

## 6. KREV

### - transport látek

- živiny
- plyny

### - regulace homeostázy

- pH
- osmotický tlak
- rozvod tepla

### - obranná funkce

- imunita (buněčná – humorální)
- obranné toxiny (ropušníci - *Phrynosoma*)

### - vzácně mechanická funkce

- tlak v očním sinu usnadňuje plazům čištění povrchu oka



**Krevní objem: 3-16 % (obratlovci)**

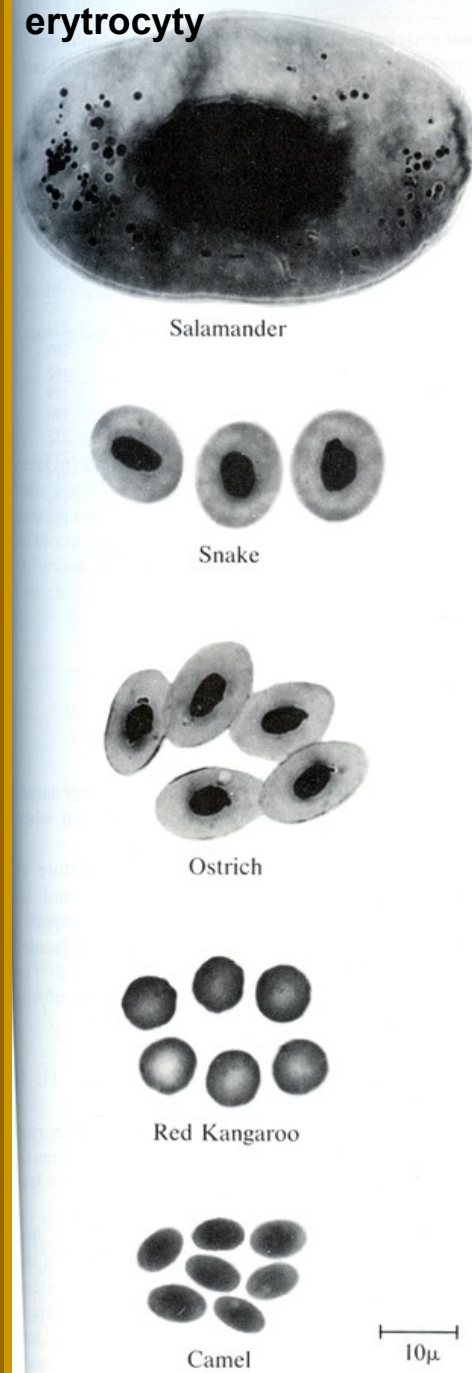
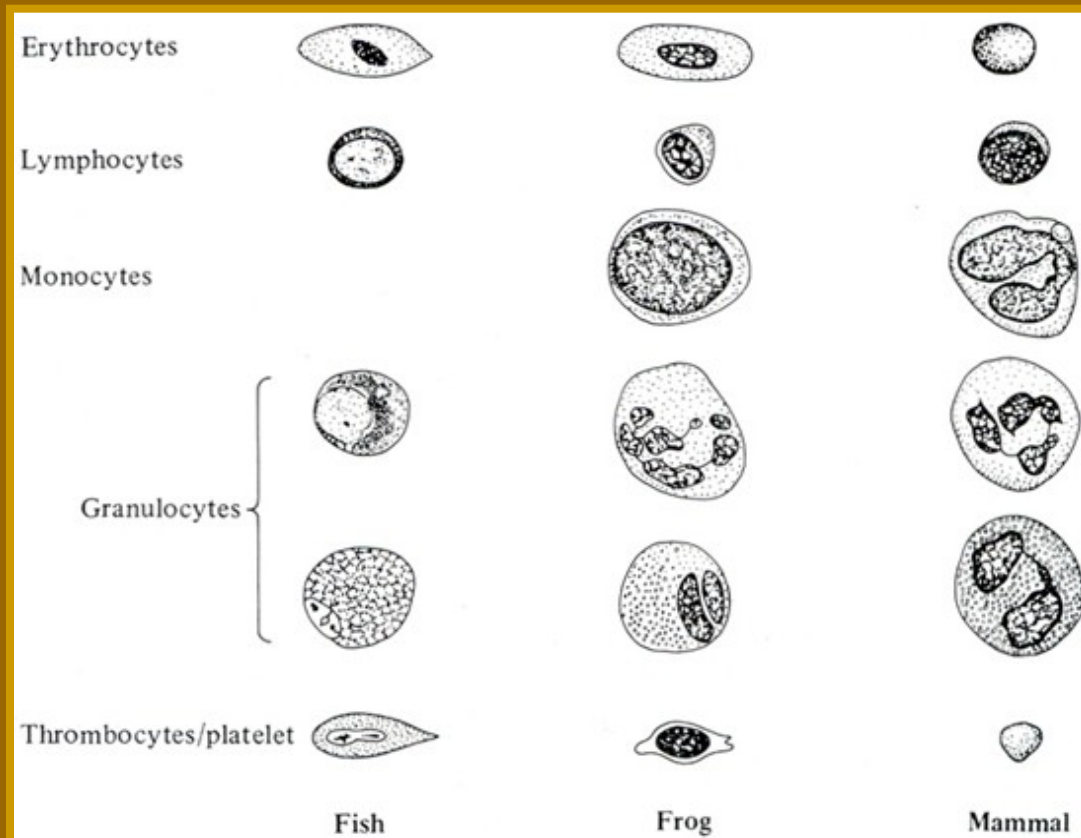
**- objem v cirkulačním systému**

**- hematokrit (objem buněk)**

**- objem plasmy**

# Složení krve

- neelektrolyty – močovina, glukóza,.. (metabolismus)
- proteiny - koloidní osmotický tlak
  - pufrční schopnosti - pH
  - metabolity, toxiny,..
- buňky



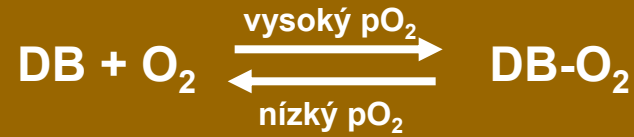
# Hematologické parametry některých obratlovců

Ery – objem erytrocytů; EryK – počet erytrocytů v 1 litru krve; Hct – hematokryt; Hb – koncentrace hemoglobinu; PHEry – množství hemoglobinu na buňku; PHEryK – koncentrace hemoglobinu v buňce; OK – kapacita krve pro O<sub>2</sub>

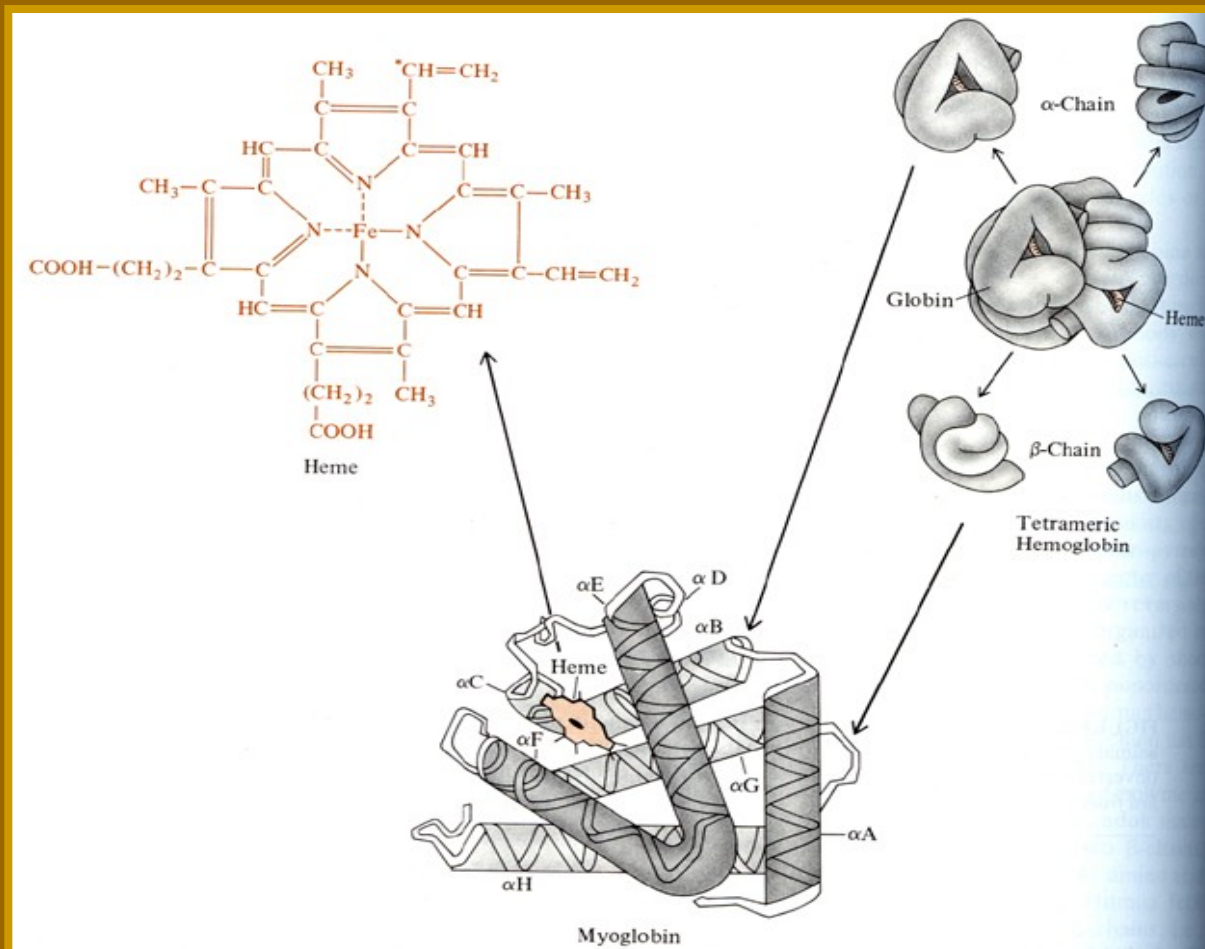
	Ery fL	EryK 10 <sup>12</sup> /L	Hct %	Hb g/L	PHEry pg	PHEryK g/L	OK ml O <sub>2</sub> /L
<b>mlok</b> ( <i>Amphiuma</i> )	10800	0,027	29	76	2830	262	102
<b>skokan</b>	845	0,296	25	70	232	285	94
<b>želva</b>	394	0,52	21	69	133	335	92
<b>velbloud</b>	319	11,0	35	158	14	494	211
<b>slon africký</b>	141	3,03	43	153	51	356	205
<b>krocan</b>	136	2,72	37	123	45	336	165
<b>běluha</b>	134	3,34	46	193	57	427	259
<b>člověk</b>	90	4,99	44	146	29	335	196
<b>myš</b>	60	8,3	50	159	19	320	213
<b>pytlouš</b>	45	11,8	54	193	17	367	259
<b>rejsek</b>	31	11,5	36	162	15	477	217
<b>koza</b>	18	16,1	29	104	7	356	139
<b>kančil</b>	6	55,9	31	117	2	380	154



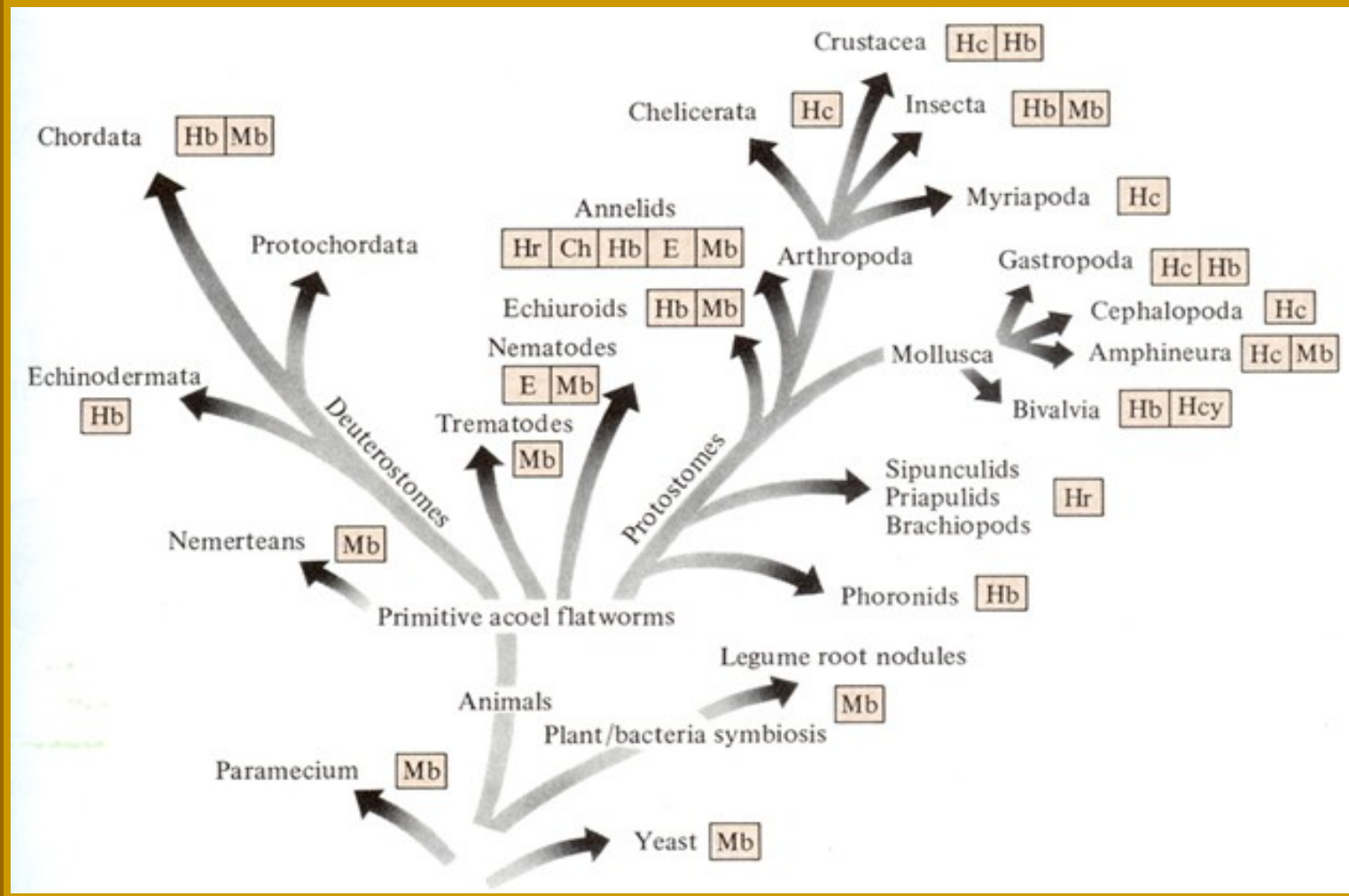
# Dýchací barviva (DB)



- u obratlovců jen svalový *myoglobin* a jeho krevní derivát *hemoglobin*



## Fylogeneze dýchacích barviv u živočichů

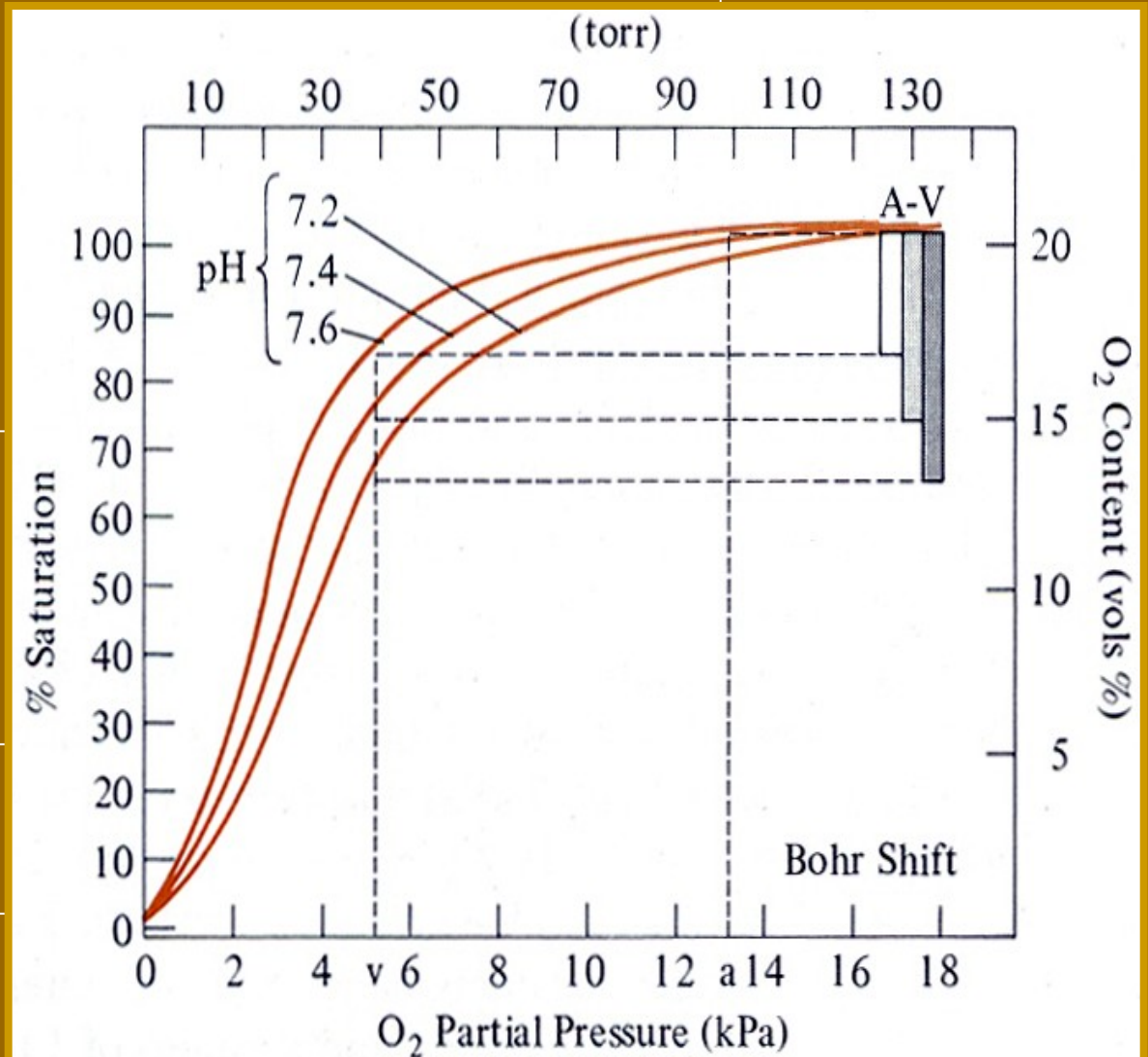


**Hb** – hemoglobin; **Mb** – myoglobin; **E** – erytrokrurin (hemoglobin bezobratlých); **Ch** – chlorokrurin (zelený); **Hr** – hemerytrin (bez hemu, bezbarvý → fialový); **Hc** – hemocyanin ( $\text{Cu}^{2+}$ , bez hemu, bezbarvý → modrý)

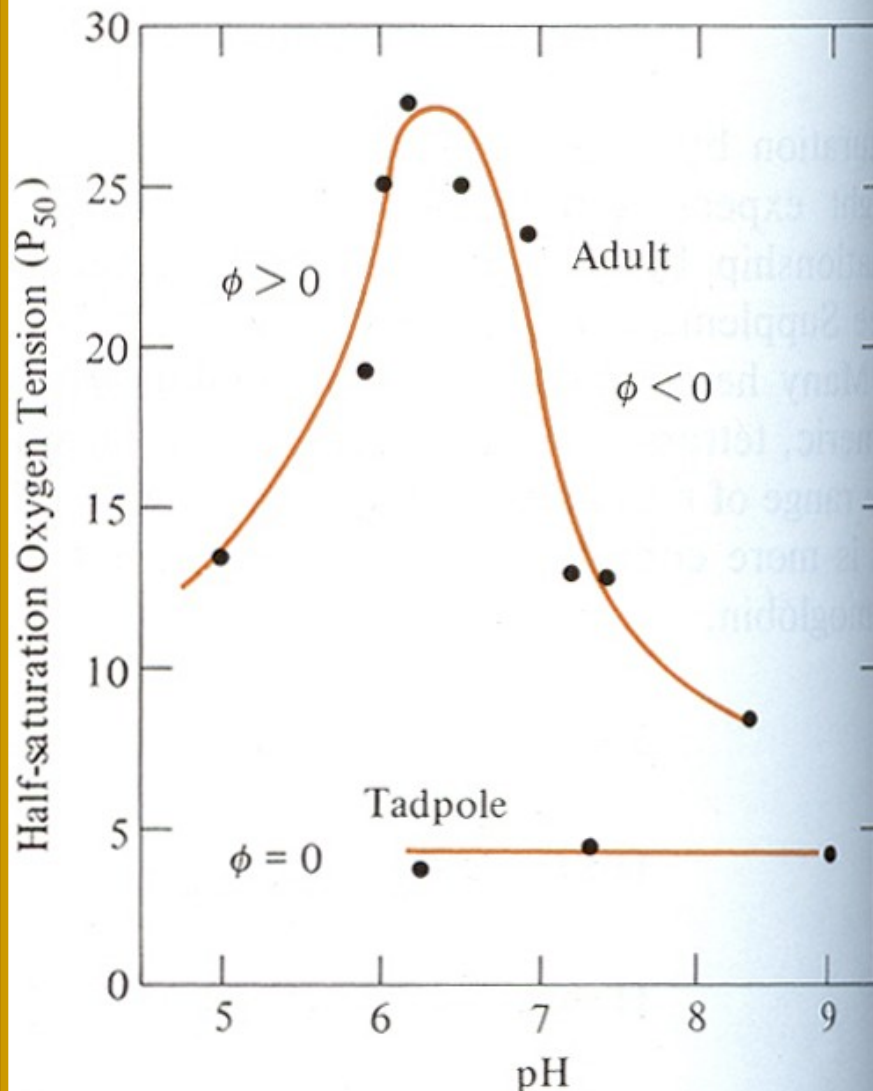
*Saturační kapacita krve pro různé skupiny obratlovců a vody v ml O<sub>2</sub> na 100 ml média při plné saturaci a při pO<sub>2</sub> = 21,8 kPa pro vodu*

voda (20°C)	0,65
kruhoústí	1 – 1,2
paryby	4,4 – 4,5
ryby	4,9 – 19,7
obojživelníci	6,3 – 10,4
plazi	6,6 – 12,5
ptáci	10 - 22
savci	14 - 32

**Saturační křivka hemoglobinu kyslíkem a (negativní = normální) Bohrův efekt u člověka**



Změny v 50% saturaci hemoglobimu kyslíkem (P<sub>50</sub>) v závislosti na pH (Bohrův efekt -  $\phi$ ) u dospělého skokana volského (*R. catesbeiana*) a jeho pulce



Faktor Bohrova efektu ( $\phi = \frac{dP_{50}}{dH}$ ) pro hemoglobiny obratlovců.

ryby	-0,54 / -0,31
obojživelníci	-0,29 / 0
plazi	-0,52 / -0,13
ptáci	-0,5 / -0,4
savci	-0,96 / -0,32

**Bez Bohrova efektu**

- hemoglobin sliznatek (*Polistotrema*)
- myoglobiny



## Vazbu O<sub>2</sub> k hemoglobinu dále ovlivňují

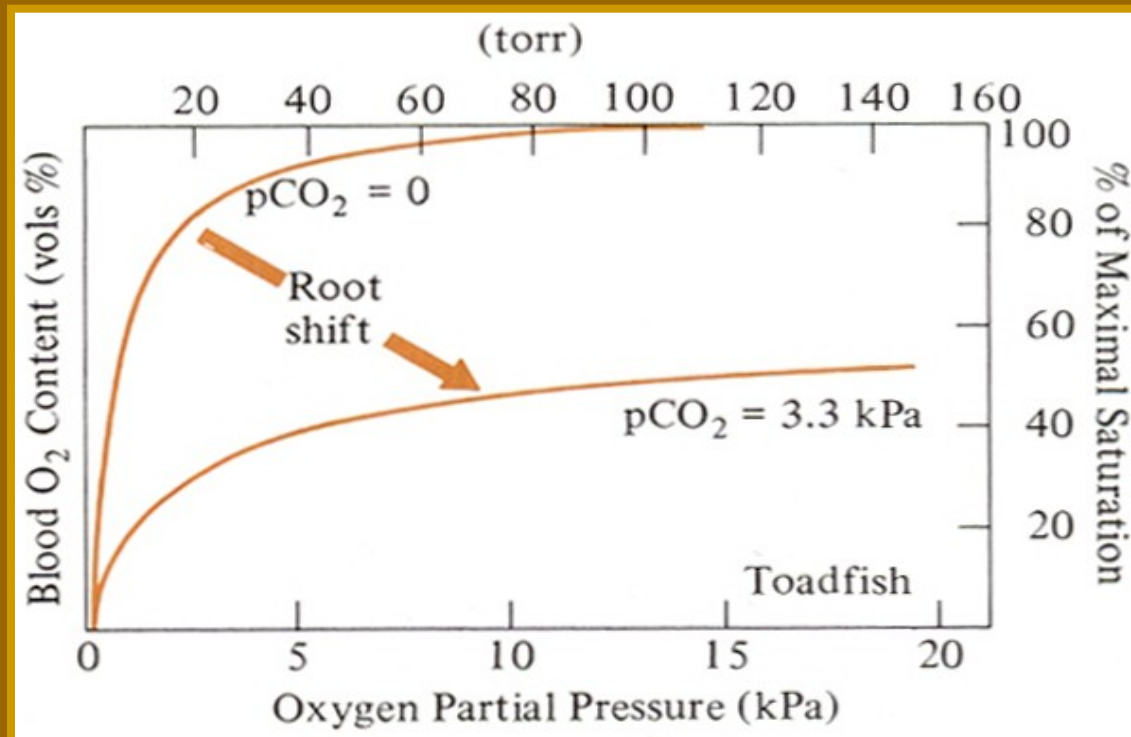
- *parciální tlak CO<sub>2</sub>* => Rootův efekt

- u ryb napomáhá uvolňování plynů do plynového měchýře

- *koncentrace iontů* – vyšší koncentrace = vyšší P<sub>50</sub> / nižší vazebnost (savci)

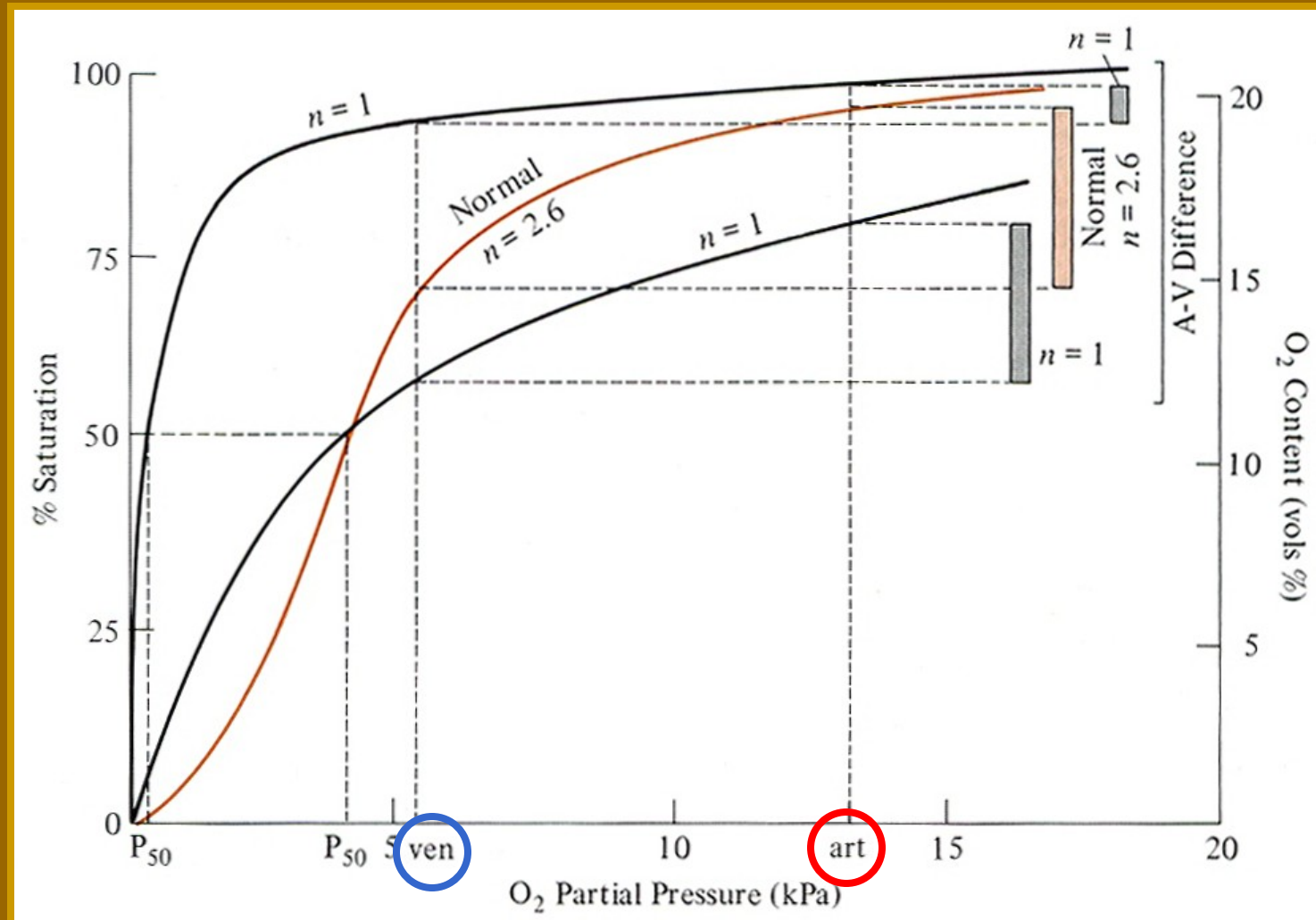
- *koncentrace organických fosfátů* (intracelulárně) - vyšší koncentrace = vyšší P<sub>50</sub> /  
nižší vazebnost (savci)

- *teplota* – vyšší teplota = vyšší P<sub>50</sub> / nižší vazebnost



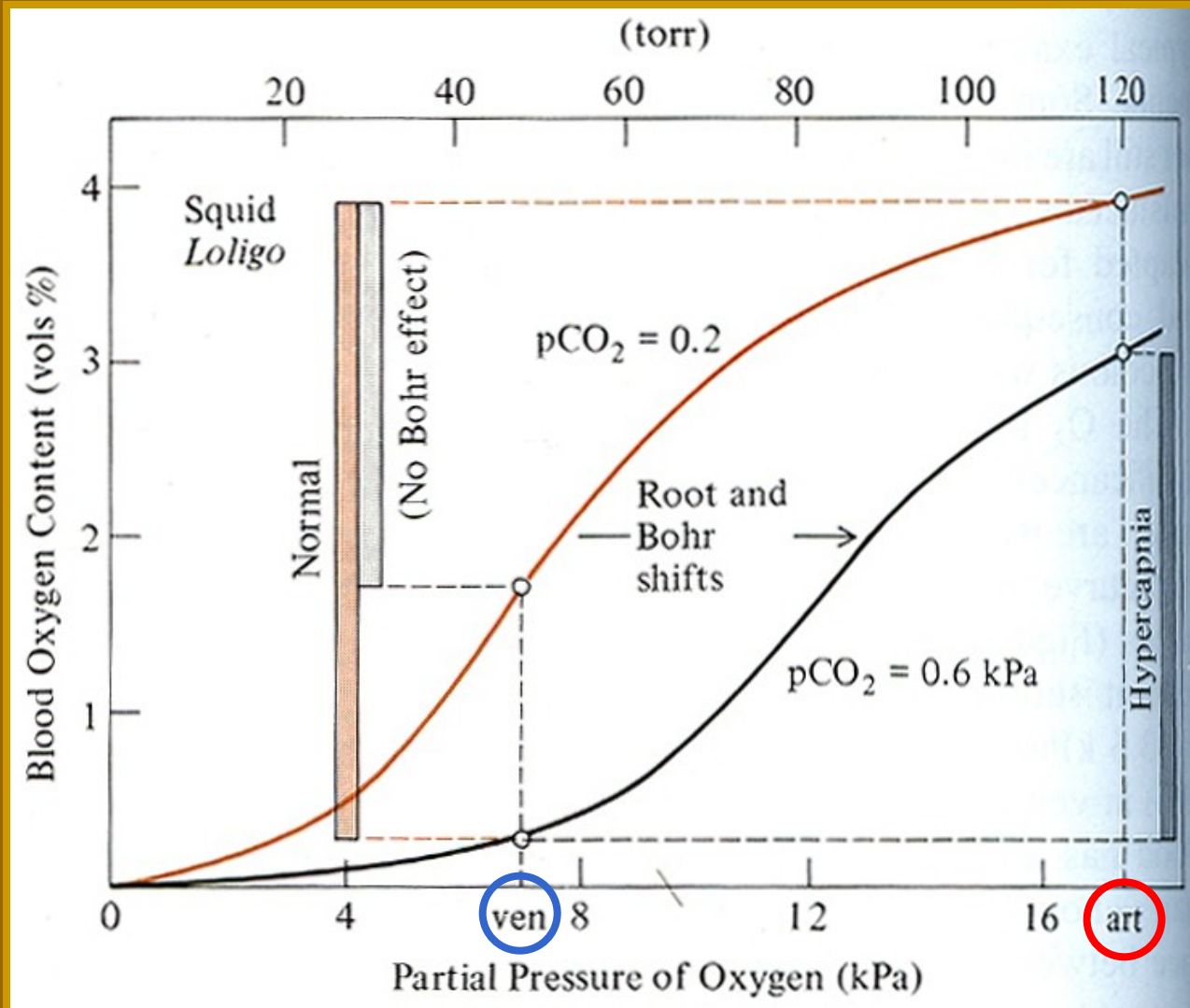


Význam normální sigmoidní křivky pro transport  $O_2$  krví;  $P_{50} = 3,8$  kPa,  $n = 2,6$ .  
 Srovnání s hyperbolami pro  $n = 1$  při „stejné“ arteriální saturaci  $O_2$  ( $P_{50} = 0,4$  kPa)  
 a pro stejné  $P_{50}$ .



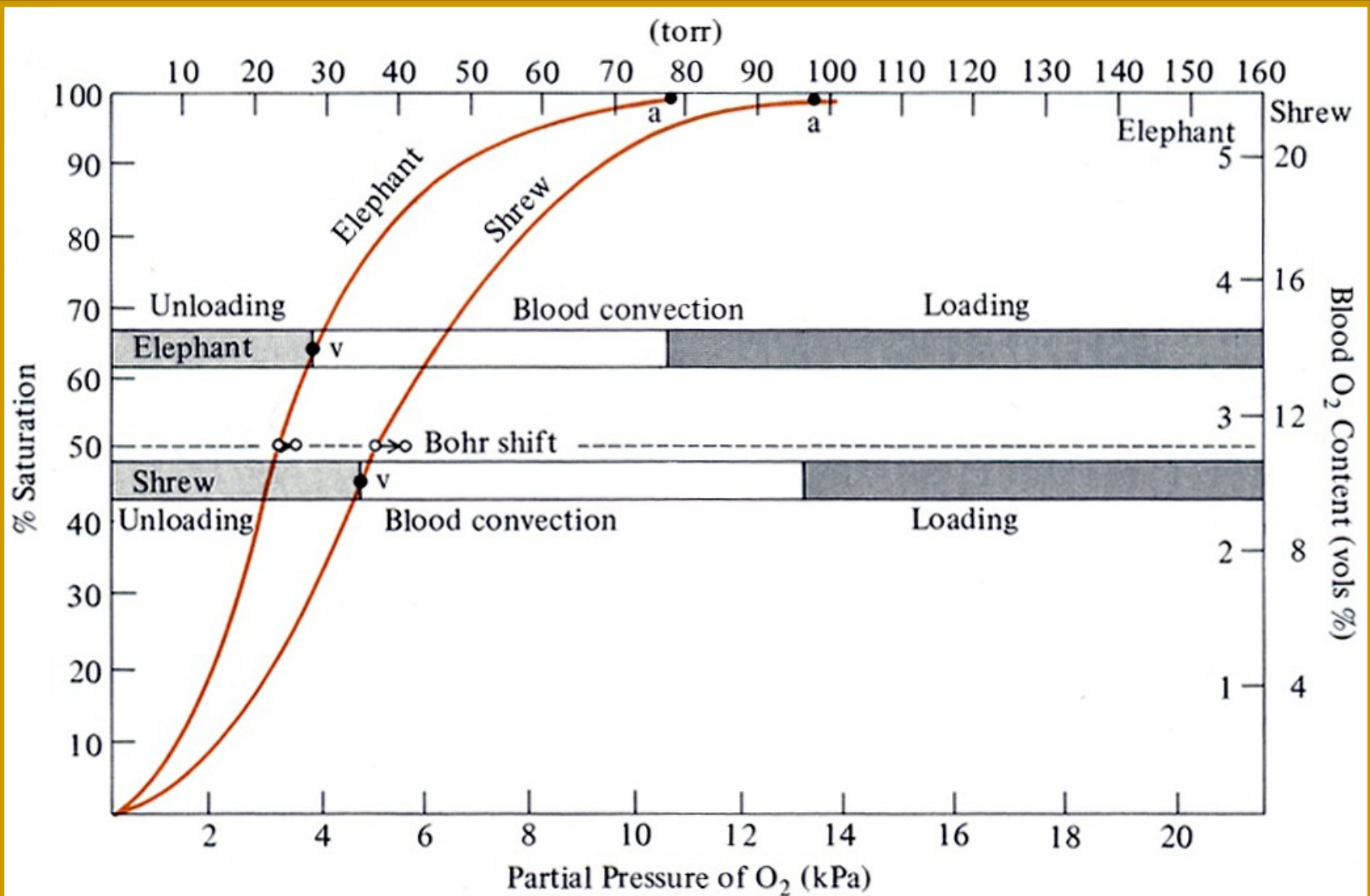
$n$  – kooperativní koeficient interakce molekul hemu při vazbě  $O_2$ , závislost na počtu hemových Molekul;  $n = 1$  pro 1 molekulu Hb (monomer);  $n = 2,6$  pro 4 molekuly Hb (tetramer);  
 200mer –  $n \sim 8$  (*Arenicola*); některé hemoglobiny  $n > 8$

# Účinek Bohrova a Rootova efektu/posunu na transport $O_2$ krví

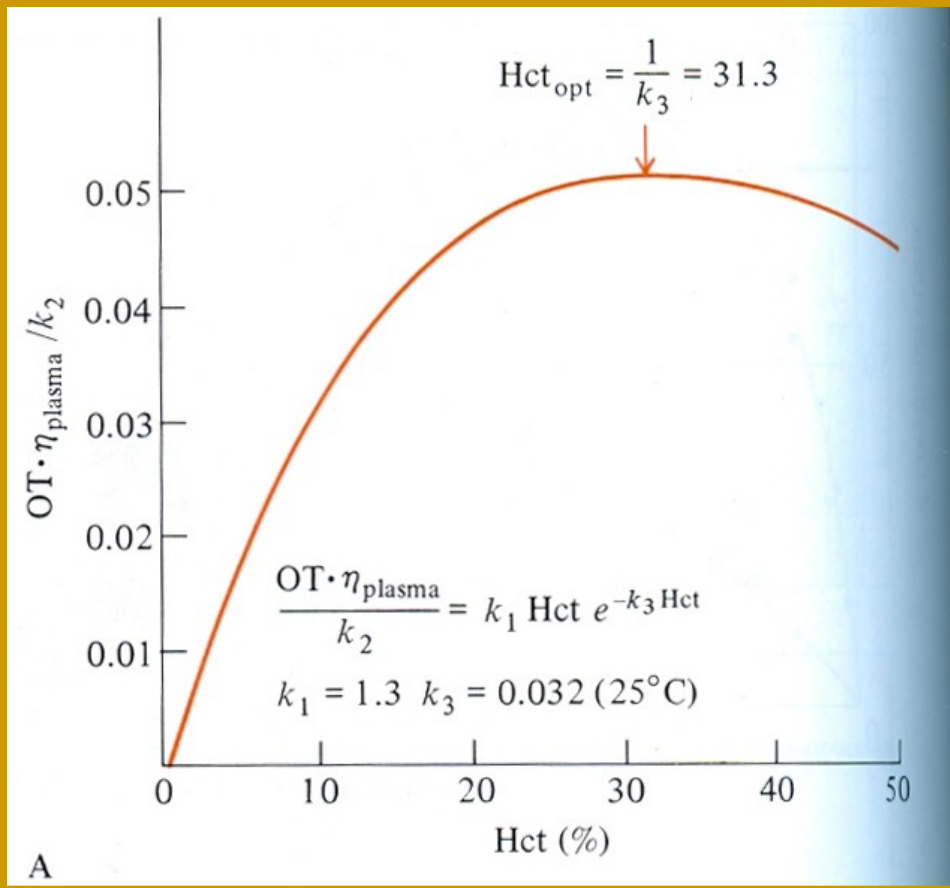


## Vliv intenzity metabolismu na disociační křivku hemoglobinu pro O<sub>2</sub>.

Menší živočichové mají intenzivnější metabolismus = větší spotřeba O<sub>2</sub> na 1g tkáně, rejsek (shrew) přibližně 40x větší než slon (elephant) => větší nároky na přenos O<sub>2</sub> z krve do tkání.



# Účinnost transportu kyslíku krví v závislosti na hematokritu / koncentraci hemoglobinu



Hct – hematokrit

OT – transportní kapacita  $O_2$

$OT = V_{\text{bl}} \cdot k_1 \cdot \text{Hct}$

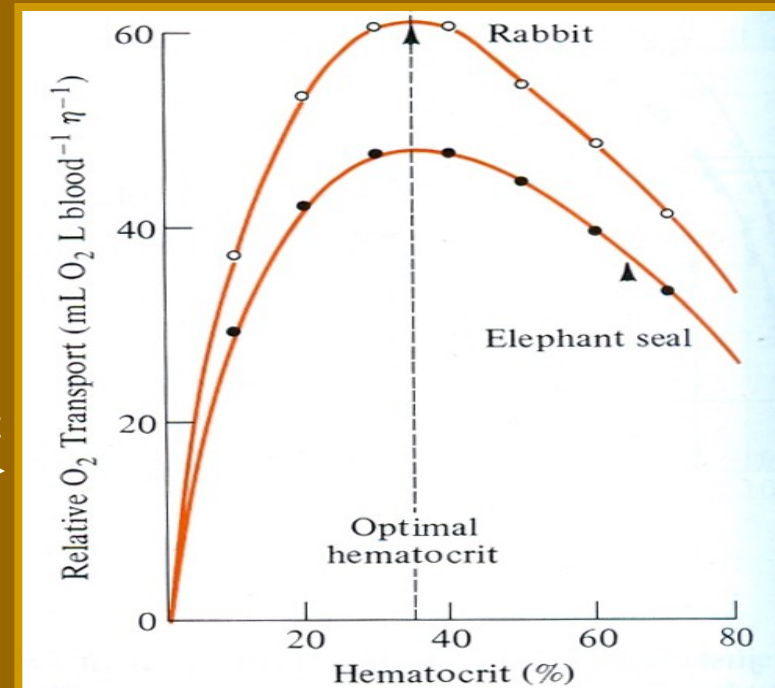
$V_{\text{bl}}$  – průtok krve (ml za minutu)

$k_1$  – relativní kapacita vazby  $O_2$  krví v závislosti na Hct (ml  $O_2$  / ml krve \* Hct)

$\eta_{\text{ve}}$  – viskozita krve =  $\eta_{\text{plasma}} e^{k_3 \text{Hct}}$

$k_2$  – konstanta charakterizující tlak a odpor cév

$k_3$  - konstanta



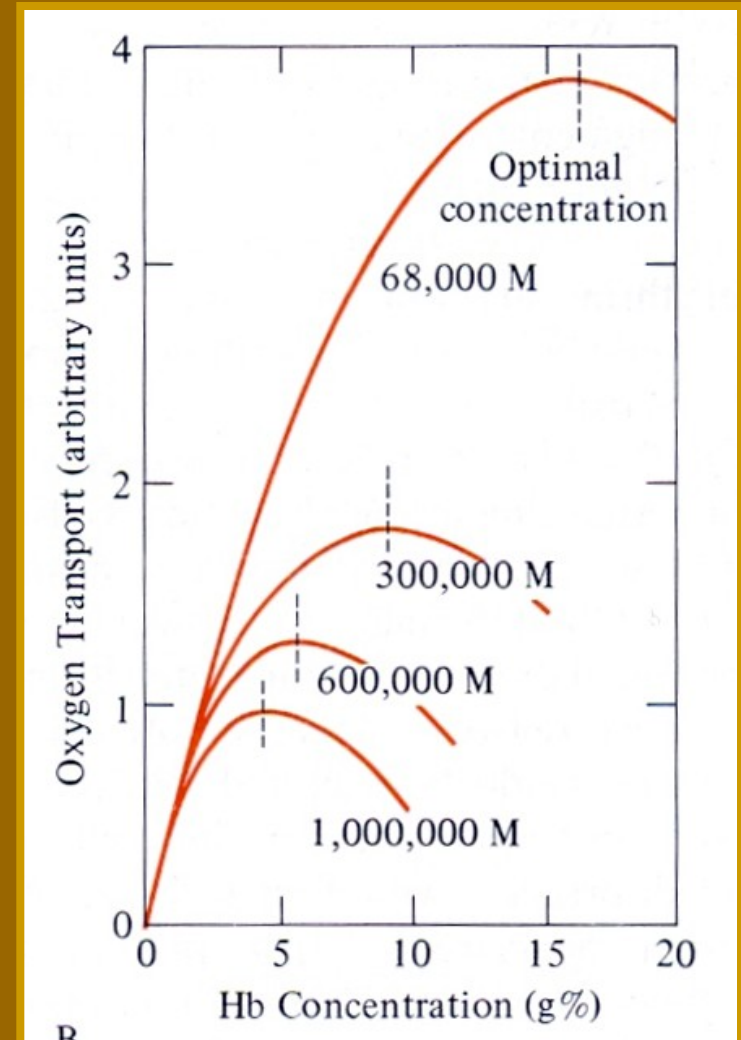
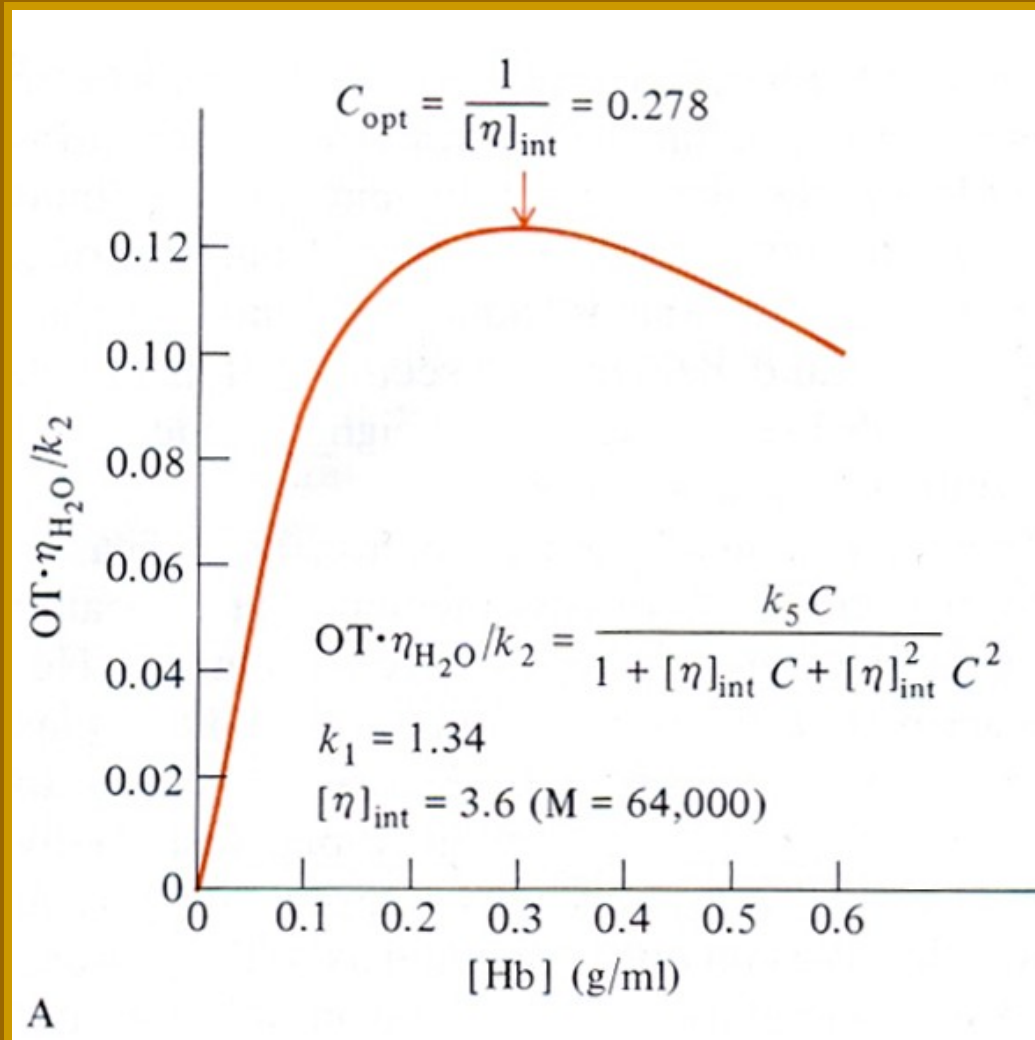
▲ OT *in vivo* x Opt. hematokrit

Posun umožňuje větší zásoby kyslíku v krvi

Vztah mezi transportní kapacitou O<sub>2</sub> (OT) a

A) koncentrací hemoglobinu

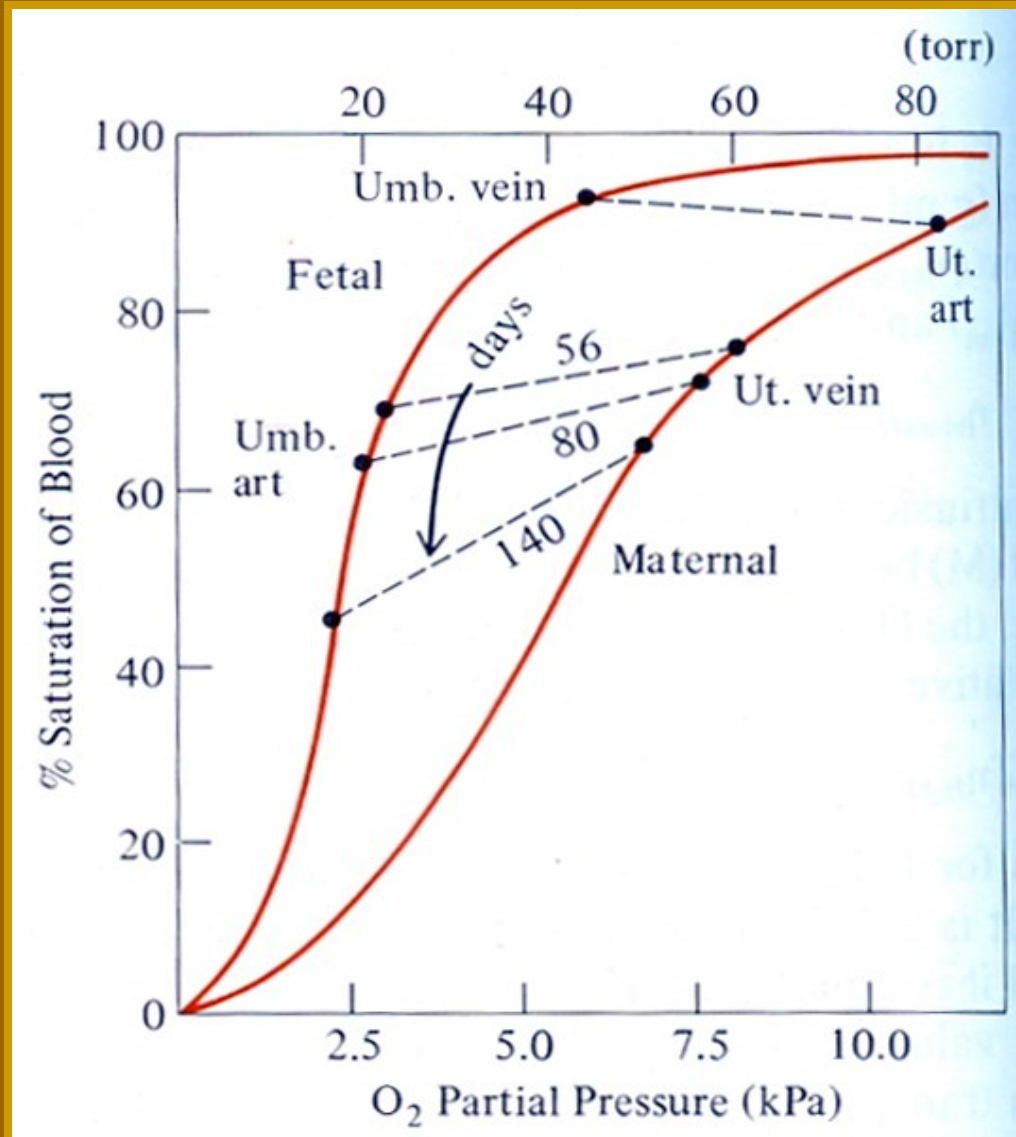
B) Molekulární hmotností hemoglobinu (M = Mr !!!)



viskozita x koncentrace (molární koncentrace)

## Saturační křivky krve O<sub>2</sub> u matky a plodu

- různé hemoglobiny
- podobný vztah i mezi dalšími O<sub>2</sub> přenášejícími barvivy, dle parciálního tlaku O<sub>2</sub> (př. myoglobin x hemoglobin)



# Zásoby O<sub>2</sub> - významné zejména pro potápějící se savce a ptáky

## Hemoglobin jako zásobárna O<sub>2</sub>

- 1,3 ml O<sub>2</sub> na 1g hemoglobinu
- > 15 g% hemoglobinu v krvi
- objem krve > 10 % tělní hmoty

## Myoglobin jako zásobárna O<sub>2</sub>

- koncentrace ve svalu > 5 %
- svaly 20-40 % tělní hmoty



Plicní zásoby O<sub>2</sub> – malý význam v důsledku redukce objemu vzduchu před potopením

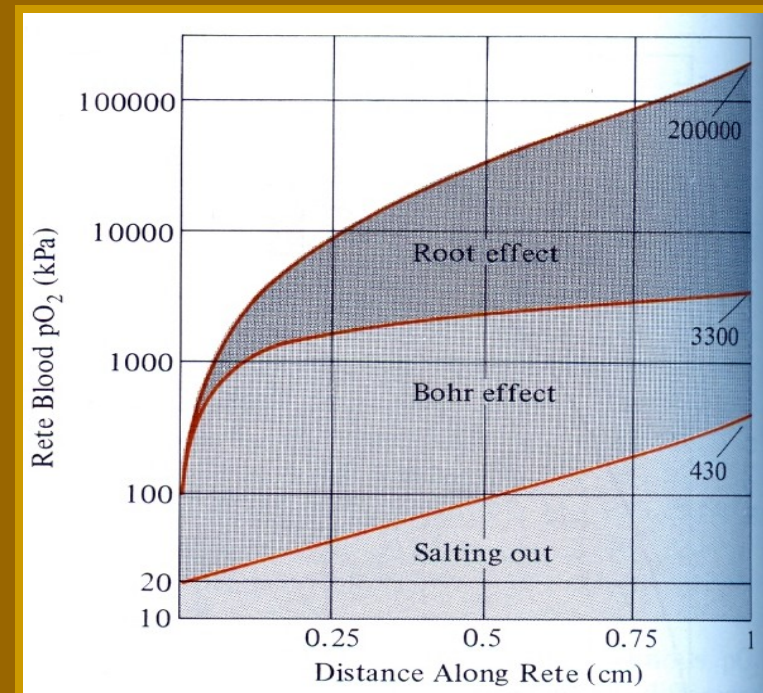
	Objem ml O <sub>2</sub> na kg tkáňové hmoty					
	pľíce	arteriální krev	žilní krev	svaly	rozpuštěno	celkem
člověk	12,2	2,8	10,1	0,9	1,9	27,9
kachna divoká	12,3	4,7	10,2	1,8	2	31,0
lvoun	16,5	5,0	7,2	8,1	2	39,4
polák chocholačka	19,8	6,3	13,6	1,8	2	43,5
mrož	17,4	7,7	11,5	10,0	2	48,6
lachtan medvědí	21,8	6,7	9,9	11,7	2	52,1
tuleň obecný	13,6	12,2	18,8	18,6	2	65,2
vydra mořská	51,2	6,1	9,4	8,8	2	77,5
tuleň pruhovaný	12,6	14,3	22,6	27,2	2	78,7

## Výměna O<sub>2</sub> v plovacím měchýři u kostnatých ryb

- objem je závislý na hloubce ponoření (10 m = 1 atm = 101 kPa)
- mechanismy pro uvolňování plynů do měchýře a zachování jeho konstantního objemu, mnohé druhy pak ještě žlázy pro zpětnou resorpci plynů
- problematické ve velkých hloubkách, parciální tlaky plynů v krvi obecně malé, parc. tlaky v měchýři značně narůstají s hloubkou
- nejsou mechanismy aktivního transportu, jen pasivně
- uplatnění Rootova (pCO<sub>2</sub>) efektu

Plynové žlázy se sítí cév napojených na plynový měchýř

- navození Root efektu anaerobním metabolismem (produkce H<sup>+</sup>, laktátu, CO<sub>2</sub>)
- vytěsňují O<sub>2</sub> z hemoglobinu
- zvýšení rozpuštěného pO<sub>2</sub>
- část O<sub>2</sub> přejde do plynového měchýře





## Transport CO<sub>2</sub> a jeho důsledky

za normálního stavu převažují hydrogen-uhličitanové ionty



zvyšující se pH zvyšuje množství uhličitanových iontů



CO<sub>2</sub> se také váže na –NH<sub>2</sub> skupiny proteinů (významné u odkysličené krve)



Obecně jsou malé rozdíly\*) mezi obsahem CO<sub>2</sub> v arteriální a venózní krvi – 1.8 objem.%

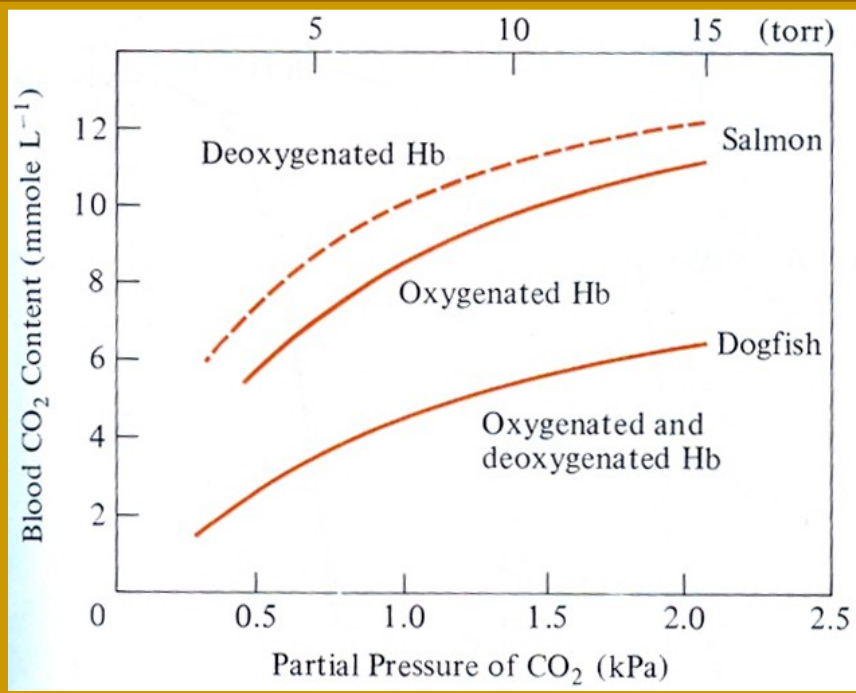
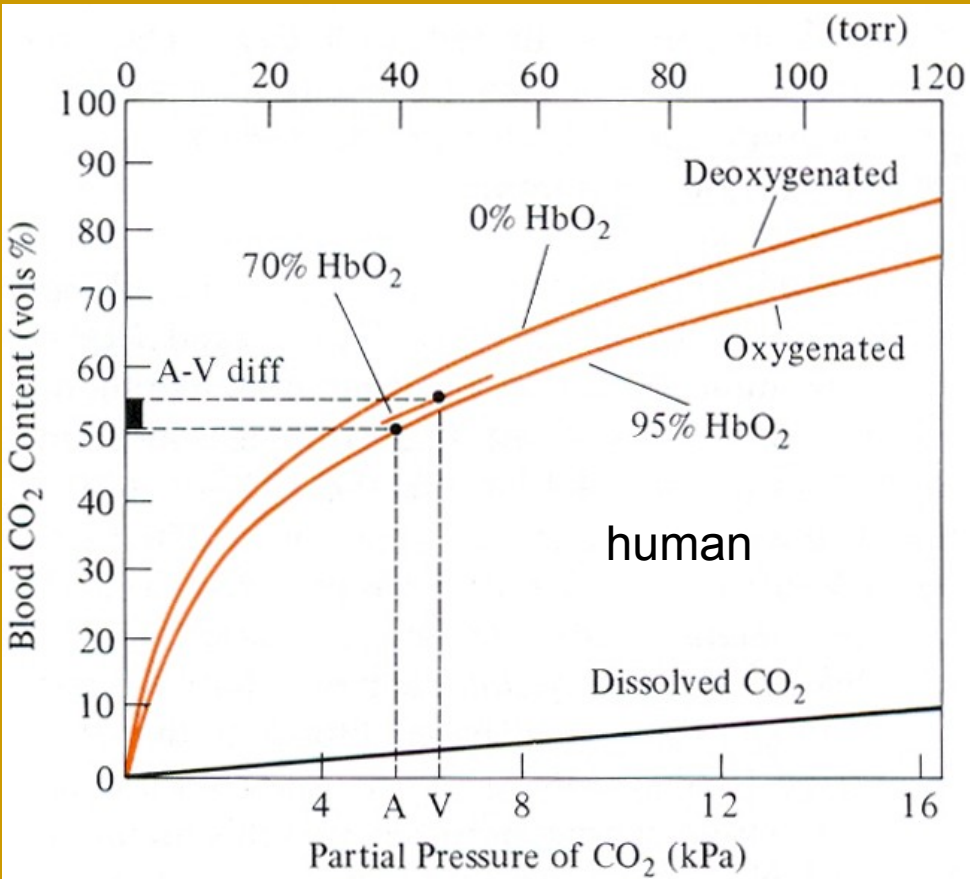
- okysličená krev: 48,2 objem.%, pCO<sub>2</sub> = 5,4 kPa (arterie)

- odkysličená krev: 50 objem.%, pCO<sub>2</sub> = 6,3 kPa (vény)

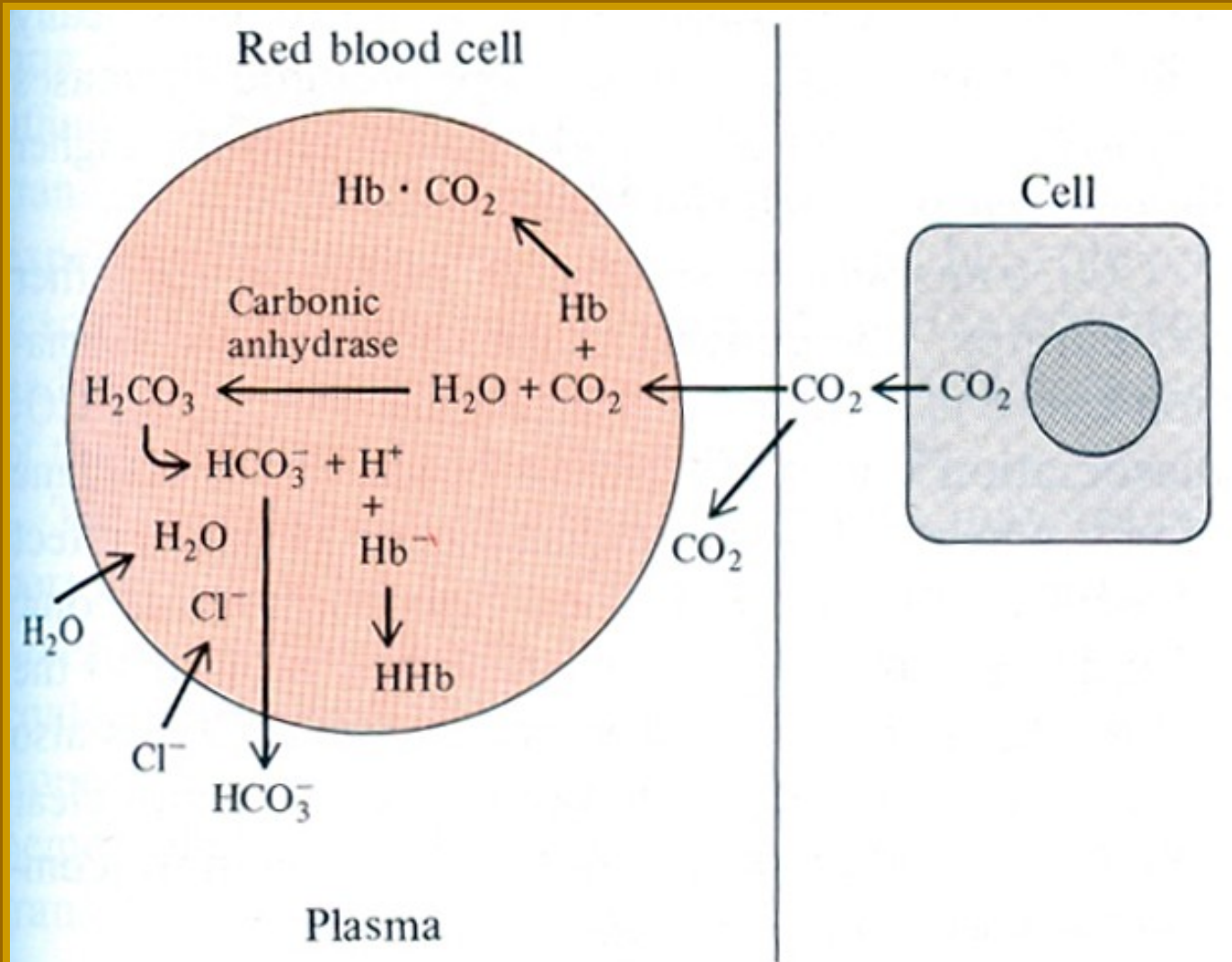
Odkysličená krev má vyšší obsah CO<sub>2</sub> pro stejný pCO<sub>2</sub> -> Haldanův efekt

\*) – parametry lidské krve, ale nejsou moc odlišné od ostatních obratlovců

# Haldanův efekt



# Úloha erytrocytů v transportu CO<sub>2</sub>



Membrána erytrocytů je málo prostupná pro kationty. Vznikající HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> je měněn za Cl<sup>-</sup> (chloridový / Hamburgerův efekt), s Cl<sup>-</sup> vstupuje i H<sub>2</sub>O => větší erytrocyty = vyšší hematokryt

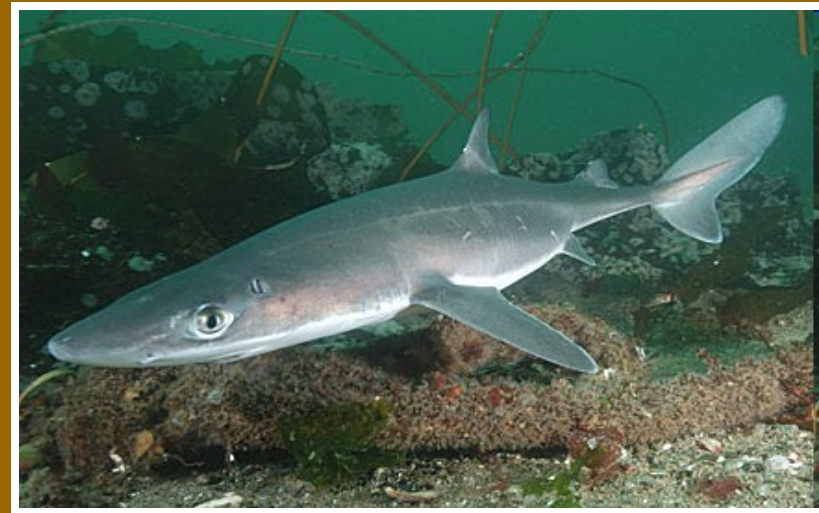
## Acido-bazická rovnováha

- voda má pH = 7 při 25°C
- pH tělních tekutin člověka ~ 7,6
- intracelulární pH ~ 7



$$\text{pH} = \text{pK} + \log \frac{[\text{A}^-]}{[\text{HA}]} \quad (\text{pK} = \text{pH} \text{ pro } [\text{A}^-] = [\text{HA}])$$

■ pufrční kapacita; ■ = ■ mol / ■ H



### Pufrační základ

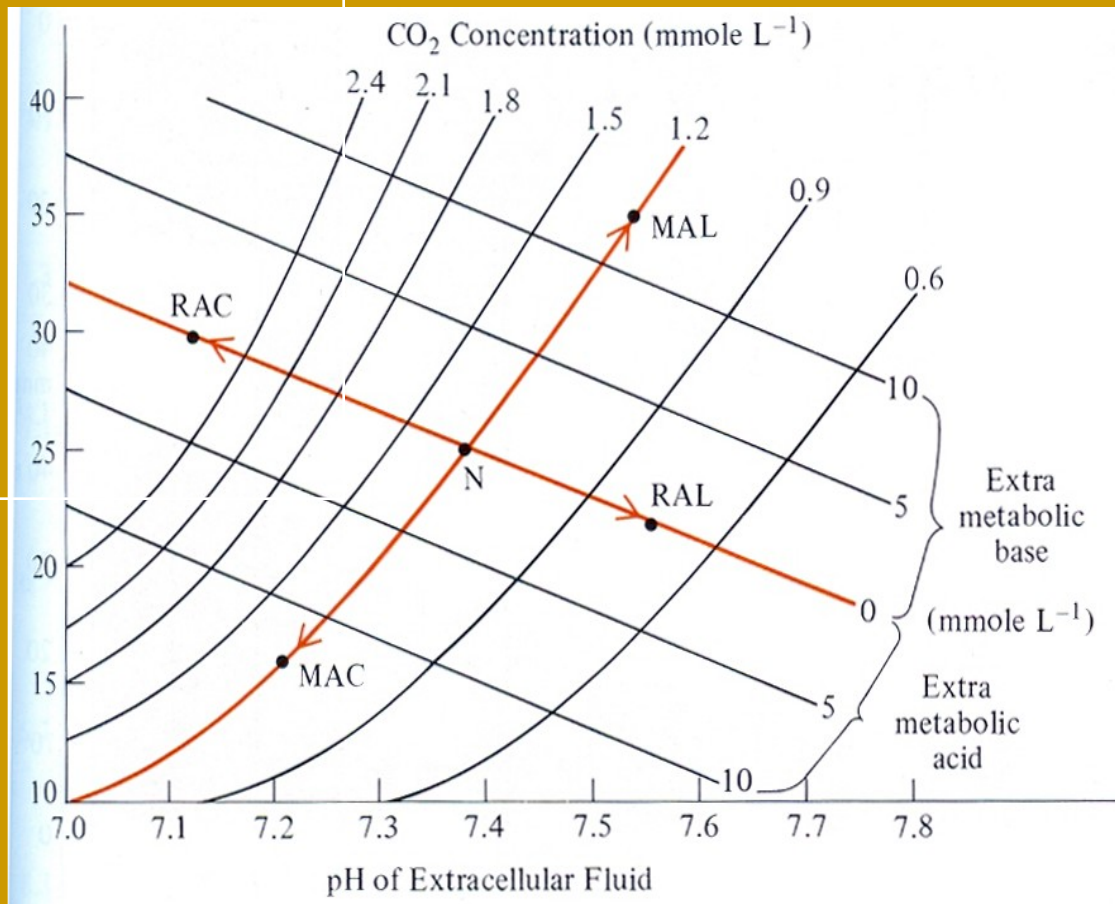
tělních tekutin tvoří celková koncentrace  $\text{HCO}_3^-$ , fosfátů a proteinových anionů.

Ostatní ionty (tzv. silné ionty) jsou plně disociovány a nepodílí se na pH.

## Pufrační kapacita plasmy a krve u různých druhů

Druh	Plasma	Krev
Bahník ( <i>Protopterus</i> )	15,2	15,2
Žralok ( <i>Squalus</i> )	6,5	9
Řas ( <i>Opsanus</i> )	6,7	6,7
Makrela ( <i>Scomber</i> )	14,8	14,8
Žábronoš ( <i>Necturus</i> )	8,0	8,0
Skokan ( <i>Rana</i> )	16,4	16,4
Aligátor	22,6	22,6
Bobr	27	27
Člověk	6,5	30,8

Vztah mezi  $\text{HCO}_3^-$  a pH  
(Daven-port diagram) - člověk



**RAC / RAL**

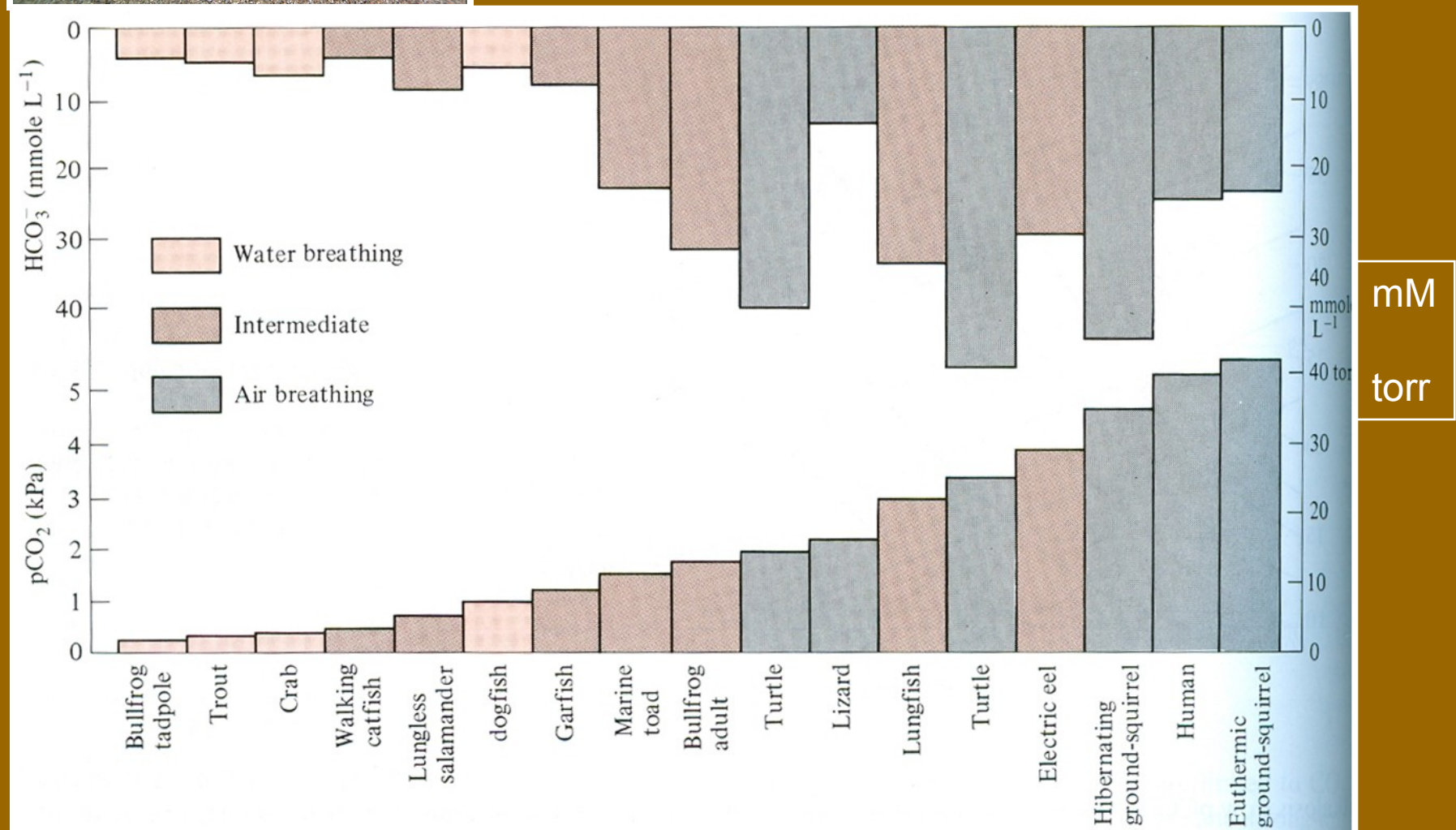
Respirační acidóza / alkalóza

**MAC / MAL**

Metabolická acidóza / alkalóza

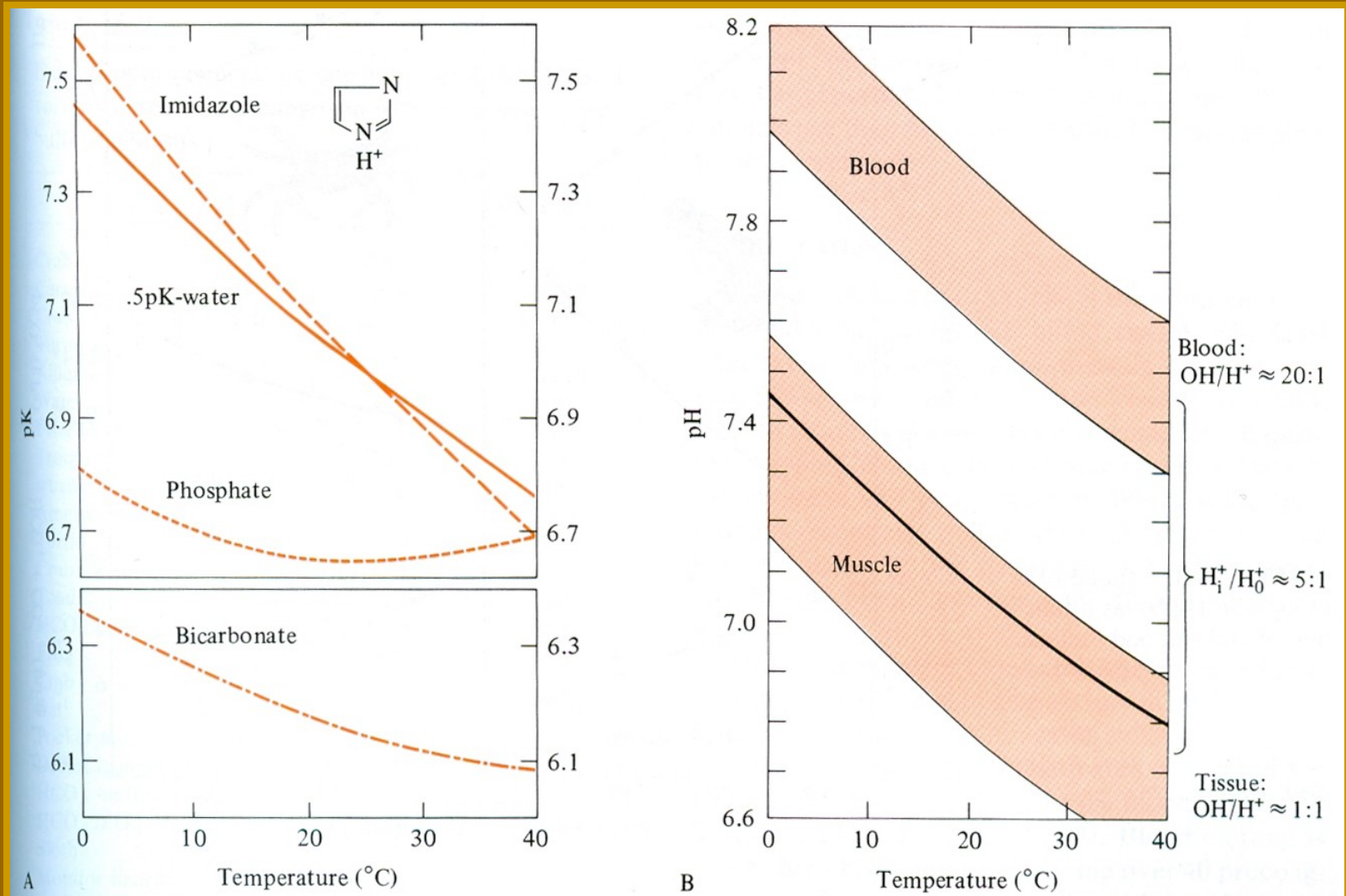


$p\text{CO}_2$  a koncentrace  $\text{HCO}_3^-$  u některých obratlovců,  
- srovnání pro vodní a vzdušné dýchání

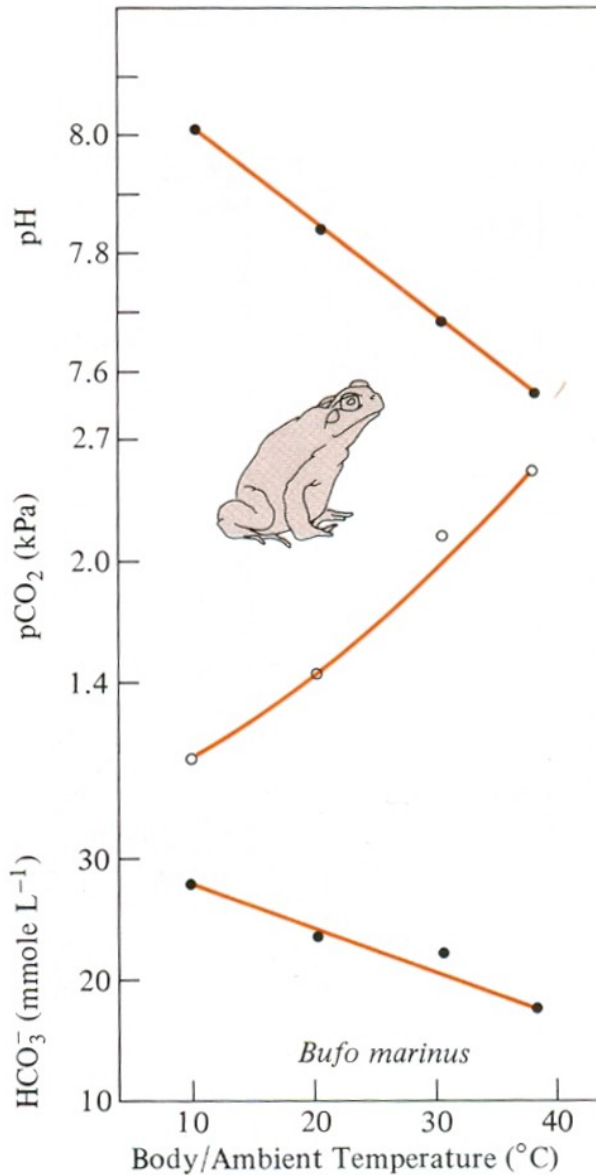


Závislost disociační konstanty na teplotě pro vodu a různé pufrы (A)

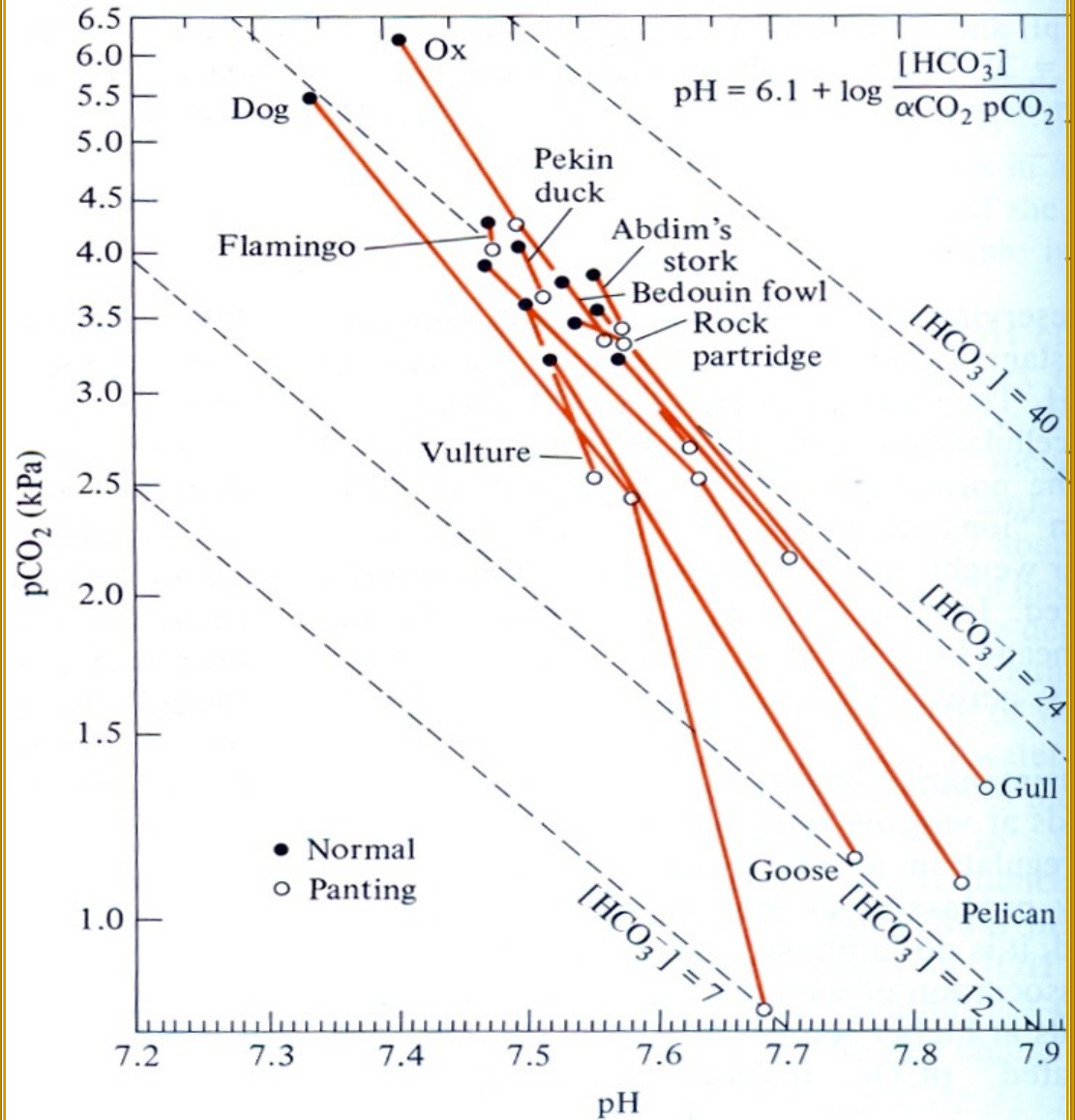
Závislost intracelulárního (svaly) a extracelulárního (krev pH) na teplotě (B)



pH krve,  $p\text{CO}_2$  a  $\text{HCO}_3^-$  versus teplota těla/okolí



Vtáh mezi  $p\text{CO}_2$  a pH krve u některých savců a ptáků v klidu „●“ a při oddechování „○“  
 Přerušovaná linie nekompenzovaný poměr pro danou koncentraci  $\text{HCO}_3^-$





## Změna pH v závislosti na teplotě (organismy x pufr)



■ H/■ C

Kapr	-0,019
Aligátor	-0,018
Voda	-0,017
Žába	-0,017
Pstruh	-0,017
Mořská želva	-0,016
Ropucha	-0,016
HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup> /imidazol pufr (25mM + 20mM)	-0,015
Žába	-0,013
netopýr	-0,009
myš	-0,009
Pouštní leguán	-0,008
HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup> pufr (25mM)	-0,005
HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup> /PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> pufr (25mM + 20mM)	-0,004
Lenochod	-0,003
Ještěrka	-0,002
Hibernující ježek	-0,002
Hibernující křeček	-0,002
Hibernující netopýr	0
Hibernující pozemní veverka	0



# IMUNITA



- základní homeostatický mechanismus
- udržování integrity organismu:
  - - obranyschopnost
  - - autotolerance
  - - imunitní dohled
- už u fylogeneticky nejstarších druhů

## IMUNITNÍ MECHANIZMY:

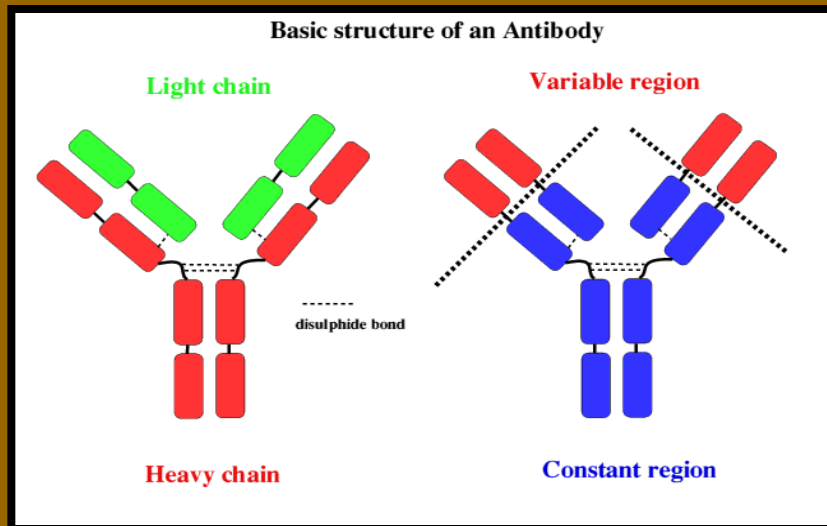
### Nespecifické

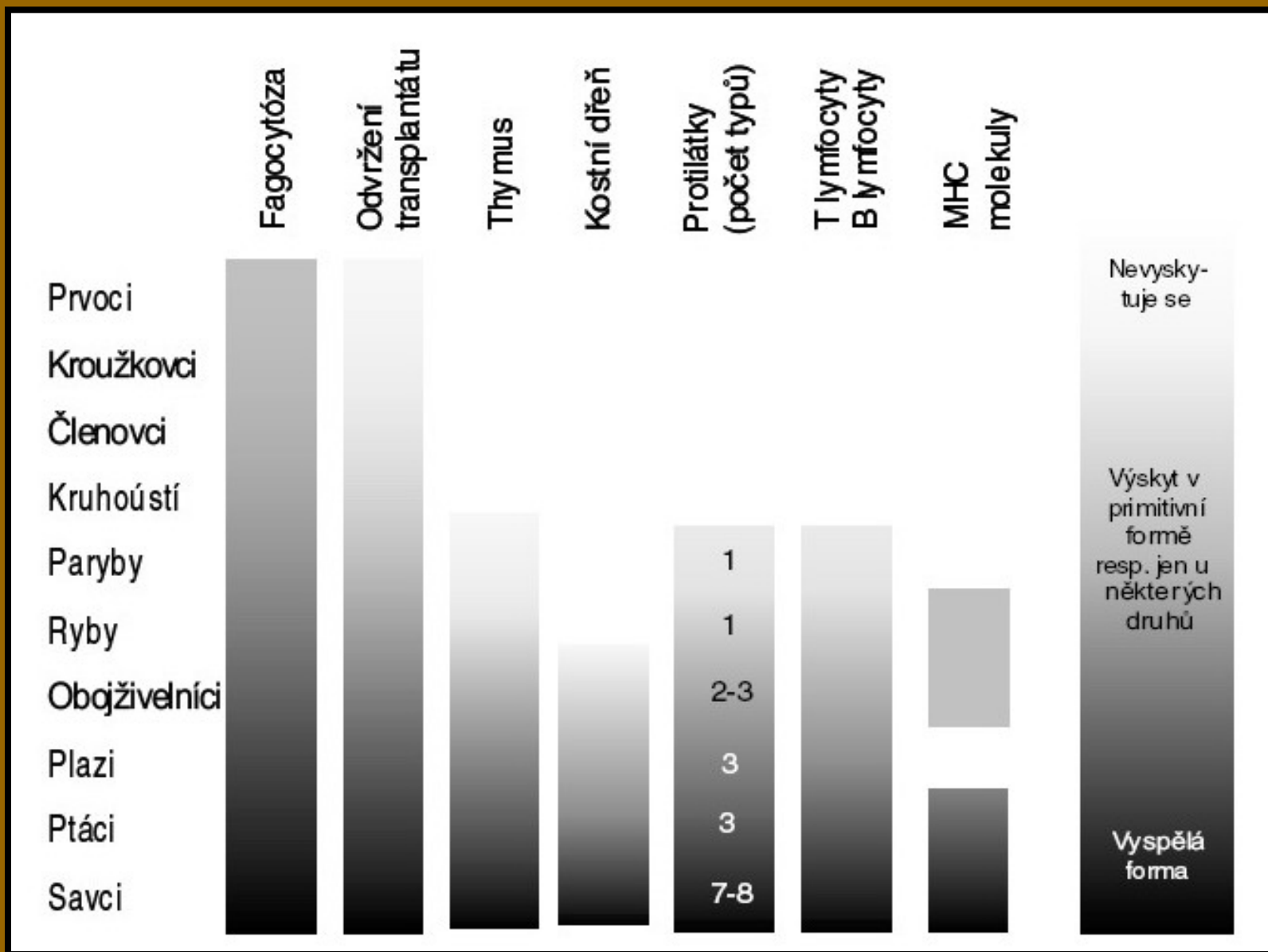
- evolučně starší
- bez imunologické paměti
- reakce na antigen (Ag) řádově v min.
- **bariéry** – mechanické, chemické (**lysozym**), mikrobiální
- složky: **buněčná** (fagocyty, NK) + **humorální** (komplement, interferony, lektiny, další sérové proteiny)

### Specifické

- evolučně mladší
- imunologická paměť
- reakce na Ag: dny – týdny
- složky: **buněčná** (T-lymfocyty) + **humorální** (protilátky – Ab)
- Úrovně → geny → molekuly → buňky → orgány (primární + sekundární)

Fakta z roku 1980 (1992)	reakce	imun. spec. reakce	imun. paměť	fago-cytóza	enkap-sulace	nespec. humor. faktory	ameboid. fagocyty	diferen-ciace leuko-cytů	protilát ky
Protozoa	A	N	N	A	N	N	N	N	N
Porifera	A	A	A	N	A	N	N	N	N
Cnidaria	A	A	A	N	A	N	N	N	N
Annelida	A	A	?	A	A	A	A	asi A	N
Mollusca	A	?	?	A	A	A	A	N	N
Arthropoda	A	?	A	A	A	A	A	N	N
Echinodermata	A	A	A	A	A	A	A	A	N
Tunicata	A	asi A	A	A	A	A	A	A	N
Vertebrata	A	A	A	A	N	A	A	A	A





## A. Bezčelistnatci (*Agnatha*)

**Sliznatky** (*Myxinoidea*) nemají organizovaný thymus a jsou vybaveny jen jednoduchými hematopoetickými a lymfopoetickými tkáněmi; krevní „lymfoidní hemoblasty“ zajišťují funkce jak krvinek, tak zánětlivých buněk. Sliznatky jsou schopny „senzibilizovanými lymfocyty“ vypudit cizí štěpy a projevit známky imunologické paměti. V séru se nachází několik bílkovin s vlastnostmi imunoglobulinů.

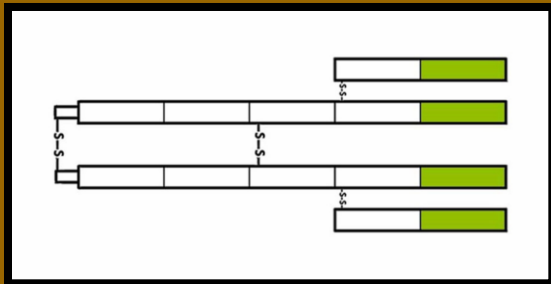


**Mihule** (*Petromyzones*) - v krvi hemaglutininy a antibakteriální látky odpovídající Ig vyšších obratlovců, fylogenetický přechod mezi protilátkami bezobratlých a obratlovců.



## B. Čelistnatci (*Gnathostomata*)

Mají již zřetelný thymus, slezinnou bílou pulpu a dokonalejší tkáňové i krevní lymfocyty, a objevují se u nich **poprvé i plazmatické buňky**. Aloštěpová reakce je velmi účinná, v krvi přibývá imunoglobulinů, prudčeji probíhají reakce zprostředkované protilátkami IgM.





## **Paryby (*Chondrichthyes*)**

- typické Ig (2 lehké + 2 těžké řetězce),  
1 typ Ab – IgM.
- u žraloků brzlík a slezina

## **Ryby (*Pisces*)**

- tkáňové Ag – MHC
- aktivita IgM závisí na teplotě (jako u všech poikilotermů)
- proteiny komplementu uniformní
- plně diferencovaný brzlík a slezina



# Obojživelníci (*Amphibia*)

V souvislosti s přechodem z vody na souš

- Kvalitativně vyším stupněm imunity
- Jsou vytvořeny uzliny a již existuje systém T i B lymfocytů
- Ve střevní tkáni lze nalézt velké množství plazmocytů.



## Mloci (*Urodela*)

- nejsou MHC
- hemopoéza v kostní dřeni neprokázána, probíhá v ledvinách a játrech



## Žáby (*Anura*)

- Silný MHC
- 2 druhy Ab (IgM a IgG)
- prokázána alergická reakce
- hemopoéza v kostní dřeni
- sekundární lymfat. org. (slezina, ledviny, lymfatické uzliny)
- GALT (gut associated lymphoid tissue).



# Plazi (*Reptilia*)

- Podobnost s IS obojživelníků
- Jsou zde přítomny protilátky IgM a objevují se předchůdci IgG, navíc i „slizničního“ IgA.
- Hemopoéza – kostní dřeň, slezina, thymus (s přibývajícím věkem involvuje), v hltanu tonzily
- Není spolehlivě prokázán MHC
- GALT v podobě kloakálního komplexu (anatomicky podobný Fabriciově burze ptáků, ale není jejím ekvivalentem)



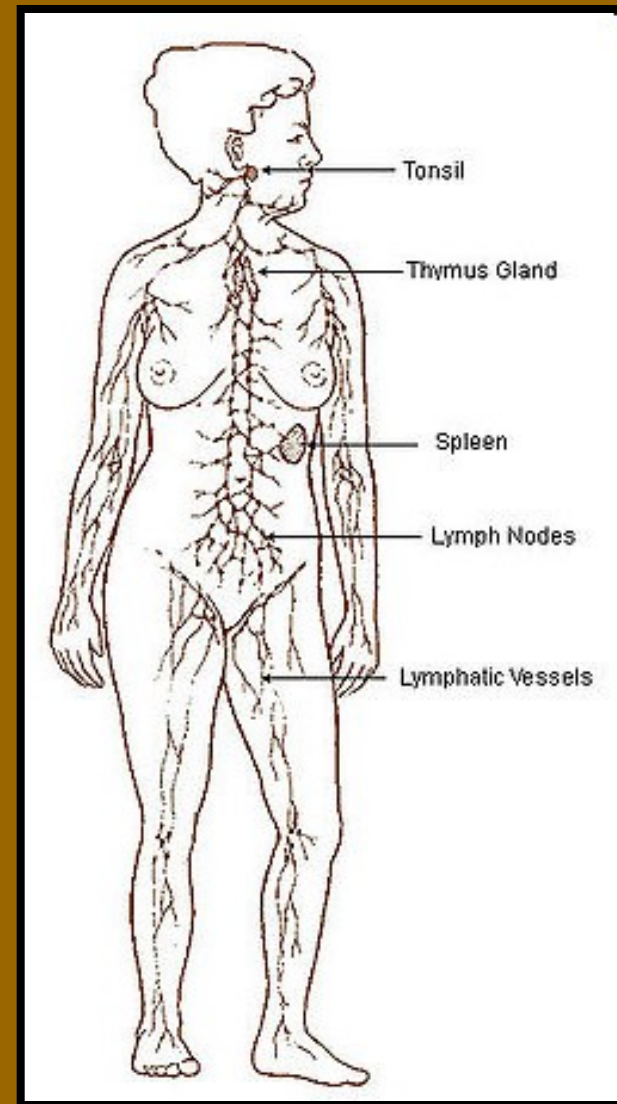
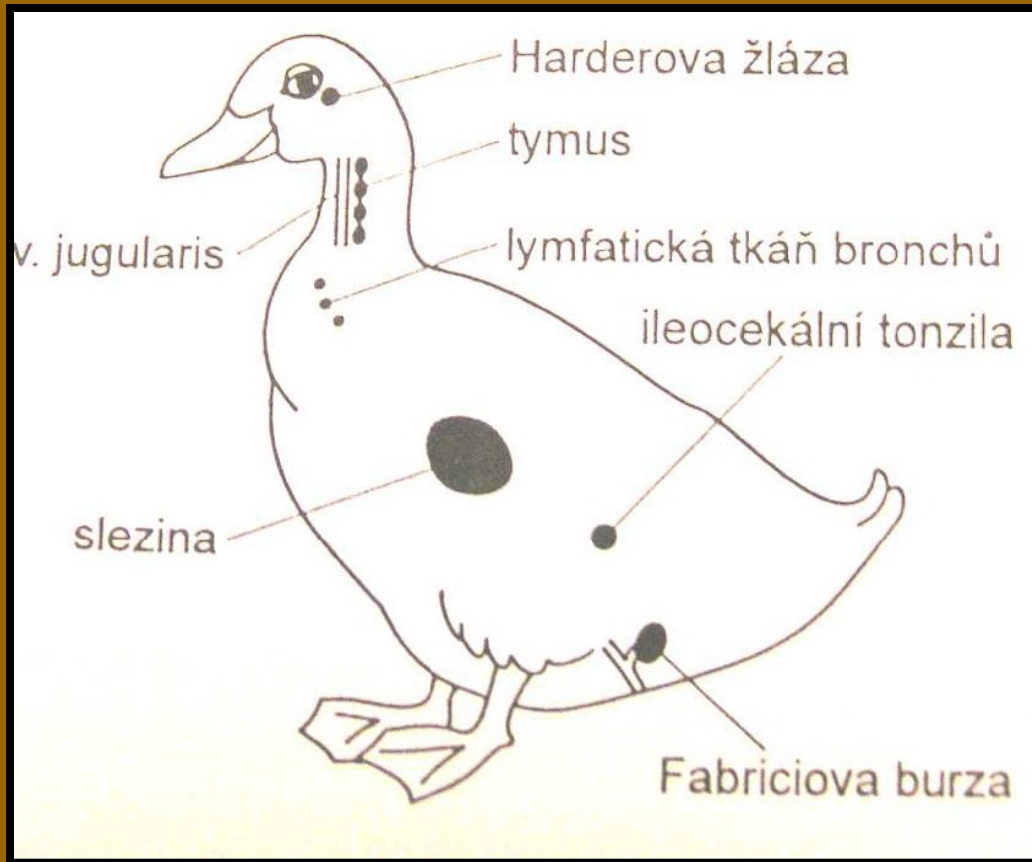
- Krokodýli (*Crocodylia*) mají velmi účinné baktericidní proteiny v krvi (odolnost i proti *Staphylococcus aureus*...)

# Ptáci (Aves)

- Zdokonalení lymfoidního systému. Vedle plně vyvinutého thymu (všechny 3 typy T lymfocytů – Th, Tc i Ts) a kostní dřeně se vytvořila Fabriciova burza (bursa Fabricii) - hlavní orgán humorální imunity.
- Dále slezina, lymfat. uzliny (nejsou u kurovitých), Peyerovy plaky, Harderova a pineální žláza.
- Lymfat. tkáň má také difúzní podobu, její ohniska téměř ve všech orgánech – např. myokard, endokrinní org., játra, ledviny, pankreas i příčně pruhovaná svalovina
- BALT (bronchus associated lymphoid tissue)



## Lokalizace lymfatických orgánů ptáků a savců

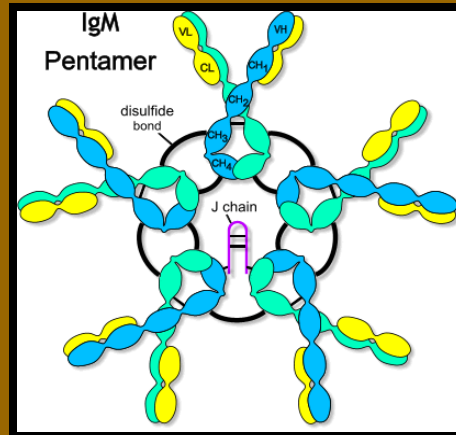


System lymfatických cév (*vasa lymphatica*) není u ptáků tak vyvinut jako u savců. Sbírají lymfu z pletení tvořených lymfatickými kapilárami a odvádějí ji do doprovodných krevních žil. Lymfatické srdce a lymfatické uzliny se vyskytují pouze u kachen a hus.

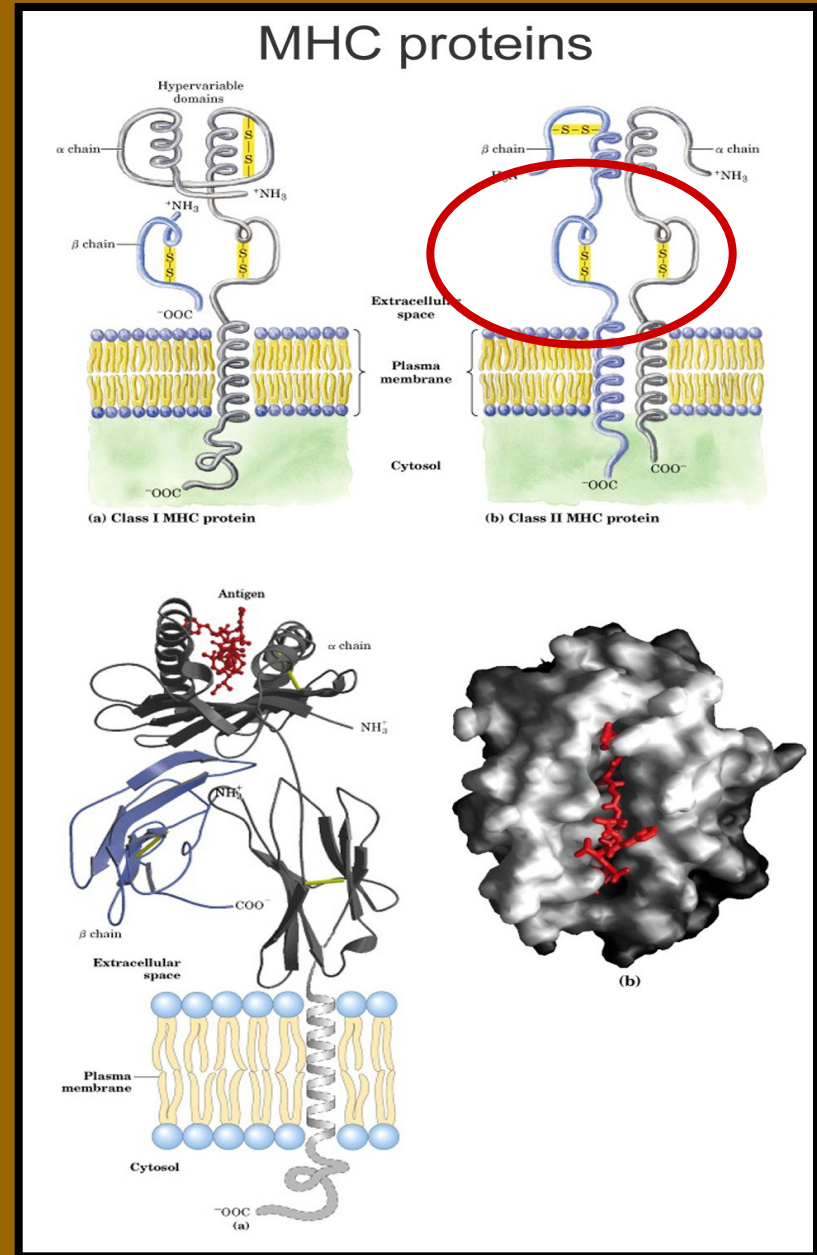
# Savci

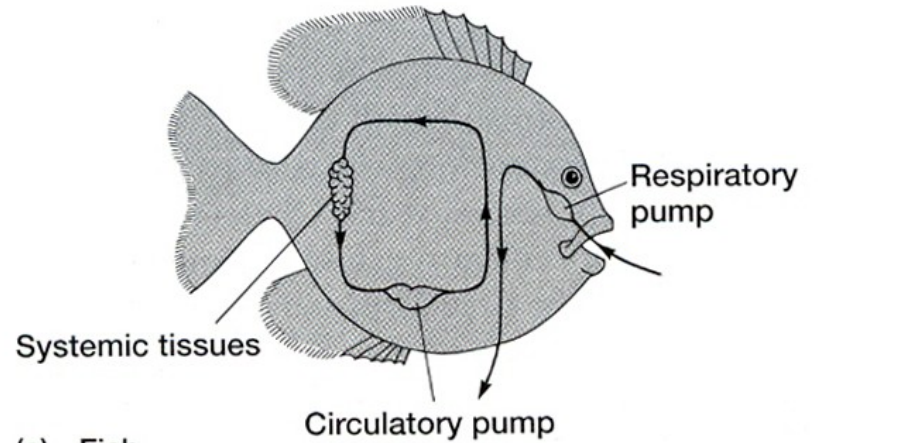
- Savci včetně člověka mají dokonale vybudovaný thymus a systém buněčné imunity. Ig 5 resp. 9 typů (IG1-4, IgM, IgA1-2, IgD, IgE).
- Společný původ řady významných povrchových znaků a receptorů dokazují přesvědčivě analogie a podobnosti v jejich struktuře u nízkých živočišných forem a savců (člověka). Platí to pro druhové, diferenciační i histokompatibilitní znaky i pro receptory fagocytů, dendritických buněk a NK buněk i T a B lymfocytů.
- Geny pro receptory T-lymfocytů a geny pro receptory B-lymfocytů (imunoglobuliny) se začaly odštěpovat od původních pragenů asi před miliardou let a osamostatňovat se před zhruba 600 milióny let. Vývojové zmnožování a rozrůzňování probíhalo pomalu, ale trvale. K divergenci histokompatibilitních znaků I. a II. třídy došlo asi před 200 milióny let.
- Základem vzniku nejspíše selekční tlak vnějšího + vnitřního prostředí, hlavní hnací síla: vztah parazit-hostitel.

# Savci (zajímavosti)

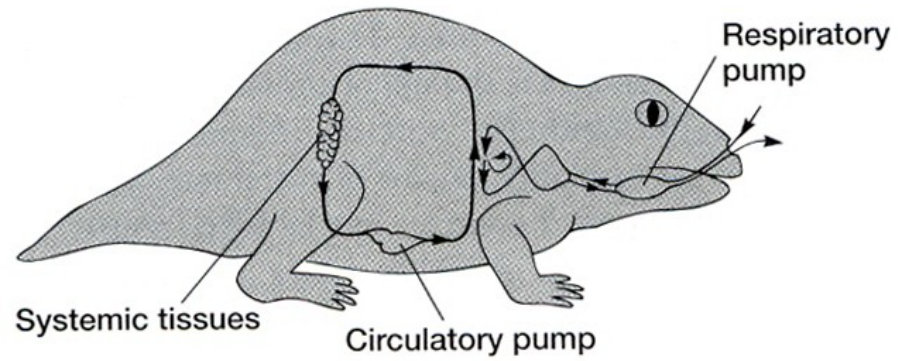


- IgM – 1. Ig ve fylogenezi i ontogenezi
- velbloudi nemají lehké řetězce Ig
- gepard – nízký polymorfismus MHC (bottle neck effect) => genet. homogenizace => citlivost k infekcím, vysoká úspěšnost transplantací (~inbrední kmeny laboratorních zvířat)
- primáti – transplacentární přenos IgG, ostatní skupiny – IgG přes sliznice do mateř. mléka





(a) Fish



(b) Tetrapod