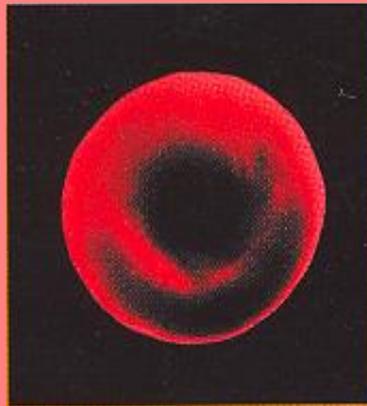
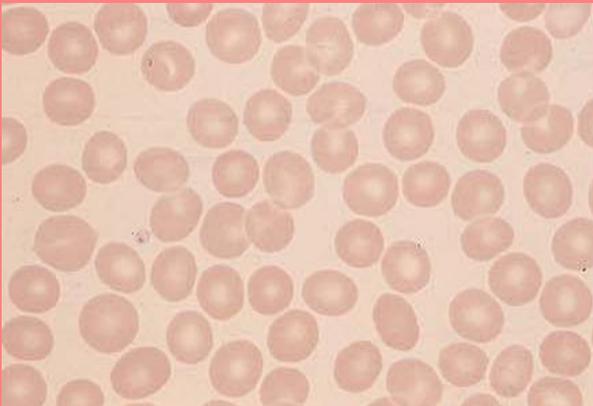


Základy Hematologie KBB / ZHEM

Lekce 2 – Fyziologie erytrocytů



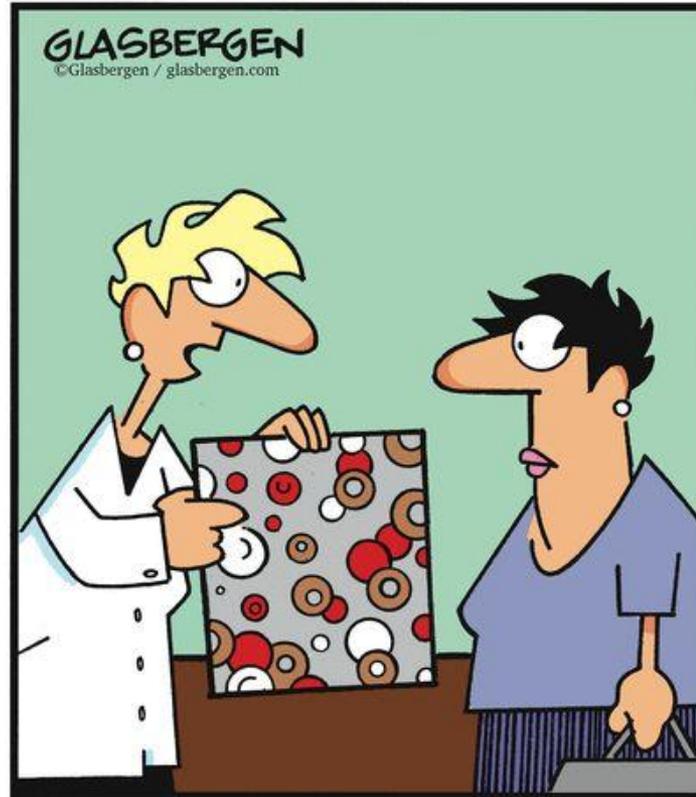
Radim Vrzal

radim.vrzal@upol.cz

Katedra buněčné biologie a genetiky
budova 51



Začínáme....



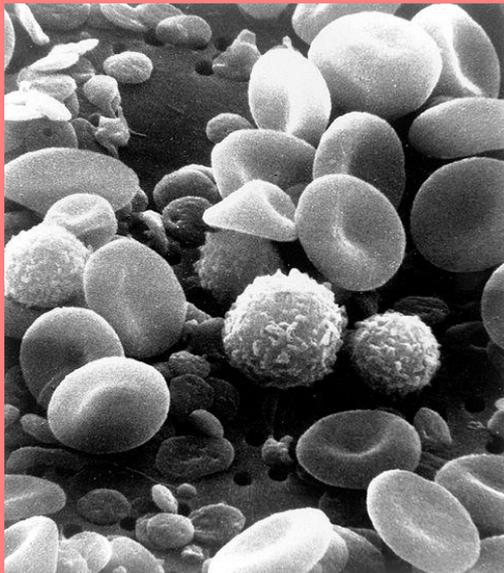
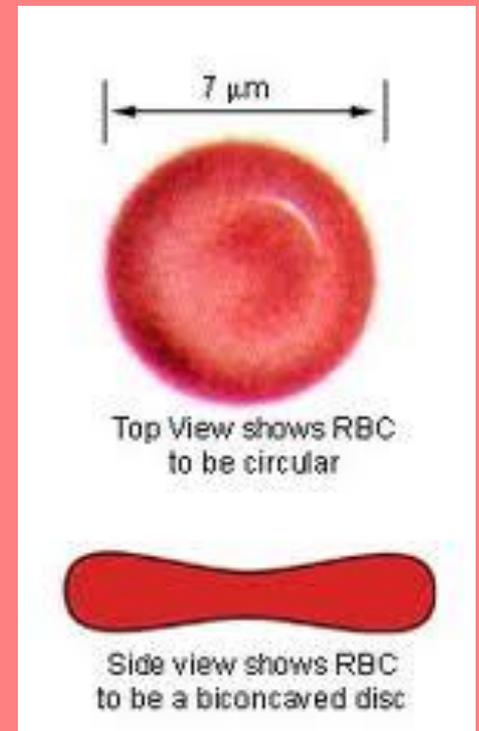
**“The red circles are your red blood cells.
The white circles are your white blood cells.
The brown circles are donuts. We need to talk.”**

Není donut jako donut.....

Základní charakteristiky

Erytrocyt - **bezorganelová** buňka

- tvar: **bikonkávní disk** → flexibilní pro průchod kapilárami
- funkce: **transport dýchacích plynů** (hemoglobin)
- povrch 130-140 μm^2 , objem $85 \pm 10 \mu\text{m}^3$ (fL)
- počet: muži $4,0-5,8 \cdot 10^{12}/\text{L}$, ženy $3,8-5,2 \cdot 10^{12}/\text{L}$



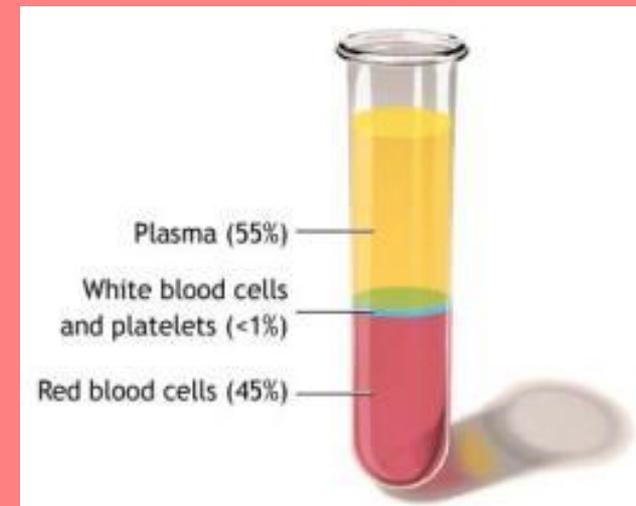
(muži ↑ než ženy)

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

muži $0,44 \pm 0,05$

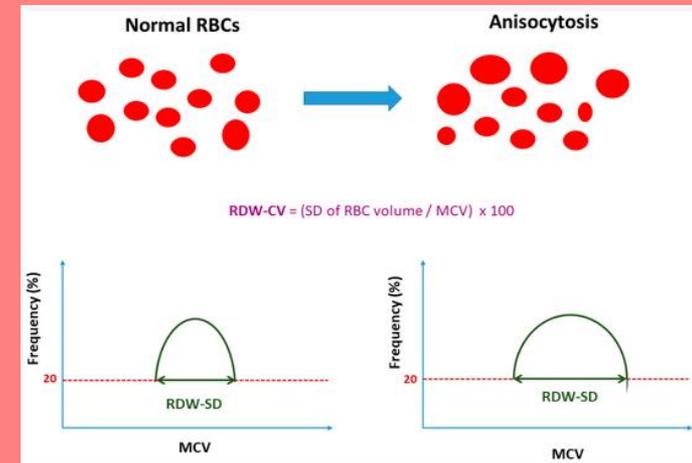
ženy $0,39 \pm 0,04$

- délka života: **110-120 dní**

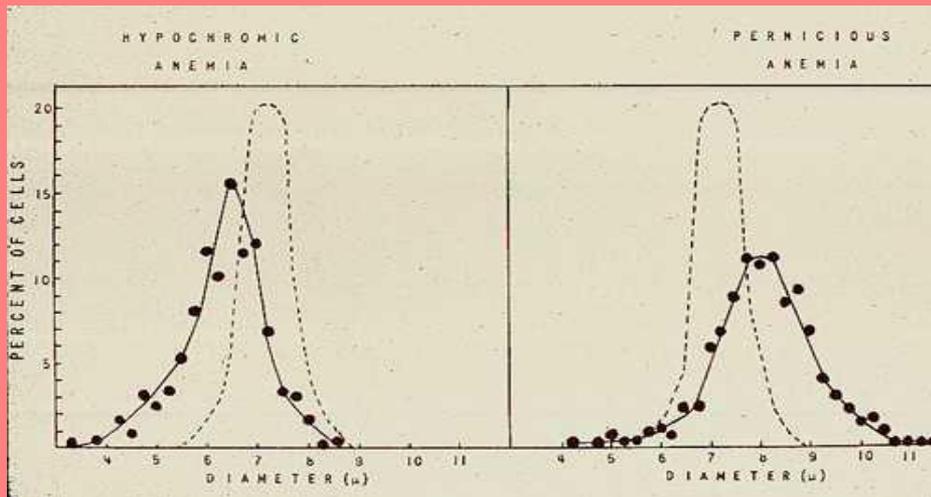


Základní charakteristiky II.

- 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)



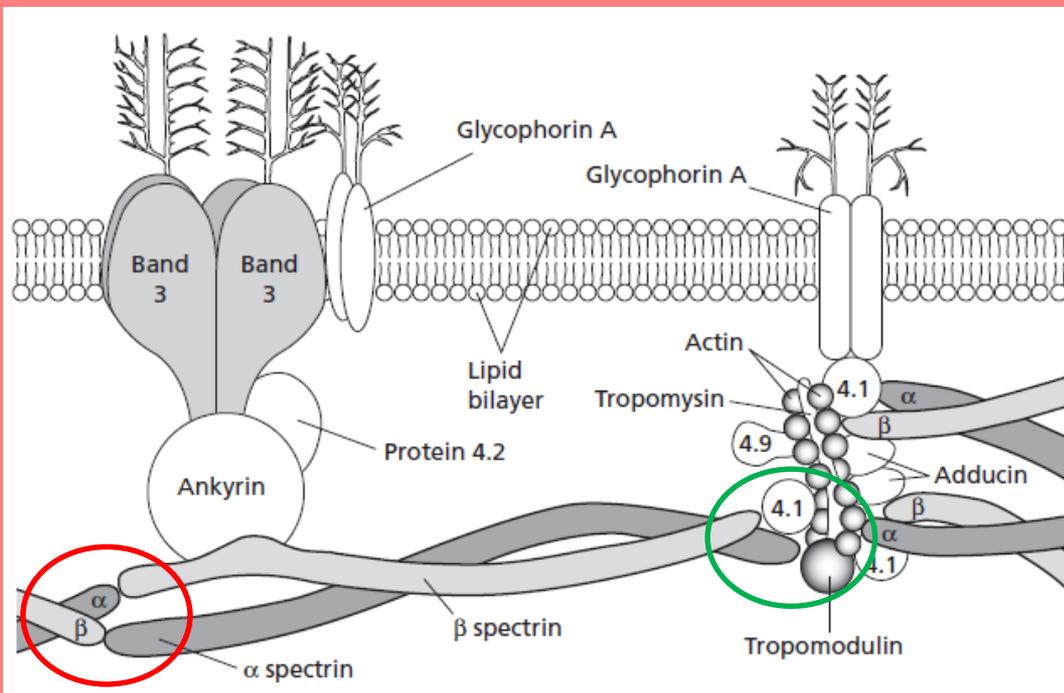
Price – Jonesova křivka



- posun charakterizuje patologický stav

Membrána erytrocytů

- 50% bílkoviny, 40% lipidy, 10% sacharidy
- výměna látek mezi IC a EC - 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, 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*)

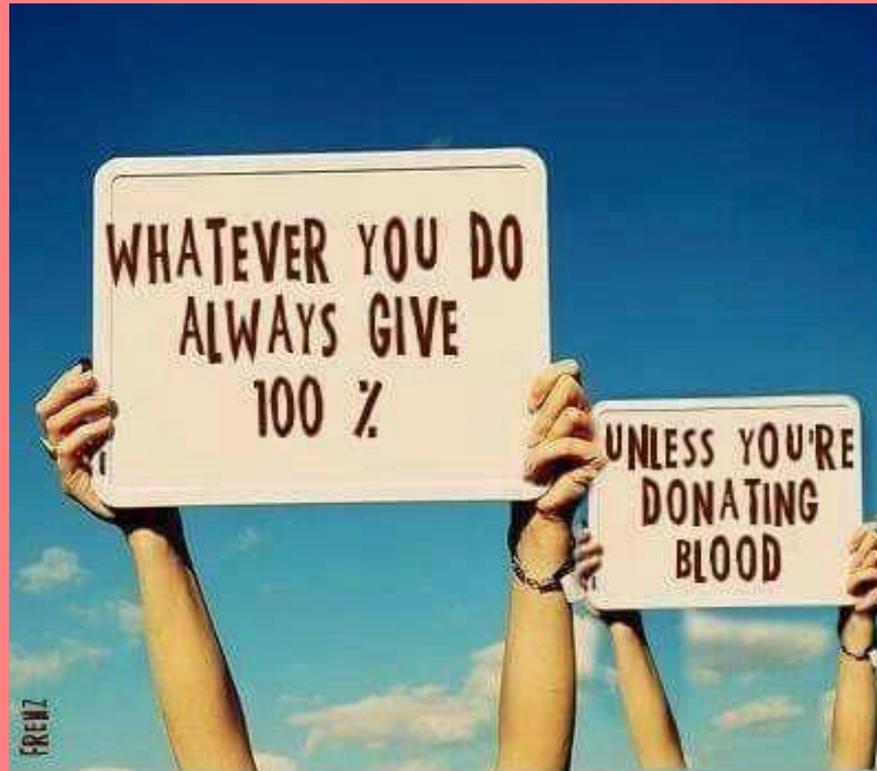
=> antigeny krevních skupin (A/B/AB/O – Band 3), Rh faktor, ...

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.

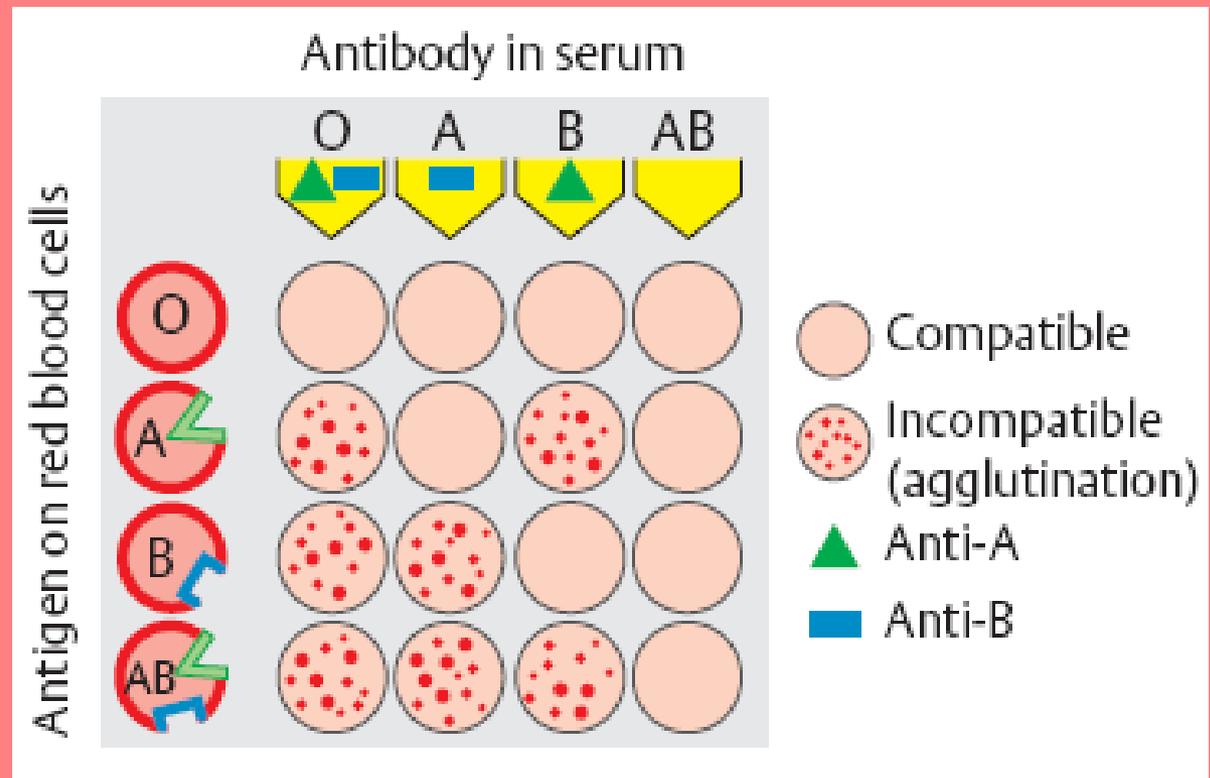
Co je **krevní transfuze** = přenos krve z jednoho jedince do druhého

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

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

Nepřítomny při narození !!!

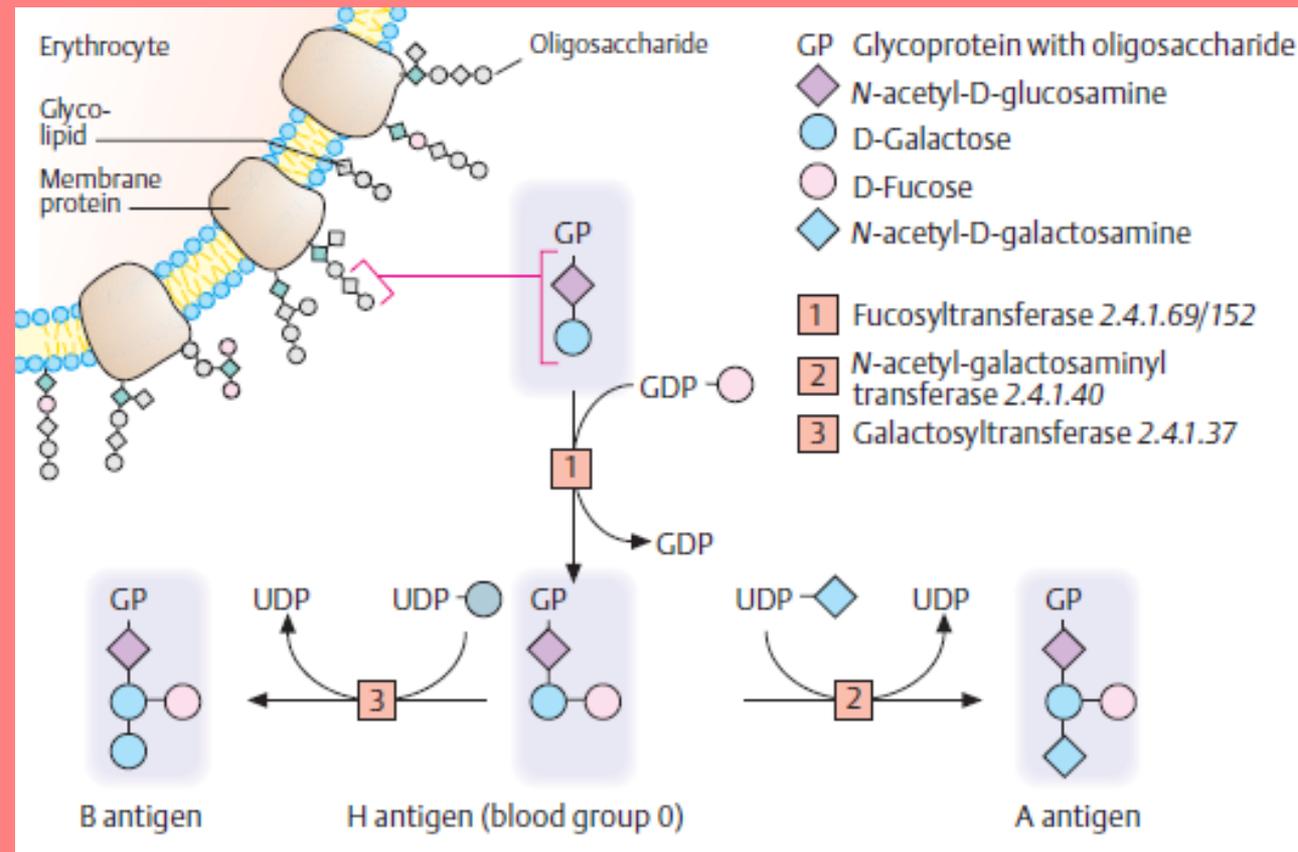
- anti-A a anti-B protilátky (aglutininy)
- A,B antigeny (aglutinogeny)



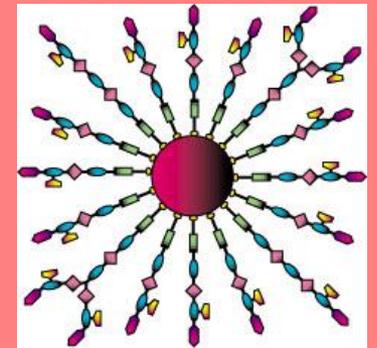
Krevní skupiny a transfuze II.

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

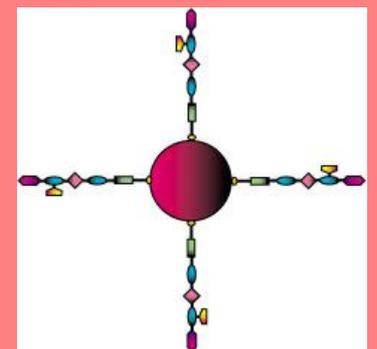
- transferasa **A**, alpha 1,3-**N-acetylgalactosaminyl**transferasa
- transferasa **B**, alpha 1,3-**galaktosyl**transferasa)
- transferasy A, B – rozdíl 4 AK v kat. doméně; fenotyp 0 – mutace v alelách → ztráta aktivity



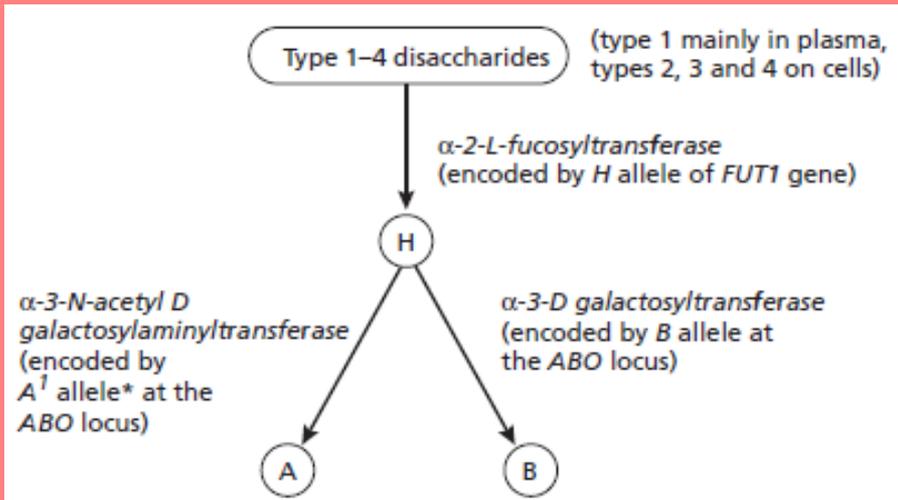
A1 podskupina (~80%)



A2 podskupina (~20%)



Krevní skupiny a transfuze III.

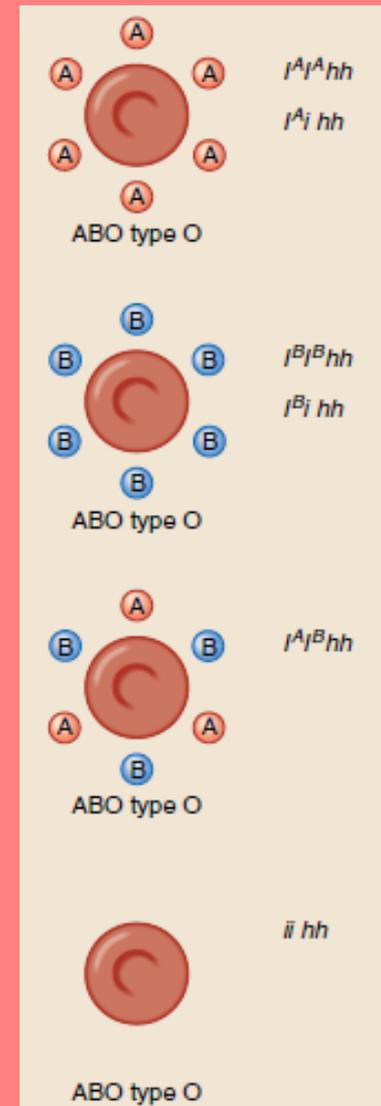
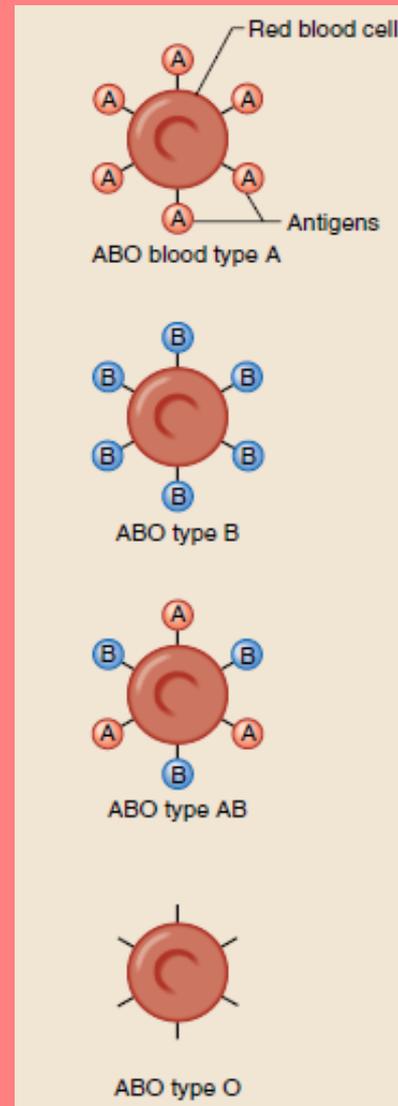


Locus	Allele	Transferase
<i>FUT1</i>	<i>H</i>	α -2-L-fucosyltransferase
	<i>h</i>	nil
<i>ABO</i>	<i>A</i>	α -3-N-acetyl-D-galactosaminyltransferase
	<i>B</i>	α -3-D galactosyltransferase
	<i>O</i>	nil

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



hh – vzácný, výjimka Reunion Island

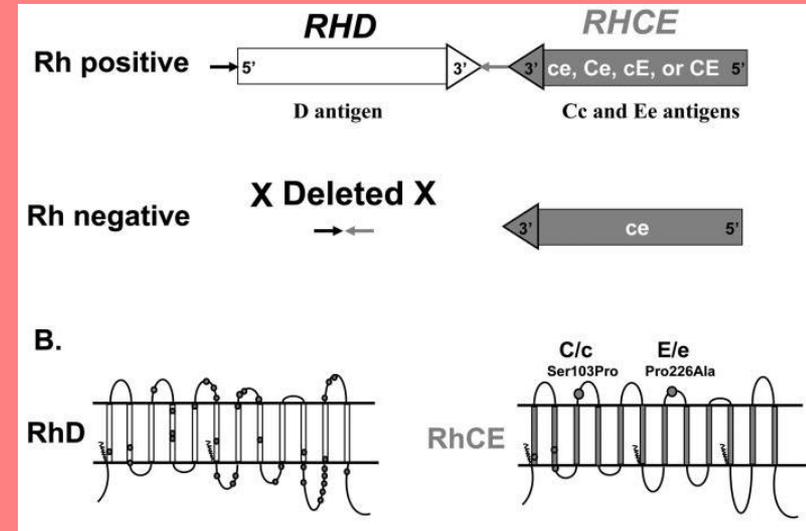
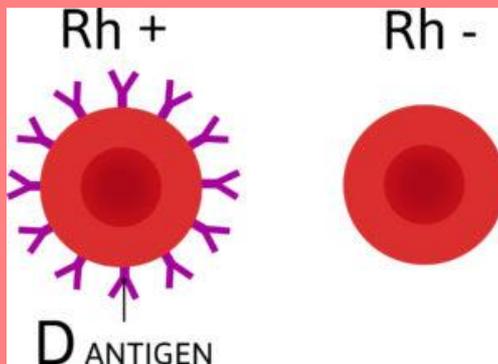


Krevní skupiny a transfuze IV.

Systém **Rh** (rhesus monkey) krevních skupin = 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), ...

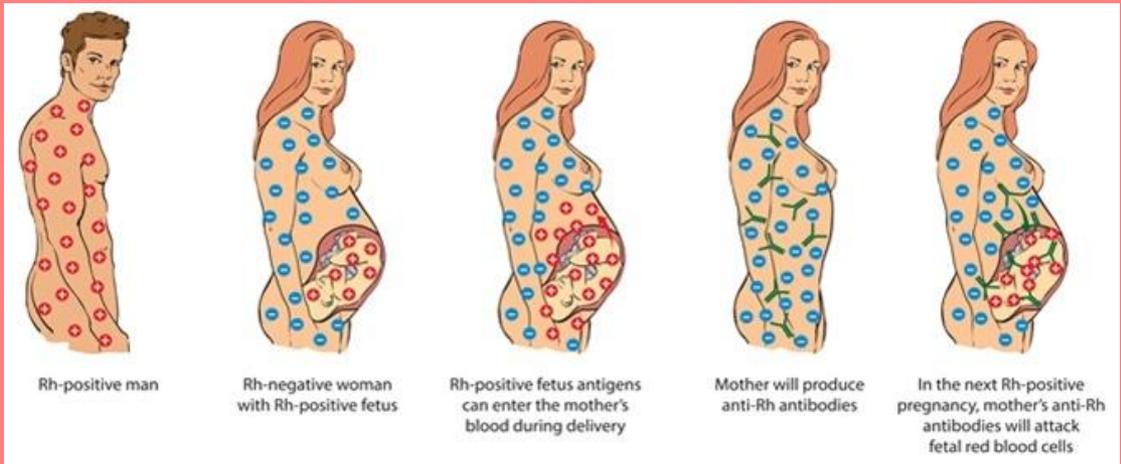
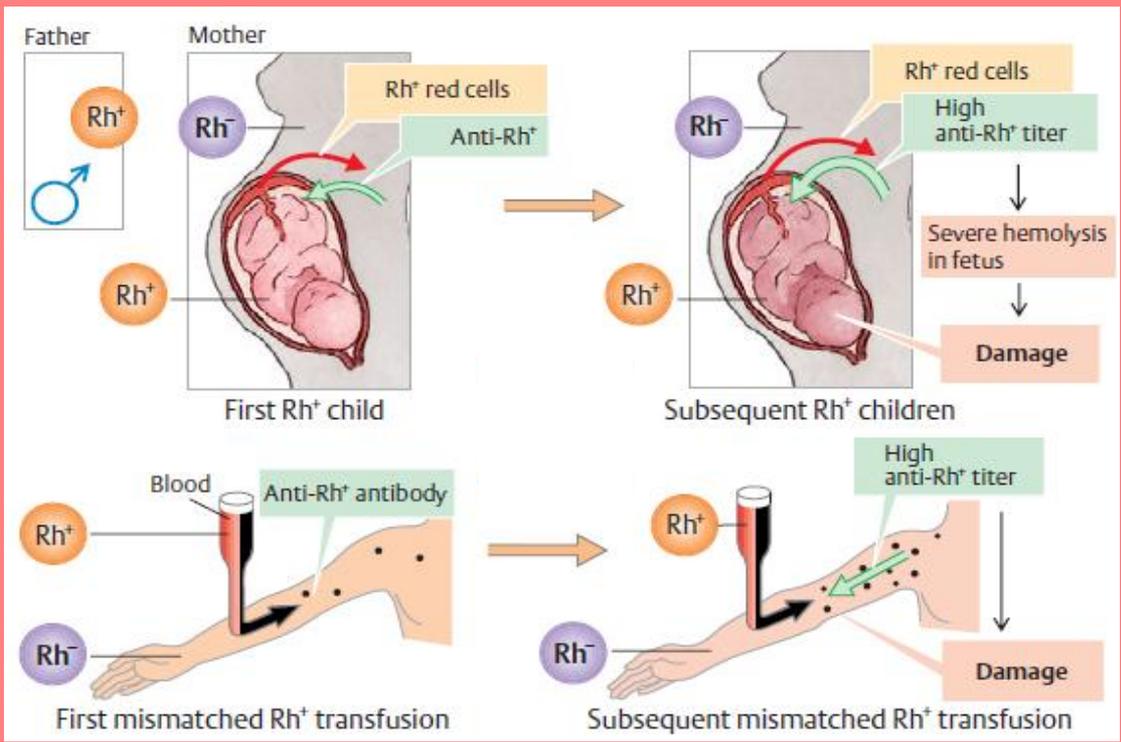
Imunogenní je antigen D (Wiener, 1937 - injekce lidských Erythrocytů do Rhesus monkey produkuje protilátky, které sráží krev u 85% bílých „New Yorkers“) → 85% Rh+

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-

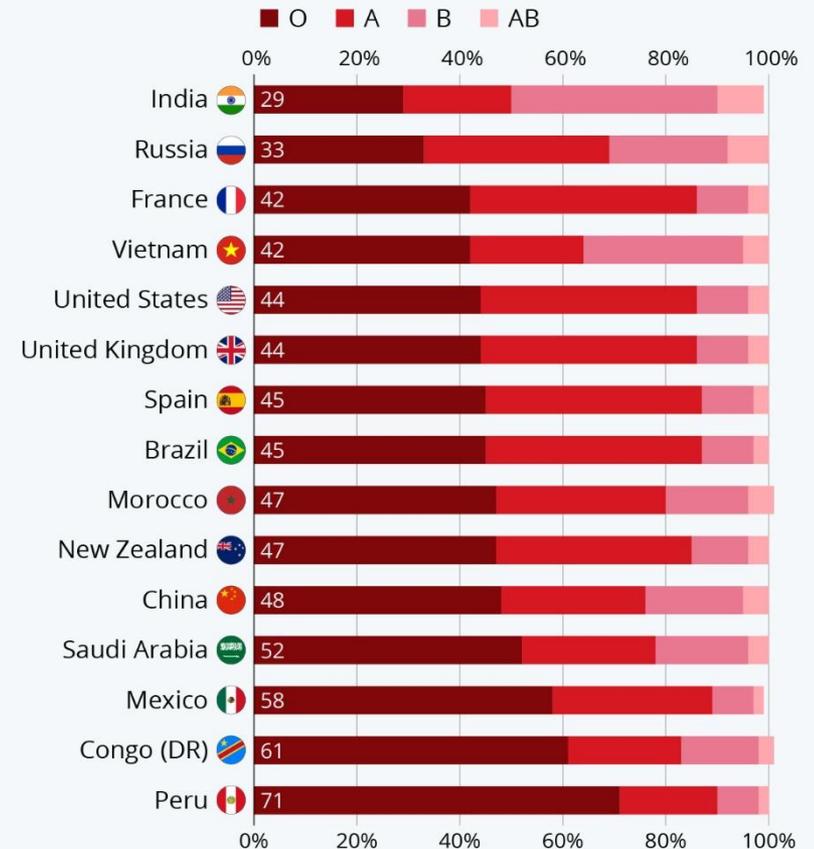
ČR:

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 %)*

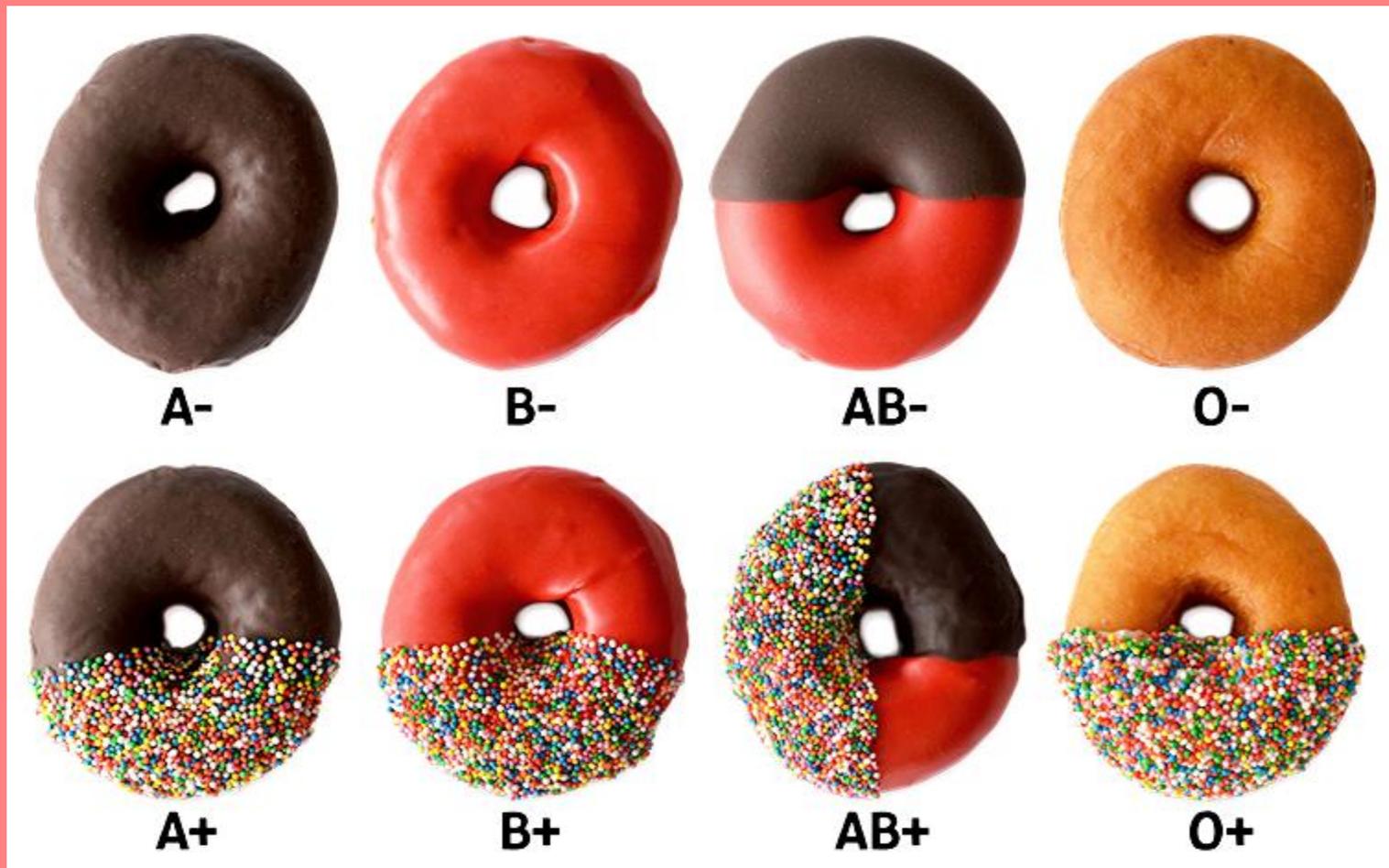


* latest available data. Rounded figures.

Source: rhesusnegative.net



Závěrem....



..není donut jako donut !!!

Metabolismus

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

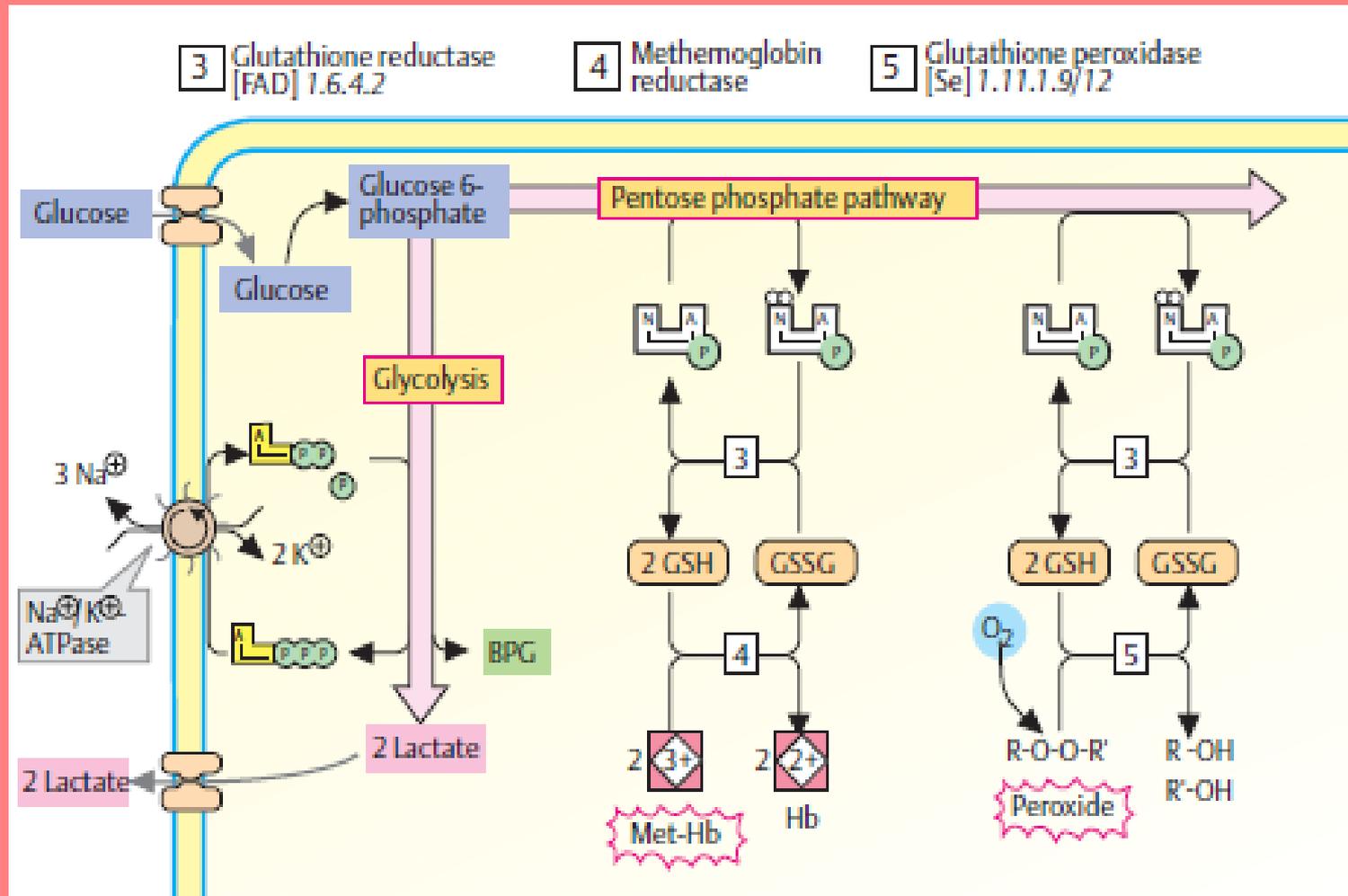
- pentosafosfátový cyklus (10% utilisace glukosy) = tvorba **NADPH**



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

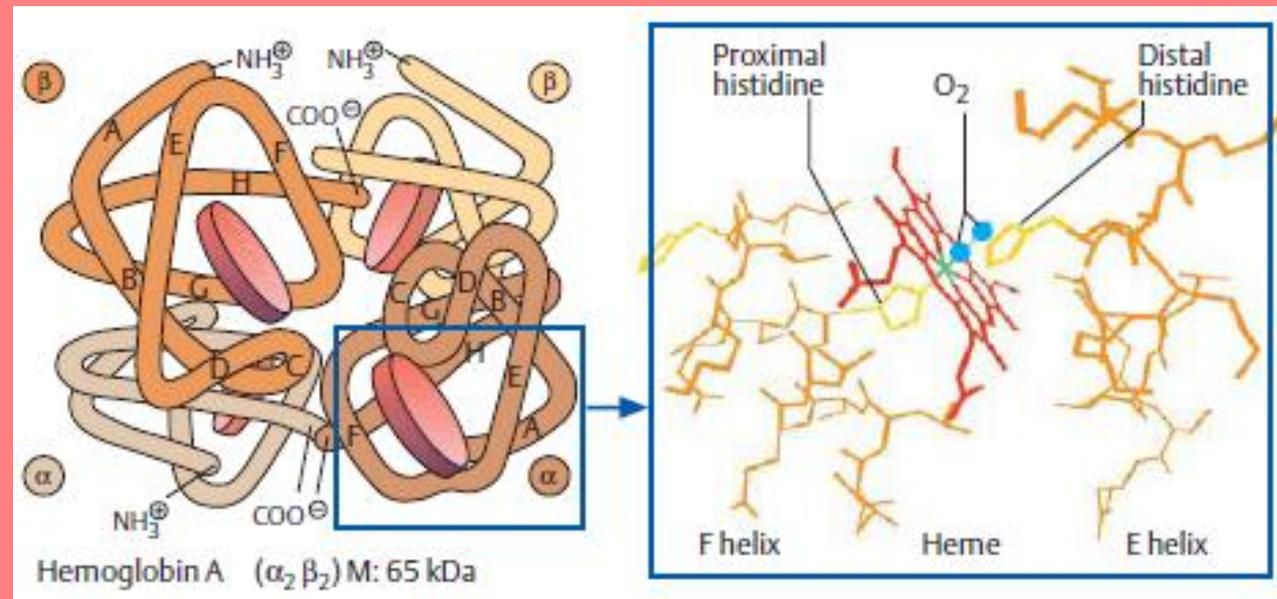
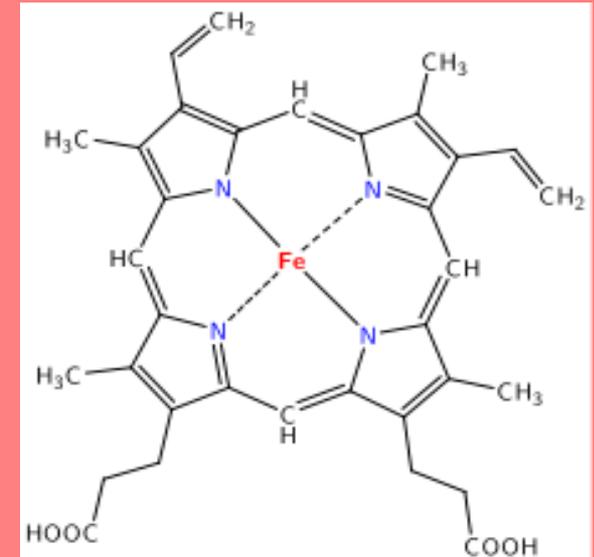
-udržení tvaru a funkce membránového skeletu

- 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.

-CO₂ + Hb = **karbaminohemoglobin**

-CO + Hb = karboxyhemoglobin (vyšší afinita než O₂)

-Fe²⁺ → Fe³⁺ v Hb = **methemoglobin**

-Hb + O₂ = 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 O₂ než HbA

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

HbA₂ ($\alpha_2\delta_2$) ~1.5-3.5%

HbF ~ 0.5-0.8%

Hemoglobin (Hb) III.

Reakce transportu O₂:



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

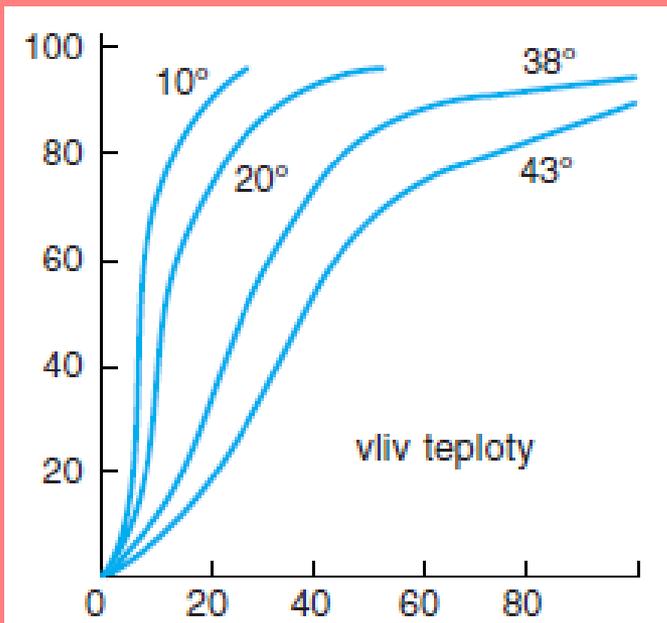
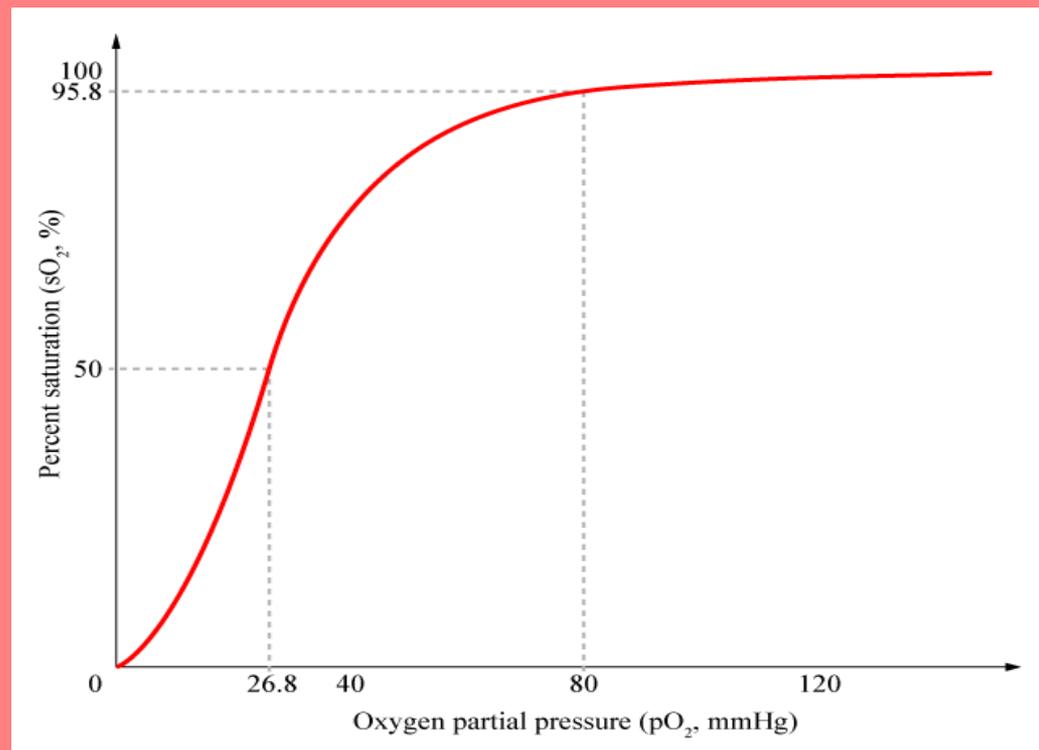
Karbonátdehydratasa (carbonic anhydrase) – akcelerace

rovnováhy mezi CO₂ a HCO₃⁻

CO₂ – vazba na koncové AK 4 podjednotek → karbamátové vazby (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

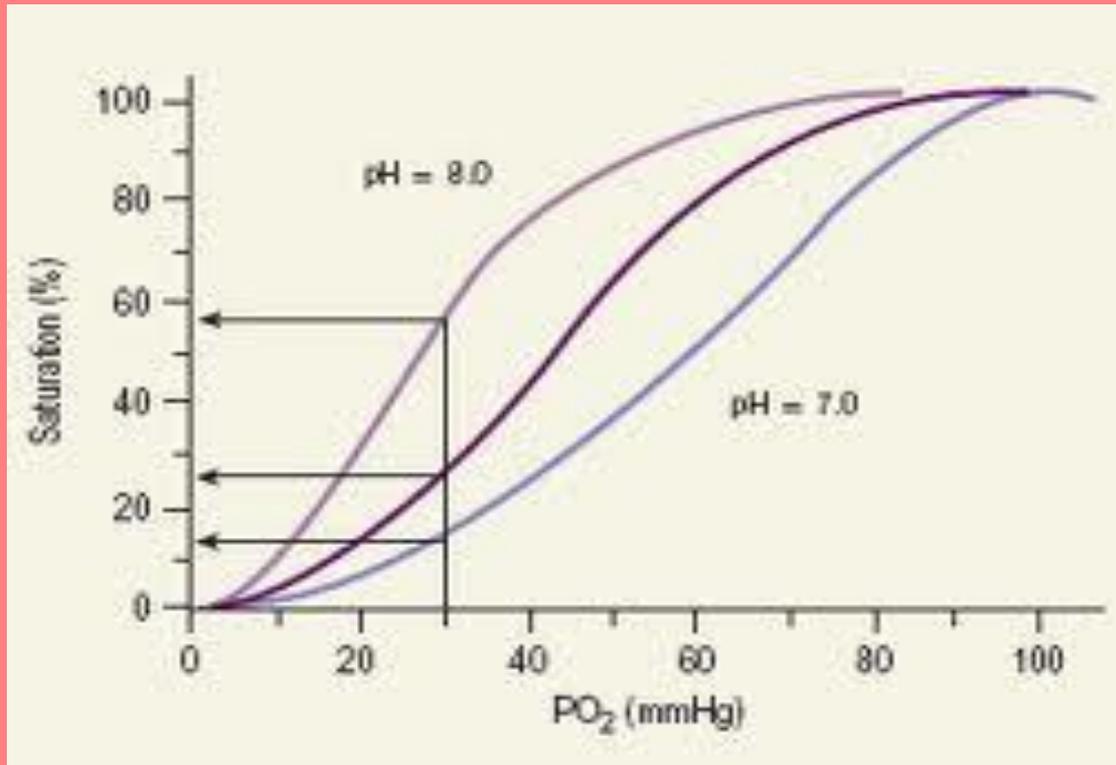
-Vény $pO_2 = 40$ mm Hg

Faktory ovlivňující saturační křivku

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

(mezi vazbou O_2 a H^+)

- produkce CO_2 tkáněmi → zvýšení H^+



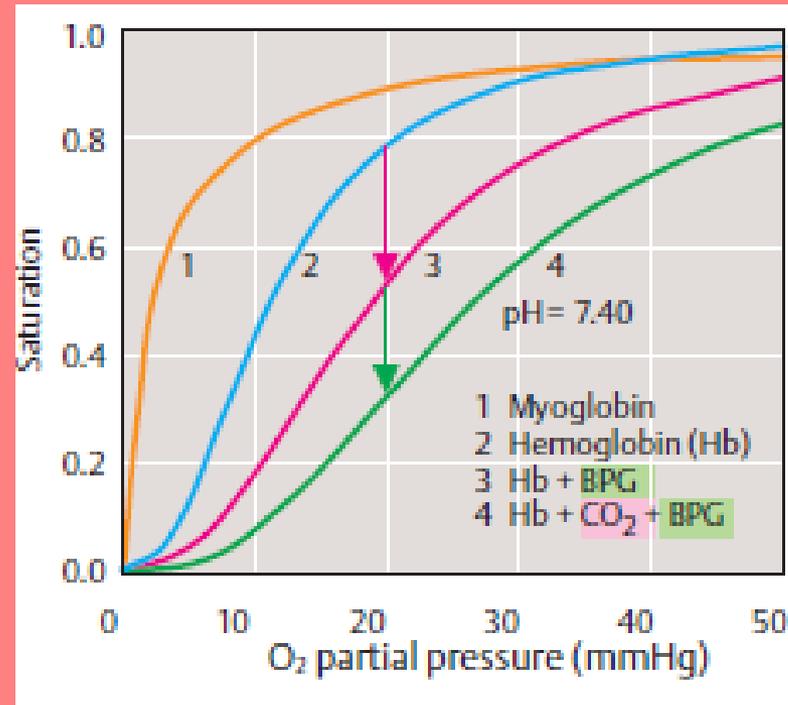
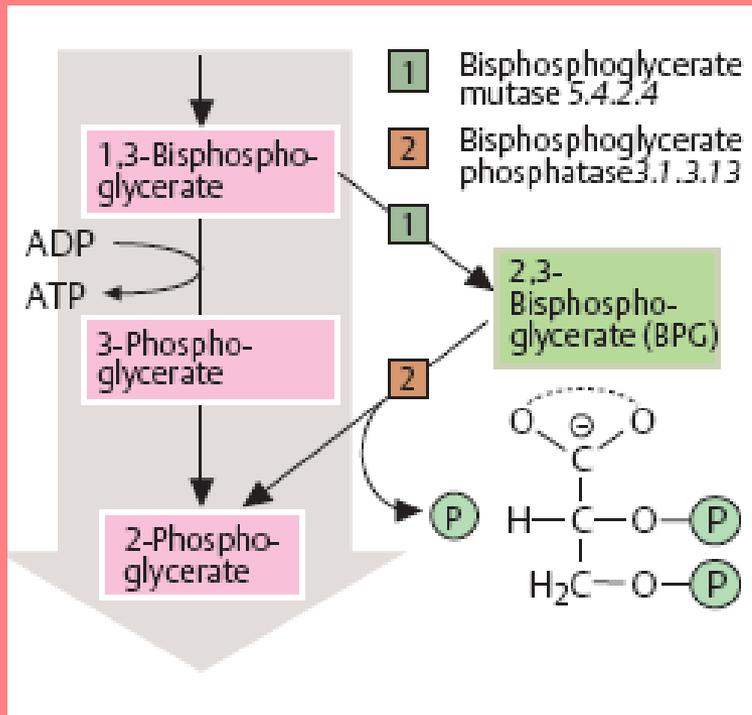
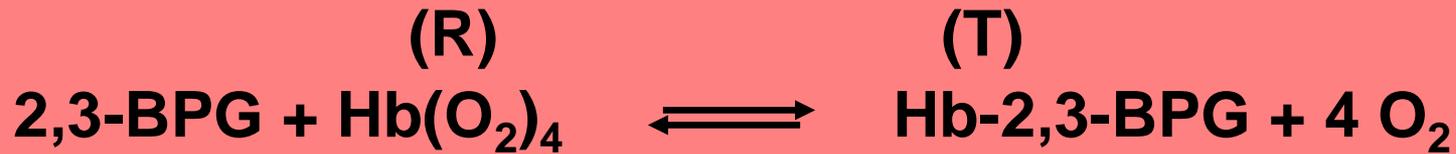
-**Alkalóza** (diuretika, Cushingův syndrom)

-**Acidóza** (diabetes melitus)

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

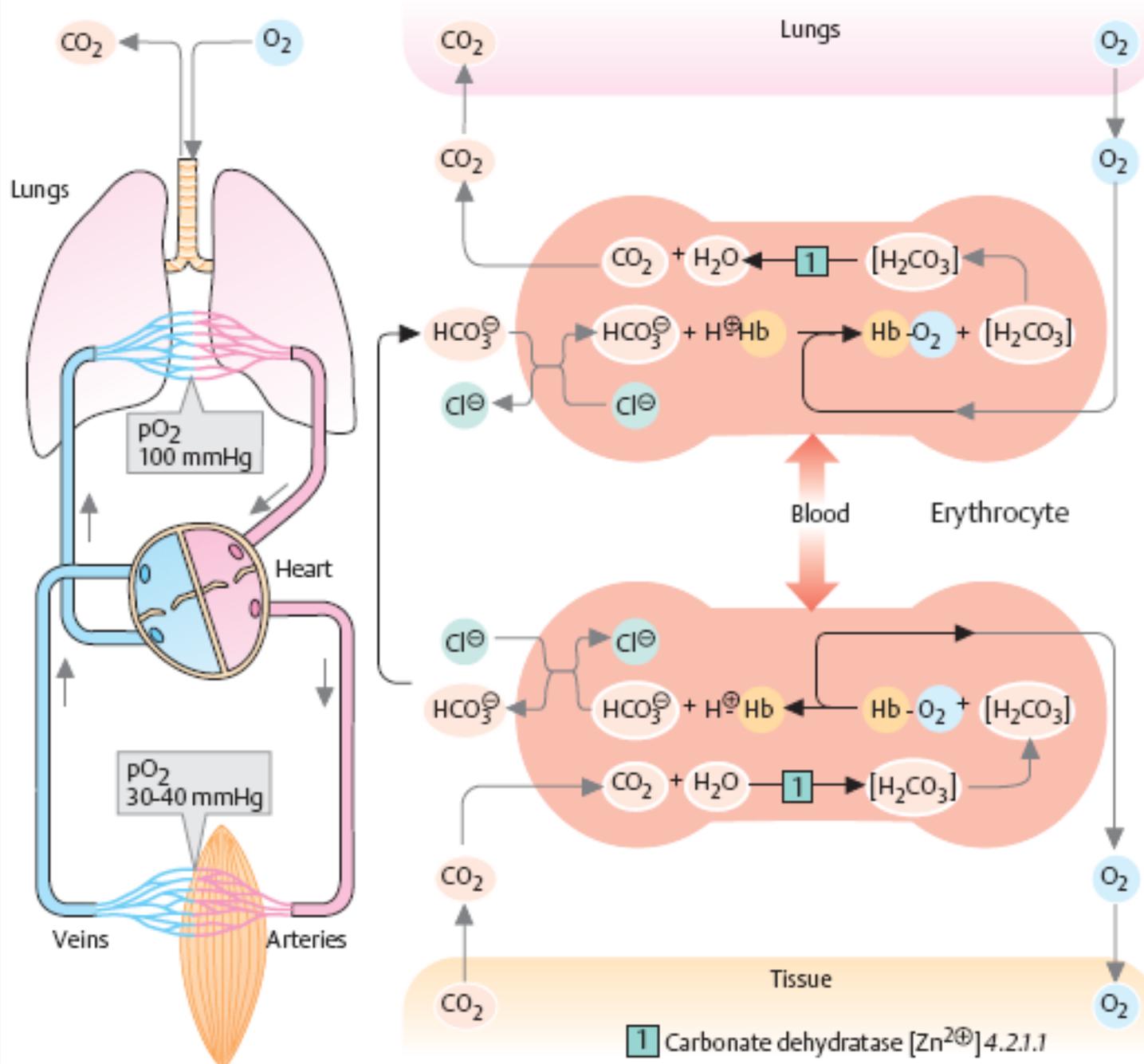
Faktory ovlivňující saturační křivku II.

- 2,3-BPG



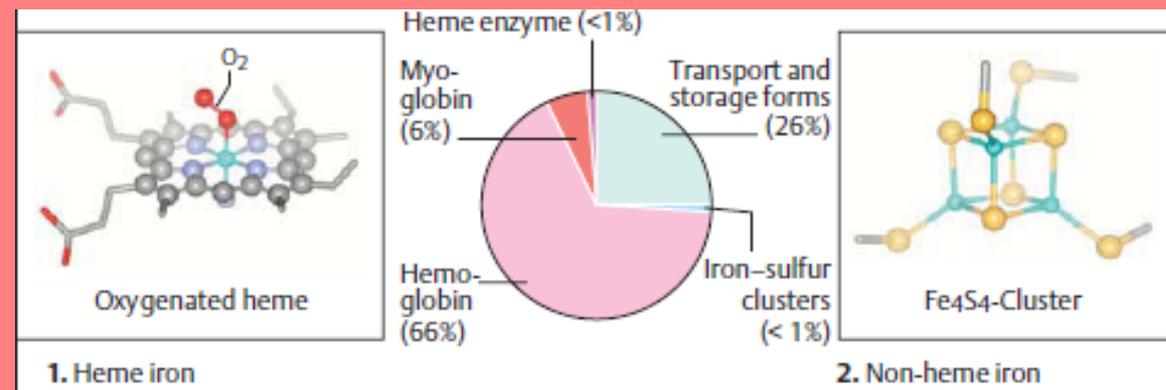
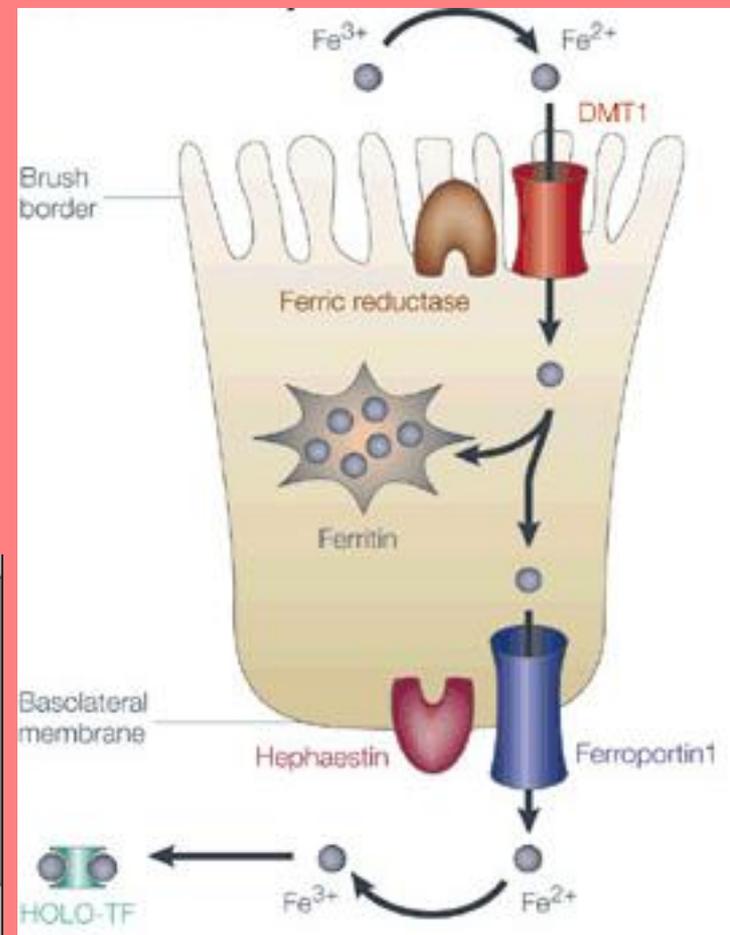
- Nárůst 2,3-BPG = hypoxie

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

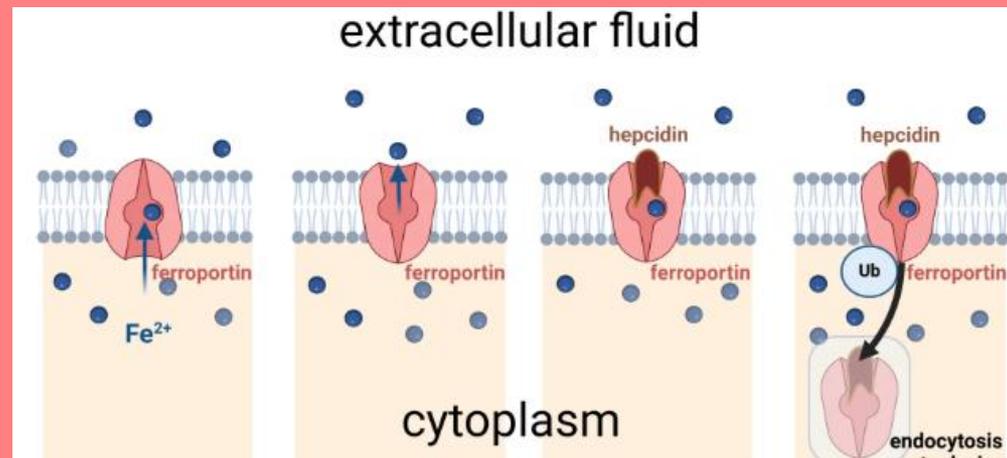
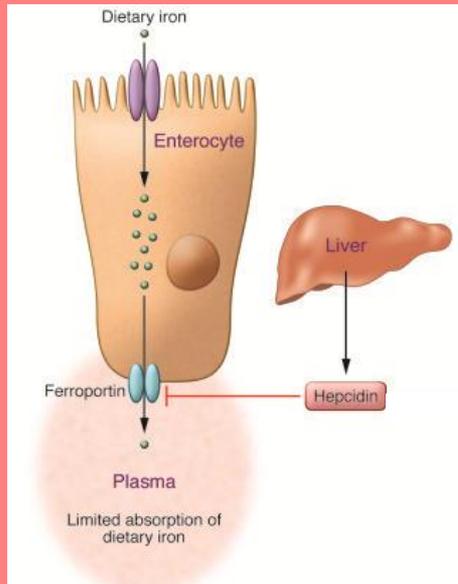
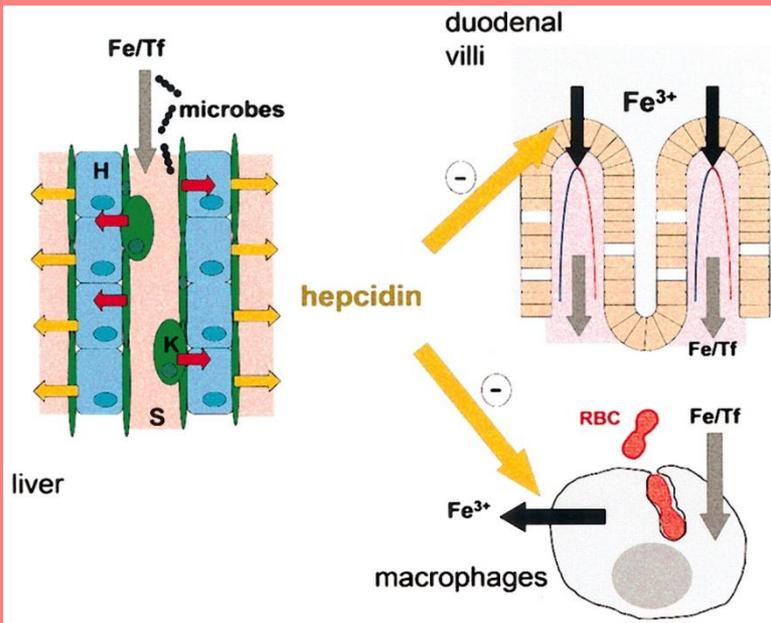
-25 AK finální peptid

- produkován hepatocyty (**játra**)

- **Inhibuje FPN** → degradace

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

- **Inhibice** exprese anemií nebo **hypoxií**



Biosyntéza hemu

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

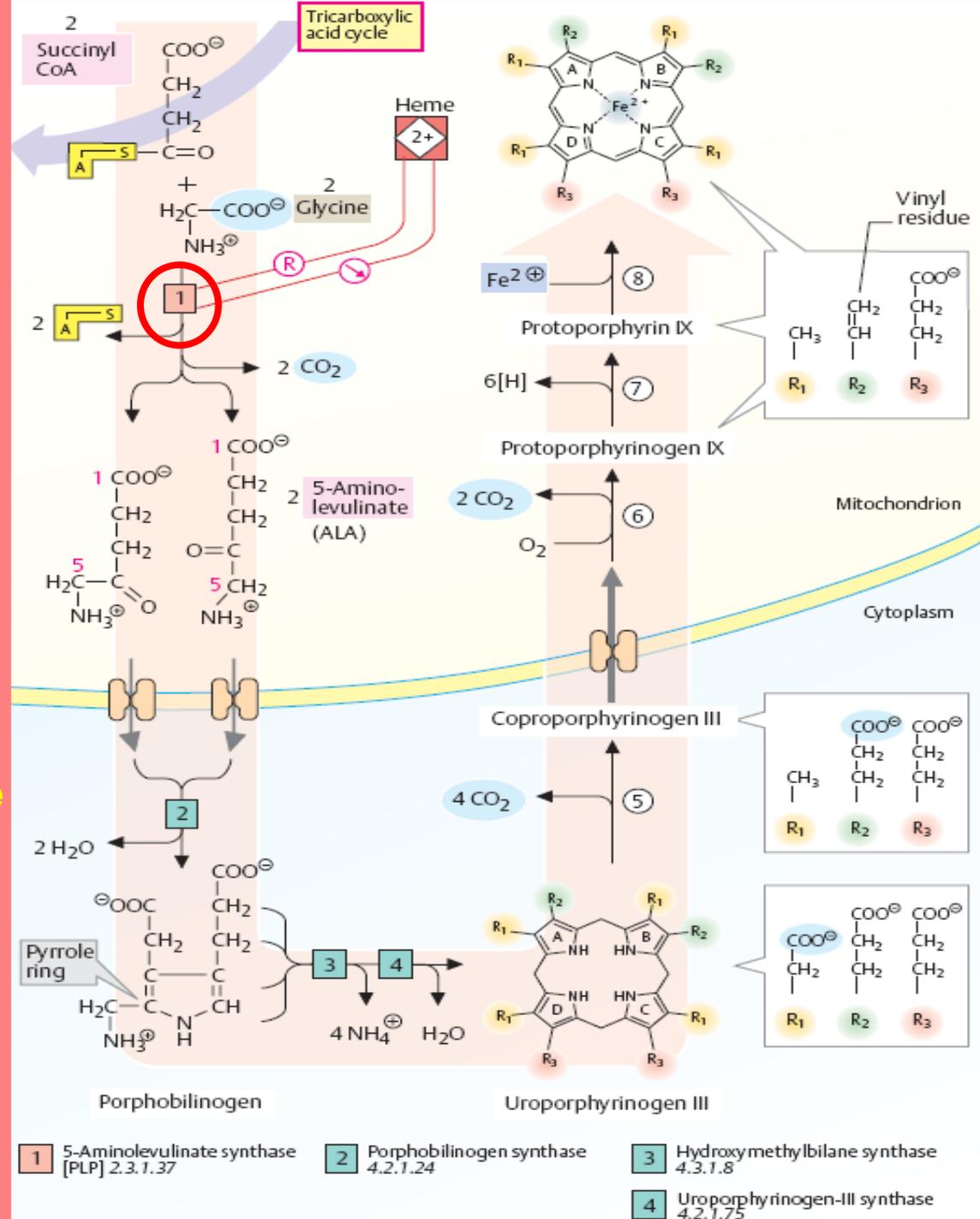
- **Váže Fe^{2+}**

= tetrapyrrol – 4 valence na Fe^{2+}

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

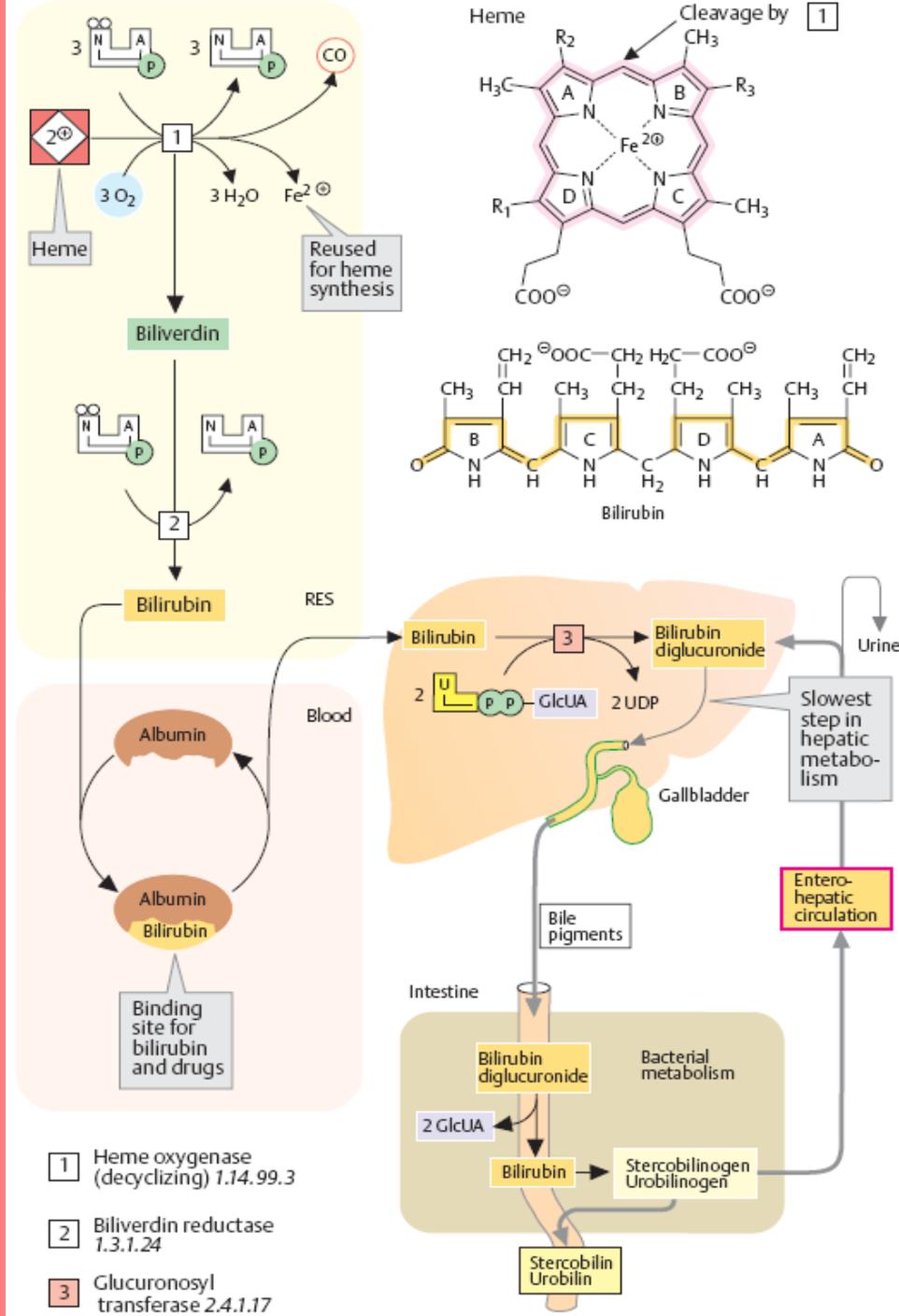
- **Začátek i konec = mitochondrie**

- 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

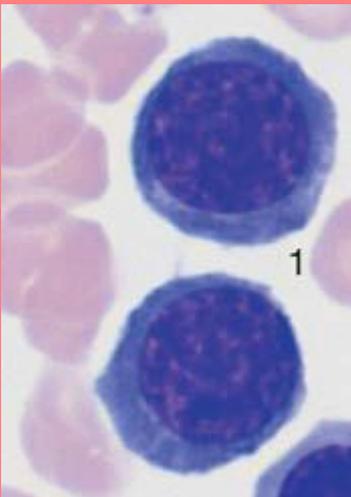
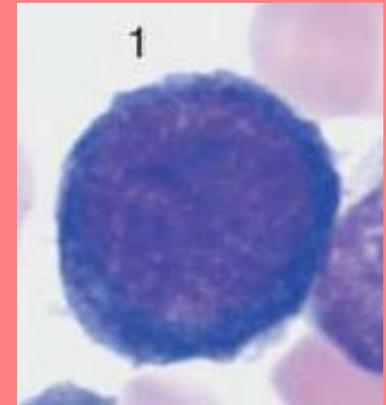
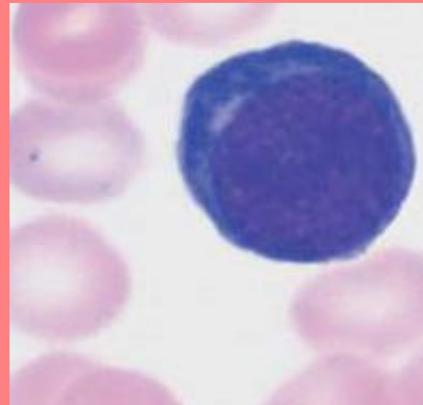
Pluripotentní kmenová buňka

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 μm v průměru, modrofialová barva cytoplazmy, basofilní chromatin

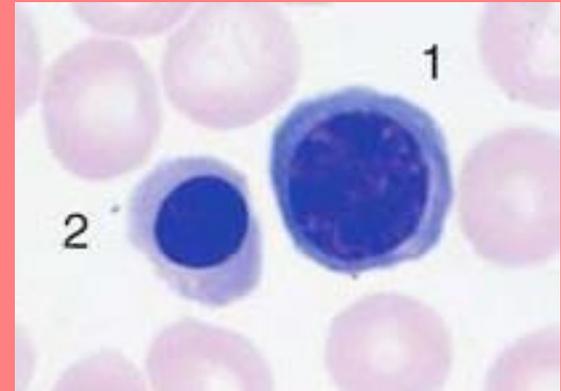


Basofilní normoblast = erythroblast –

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

Erythropoesa II.

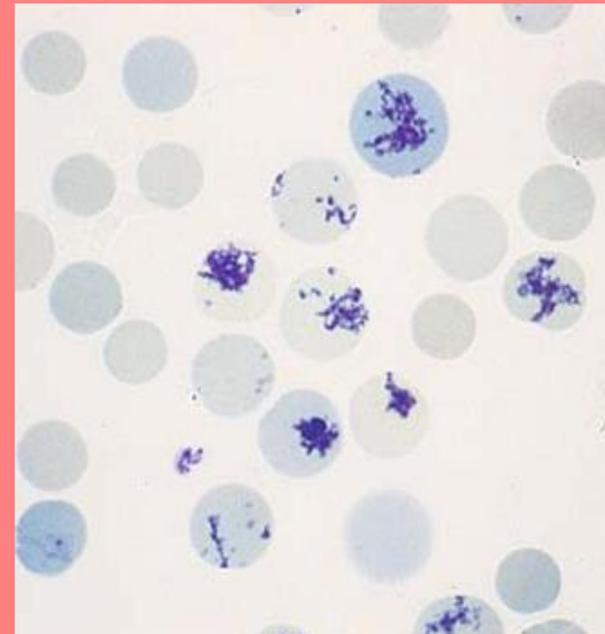
Polychromní normoblast (1) – sytě zbarvené jádro, tvar kulovitý, šedé zbarvení cytoplasmu v důsledku Hb, schopné se dělit, 8-12 μ m



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

Retikulocyt – bezjaderná buňka, mitochondrie, ribosomy; 0,5-1% v krvi, 8-10 μ m

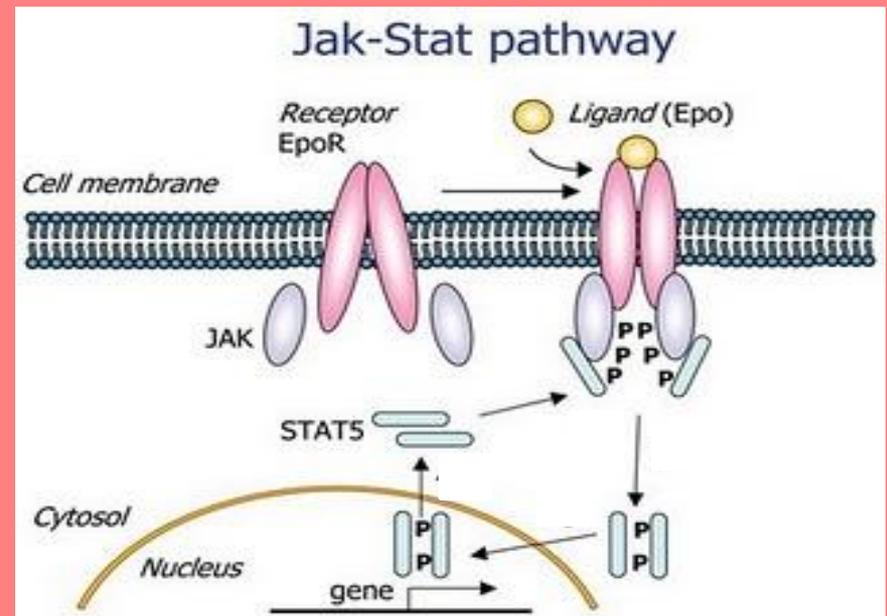
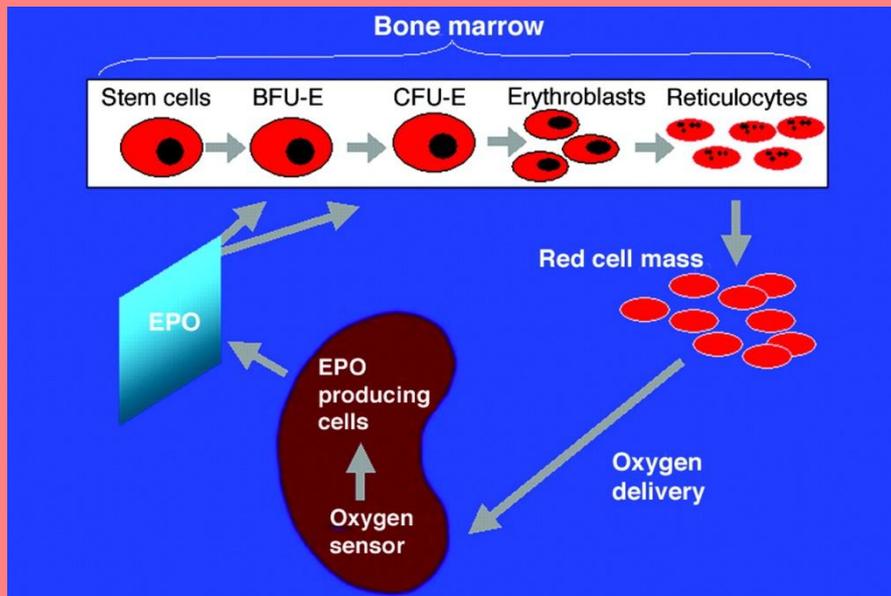
Erythrocyt = normocyt



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

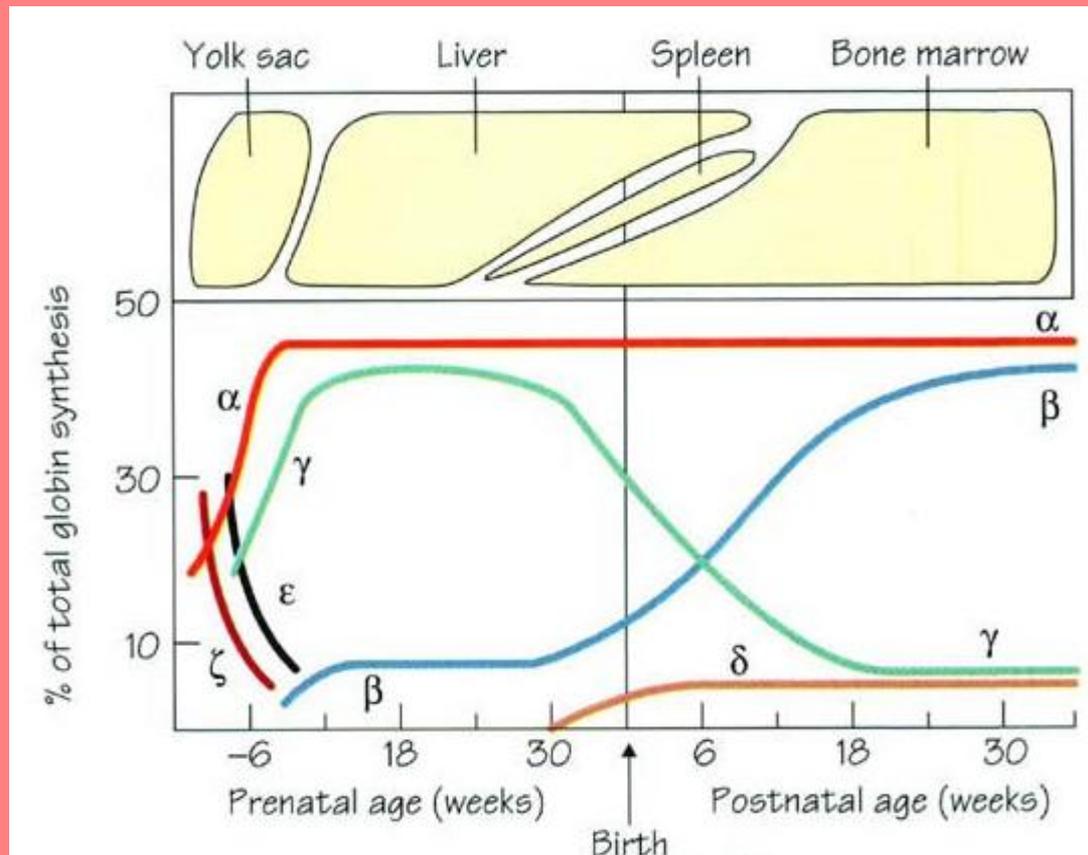
- 8.týden – tvorba lymfocytů v thymu

- 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



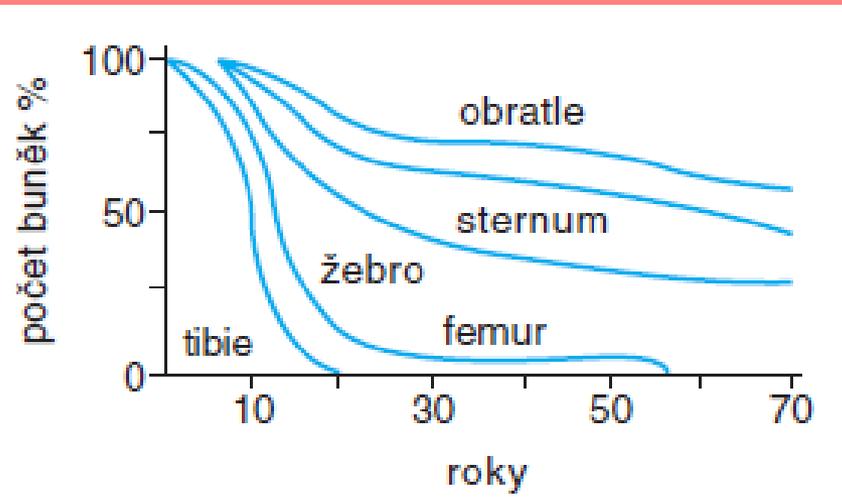
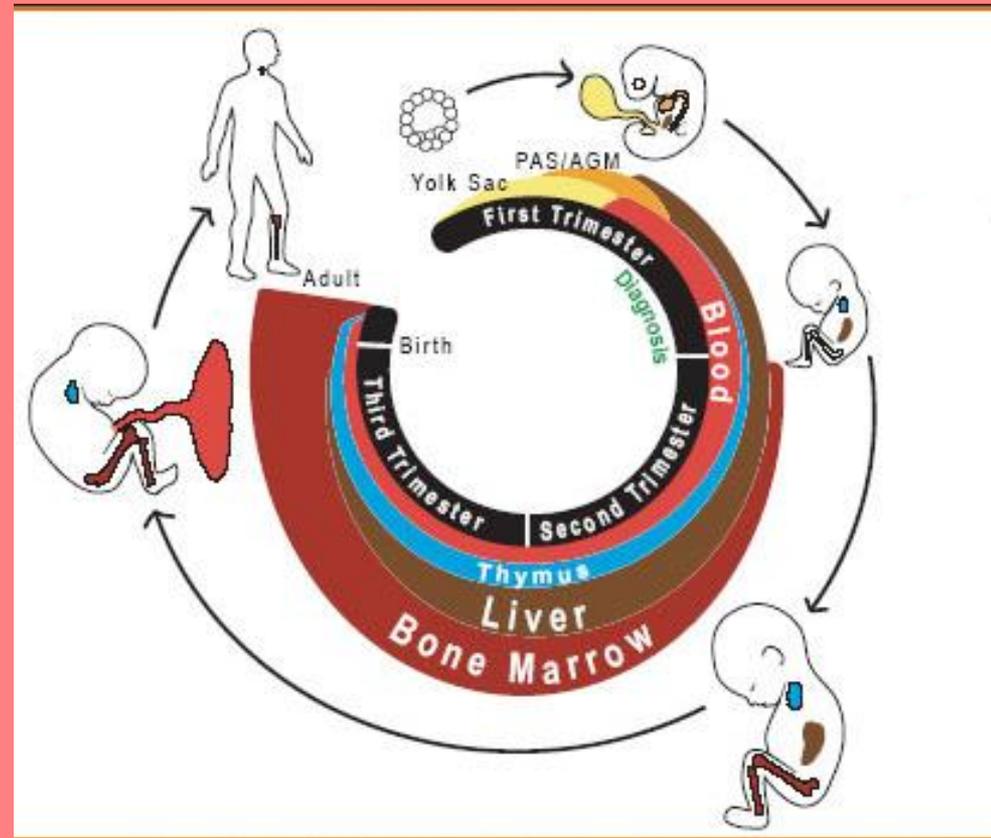
Ontogeneze Erythropoesy / Hematopoesy

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....

