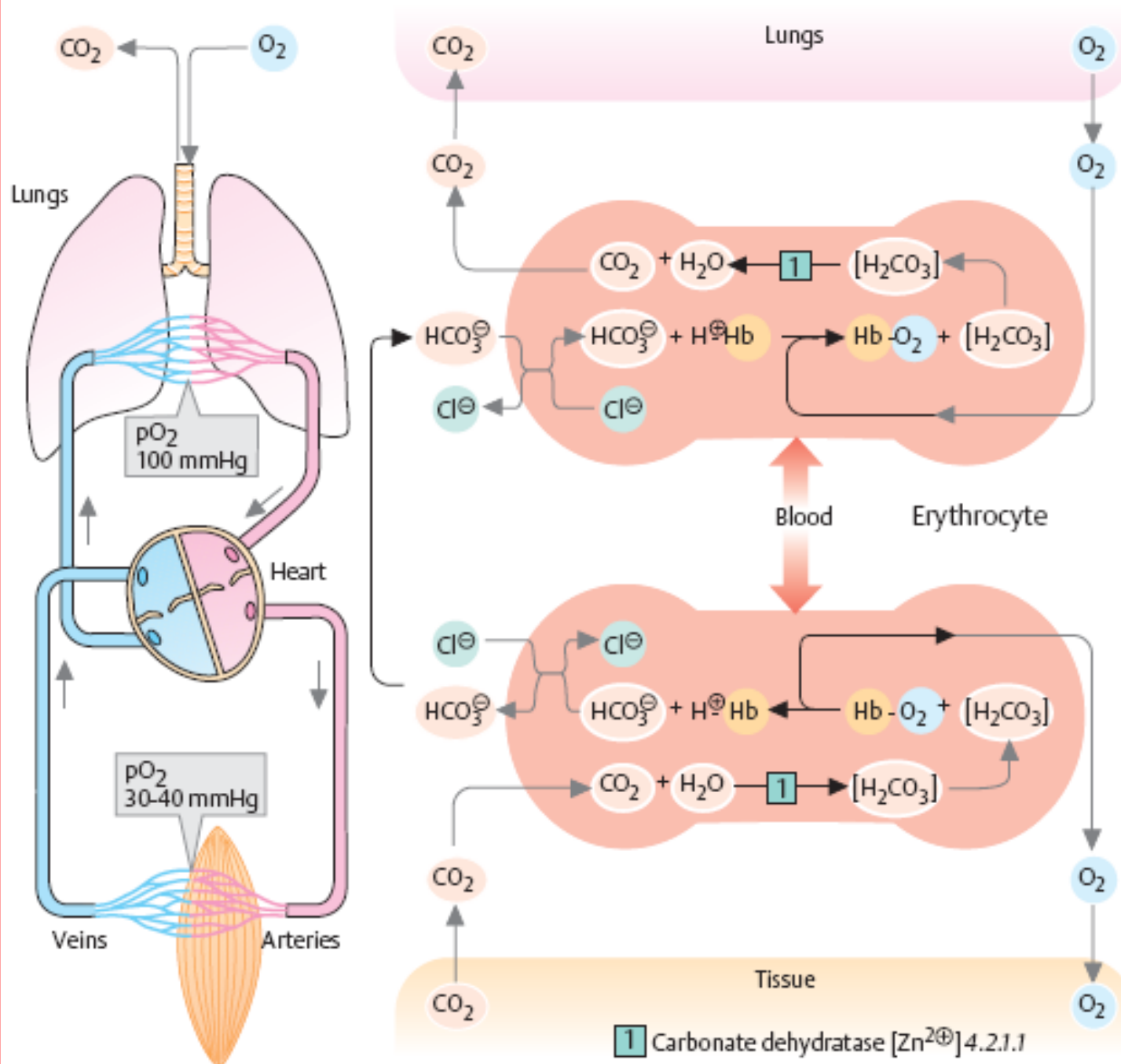
# Faktory ovlivňující saturační křivku II.

## - 2,3-BPG



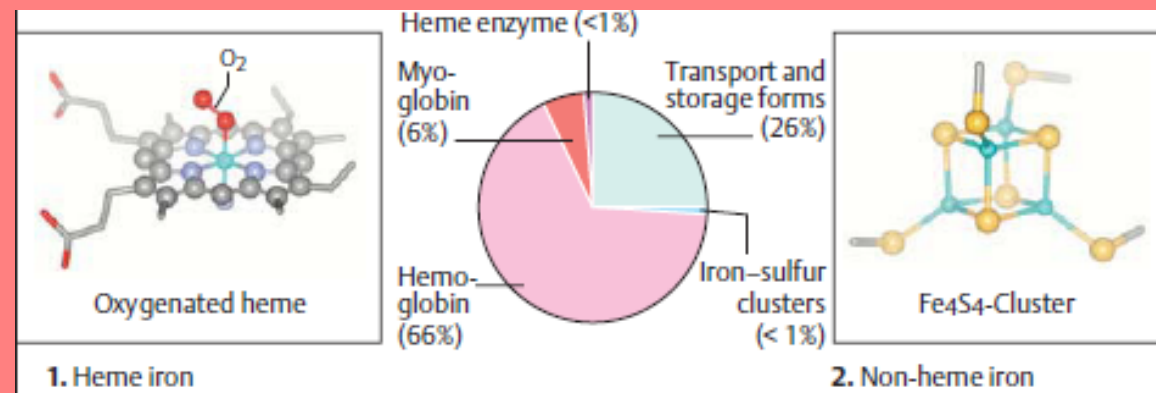
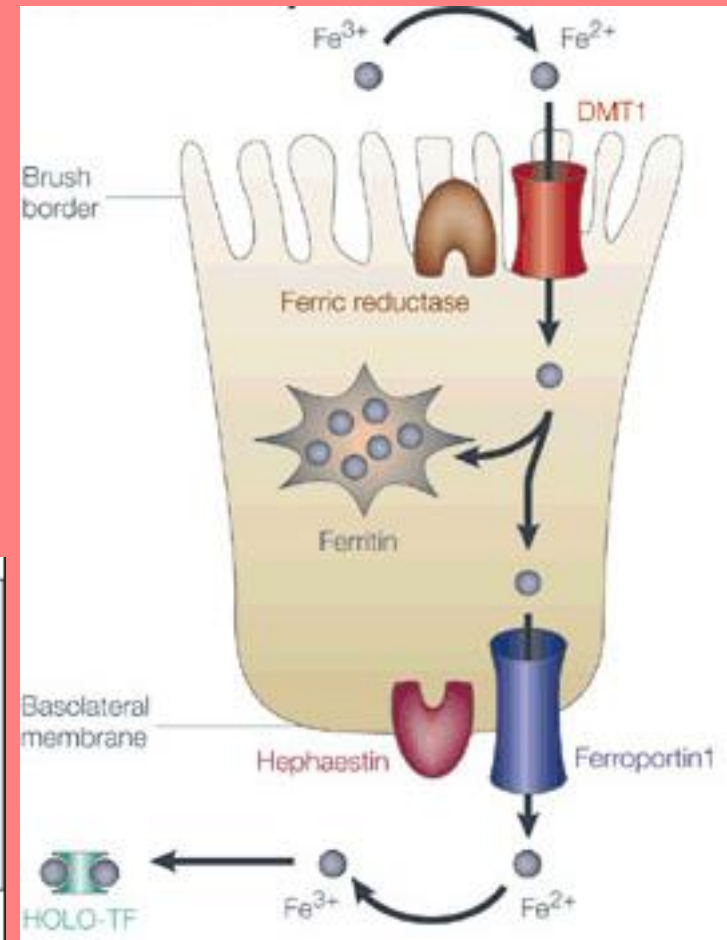
- Nárůst 2,3-BPG = hypoxie

# Shrnutí fyziologické funkce erythrocytů

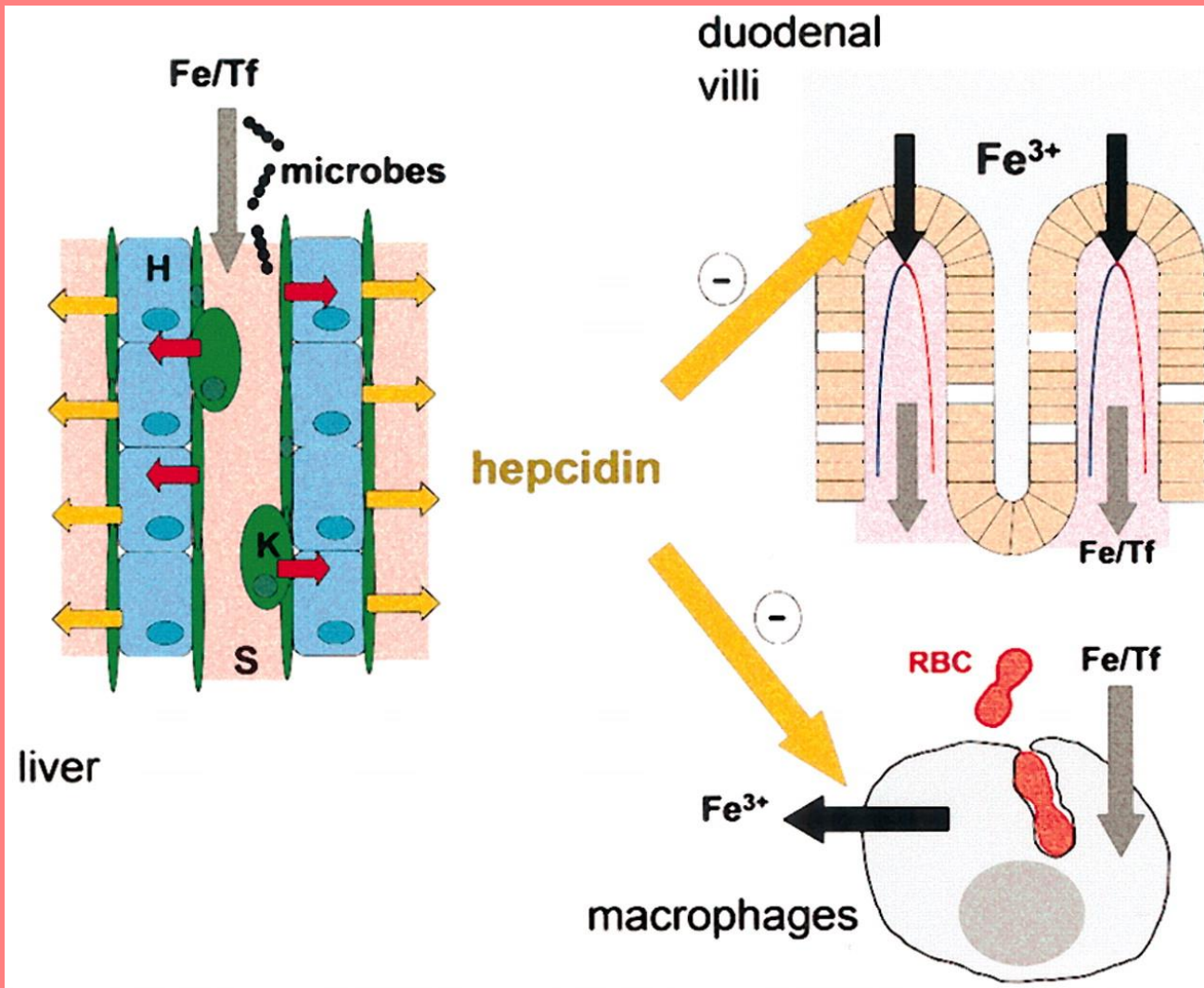


# Metabolismus Fe

- 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
- **Vylučováno 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)
- **Regulace** - peptidový hormon **Hepcidin**



# Metabolismus Fe II. - **hepcidin**



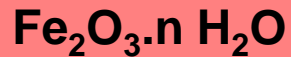
- Objeven 2000
- 25 AK finální peptid
- produkován hepatocyty (**játra**)
- **Indukce zánětem** nebo zvýšeným příjmem Fe → suprese absorpce či uvolnění
- **Inhibice** exprese anemií nebo **hypoxií**



# Metabolismus Fe III.

Formy :

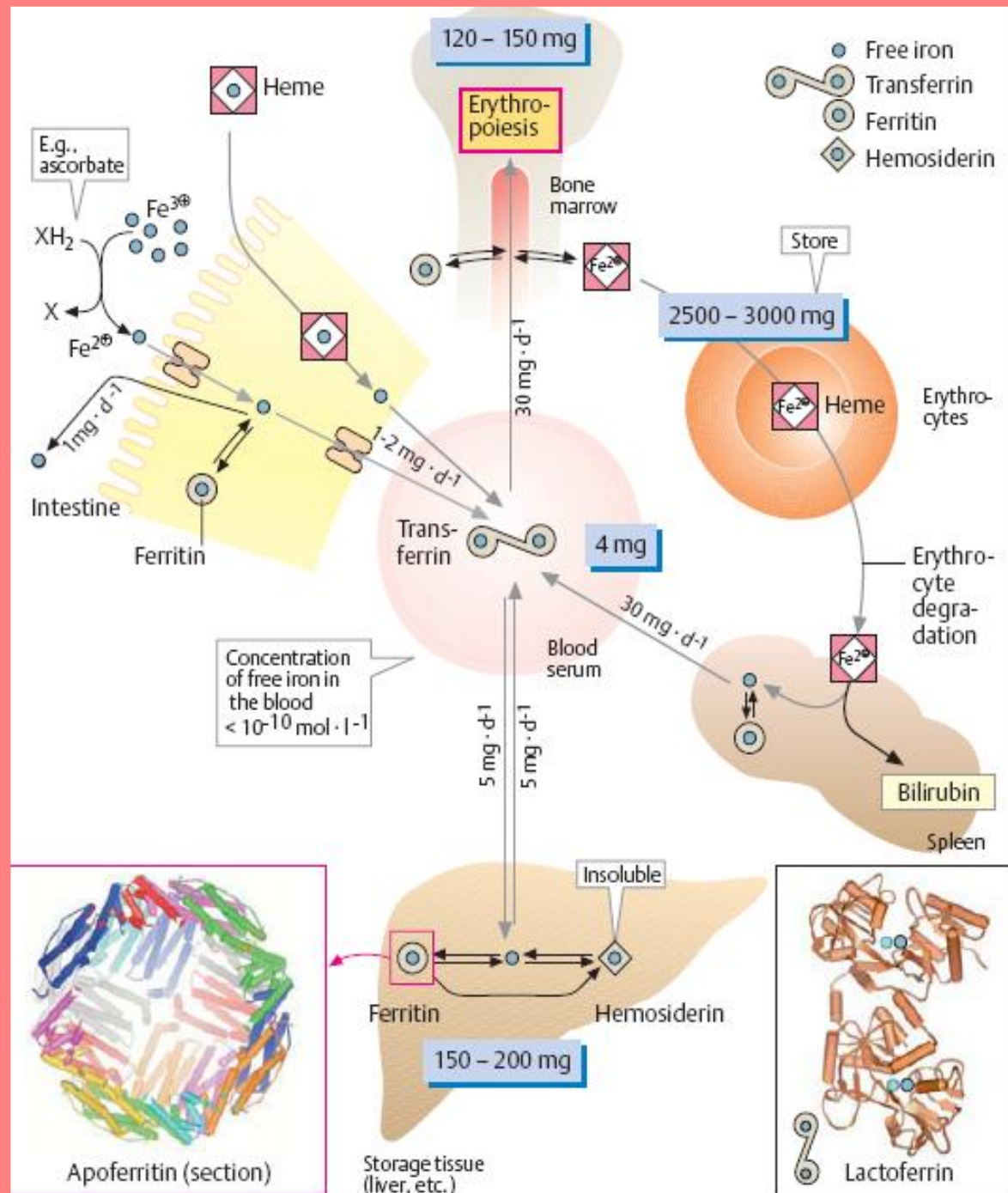
- **feritin** (1934 - Laufberger)



- **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

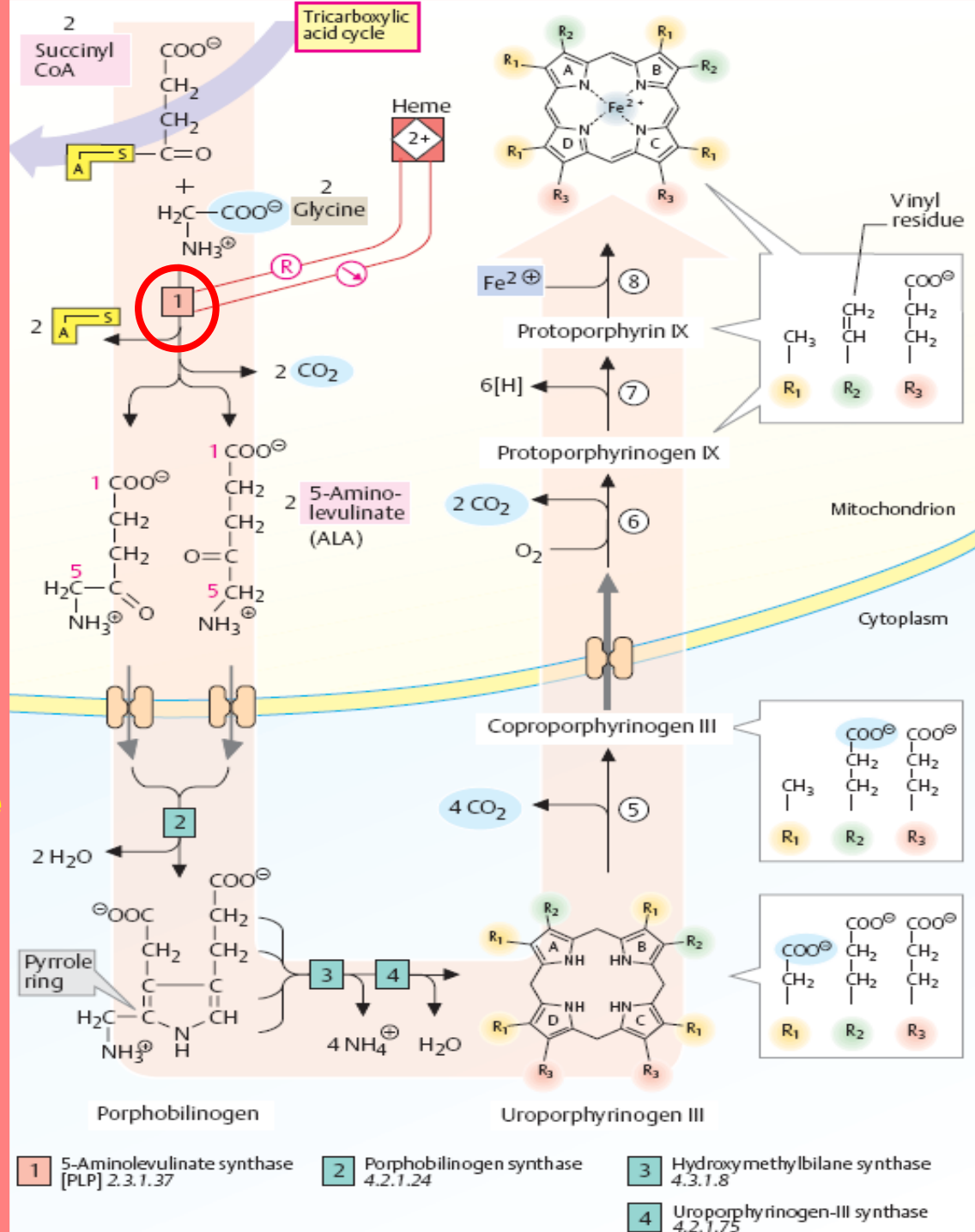
- **Váže  $Fe^{2+}$**

= tetrapyrrol – 4 valence na  $Fe^{2+}$

- Syntéza ~85% **kostní dřevě**; játra

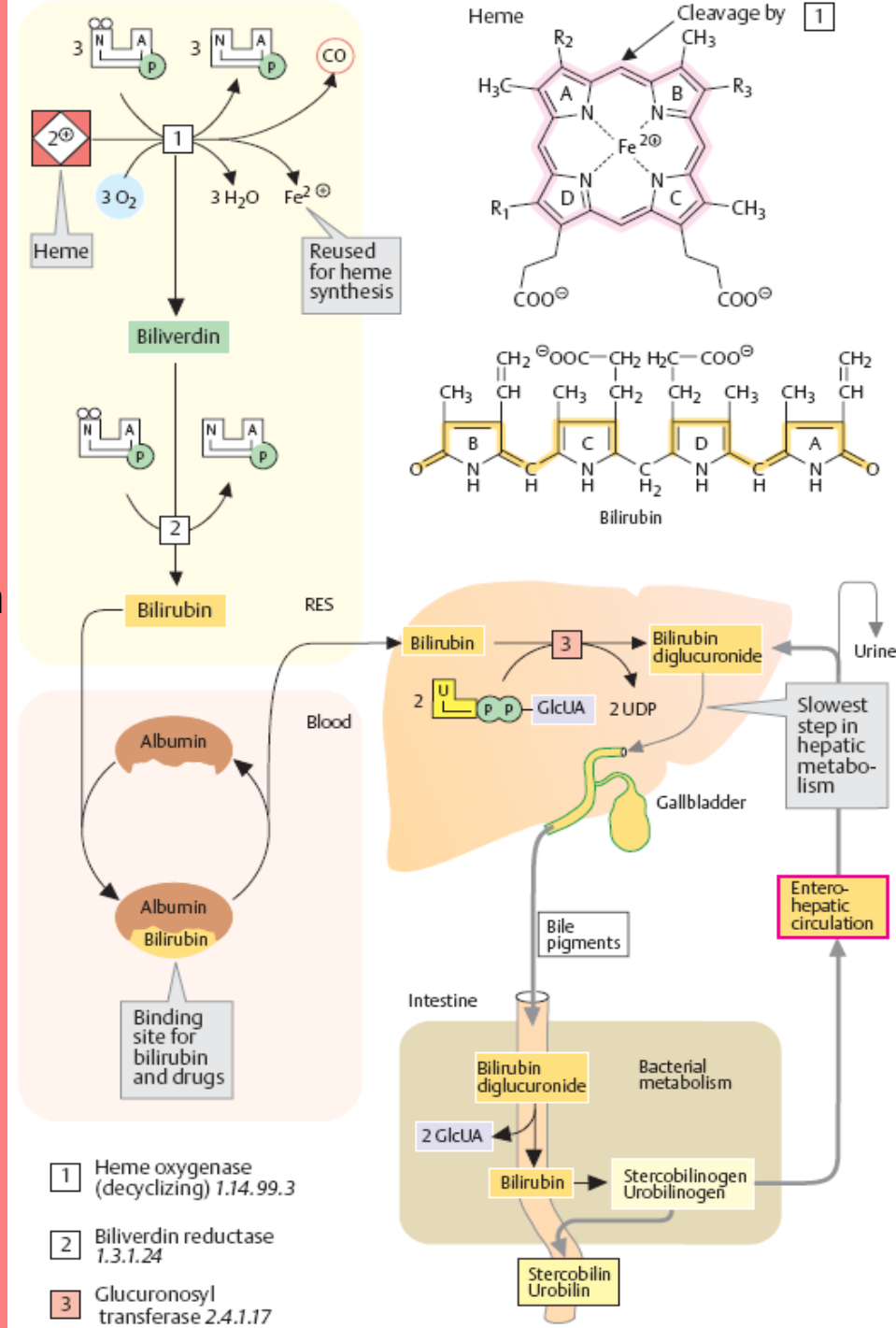
- **Začátek i konec = mitochondrie**

- 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 (Gilbertův syndrom, Criegler-Najar syndrom)
- Indukce UGT1A1 (UDP-GT) léky či kontaminanty – fenobarbital, dexamethazon, 3-methylcholanthren



# Erythropoesa

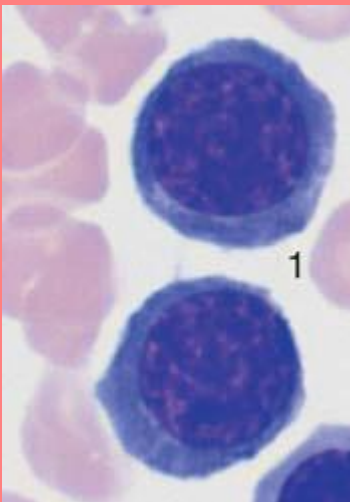
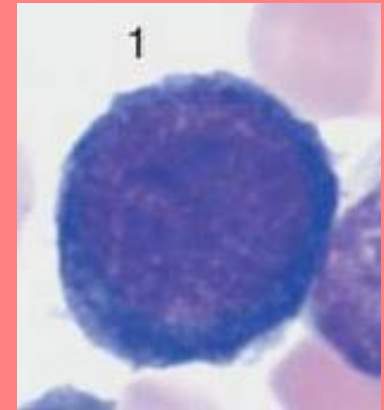
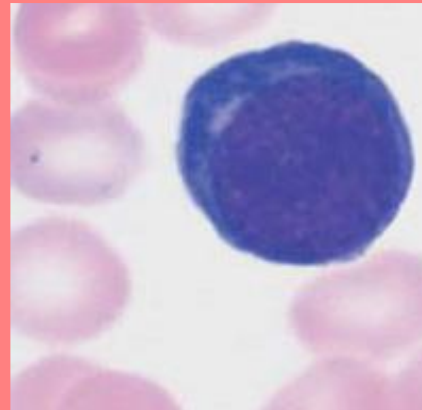
## Pluripotentní kmenová buňka

**Progenitorová buňka** – **BFU-E** (burst forming unit erythroid) – schopná migrace, nejranější předchůdce erytrocytu, tvorba malých klastrů – diferenciaci 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  $\mu\text{m}$  v průměru, modrofialová barva cytoplazmy, basofilní chromatin

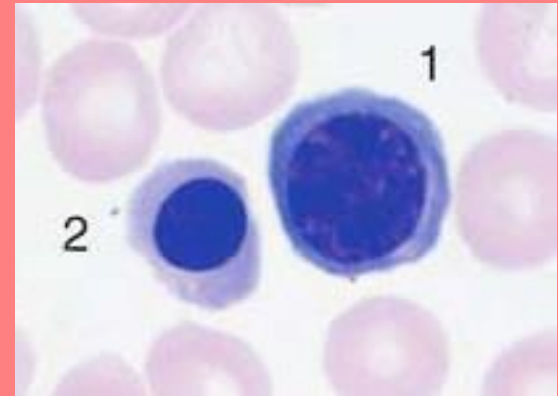


## **Basofilní normoblast = erythroblast** –

o ~50% menší než ProErythroblast, paprskovitě uspořádaný chromatin, sytě fialové zbarvení, tmavomodrá barva plazmy

# Erythropoesa II.

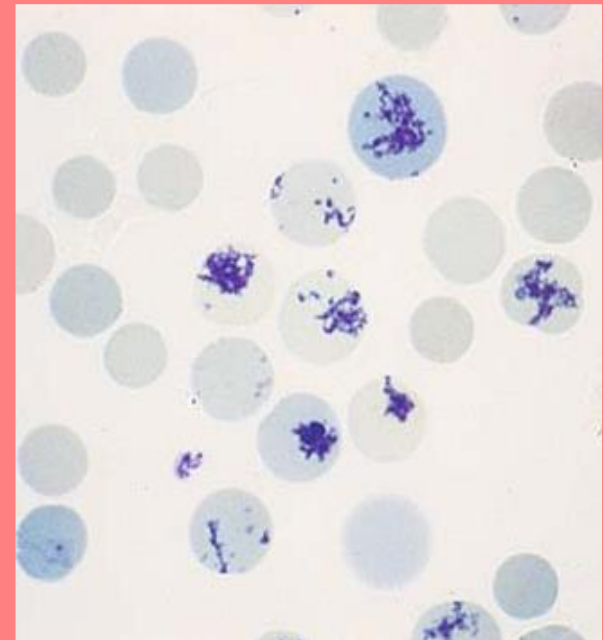
**Polychromní normoblast** (1) – sytě zbarvené jádro, tvar kulovitý, šedé zbarvení cytoplasmu v důsledku Hb, schopné se dělit, 8-12 $\mu$ m



**Ortochromní normoblast** (2) = erythroblast – do růžova zbarvenou cytoplasmu, malé svaštělé jádro, nedělí se, 8-10 $\mu$ m

**Retikulocyt** – bezjaderná buňka, mitochondrie, ribosomy; 0,5-1% v krvi, 8-10 $\mu$ m

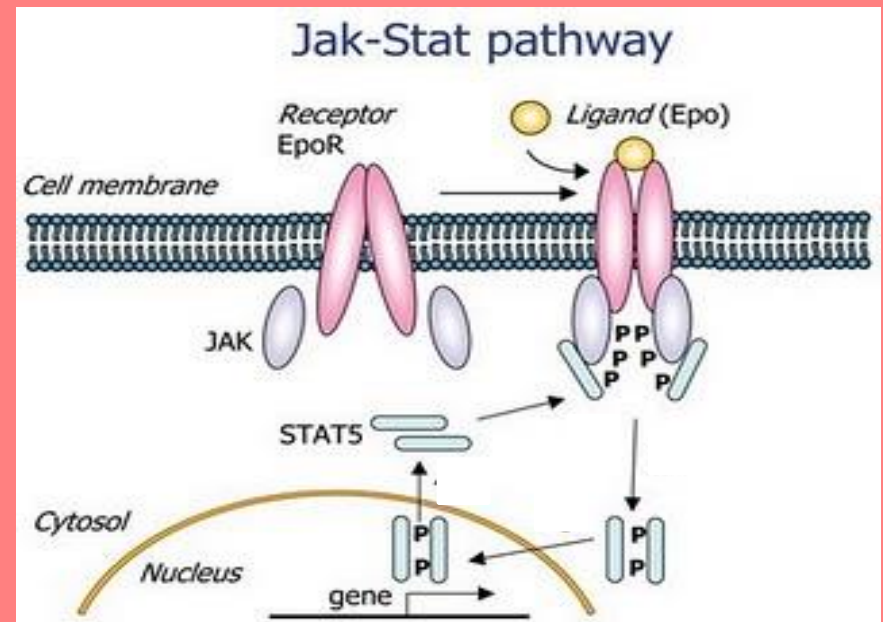
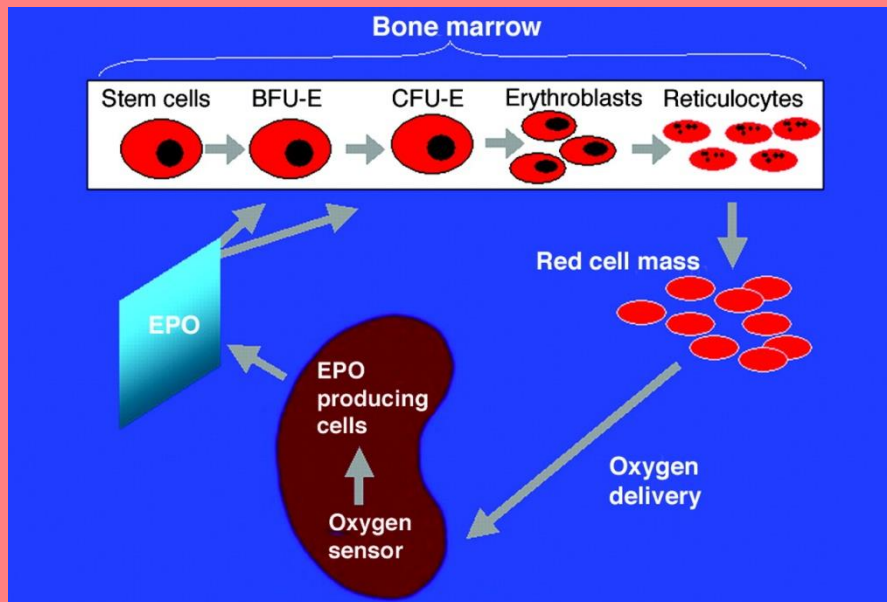
**Erythrocyt** = normocyt



# Kontrola erythropoesy

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

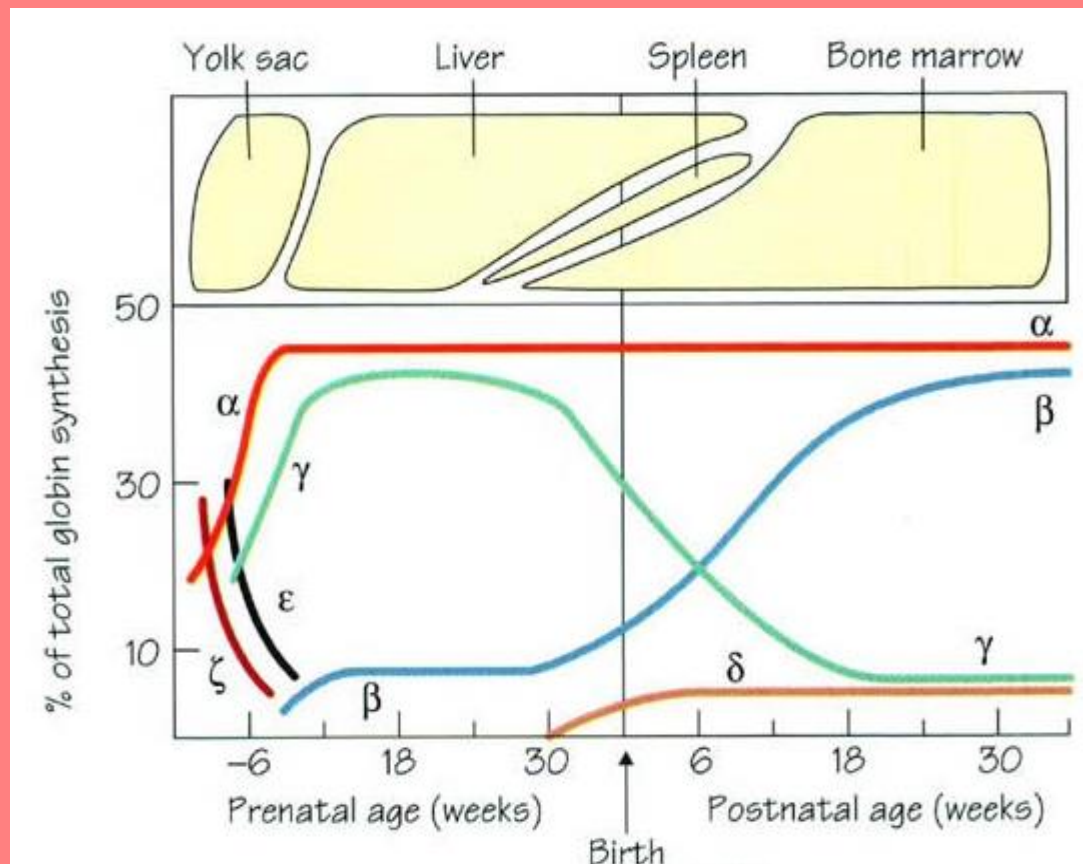
- 8.týden – tvorba lymfocytů v thymu

- 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



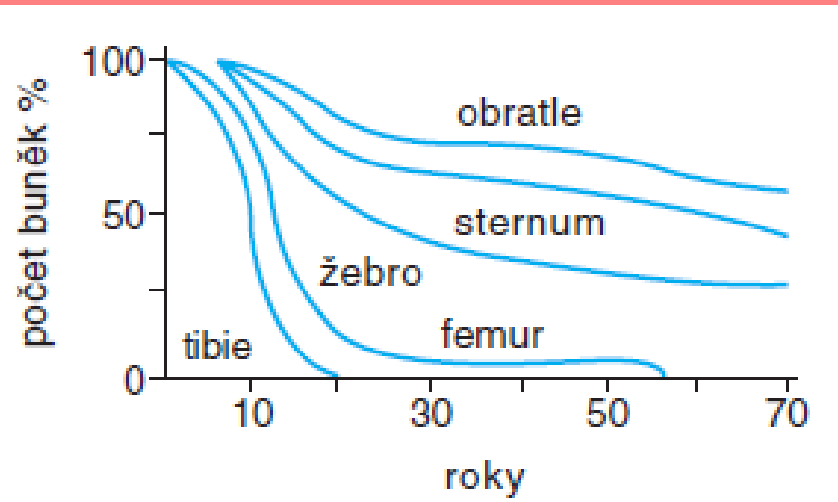
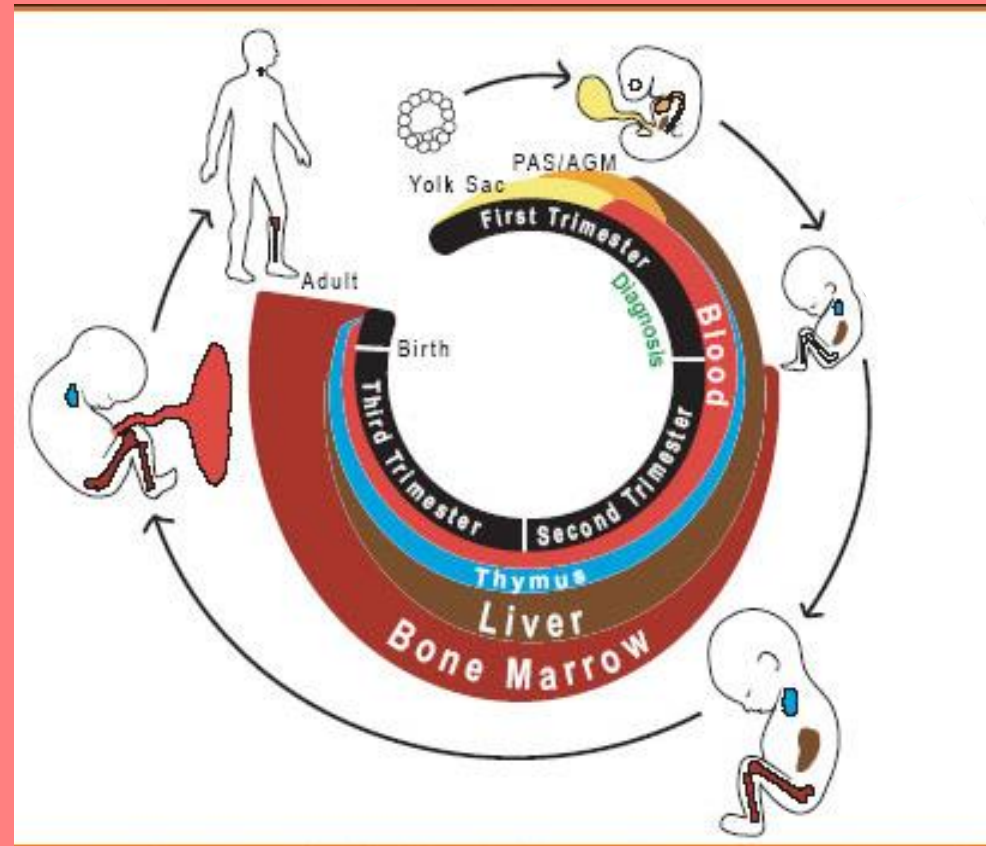
# Ontogeneze Erythropoesy / Hematopoesy

## Novorozenec

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

## Dospělý člověk

- žebra, obratle, hrudní kost (sternum), kosti rukou a nohou (tibia, femur), lebka, bederní kosti





# Slovo závěrem.....



## Čerstvý vzduch do vašich plic....

