

**MUNI
MED**

Fyziologie krve. Imunitní systém.

Úvod

- Krev
- Krevní plazma a proteiny krevní plazmy, viskozita
- Erytrocyty
- Leukocyty
- Trombocyty
- Hemostáza (fibrinolýza)
- Imunita (vrozená –buněčná a humorální; získaná – buněčná a humorální; očkování (imunizace – pasivní, aktivní)

Funkce krve

- Transportní funkce
- Homeostáza
- Obrana organismu
- Hemostáza
- Termoregulace
- Humorální řízení

Krevní plazma. Anorganické látky.

- **Na⁺** (137-147 mmol/l): udržení osmotického tlaku, objemu, pH
- **Cl⁻** (98-106 mmol/l): udržení osmotického tlaku, objemu, pH
- **K⁺** (3,8-5,1 mmol/l): činnost svalů (hl. myokardu)
- **Ca²⁺** (2,1-2,7mmol/l): nervová dráždivost, stažlivost svalu, srážení krve, propustnost membrán, mineralizace kostí
- **P** (0,65-1,62 mmol/l): regulace pH, mineralizace kostí
- **Mg²⁺** (0,75-1,25 mmol/l): aktivita enzymů, nervová dráždivost
- **HCO₃⁻** (25-34 mmol/l): transport CO₂, udržení pH
- **Fe** (16-25 μmol/l): součást hemoglobinu - transport plynů
- **I** (275-630 nmol/l): tvorba hormonů štítné žlázy

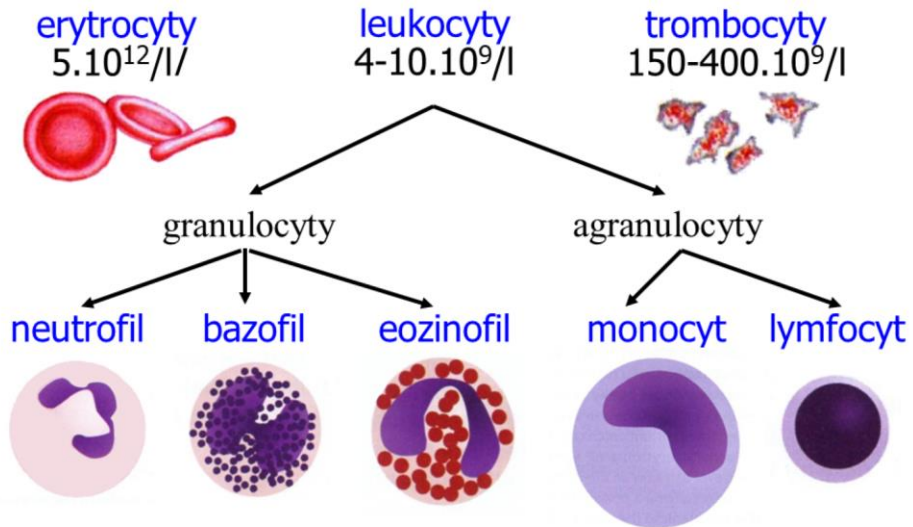
Krevní plazma. Organické látky

- Plazmatické proteiny 60-80 g/l
 - Albuminy (40-48 g/l): onkotický tlak, transport iontů, mastných kyselin, pigmentů, látek tělu cizích, hormonů
 - Globuliny (18-30 g/l)
 - α-globuliny: transport hormonů, kovů, vitamínů
 - β-globuliny: vazba hemu, vit. B12, železa, transport cholesterolu
 - γ-globuliny: protilátky, specifická imunita
 - Fibrinogen (3 g/l): srážení krve
- Tuky (4-10 g/l)
- Glukóza (4-5,5 mmol/l)
- Dusíkaté látky (0,2-0,4 g/l): močovina, bilirubin, aminokyseliny
- Hormony, vitamíny, enzymy, léky

Viskozita krve

- Viskozita neboli vazkost je veličina, která charakterizuje vnitřní tření tekutiny a závisí především na přitažlivých silách mezi částicemi
- **Fibrinogen** (Interakce s Ery, s LDL; hyperfibrinogenémie)
- **Hematokrit** (přímé a nepřímé interakce mezi Ery a mezi Ery a fibrinogenem)
- **Průměr cévy**
- **Rychlost proudění krve**
- **Teplota** (za fyziologických podmínek zanedbatelný parametr)

Formované krevní elementy



MUNI
MED

Formované krevní elementy

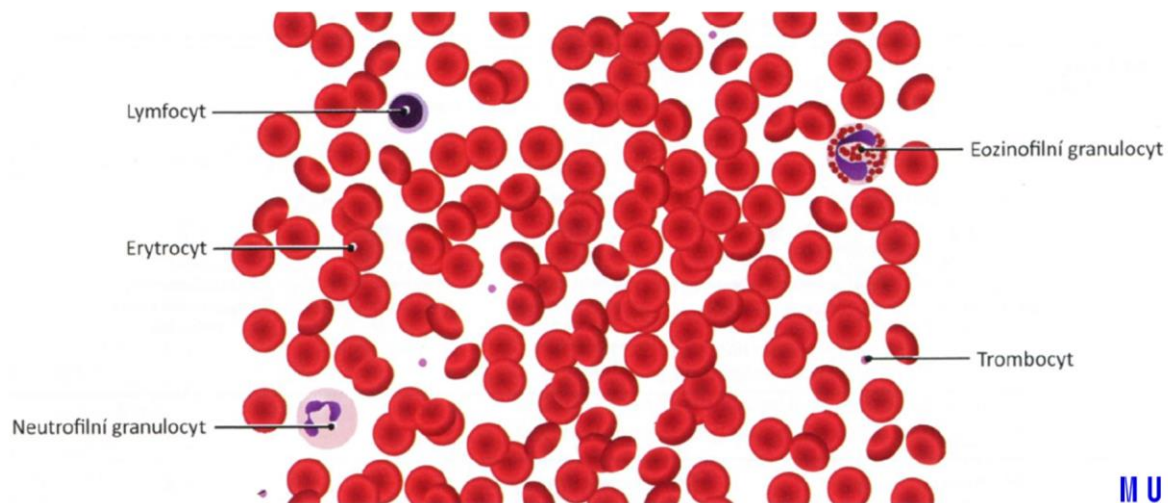
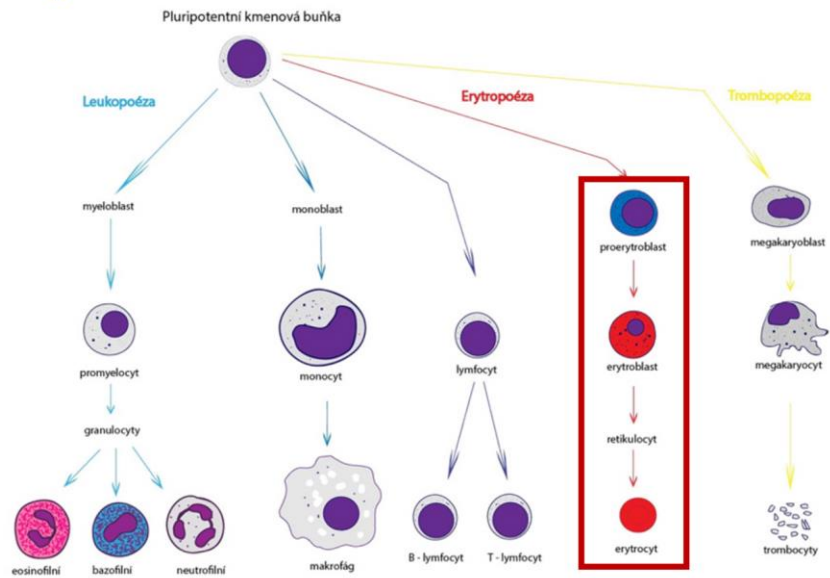


Schéma krevního nátěru

Hematopoéza



MUNI
MED

Erytropoéza

Ontogeneze

- 3. týden: žloutkový vak
- 6. týden: játra (tvorba v žloutkovém vaku zaniká)
- 12. týden: slezina
- 20. týden: kostní dřeň
- 32. týden: přesmyk z embryonálního hemoglobinu na HbF
- novorozenec: krvetvorba pouze v kostech, přesmyk HbF na dospělý hemoglobin HbA
- dospělý člověk: krvetvorba v hrudní kosti, obratlech, žebrech, v klíční kosti, v pánevních kostech, v plochých lebečních kostech, v proximálních epifýzách některých dlouhých kostí

MUNI
MED

Erytropoéza

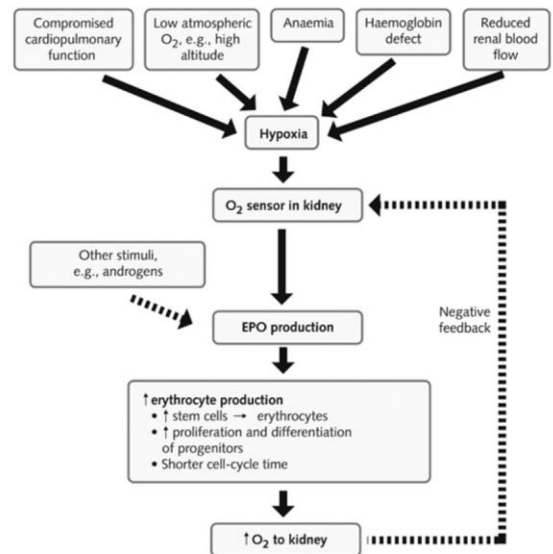
– Erythropoetin - tvorba v ledvinách

- působí na citlivé determinované progenitorové buňky v kostní dřeni
- stimuluje syntézu nukleových kyselin
- aktivuje geny potřebné k syntéze hemoglobinu
- zvyšuje příjem Fe

– Látky potřebné pro tvorbu erytrocytů

- aminokyseliny: bílkovinná část hemoglobinu
- železo: vazba kyslíku na hemoglobin a myoglobin
- vitamín B12: důležitý pro syntézu DNA
- kyselina listová: důležitý pro syntézu DNA

- * – androgeny ↑ erytropoézu
- hormony štítné žlázy ↑ erytropoézu
- růstový hormon ↑ erytropoézu
- hormony kůry nadledvin ↑ erytropoézu
- prostaglandin E ↑ produkci erythropoetinu v ledvinách



Erytropoéza je proces tvorby erytrocytů, který probíhá převážně v kostní dřeni.

1. Stimulus pro erytropoézu: Pokles hladiny kyslíku (hypoxie) v těle stimuluje produkci erythropoetinu (EPO) v ledvinách.

2. HIF (hypoxický indukovatelný faktor): Hypoxický indukovatelný faktor (HIF) je transkripční faktor, který hraje klíčovou roli v regulaci buněčné odpovědi na hypoxii, tedy na nízkou hladinu kyslíku v prostředí. Jeho hlavní funkce a mechanismus působení zahrnují následující aspekty:

1. Stabilizace a aktivace HIF

• **Normální podmínky:** V přítomnosti dostatečného množství kyslíku je HIF hydroxylačně destabilizován pomocí enzymů zvaných hydroxylázy (např. prolylhydroxyláza). To vede k jeho degradaci v proteazomech.

• **Hypoxie:** Při nízké hladině kyslíku se aktivita hydroxyláz snižuje, což umožňuje HIF stabilizaci. Stabilizovaný HIF se dimerizuje s HIF-β (ARNT) a vytváří aktivní komplex.

2. Transkripční aktivita

• **Cílové geny:** Aktivovaný HIF se váže na specifické sekvence DNA v promotorových oblastech genů, které regulují různé biologické procesy. Mezi tyto geny patří:

- **Erythropoetin (EPO):** Zvyšuje produkci červených krvinek.

- **Vaskulární endoteliální růstový faktor (VEGF):** Podporuje angiogenezi (tvorbu nových cév).
- **Glukózový transporter (GLUT1):** Zvyšuje příjem glukózy.

3. Odpověď na hypoxii

- **Zvýšení EPO:** EPO zvyšuje erytropoézu v kostní dřeni, což zvyšuje počet červených krvinek a zlepšuje transport kyslíku.
- **Angiogeneze:** VEGF podporuje tvorbu nových cév, což zajišťuje lepší prokrvení a přísun kyslíku do tkání.
- **Metabolické přizpůsobení:** HIF ovlivňuje metabolismus buněk, podporuje anaerobní glykolýzu a snižuje oxidační metabolismus, což je výhodné při nedostatku kyslíku.

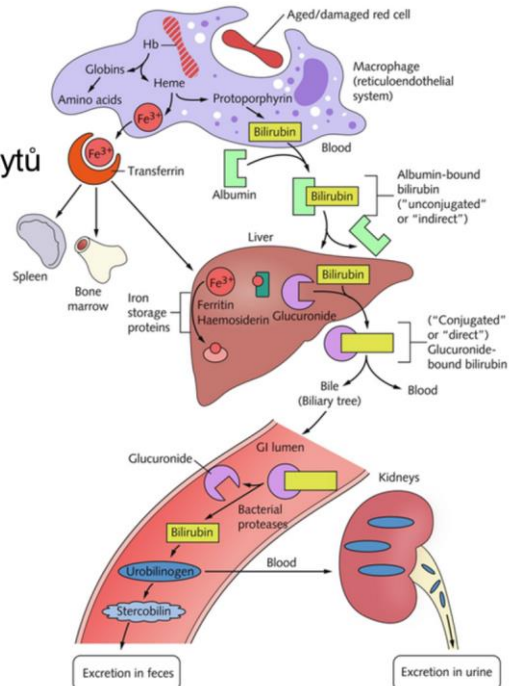
Hlavní kroky erytropoézy:

1. **Proerytroblast:** Nejranější stádium vývoje erytrocytů.
2. **Erytroblast:** Prekurzory, které ztrácejí jádro a začínají syntetizovat hemoglobin.
3. **Retikulocyt:** Mladé červené krvinky, které se uvolňují do krevního oběhu.
4. **Erytrocyt:** Zralé červené krvinky, které transportují kyslík.

Erytropoéza probíhá především v červené kostní dřeni, a to jak u dospělých, tak u dětí (u nich i v játrech a slezině). Tato regulace je důležitá pro udržení adekvátního množství červených krvinek a kyslíkové kapacity krve.

Zánik červených krvinek

- Slezina: fagocytóza starých a poškozených erytrocytů
- Hemoglobin=globin+hem
- Globin – aminokyseliny
- Hem=CO₂+Fe+biliverdin
- Fe – syntéza dalšího hemoglobinu



1. Životní cyklus erytrocytů

•Erytrocyty mají průměrnou životnost přibližně 120 dní. Po uplynutí této doby ztrácejí schopnost efektivně transportovat kyslík a stávají se náchylnými k poškození.

2. Identifikace a odstranění

•**Slezina:** Slezina hraje hlavní roli v odstraňování starých nebo poškozených erytrocytů. Speciální buňky (makrofágy) detekují změny v membráně červených krvinek, jako je ztlustění nebo oxidace lipidů, a iniciují jejich odstranění.

•**Játra:** I když je slezina hlavním místem, játra také podílejí na procesu odstranění erytrocytů, zejména v případě, že je slezina nefunkční.

3. Degradace hemoglobinu

•**Rozklad hemoglobinu:** Když jsou erytrocyty zničeny, hemoglobin se uvolňuje a štěpí na dvě hlavní složky: globin (bílkovinná část) a heme (železo obsahující porfyrin).

•**Metabolismus heme:** Heme se přeměňuje na bilirubin v makrofázích sleziny a jater. Tento proces zahrnuje enzymy, jako je heme oxygenáza, která rozkládá heme na biliverdin (zelený pigment) a poté na bilirubin.

Transport bilirubinu

•**Nepřímý (volný) bilirubin:** Po vzniku se bilirubin váže na albumin v krvi, což zvyšuje jeho rozpustnost a usnadňuje transport do jater. Tento typ bilirubinu je lipofilní (rozpustný v tucích) a nemůže být vylučován močí.

Metabolismus v játrech

•**Ukončení metabolismu:** V játrech se bilirubin přeměňuje na konjugovaný bilirubin (přímý bilirubin) pomocí enzymu UDP-glukuronyltransferázy, který přidává kyselinu glukuronovou. Tato konjugace zvyšuje vodní rozpustnost bilirubinu.

•**Konjugovaný bilirubin:** Tento typ bilirubinu je vodou rozpustný a může být vylučován do žluči.

Vylučování bilirubinu

•**Žluč:** Konjugovaný bilirubin je vylučován do žluči a poté do střev, kde se podílí na trávení tuků.

•**Střevní metabolismus:** V tlustém střevě se bilirubin metabolizuje na urobilinogen a stercobilin. Urobilinogen může být reabsorbován a vylučován močí jako urobilin, což dává moči její žlutou barvu. Stercobilin je zodpovědný za hnědou barvu stolice.

4. Regulace zániku erytrocytů

•**Homeostáza:** Tělo reguluje množství nově vytvářených erytrocytů v kostní dřeni na základě potřeby a zániku starých červených krvinek, což zajišťuje stabilní hladinu červených krvinek v oběhu.

Červená krvinka (erytrocyt)

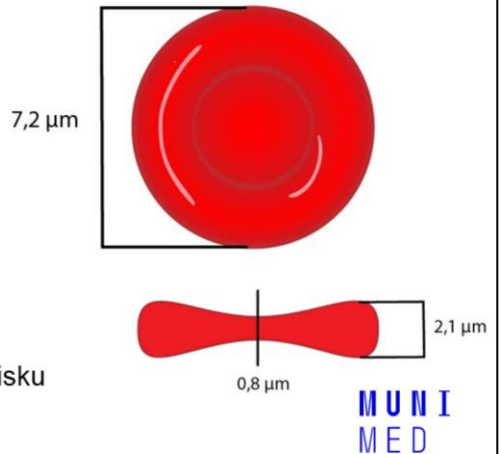
– Bezjaderná buňka, hlavní část formované složky krve

– Tvar:

- bikonkávní disk - tvar zvětšuje povrch asi o 30%
- tvar zajišťuje protein spektrin
- plasticita tvaru důležitá pro vstup úzkými kapilárami

– Velikost:

- Normocyt: 7,2 μm
- Mikrocyt (-oza): $\leq 7 \mu\text{m}$
- Makrocyt (-oza): $\geq 9 \mu\text{m}$
- Megalocyt: $\geq 20 \mu\text{m}$
- Tloušťka cca 2,5 μm na periferii a cca 1 μm ve středu disku
- *Anisocytóza



Červená krvinka (erytrocyt)

- Fyziologické rozmezí erytrocytů:
 - ♂: $4,3-5,3 * 10^{12} / l$
 - ♀: $3,8-4,8 * 10^{12} / l$
 - Novorozenec: $4,4-7 * 10^{12} / l$
- Stanovení počtu červených krvinek
- Automatické metody
 - Impedanční
 - Fotooptická
- Klasická metoda
 - Bürkerova komůrka + Hayemův roztok



MUNI
MED

Funkce Ery

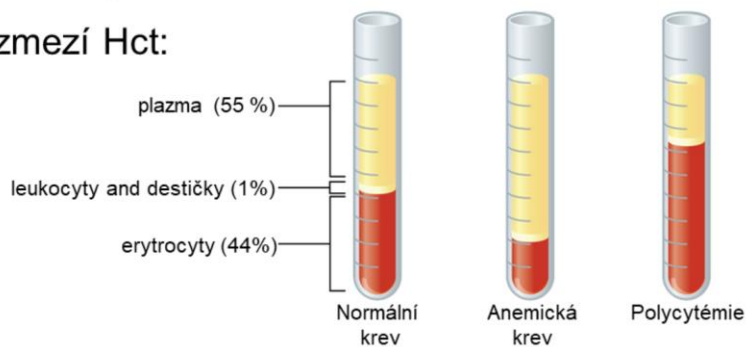
- Přenos dýchacích plynů**
- Pufrovací systém**
- Udržování viskozity krve**

Hematokrit (Hct)

- Vyjadřuje procentuální zastoupení objemu erytrocytů v plné krvi
- Zjišťujeme po centrifugaci nesrážlivé krve*

- Fyziologické rozmezí Hct:

- ♂: 42-52%
- ♀: 37-47%



*centrifugací srážlivé krve po odstranění krevního koagula získáme krevní sérum (od plazmy se liší chyběním koagulačních faktorů)

MUNI
MED

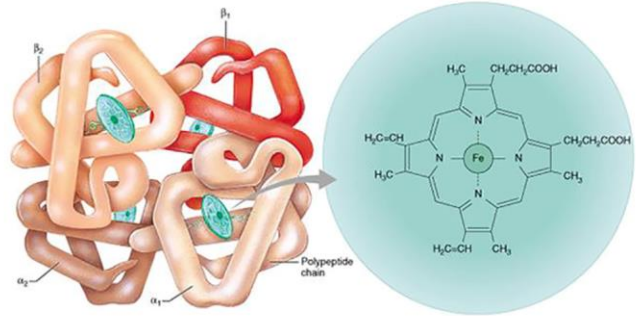
Hemoglobin (Hb)

– Embryo: $\epsilon 4$ nebo $\alpha 2\epsilon 2$

– Plod: Hb \underline{E} $\alpha 2\gamma 2$

– Dospělý: Hb \underline{A} $\alpha 2\beta 2$

Hb \underline{A}_2 $\alpha 2\delta 2$



– Oxyhemoglobin: vazba O_2 na Fe^{2+} v hemu

– Karbaminohemoglobin: vazba CO_2 na NH_2 konce bílkoviny

– Karboxyhemoglobin: vazba CO na Fe^{2+} v hemu

– Methemoglobin: hem s Fe^{3+} - nemůže vázat O_2

MUNI
MED

Hemoglobin je železo obsahující bílkovina, která se nachází v červených krvinkách a je klíčová pro přenos kyslíku v těle. Jeho hlavní funkcí je vázat kyslík v plicích a přenášet ho do tkání a orgánů, kde ho uvolňuje, a zároveň přebírat oxid uhličitý, který je následně transportován zpět do plic, aby byl vydechnut.

Struktura hemoglobinu:

Hemoglobin se skládá ze čtyř podjednotek, z nichž každá obsahuje:

1. Globinová část – proteinová část.

2. Hém – neproteinová část obsahující železo, na které se váže kyslík.

Každá molekula hemoglobinu může vázat až čtyři molekuly kyslíku, což umožňuje efektivní transport kyslíku krví.

Typy hemoglobinu:

• **HbA (dospělý hemoglobin)** – převládající forma hemoglobinu u dospělých.

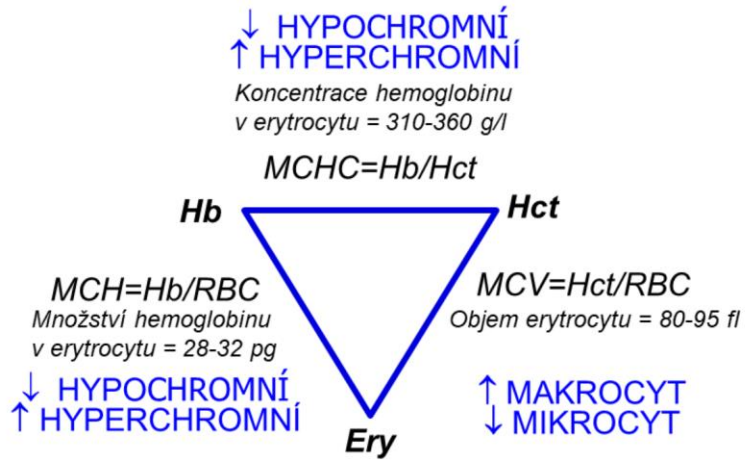
• **HbF (fetální hemoglobin)** – forma přítomná u plodu, která má vyšší afinitu ke kyslíku, což umožňuje efektivnější přenos kyslíku z matky na plod.

Hladina hemoglobinu:

Normální hladiny hemoglobinu se liší v závislosti na věku, pohlaví a dalších faktorech:

- U mužů: 130–170 g/l
- U žen: 120–160 g/l
- U dětí se hladiny liší v závislosti na věku.

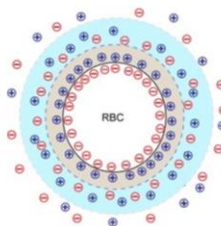
Vypočítané hodnoty červené složky



MUNI
MED

Sedimentace erytrocytů

- Rychlost poklesu krvinek v nesrážlivé krvi
- Helmholtzova elektrická dvojvrstva
- Sedimentační rychlost je nepřímo úměrná suspenzní stabilitě krve
- Fyziologické hodnoty
 - ♂: 2-8 mm/h
 - ♀: 7-12 mm/h
 - Novorozenci: 2 mm/h
 - Kojenci: 4-8 mm/h



MUNI
MED

Helmholtzova dvojvrstva erytrocytů:

Povrch erytrocytů je nabitý záporně kvůli fosfolipidům a specifickým bílkovinám, které jsou součástí jejich membrány (zejména **kyselina sialová**). Když se erytrocyty nacházejí v prostředí krevní plazmy, která je roztokem obsahujícím různé ionty (např. sodík, draslík, chlorid), dochází k vytvoření dvojvrstvy podobné Helmholtzově dvojvrstvě.

Tato dvojvrstva by se mohla skládat z:

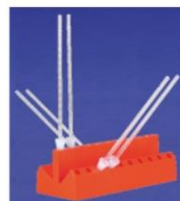
1. Vnitřní vrstvy (povrch erytrocytu) – povrch erytrocytu je záporně nabitý kvůli specifickým molekulám na membráně, což přitahuje kladně nabité ionty (např. ionty sodíku) z okolního prostředí.

2. Vnější vrstvy (difúzní vrstva) – tato vrstva je tvořena ionty z plazmy, které kompenzují záporný náboj povrchu erytrocytů. Ionty jsou v této vrstvě uspořádány méně pevně než v první vrstvě a jejich koncentrace klesá s rostoucí vzdáleností od buněčné membrány.

Sedimentace erytrocytů

– Metody vyšetření sedimentační rychlosti:

- dle Fahraeus-Westergrena(FW, přímá metoda):
kapilára postavená kolmo
odečítá se po 1 hodině
- dle Wintroba(šikmá sedimentace):
kapilára sešikmená pod úhlem 45°
odečítá se po 15 minutách



– Faktory, ovlivňující sedimentaci:

- Množství Ery
- Rozměr Ery
- Přítomnost bílkovin
- pH
- Tuky, cholesterol

Vliv na rychlost sedimentace	↑ hodnota	↓ hodnota
Erytrocyty		
Počet ery	zpomaluje	zrychluje
Velikost ery	zrychluje	zpomaluje
Plazma		
Albumin	zpomaluje	zrychluje
Imunoglobuliny	zrychluje	zpomaluje
Fibrinogen	zrychluje	zpomaluje
Tuk	zrychluje	zpomaluje

MUNI
MED

Hemolýza

- Rozpad červených krvinek
- Fyzikální
 - Mechanické poškození membrány, třepání, ultrazvuk, extrémní změny teplot, UV záření
- Osmotická
 - Ery v hypotonickém roztoku nasává vodu a praská
- Chemická
 - Chemická reakce lipidů v membráně s chemickou látkou –silné kyseliny a zásady, tuková rozpouštědla, povrchově aktivní látky (detergenty)
- Toxická
 - Bakteriální toxiny, jedy (rostlinné, hadí, hmyzí, pavoučí,...), paraziti (Plasmodium spp. -malárie)
- Imunologická
 - Transfúze nekompatibilní krve -imunitní systém hemolyzuje erythrocyty (komplementem)

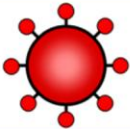
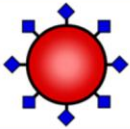
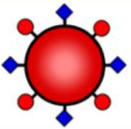
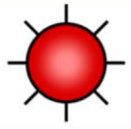





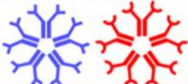


MUNI
MED

System AB0

– Antigen na povrchu erytrocytu (aglutinogen): A, B

– Protilátka v krvi (aglutinin): anti-A, anti-B (IgM)

Krevní skupiny	Skupina A	Skupina B	Skupina AB	Skupina 0
Zastoupení v ČR	41%	18%	9%	32%
Erytrocyty				
Antigeny na erytrocytech	A 	B 	A a B 	žádné
Protilátky v krvi	anti-B 	anti-A 	žádné	anti-A a anti-B 

MUNI
MED

System AB0

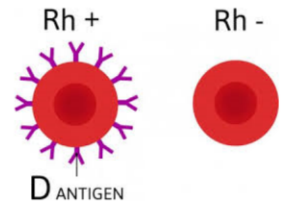
		0 (-, anti AB)	A (A, anti B)	B (B, anti A)	AB (AB,-)
ERY	0 (-)	✓	✓	✓	✓
	A (A)	-	✓	-	✓
	B (B)	-	-	✓	✓
	AB (AB)	-	-	-	✓
Plazma	0(anti AB)	✓	-	-	-
	A(anti B)	✓	✓	-	-
	B(anti A)	✓	-	✓	-
	AB(-)	✓	✓	✓	✓

System Rh

- Antigeny D, d (také C, c, E, e, které jsou slabší) - přítomné jen na erythrocytech → Rh⁺ (83%)
- u Rh⁻ krve vznikají protilátky (anti-D, IgG) až po imunizaci

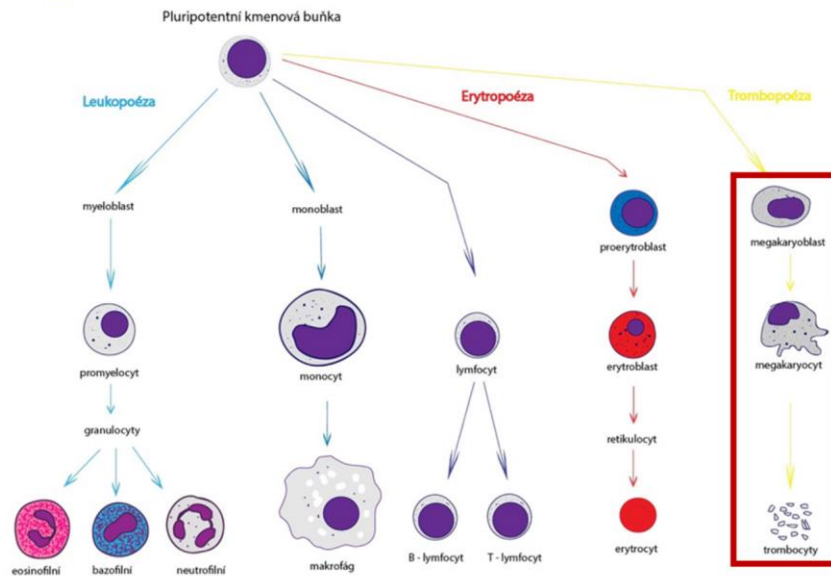
~~I. Rh⁻ + Rh⁺ => N~~ ← Anti-D

~~II. Rh⁻ + Rh⁺ => hemolýza~~



MUNI
MED

Hematopoéza



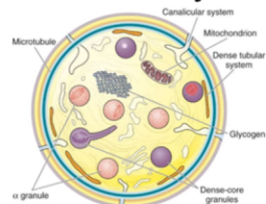
MUNI
MED

Krevní destičky (trombocyty)

– Bezjaderné, bezbarvé, granulované, nejmenší formované elementy krevní

– Tvar:

- hladké, okrouhlé disky
- tvar udržován cytoskeletem
- membrána: obsahuje receptory pro přilnutí na vhodné povrchy
- cytoplasma: obsahuje aktin, myosin, glykogen, lysozomy a
- granula: *denzní granula* (neproteinové substance –serotonin, ADP, adenonukleotidy) a *agranula* (proteinový obsah: faktory srážení, destičkový růstový faktor)



– Velikost: 2 –4 mm průměr, 0,5 –1 mm tloušťka

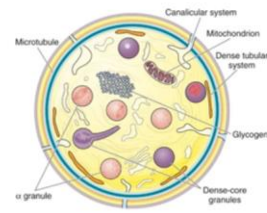
– Počet: 200 000 –500 000 v ml, z toho třetina ve slezině a dvě třetiny v cirkulaci

– Produkce vazokonstrikčních látek (serotonin, thromboxan A)

MUNI
MED

Krevní destičky (trombocyty)

- Funkce:
- Nепroteinové substance – serotonin, ADP, thromboxan A – vazokonstrikce
- Proteinové substance – faktory srážení krve
- Prezentace antigenů



Hemostáza (zástava krvácení)

- Cévy – vazokonstrikce (zúžení) v místě poškození
- Trombocyty – dočasná zátka (bílý trombus), postupně zpevňován vlákny fibrinu, pak se nalepují i erytrocyty
- Tvorba definitivního trombu (červený trombus)

MUNI
MED

Vazokonstrikce: Po poranění cévy se spouští reflexní vazokonstrikce, což zúží cévu a sníží prokrvení.

Adheze trombocytů: Trombocyty se vážou na exponované kolagenní vlákna v místě poranění. Tento proces je zprostředkován von Willebrandovým faktorem (vWF), který se váže na kolagen a trombocyty.

Aktivace trombocytů: Po adhezi se trombocyty aktivují, mění svůj tvar (z kulatého na hvězdicový) a začínají uvolňovat různé látky (ADP, tromboxan A₂), které podporují další adhezi a agregaci.

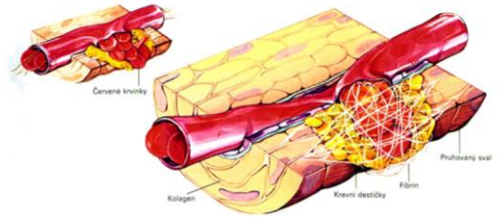
Agregace trombocytů: Aktivované trombocyty se spojují dohromady, čímž vytvářejí primární zátku, která uzavírá poškozenou cévu.

Srážení krve - hemokoagulace

- Složitý řetězec enzymových reakcí, na kterých se podílí látky uvolňující se z krevní plazmy, z trombocytů a cévní stěny
- Sérum - plazma bez faktorů, které se spotřebovaly při srážení krve
- Látky důležité pro koagulaci:
 - Vitamín K
 - Ca^{2+}
- Důležité látky bránící koagulaci:
 - Tělu vlastní – plazmin, heparin
 - Tělu cizí - látky blokující funkci vitamínu K(Warfarin)
 - látky vyvazující Ca^{2+} (pouze ve zkumavce)

Hemokoagulace

- navazuje na primární hemostázu
- účastní se jí faktory krevního srážení
- dnes dva náhledy:
 - bílkovinný model
 - **buněčný model**
- výsledek je vznik fibrinu a následně definitivního trombu



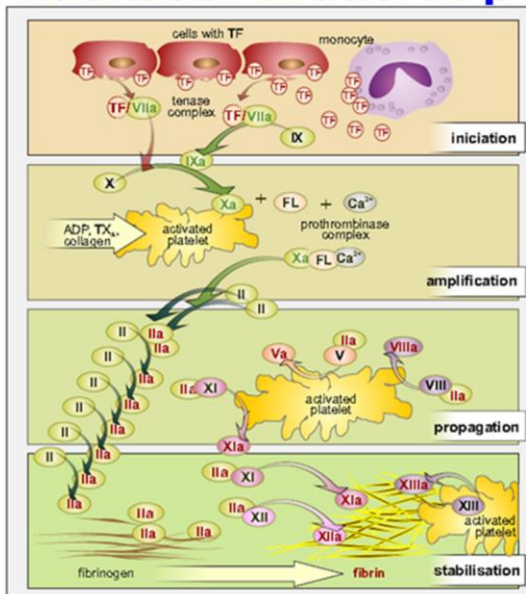
Prokoagulační faktory

- **I**: fibrinogen
- **II**: protrombin
- **III**: tromboplastin, trombokináza
- **IV**: ionty vápníku
- **V**: proakcelerin
- **VII**: prokonvertin
- **VIII**: antihemofilní faktor A
- **IX**: antihemofilní faktor B
- **X**: Stuart – Prower faktor
- **XI**: antihemofilní faktor C
- **XII**: Hageman faktor
- **XIII**: faktor stabilizující fibrin
- **HMW-K**: Fitzgerald faktor
- **Pre-K**: prekallikrein
- **Ka**: kallikrein
- **PL**: destičkové fosfolipidy

Koagulační kaskáda. Moderní pojetí.

- Iniclace
- Amplifikace
- Propagace
- Stabilizace trombu

Koagulační kaskáda. Moderní pojetí.



MUNI
MED

33

Buněčný model krevního srážení, známý také jako **FAZR model** (zkratka z anglických fází: **F**ormation, **A**mplification, **Z**onation, **R**estriction), představuje moderní pohled na hemostázu, tedy na proces zastavení krvácení prostřednictvím tvorby krevní sraženiny.

FAZR model zahrnuje čtyři hlavní fáze:

1. Formation/Iniciation (Tvorba)

Tato fáze zahrnuje primární odpověď cévního systému na poranění. Proces začíná:

- Cévní poranění:** Po poranění cévní stěny dochází k expozici podkladového kolagenu a subendoteliálních struktur.
- Adheze trombocytů:** Trombocyty (destičky) se okamžitě vážou na expozovaný kolagen přes specifické receptory, jako je **glykoprotein Ib** a **fibrinogenový receptor** (GPIIb/IIIa).
- Iniciace srážení:** Expozice tkáňového faktoru (TF) na poškozené buněčné povrchy spouští extrinzickou dráhu koagulace. Tkáňový faktor aktivuje **faktor VIIa**, což vede ke spuštění koagulační kaskády a produkci malého množství trombinu.

2. Amplification (Amplifikace)

V této fázi dochází k výraznému zesílení koagulačního procesu, aby byl

zajištěn dostatek trombinu pro efektivní tvorbu fibrinu:

- Aktivace trombocytů:** Malé množství trombinu vytvořené v první fázi aktivuje trombocyty. Aktivované trombocyty uvolňují látky, jako je **adenosin difosfát (ADP)** a **thromboxan A₂**, které dále stimulují další destičky k hromadění na místě poranění.

- Aktivace faktorů V a VIII:** Trombocytový povrch poskytuje prostředí, kde se aktivují klíčové koagulační faktory (faktor V a faktor VIII), čímž se zvýší produkce trombinu.

3. Zonation (Zonace)

Tato fáze představuje organizaci sraženiny na buněčné úrovni. Dochází k tomu, že krevní sraženina se vytváří jako struktura s různými zónami aktivace, přičemž různé buněčné a molekulární procesy probíhají současně:

- Tvorba fibrinu:** Trombin konvertuje fibrinogen na nerozpustný **fibrin**, který tvoří síťovitou strukturu a poskytuje základ pro mechanickou stabilitu sraženiny.

- Zonace krevní sraženiny:** V krevní sraženině vznikají zóny s vyšší a nižší koncentrací aktivovaných trombocytů a fibrinu. Na periférii sraženiny je menší koncentrace trombinu a aktivovaných faktorů, zatímco v centrální části je aktivita koagulačních faktorů nejvyšší.

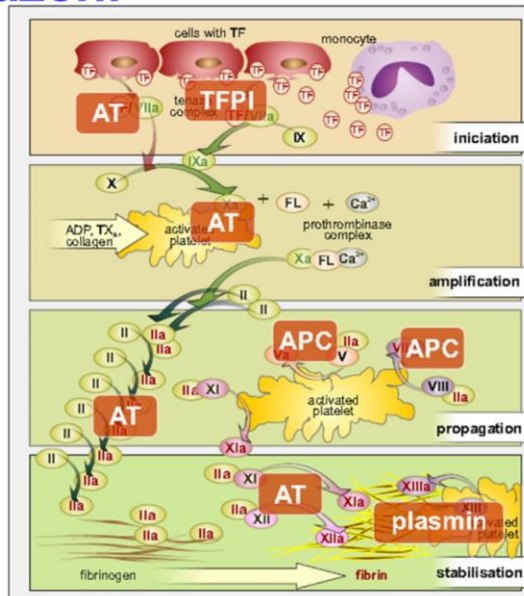
4. Restriction (Omezení)

Tato fáze zahrnuje procesy, které zabraňují nekontrolovanému rozšíření srážení mimo poškozené místo. K tomu dochází prostřednictvím inhibičních mechanismů, které omezují šíření koagulačního procesu:

- Antikoagulační faktory:** Bílkoviny jako **antitrombin III**, **protein C** a **protein S** se vážou na aktivní koagulační faktory a inaktivují je, aby nedošlo k nekontrolovanému srážení.

- Fibrinolýza:** Po vytvoření sraženiny začíná její odbourávání pomocí enzymu **plazminu**, který rozkládá fibrinovou síť. Tento proces je regulován, aby se zabránilo příliš rychlé degradaci sraženiny.

Inhibice srážení



MUNI
MED

1. Antikoagulační proteiny

•**Antitrombin III (ATIII):** Tento protein inhibuje aktivované koagulační faktory, zejména trombin (faktor IIa) a faktory Xa, IXa a XIa. Je aktivován heparinem, což zvyšuje jeho antikoagulační účinek.

•**Proteiny C a S:** Aktivovaný protein C (APC) inaktivuje faktory Va a VIIIa, což snižuje tvorbu trombinu a zabraňuje dalšímu srážení. Protein S slouží jako kofaktor pro APC.

2. Inhibice trombocytů

•**Aspirin:** Tento lék inhibuje cyklooxygenázu (COX), enzym, který je zodpovědný za syntézu tromboxanu A₂, což je faktor podporující agregaci trombocytů. Tímto způsobem aspirin snižuje agregaci trombocytů.

•**P2Y₁₂ inhibitory:** Látky jako clopidogrel a ticagrelor blokují receptor P2Y₁₂ na trombocytech, což zabraňuje účinkům ADP a snižuje agregaci trombocytů.

3. Fibrinolýza

•**Plasminogen a plasmin:** Plasminogen je aktivován na plasmin, což je enzym, který štěpí fibrin a rozpouští sraženiny. Regulace fibrinolýzy je klíčová pro udržení rovnováhy v srážecím procesu.

•**Tkáňový aktivátor plasminogenu (tPA):** Tento faktor je produkován endotelovými buňkami a stimuluje aktivaci plasminogenu na plasmin.

4. Endotelová funkce

•**Endoteliální buňky:** Tyto buňky, které vystylají cévy, produkují různé faktory, které inhibují srážení, jako je prostacyclin (PGI₂), který zabraňuje agregaci trombocytů a vazokonstrikci.

5. Základní mechanizmy

•**Přítomnost aniontových povrchů:** Srážení krve je aktivováno kontaktem s negativně nabitými plochami. V přítomnosti dostatečných aniontových povrchů, jako je endoteliální vrstva, je srážení omezováno.

•**pH a iontové prostředí:** Změny v pH a koncentraci iontů (např. vápníku) mohou ovlivnit aktivaci koagulačních faktorů a trombocytů.

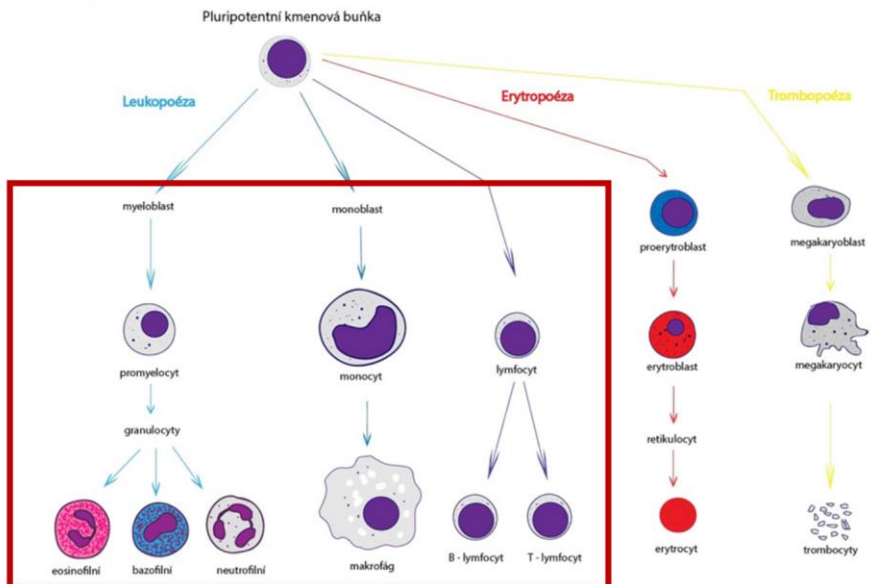
Inhibice srážení krve

- **Antitrombin III:** IIa, IXa, Xa, XIa, XIIa
- **Trombomodulin** (na membráně nepoškozeného endotelu):
 - komplex trombomodulin-trombin působí na protein C → protein Ca
 - protein Ca+protein S → komplex „protein Ca – protein S“
 - komplex pak inhibuje faktory Va a VIIIa
 - syntéza proteinu C a S je závislá na vitaminu K
- **Inhibitor tkáňového tromboplastinu (III)**
- **Kumarinové preparáty** (antivitamin K; např. Warfarin)

Poruchy hemostázy

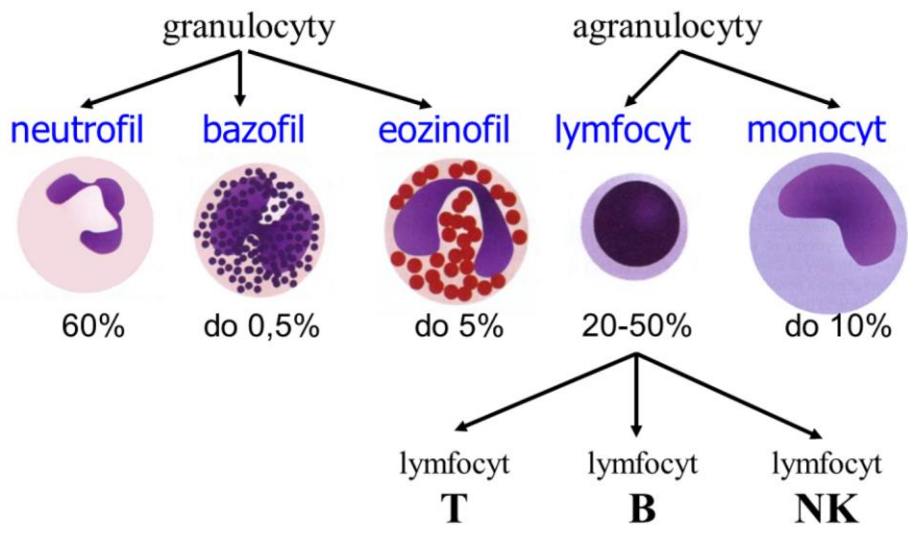
- Krvácivé stavy = chorobné stavy, u kterých vznikají krvácivé projevy buď spontánně nebo po neúměrně malém podnětu
- Vasogenní poruchy krevního srážení
- Trombocytární krvácení:
 - 1) trombocytopenie
 - 2) trombocytopatie
- Koagulopatie – chybění nebo nedostatek plazmatických koagulačních faktorů:
 - Poruchy syntézy: dědičné (hemofilie), získané (karence vitamínu K, terapie deriváty kumarinu)
 - Poruchy přeměny: konsumpční koagulopatie a hyperfibrinolýza, mnohočetné transfuze, imunokoagulopatie, terapie heparinem

Hematopoéza



MUNI
MED

Bílé krvinky (leukocyty)



Granulocyty

– Neutrofilní granulocyty

- Tvoří 60–70 % leukocytů periferní krve
- Obrana proti extracelulárním bakteriím
- Hlavní funkcí neutrofilů je fagocytóza
- Odumřelé neutrofilny vytvářejí hnis

– Eozinofilní granulocyty

- Tvoří 1–5 % leukocytů periferní krve
- Hrají důležitou roli při alergických reakcích (fagocytují komplex alergen-protilátka) a při ochraně proti parazitárním onemocněním (ze svých granul vypouštějí látky, které poškozují parazity)

– Bazofilní granulocyty (bazofily)

- Tvoří 0,5 % leukocytů periferní krve
- Mají granula v cytoplazmě, která obsahují heparin a histamin
- Uplatňují se při vzniku alergické reakce a dále se podílejí na likvidaci parazitárních onemocnění

MUNI
MED

Agranulocyty

– Lymfocyt:

- Tvoří 20–50 % z celkového počtu všech bílých krvinek

- **B-lymfocyty:**

 - Základní buňky protilátkové imunity

 - Vznikají v kostní dřeni, kde i dozrávají

 - Konečným diferenačním stadiem jsou plazmatické buňky produkující protilátky proti bílkovinným a glykoproteinovým antigenům a toxinům

- **T-lymfocyt:**

 - Jsou podstatou specifické (získané) buněčné imunity

 - Vznikají v kostní dřeni a migrují do brzlíku, ve kterém dozrávají

 - Vylučují do krve cytokiny

 - Nesou CD3, CD8 nebo CD4 znaky

- **Natural killers, NK:**

 - Hlavní část cytotoxické buněčné imunity.

 - Jsou schopni ničit i bez předchozího setkání s antigenem (to se uplatňuje u novorozenců)

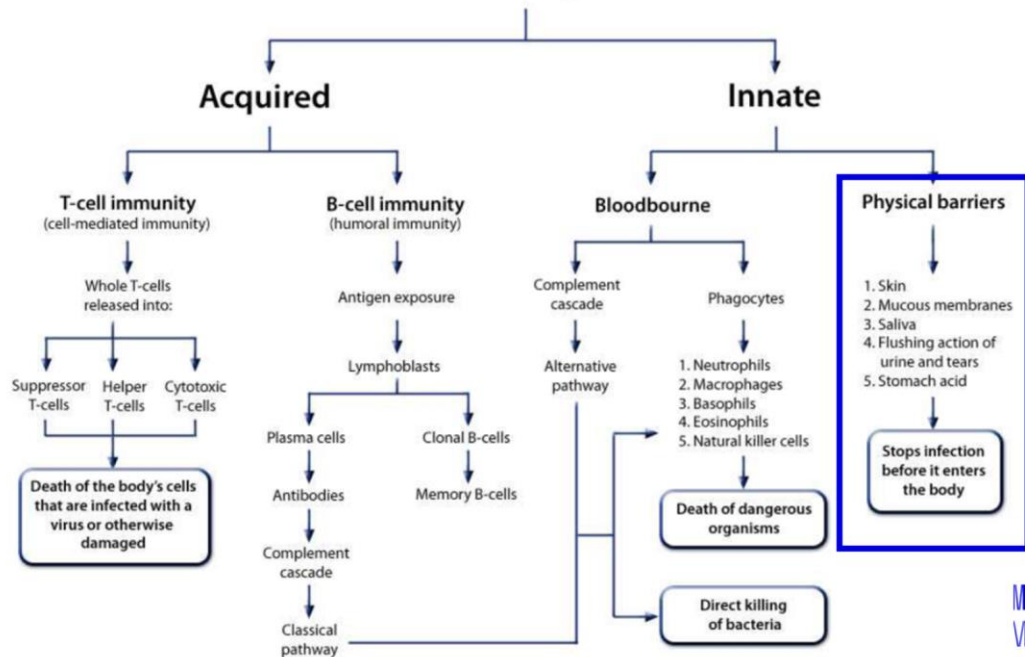
 - Nenesou CD-3 znak

Imunitní systém

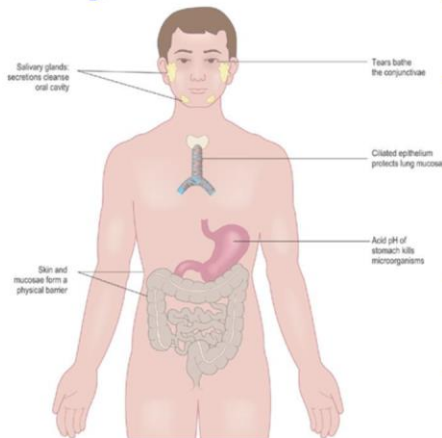
– Základní koncepce:

- ochrana organismu před patogenními mikroorganismy a jejich toxiny;
- autotolerance: rozpoznává vlastní tkáně a buňky;
- imunitní dozor (rozpoznává vnitřní škodliviny; odstraňuje staré, poškozené a zmutované buňky);
- antigeny: látky, které imunitní systém rozpoznává a reaguje na ně.

Immune system



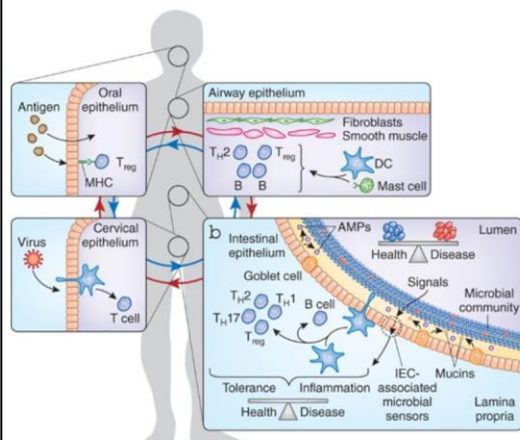
Fyzikální bariéry



Bariérová obrana:

- zahrnují kůži a sliznice dýchacích, močových a reprodukčních cest;
- hlen zachycuje a umožňuje odstranění mikrobů;
- tělesné tekutiny (sliny, hlen, slzy) jsou nepřátelské pro hodně patogenů;
- nízké pH kůže a trávicího systému brání růstu mnoha bakterií.

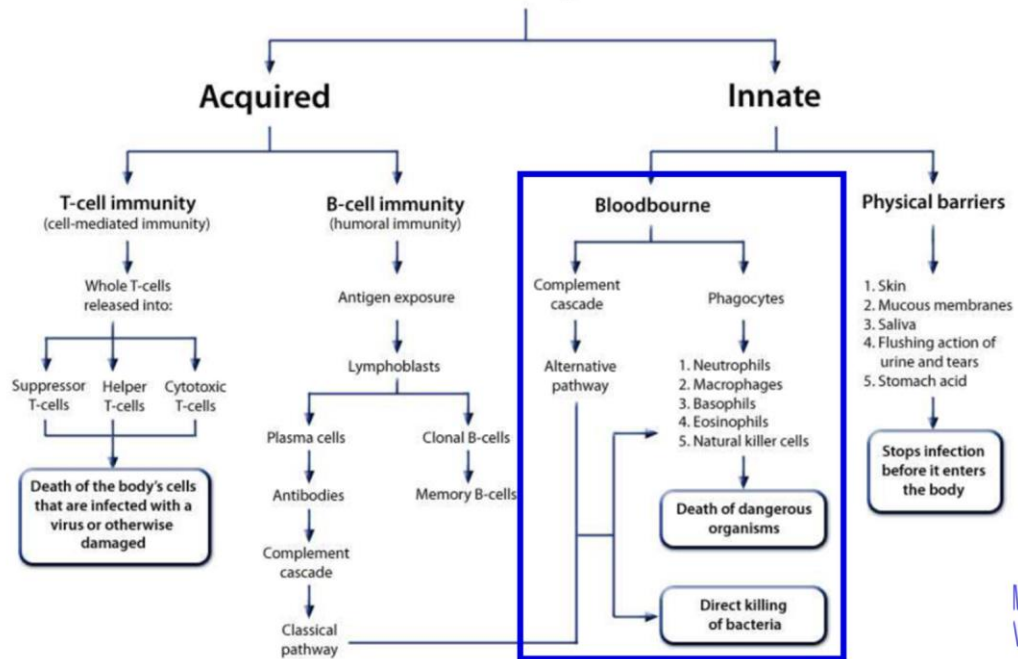
Mukózní imunitní systém



MALT mucosa associated lymphoid tissue:

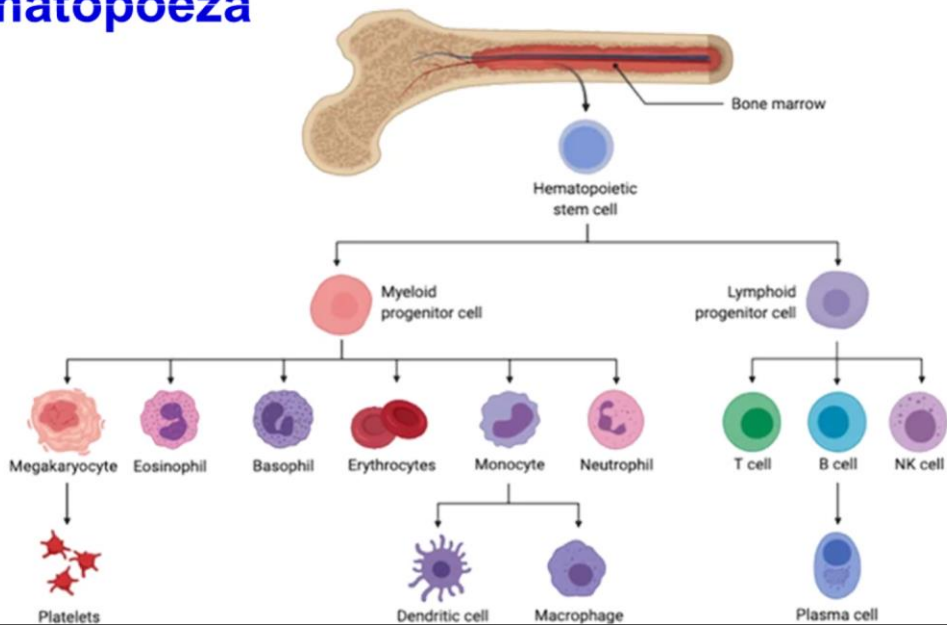
- GALT (GIT);
- BALT (bronchioli);
- Peyeroovy pláty v distálním úseku ilea;
- d-MALT - difúzní lymfatická tkáň (buňky jsou rozptýleny ve sliznici nebo podsliznici);
- o-MALT - organizovaná lymfatická tkáň (buňky jsou uspořádány v lymfatických folikulech, které mohou být izolované nebo spojené s tzv. folikulárními lymfatickými agregáty).

Immune system



MUNI
MED

Hematopoéza

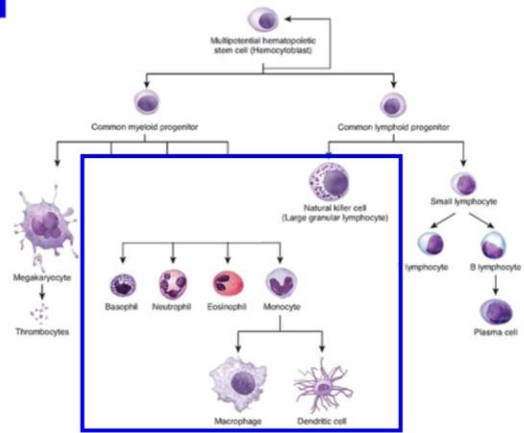


46

MUNI
MED

Vrozený imunitní systém

- „je zapnuta“
- rychlá reakce
- nespecifický vzor odpovědi
- funkce:
 - fyzikální bariera
 - nábor leukocytů (zánět)
 - protivirová obrana
- Součástí systému:
 - fyzikální/chemické bariery
 - fagocytóza (neutrofil, makrofágy, dendritické buňky, žírné buňky, NKC)
 - systém komplementu



Rozpoznávání patogenů

– PAMPs (pathogen-associated molecular patterns):

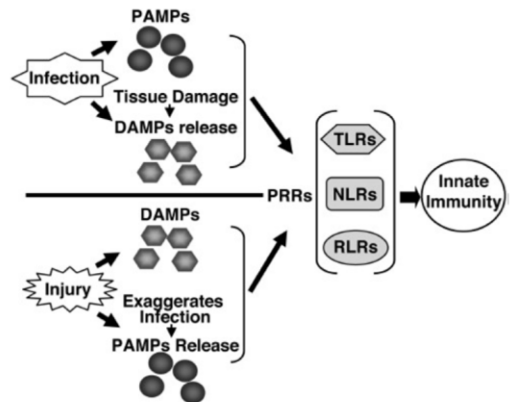
- běžné molekulární vzory typické pro patogeny (např. bakteriální lipopolysacharidy, manóza, virové nukleové kyseliny).

– DAMPs (damage-associated molecular proteins):

- běžné molekulární vzory nacházející se na povrchu poškozených nebo mrtvých hostitelských buněk (např. proteiny tepelného šoku).

– Pattern recognition receptory:

- receptory na buňkách imunitního systému, které rozpoznávají PAMPs a DAMPs;
- receptor + ligand (PAMP nebo DAMP) → aktivace signální dráhy → transkripční faktory → genová exprese zánětlivých a protivirových produktů → nábor/aktivace imunitních buněk



Makrofágy

- fagocytární buňka vrozeného imunitního systému;
- makrofágy pocházející z monocytů:
 - monocyty v krvi
 - dozrávají ve tkáni
 - CD14+
- makrofágy nepocházející z monocytů:
 - vznikají ve tkáních z embryologických struktur (např. Kupfferovy buňky v játrech, alveolární makrofágy)
- funkce:
 - fagocytóza buněk určených k likvidaci;
 - APC (exprimují více MHCII): IFN- γ (vylučovaný Th-buňkami a NKC) aktivuje makrofágy;
 - přímé zabíjení patogenu (rozpoznává PAMP → fagocytóza);
 - vylučují TNF- α , ROS a NO (přímo ničí patogeny);
 - podpora angiogeneze a fibrózy.

Neutrofilly

- fagocytující leukocyty
- rychlá reakce
- krátká životnost

– Podněcování zranění:

- makrofág rozpozná patogen a vylučuje IL-1 a TNF=>endoteliální buňky exprimují **selektin**

– Rolování:

- selektin+selektinový ligand =>zpomalení neutrofilů+rolování=>detekují LPS a exprimují **integrin**

– Adheze:

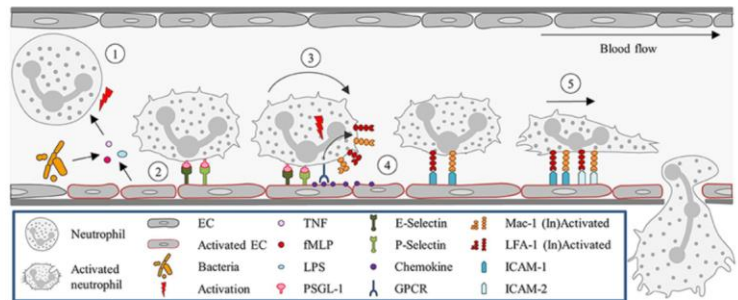
- integrin+ICAM =>zastavuje migraci neutrofilů

– Diapedéza:

- PMN se vytlačují z vaskulárního prostoru pomocí PECAM-1

– Migrace k infekci:

- IL-8 spouští migraci PMN do místa infekce a signalizuje zvýšení fagocytózy



System komplementu

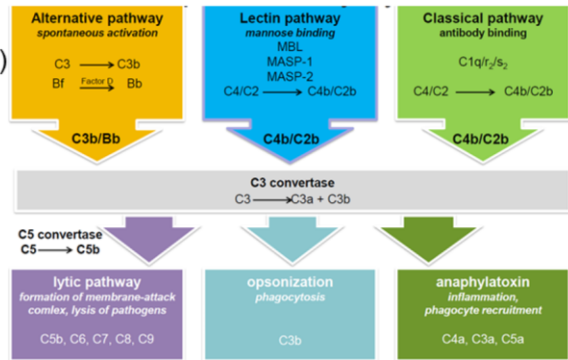
– systém bílkovin; součástí vrozeného imunitního systému

– funkce:

- buněčná lýza (membrane attack complex – MAC)
- opsonizace
- chemoatrakce

– cesty aktivace komplementu:

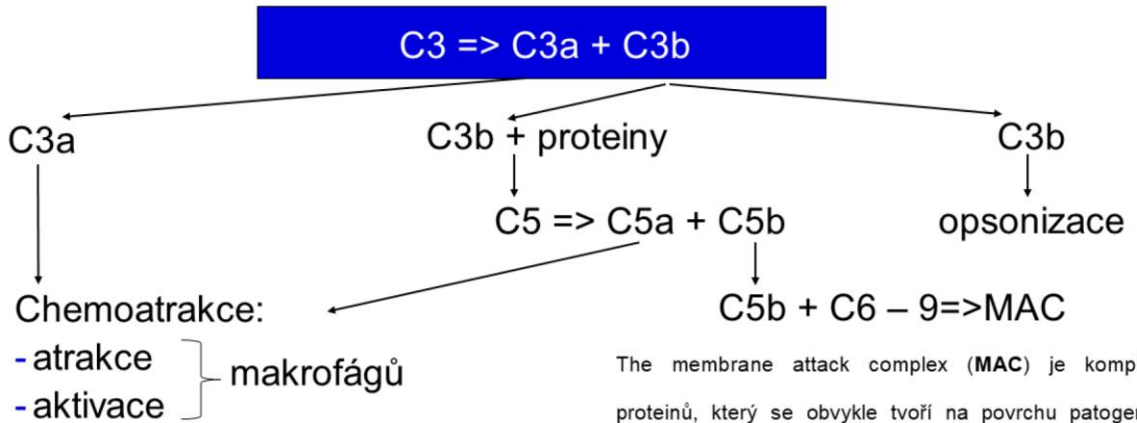
- klasická
- alternativní
- lektinová



Cesty aktivace komplementu

- klasická (AB závislá) dráha aktivace komplementu:
 - IgM/IgG aktivují C1 proteinové komplexy (inaktivace inhibice)
 - C1 spustí kaskádu, která štěpí C3
- alternativní (AB NEzávislá) dráha aktivace komplementu:
 - spontánní štěpení C3
- lektinová dráha aktivace komplementu :
 - mannose binding lectin (MBL) váže manózu na povrch patogenu
 - aktivace MASP
 - MASP štěpí C3

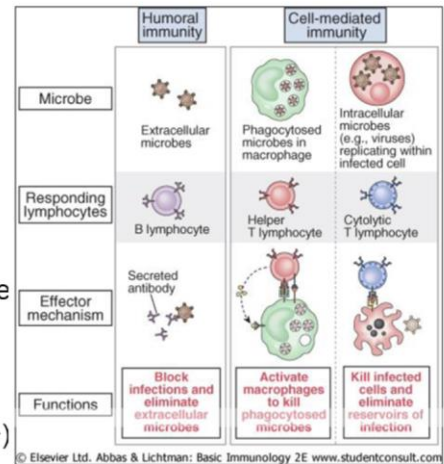
Společná cesta



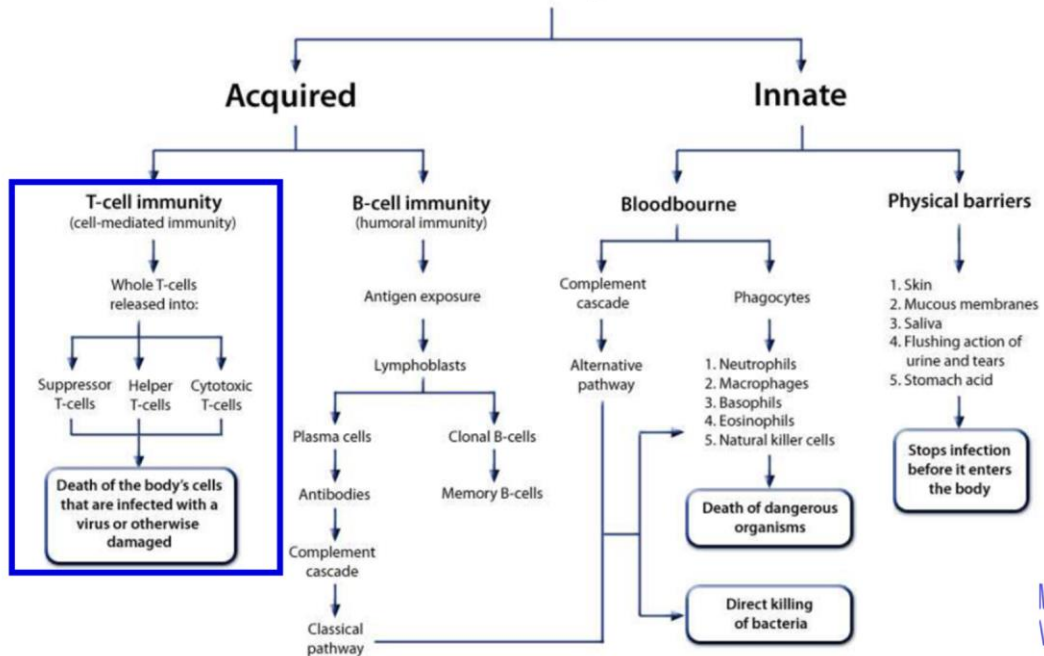
The membrane attack complex (**MAC**) je komplex proteinů, který se obvykle tvoří na povrchu patogenní buňky. MAC vede k vytvoření pórů, které narušují buněčnou membránu cílových buněk, což vede k jejich lýze a smrti..

Adaptivní imunitní systém

- se vyvíjí jako reakce na patogen (antigen)
- specifický (reaguje na konkrétní antigen)
- různorodé (uznává mnoho antigenů)
- imunologická paměť
- humorální imunita:
 - zaměřuje se na extracelulární patogeny v krvi + slizniční sekre
 - B-buňky → tvoří protilátky
- Buněčná imunita:
 - cílí na intracelulární patogeny
 - T-buňky (Cytotoxické T-buňky (CD8+), Helper T-buňky(CD4+))



Immune system



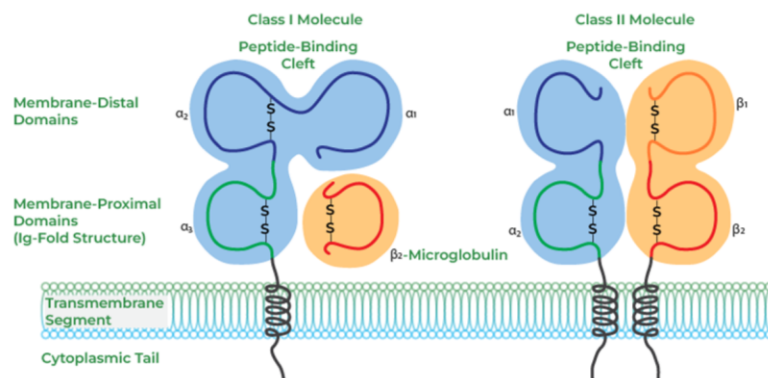
Hlavní histokompatibilní komplex

– MHC I:

- exprimován na jaderných buňkách
- endogenní peptidy
- uznávaný CD8+ T cells

– MHC II:

- Exprimován na APCs
- exogenní peptidy
- uznávaný CD4+ T cells

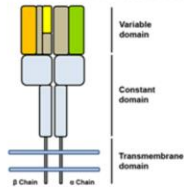


56

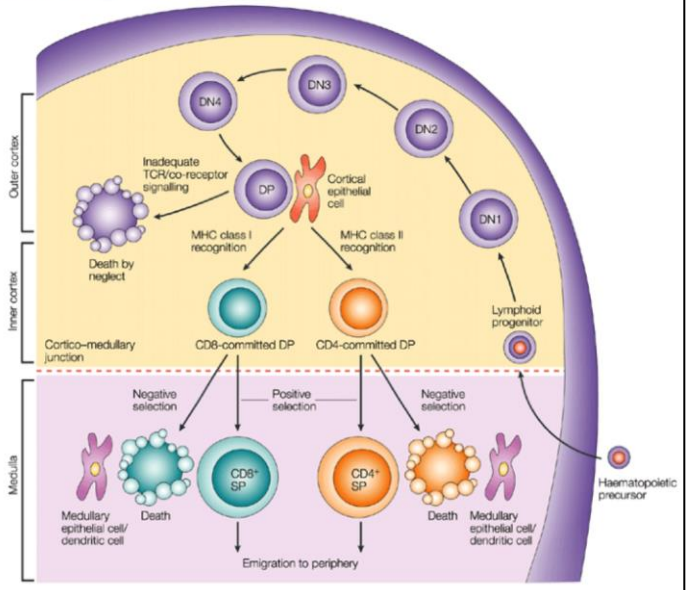
MUNI
MED

Zrání a selekce T-lymfocytů

- Kmenové buňky migrují z kostní dřeně do thymu
- Dvojitě negativní T-buňky (bez CD4/CD8 označení)
- TCR genová přestavba (řetězce β) prostřednictvím rekombinace VDJ
- Dvojitě pozitivní T-buňky (CD4+CD8+ označení)
- TCR genová přestavba (řetězce α) prostřednictvím rekombinace VDJ

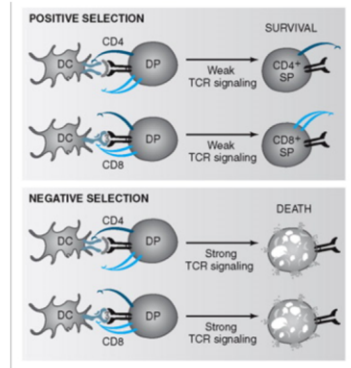


57 * V(D)J Rekombinace je proces, který probíhá ve vyvíjejících se B a T buňkách a vytváří jedinečné antigen-vázající oblasti protilátek a T buněčných receptorů.



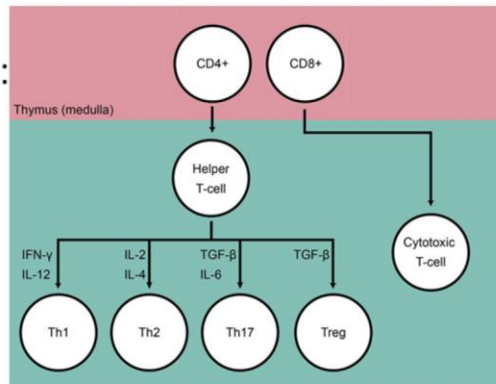
Zrání a selekce T-lymfocytů

- Pozitivní selekce:
 - zajišťuje restrikci MHC
 - umožňuje dozrávání TCR, které mohou rozpoznávat vlastní MHC;
 - rozpoznávání MHC I → CD8+
 - rozpoznávání MHC II → CD4+
 - žádné rozpoznání → apoptóza
- Centrální tolerance (negativní selekce):
 - zajišťuje, že TCR neinteraguje příliš silně s vlastními MHC
 - příliš silná interakce → apoptóza



Pomocné T-buňky

- Naivní pomocné T buňky (CD4+):
- Th1
- Th2
- Th17
- regulační T-buňky
- Aktivujte fagocyty a IgE



Th1

APC → IL-12 a IFN-γ → Th1



Macrophage



T lymphocyte

↓
IL-2 a IFN-γ

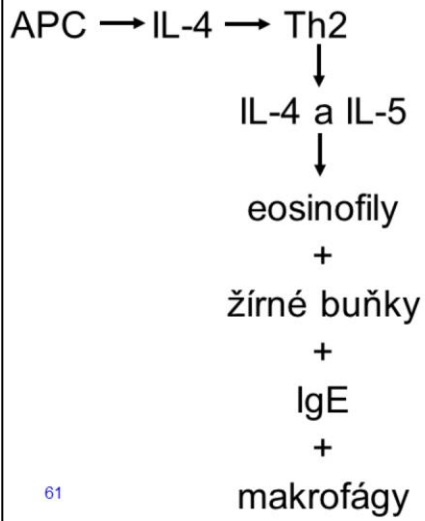
↓
Makrofágy

+

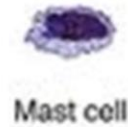
TKC

- proti **intracelulárním** patogenům
- Th1 jsou spojeny s:
 - autoimunitním onemocněním
 - chronickým zánětem

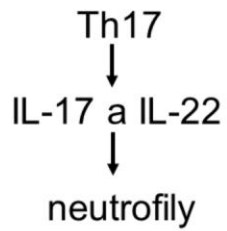
Th2



- proti helmintům
- Th2 jsou spojeny s:
- alergickou reakcí



Th17



- proti extracelulárním patogenům
- Th17 jsou spojeny s:
 - psoriázou
 - revmatoidní artritidou
 - autoimunitním onemocněním



Neutrophil

Regulační T-buňky

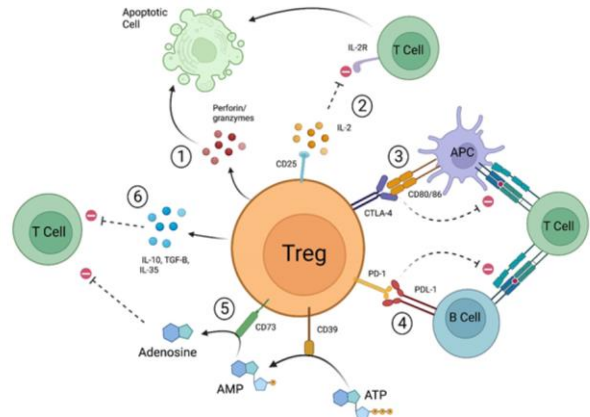
- exprimují CD4 a CD25
- potlačí imunitní odpověď:
 - eliminate self-reactive T-cells (important for maintaining self-tolerance)
 - inhibují aktivaci a proliferaci B-buněk
 - inhibují aktivaci a proliferaci dendritických buněk
 - inhibují aktivaci a proliferaci makrofágů

– IL-2:

- ↑ Treg
- IL-10 → ↓ makrofágy, dendritické buňky, expresi MHC II, Th1 produkci cytokinů
- IL-35 → ↑ Treg, ↓ makrofágy + pro-inflamační T-buňky

– IL-6:

- ↓ Treg



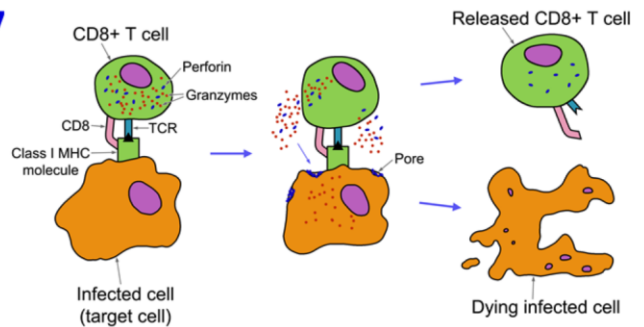
Cytotoxické T-buňky

- Cytotoxické T-buňky (CD8+)
- buňky infikované virem
- nádorové buňky
- transplantační buňky

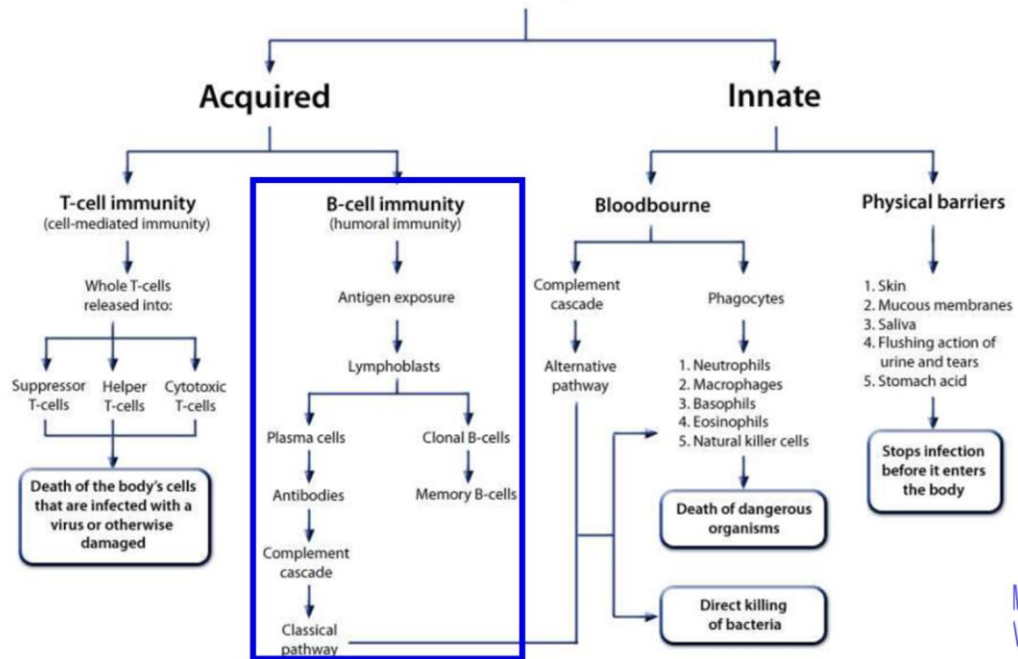
– Aktivace cytotoxických T-buněk:

- Antigen na MHC I infikované buňky
- TCR cytotoxické T-buňky se váže na antigen
- CD28 na cytotoxických T-buňkách se váže na B7 (CD80/86) na APC
- Th1 (podskupina pomocných T-buněk) uvolňují IL-2 → ↑ cytotoxické T-buňky

- Perforin vytváří v cílové buňce póry → granzym B vstupuje do buňky → spouští intracelulární signální kaskádu → vyvolává apoptózu



Immune system



MUNI
MED

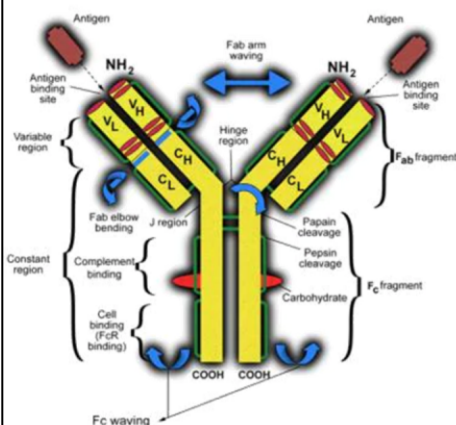
Zrání B-buněk

- Vývoj B-buněk probíhá v kostní dřeni
- Fáze vývoje B-buněk:
 - hematopoetická kmenová buňka → společná lymfoidní progenitorová buňka → časná pro-B-buňka → pozdní pro-B-buňka → velká pre-B-buňka → malá pre-B-buňka → nezralá B-buňka → zralá (naivní) B-buňka
- Pozitivní selekce
 - umožňuje proliferaci B-buněk, které mají silnou afinitu k molekulám MHC
- Negativní selekce:
 - odstranění samoreaktivních B-buněk
- nezralé B-buňky migrují do sekundární lymfoidní tkáně (lymfatické uzliny, slezina)
- folikulární B-buňky
- B-buňky marginální zóny

Somatická hypermutace a afinitní maturace

- B-buňky procházejí náhodnými mutacemi v B-buněčném receptoru, což vede ke vzniku nových B-buněk se zvýšenou afinitou k antigenu a specifitou (afinitní zrání)
- Aktivace indukovaná cytidindeaminázou(AID):
 - přidává bodové mutace (cytosin → uracil) do variabilních oblastí těžkých a lehkých řetězců (somatická hypermutace);
 - se také podílí na modifikaci konstantních oblastí BCR (přepínání izotypových tříd)
- Immunoglobuliny produkované B-buňkami → IgD, IgA, IgM, IgG, IgE

Struktura imunoglobulinu



- 2 identické těžké řetězce
- 2 identické lehké řetězce
- konstantní oblast (**Fc**) zůstává u všech protilátek v dané třídě stejná
- **Fab** fragmenty (oblast vazající fragmenty antigenu) jsou zodpovědné za rozpoznání a vazbu antigenu; tvoří "ramena" Y;
- variabilní oblast (**Fv**) je horní část Fab fragmentu; tato oblast se u různých protilátek liší; obsahuje paratop (vazebné místo pro antigen)

– IgM:

- je první protilátkou produkovanou aktivovanými naivními B-buňkami
- první reakce na časnou infekci
- mohou být vázány na povrch buněk nebo vylučovány do krve a lymfy
- může aktivovat klasickou cestu komplementu

– IgG

- je nejhojnějším množstvím v krvi
- může přecházet placentou
- označuje antigeny (opsonizace)
- schopné buněčné cytotoxicity závislé na protilátkách

– IgA:

- je zodpovědný za slizniční imunitu
- vylučují se v trávicím, dýchacím a urogenitálním traktu, nacházejí se ve slinách, slzách a mléce

– IgE:

- poskytuje ochranu proti helmintům
- je zodpovědný za degranulaci žírných buněk

– IgD

- koexprese s IgM
- ...

69

MUNI
MED

Imunizace

– Pasivní imunizace

- podání specifických protilátek (IgG)
- okamžitá reakce s antigenem, omezená délka ochrany
- neaktivuje se vlastní imunitní systém
- nevznikají paměťové buňky

– Aktivní imunizace

- podání antigenního materiálu (mrtvé/oslabené viry, bakterie, toxiny)
- nutnost podání dlouho před stykem s antigenem
- aktivace vlastního imunitního systému
- vznikají paměťové buňky – dlouhodobá imunita

Hlavní histokompatibilní komplex (MHC)

– I. třída

- přítomný na všech jaderných buňkách
- předkládá „cizí“ molekulu (virovou, nádorovou) cytotoxickým T lymfocytům
- buňky specifické imunity se na HLA I. tř napojí a zkontrolují, zda protein(antigen) vystavený patří našemu organismu

– II. Třída

- na povrchu antigen prezentujících buněk
- lymfocyty B, makrofágy; po aktivaci buňky T, buňky štítné žlázy, endotelové buňky
- předkládá cizí molekuly pomocným buňkám T

<https://www.youtube.com/watch?v=k9QAYP3bYmc>

<https://www.youtube.com/watch?v=d6qFPegEYV0>