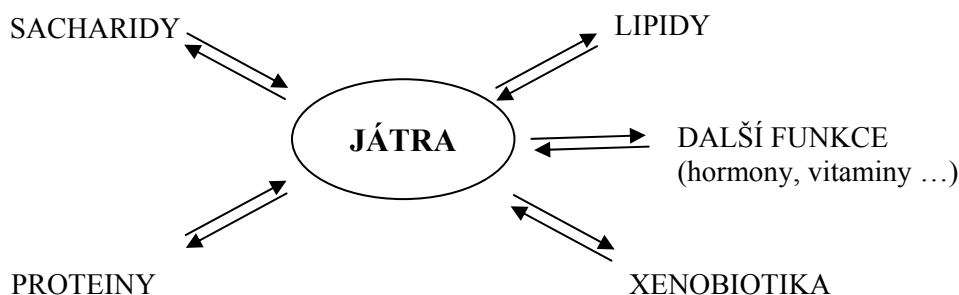


Játra – centrální orgán v metabolismu živin a xenobiotik



Játra mají strategicky významnou pozici v cirkulaci. Jsou umístěna na pomezí mezi oběhovým systémem a trávicím traktem. Přijímají kyslíkem obohacenou krev z hepatální artérie (25 %) a krev obohacenou živinami z portální žíly (75 %). Klasickou strukturální jednotkou je jaterní lalůček (lobulus).

Krev z portální žíly a hepatální artérie se mísí na periferii jaterních lalůčků, v jaterních sinusoidách. Portálním oběhem se do jater dostávají vstřebané substráty a za přítomnosti kyslíku jsou aerobně metabolizovány. Odkysličená a na vstřebané substráty chudá krev je následně odváděna do centrální žíly jaterního lalůčku. Opačným směrem, tedy proti toku krve jaterním lalůčkem proudí žluč vzniklá ve žlučových kanálcích. Ta je následně žlučovými cestami svedena do žlučníku.

Endotelové buňky sinusoid jsou bohatě fenestrované a jsou od hepatocytů odděleny Disseho prostorem. Plazma se tímto způsobem dostává snadno do přímého kontaktu s hepatocyty a dochází k přenosu látek v obou směrech. Krev ze sinusoid odtéká do centrálních vén.

Typy jaterních buněk

Hepatocyty

Hepatocyty představují asi 60 % celkové buněčné populace jaterní tkáně. V hepatocytech je soustředěna hlavní metabolická činnost jater. Jsou to polyedrické buňky s jedním až dvěma jádry a výraznými jadérky. Jsou typické vysokým zastoupením ER (hladkého i hrubého), mitochondrií, Golgiho aparátu i ribosomů. Obsahují početné granule glykogenu.

Typická jaterní buňka má dva „póly“: krevní (basolaterální), v němž je ve styku se stěnou sinusoid prostřednictvím Disseho prostoru a žlučový (kanalikulární), přivrácený do žlučového kanálku. Povrch hepatocytu přivrácený do Disseho prostoru je tvořen početnými mikroklyky a plocha kontaktu hepatocytu s krevním řečištěm je tak značná (600 m²). Na basolaterálním povrchu se nachází řada receptorů pro specifické ligandy např. lipoproteiny, transferrin, komplex transkobalamin-B12, hemopexin, haptoglobin, desializované proteiny, hormony a neurotransmitery. Také metabolity určené pro transport do žluče zde mají specifické receptory (viz dále).

Kupfferovy buňky

Nacházejí se na luminálním povrchu sinusoid. Jsou to tkáňové makrofágy s endocytotickou i fagocytární kapacitou. Mají vysoký obsah lyzosomů. Fagocytují celou řadu látek, včetně albuminu, bakterií a imunokomplexů. Fagocytují také látky s potenciálně škodlivým účinkem přiváděné do

jater portální krví a brání tak jejich přenosu do systémové cirkulace. Po stimulaci imunomodulátory secernují mediátory zánětlivé odpovědi a prostřednictvím cytokinů působí při inaktivaci cizorodých látek. Likvidují také poškozené erythrocyty. Cytotoxické působení Kupfferových buněk je zajištěno produkcí superoxidu a látek s protinádorovým působením.

Buňky skladující tuky (Itovy buňky, hvězdicové buňky, stelátové buňky)

Jsou to lipidy vyplněné buňky, uchovávají rovněž zásobu vitamínu A. Nacházejí se v subendotelovém prostoru, obsahují aktin a myosin, kontraktilní proteiny, které mohou být aktivovány endotelinem-1 a substancí P. Jsou také zdrojem bílkovin extracelulární matrix. Po poškození hepatocytů jaterní hvězdicové buňky ztrácejí tukové kapénky, proliferují a migrují do perivenózního prostoru, mění svůj fenotyp na myofibroblastům podobné buňky a produkují kolagen typu I, III, IV a laminin. Přispívají tak k rozvoji jaterní fibrózy a cirhózy.

Pit buňky

Pit buňky patří mezi vysoce pohyblivé lymfocyty ze skupiny přirozených zabíječů (natural killers) a slouží ochraně proti virovým infekcím a metastatickým nádorovým buňkám.

Cholangiocyty

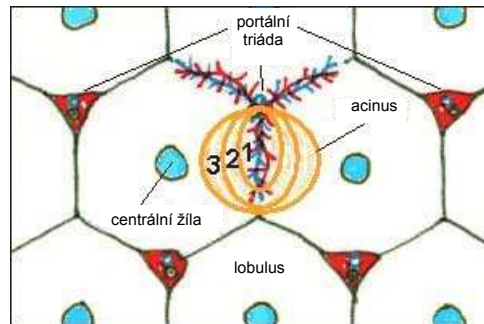
Cholangiocyty jsou epitelové buňky žlučových vývodů. V jejich membránách a v kanalikulární membráně hepatocytů jsou lokalizovány enzymy, jejichž zvýšení v cirkulaci ukazuje na přítomnost cholestázy: alkalická fosfatasa (ALP), 5'-nukleotidasa (NTS) a γ -glutamyltransferasa (GMT). Patologické zvýšení v cirkulaci může být způsobeno detergenčním účinkem žlučových kyselin při městnání žluče nebo i zvýšenou produkcí enzymu (především GMT).

Endotelové buňky

Endotelové buňky sinusoid (tvoří okolo 2,8 % objemu jater) tvoří fenestrovaný endotel, fungují jako dynamický filtr. Zajišťují receptorem zprostředkovaný záchyt modifikovaných lipoproteinů (především HDL a LDL), transferrinu, ceruloplasminu a řady dalších látek, mají schopnost syntézy efektorových molekul, např. prostacyklinu, prostaglandinu E a řady cytokinů, a jsou schopny endocytózy částic do velikosti 0,1 μ m. Současně tyto buňky dokáží endocytózou přijmout značnou část kolagenu i polyglykanů a tak významně přispívají k odbourávání vazivové tkáně.

Metabolická zonace jater

Hepatocyty v různých oblastech jater se navzájem liší především enzymovou výbavou, množstvím a uspořádáním buněčných organel, což je příčinou jejich rozdílné metabolické kapacity. Poznání funkční heterogenity hepatocytů vedlo k přehodnocení názoru na základní stavební jednotku jater. Namísto klasického morfologického pohledu orientovaného na jaterní lobulus, je funkční pojetí založeno na vztahu hepatocytů k přívodním cévám. Základní funkční jednotkou jater je z biochemického pohledu **acinus** – nepravidelný mikroskopický útvar uspořádaný kolem osy tvořené terminální jaterní arterioulou, terminální portální venulou, žlučovodem a lymfatickou cévou. Takto definovaný acinus je uložen mezi dvěma nebo více centrálními žilami, které se nacházejí na periférii acinu.



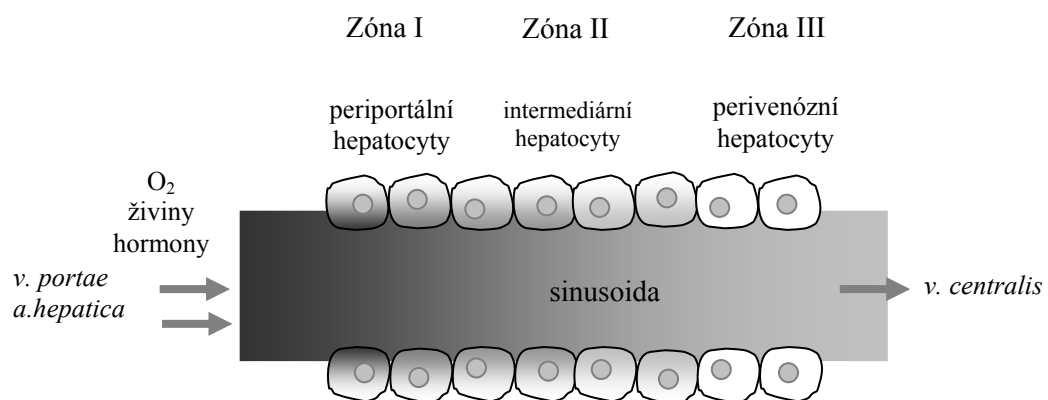
Acinus je členěn na 3 zóny, které odpovídají vzdálenosti od arteriální přívodné cévy:

1. zóna, periportální, je nejbližší přívodným cévám, které jsou nejlépe zásobeny kyslíkem. Je místem s převahou oxidačních dějů, probíhá zde β -oxidace mastných kyselin, katabolismus aminokyselin, detoxikace amoniaku tvorbou močoviny, glukoneogeneze, uvolňování glukosy do krve, tvorba žluči, syntéza cholesterolu. Mitochondrie jsou v této oblasti objemnější a je i vyšší aktivita sukcinátdehydrogenasy, malátdehydrogenasy a cytochromoxidasy. Za hladovění se glukoneogenetická zóna zvětšuje, stoupá aktivita glukoneogenetických enzymů, zatímco aktivita enzymů glykolýzy klesá.

2. zóna, střední, je přechodná.

3. zóna, perivenózní, je nejvzdálenější (na periferii acinu). Je nejméně zásobena kyslíkem a je místem s převahou biotransformačních dějů. Dochází zde k vychytávání glukosy, syntéze glykogenu, glykolýze, lipogenezi a ketogenezi. Perivenózní hepatocyty jsou méně odolné proti aktivním formám kyslíkových radikálů než buňky v periportální oblasti, které mají vyšší aktivitu glutathionu a glutathionreduktasy. Amoniak, který nebyl detoxikován v periportální oblasti je buňkách perivenózních přeměňován na glutamin.

Zonální uspořádání jaterního acinu



Tvorba žluči

Žluč slouží k eliminaci potenciálně škodlivých lipofilních látek, které se nesnadno vylučují ledvinami a to jak exogenního původu (xenobiotika a toxiny), tak endogenní (bilirubin). Žluč je také hlavní cestou vylučování cholesterolu. Žluč je tvořena z 95 % vody, dále žlučových kyselin, fosfolipidů a

cholesterolu. Ve žluči se vyskytují v malém množství též aminokyseliny, glutathion, steroidy, enzymy, porfyriny, vitaminy, těžké kovy a cizorodé látky (xenobiotika a toxiny).

Žlučové kyseliny jsou syntetizovány z cholesterolu v hepatocytech. **Primární žlučové kyseliny** jsou cholová a chenodeoxycholová kyselina, přičemž cholová kyselina převažuje. Obě primární žlučové kyseliny ($pK_A \approx 6$) jsou secernované ve formě konjugátů s glycinem a taurinem (konjugáty jsou ve žluči již plně disociované). Bakteriemi v tenkém střevě jsou žlučové kyseliny dekonjugovány a dehydroxylovány v pozici 7. Žlučové kyseliny s chybějící OH skupinou v pozici 7 jsou označovány jako **sekundární žlučové kyseliny**. Dekonjugované a dehydroxylované žlučové kyseliny jsou méně rozpustné ve vodě a proto jsou hůře resorbovány z tenkého střeva ve srovnání s kyselinami, které nebyly podrobeny bakteriálnímu štěpení. Lithocholová kyselina, která má OH skupinu pouze v poloze 3 je nejméně rozpustná a její hlavní cestou je exkrece. Více než 95 % žlučových kyselin je resorbováno ileu a transportováno portální žilou zpět do jater. Vychytávání žlučových kyselin ze střeva se děje formou kotransportu s Na^+ (ASBI – apical sodium-dependent transporter).

Tvorba žluči je výsledkem aktivní sekrece látek z hepatocytů do žlučových kanálků. Látky směřované do žluče jsou vychytávány na sinusoidální (basolaterální) straně hepatocytu, jsou transportovány skrz hepatocyt a secernovány na kanalikulární straně aktivním membránovým transportem. Pro vychytání žlučových kyselin na basolaterální membráně hepatocytů jsou popsány dva vysokoafinitní transportní systémy. Je to jednak na Na^+ závislý transportér NTCP (Na⁺/taurocholate cotransporting polypeptide) a dále rodina na sodíku nezávislých transportérů pro žlučové kyseliny OATPs (organic anion transporting proteins), které mají širokou specifitu a slouží současně k vychytávání celé řady xenobiotik. K vychytání xenobiotik slouží i další systémy, např. OCT (organic cation transporter). A dále se zde nachází účinný efluxní systém MRP3 (multidrug resistance-associated protein), kterým se transportují žlučové kyseliny a xenobiotika zpět přes basolaterální membránu do krve. Tento systém se uplatňuje při cholestáze a brání jaterní buňku před akumulací toxických látek a žlučových kyselin.

Za fyziologických podmínek jsou žlučové kyseliny vychytávány ze sinusoid převážně v periportálních hepatocytech zóny 1, při zvýšeném množství žlučových kyselin v krvi (po jídle, při obstrukci) jsou zapojeny i perivenózní hepatocyty zóny 3.

Na rozdíl od vychytávání žlučových kyselin, což je transport na ATP nezávislý, je transport do žlučových kanálků na kanalikulární straně hepatocytů zprostředkován převážně účinkem ATP-závislých ABC transportérů (ABC kazety).

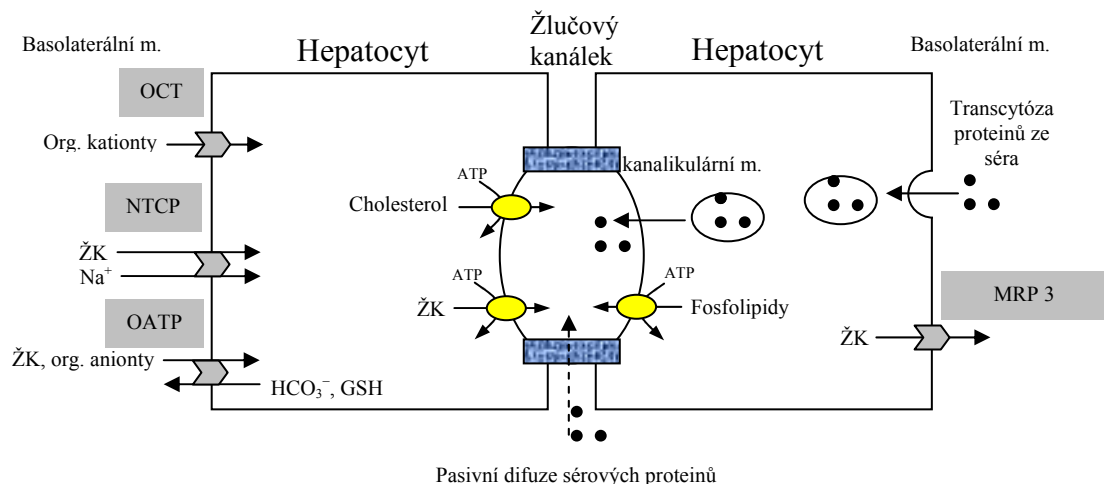
Sekrece žlučových kyselin do žlučových kanálků probíhá pomocí ABC-transportéru typu B11 (ABCB11), fosfolipidy jsou secernovány pomocí transportéru MDR2 (ABCC3) a rovněž cholesterol a neutrální steroly využívají specifického ABC transportéru (ABCG5, ABCG8). Aktivní sekrece látek do žlučových kanálků vytváří osmotický gradient, který stimuluje influx vody do primární žluče.

Primární žluč produkovaná hepatocyty je dále modifikována ve žlučovodech. Epitelové buňky žlučovodů resorbují vodu a po hormonální stimulaci (sekretinem, vazoaktivním intestinálním peptidem – VIP, somatostatinem) secernují některé další látky (především HCO_3^-). Po dobu lačnění žluč neodtéká do duodena, ale je zachycována ve žlučníku. Během 30 minut po požití potravy žlučník kontrahuje a žluč se uvolní do duodena.

Cholesterol je nejméně rozpustnou komponentou žluči. Přestože jeho obsah ve žluči je nízký, musí být zakomponován ve fosfolipidových micelách. Pokud je jeho koncentrace ve žluči příliš vysoká nebo koncentrace emulzifikujících lipidů příliš nízká má cholesterol tendenci precipitovat a tvořit žlučové kameny. Žlučové kameny obsahují nejčastěji cholesterol a žlučová barviva, nebo samotný cholesterol.

Pouze 10 % žlučových kamenů je tvořeno jinými komponentami než cholesterolem, obvykle bilirubinem a dalšími žlučovými barvivy.

Transportní systémy v membráně hepatocytu (zjednodušeno)



Přibližné složení jaterní a žlučnickové žluči

Složka	Zastoupení v celkové jaterní žluči (%)	Zastoupení v celkové žlučnickové žluči (%)
Voda	97	90
Soli žlučových kyselin	1,2	6
Žlučová barviva	0,2	1,5
Cholesterol	0,06	0,4
Anorganické soli	0,85	0,85
Fosfolipidy	0,04	0,3
pH	7,4	6,9 – 7,7

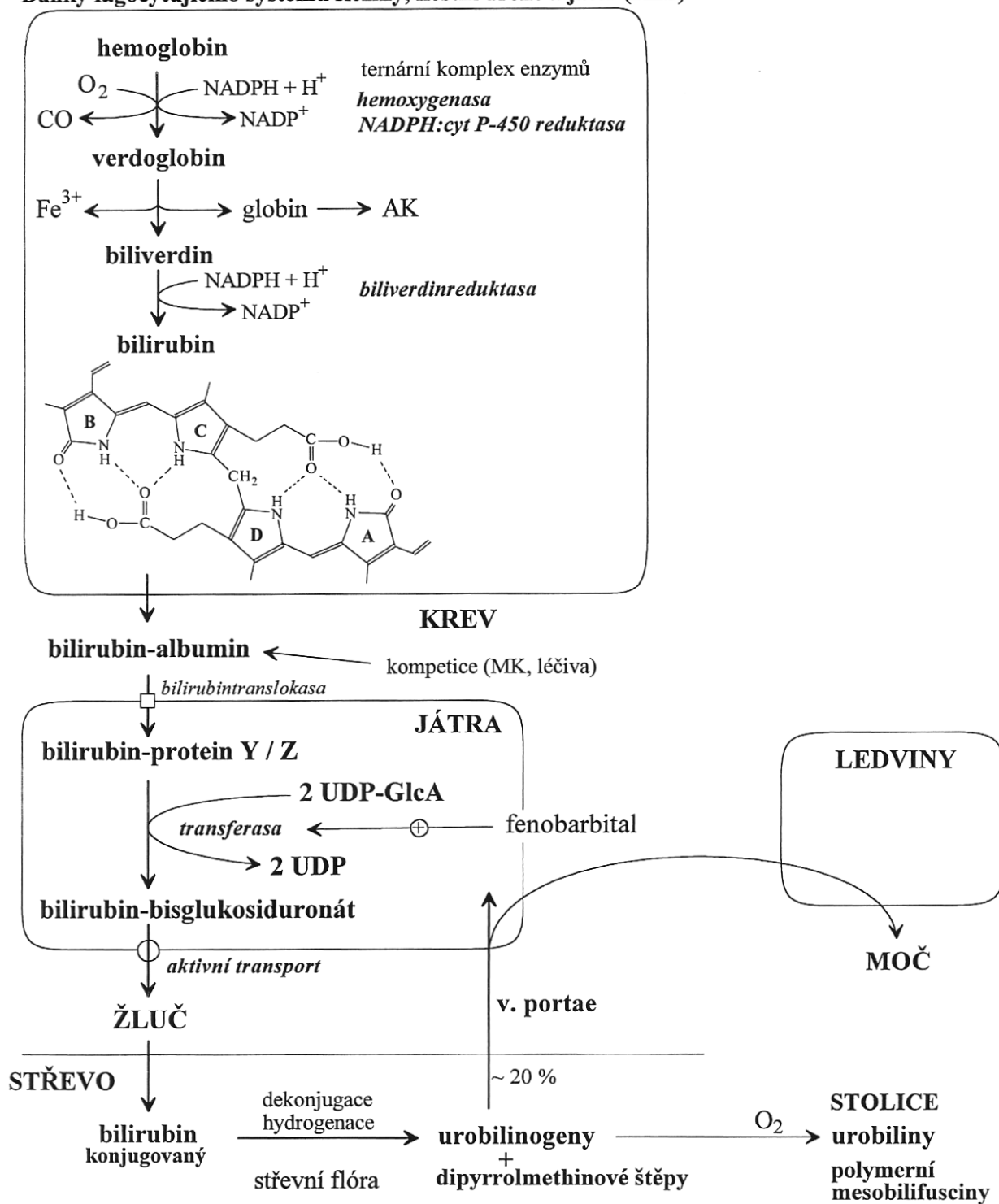
Vznik a metabolismus bilirubinu

Denně je v organismu odbouráváno kolem 300–400 mg hemu, z něhož přibližně 80 % pochází z hemoglobinu. Erytrocyty mají životnost asi 120 dnů. Zestárlé erytrocyty jsou rozpoznány na základě změn v membránách a vycitány fagocytujícími buňkami sleziny, kostní dřeně a jater (Kupfferovy buňky). Globinový řetězec je odštěpen, denaturován a rozložen na aminokyseliny, hem je uvolněn do cytoplazmy. Hem je primárně degradován v endoplazmatickém retikulu za přítomnosti molekulárního kyslíku a NADPH. Hemoxygenasa má dva isomery. Typ I je indukovatelný substrátem, typ II je konstitutivní. Enzymem je katalyzováno štěpení α -methinového můstku mezi kruhy A a B. Methinová skupina je odštěpena a oxidována na CO. Reakce probíhá ve fázi, kdy součástí štěpené molekuly je ještě hem – volný protoporfyrin IX není substrátem hemoxygenasy. Produktem reakce je lineární tetrapyrrol biliverdin. Pomocí biliverdinreduktasy je biliverdin přeměněn na bilirubin.

Fáze degradace hemoglobinu lze pozorovat na barevných změnách hematomů: hematom vzniká po prasknutí kapiláry, kdy krev se uvolní do intersticia. Hemoglobin je zde deoxygenován (modré zbarvení). Během několika dnů jsou erythrocyty vychytány tkáňovými makrofágy a hem je degradován nejprve na biliverdin (zelené zbarvení) a posléze na bilirubin (žluté zbarvení).

Z makrofágů je bilirubin transportován do jater. Je velmi málo polární a musí být navázan na albumin, který má pro bilirubin dvě vazebná místa. V jaterních sinusoidách přechází bilirubin do hepatocytů usnadněnou difúzí pomocí transportérů rodiny OATPs .

Buňky fagocytujícího systému sleziny, kostní dřeně a jater (RES)



V cytoplazmě hepatocytů se bilirubin váže k několika proteinům, z nichž byl doposud podrobněji charakterizován pouze jeden, nazývaný ligandin. V endoplazmatickém retikulu hepatocytů dochází k navázání glukuronové kyseliny na propionyllové zbytky za vzniku bilirubin-glukosiduronátu a bilirubin-bis-glukosiduronátu. Bis-glukosiduronát je převažující formou konjugovaného bilirubinu. Oba produkty konjugace jsou podstatně lépe rozpustné než nekonjugovaný bilirubin a jsou transportovány směrem ke kanalikulární membráně hepatocytu, kde je konjugovaný bilirubin pomocí ABC-transportéru MRP2 (ABCC2) exportován do žluče.

V tenkém střevě dochází působením bakterií k dekonjugaci a redukcí bilirubinu na bezbarvé urobilinogeny. Část urobilinogenů je oxidována na urobiliny a další barevné produkty, které jsou pak příčinou hnědého zbarvení stolice. Malé množství urobilinogenu je resorbováno v terminální části tenkého střeva a vrací se portální žílou do jater, kde je znovu urobilinogen vycytán a transportován do žluče. Nepatrné množství (méně než 4 mg denně) přechází ledvinami do moče.

Referenční interval koncentrace celkového bilirubinu v krevním séru pro novorozence starší 1 měsíce a dospělé je 5–20 $\mu\text{mol/l}$. Koncentrace konjugovaného bilirubinu je nejvýše 5 $\mu\text{mol/l}$.

Při zvýšení koncentrace bilirubinu v krvi dochází ke žlutému zbarvení kůže a sliznic – vzniká **ikterus** (žloutenka). Podle vztahu k vyvolávající příčině rozlišujeme tři základní typy ikterů – *prehepatální* (hemolytický – je zvýšen nekonjugovaný bilirubin), *hepatální* (smíšený – podle fáze poruchy jsou zvýšeny obě formy bilirubinu) a *posthepatální* (obstrukční – je zvýšen konjugovaný bilirubin). Znalost poměru obou hlavních forem bilirubinu v krevním séru je důležitá pro rozlišení příčin hyperbilirubinemií (viz praktické cvičení).

Základní typy hyperbilirubinemií

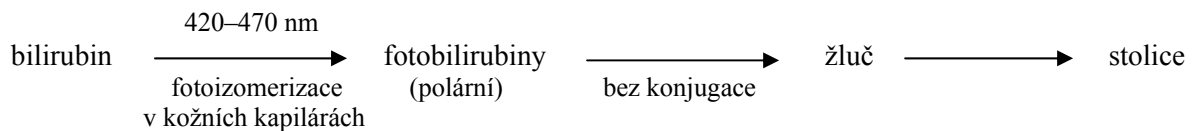
(N normální, ↑ zvýšení, ↑↑ značné zvýšení, ↓ snížení, 0 chybí)

Typ ikteru	Bilirubin			Urobilinogeny	
	v krvi	v moči	deriváty ve stolici	v krvi	v moči
Hemolytický (prehepatální)	↑↑	0	polycholická stolice	↑	↑
Hepatocelulární (hepatální) <i>ve vrcholu poruchy</i>	↑↑	↑	N ↓	↑↑ ↓	↑↑ ↓ až 0
Obstrukční (posthepatální)	↑↑	↑	↓ až 0 acholická stolice	↓ až 0	↓ až 0

Nekonjugovaný bilirubin je velmi nepolární a může přecházet přes hematoencefalickou bariéru do CNS. Dochází tak k encefalopatii vyvolané akumulací bilirubinu v bazálních gangliích (jádrový ikterus – kernikterus). To je nebezpečné zejména u novorozenců, kteří mají po narození fyziologicky zvýšenou hladinu bilirubinu (fyziologický novorozenecký ikterus). Příčinou je nezralost systému metabolizujícího bilirubin. Je sníženo vycytávání nekonjugovaného bilirubinu, aktivita konjugujícího enzymu a intracelulární hladina UDP-glukuronátu jsou rovněž nízké a nedostatečně funguje sekrece bilirubinu do žluče. Bakteriální přeměna bilirubinu na urobilinogeny ve střevě je málo účinná a část

bilirubinu se tak vrací do krevního oběhu. Fyziologická hyperbilirubinemie vrcholí 3. až 5. den po porodu, vymizí 11. až 12. den. Mírné zvýšení bilirubinu v krvi novorozenců nevyžaduje terapii, při setrvávající vysoké hodnotě je zpravidla aplikována fototerapie. Nejúčinnější pro fototerapii je modré světlo, jehož vlnová délka je nejbližší k absorpčnímu spektru bilirubinu (460 nm). Vhodné je též zelené světlo (525 nm), které je příjemnější pro oči ošetřujícího personálu. Při působení světla na bilirubin dochází k jeho částečné izomerizaci a rozkladu, přičemž produkty jsou polárnější a snadněji přecházejí do žluče.

Fototerapie novorozeneckých ikterů



Nedostatečná konjugace bilirubinu může být také způsobena vrozeným defektem enzymového systému. Kompletní deficit bilirubin-UDP transferasy vyvolává Criglerův-Najjarův (výsl. *kri'glerův nah'jahrův*) syndrom typu I. Toto vzácné recesivně vrozené onemocnění vede k masivní hyperbilirubinemii a končí fatálně několik dní po narození. Criglerův-Najjarův syndrom typu II je méně závažná porucha, při níž je aktivita bilirubin-UDP transferasy částečně zachována. Gilbertův (výsl. *ž(i)l-ber(t)ův*) syndrom je další porucha spojená s poruchou v konjugaci bilirubinu. Bilirubin-UDP transferasa je funkční asi ze 30 %, koncentrace bilirubinu v krvi je trvale mírně zvýšena. Příčinou je mutace v TATA boxu genu enzymu, která omezuje rozpoznání promotorové oblasti transkripčními faktory, následkem čehož je exprese enzymu snížena. Prognóza této choroby je velice příznivá a terapie většinou není nutná.

Při některých onemocněních probíhá destrukce erytrocytů přímo intravaskulárně. Uvolnění volného hemoglobinu v plazmě způsobuje oxidační poškození lipidů a proteinů. Může též dojít k filtraci hemoglobinu přes glomerulární membránu v ledvinách a následné srážení v tubulech. Aby tomu bylo zabráněno, je volný hemoglobin vychytáván haptoglobinem. Haptoglobin transportuje hemoglobin do fagocytujících buněk a zde proběhne jeho odbourání. Volný hem a hematin, pokud se objeví v plazmě, jsou vázány hemopexinem a transportovány do jater, kde proběhne další metabolismus pomocí hemoxygenasy. Je tak zabráněno ztrátám železa z organismu.