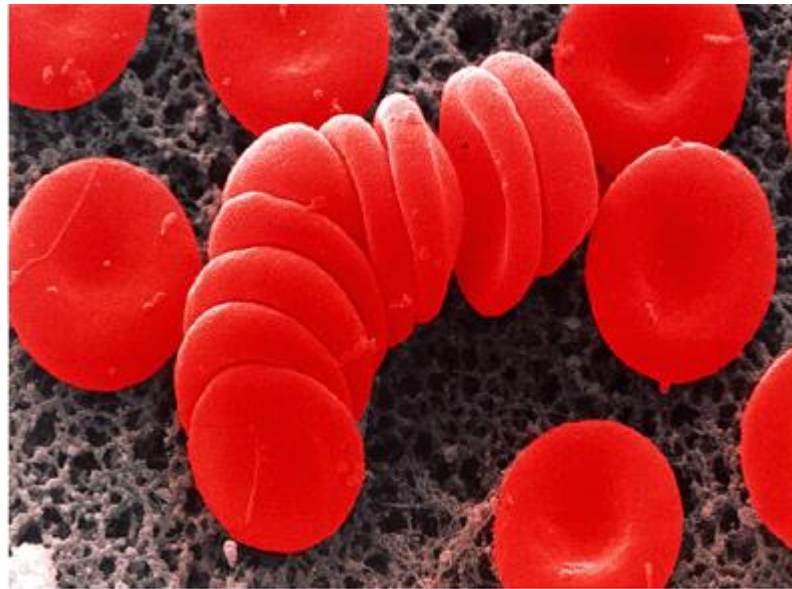


Patofyziologie základních hematologických chorob



Onemocnění krvetvorby

- Patofyziologie RBC
 - Základní fakta
 - Hemoglobin
 - Laboratorní vyšetření
 - Železo
 - Erythropoetin a erythropoéza
 - Anemie

Vymezení oboru hematologie

- Hematologie (*ř. haima-haimatos krev, ř. logos nauka- hematologie, nauka o krvi a krevních chorobách*) se zabývá krví a krvetvornými orgány
 - periferní krev
 - červená kostní dřeň
 - mízní uzliny
 - játra, slezina

Anatomické a fyziologické poznámky

Základní krvetvorné orgány:

- Kostní dřeň
 - Thymus
- } **Primární (ústřední) krvetvorné a imunitní orgány**

- Lymfatické uzliny
- MALT
(mucosa associated lymphoid tissue)
- Slezina
- Imunologicky kompetentní
fond recirkulujících lymfocytů
- Periferní krev

} **Primární (periferní)
krvetvorné a imunitní
orgány**

Fyziologické funkce krve

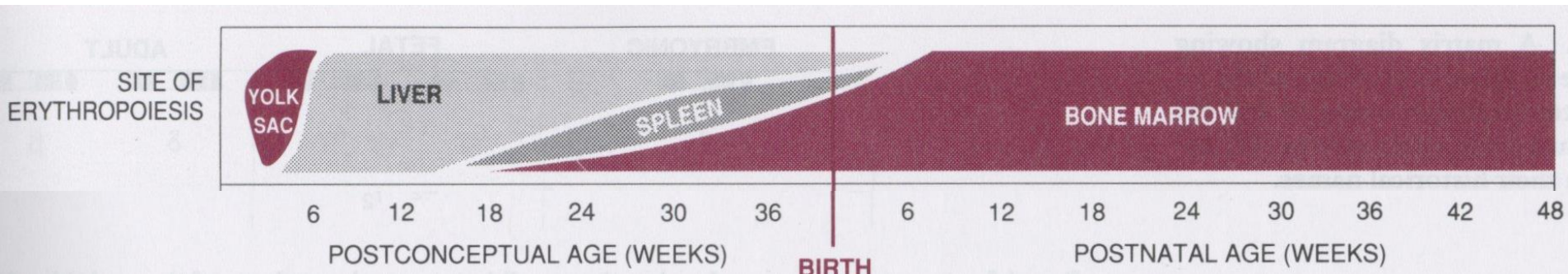
Ontogeneza krvetvorby

Extraembryonální mezenchym

Játra: 6. týden - porod

Slezina, tymus, uzliny: 8.- 16. týden

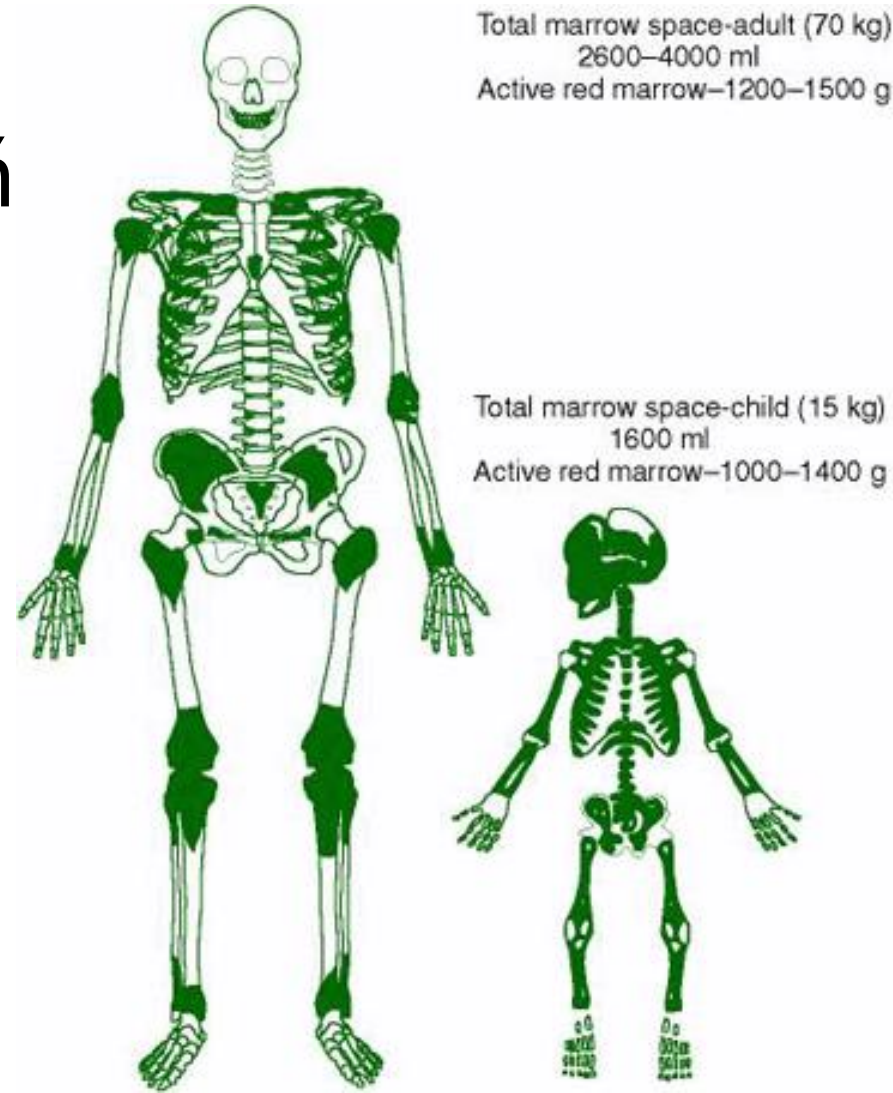
Červená kostní dřeň: 12. týden -



Extramedulární hematopoéza

Kostní dřeň

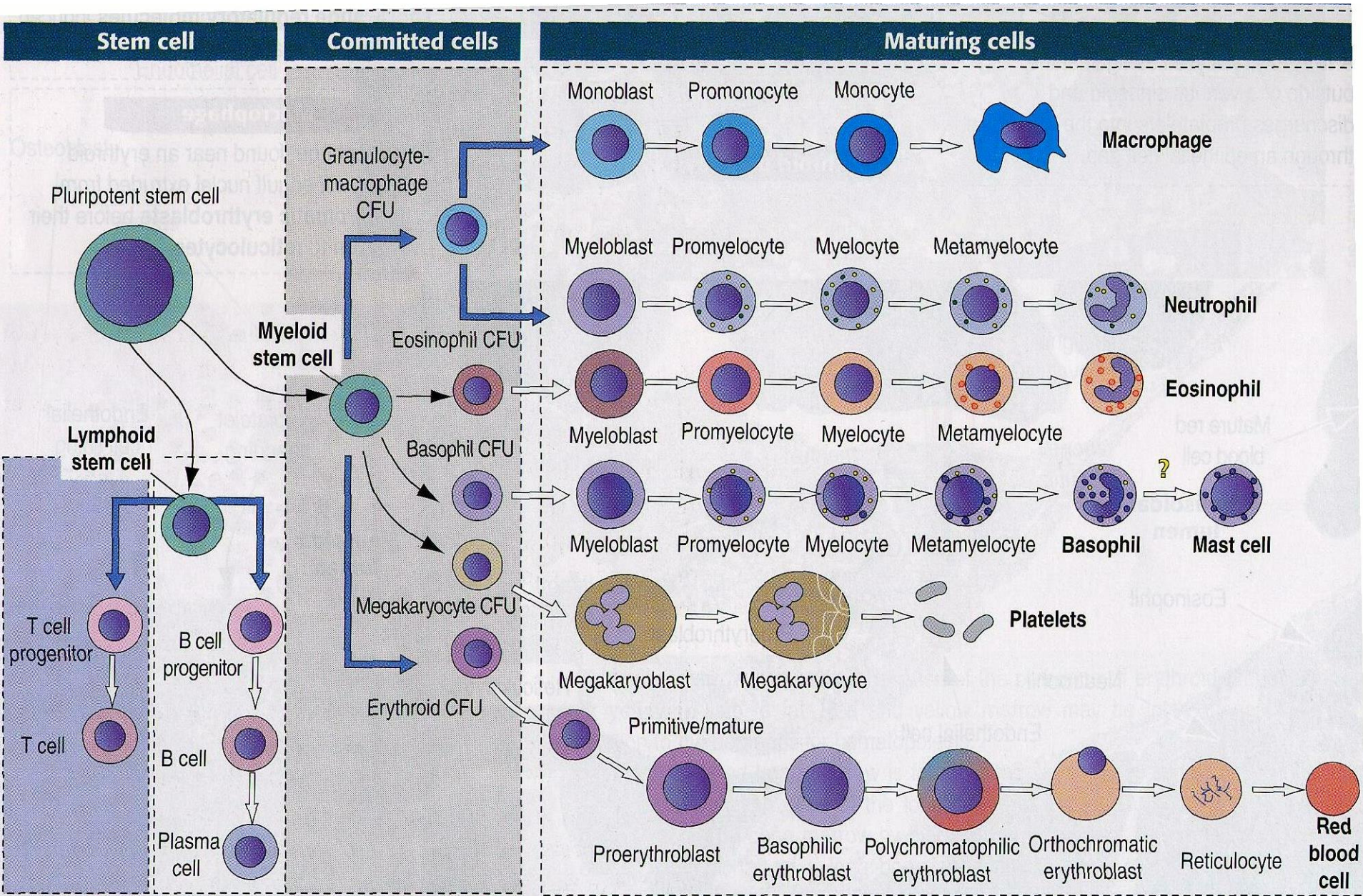
- sídlo hematopoezy
- červená kostní dřeň
 - hemopoetická
- žlutá kostní dřeň
 - tuková

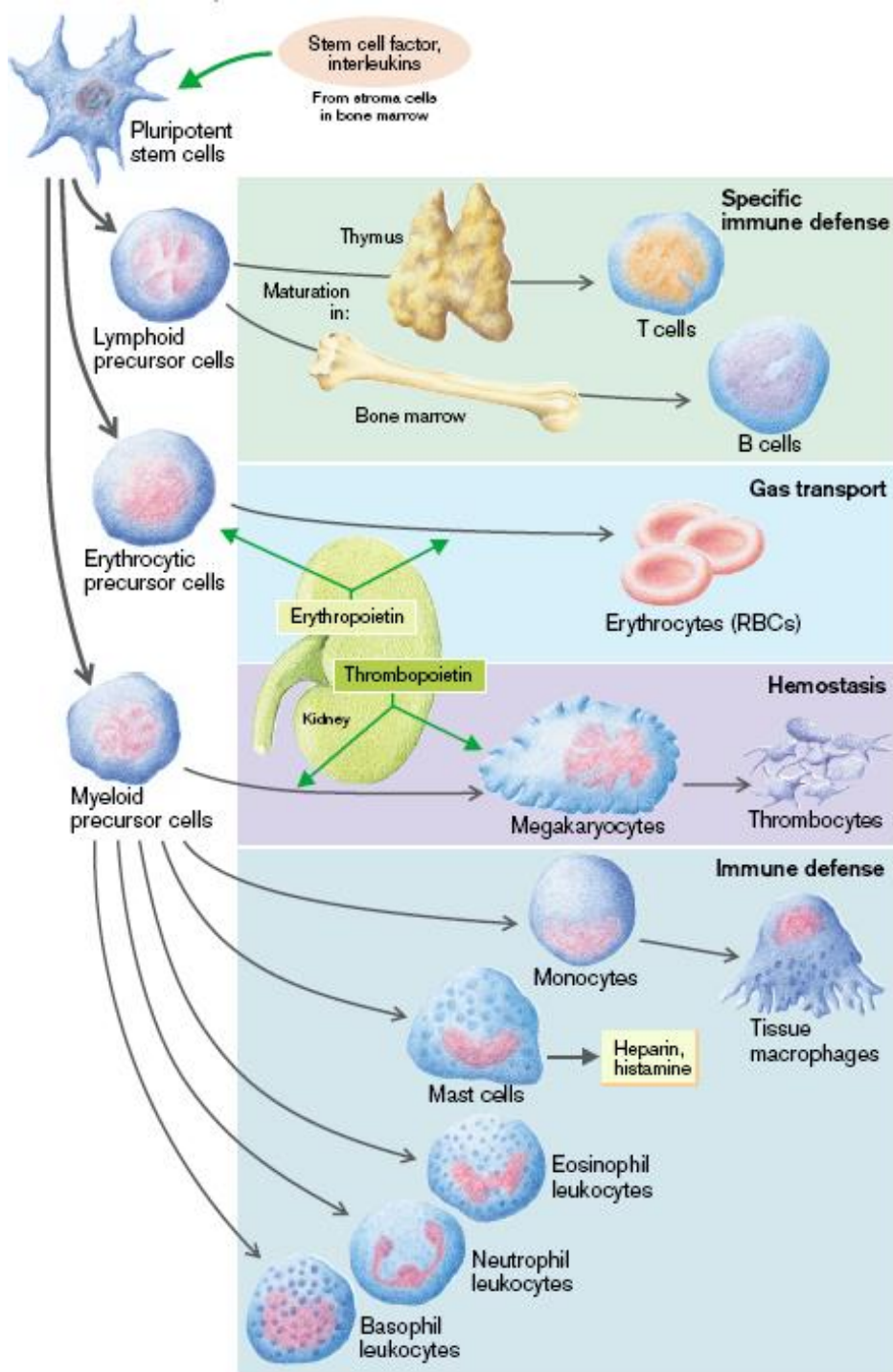


Červená kostní dřeň

- stroma
 - síť retikulárních buněk
 - síť retikulárních vláken
 - kolagenní vlákna I. a III. typu
 - fibronektin, laminin, hemonektin
- hematogenní provazce
- sinusoidní kapiláry
 - vystlané souvislým endotelem

Krvetvorba





SPECIFICKÁ IMUNITA

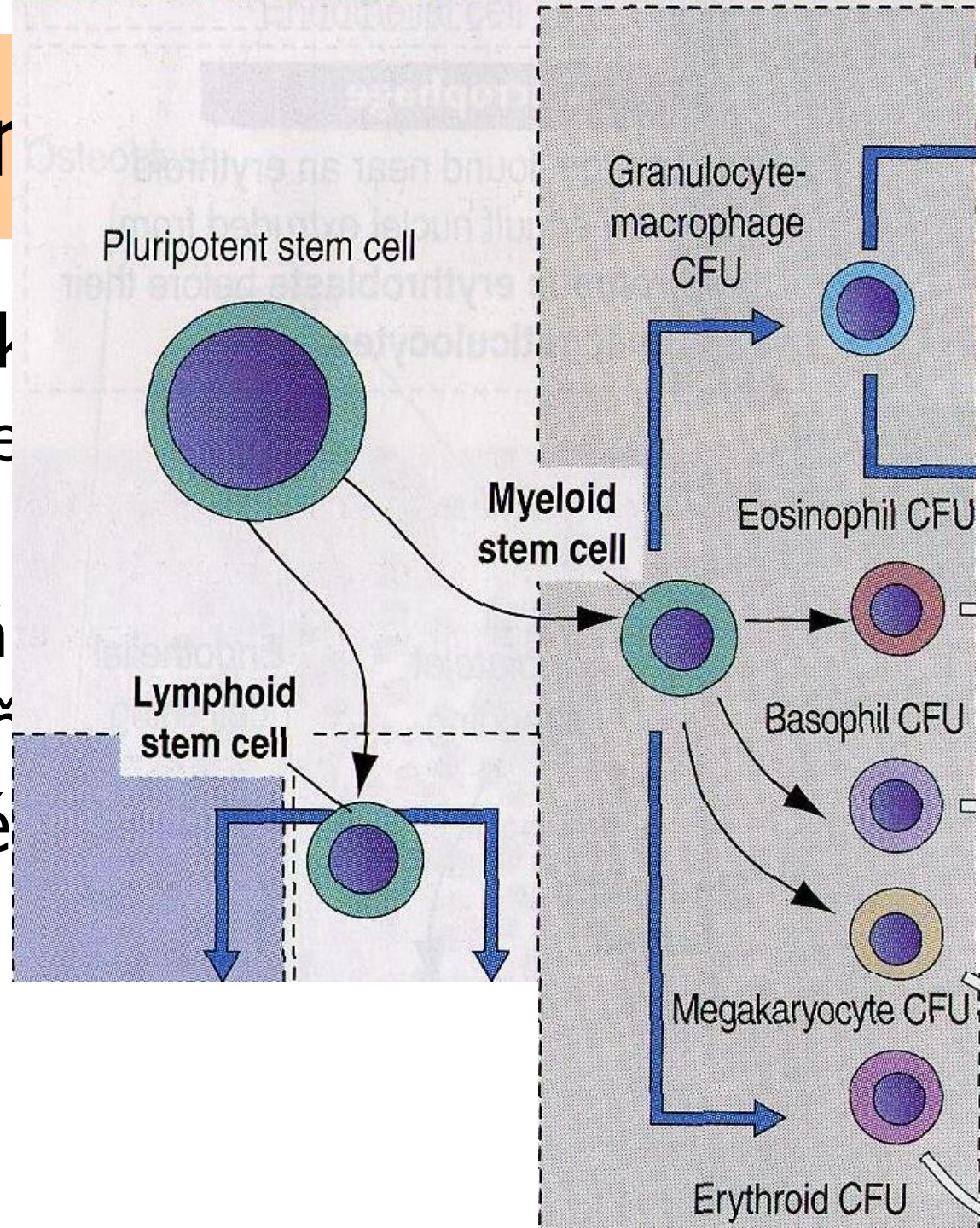
TRANSPORT O₂

HEMOSTÁZA

IMUNITNÍ ODPOVĚĚ

Kmer

- pluripotentní k
- diferencuje se
- multipotentní
- lymfoidní buň
- myeloidní buň
- progenitorové
- prekurzorové

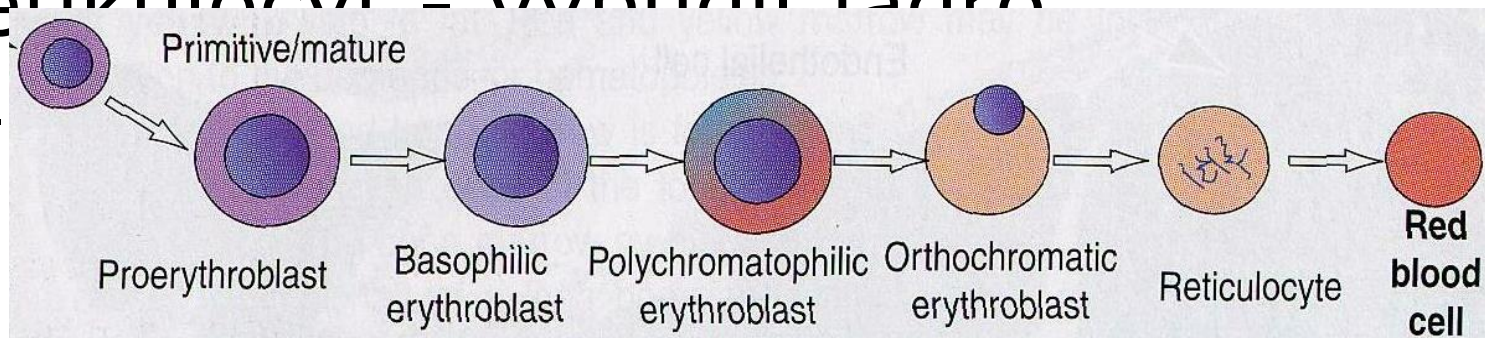


Faktory nutné pro hemopoezu

- pluripotentní buňka
 - schopná zracího i meiotického dělení
- mikroprostředí - např. kostní dřeň
 - součástí jsou buňky a extracelul. hmota
- růstové faktory
 - tzv. kolonie stimulující faktory = CSF
 - např. erythropoetin
 - uvolňované podle potřeby

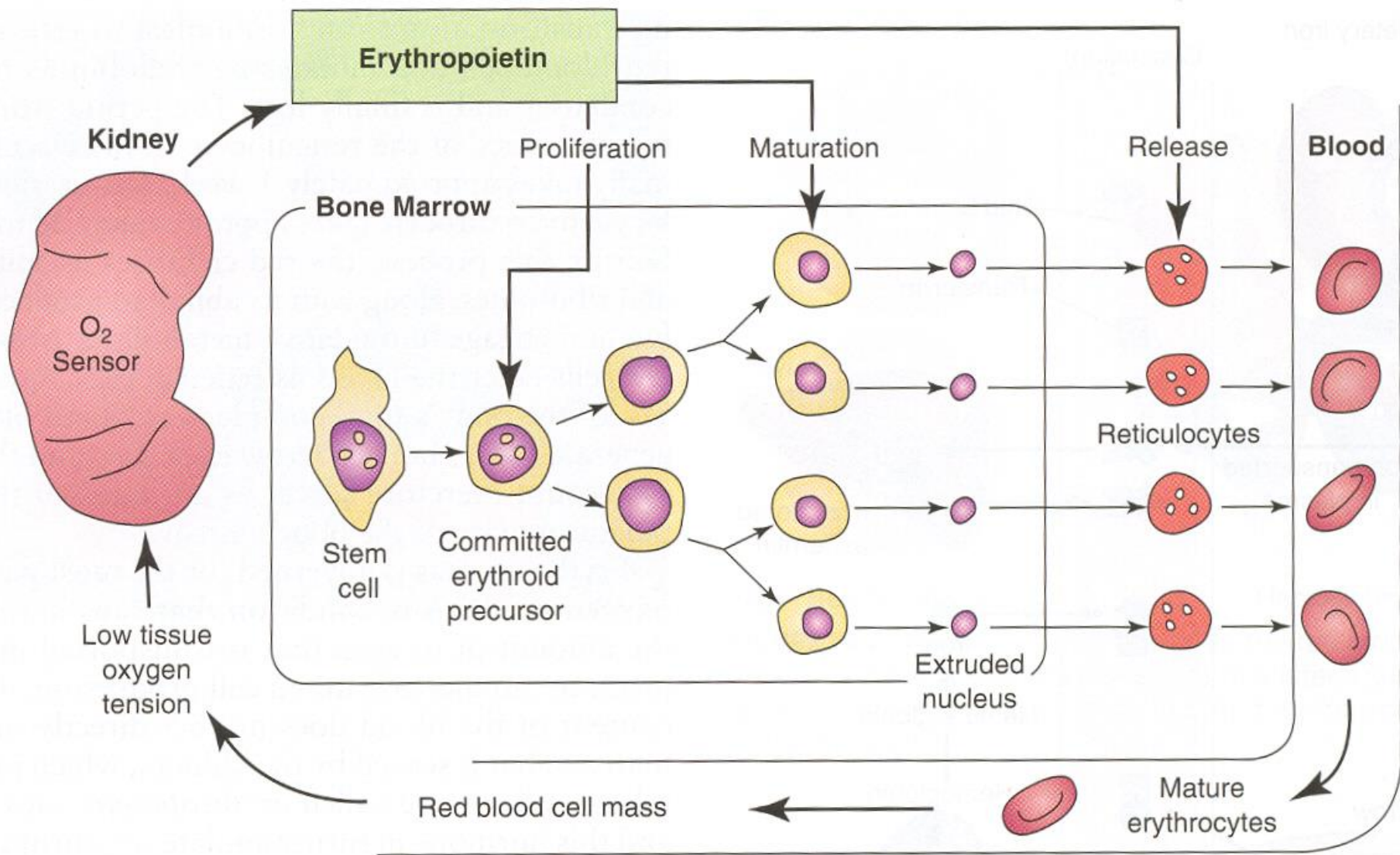
Vyžívání erytrocytů

- erythropoetin, Fe, kys. listová, vit. B₁₂
- proerythroblast – krajkový chromatin
- bazofilní erythroblast - silně baz. ctpl.
– bazofilní vzhledem k syntéze Hb
- polychromatofilní erythroblast
- ortochromatofilní erythroblast - nedělí se
- retikulocyt – vypudil jádro

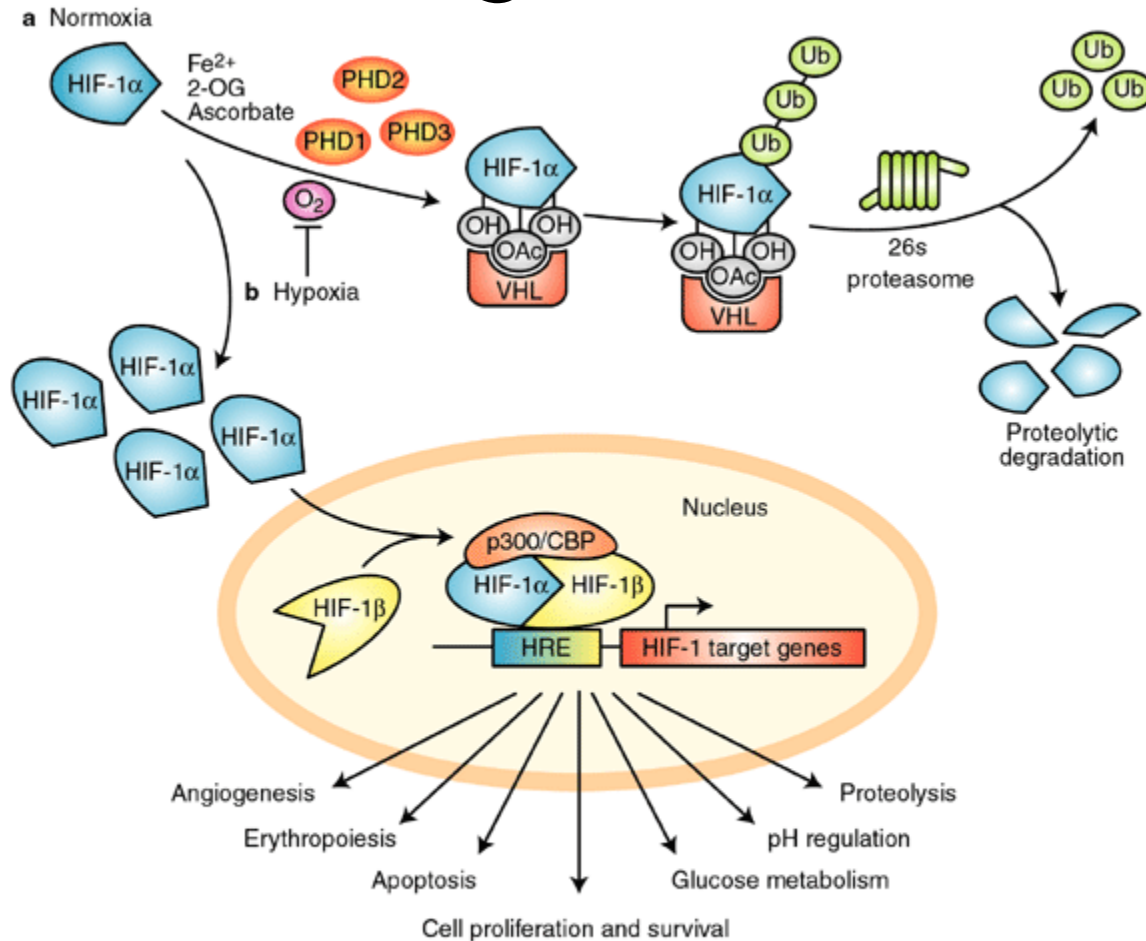


Erythropoetin

- glykoprotein – 165 aminokyselinových zbytků + 4 oligosacharidové řetězce
- tvořen v ledvinách a játrech, odbouráván v játrech
- poločas v cirkulaci 5 hodin, projev sekrece po 2-3 dnech
- Zvyšuje počet erythropoetin-senzitivních buněk

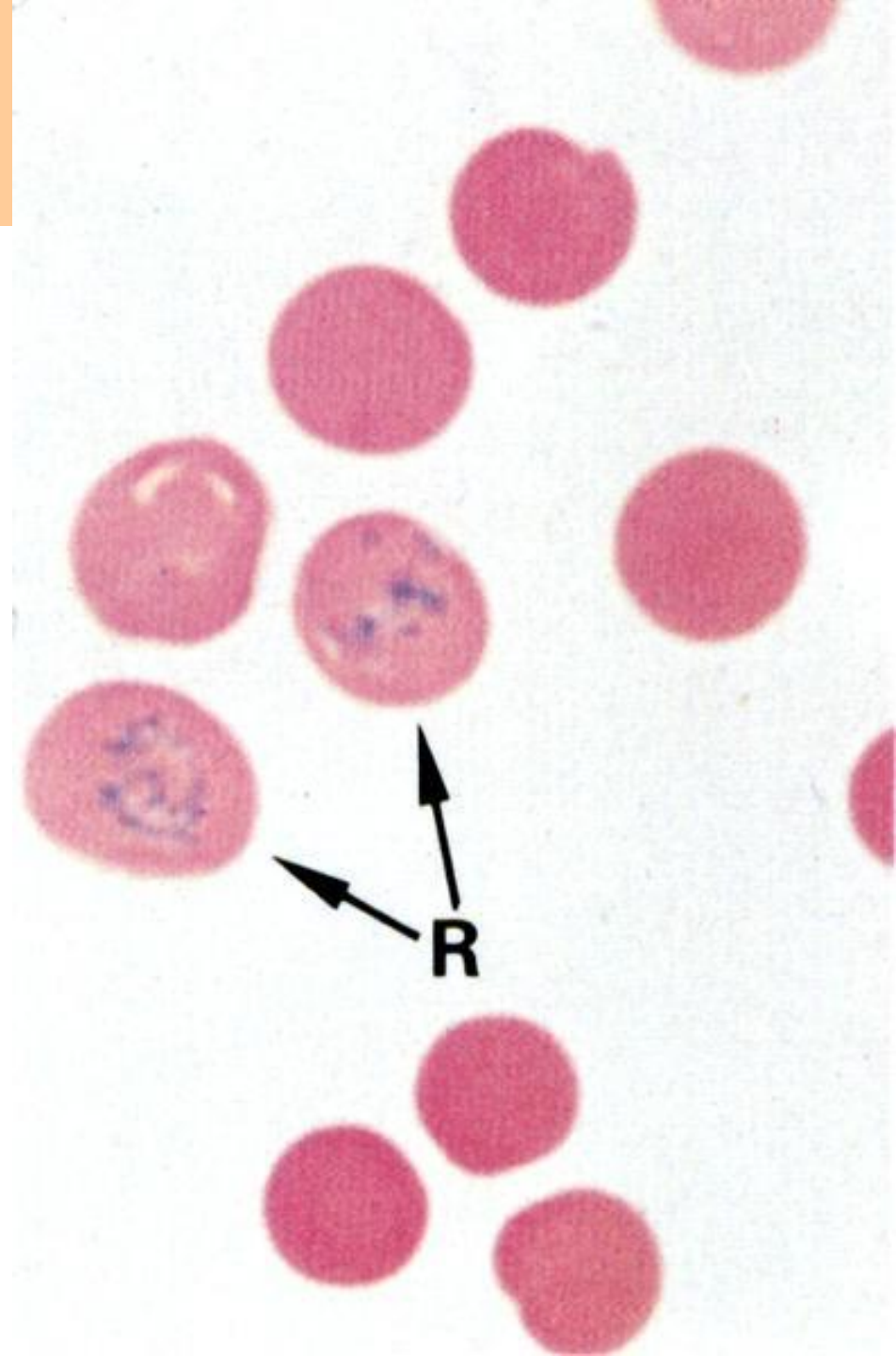


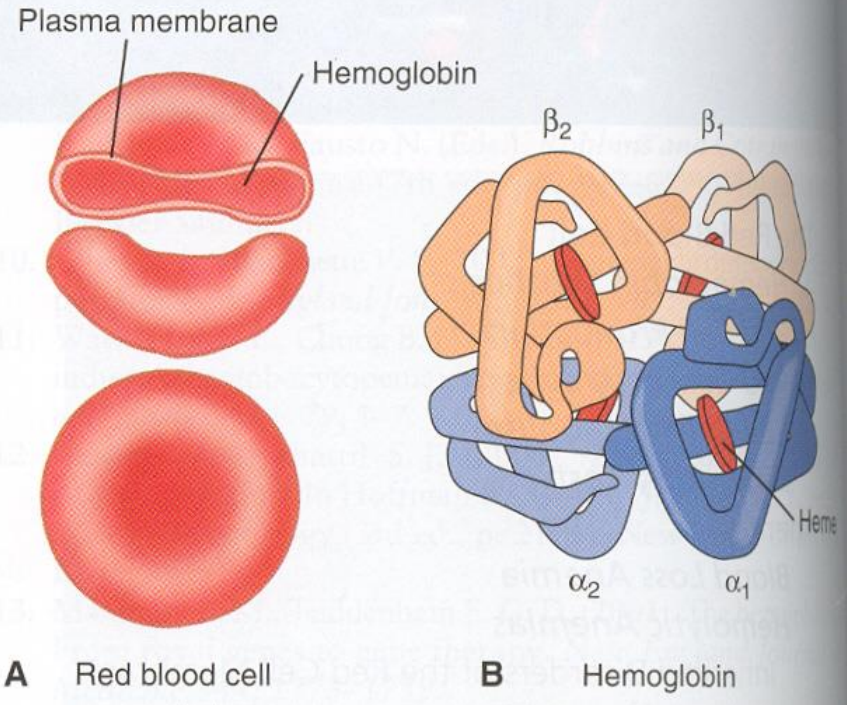
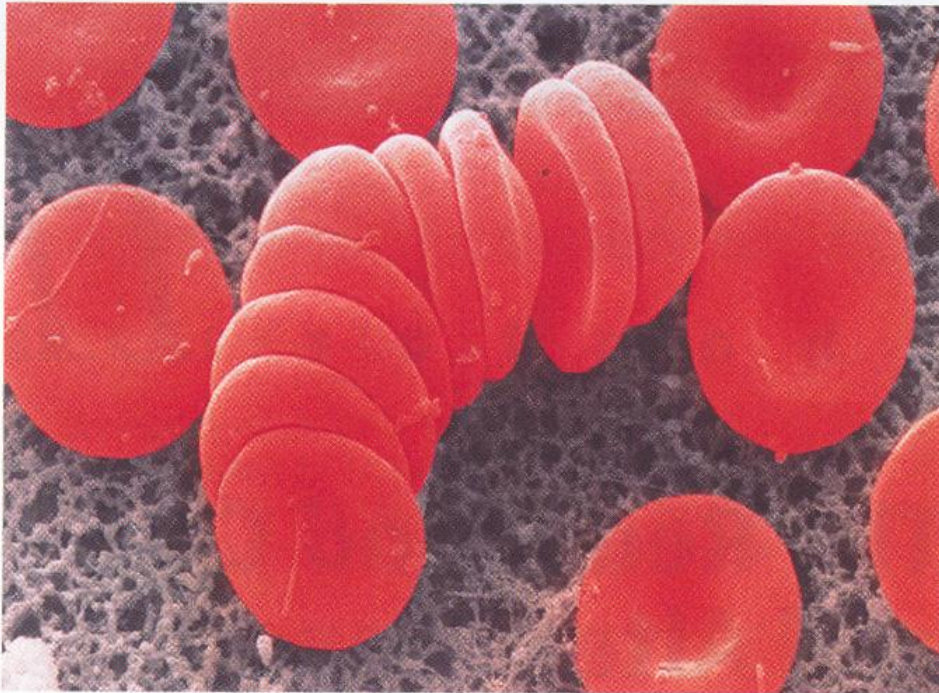
Hypoxii-indukovaná transkripce genů



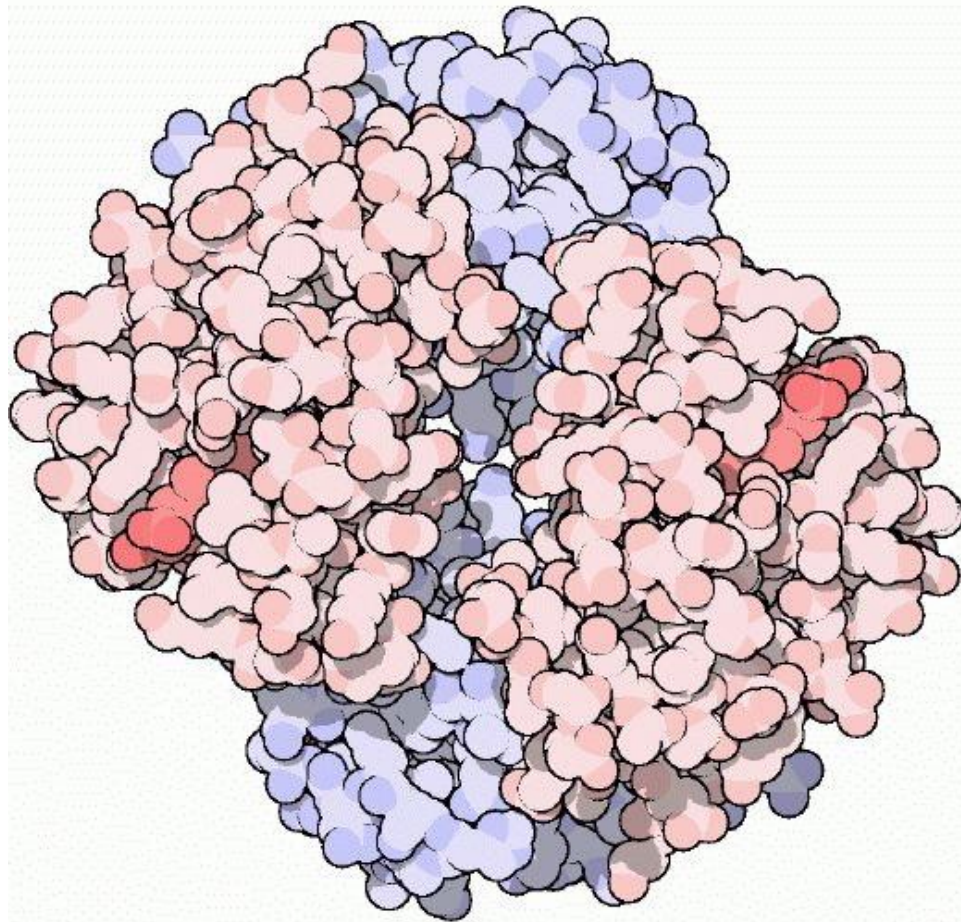
HIF-1 α regulation by proline hydroxylation

Retikulocyt



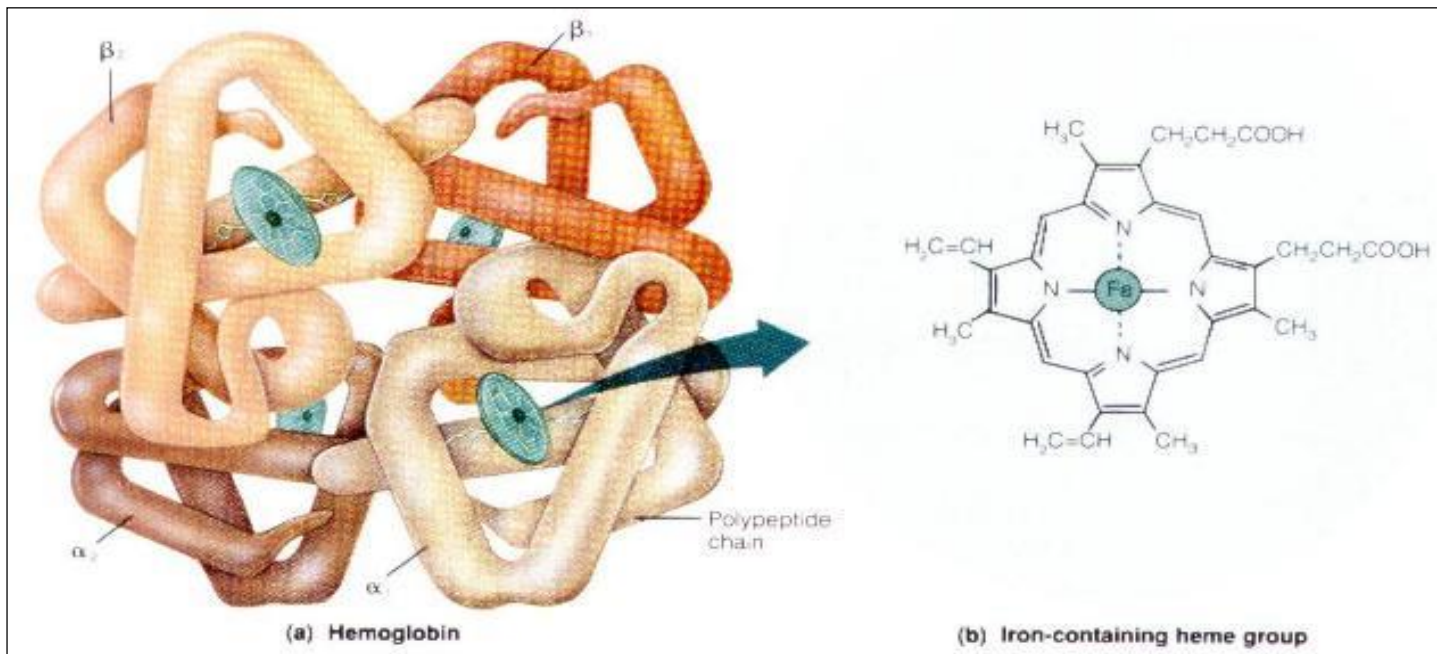


Hemoglobin



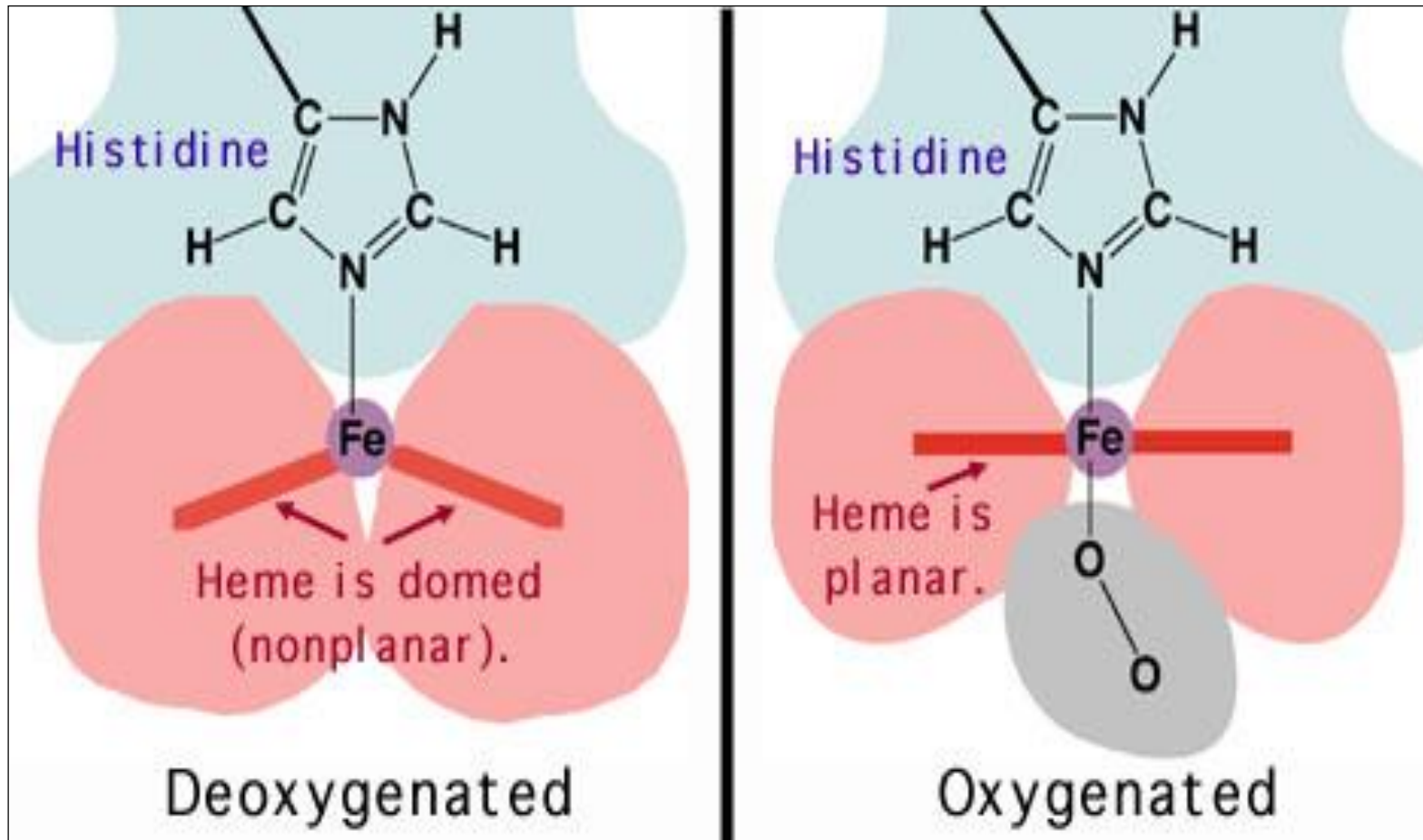
Struktura hemoglobinu

- sférická molekula skládající se ze 4 peptidových podjednotek (**globiny**) = kvartérní struktura
- Hb dospělých jedinců (Hb A) je tetramer obsahující **2 α - a 2 β -globiny** → **každý globin obsahuje 1 hemovou skupinu s centrálním Fe^{2+} iontem**



Obrázek byl převzat z <http://faculty.etsu.edu/currie/images/hemat3.jpg>

Vazba kyslíku



Typy hemoglobinu

Hb dospělých jedinců (Hb A) = 2 α - a 2 β -podjednotky

Hb A₁ je hlavní forma Hb u dospělých a dětí starších 7 měsíců.

Hb A₂ (2 α , 2 δ) je minoritní forma Hb u dospělých. Tvoří pouze 2 – 3% celkového Hb A.

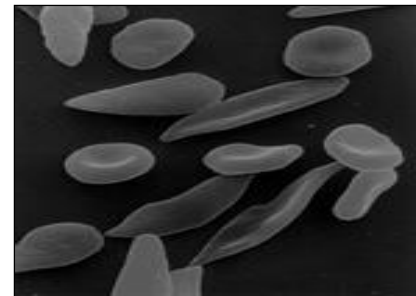
Fetální Hb (Hb F) = 2 α - a 2 γ -podjednotky

- u fétu a novorozenců → Hb F váže O₂ při nižších parciálních tlacích než Hb A → Hb F má vyšší afinitu ke O₂

Po narození, Hb F je nahrazován Hb A během několika prvních měsíců života.

Hb S – v β -globinu, Glu je nahrazen Val

- srpkovitá anémie



Deriváty hemoglobinu

Oxyhemoglobin (oxyHb) = Hb s navázaným O_2

Deoxyhemoglobin (deoxyHb) = Hb bez navázaného O_2

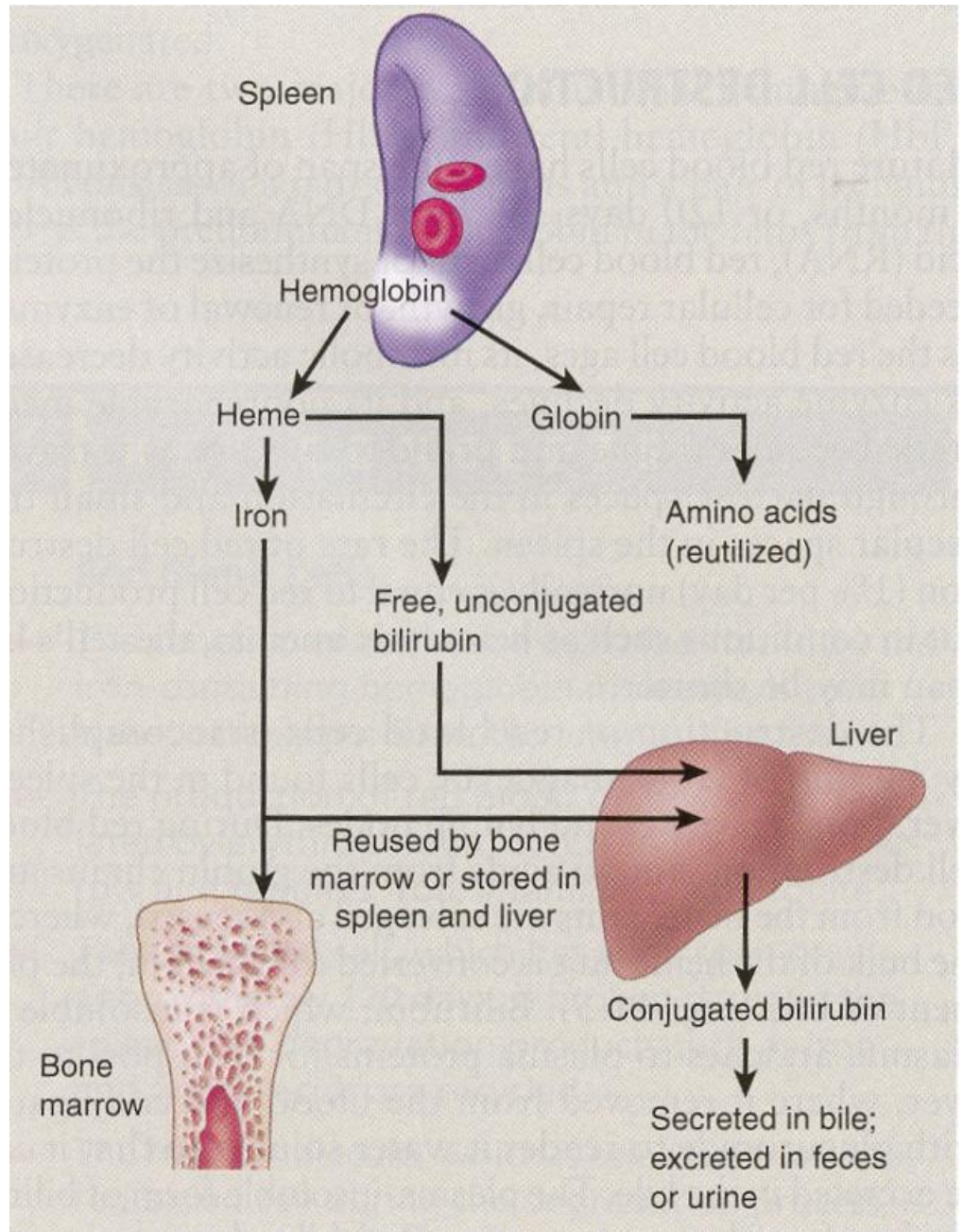
Methemoglobin (metHb) obsahuje **Fe³⁺** místo Fe^{2+} v hemových skup.

Karbonylhemoglobin (HbCO) – CO se váže na Fe^{2+} hemu v případě otravy CO nebo při kouření. CO má 200x vyšší afinitu k Fe^{2+} než O_2 .

Karbaminohemoglobin (HbCO₂) - CO₂ je nekovalentně vázán na globinový řetězec Hb. HbCO₂ transportuje CO₂ v krvi (asi 23%).

Glykovaný hemoglobin (HbA1c) je tvořen spontánně neenzymatickou reakcí s Glc

Degradace RBC



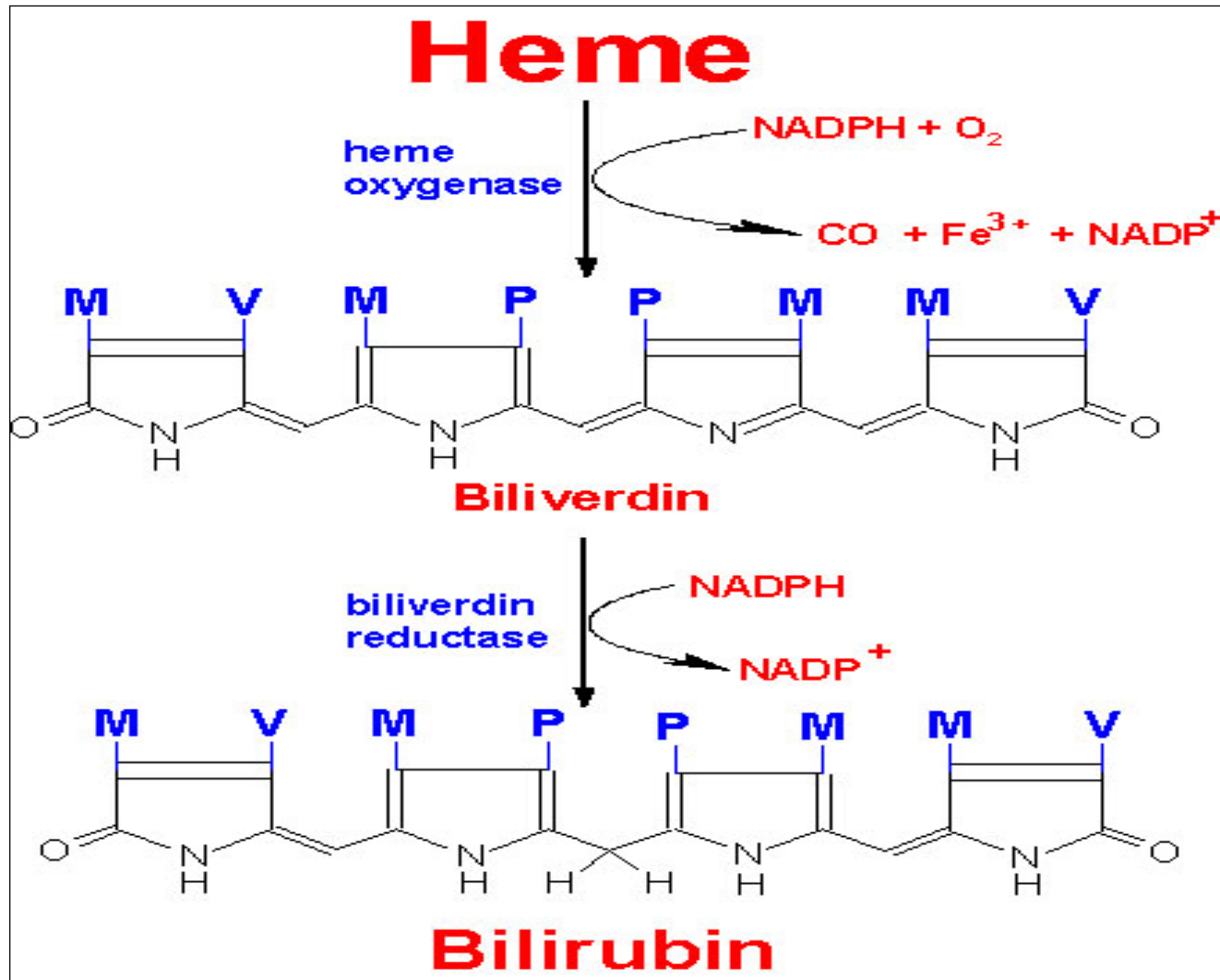
Degradace hemu

V lidském těle přibližně 100 – 200 mil. ery je degradováno každou hodinu. Degradace začíná v ER **retikuloendoteliálních buněk RES** (játra, slezina, kostní dřeň).

Hb je degradován na:

- globin → aminokyseliny → metabolismus
- hem → bilirubin
- Fe^{2+} → transport v komplexu s transferrinem a další využití v biosyntéze hemu

Přeměna hemu na bilirubin



Obrázek byl převzat z <http://web.indstate.edu/thcme/mwking/heme-porphyrin.html>

Laboratorní vyšetření

Hematokrit

HTK udává **procentuelní zastoupení** formovaných krevních elementů v **objemové jednotce** krve

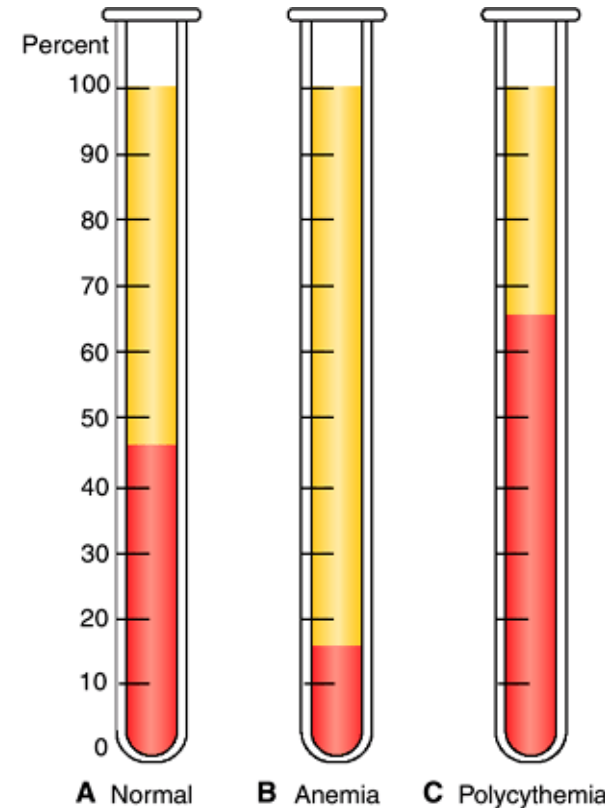
Normální hodnoty

ženy: 0,35 – 0,46 35 – 46 %

muži: 0,38 – 0,49 38 – 49 %

Snížení: anemie, expanze ECT

Zvýšení: polycytémie, dehydratace



MCV (mean corpuscular volume) střední objem erytrocytu

Normální hodnota = 87,5 fl (80-96fl)

MCV je změněn u různých anomálií erytrocytů (srpkovitá anemie, poikilocytóza, anisocytóza a další). Je využíván k rozlišení normo-, mikro- a makrocytárních anemií

Výpočet: hematokrit $\times 10^3$ / počet ery ($\times 10^{12}$ / 1 litr)

Pozn.: téměř vždy je MCV určen analyzátozem

MCH (mean corpuscular hemoglobin)

obsah hemoglobinu v 1 erytrocytu

Norma: 29 pg (28-33pg), 18 fmol

zvýšení: makrocytární anemie,

snížení: mikrocytární anemie

Výpočet: $MCH = \frac{Hb \text{ (v g / 100 ml krve)}}{ery \text{ (x } 10^{12} \text{ / 1 litr)}}$

MCHC (mean corpuscular hemoglobin concentration)

**střední koncentrace Hb
v erytrocytech**

Norma = 34 +/- 2 %

zvýšení: hereditární sférocytóza

norma až mírné snížení: makrocytární anemie

snížení: mikrocytární anemie

Výpočet: $MCHC = \frac{Hb \text{ (v g /100 ml krve)} \times 100}{\text{hematokrit}}$

Počet retikulocytů

je udáván v % všech buněk červené řady v krvi.

Norma: ženy i muži 0,5 – 1,5 %

- a) při intravitálním barvení (brilantkresylová modř) je podíl RTC stanoven z nátěru
- b) stanovením průtokovou cytometrií jsou udány absolutní hodnoty

Zvýšení: krvácení, hemolýza (kompenzační činnost dřeně)

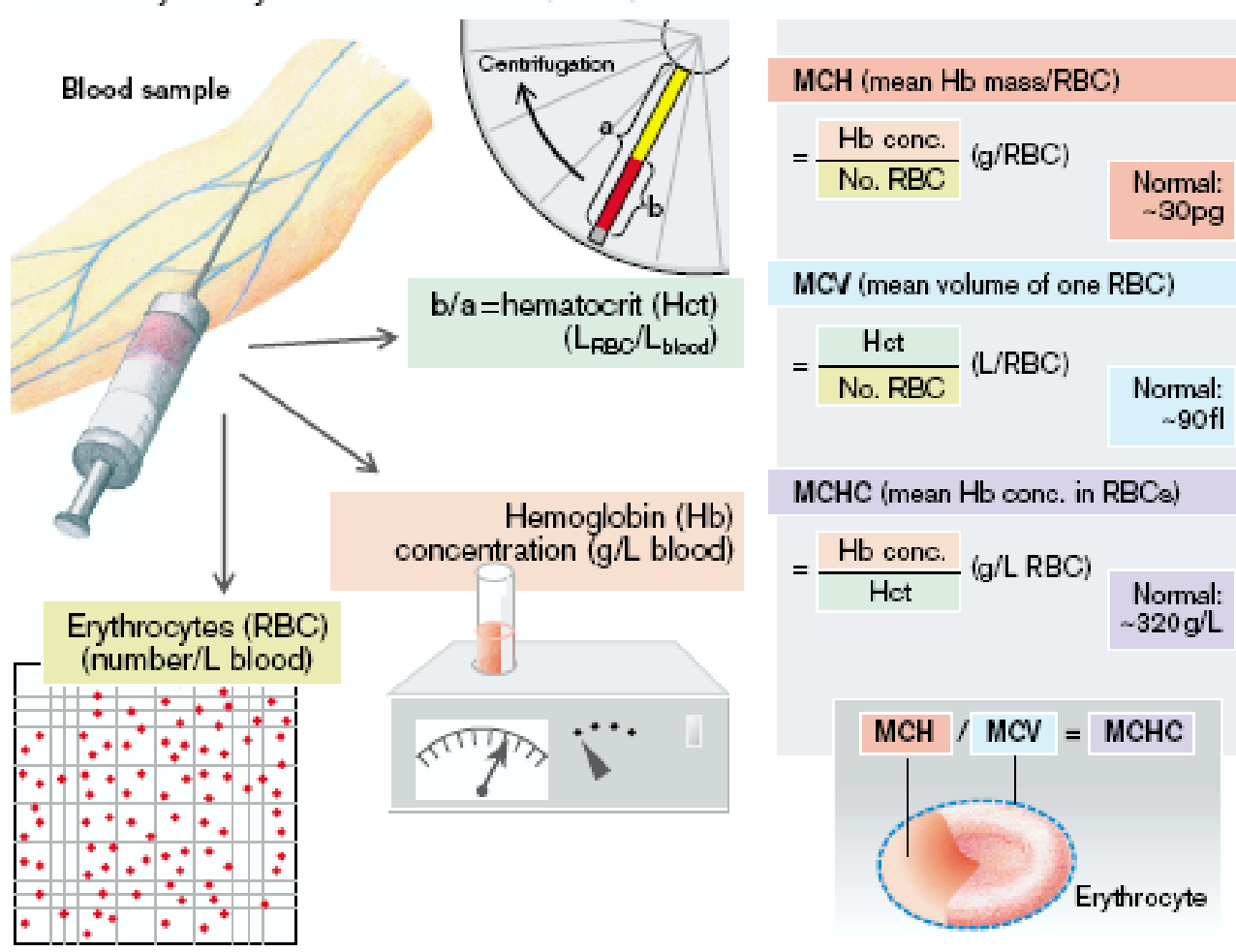
Snížení až vymizení: útlum erythropoézy, útlum dřeně

Vyšetření kostní dřeně

Sternální punkce: z manubria sterni aspirace dřevňové krve umožňuje pouze provést cytologický rozbor (např. cytogenetika, molekulární biologie)

Trepanobiopsie: ze spina iliaca superior posterior: umožňuje kromě aspirace dřevňové krve též získat vzorek kostní tkáně- nezbytné pro provedení histologického rozboru kostní tkáně

Erythrocytární hodnoty MCH, MCV a MCHC



Železo

Železo

- Železo v ionizované formě je velmi reaktivní a proto je v těle vázáno na anionty organických kyselin a proteiny
- Funkční feroproteiny a skladové proteiny (ferritin a hemosiderin)

Železo v organismu

- Železo se vstřebává v horní části tenkého střeva (zapotřebí kyselá žal. šťáva) – při hypochlorhydrii může dojít k nedostatku železa jako následek poruchy adsorpce
- Normálně se vstřebává asi jen 7-10% železa – řízení kapacitou apoferitinu (bílkovina střevní sliznice) – vazba na **feritin**
- V plazmě dochází k vazbě na transportní b₁-globulin – **transferrin**

Obsah železa v organismu

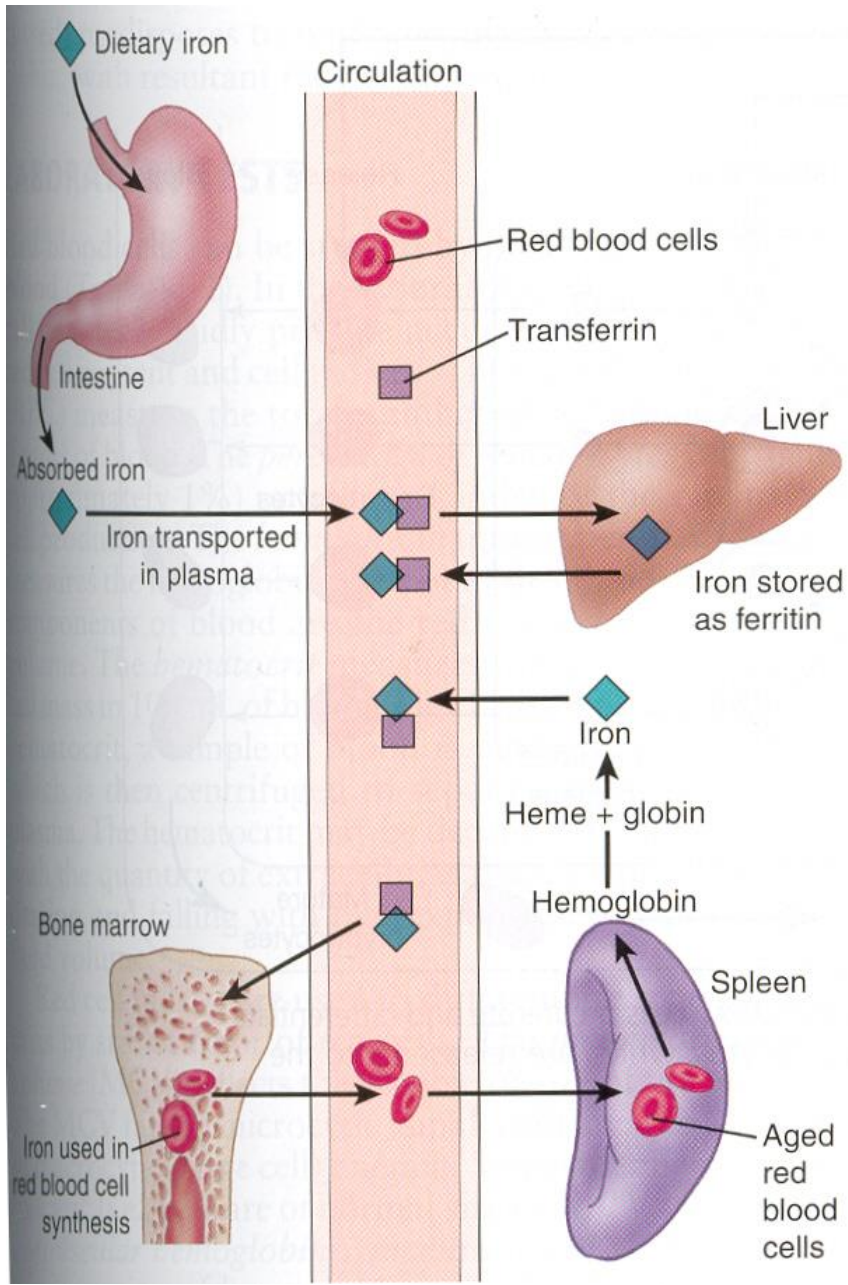
- 35-45 mg na kg tělesné váhy
- 60-70% v erythrocytech
- 10% myoglobin
- 20-30% zásobní železo

Bilance železa v organismu

- 10-20 (5-10) mg obsah železa v denní stravě
- 0,5-1 mg denní ztráty u mužů 1-2 mg u žen
- Vstřebává se 5-10%

Nedostatek Fe

- Snížený příjem: nedostatek v potravě, maldigesce, malabsorpce
- Zvýšené ztráty
- Zvýšená potřeba



Biologický význam železa

- Všeobecně známý je význam železa pro přenos kyslíku a ox.- red. děje ve tkáních
- Fentonova reakce - tvorba hydroxylového radikálu
- Poškození životně důležitých molekul
- Uvedené reakci brání transferin, který váže volné železo

Patologie krve a krvetvorby

- Nedostatek krevních elementů
- Nadbytek krevních elementů
- Hematologické malignity
- Krvácivé stavy
- Trombotické stavy

Anémie

- Základní rysem anémie je snížení množství **hemoglobinu** a zpravidla také hematokritu a počtu erytrocytů v jednotkovém objemu krve.
- Na množství hemoglobinu závisí transportní kapacita krve pro kyslík.
- Pozor na rozdíly mezi pohlavími
- Nadmořská výška
- Proč nás zajímá hemoglobin?

Klasifikace anémií

- Patofyziologická
- Morfologická

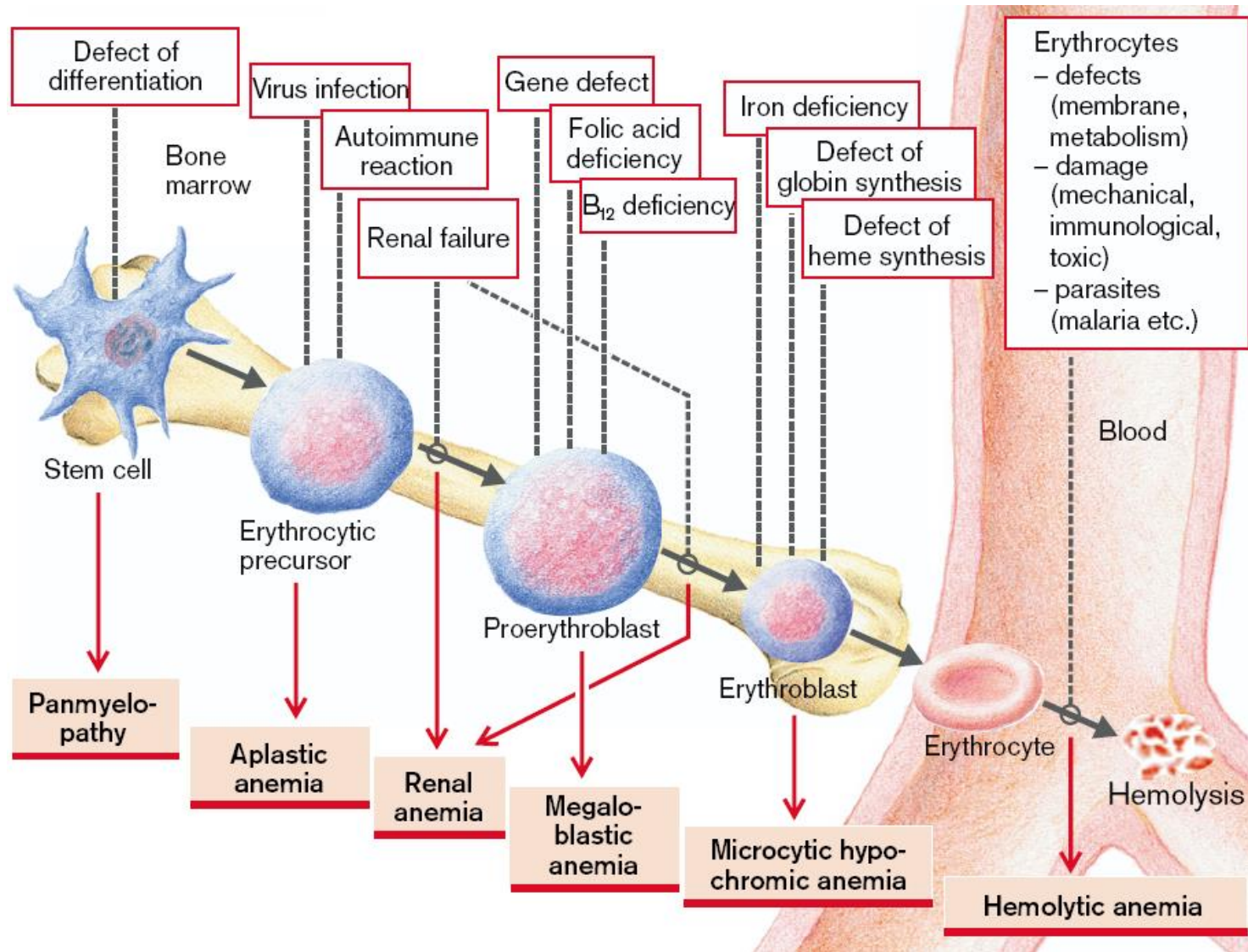
Morfologické třídění

- dle objemu erytrocytů
 - normocytové
 - mikrocytové
 - makrocytové
- podle koncentrace hemoglobinu v ery
 - normochromní
 - hypochromní

Patofyziologické třídění

- anemie z nedostatečné krve tvorby
- anemie ze zvýšených ztrát
- akutní posthemoragická anemie

Formy anémieí



Klinické příznaky anemie

- únava, slabost, nevykonnost
- bledost kůže, sliznic, nehtových lůžek
- tachykardie
- dušnost

Etiologie anémií

- snížená krvetvorba
 - sideropenické
 - megaloblastové anémie
 - z útlumu krvetvorby
 - anémie chronických chorob
 - thalasémie
- zvýšené ztráty
 - chronická posthemorhagická
 - hemolytické
 - korpuskulární
 - extrakorpuskulární
- Akutní posthemorhagická

Megaloblastická anémie

- Poruchy příjmu kobalaminu a folátu
- Omezení syntézy DNA a tím i narušení buň. cyklu v rámci erythropoézy
- Syntéza Hb pokračuje – vstup megaloblastů do krve (větší než 100 fl)
- Předčasný zánik megaloblastů a zkrácená doba megalocytů (předčasné hemolýza)

Vitamín B₁₂

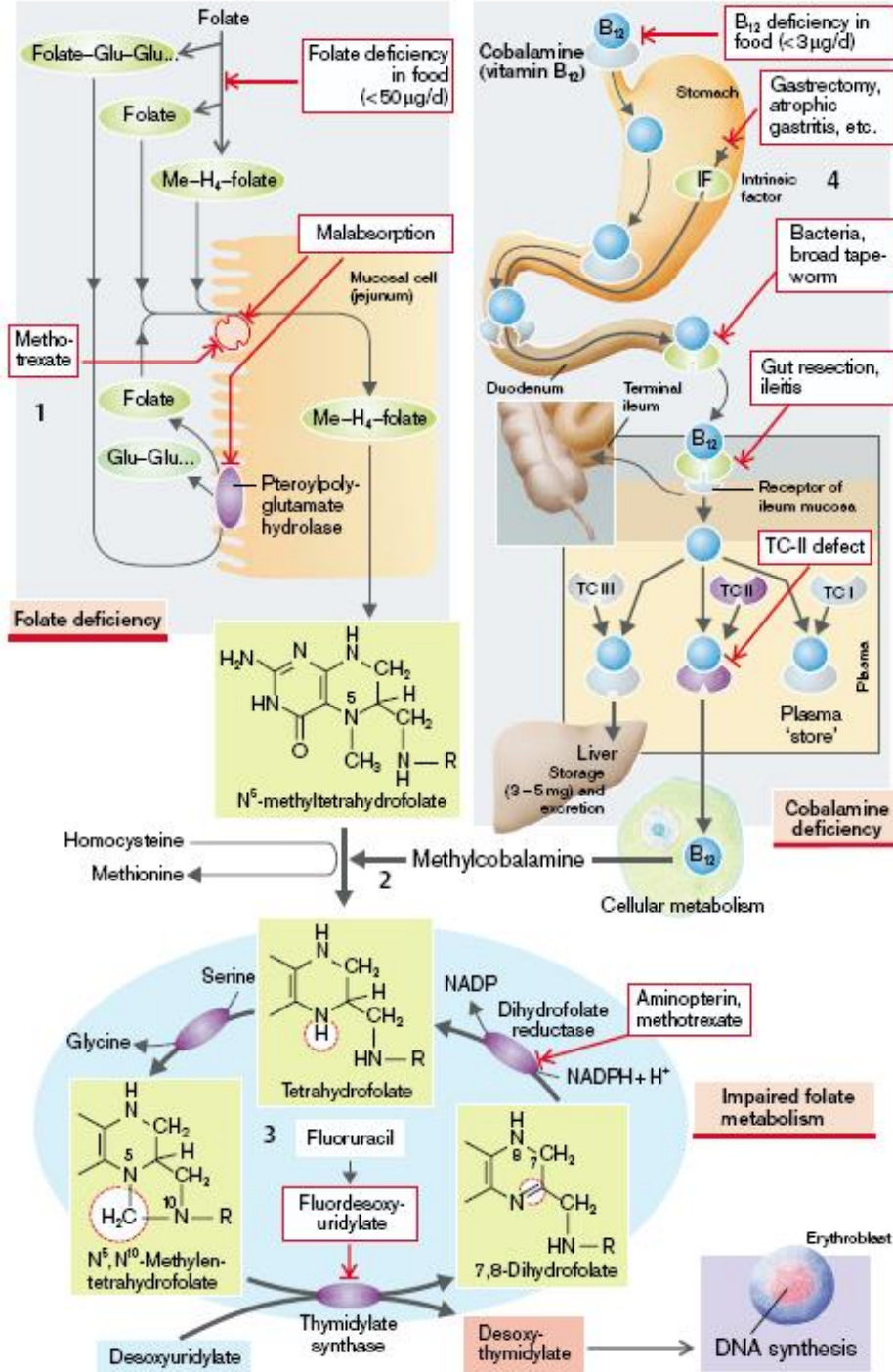
- Cyanocobalamin, hydroxycobalamin, deoxyadenosylcobalamin, methylcobalamin
- V potravě vázán na proteiny
- Nachází se v každé proliferativní tkáni
- Maximální resorpční kapacita odpovídá potřebám, velké zásoby v játrech
- Při nedostatku megaloblastová anémie

Kyselina listová

- Metabolit folátu je potřebný pro syntézu deoxythymidylátu, který je jediným zdrojem pro **thymin**
- Nedostatek folátu = inhibice syntézy DNA
- Zásoba folátu v játrech cca na 2-4 měsíce
- Použití např. fluorouracilu jako cytostatického chemoterapeutika

Syntézu DNA a tím i erytropoézu negativně ovlivňují následující poruchy příjmu popř. metabolismu folátu

- Příliš málo folátu
- Zvýšená potřeba (těhotenství)
- Malabsorpce (onemocnění tenkého střeva)
- Nedostatke kobalaminu
- Inhibice thymidylátsyntetázy
- Inhibice dihydrofolátreduktasy



Megaloblastické anémie způsobené poruchami syntézy DNA

Příčiny nedostatku kobalaminu

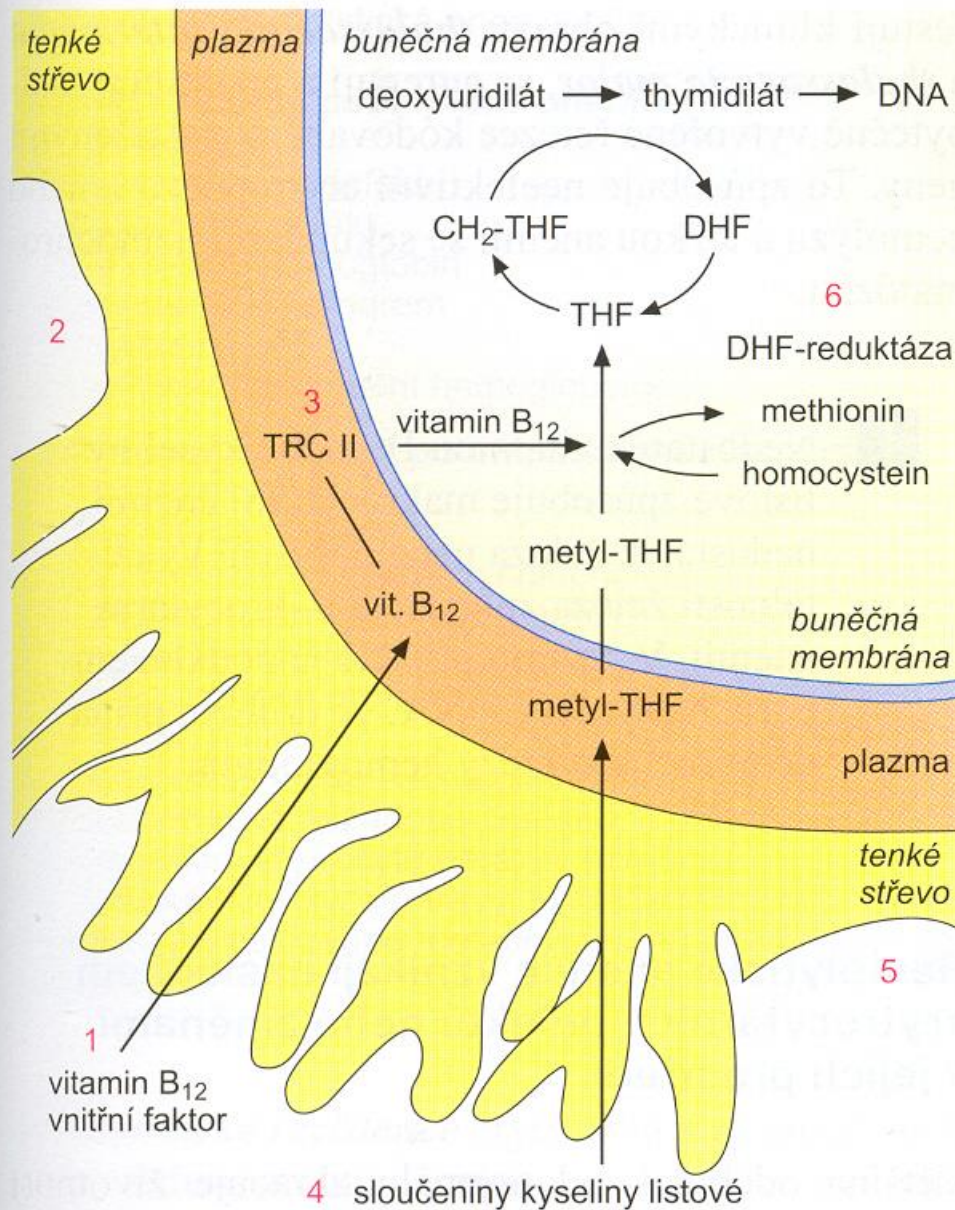
- Nedostatečný příjem (přísná vegetariánská strava)
- Nedostatek vnitřního faktoru
- Kompetice o kobalamin a štěpení IF bakteriemi v lumen střeva nebo konzumace B₁₂ parazitem
- Chybění nebo zánět terminálního ilea
- Defekt transkobalaminu II, potřebného pro transport kobalaminu v cytoplazmě

Vstřebávání vit. B₁₂

- Cobalaminy jsou uvolňovány z vazby na proteiny v žaludku.
- Vážou se na R-proteiny (glykoproteiny) produkované slinnými žlázami a žaludečními žlázami
- Komplexy s R-proteiny jsou degradovány pankreatickými proteázami
- Vazba na vnitřní faktor pocházející ze žaludku

- Dimer IF se dvěma molekulami vit. B₁₂ se váže na receptory enterocytů terminálního ilea.
- Zpracování v enterocytu není přesně známo
- V krvi vázán na globulin transkobalamin II
- 1-2% B₁₂ se vstřebává pasivně v tenkém střevě (radioaktivní testy).

Poruchy metabolismu vitamínu B₁₂ a kyseliny listové při megaloblastických anémiích



1. Chybění vnitřního faktoru
2. Porušená resorpce komplexu vnitřní faktor-vitamín B₁₂
3. Defekt transportního proteinu
4. Nedostatek kyseliny listové v potravě
5. Porucha resorpce kyseliny listové
6. Blokáda DHF-reduktázy

Nedostatek vitamínu B12 nebo kyseliny listové způsobuje **makrocytární anemii**, nedostatek železa, nebo narušení využitelnosti železa způsobuje **mikrocytární anemii**.

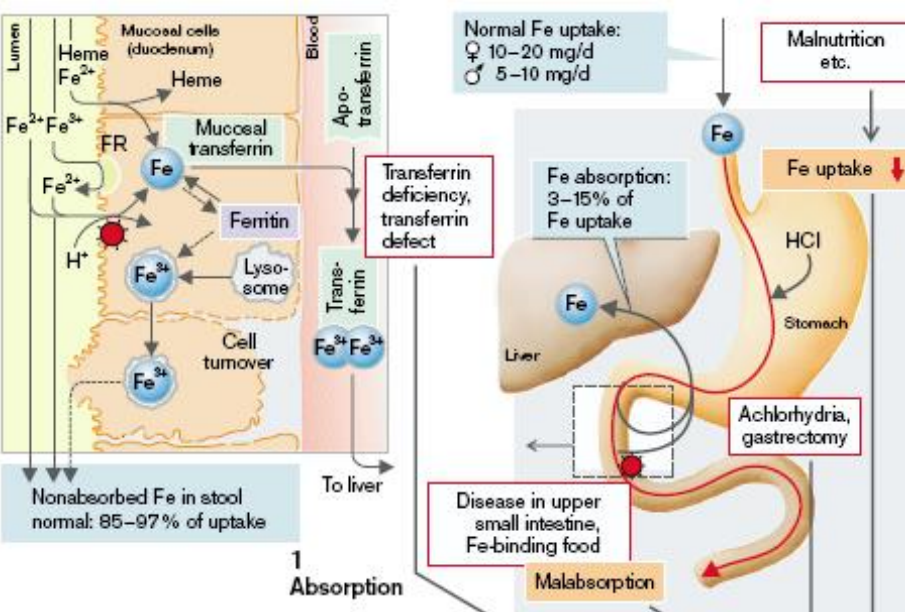
V prvním případě je podkladem porucha syntézy DNA, ve druhém případě porucha syntézy hemoglobinu.

Anémie z nedostatku železa

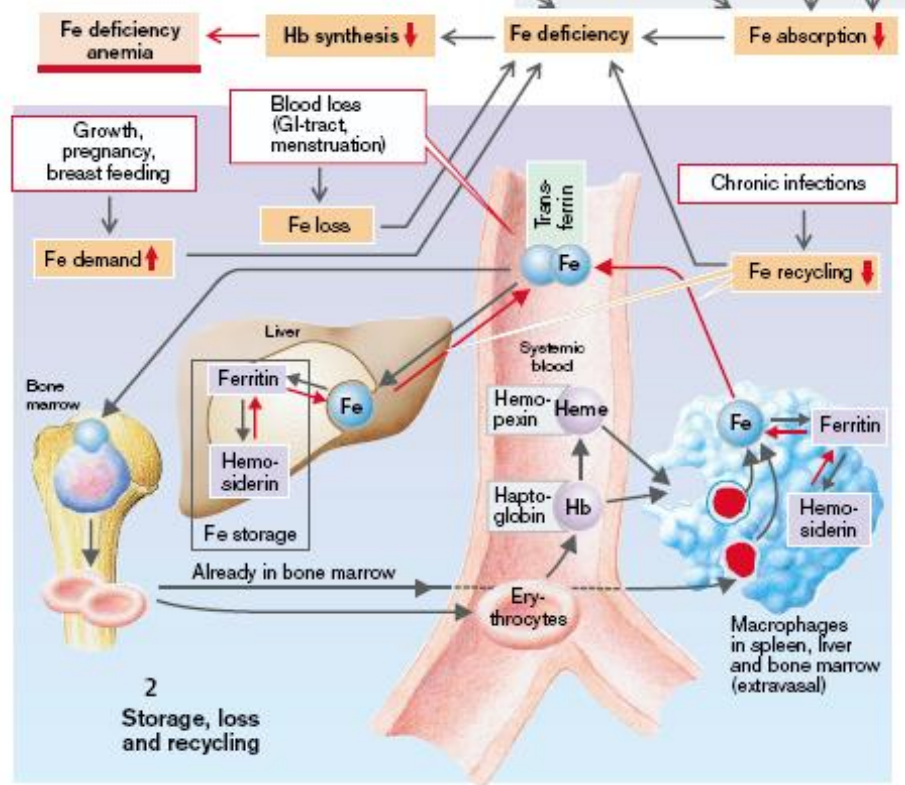
- Nedostatek železa tlumí syntézu Hb = **hypochromní mikrocytární anémie**

Příčiny:

- Ztráta krve (GIT, menstruační krvácení)
- Narušení recyklování Fe – chronické infekce
- Příliš malý příjem Fe (nedostatečná výživa)
- Narušení resorpce Fe v důsledku
 - achlorhydrie (atrofická gastritida, gastrektomie)
 - Malabsorpce
- Zvýšená potřeba Fe (těhotenství, laktace)
- Defekt apotransferinu



Anémie z nedostatku železa



Hemolytické anémie

- **Korpuskulární HA** (flexibilita, osmotická a mechanická odolnost, redukční potenciál)
- **Extrakorpuskulární HA**

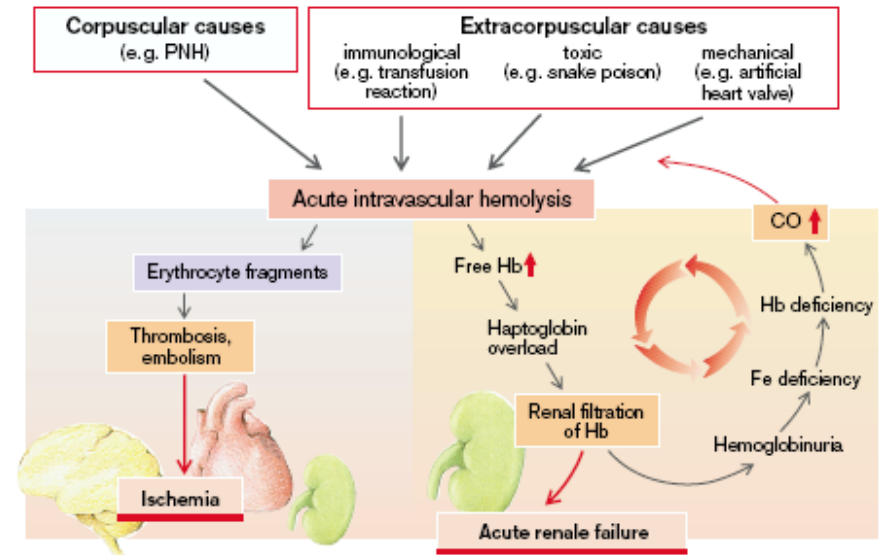
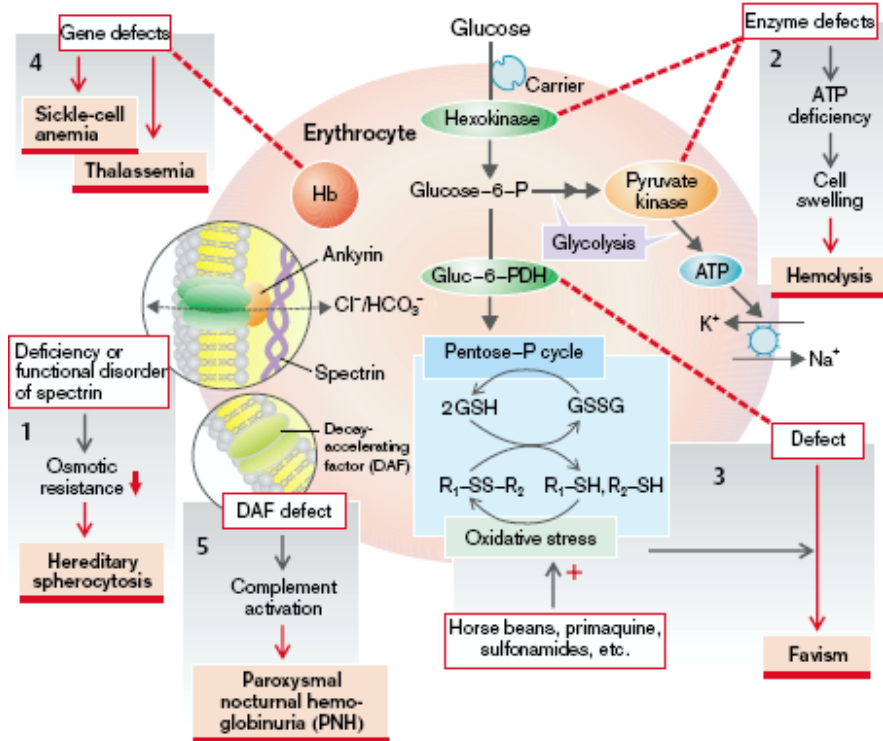
Příčiny korpuskulárních HA

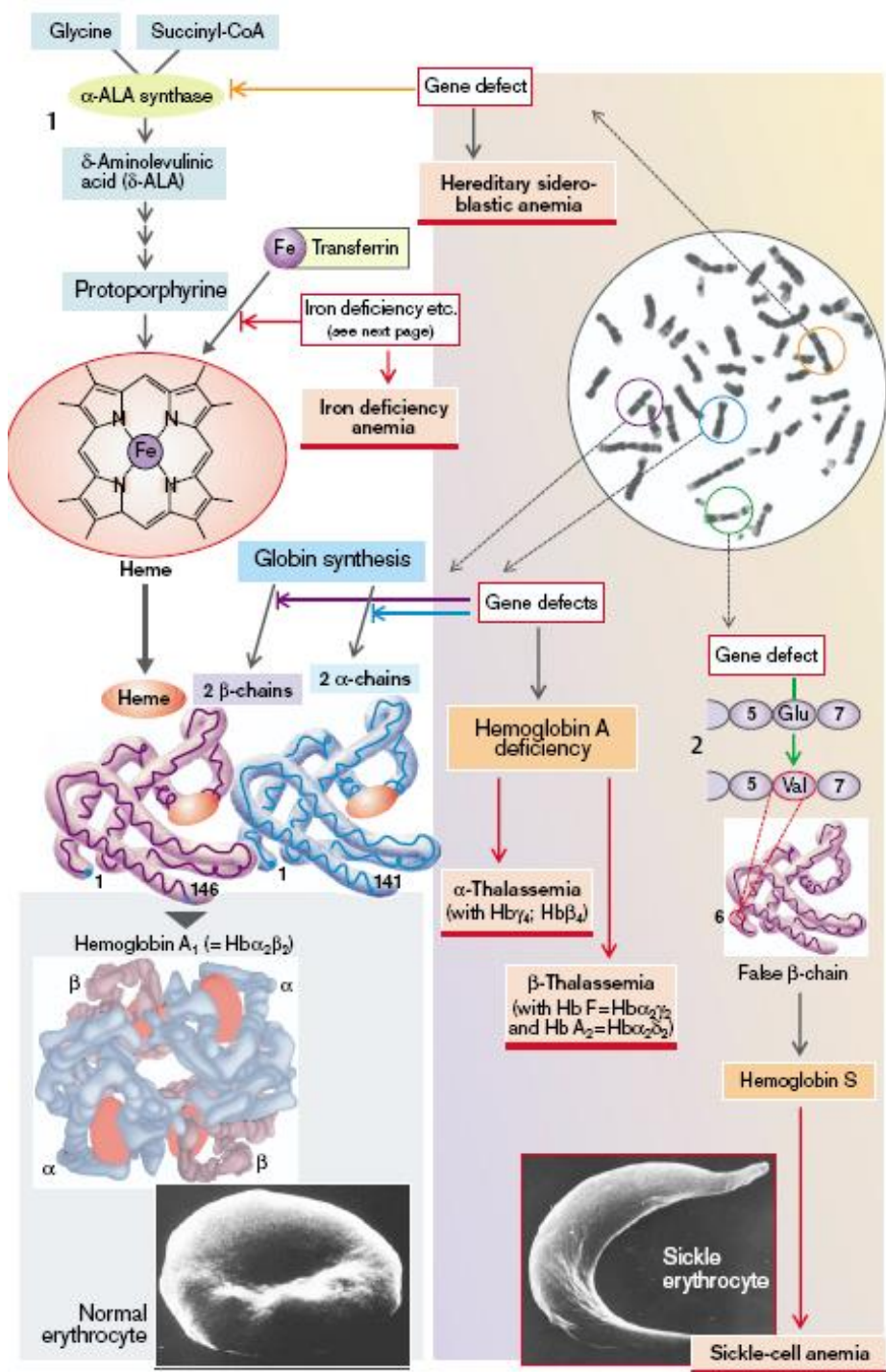
- **Vady membrány** (hereditární sférocytóza)
- **Enzymové defekty** (narušení metabolismu glc v erythrocytech)
 - Pyruvátkináza – vážne přísun ATP – inhibice Na/K ATPázy
 - Glu-6-PDH - (inhibice recyklace GSSG)
 - Hexokináza – vede k nedostatku ATP – GSH
- Srpkovitá anémie, talasémie
- PNH – defekt určitých membránových proteinů, které se účastní regulace komplementu; aktivace komplementu pak způsobí perforaci erythrocytární membrány

Příčiny extrakorpuskulárních HA

- **Mechanické faktory** – poškození ery při kolizi s umělými chlopněmi, cévními náhradami apod.
- **Imunologické příčiny** – chybná transfuze nebo při inkompatibilitě Rh mezi plodem a matkou
- **Toxiny** – určité hadí jedy

Hemolytické anémie





1. Hereditární sideroblastická anémie

- zvýšená tvorba meziproductů –
PORFYRIE

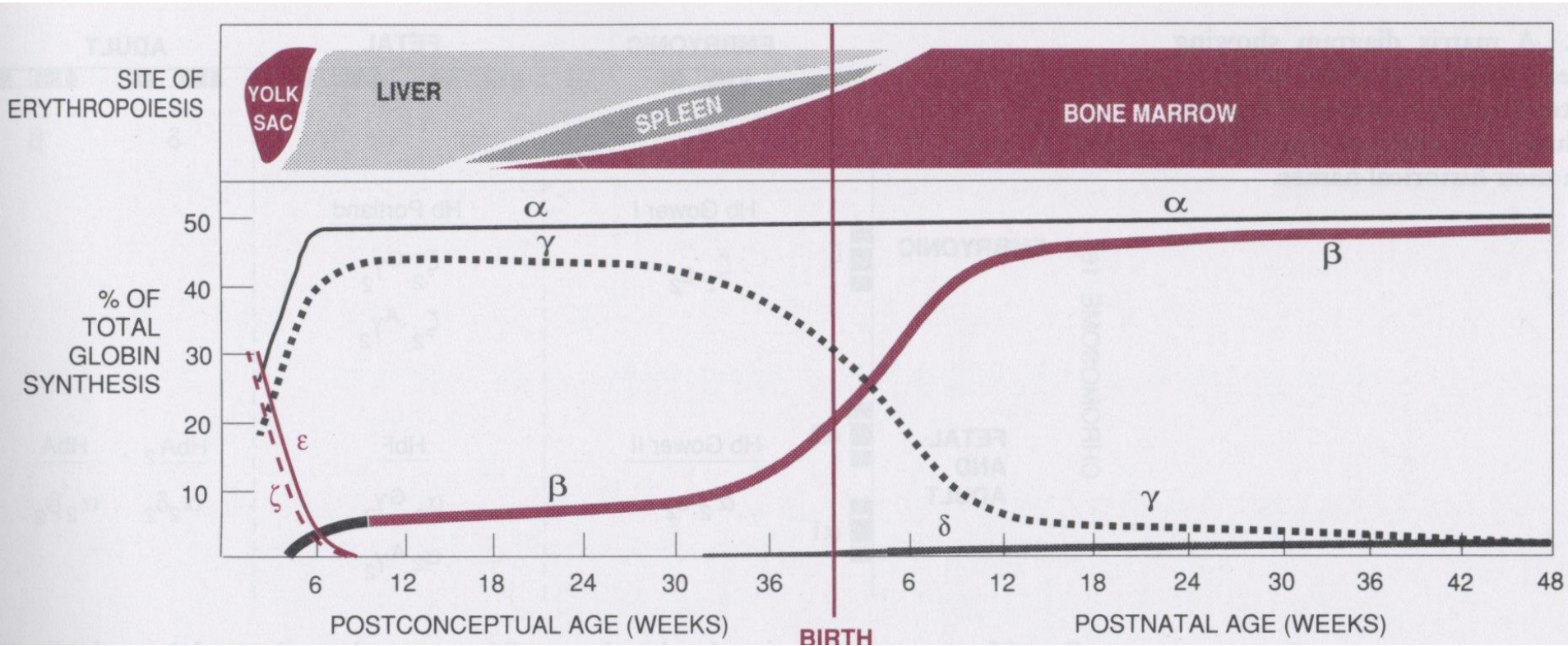
2. Srpkovitá anémie

Podstatou hereditárních sideroblastických anémií jsou enzymové defekty syntézy hemu.

Ty zmnožují nerozpustné nehemové železo v erytroblastech, vyvolávají mikrocytární anémii se sekundární hyperplazií erythropoezy.

Zvyšují tak resorpci železa s následnou hemochromatózou.

Erythropoéza během vývoje



Genetika hemoglobinu

- β 11p15.5 betaglobinový cluster
 - (beta, gama, delta, epsilon)
- $\alpha 1 + \alpha 2$ 16pter-p13.3 alfa globinový cluster
 - (alfa, dzeta)

CHROMOSOME 11

CHROMOSOME 16

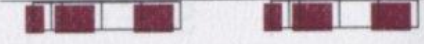
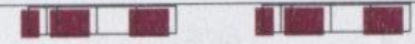
EMBRYONIC

FETAL AND ADULT

EMBRYONIC

FETAL

ADULT



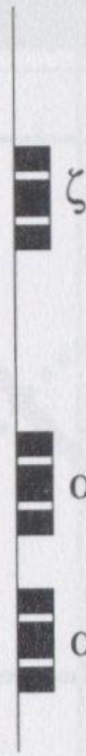
ϵ

$G\gamma$

$A\gamma$

δ

β

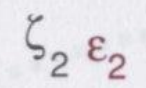


ζ

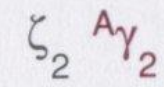
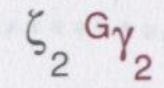
α_2

α_1

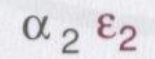
Hb Gower I



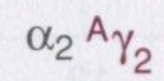
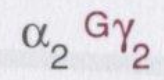
Hb Portland



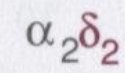
Hb Gower II



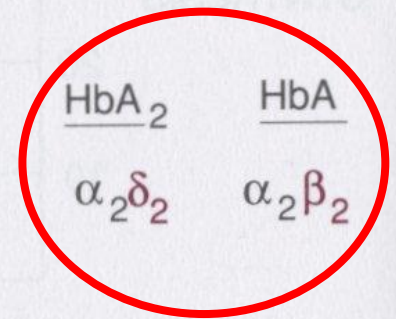
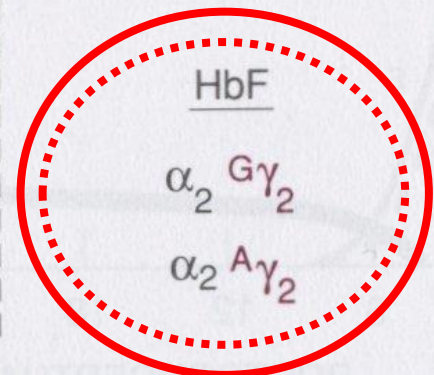
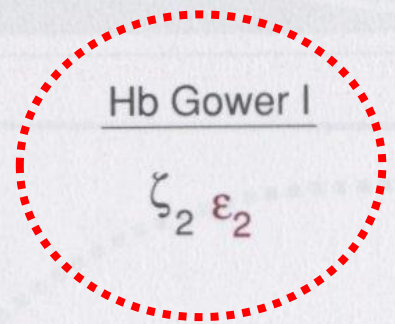
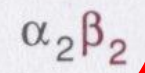
HbF



HbA₂



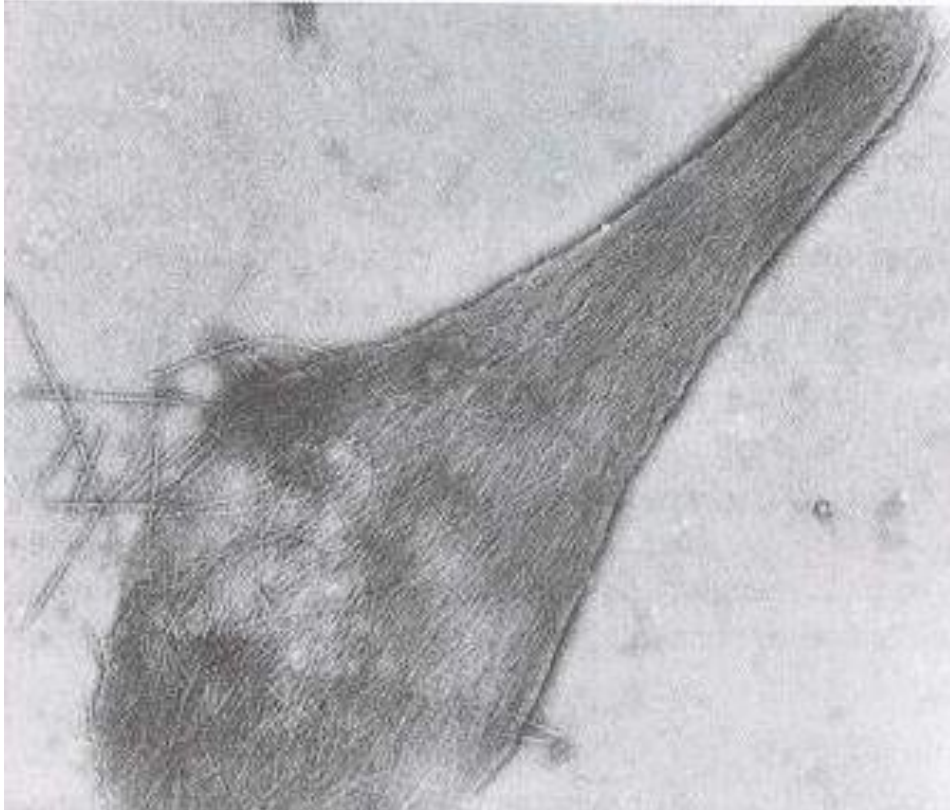
HbA



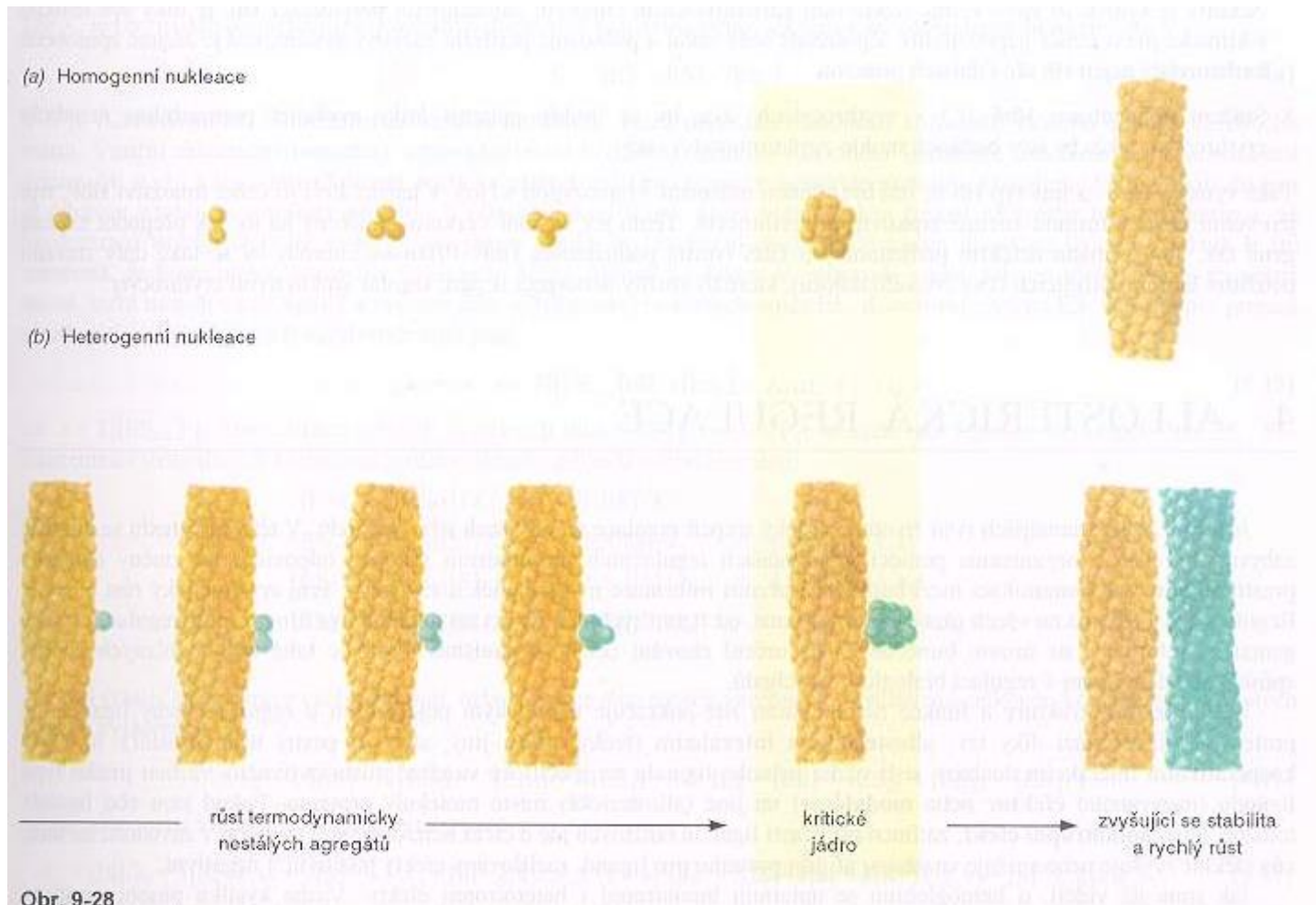
Srpkovitá anémie

- Mutace v kodonu kódujícím 6. aminokyselinu β globinového řetězce.
- Glu—val hemoglobin S
- Glu—lys hemoglobin C

Srpkovitá anémie



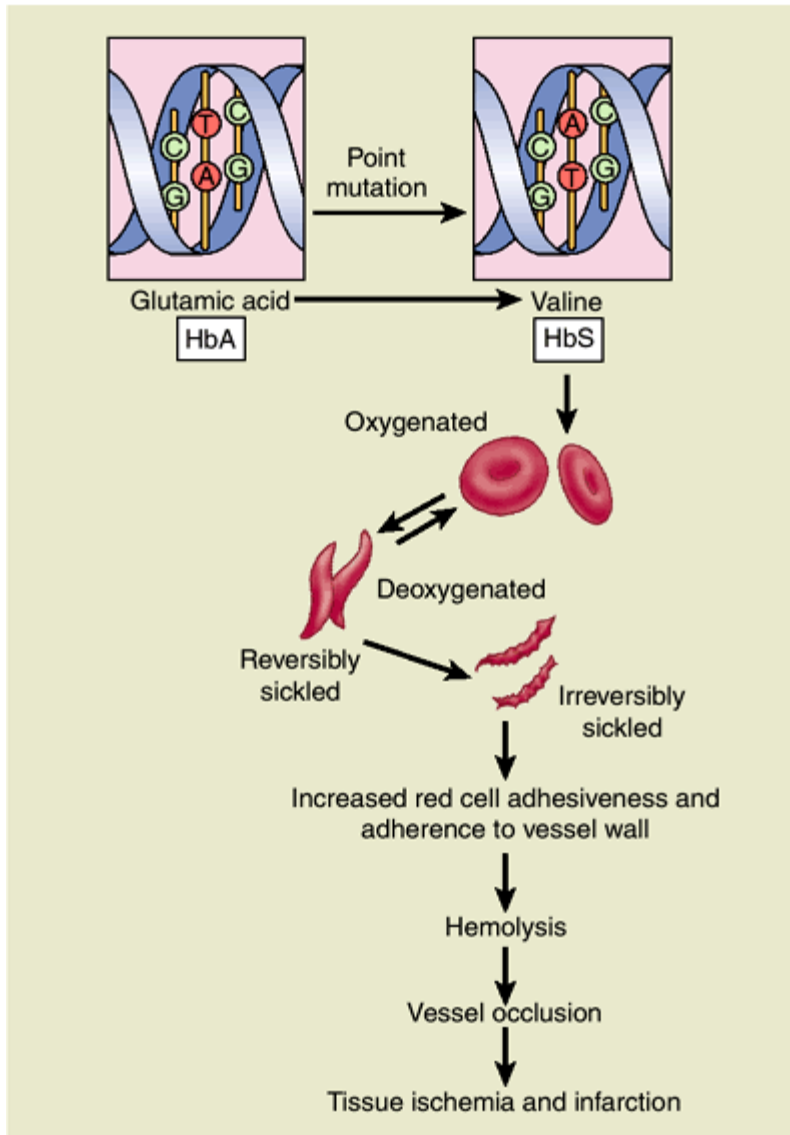
Srpkovitá anémie



Sickle cell disease

- Sickle cell disease is an inherited disease that is caused by the presence of an abnormal hemoglobin S (HbS), which upon deoxygenation transforms the erythrocyte into a sickle shape.
- HbS is transmitted by recessive inheritance and can manifest as sickle cell trait (i.e., heterozygote with one HbS gene) or sickle cell disease (i.e., homozygote with two HbS genes).
- Sickle cell disease affects approximately 50,000 (0.1% to 0.2%) African Americans, and about 10% of African Americans carry the trait.
- In parts of Africa, where malaria is endemic, the gene frequency approaches 30%, attributed to the slight protective effect it confers against *Plasmodium falciparum* malaria.

Mechanism of sickling and its consequences in sickle cell disease



There are two major consequences of red blood cell sickling:

- hemolysis of the sickled cells
- vessel occlusion

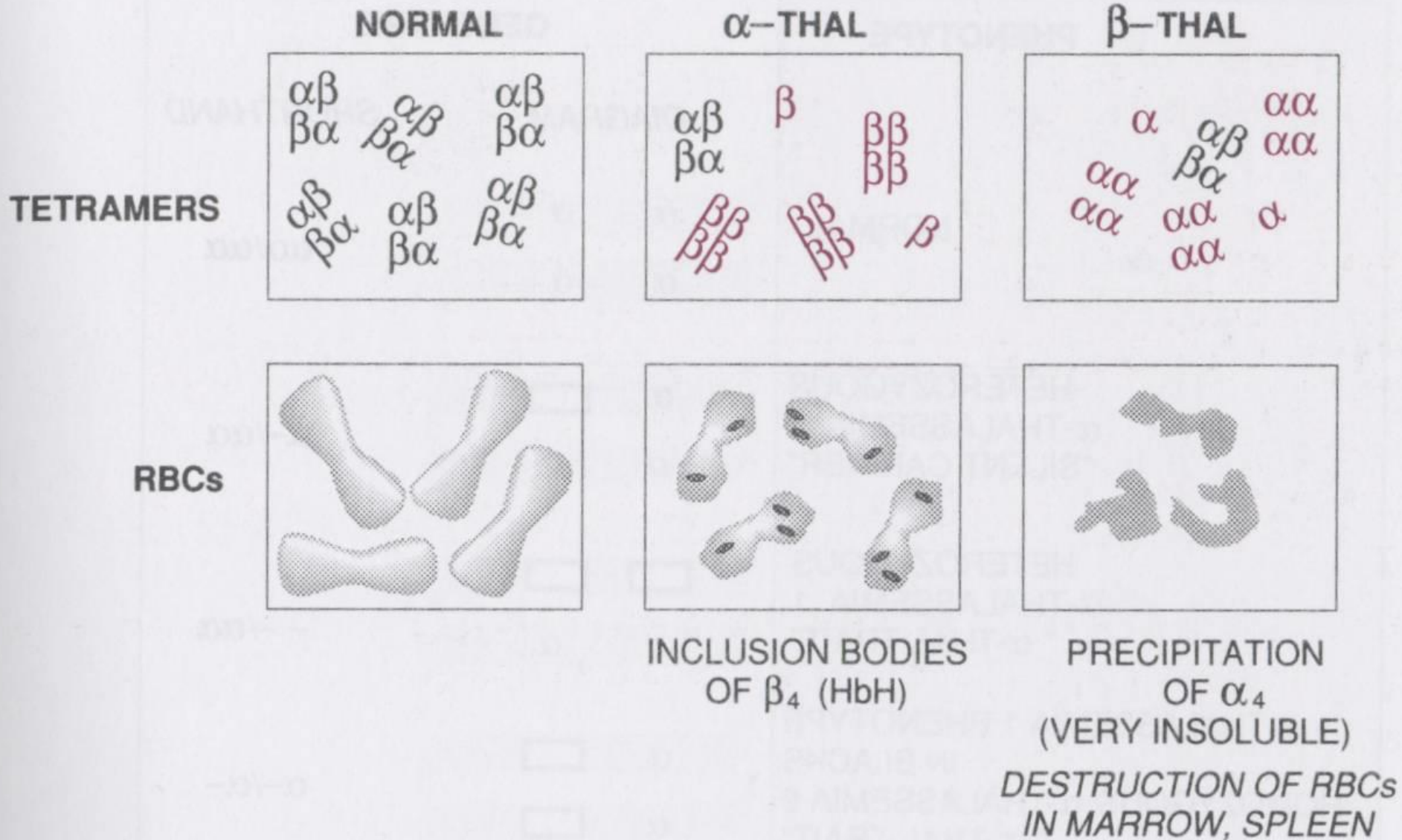
The increased rigidity of the sickled cells results in obstruction of the microcirculation and ischemic injury to many tissues.

The inflexibility of the sickled cells also makes them more susceptible to destruction (hemolysis) during circulation through the spleen. The sickled cells also demonstrate membrane changes, leading to increased adhesiveness and adherence, producing further complications of capillary blood flow.

Molekulárně biologická patogeneze thalasémií

- Pro pochopení molekulárně biologické etiopatogeneze thalasemií je nutná znalost organizace genů kódujících α řetězce a β řetězce hemoglobinu

Thalassémie



α thalasémie

- Způsobeny převážně delecemi genů pro alfa řetězec hemoglobinu
- Hemoglobin H (HbH) homotetramer beta řetězců

Příčiny

- Asymetrický crossing over
- Dlouhé delece obou alfa globinových genů
- Mutace vedoucí ke ztrátě funkčnosti genu

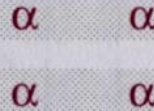
PHENOTYPE

GENOTYPE

DIAGRAM

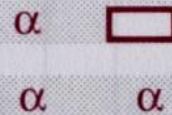
SHORTHAND

NORMAL



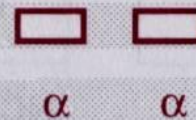
$\alpha\alpha/\alpha\alpha$

HETEROZYGOUS
 α -THALASSEMIA 2
"SILENT CARRIER"



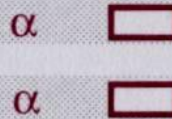
$\alpha-/ \alpha\alpha$

HETEROZYGOUS
 α -THALASSEMIA 1
" α -THAL TRAIT"



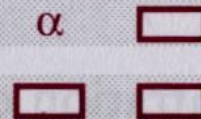
$--/ \alpha\alpha$

α -THALASSEMIA 1 PHENOTYPE
IN BLACKS
HOMOZYGOUS α -THALASSEMIA 2
" α -THAL TRAIT"



$\alpha-/ \alpha-$

HbH DISEASE
(HbH = β_4)



$\alpha-/ --$

HYDROPS FETALIS
with Hb BART'S (= γ_4)



$--/ --$

β thalasémie

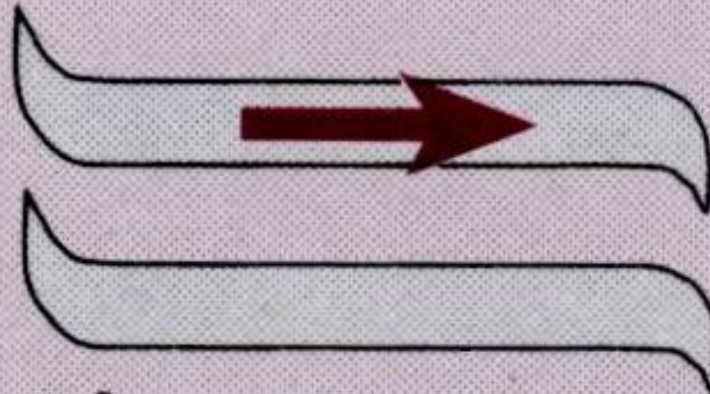
- Narušená syntéza beta řetězce
- Projevy závisí na míře produkce beta řetězců
- Způsobeno větším počtem možných mutací v genu pro beta řetězec
- Dědičnost autosomálně recesivní

PHENOTYPE

β - GENE GENOTYPE

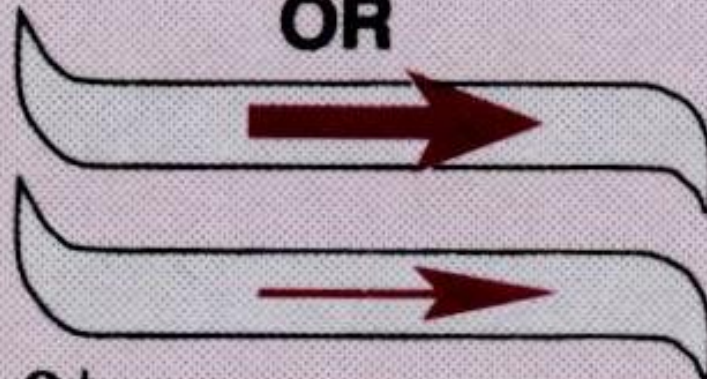
**THALASSEMIA
MINOR**

*ASYMPTOMATIC
HETEROZYGOTE*



β^0 HETEROZYGOTE

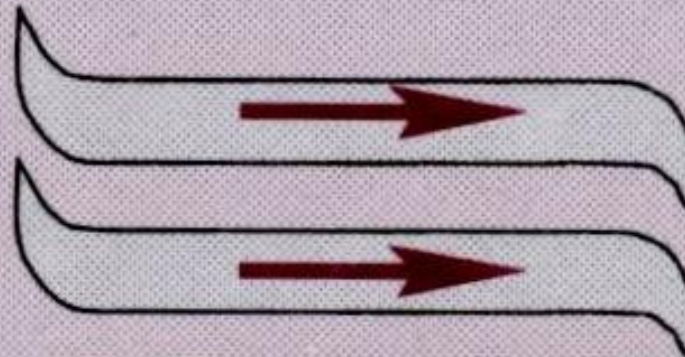
OR



β^+ HETEROZYGOTE

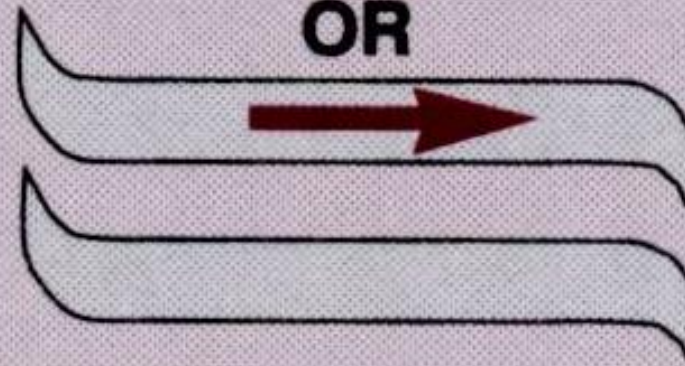
**THALASSEMIA
INTERMEDIA**

*SYMPTOMATIC,
BUT NOT
REQUIRING
TRANSFUSION*



TWO MILD ALLELES

OR



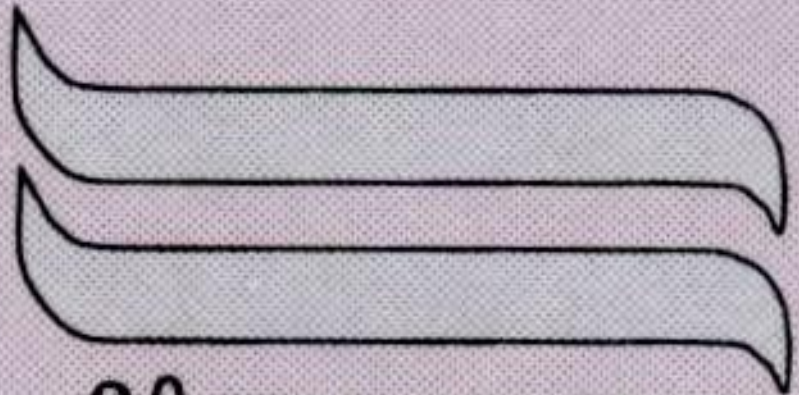
ONE VERY MILD ALLELE

OR

**CONCURRENT α -THAL
OR HPFH**

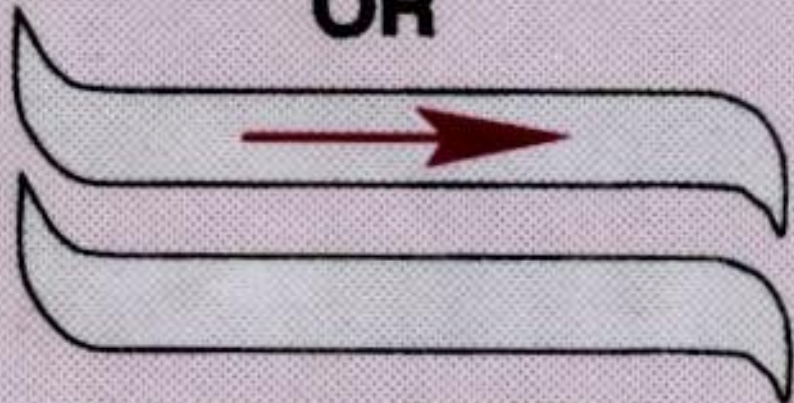
**THALASSEMIA
MAJOR**

*TRANSFUSION
DEPENDENT*



β^0 -THALASSEMIA

OR



β^+ -THALASSEMIA