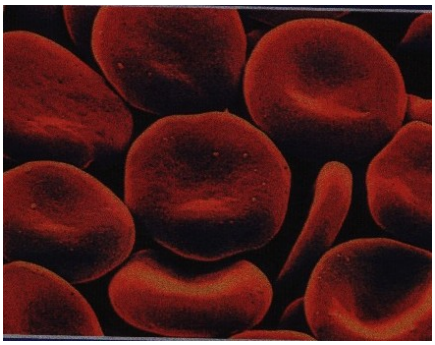
Zvláštnosti struktury a funkce erytrocytu.

Erytrocyty vznikají diferenciací a proliferací progenitorových buněk v kostní dřeni. Hlavním hormonem, který reguluje tvorbu erytrocytů, je erythropoetin syntetizovaný v ledvinách. Podnětem k jeho uvolnění je stav hypoxie.



Erytrocyty mají podstatně jednodušší strukturu než většina lidských buněk, jsou tvořeny pouze membránou obklopující roztok hemoglobinu, který tvoří přibližně 95 % všech nitrobuněčných bílkovin erytrocytů. Buňky nemají jádro ani další buněčné organely. Membrána erytrocytů obsahuje 52 % proteinů, 42 % lipidů a 8 % sacharidů. Jsou v ní proteiny, které jednak zajišťují specifické funkce, jednak udržují typický bikonkávní tvar erytrocytu a jeho flexibilitu a ohebnost. K prvním patří např. bílkovina vyměňující anionty, která je nezbytná pro výměnu chloridů za hydrogenkarbonáty při jejich transportu krví nebo přenašeč glukosy, zajišťující do buňky přísun glukosy. Ke druhým se řadí glykoforiny, spektrin, ankyrin a další. Bikonkávní tvar zvyšuje poměr povrchu buněk k jejich objemu a usnadňuje tak výměnu plynů. Flexibilita erytrocytu je potřebná, aby se buňka byla schopna protáhnout i zúženími vyskytujícími se v mikrocirkulaci. V membráně erytrocytů se nachází rovněž glykosfingolipidy, jejichž glycidové složky jsou podstatou systému krevních skupin AB0.

Integrálním proteinem buněčné membrány je dále Rh faktor (antigen D). U přibližně 15 % jedinců tento antigen chybí. Jestliže tito jedinci dostanou transfuzi Rh-pozitivní krve, vytvoří se u nich protilátky proti antigenu D. Jestliže se ženě, v jejíž krvi kolují tyto protilátky, narodí dítě Rh pozitivní, může u novorozence nastat masivní hemolýza.

K udržování svých funkcí vykazuje erytrocyt neustálou spotřebu ATP. Jeho jediným zdrojem energie je **anaerobní glykolýza**. Aerobní fosforylace ani β-oxidace v erytrocytu nemohou probíhat v důsledku chybění mitochondrií. Erytrocyty jsou proto vedle buněk CNS vždy preferenčně zásobovány glukosou. Důležitým vedlejším metabolitem glykolýzy v erytrocytech je **2,3-bisfosfoglycerát**, který zajišťuje uvolnění kyslíku z hemoglobinu při jeho transportu do tkání.

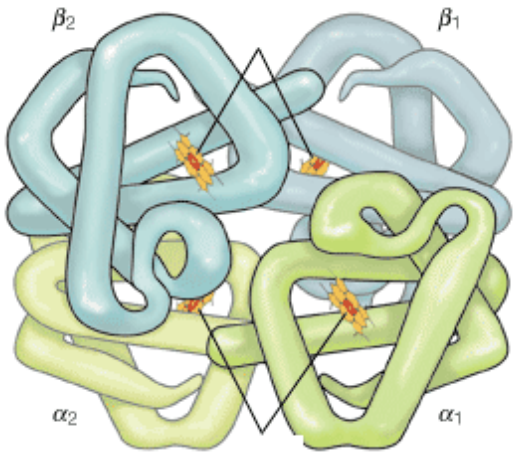
Vzhledem k vysokému parciálnímu tlaku O_2 je erytrocyt významně vystaven oxidačnímu stresu. Proto je vybaven antioxidačními systémy, k nimž patří zejména glutathionperoxidasa a katalasa rozkládající peroxid vodíku, methemoglobinreduktasa eliminující tvorbu methemoglobinu (viz dále) a superoxidismutasa, rozkládající superoxidový anion-radikál.

Hemoglobin

Krevní barvivo hemoglobin (Hb) je nejvíce zastoupenou bílkovinou krve o průměrné koncentraci 2,5 mmol/l (150 g/l). V erytrocytech tvoří asi 35% jejich hmotnosti. Hlavní biologickou funkcí hemoglobinu je transport kyslíku z plic do tkání. Současně se značnou měrou podílí na udržování

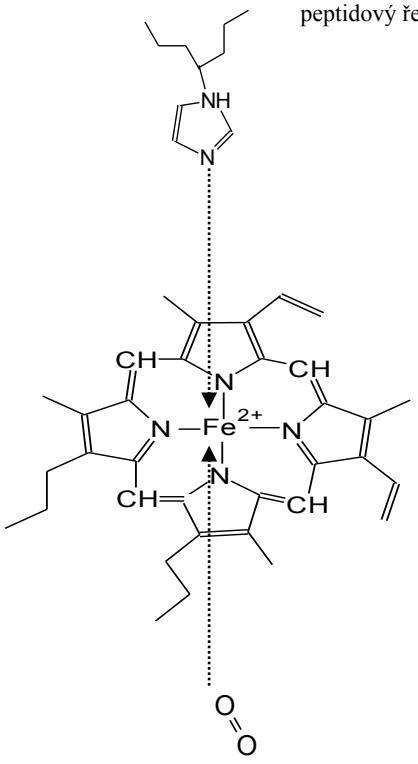
konstantního pH krve. Z chemického hlediska řadíme Hb mezi **hemoproteiny** – složené bílkoviny, skládající se z bílkoviny **globinu** a prostetické skupiny **hemu**. Hemoglobin má tetramerní strukturu, skládá se ze čtyř peptidových řetězců, přičemž dva a dva jsou vždy stejné. Ke každému řetězci je vázána jedna hemová skupina.

Člověk má genetickou informaci pro čtyři různé peptidové řetězce globinu, které se označují α, β, γ a δ. Hlavním hemoglobinem dospělých je HbA, který tvoří 97,5 % celkového hemoglobinu; jeho složeni $\alpha_2\ \beta_2$. Kromě toho se vyskytuje 2,5 % HbA_2 ($\alpha_2\ \delta_2$). V plodu je též fetální hemoglobin HbF ($\alpha_2\gamma_2$) a u kojenců pak směs HbA a HbF.



Struktura hemoglobinu

Hem je struktura, jejímž základem je cyklický tetrapyrrol – konjugovaný systém čtyř pyrrolových kruhů vzájemně propojených methinovými můstky –CH=. V centru tohoto skeletu je umístěn iont Fe^{2+}, který může vázat až 6 ligandů. Čtyřmi vazbami je vázán k dusíkovým atomům pyrrolů, pátou je navázán globinový peptidový řetězec (přes imidazolovou skupinu histidinu, viz obr.). Dikyslík O_2 se váže jako šestý ligand iontu Fe^{2+} a snadno se opět odštěpuje.



Železo hemu zachovává při transportu O_2 stále oxidační číslo II. Množství vázaného kyslíku závisí na jeho dostupnosti (na jeho parciálním tlaku pO_2). V plicích se vzhledem k vysokému pO_2 nasytí Hb téměř na 100 % a vzniká oxyhemoglobin. Ve tkáních chudých na kyslík se část transportovaného O_2 zase odštěpuje (venózní krev pak obsahuje směs oxyhemoglobinu a deoxyhemoglobinu). Odštěpování kyslíku ve tkáních usnadňuje kromě nízkého parciálního tlaku O_2 i nižší pH, které je způsobeno tvorbou CO_2 při metabolismu. Deoxygenaci hemoglobinu podporuje také účinek 2,3-bisfosfoglycerátu, který je přítomný v erytrocytech. Jeden gram hemoglobinu je schopen vázat 1,35 ml O_2. Kromě toho váže globinová část hemoglobinu oxid uhličitý a podílí se tak rovněž na jeho transportu ze tkání do plic.

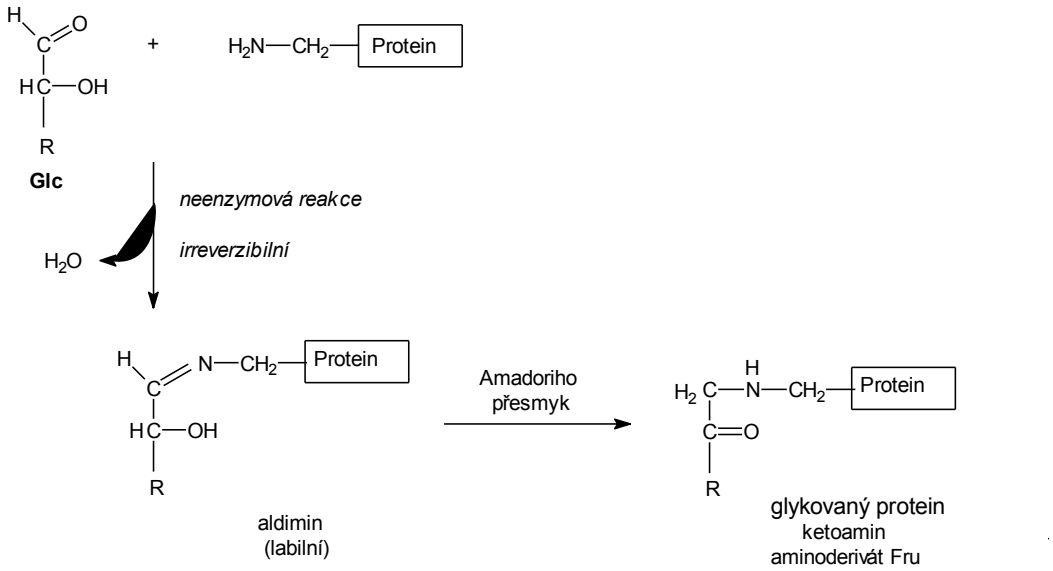
Kromě molekul O_2 se mohou koordinační vazbou na hemové železo připojit také jiné ligandy, např. oxid uhelnatý CO, oxid dusnatý NO a sulfan H_2S. **Oxid uhelnatý** se váže na Hb asi 200× pevněji než kyslík. Vytváří se poměrně stálý **karbonylhemoglobin** (HbCO), neschopný přenášet kyslík. Již velmi nízké koncentrace CO ve vzduchu vede k vysokému nasycení krve oxidem uhelnatým (smrtelná koncentrace je při 0,1 obj. %). Vysokými koncentracemi O_2 je možno oxid uhelnatý opět vytěsnit (tzv. hyperbarická oxygenoterapie při otravách). U kuřáků a při pobytu v zakouřeném prostředí lze v krvi vždy dokázat několik procent HbCO.

Oxiduje-li se ion Fe^{2+} v hemoglobinu na Fe^{3+}, šesté koordinační místo se obsadí iontem OH^- nebo Cl^-. Vzniká methemoglobin, který nemůže přenášet kyslík. V erytrocytech je přítomný enzym, methemoglobinreduktáza, která fyziologicky vytvořený methemoglobin (asi 0,5 % za den) opět redukuje na hemoglobin. Masivnější methemoglobinemie může vzniknout po požívání potravy nebo vody s vysokým obsahem dusičnanů a zejména dusitanů. Ohrožuje především kojence.

Velmi úzce příbuzný hemoglobinu je **myoglobin**. Má monomerní strukturu, skládá se jen z jednoho globinového řetězce a jednoho hemu. U člověka je v molekulách myoglobinu vázáno asi 10 % veškerého hemu. Biologickou úlohou myoglobinu je přejímat kyslík od hemoglobinu a zásobovat jím svaly. Kyslík se na myoglobin váže mnohem účinněji než na krevní barvivo; je-li např. při určité hodnotě pO_2 Hb nasycen kyslíkem z 10 %, myoglobin je při stejné hodnotě pO_2 nasycen z 80 %. U člověka má myoglobin největší význam při zásobení myokardu kyslíkem.

Glykovaný hemoglobin

Ke sledování dlouhodobé kompenzace diabetu se využívá stanovení glykovaného hemoglobinu nebo glykovaného albuminu (fruktosaminový test). Principem stanovení je děj označovaný jako **neenzymová** glykace proteinů. Aldehydové skupiny glukosy jsou schopny navazovat se na aminoskupiny proteinů za vniku glykovaného proteinu. Množství glykovaného proteinu je závislé na množství glukosy, s nimž je bílkovina v kontaktu. Stanovení glykovaného podílu hlavních krevních bílkovin tak umožňuje posoudit průměrnou glykemii za delší časové období.



Typy lidského hemoglobinu

Označení	Struktura	Podíl z celkového Hb u dospělých
HbA_0	$\alpha_2\ \beta_2$ (zčásti HbA-Glc)	
HbA		~ 97 %
HbA_1	$\alpha_2\ \beta_2$ (glykace na $-NH_2$ β-globinu)	
HbA_2	$\alpha_2\ \delta_2$	~ 2,5 %
HbF	$\alpha_2\ \gamma_2$	~ 0,5 %

Hemoglobinopatie

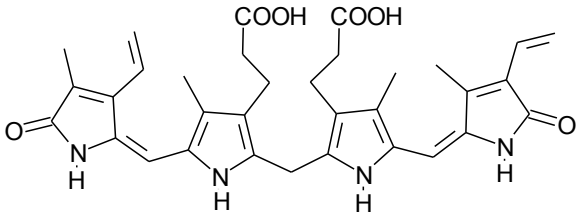
Hemoglobinopatie jsou genetická onemocnění vyvolaná tvorbou strukturně abnormálních globinových molekul (v důsledku bodové mutace genu) nebo nedostatečnou syntézou jednoho nebo obou řetězců (chybějící gen).

Srpková anemie

Je příkladem onemocnění vyvolaného bodovou mutací. Příčinou je bodová mutace v genu pro β-řetězec. Výsledkem je, že v β-globinovém řetězci se nachází v pozici 6 namísto glutamátu valin. Substituce polární aminokyseliny nepolárním valinem vytváří ve struktuře řetězce tzv.“lepivé místo“, němuž se komplementárně váže α-řetězec dalšího hemoglobinu. Za nízkého parciálního tlaku kyslíku tak dochází k řetězení (polymeraci) hemoglobinu uvnitř erytrocytu. Řetězce porušují přirozený tvar erytrocytu, které nabývají srpkovitého vzhledu. Rigidní srpkovité erytrocyty mohou blokovat průchod krve úzkými kapilárami a jsou při průchodu slezinou rychleji odbourávány. Nemoc se projevuje u homozygotů, kteří mají mutovány oba geny. Je charakteristická chronickou hemolytickou anemií, zvýšenou tendencí k infekcím, záchvaty bolesti, poruchami sleziny a ledvin ad.

Odbourávání krevního barviva

Po rozpadu erytrocytů (průměrná doba existence 120 dní) podléhá hemoglobin enzymově katalyzovanému odbourávání, které probíhá ve fagocytujících buňkách sleziny, kostní dřeně a jater (RES). V těchto buňkách se v průběhu několika reakcí z hemoglobinu odštěpuje proteinová složka globin a z hemu vzniká lineární tetrapyrrolové barvivo **bilirubin**. Bilirubin je pro tělo odpadní látka. Je to velmi nepolární látka, v krvi musí být transportována ve vazbě na albumin. Přenáší se do jater a zde je vychytáván. Navázáním glukuronové kyseliny je přeměněn na tzv. konjugovaný bilirubin. V této formě je bilirubin podstatně rozpustnější a vylučuje se žlučí do střeva. Bilirubin je zde redukován enzymy střevní bakteriální flóry na bezbarvé chromogeny *urobilinogeny* (Ubg). Většina z nich se vstřebává do krve a je z ní játry vychytána a odbourána, nepatrná část (průměrně 4 μmol/den) se vylučuje močí. Zbytek Ubg neresorbovaný ve střevě se vylučuje stolicí.



bilirubin

Hyperbilirubinemie

Fyziologické rozmezí koncentrace bilirubinu v krvi je u dospělých 5-20 μmol/l. Zvýšené hodnoty se označují jako hyperbilirubinemie, barvivo při nich difunduje do tkání, které se nažloutle zbarví (**žloutenka, ikterus**). Příčinou může být

1) zvýšená tvorba bilirubinu (hemolýza)
2) snížené vychytávání bilirubinu hepatocyty (jaterní poruchy)
3) snížená konjugace bilirubinu (jaterní porychy)
4) porucha vylučování bilirubinu do žluče (jaterní poruchy)
5) extrahepatální porucha odtoku žluče (kámen, nádor)

V závislosti na příčině poruchy může být v krvi zvýšen konjugovaný i nekonjugovaný bilirubin. Konjugovaný bilirubin je na albumin vázán jen slabě a při zvýšené koncentraci v plazmě volně proniká do moči. Je-li hladina konjugovaného bilirubinu zvýšena dlouhodobě, vzniká tzv. **δ-bilirubin**. Představuje podíl bilirubinu, který neenzymovou reakcí vytváří s albuminem a v menší míře s jinými plazmatickými proteiny kovalentní peptidovou vazbu.

Novorozenci mohou být ohroženi **novorozeneckou žloutenkou.** Při ní dochází ke zvýšení hladiny nekonjugovaného bilirubinu, jehož příčinou je nezralost jaterního systému a jeho dočasná neschopnost přijímat, konjugovat a vylučovat bilirubin. Nekonjugovaný bilirubin může pronikat hematoencefalickou bariéru a vyvíjí se toxická encefalopatie (jádrový ikterus, kernikterus). Při terapii se používá ozařování modrým fluorescenčním zářením (fototerapie), které izomeruje bilirubin do forem, které jsou rozpustnější a mohou být játry vyloučeny bez konjugace.

bilirubin ⟶ fotobilirubiny ⟶ žluč stolice

fotoizomerizace (polární) bez konjugace

v kožních kapilárách