

Témata:

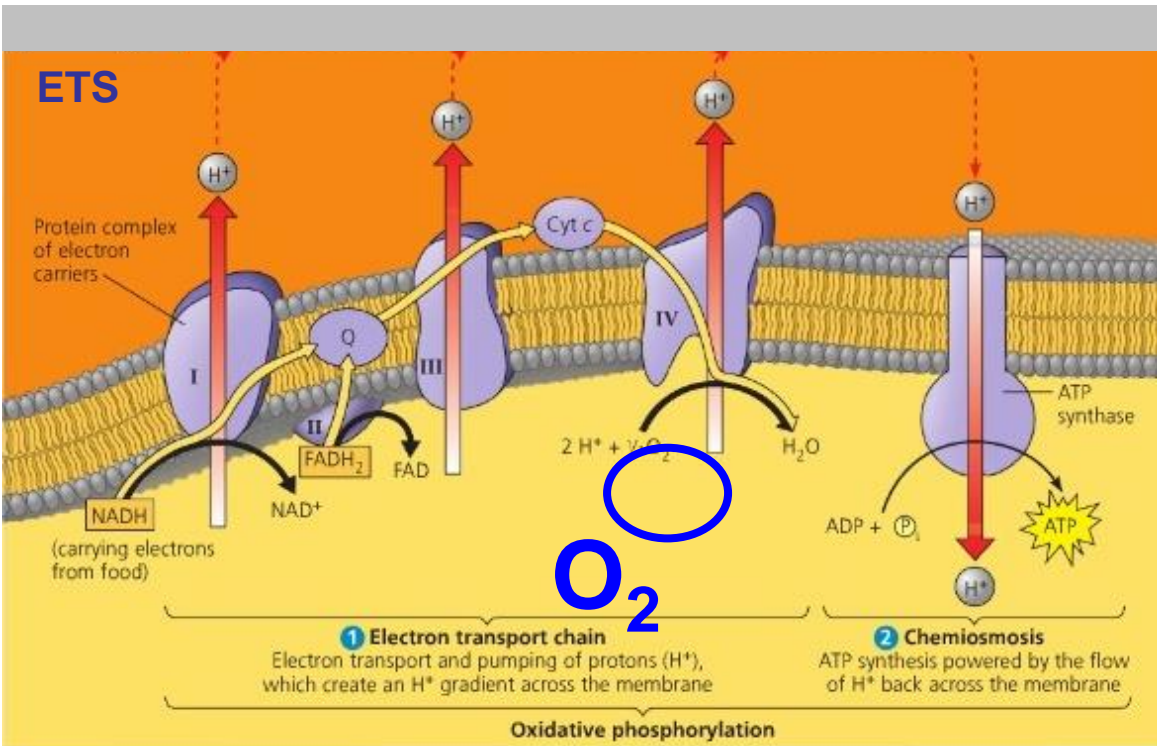
- evoluce kyslíkaté atmosféry
- přehled dýchacích soustav
- rybí žábry, plíce ptáků a savců
- transport plynů krví
- RBC
- hemoglobin
- regulace dýchání
- oxidativní stres

části uvedené v šedivém poli jsou doplňkové informace ...

- úkolem dýchací soustavy je:

- ve spolupráci s oběhovou soustavou:
- **zajistit dostatečný příjem O_2 pro buněčné dýchání**
a tím zabezpečit vysoký energetický zisk z oxidace živin
- **a zároveň zajistit dostatečně rychlý odvod CO_2 od buněk**
a tím zabránit okyselení prostředí (acidóze)

- nedostatek kyslíku je především energetický problém ...



Electron Transfer System

- jestliže není dostatek kyslíku jako finálního akceptoru elektronů (tzn. elektronů získaných z vazeb molekul živin ... viz přednáška o metabolismu)

- zastaví se celý dýchací řetězec (ETS)

- zpomalí se Krebsův cyklus (TCA)

- nedochází k reoxidaci NADH na NAD⁺ v dýchacím řetězci

= nevyrábí se ca. 30 - 32 molekul ATP na jednu molekulu glukózy

- aktivizuje se anaerobní část glykolýzy včetně fermentační dráhy (LDH)

= vyrábí se pouhé ca. 2 molekuly ATP na jednu molekulu glukózy

= **nastává citelný nedostatek energie pro hlavní spotřebitele:**

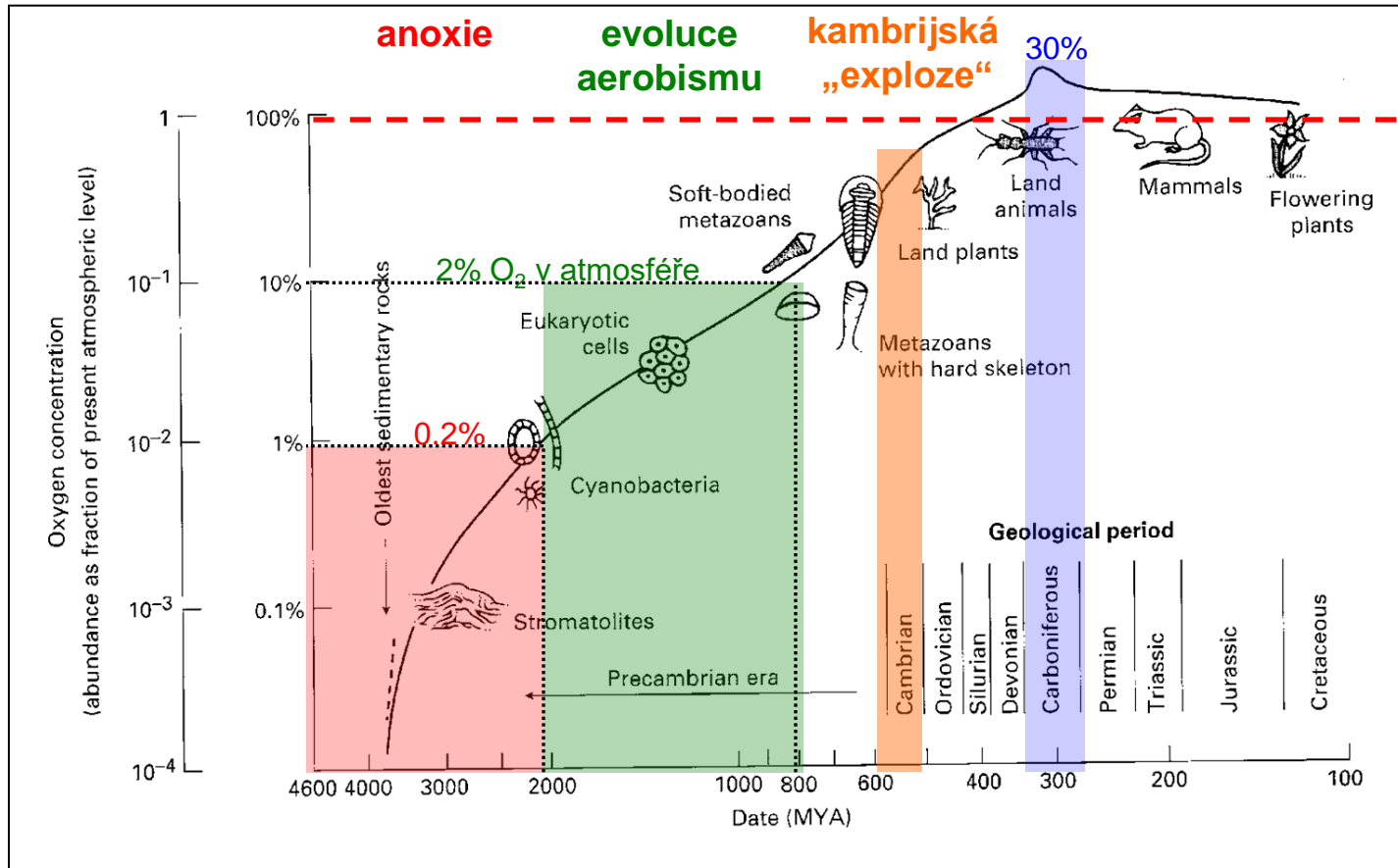
svalové stahy (pohyb)

obrat proteinů (buněčné funkce)

transporty iontů (elektrochemický potenciál)

Evoluce kyslíkaté atmosféry

- prvotní atmosféra Země neobsahovala kyslík



• současný stav:

• 21% ve vzduchu (210 mL/L)

$$pO_2 = 160 \text{ Torr (mm Hg)} = 21.3 \text{ kPa}$$

• 0.7% ve vodě (7mL/L)

(15°C, sladká)

$$pO_2 = 160 \text{ Torr (mm Hg)} = 21.3 \text{ kPa}$$

Anoxická perioda

- první volný kyslík mohl vznikat fotolýzou vody
- později fotosyntézou

Detoxifikace kyslíku

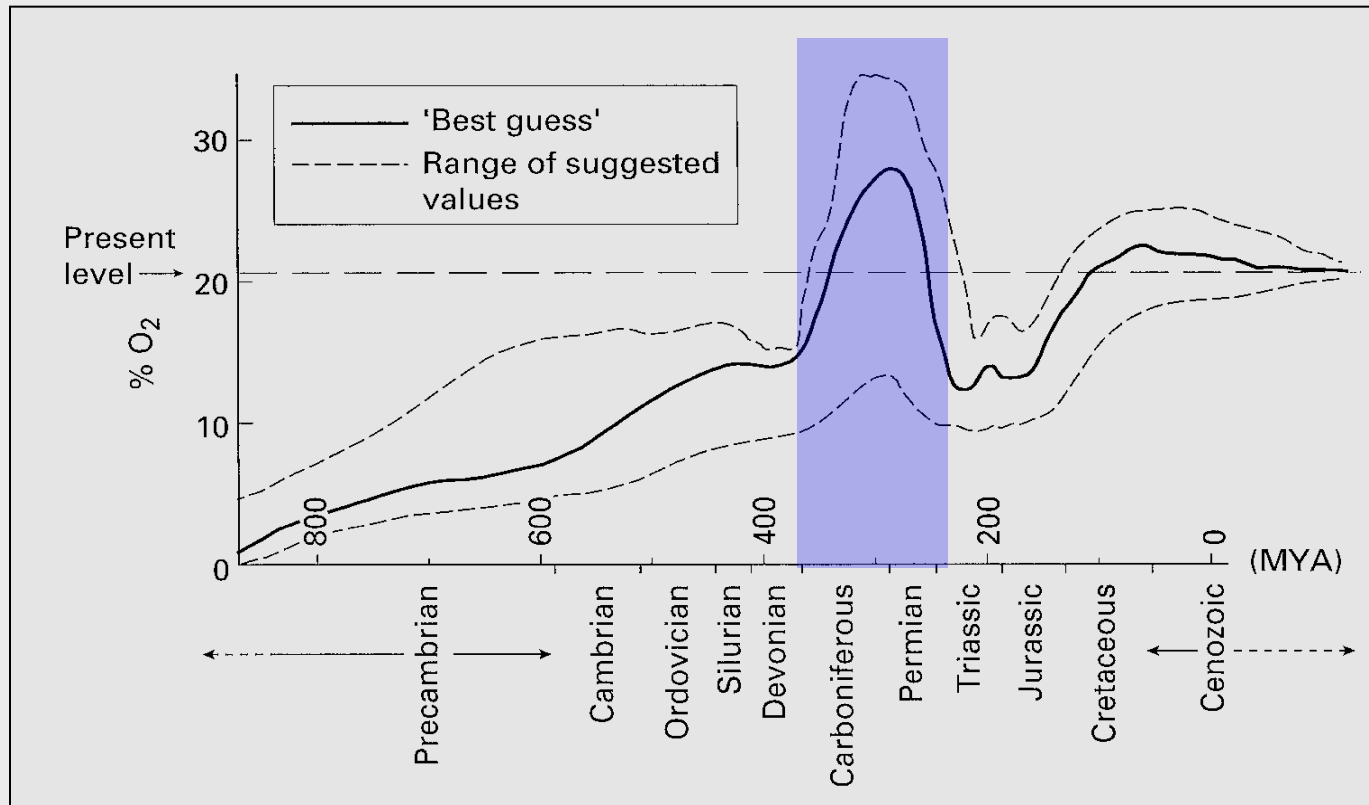
- patrně polyfyletický původ
- přístup k chemické energii jako *bonus*

Evoluce aerobismu

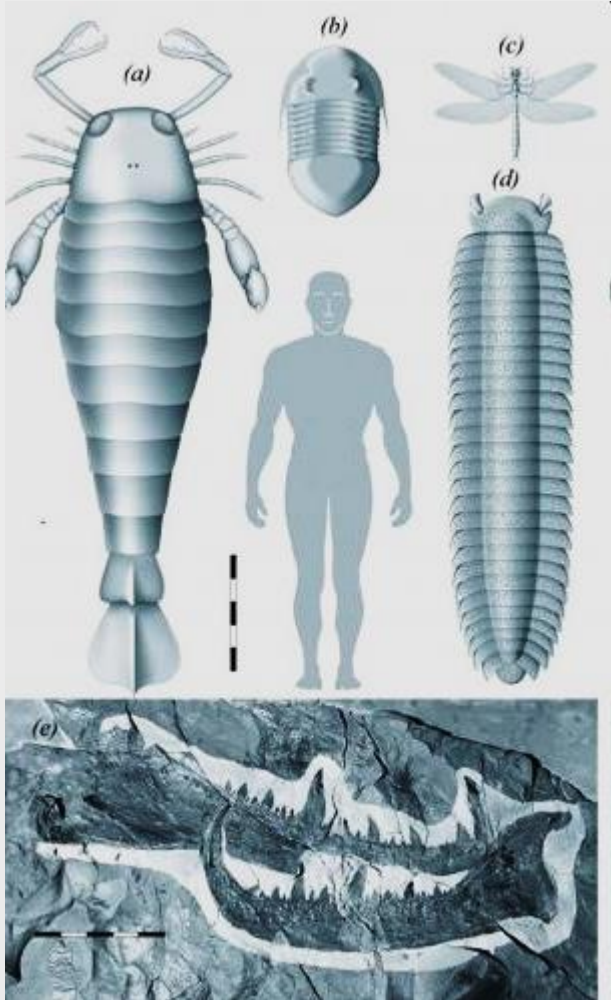
- plně rozvinut ještě před „kambrijskou explozí“ metazoi

Karbonské maximum

- koncentrace možná dosahovaly kolem 30%

• **karbonské maximum**

- vysoká koncentrace kyslíku patrně umožnila rozvoj gigantických forem členovců

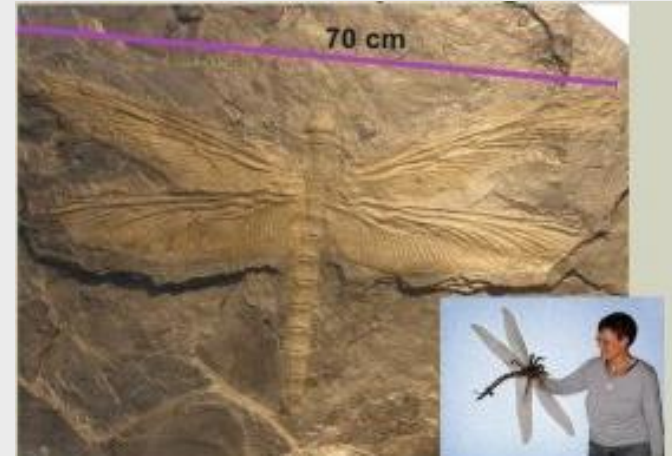


a) *Jaekelopterus rhenaniae*
(Eurypterida, Crustacea)

b) *Isotelus rex* (Trilobita)

c) *Meganeura monyi*
(Protodonata, Insecta)

d) *Arthropleura armata*
(Myriapoda)



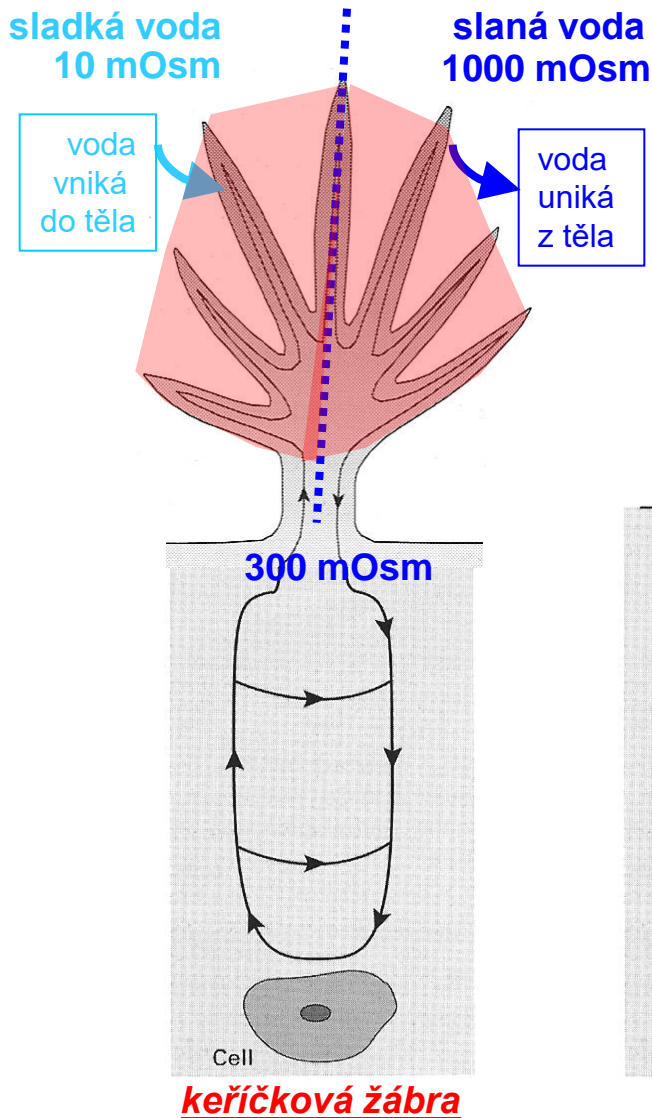
- difúze kyslíku dlouhými vzdušnicemi pravděpodobně limituje možnou velikost, které je schopen dosáhnout vzdušnicovec (dalším limitem mohou být biomechanické vlastnosti exoskeletu)

Braddy, S. J., Poschmann, M. & Tetlie, O. E. 2008. *Biology Letters* 4, 106-109.

- při zvýšených koncentracích O₂ by tento limit mohl být posunut ...

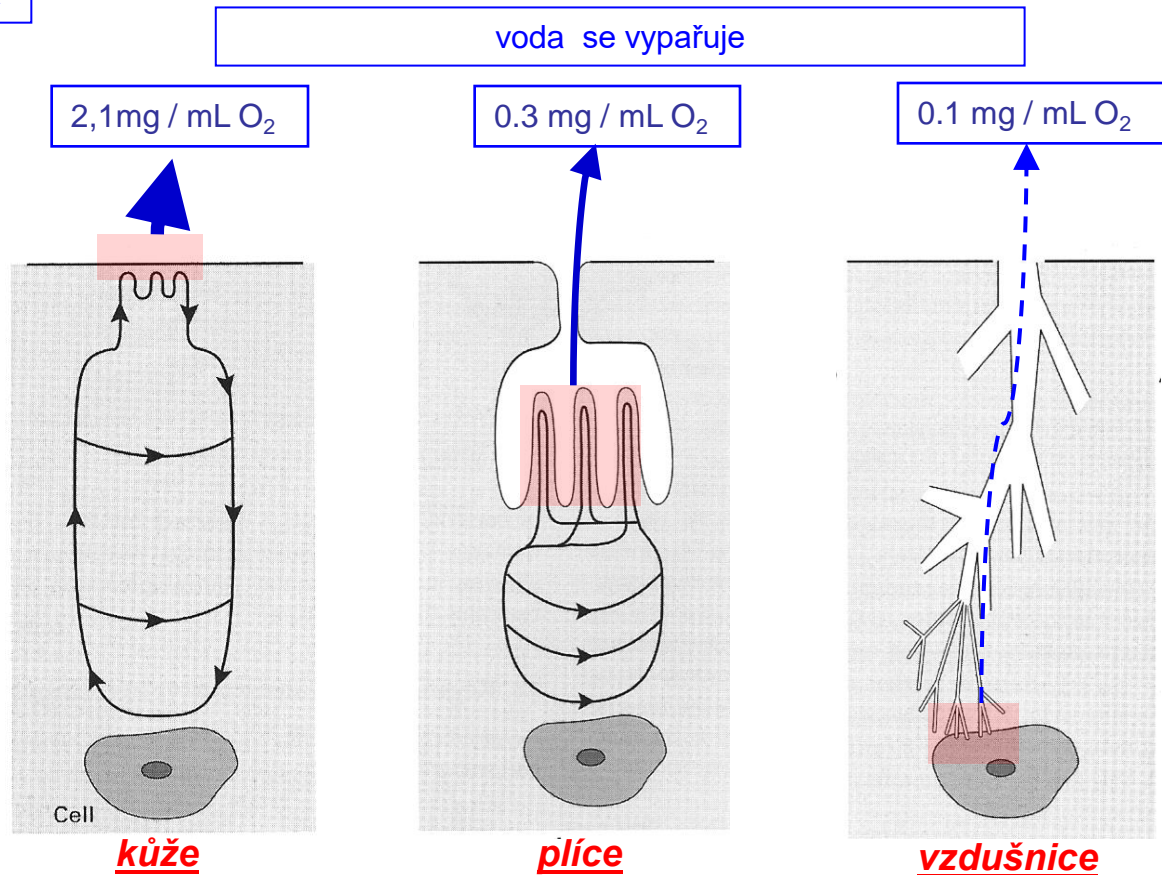
Přehled dýchacích soustav

- relativně nízká rychlost difúze O_2 **X** relativně vysoká spotřeba O_2 tkáněmi, si vynutily evoluci oběhové soustavy pro rozvod dýchacích plynů, která komunikuje s vnějším prostředím pomocí dýchacích orgánů opatřených *epitelý* specializovanými na výměnu plynů

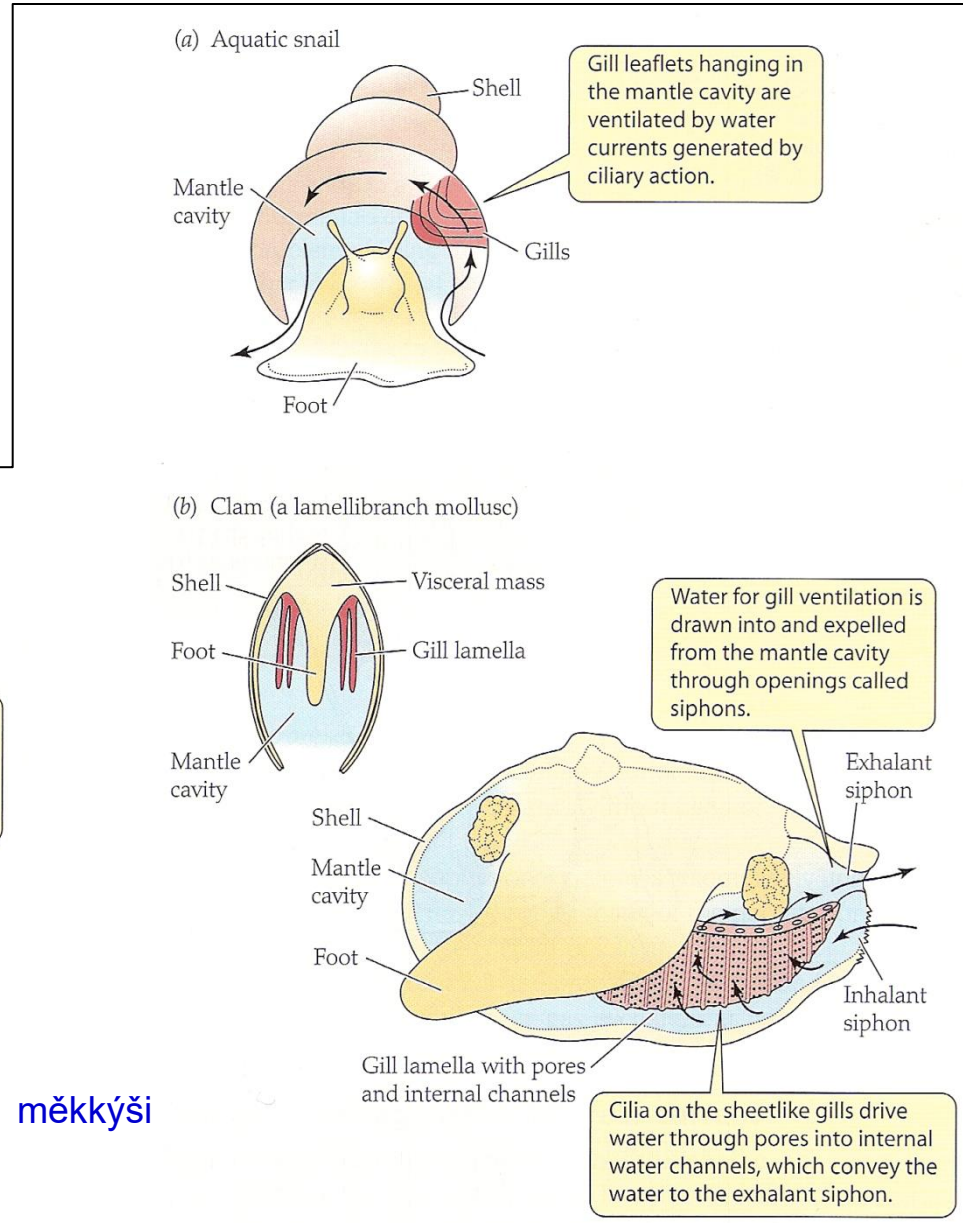
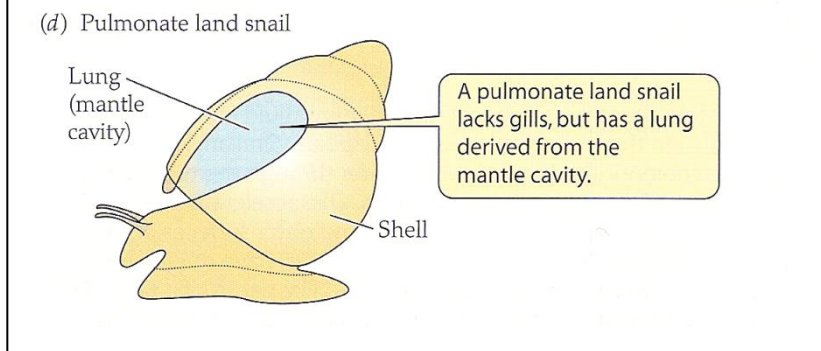
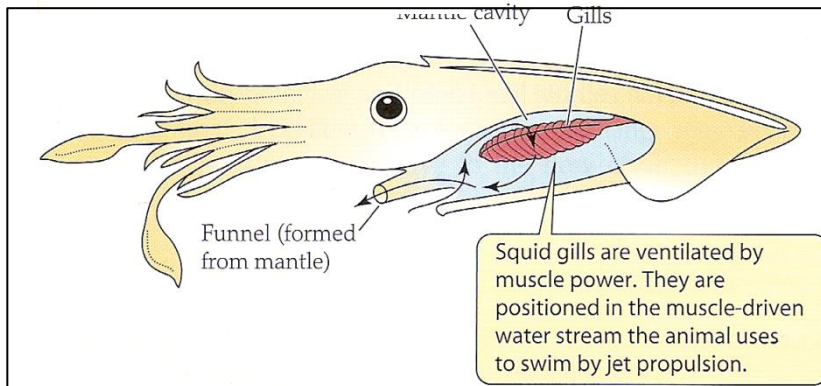
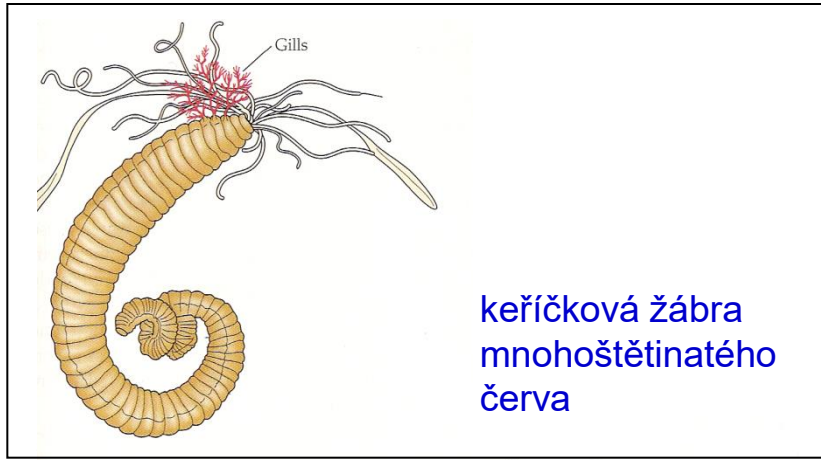


PROBLÉM:

- dýchací epitelý jsou propustné pro plyny, ale také pro vodu (!)



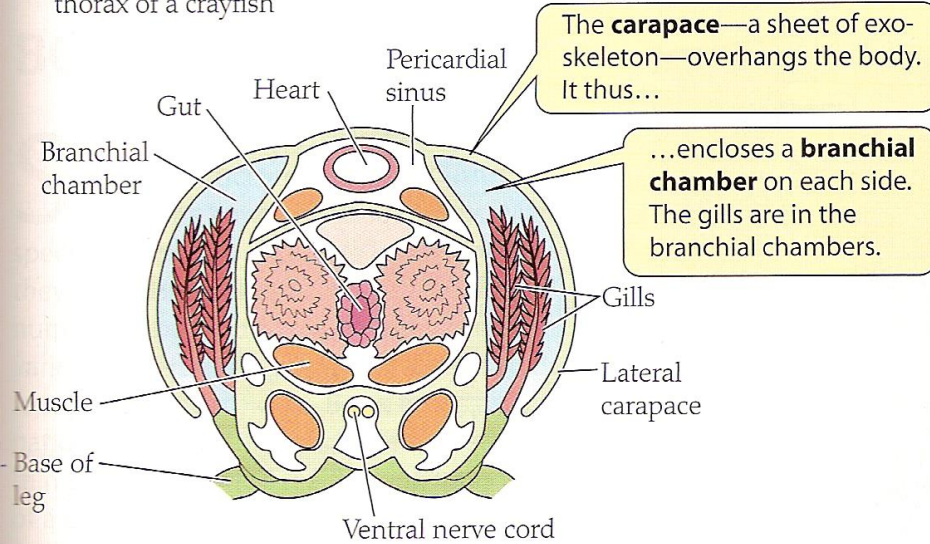
- ačkoli je anatomické uspořádání různé, fyziologická funkce je vždy shodná:
- zajistit difúzní přechod dýchacích plynů z vnějšího prostředí do oběhového systému a ke tkáním ...



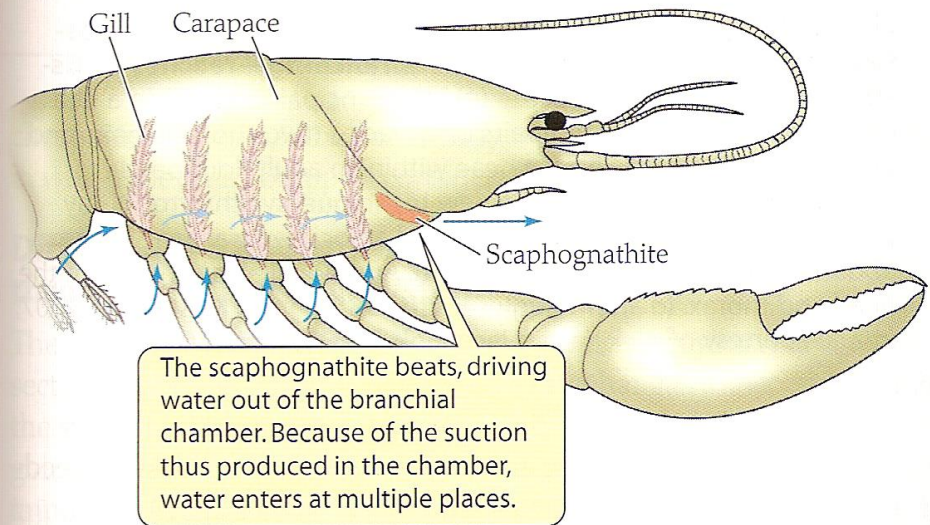
měkkýši

žábra vodních korýšů

(a) A transverse section through the thorax of a crayfish



(b) A lateral view showing the gills under the carapace

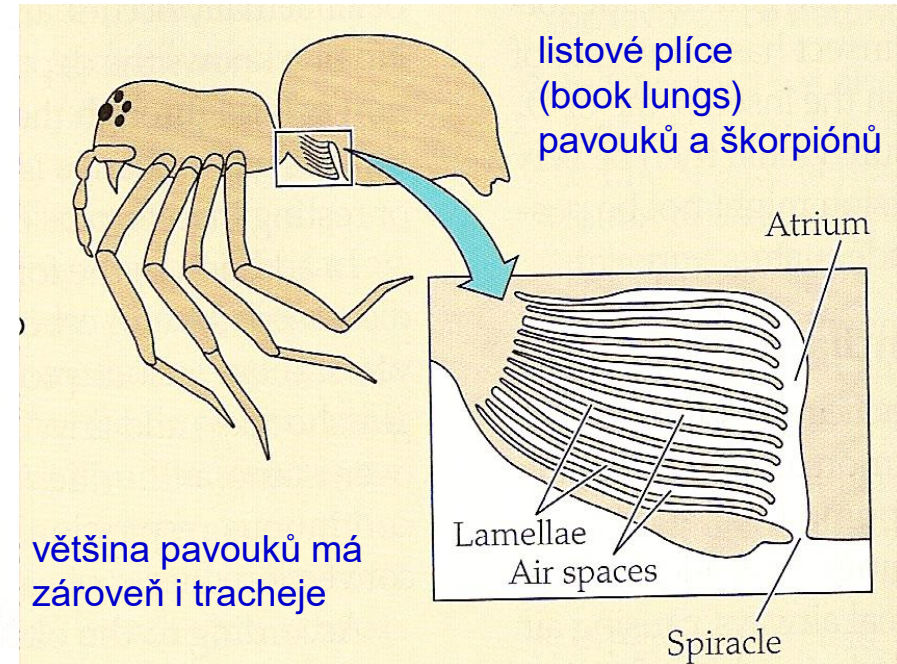


stínka zední
Oniscus asellus



stínka
Porcelio scaber

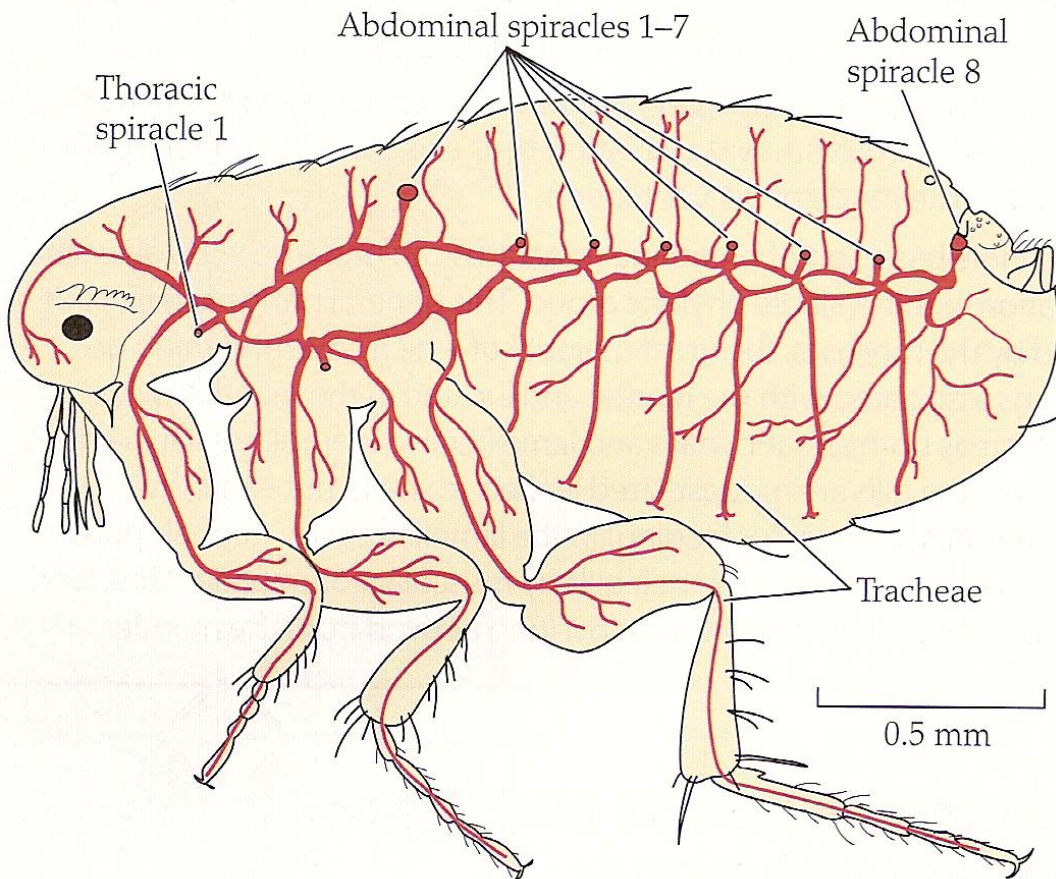
- suchozemští korýši stále používají žábra, ale někteří mají navíc vyvinuty plicní váčky nebo pseudotracheje, které je zásobují kyslíkem



většina pavouků má zároveň i tracheje

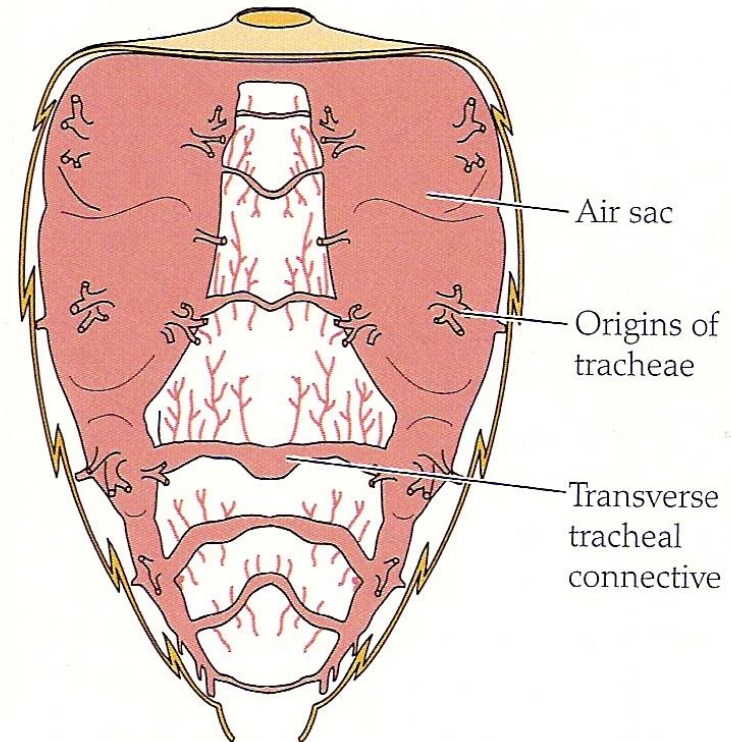
• schéma hlavních trachejí u blechy

(a) Major parts of the tracheal system in a flea



• vzdušné vaky

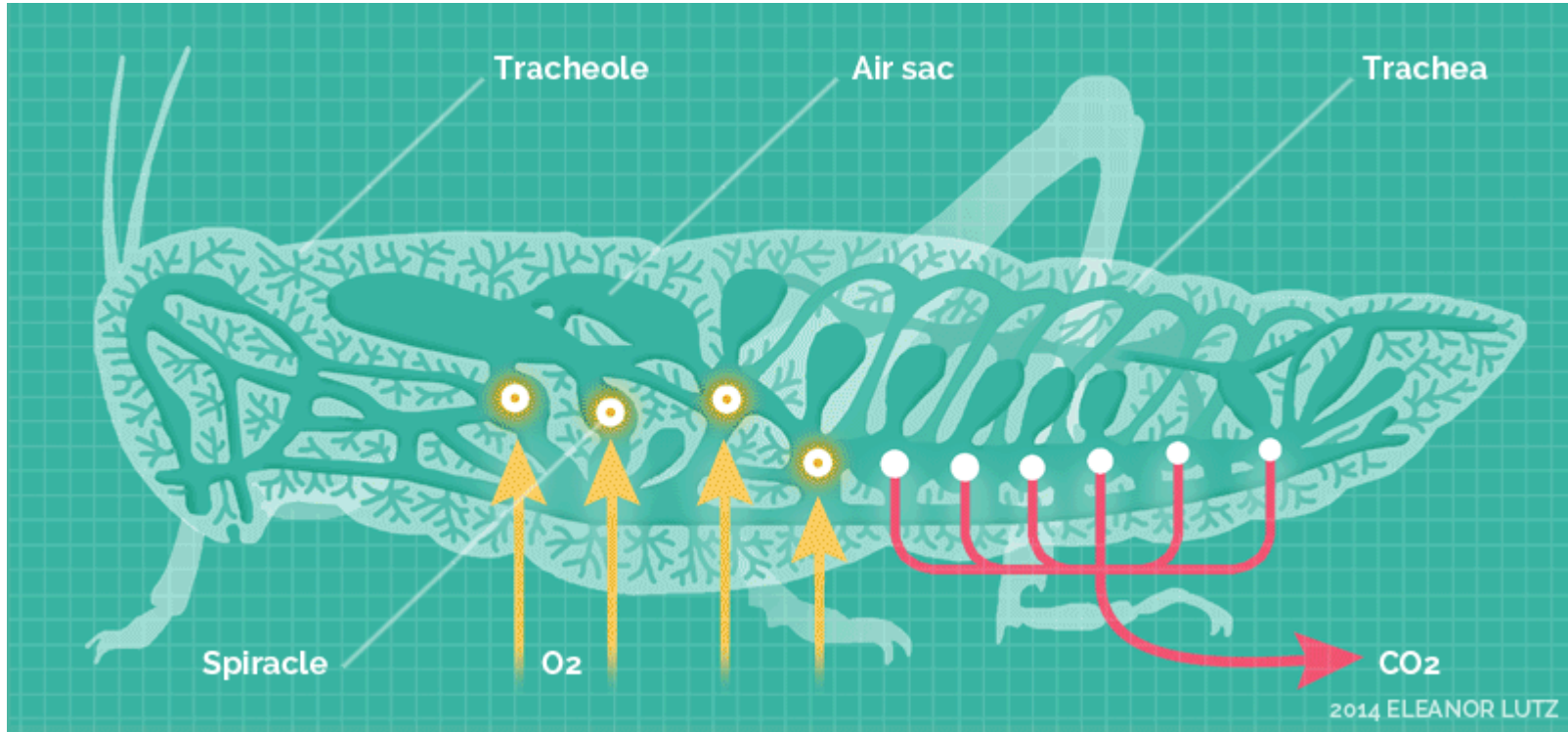
(c) Air sacs in the abdomen of a worker honeybee



- Myriapoda, Arachnida, Acari, Insecta
- přímé zásobení orgánů a buněk kyslíkem
- aktivní ventilace trachejí

- vzdušné vaky zejména u aktivních druhů
- kontrola uzavírání spirakul
→ kontrola ztrát vody

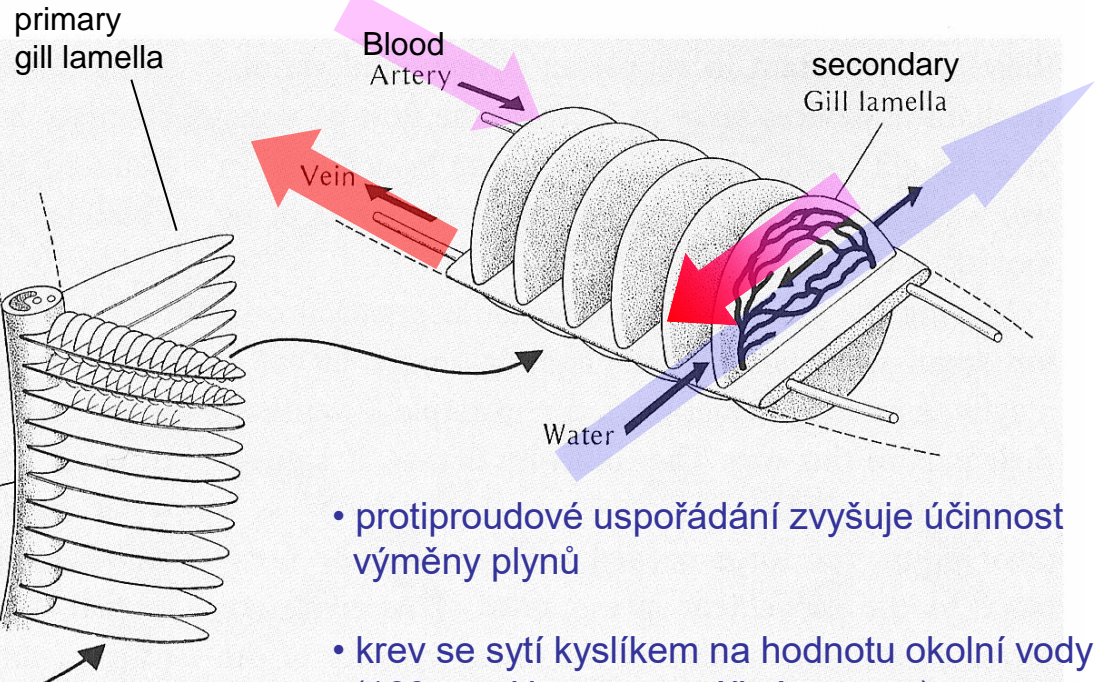
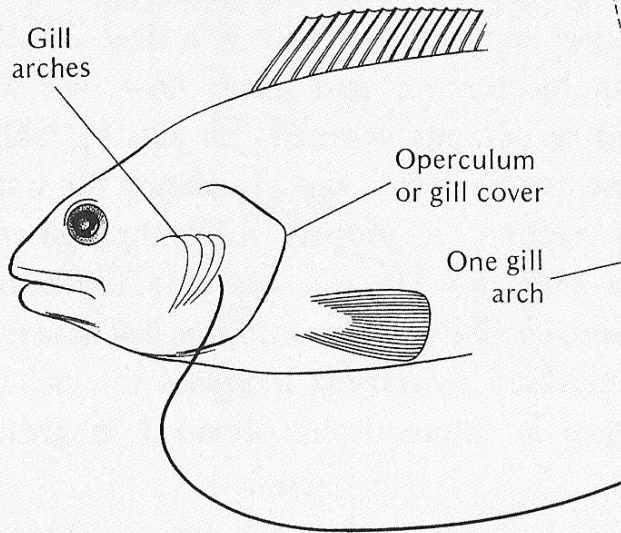
- vzdušnicová soustava hmyzu



- dýchání je "přílivové" (tam a zase zpět) - dýchací pohyby
- dýchací otvory - spirakula - jsou uzavíratelné
- vzdušné vaky (zejména u aktivních druhů)

Rybí žábra

- **protiproudové uspořádání (countercurrent)** průtoku krve a vody

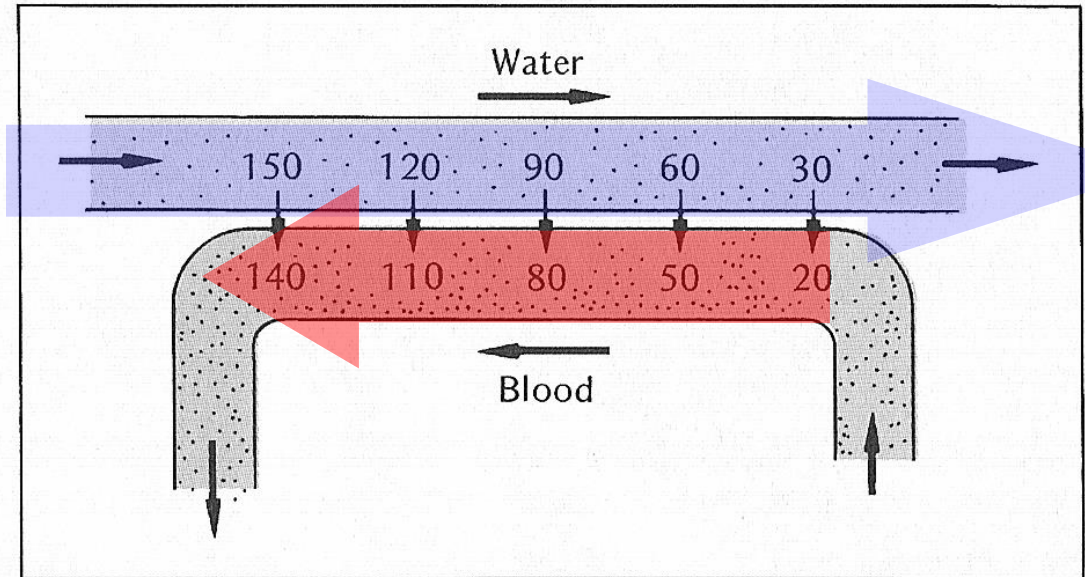


- protiproudové uspořádání zvyšuje účinnost výměny plynů
- krev se sytí kyslíkem na hodnotu okolní vody (160 mm Hg v rovnovážném stavu)

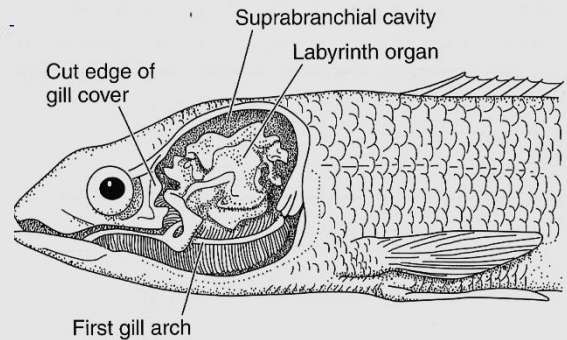
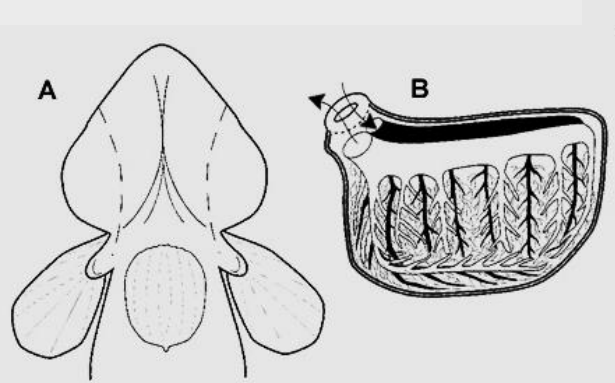
- **epitel rybích žaber** na sekundárních lamelách má různé úkoly:

- **výměna plynů**

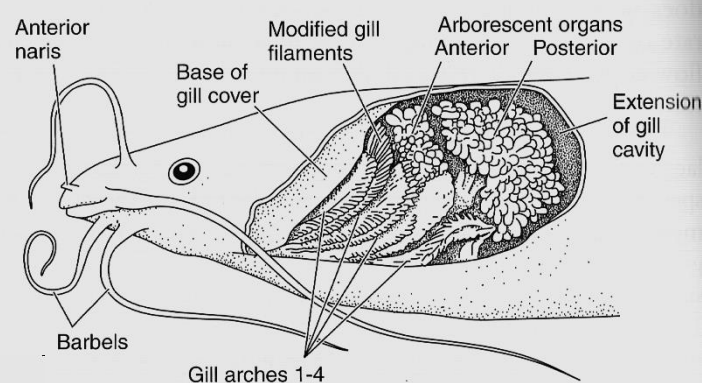
- pasívní přesuny vody
- osmoregulace
- ionoregulace
- regulace pH
- exkrece NH_3



- **evoluce pod vlivem nedostatku kyslíku ve vodě** (možná i pod vlivem predačního tlaku ?)
- má se za to, že tyto orgány vznikly v evoluci nezávisle vícekrát (možná až 20 x)
- jde o kůži nebo o vychlípeniny trávicího traktu, společným rysem je silná vaskularizace
 - kůže (úhoři)
 - ústní dutina: buccal cavity (elektrický úhoř); opercular cavity (lezci, někt. sumci)
 - suprabranchiální vzdušné dutiny (někt. sumci)
 - stěny žaludku či střeva (sekavci)
 - vychlípeniny trávicí trubice směrem nahoru (kostlíni) → **evoluce plynového měchýře**
 - vychlípeniny trávicí trubice směrem dolů bez alevolů (bichíři)
 - vychlípeniny trávicí trubice směrem dolů s alveolů (bahníci) → **evoluce plic tetrapodů**



A. Climbing perch



. Walking catfish



lezec obojživelný
Periophthalmus argentilineatus
Mudskipper



ostnovec příčnopruhý
Microctenosoma ansorgii
Climbing perch



sumec keříčkovec žabí
Clarias batrachus
Walking catfish

- ...což je pravděpodobnou příčinou vzniku různých přídavných dýchacích orgánů

v malých sladkovodních nádržích se totiž často stává, že kyslík je téměř vyčerpán ...

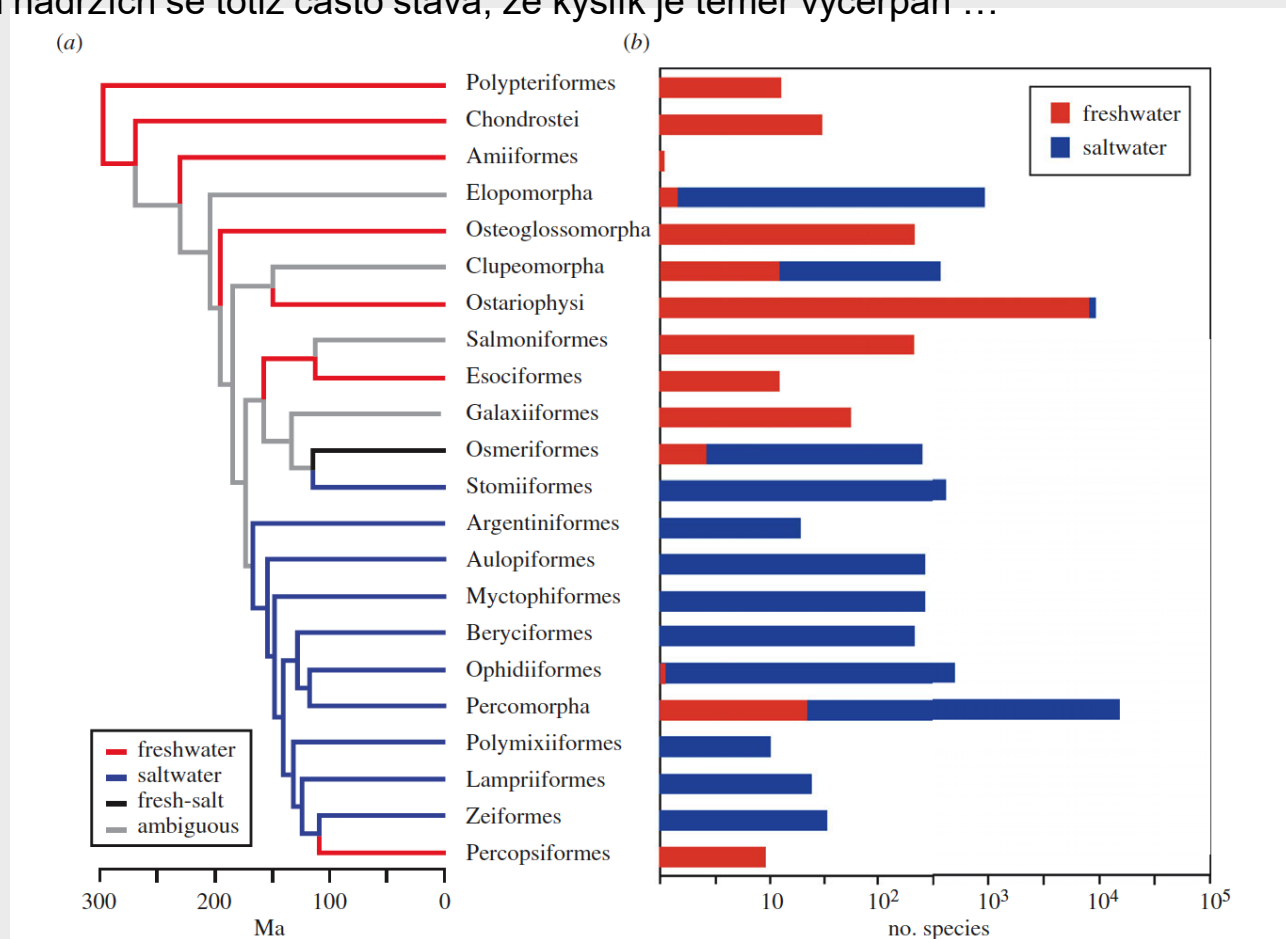
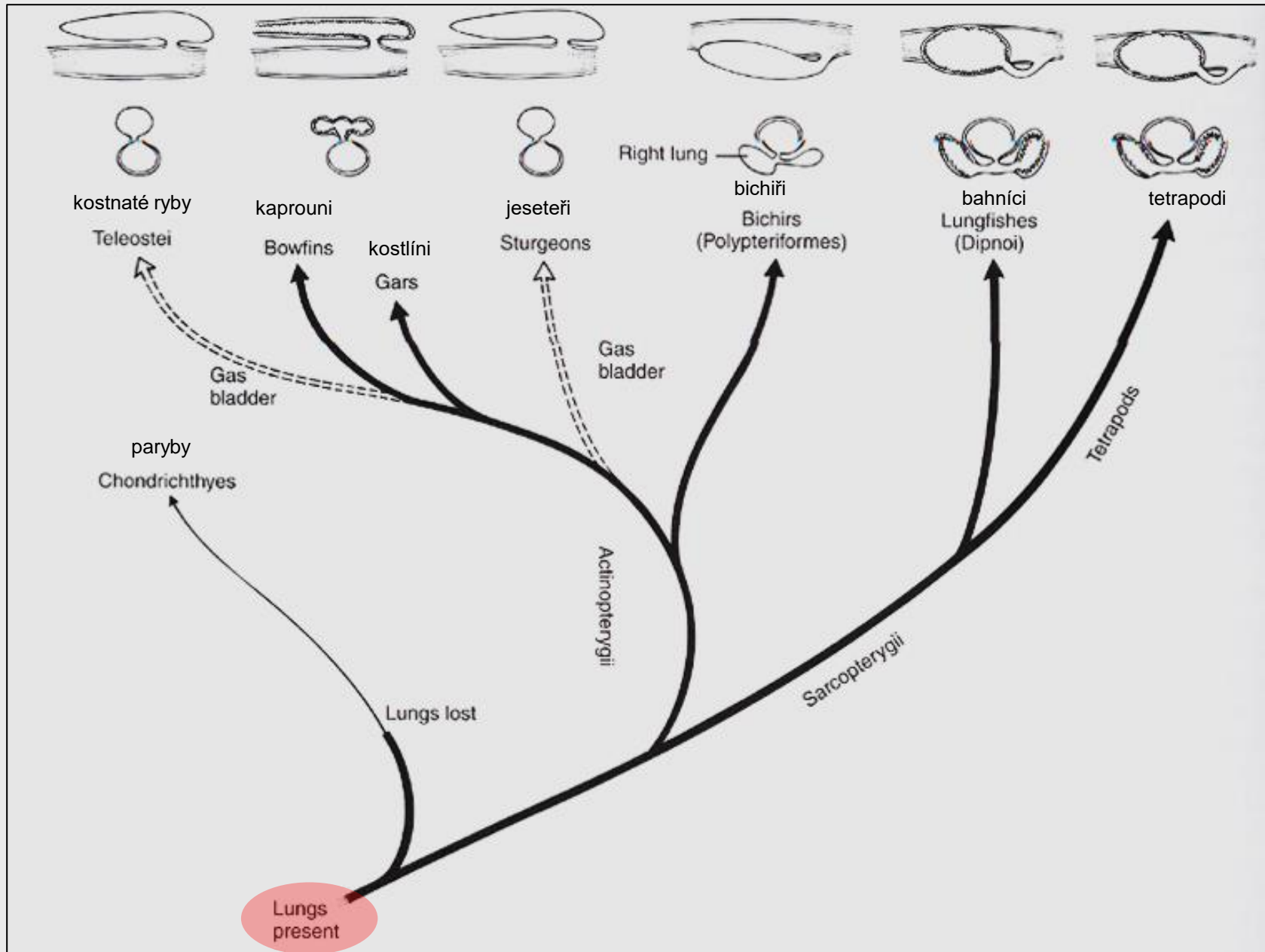
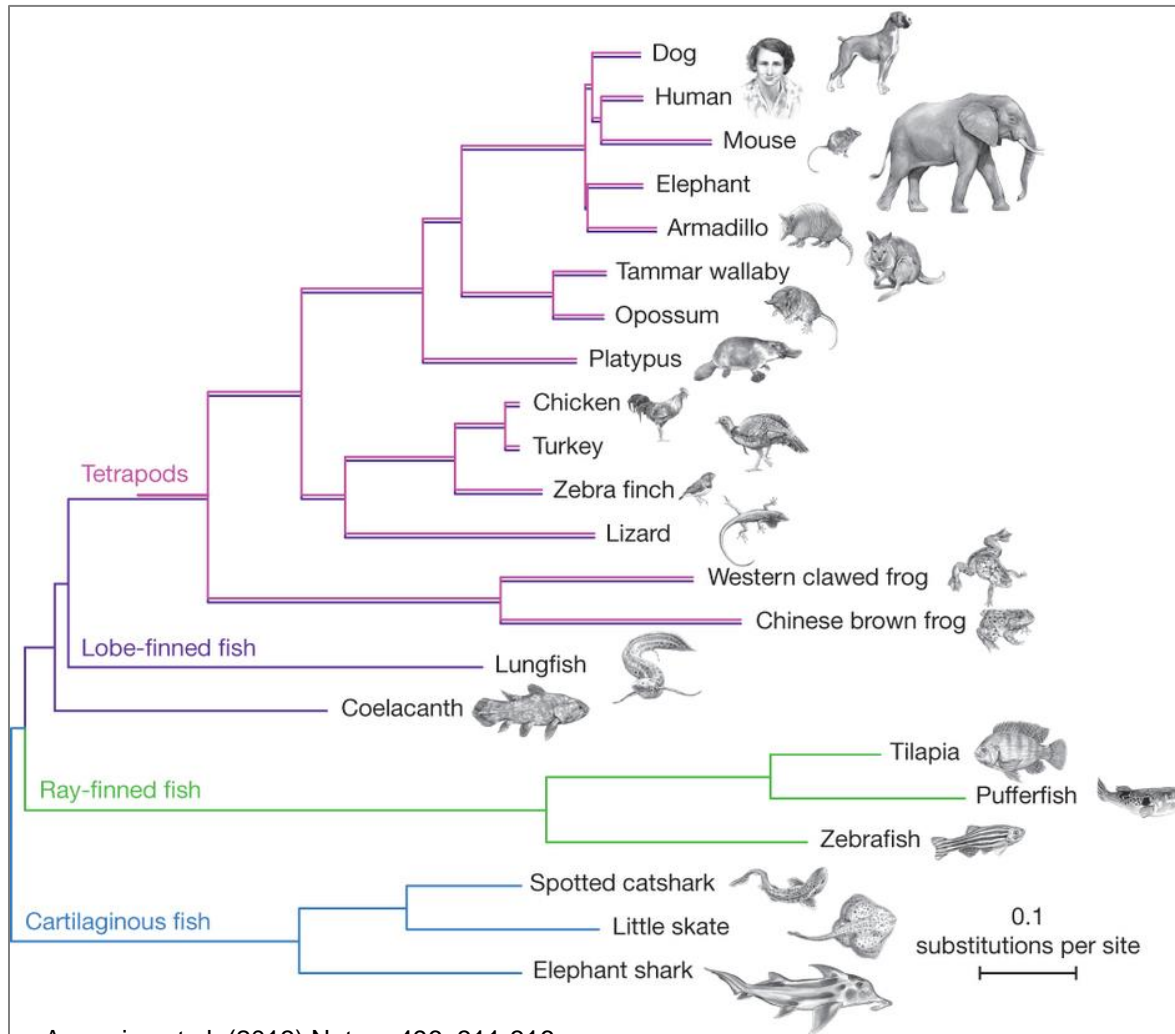


Figure 1. Summary of actinopterygian phylogeny, habitats and diversity patterns. (a) Phylogeny of 22 major clades of actinopterygians [11], showing maximum-likelihood reconstruction of habitats (using the best-fitting one-rate Mk1 model), summarized from the full 124-species tree (see electronic supplementary material, figure S1). (b) Patterns of species richness in the 22 major clades, indicating the proportion of freshwater and saltwater species. Note that in (a) species are coded as freshwater (freshwater only or fresh + brackish), saltwater (saltwater only or salt + brackish), or both, but in (b) all species are assigned to one habitat or another (i.e. freshwater based on any occurrence in freshwater, saltwater if there is no occurrence in freshwater).

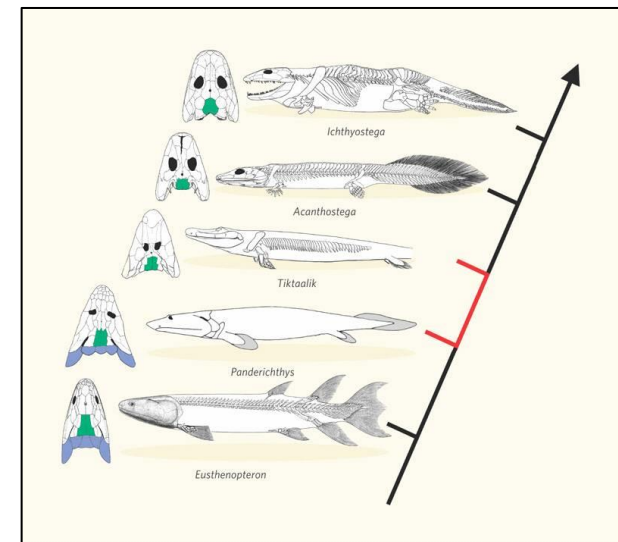
Evolute plic



- plíce prvních suchozemských tetrapodů mohly být podobné plicím bahníků ...



Amemiya et al. (2013) Nature 496, 311-316



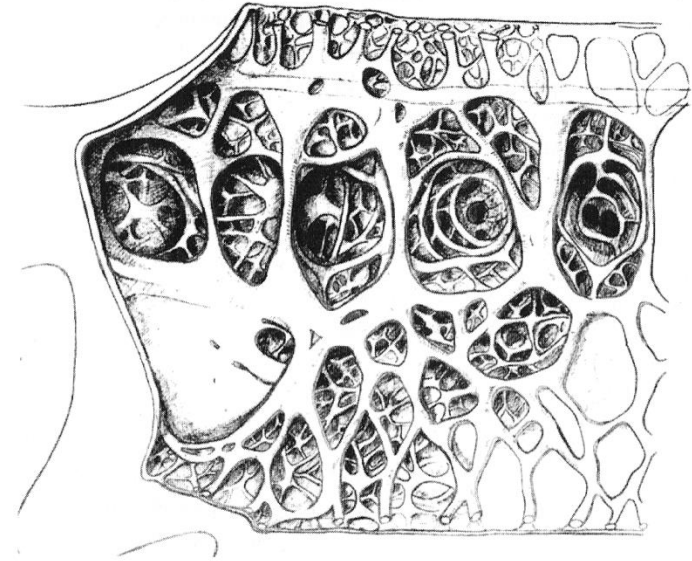
- Tiktaalik
- objeven 2004, žil v devonu (375 mil. let)
- nozdratá ryba
- možný předchůdce suchozemců ...

- mají primitivní plíce

South American Lungfish



African Lungfish



- stěny plic bahníka jsou členěné septy do dutin a „sklípků“

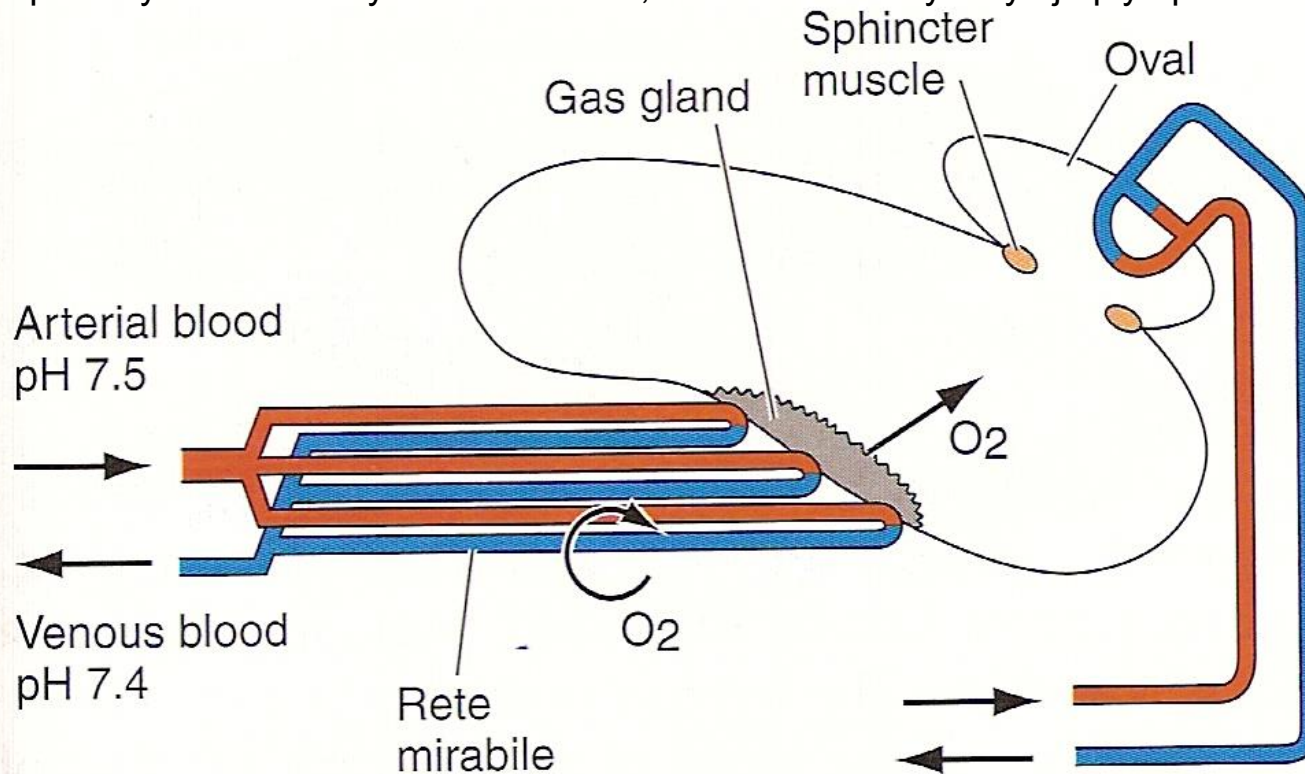
- bahníci

- dýchají žábry a plicními vaky (vychlípeniny oesophagu směrem dolů, s alveoly)
- australský bahník (jediný druh) dýchá především žábry, nepřežije vyschnutí vody
- afričtí bahníci (4 druhy) a jihoamerický bahník (1 druh) obligátně dýchají vzduch; přežijí i úplné vyschnutí habitatu se zásobou vody v těle v kokonu ze slizu a bahna



bahník africký
Protopterus anectens

- **primárně vyvinut jako přídavný dýchací orgán** (vychlípenina oesophagu nahoru)
- v podmínkách dostatku kyslíku se stal přídavný dýchací orgán nepotřebným a byl přeměněn na **plynový měchýř** (hydrostatický orgán) paprskoploutvých ryb
- stěny jsou jen slabě vaskularizovány a pokryty guaninovými krystaly – nepropustné pro plyny
- dovnitř je „pumpován“ plyn za účelem snížení specifické hmotnosti těla – nadnášení vodou
- **plynová žláza** (gas gland) – uvolňuje kyslík z hemoglobinu snížením pH krve (produkce laktátu a CO_2)
- podíl kyslíku může být až kolem 80%, u hlubokomořských ryb je plyn pod velkým tlakem

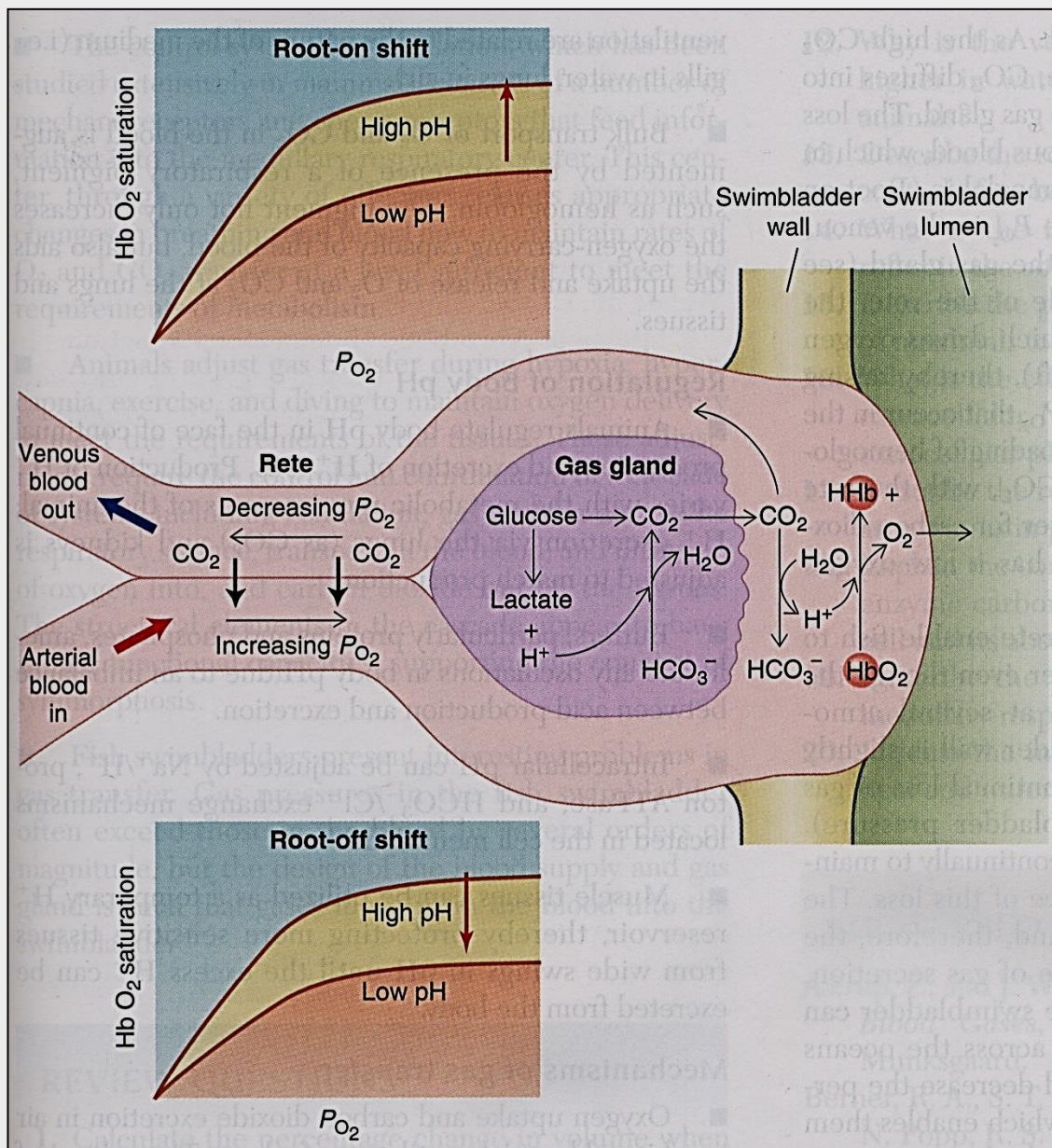


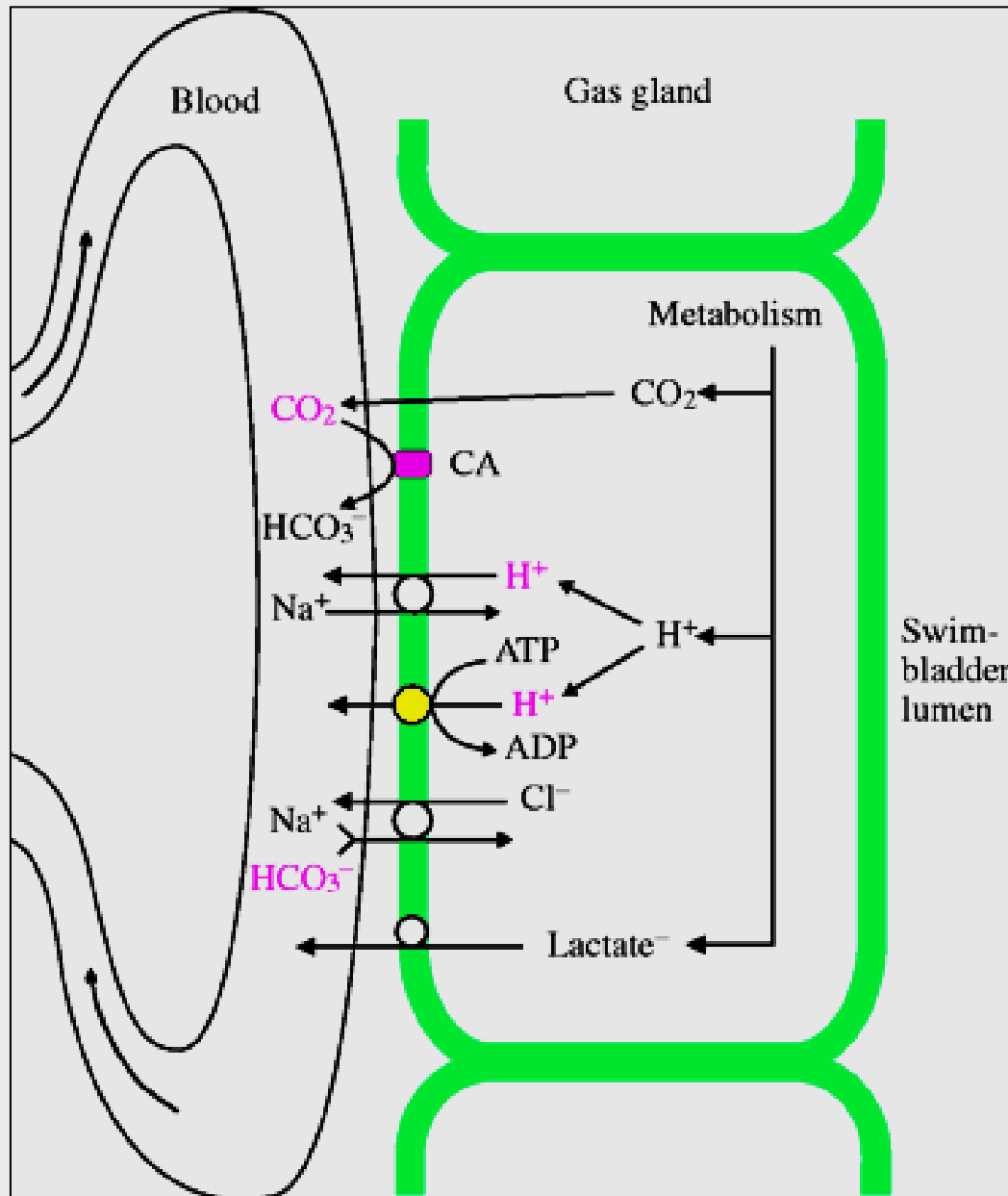
- svěrač „oválu“ povolí, je-li třeba tlak plynu snížit
- dobře prokrvené stěny oválu potom odvádějí kyslík, jenž do nich difunduje

- **rete mirabile** přivádí krev k plynové žláze a díky protiproudu se žilami je většina uvolněného kyslíku vycitána a „přepumpována“ žlázou do měchýře

- uvolňuje kyslík z hemoglobinu

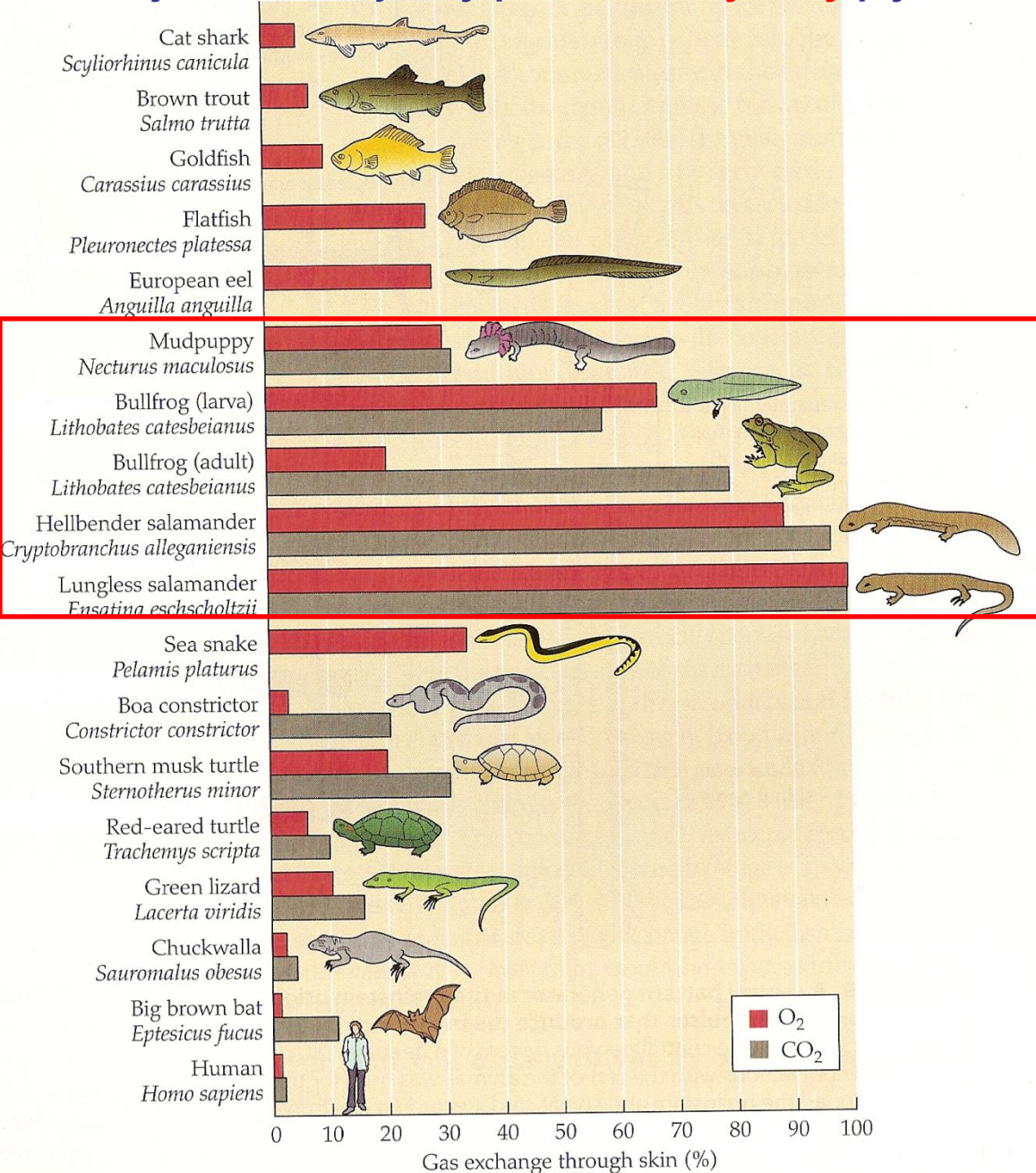
- je to způsobeno kombinací Bohrova a Rootova posunů disociační křivky
- Bohr = snížení afinity Hgb ke kyslíku v kyselém prostředí a také vazbou CO_2 na Hgb
→ posun doprava
- Root = snížení maximální vazebné kapacity Hgb pro kyslík v kyselém prostředí
→ posun dolů (zploštění)
- Rootův posun je typický právě pro rybí hemoglobiny
- produkce protonů a CO_2 je důsledkem rychlé, převážně anaerobní, glykolýzy v plynové žláze a spotřeby energie na transportní systémy (V-ATPázu), která transportuje protony do krve ...





Hypothetical model showing the various proton-translocating mechanisms identified so far in swimbladder gas gland cells of the European eel. Acidic metabolites (lactic acid and CO₂) are produced in the glycolytic pathway and in the pentose phosphate shunt. This acid is secreted at the basolateral membranes to reduce the effective gas-transport capacity of the blood *via* the Root effect and the salting out effect (see Pelster, 1997; Pelster and Randall, 1998). The decrease in gas-transport capacity induces an increase in gas partial pressures in the blood, which provides the necessary partial pressure gradient towards the swimbladder lumen so that gases can enter the swimbladder by diffusion. The mechanisms of lactate transport have not yet been characterized in detail. CA, membrane-bound carbonic anhydrase.

- mají relativně vysoký podíl **kožní výměny plynů**



- žába *Telmatobius culeus*
- žije v jezeře Titicaca
- dýchá i v dospělosti převážně/výhradně pokožkou, která je silně zvětšená a vytváří záhyby a laloky



- relativně nízké nároky na zásobení kyslíkem (pomalý metabolismus)
- malá velikost těla
- dostupnost kyslíku v prostředí
- kožní dýchání (cutaneous respiration)

- mločci (Plethodontidae)
sev. a stř. Amerika



- žába *Barbourula kalimantanensis*
ostrov Borneo

JOURNAL OF NATURAL HISTORY, 1998, 32, 617–627

The largest lungless tetrapod: report on a second specimen of *Atretochoana eiselti* (Amphibia: Gymnophiona: Typhlonectidae) from Brazil

M. WILKINSON†*, A. SEBBEN‡, E. N. F. SCHWARTZ‡
and C. A. SCHWARTZ‡

†*School of Biological Sciences, University of Bristol, Bristol BS8 1UG, UK, and Department of Zoology, Natural History Museum, London SW7 5BD, UK*

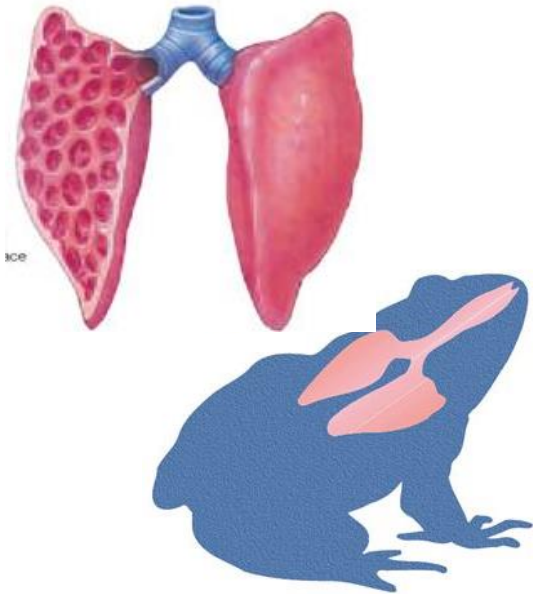
‡*Departamento de Ciências Fisiológicas, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade de Brasília, 70.910 Brasília, D.F. Brasil*



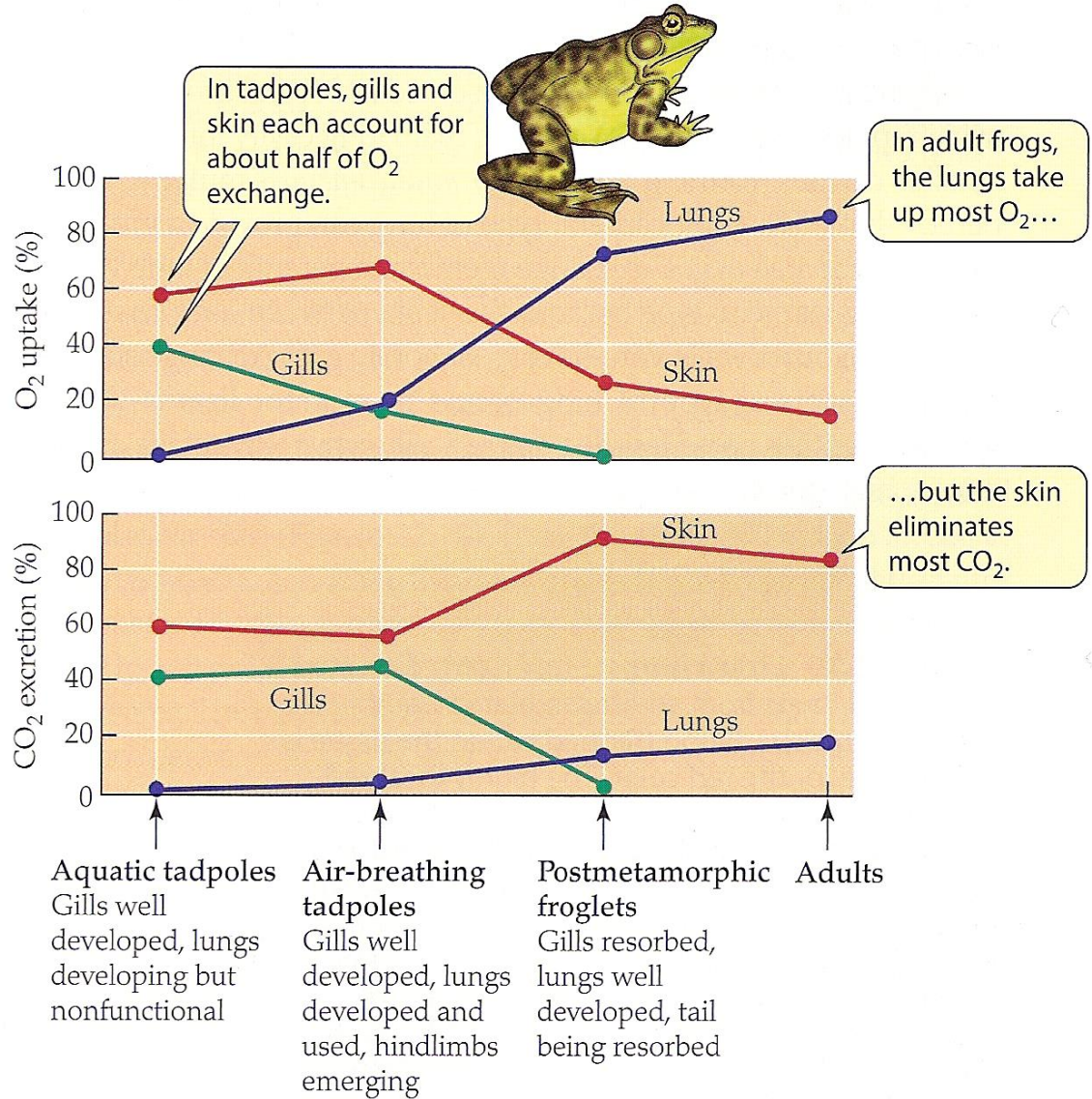
- červor *Atretochoana eiselti*
Brazílie (známý jen ze dvou exemplářů) (80 cm)



- larvální stádia žijí ve vodě, dýchají pomocí vnějších keříčkových žaber



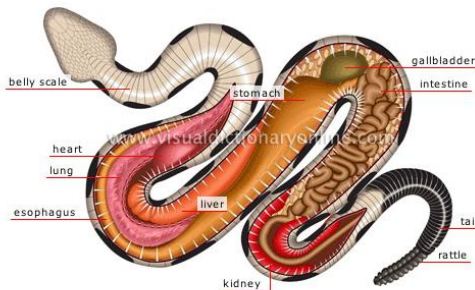
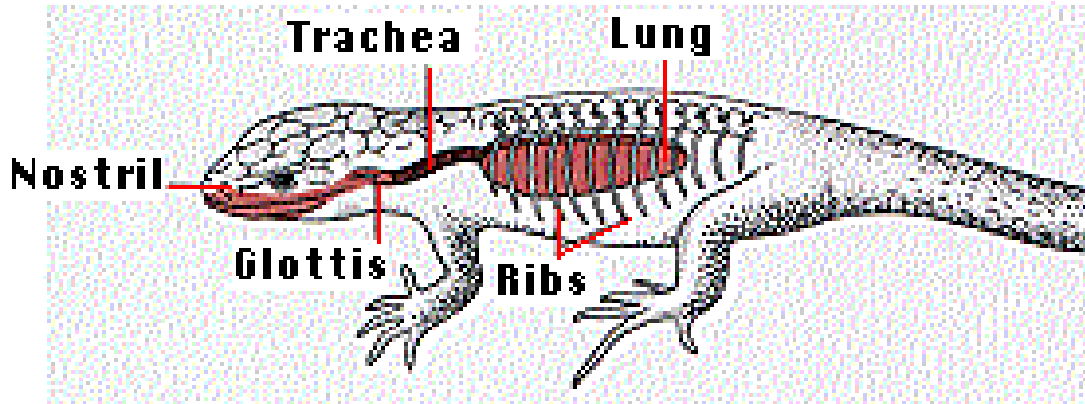
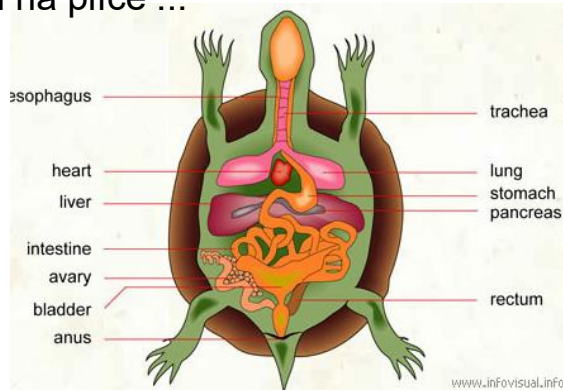
- většina druhů má v dospělém stádiu vyvinuty vakovité vnitřní plíce
- oboživelníci nemají bránici, takže vzduch „vtlačují“ do plic pomocí bukální pumpy



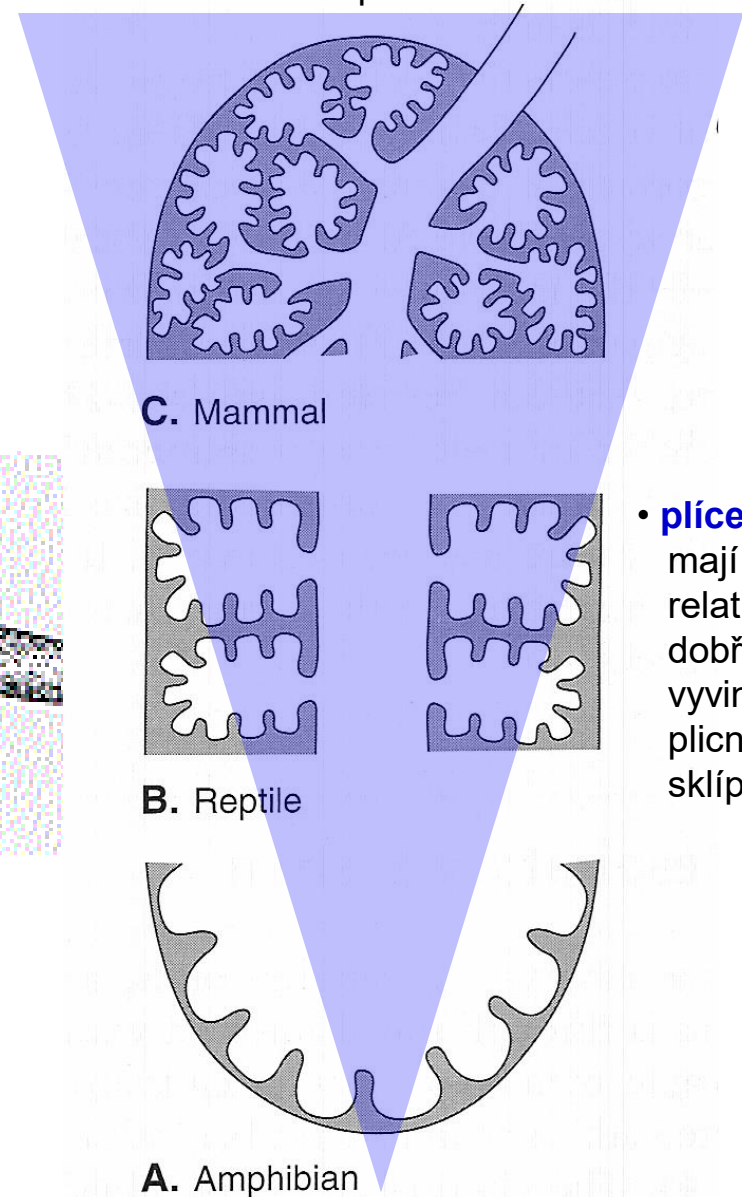
- skokan volský (*Lithobates catesbeianus*)

- v dospělosti jsou plíce hlavním místem příjmu kyslíku, ale pokožka zůstává hlavním místem výdeje CO₂

- plazi mají povrch těla málo propustný pro plyny
- spoléhají na plíce ...



- anatomická struktura spěje během evoluce ke zvětšování vnitřního povrchu



- plíce plazů mají již relativně dobře vyvinuté plicní sklípky

C. Mammal

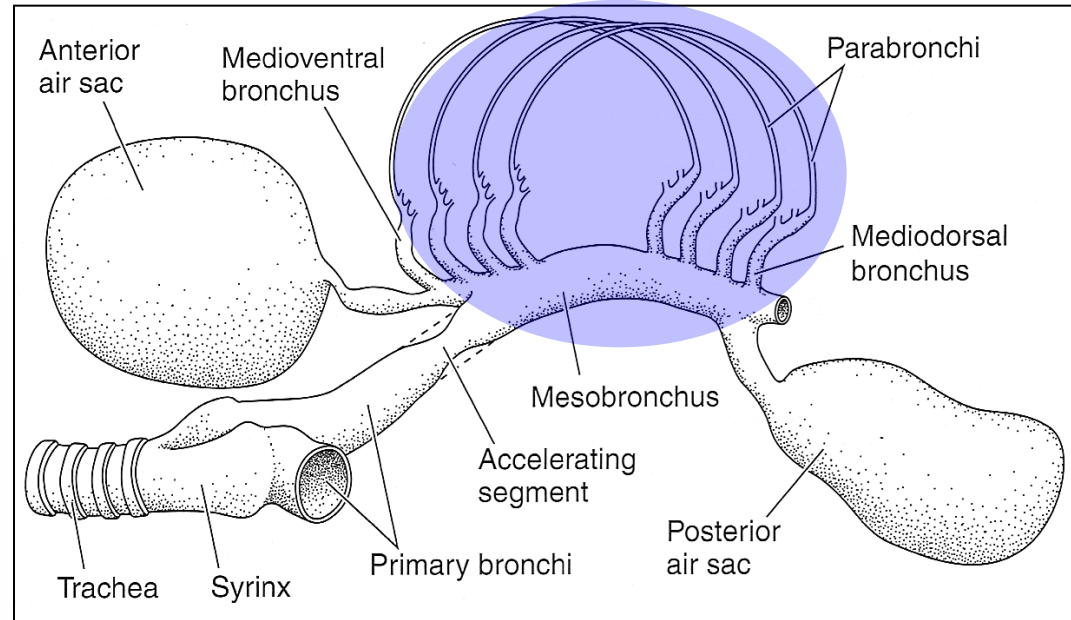
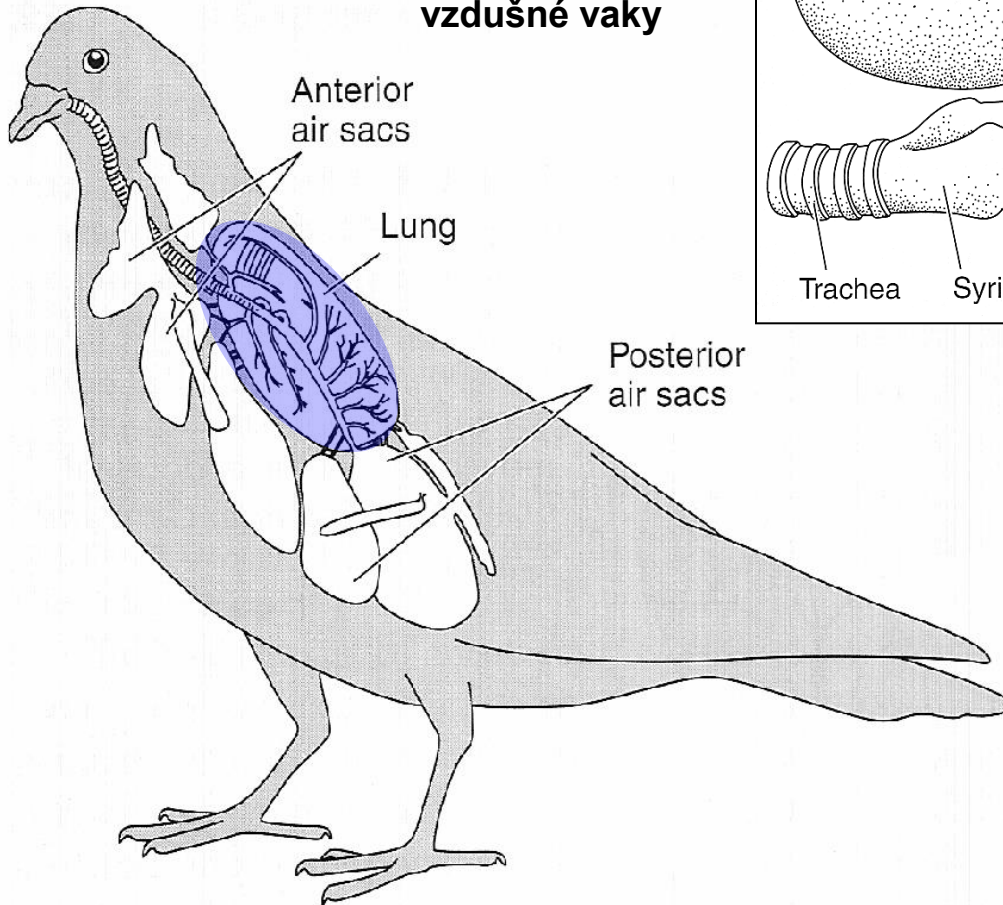
B. Reptile

A. Amphibian

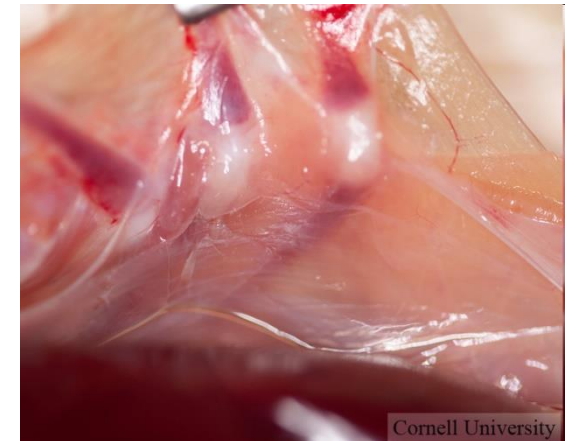
Plíce ptáků

- plíce ptáků jsou relativně malé
- nenajdeme v nich plicní sklípky, nýbrž systém parabronchů a vzdušných kapilár ...
- součástí dýchacího systému jsou také

vzdušné vaky

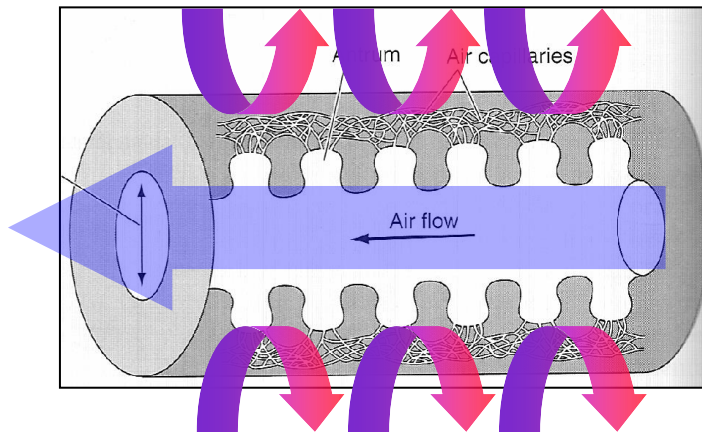


- vzdušné vaky tvoří více než $\frac{3}{4}$ celkového objemu vzdušných cest

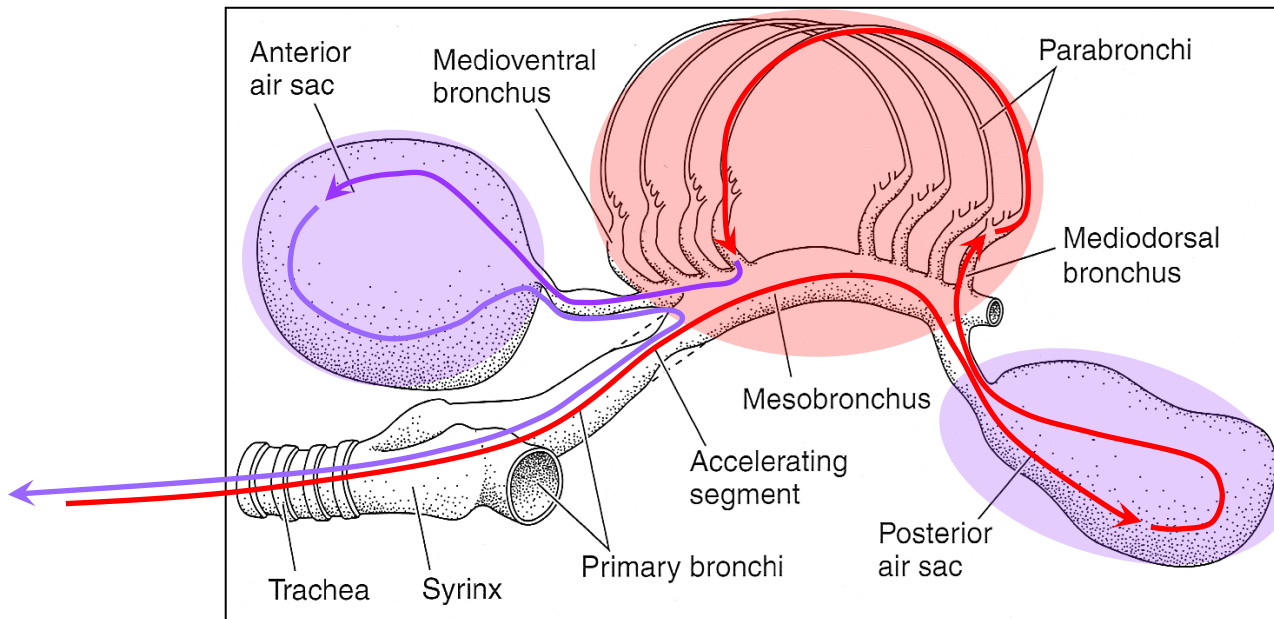


A. Lungs and air sacs

- anatomické uspořádání umožňuje jednosměrný průtok vzduchu



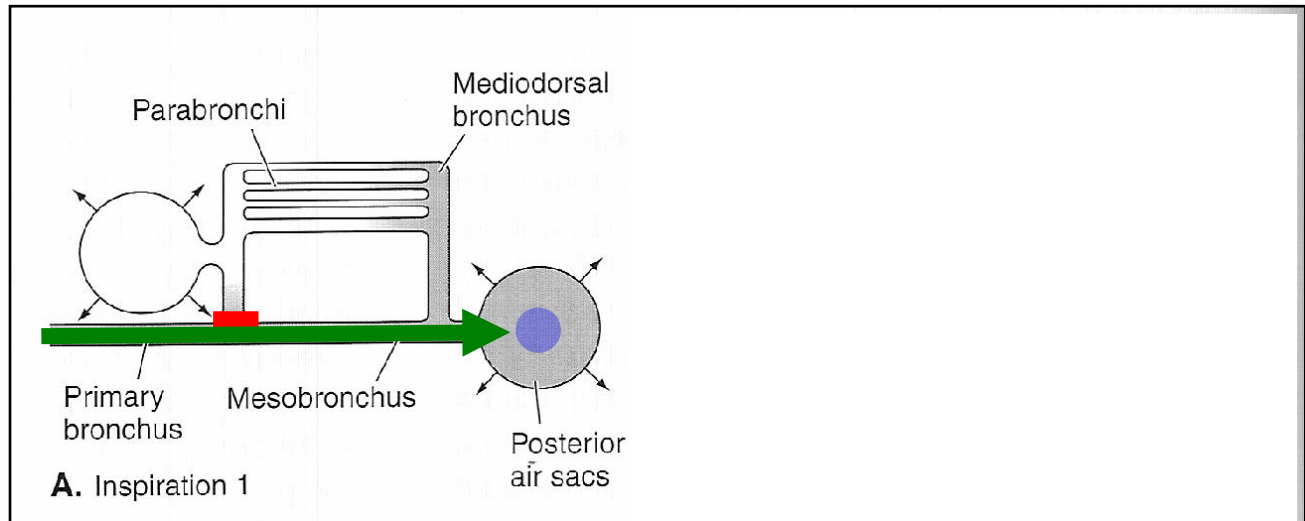
- **parabronchi** jsou tenké trubičky, kudy vzduch proudí jednosměrně
- větví se do vzdušných kapilár
- krevní průtok je **napříč** (téměř v protiproudu) proudění vzduchu v parabronchách ...



- anatomické uspořádání umožňuje jednosměrný průtok vzduchu

- **nádech**

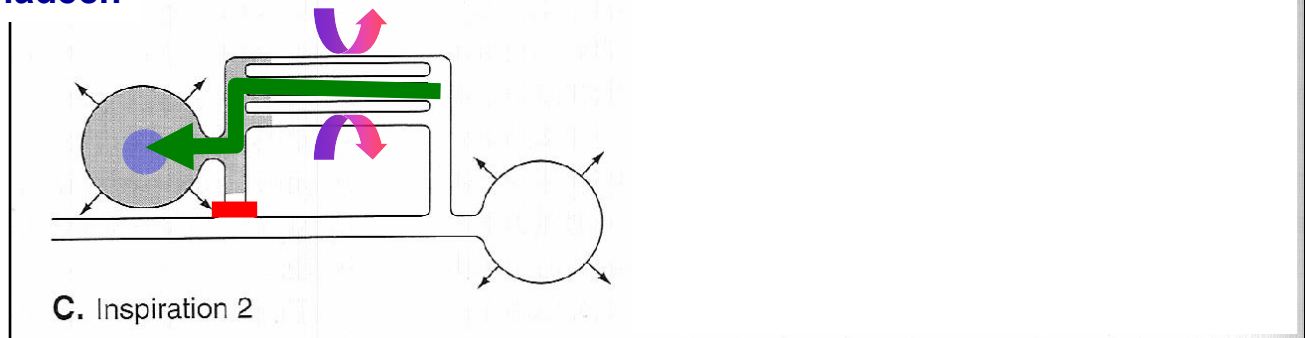
plnění vaků
"protažení" vzduchu
skrz plíce



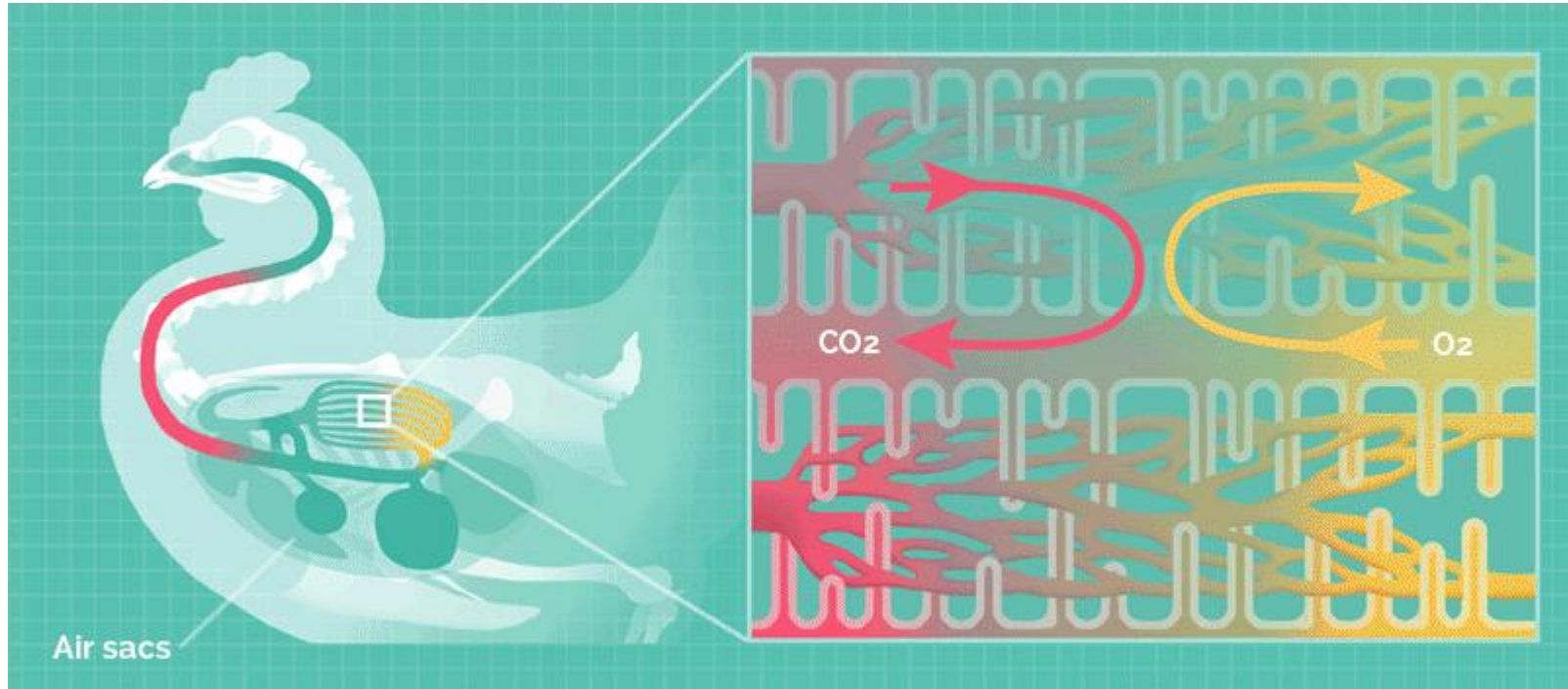
nádech

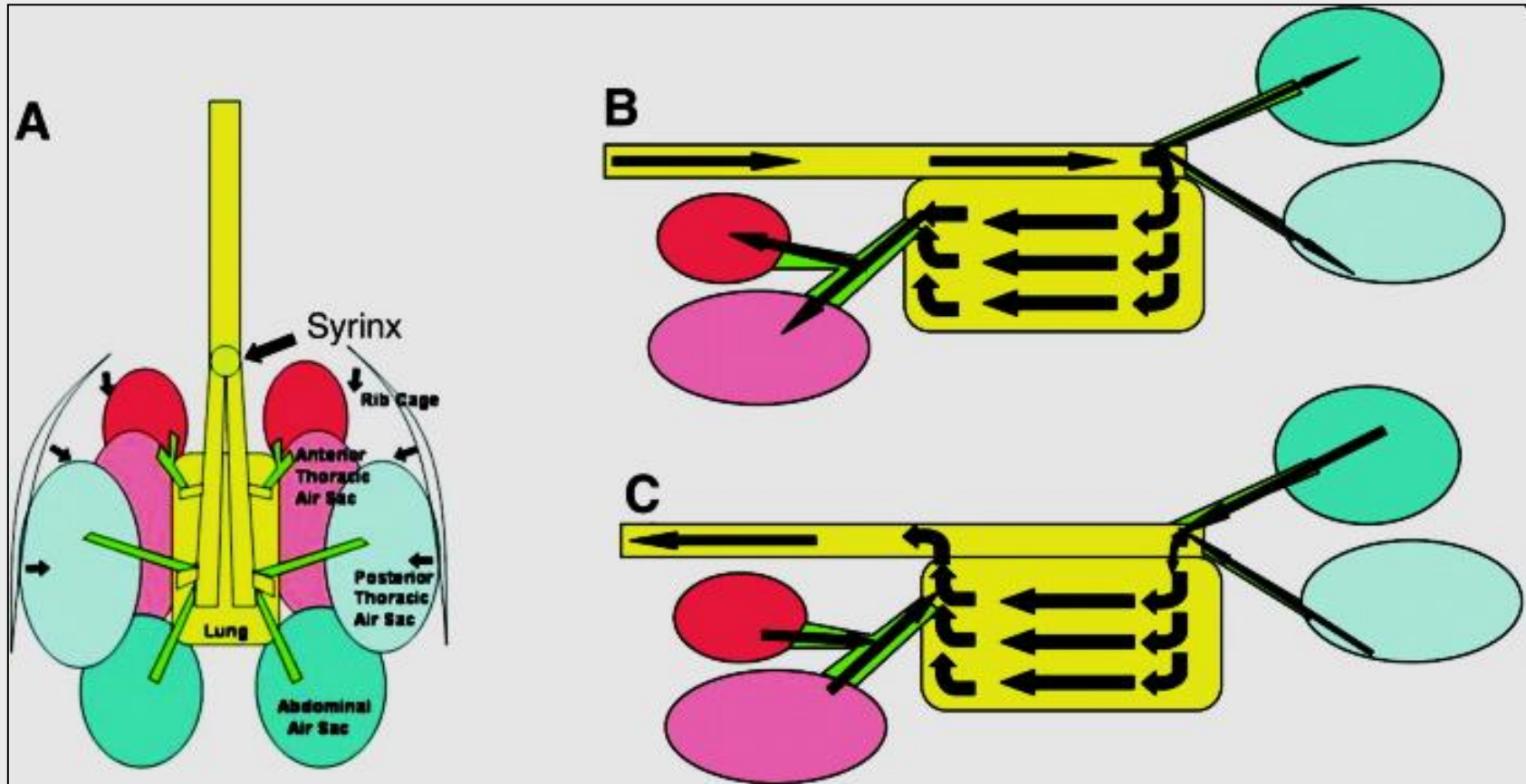
- **výdech**

vyprázdňení vaků
"protlačení" vzduchu
skrz plíce



- anatomické uspořádání umožňuje jednosměrný průtok vzduchu





A schematic of the avian respiratory system, illustrating the major air sacs and their connections to the lung.

- (A) The lateral and dorsal direction of motion of the rib cage during exhalation is indicated by arrows.
- (B) The direction of airflow during inspiration.
- (C) The direction of flow during expiration

(From: Plummer and Goller 2008).

- most birds have 9 air sacs:

- one interclavicular sac
- two cervical sacs
- two anterior thoracic sacs
- two posterior thoracic sacs
- two abdominal sacs

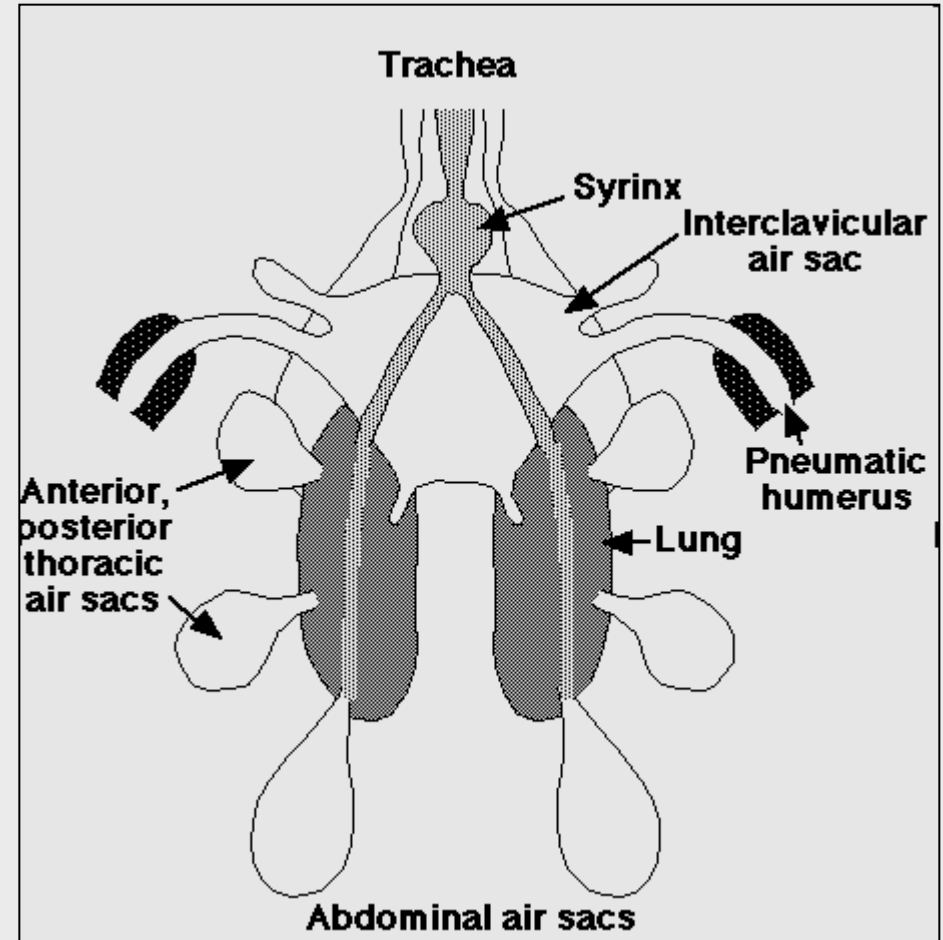
Functionally, these 9 air sacs can be divided into

anterior sacs

(interclavicular, cervicals, & anterior thoracics) &

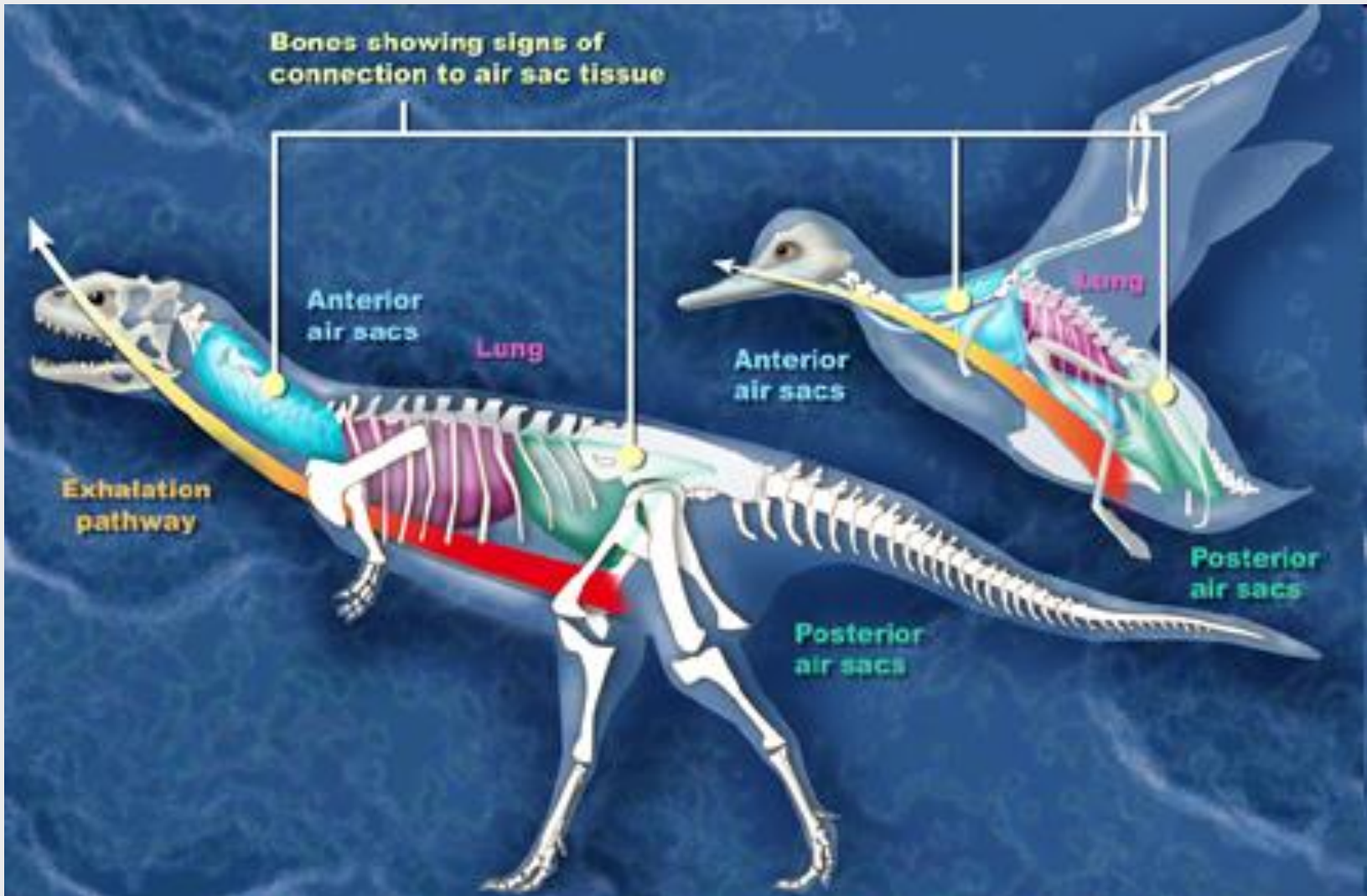
posterior sacs

(posterior thoracics & abdominals).



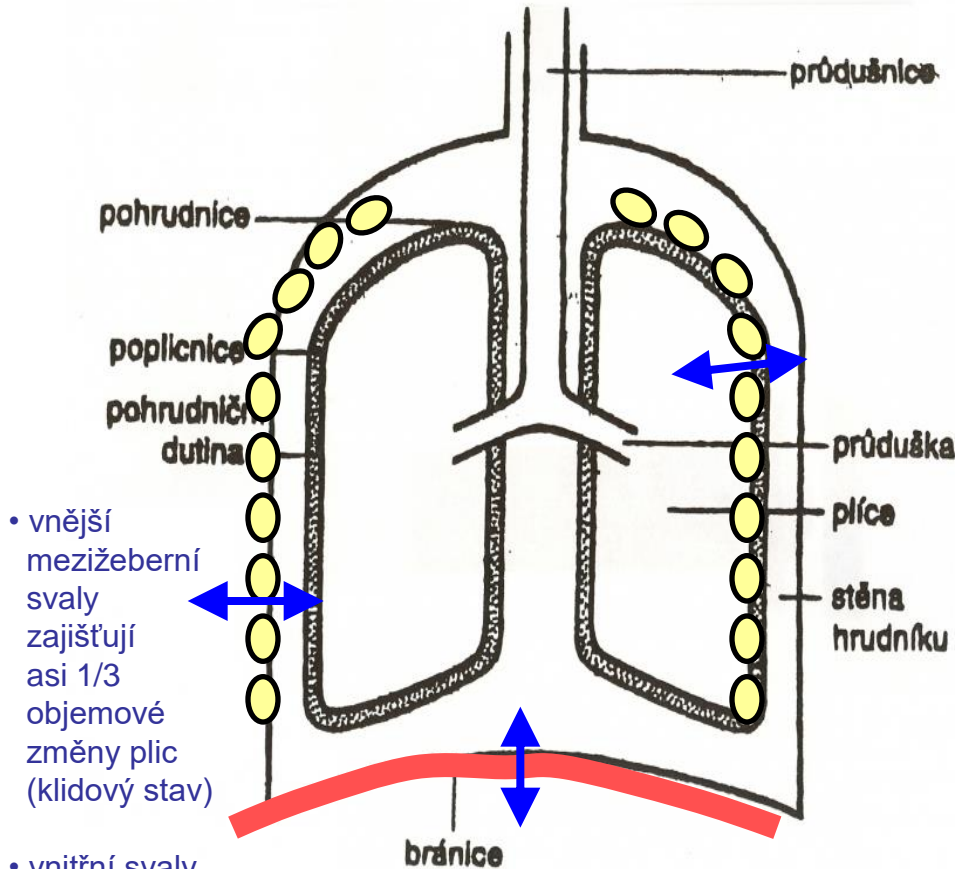
Air sacs have very thin walls with few blood vessels. So, they do not play a direct role in gas exchange. Rather, they act as a 'bellows' to ventilate the lungs (Powell 2000).

- nálezy dutých kostí (aero-steon) u pravděpodobných dinosaurů předků ptáků posilují argumentaci o dinosaurím původu ptáků



Plíce savců

- dva plicní vaky v hrudním koši: „přilivové dýchání“



- vnější mezižebří svalu zajišťují asi 1/3 objemové změny plic (klidový stav)

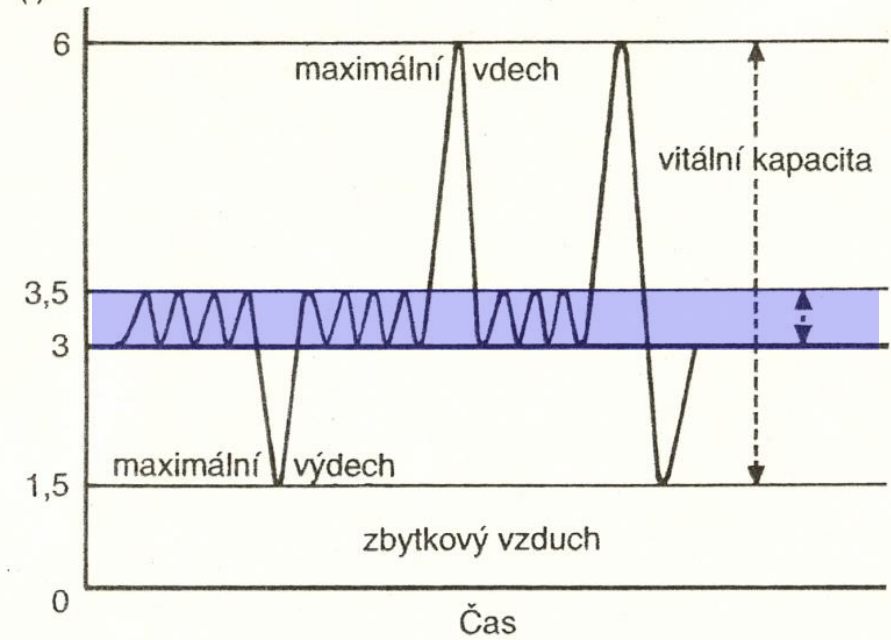
- vnitřní svaly stlačují koš při hlubokém výdechu

- pohyby bránice zajišťují asi 2/3 objemové změny plic (klidový stav)

- bránice a mezižebří svaly roztahují hrudní koš a s ním i plíce, které jsou k němu „přilepeny“ poplicnicí a pohrudnicí

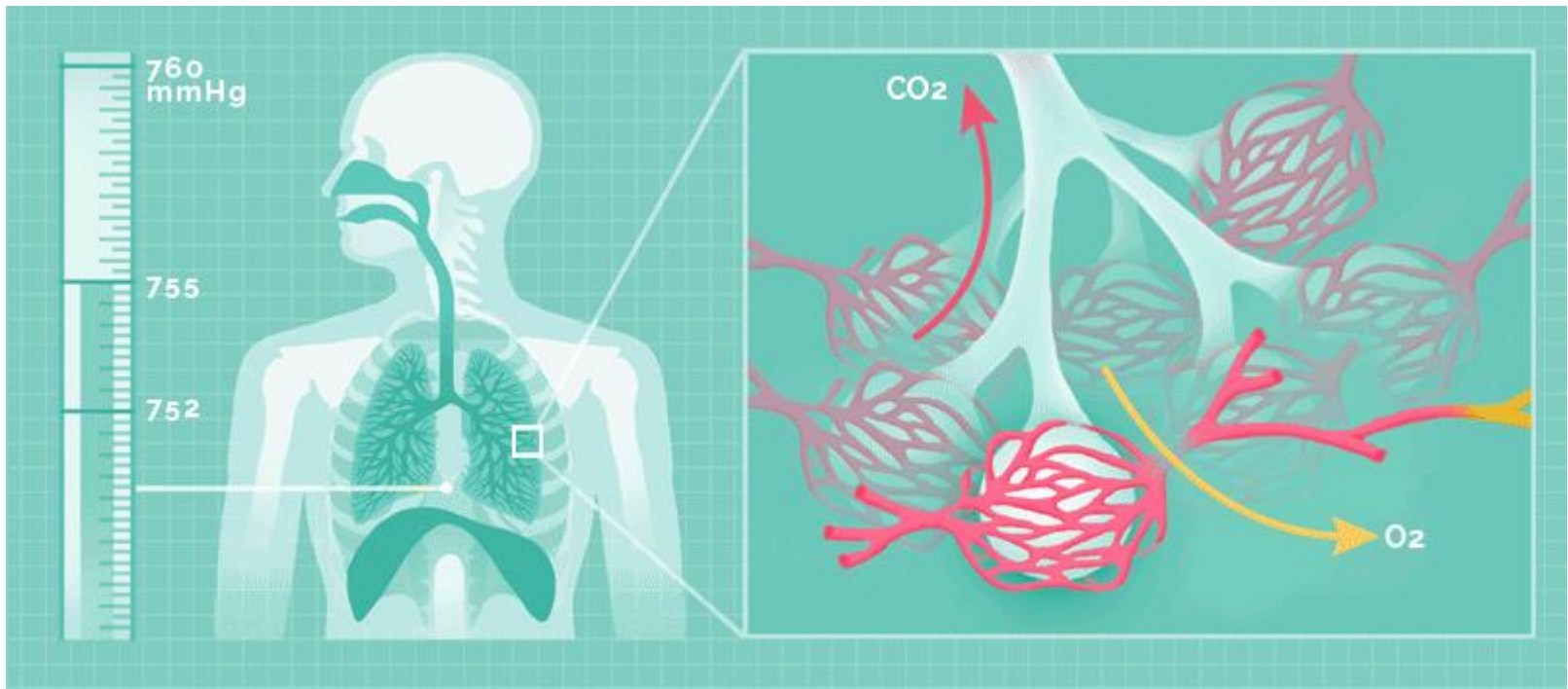
Objem vzduchu (l)

- hloubka a frekvence ventilace jsou přísně regulovány

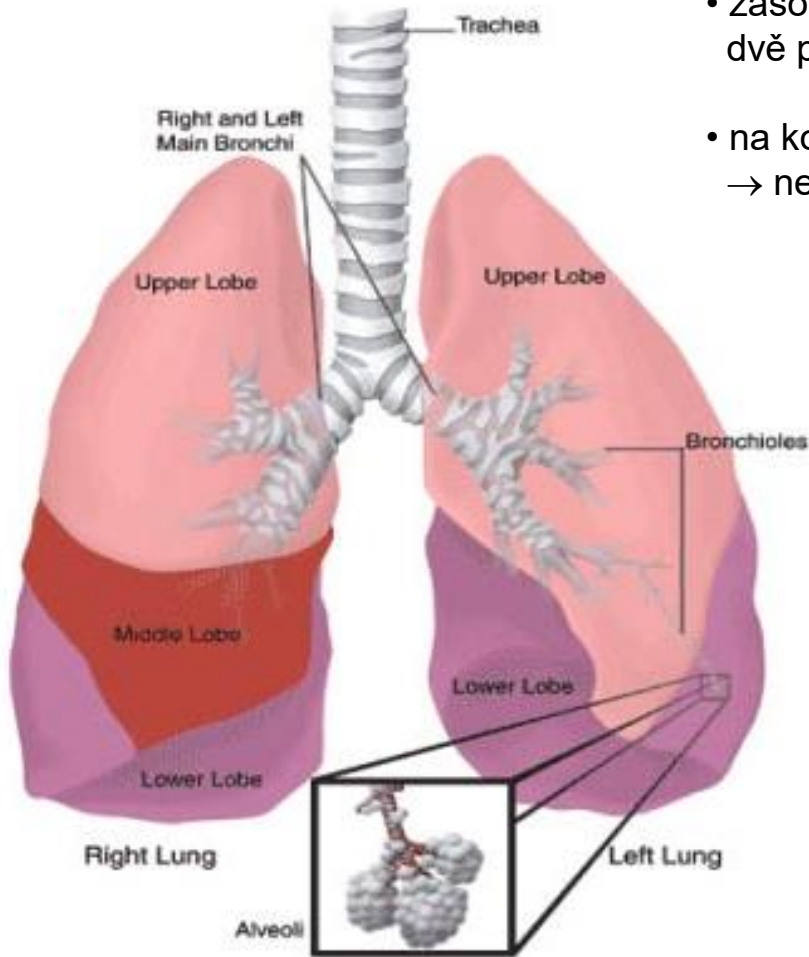


klidové dýchání je relativně mělké pouze ca. 0,5 L

- celková kapacita plic je okolo 6 L
- vitální kapacita plic je okolo 4,5 L
- mrtvý objem tvoří ca. 1,5 L



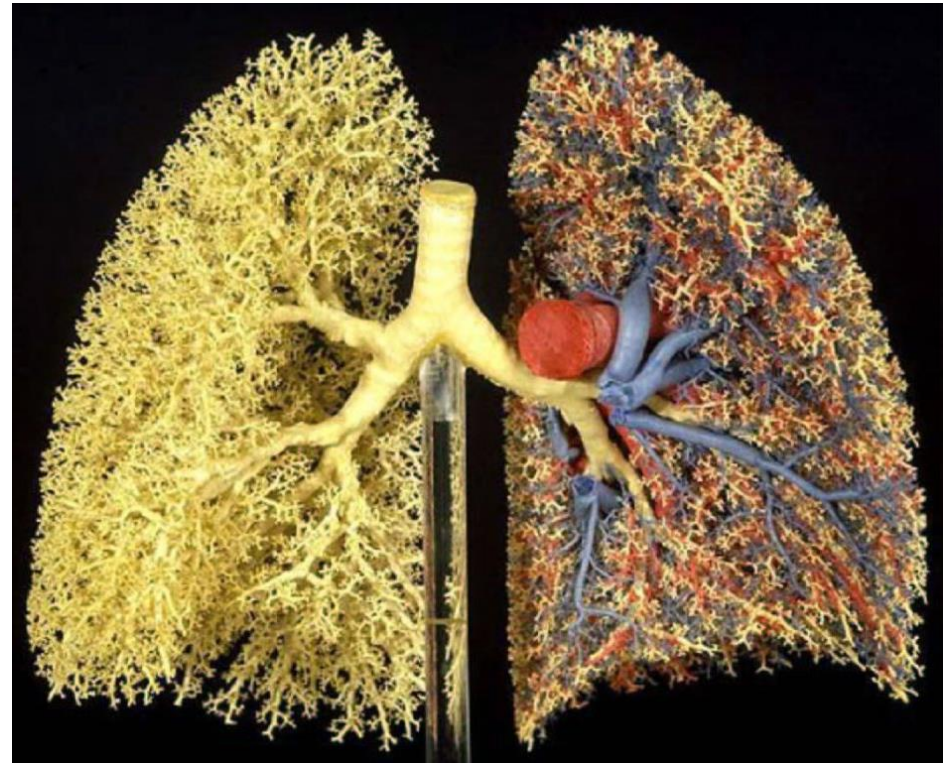
• základní anatomie plic



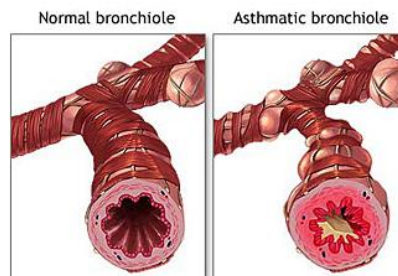
- u pravé plíce rozlišujeme tři **laloky**
- u levé plíce dva laloky

- **poplicnice** (serózní epitel) srůstá s plicním vazivem
- **pohrudnice** vystýlá hrudní koš
- mezi nimi je pleurální tekutina (mok)

- zásobení vzduchem zajišťuje průdušnice (trachea) větvící se na dvě průdušky (bronchi) a posléze průdušinky (bronchioli)
- na konci jsou slepě ukončeny plicními sklípky
→ nedokonalá ventilace ve srovnání s ptáky (nebo i s rybami)



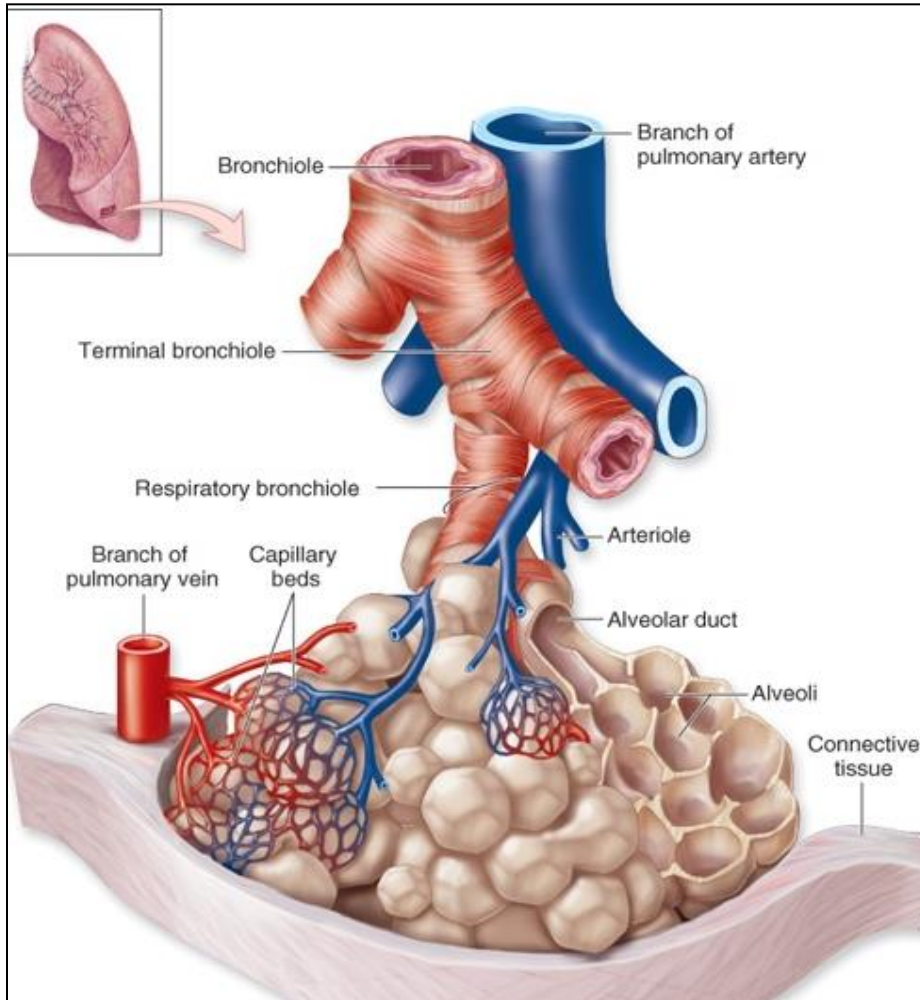
vlevo: vzdušné cesty
vpravo: plus plicní cévní systém



- svalová kontrakce bronchiol a zduření sliznice při astmatickém záchvatu

• lokalita výměny dýchacích plynů

- dospělý člověk stovky miliónů sklípků
- průměr 0.2 až 0.3 mm
- celková povrchová plocha 80 – 100 m²
- difúzní bariéra ca. 1 um

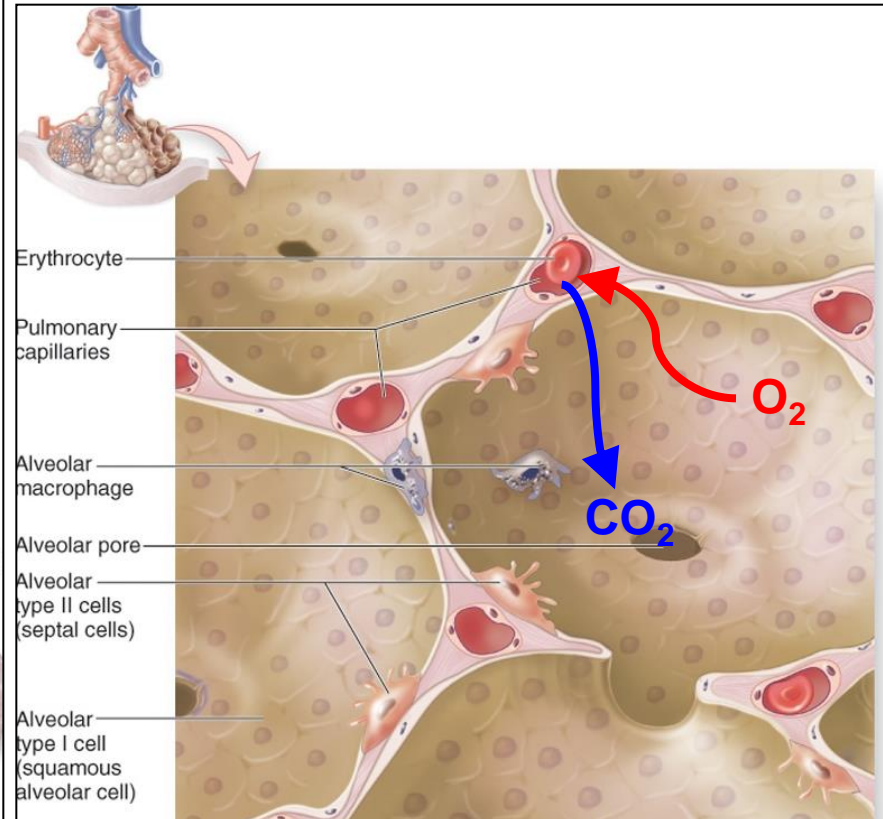


Vnější vzduch (za tlaku 760 mm Hg, teploty 15°C)

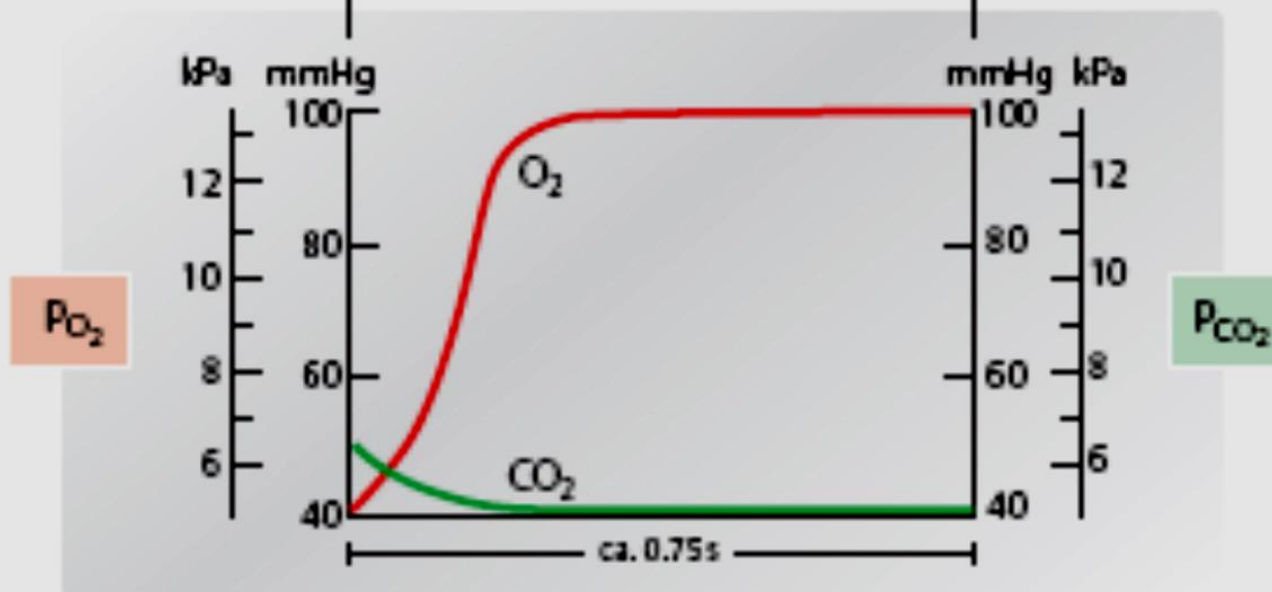
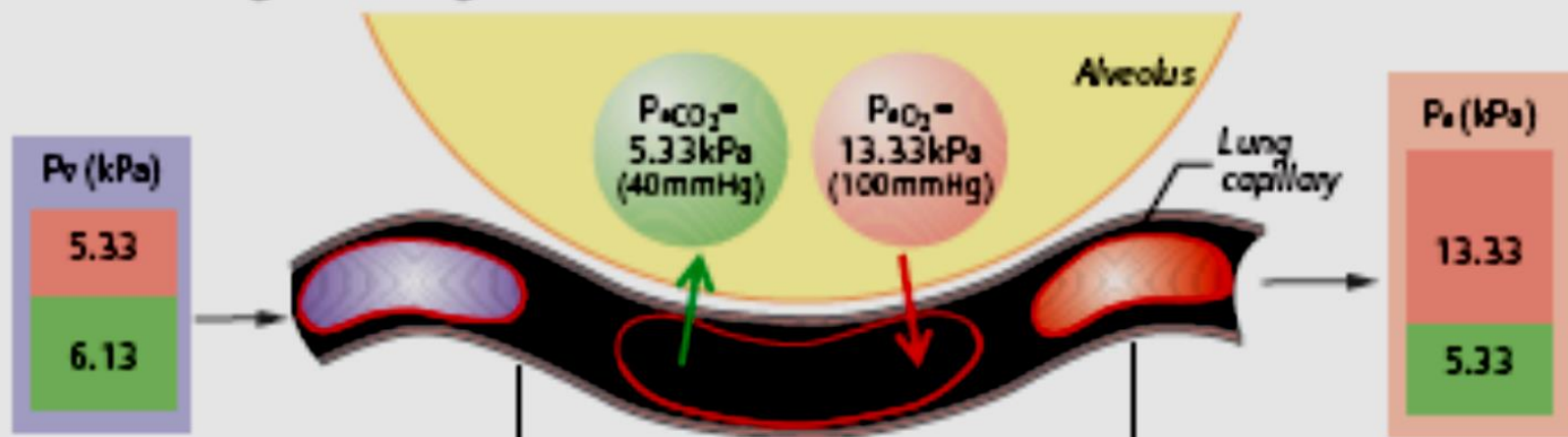
- | | | |
|-------------------|-----------|------------|
| • kyslík | 21% (kPa) | 160 mm Hg |
| • CO ₂ | 0.038% | 0.38 mm Hg |

Plicní vzduch v alveolech (za teploty 37°C)

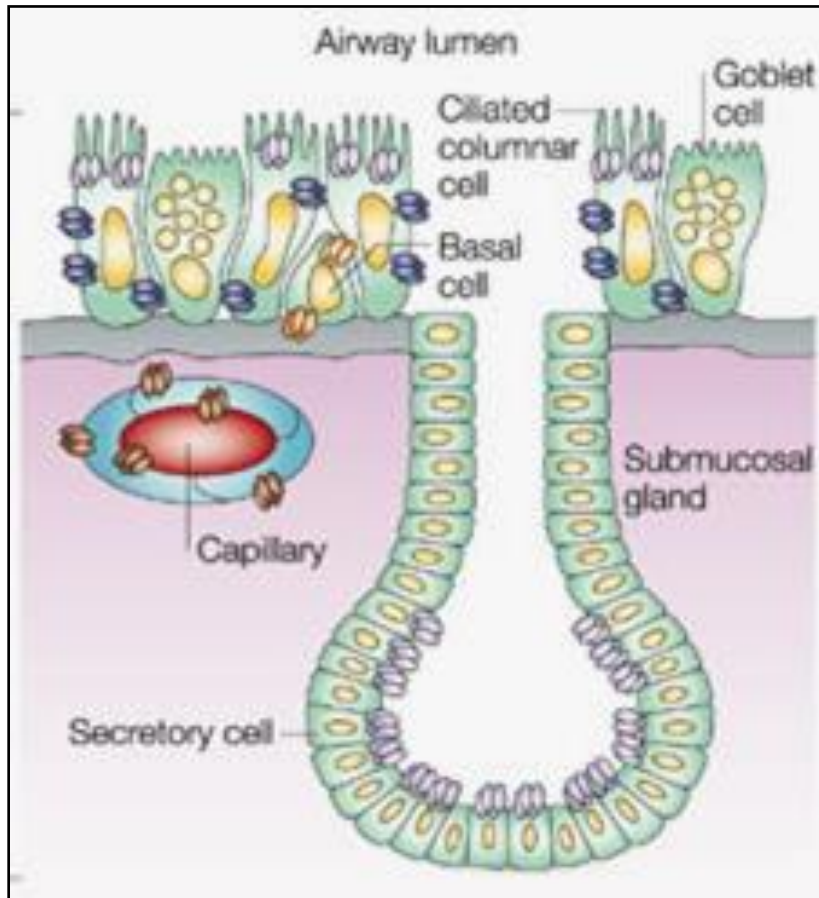
- | | | |
|-------------------|-------|-----------|
| • kyslík | 13.3% | 100 mm Hg |
| • CO ₂ | 5.3% | 40 mm Hg |
| • vodní pára | 6.2% | 47 mm Hg |



A. Alveolar gas exchange

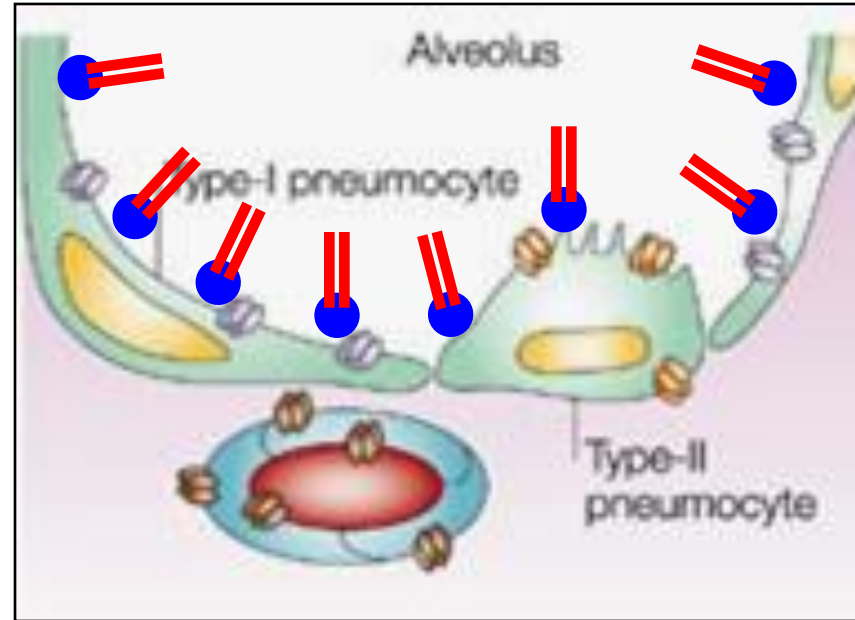


- **pohárkové buňky** a **submukózní žlázy** produkují hlen (mucus)
- **řasinkový epitel** posouvá hlen směrem ven



- sliznice trachejí a bronchiol

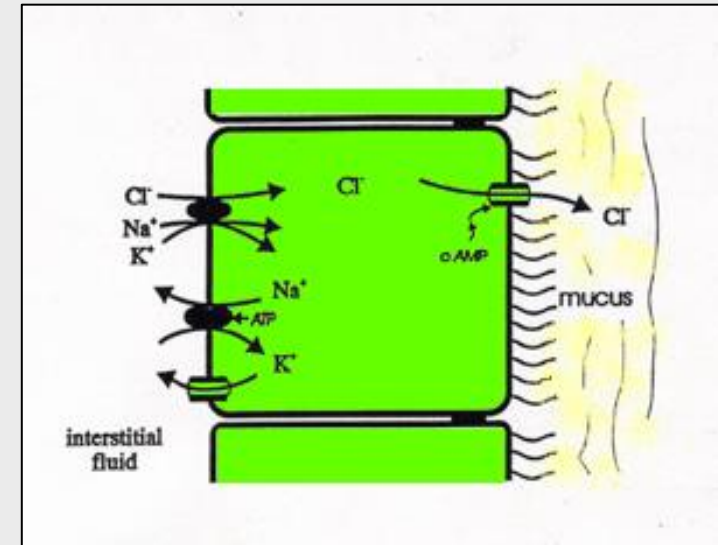
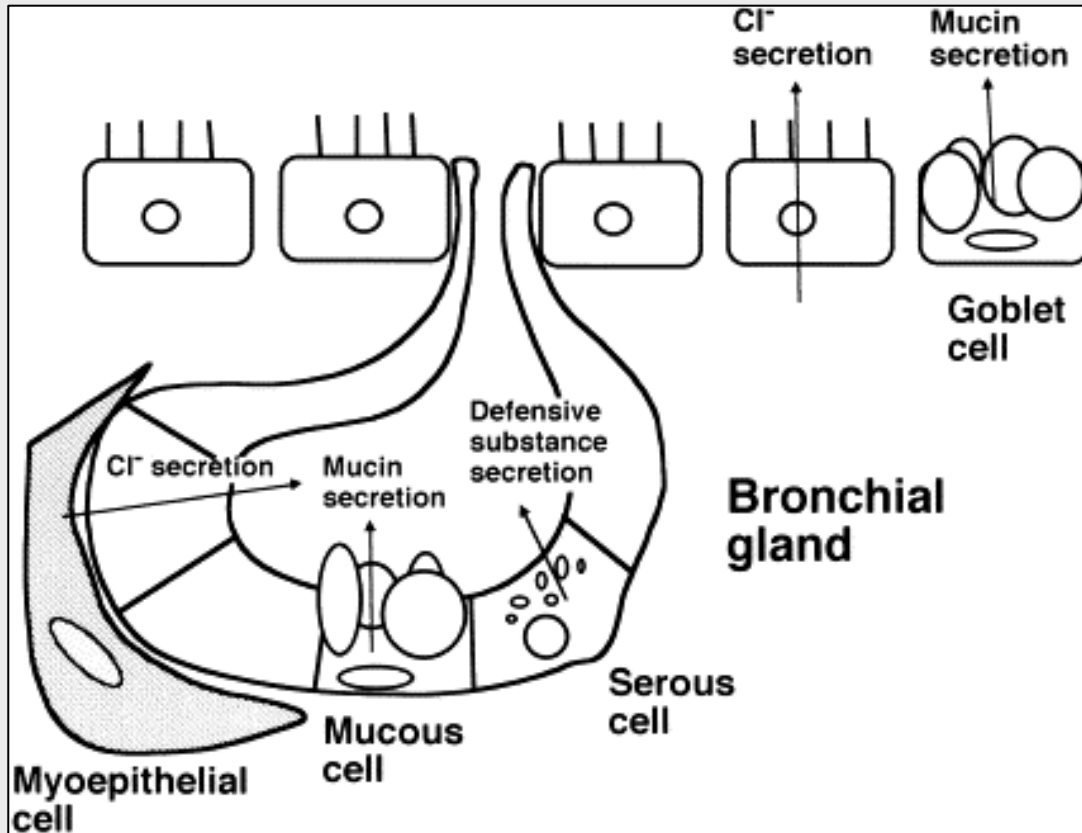
- alveloly jsou vystlány **pneumocyty dvou typů** (I a II)



- **typ I** pokrývá 95 % povrchu, účastní se přenosu plynů, není schopen proliferace
- **typ II** je 2x četnější, ale pokrývá jen malou část povrchu, jeho úkolem je sekrece surfaktantu (fosfolipidu), který snižuje povrchové napětí uvnitř alveolů (brání tak jejich kolapsu při výdechu), tento typ také prolifereje a diferenciuje na oba typy

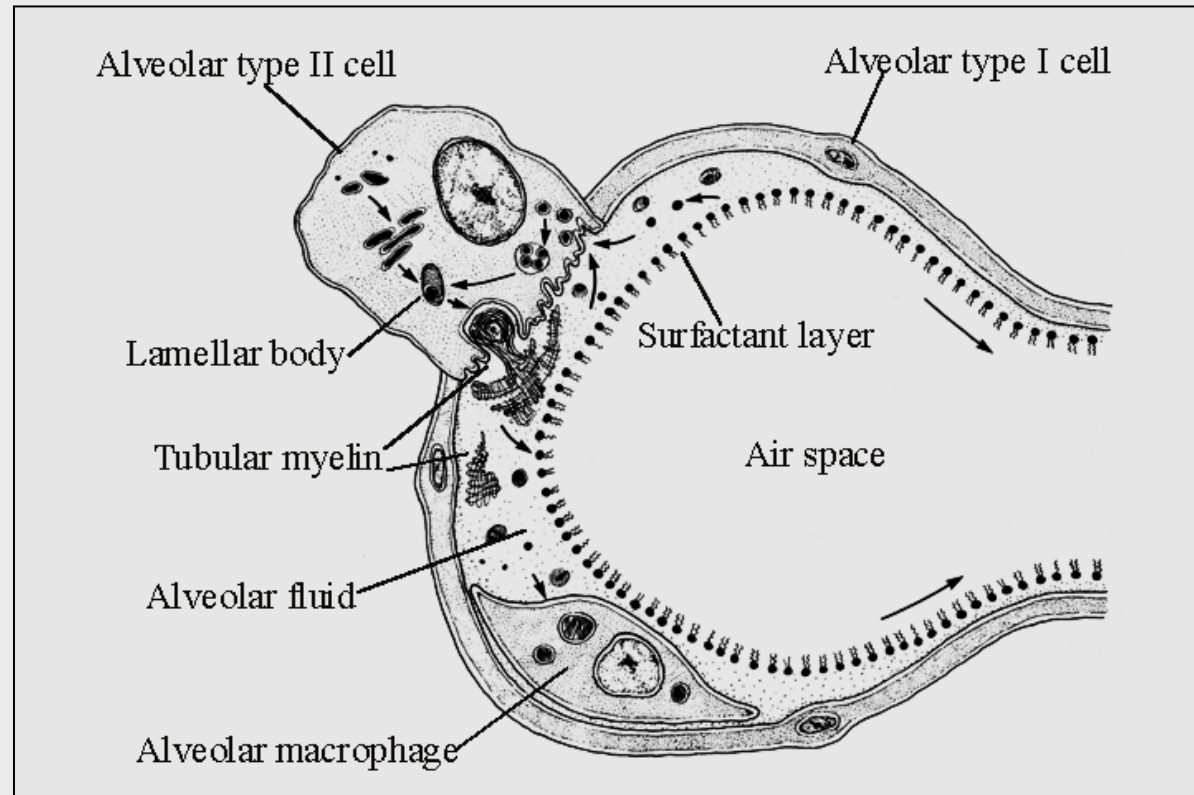
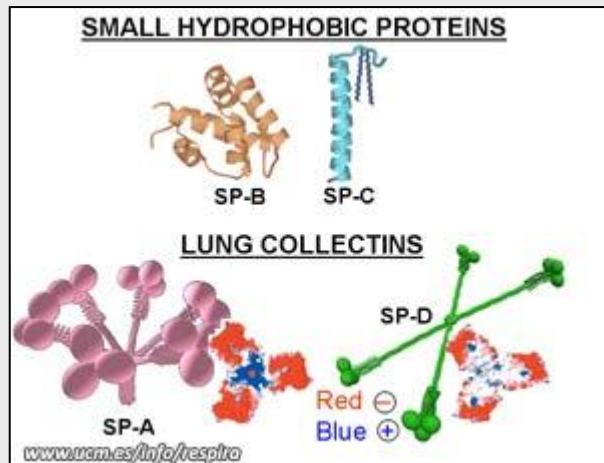
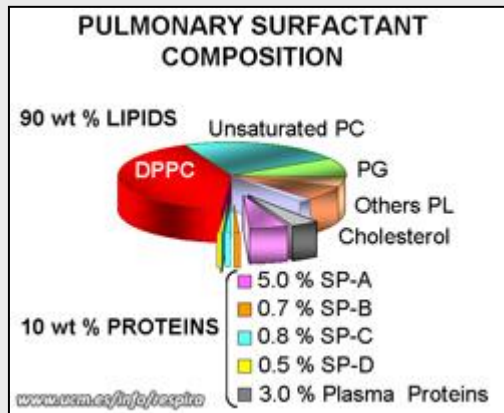


dipalmitoyl-fosfatidyl-choline (surfactant)
 modře – hydrofilní část; červeně – hydrofóbní část



- **mucous cells:** sekrece mucinu (hlenu)
 - **serous cells:** sekrece obranných látek: (lysozyme, lactoferrin, defensin, secretory IgA, secretory leukoprotease inhibitor (SLPI), surfactant protein-A)
- optimální "tekutost" hlenu je zajištěna sekrecí vody, která je tažena osmoticky, transportem Cl^- přes sliznici
 - sliznice také obsahuje velké množství akvaporinů

- **povrchově aktivní látky, které zabraňují kolapsu plicních sklípků ...**
- hlavní složkou jsou fosfolipidy, ale účastní se i několik proteinů: Surfactant Proteins (SP) A – D
- proteiny, zejména A a D, vážou mikrobiální patogeny a umožňují jejich pohlcení alveolárními makrofágy



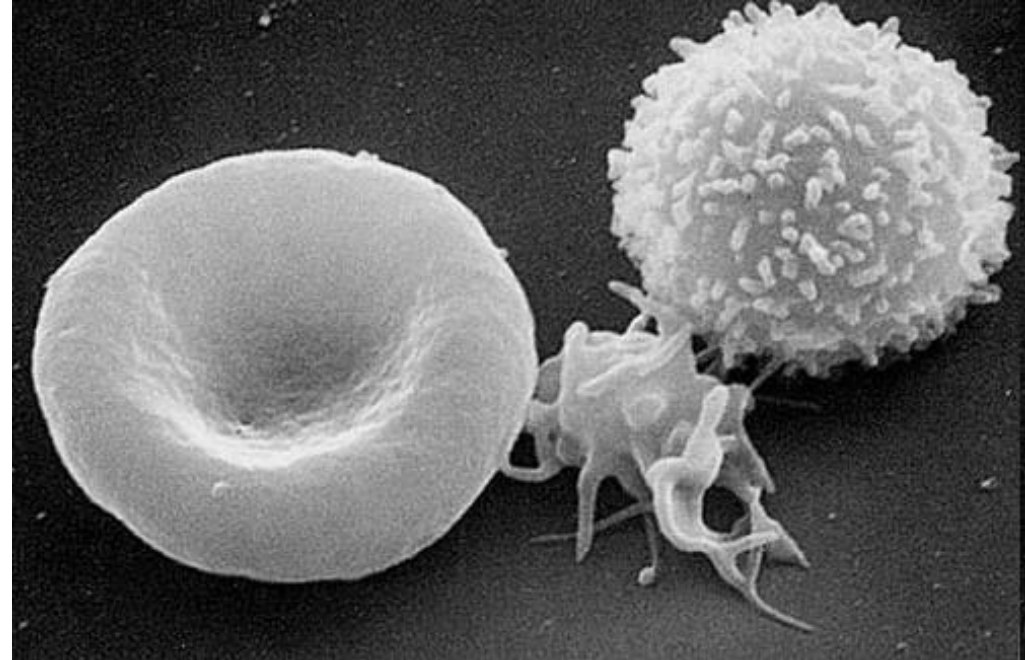
RBC

- kontejnery krevního barviva hemoglobinu

- erythrocyty, RBC (Red Blood Corpuscles)

- muži: 5 – 6 miliónů / uL

- ženy: 4 – 5 miliónů / uL



- **bezjaderné buňky** (bez transkripce, dělení, oprav) (pouze u savců)

(nižší strunatci – žádné erythrocyty)
(kruhoústí až ptáci – jaderné erythrocyty)

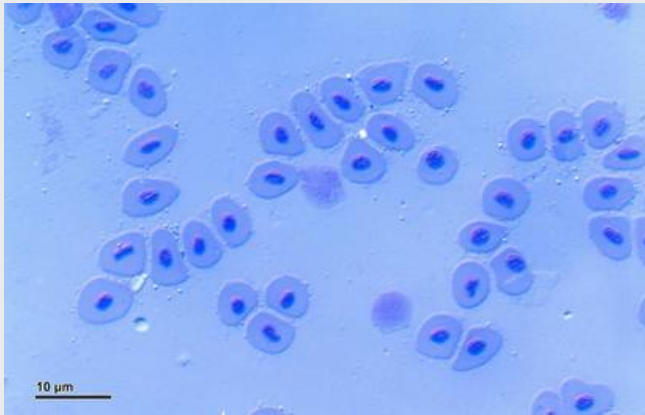
- u savců: **bez mitochondrií** (anaerobní, produkují laktát)

- 97% suché hmoty tvoří Hgb

- **porovnání velikosti:** erythrocyt (6 – 8 uM) (vlevo)
trombocyt (uprostřed)
leukocyt (vpravo)

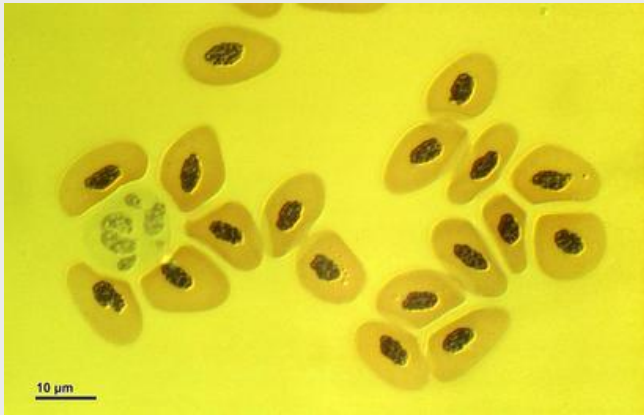
- vznikají v kostní dřeni (2 mil. / sec)
životnost ca. 120 dnů
zanikají ve slezině

- slezina funguje i jako zásobárna RBC pro maximalizaci výkonu (šelmy, kopytníci, „potápěči“...)

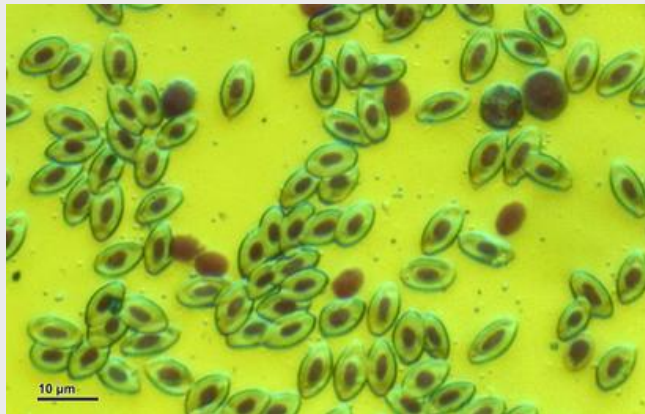


- červené krvinky ryb (nahore), obojživelníků (uprostřed) a plazů (nezobrazeno) a ptáků (dole) mají na rozdíl od savčích erytrocytů buněčné jádro.

Zdroj Wikimedia Commons,
autor doc. RNDr. Josef Reischig, CSc.,
licence Creative Commons Attribution-ShareAlike
3.0 Unported.



- bezjaderné RBC savců mohou být relativně malé a mají také mají zploštělý tvar, což jim umožňuje průchod tenkými kapilárami a dobré "přilehnutí" ke stěně kapiláry na jejíž druhé straně je plicní sklípek nebo tkáň, se kterou dojde k difúzní výměně plynů ...



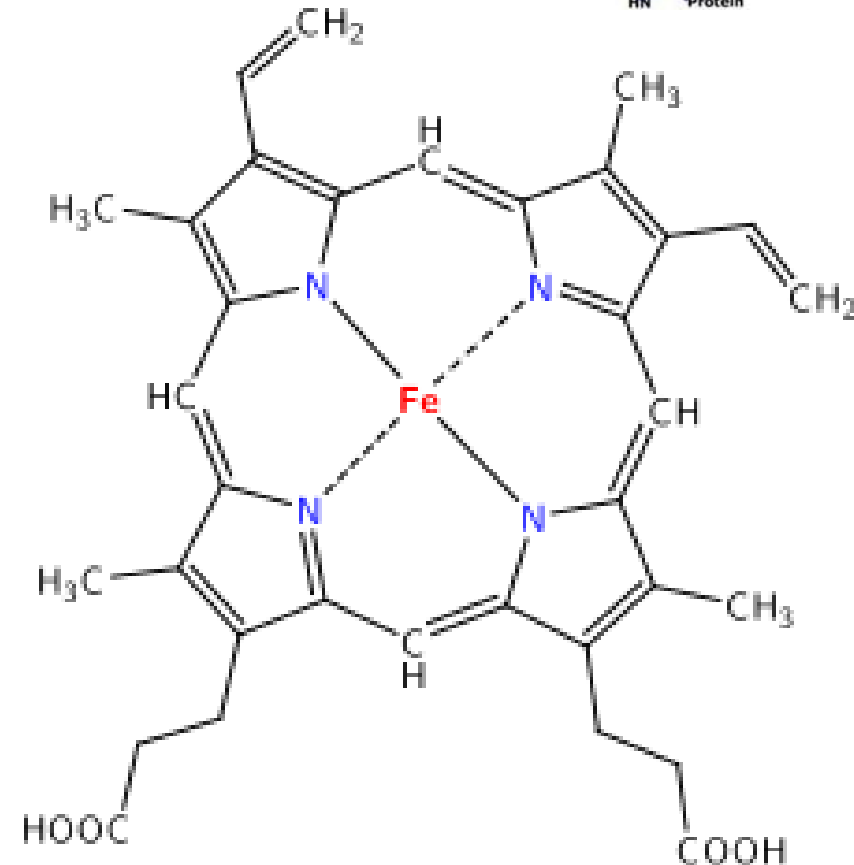
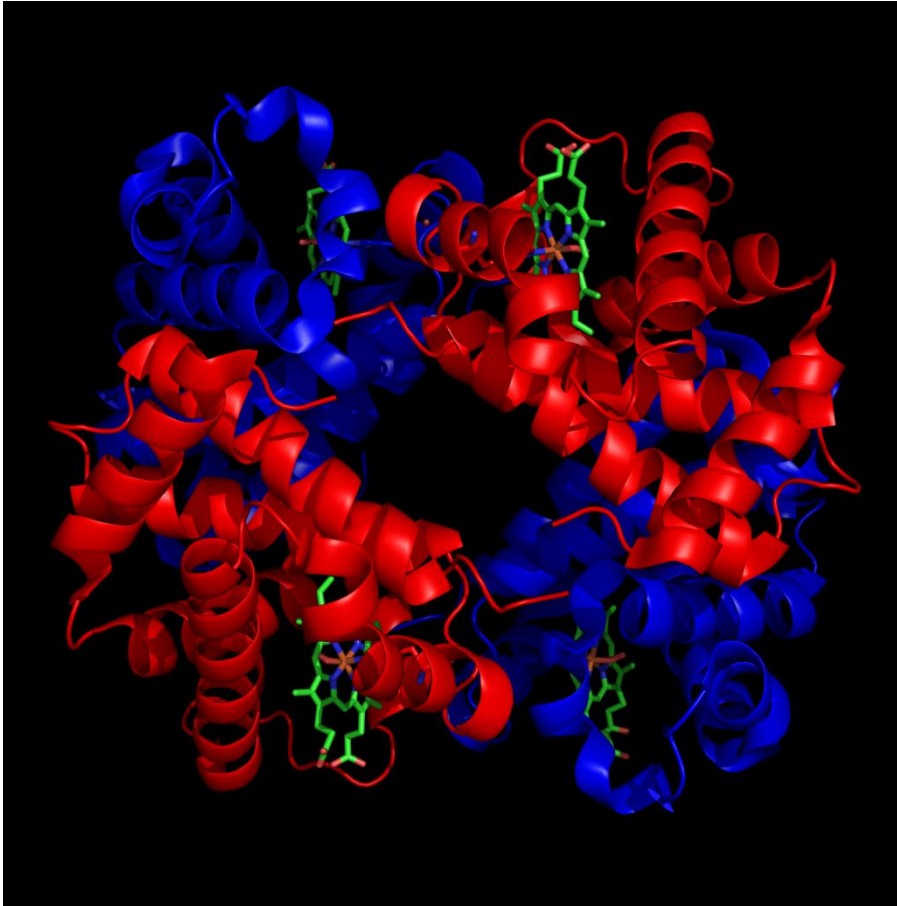
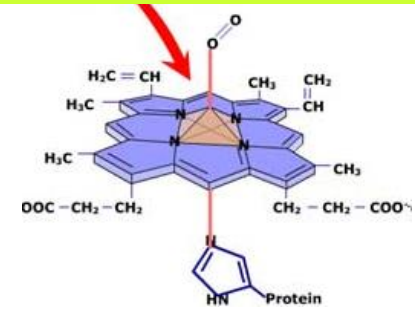
- vazba vzdušného kyslíku na kovový ion a následně přenos kyslíku krví ke tkáním ...

Krevní barviva (metaloproteiny)			
<i>název</i>	<i>kov</i>	<i>oxy</i> <i>deoxy</i>	<i>výskyt (lokalizace)</i>
hemoglobin	Fe ²⁺	červená <i>fialová</i>	obratlovci (intra-celulární) bezobratlí (intra- i extra-)
hemocyanin	Cu ²⁺	modrá <i>bezbarvá</i>	plži, hlavonožci, pavouci, stonožky (extracelulární)
chlorocruorin	Fe ²⁺	zelená <i>zelená</i>	kroužkovci (extracelulární)
hemerythrin	Fe ²⁺	fialová <i>bezbarvá</i>	ramenonožci, sumýšovci, hlavatci (intracelulární)

- hemoglobin uvolněný do krve (plazmy) při hemolýze (rozkladu červených krvinek) se váže na **haptoglobin** (Hp, produkovaný v játrech savců) a je tak určen k odbourání ve slezině
- **hemopexin** (Hpx) je protein, který váže uvolněný hem (met-hemoglobin) při rozsáhlejší hemolýze

Hemoglobin

- **dýchací pigment – transportér O₂**
- kapacita krevní plazmy (bez hemoglobinu) je pouhých 0.3% O₂ (při rovnováze s plicním vzduchem a dané osmolaritě plazmy)
- **hemoglobin** ji zvyšuje až na 20% (200 mL/L) (při $pO_2 = 16 \text{ kPa} = 120 \text{ mm Hg}$)

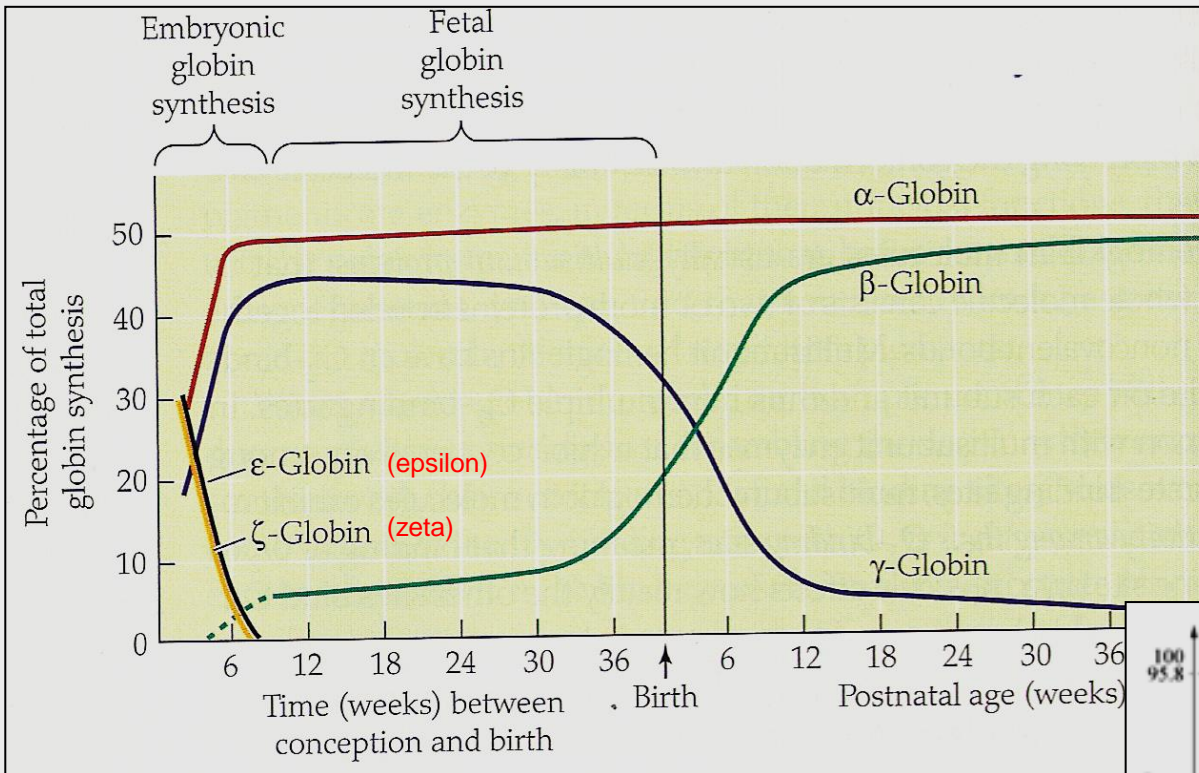


- **tetramer podjednotek globinů α a β**
- každá podjednotka: 17 kDa
- jedna molekula – čtyři hemové skupiny

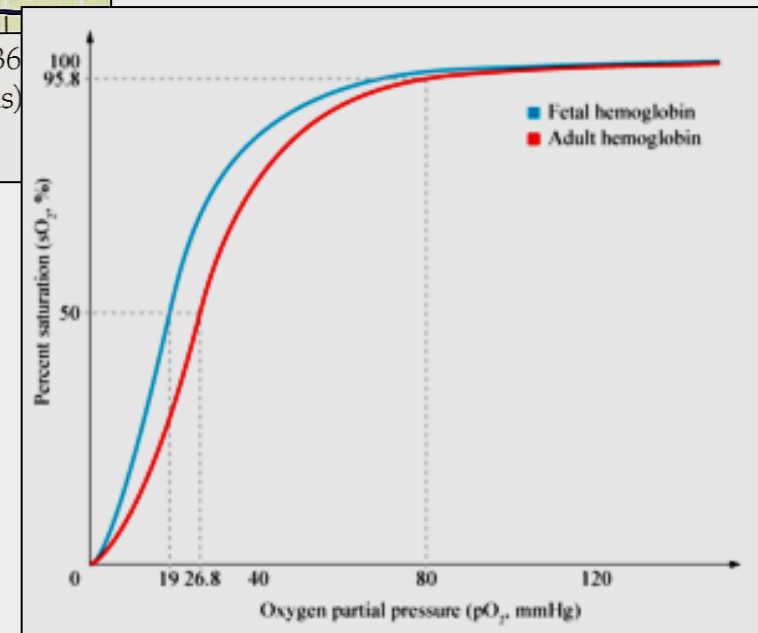
- **hem** (porfyrinový kruh se železnatým Fe²⁺ iontem uprostřed
- vazba O₂ na železnatý ion jej mění na železitý Fe³⁺ (oxidace kovu, ztráta elektronů)

- plodový hemoglobin má vyšší afinitu ke kyslíku

- je to proto, že nereaguje s 2,3-diP-glycerátem, který snižuje afinitu dospělého hemoglobinu ke kyslíku



- tetramer α a γ hemoglobinu převažuje u lidského plodu a také u kojenců do věku ca. 6 týdnů
- syntéza γ hemoglobinu rychle klesá po narození a naopak začíná syntéza dospělého β hemoglobinu



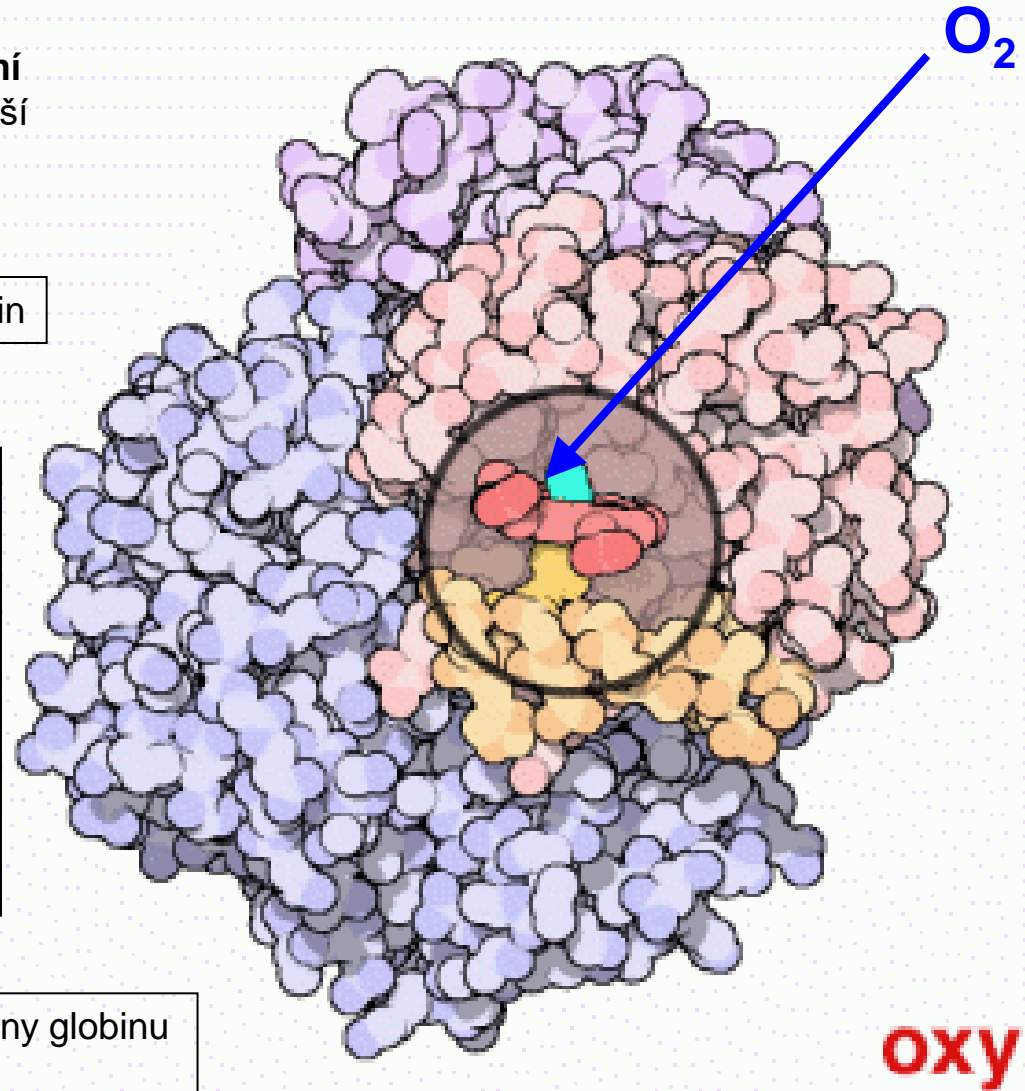
- každá molekula Hgb může vázat až 4 molekuly O_2
- vazba O_2 na Hgb mění konformaci globinu
- vazba jednotlivých molekul O_2 je **kooperativní**
→ vazba první molekuly usnadňuje vazbu další

Vazba kyslíku: **deoxy** → **oxy**hemoglobin

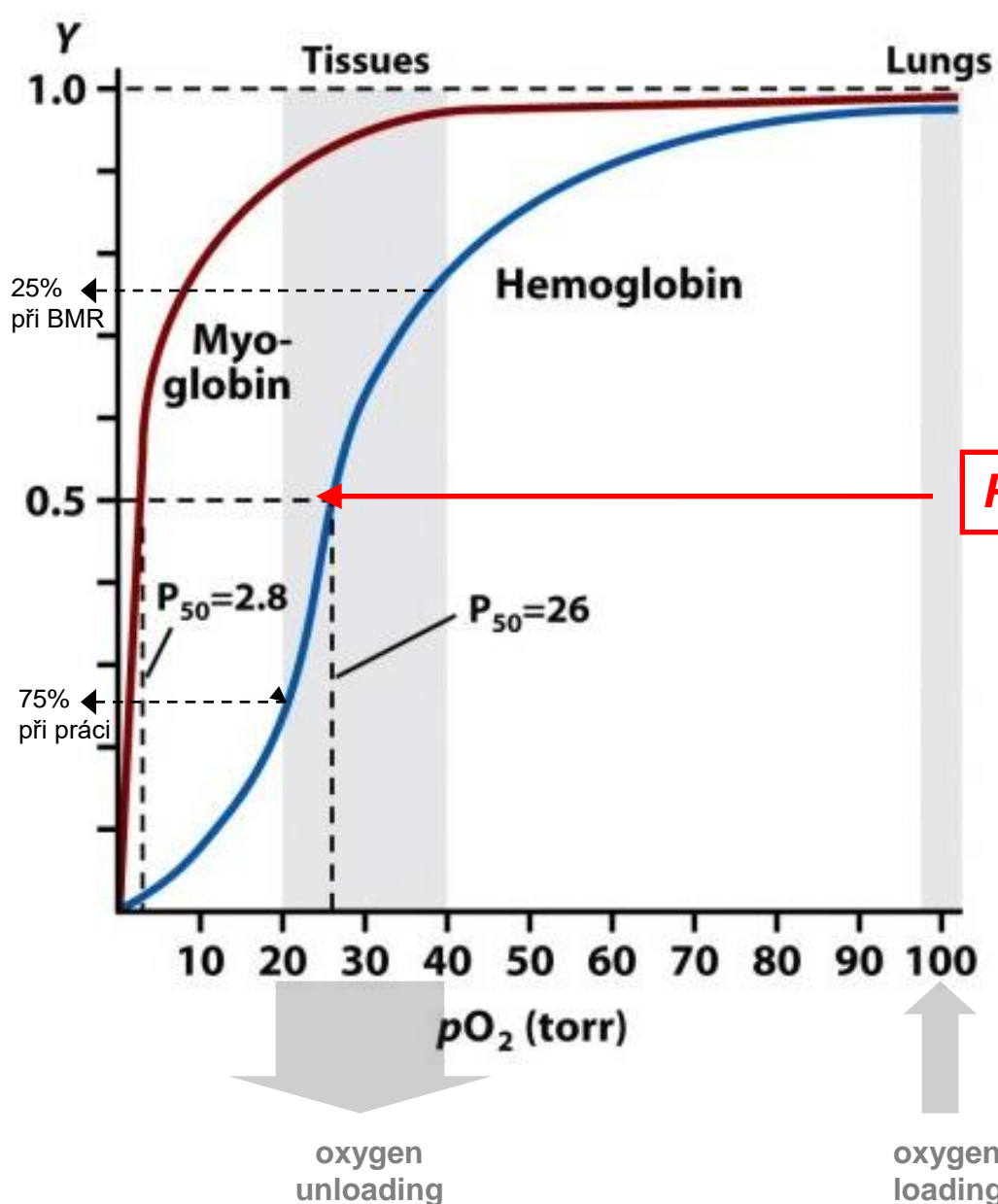
Vazba jiných plynů nebo oxidace železa
brání vazbě kyslíku:

- vazba CO: **karboxyhemoglobin**
(nevratná ztráta aktivity)
- oxidace $Fe^{2+} \rightarrow Fe^{3+}$: **methemoglobin**
(vratná ztráta aktivity)
- vazba NO_2 (dusičitý), HCN, H_2S : **toxicita**

Vazba CO_2 : na terminální aminoskupiny globinu
→ **karbaminát**



závislost saturace hemoglobinu kyslíkem na parciálním tlaku kyslíku

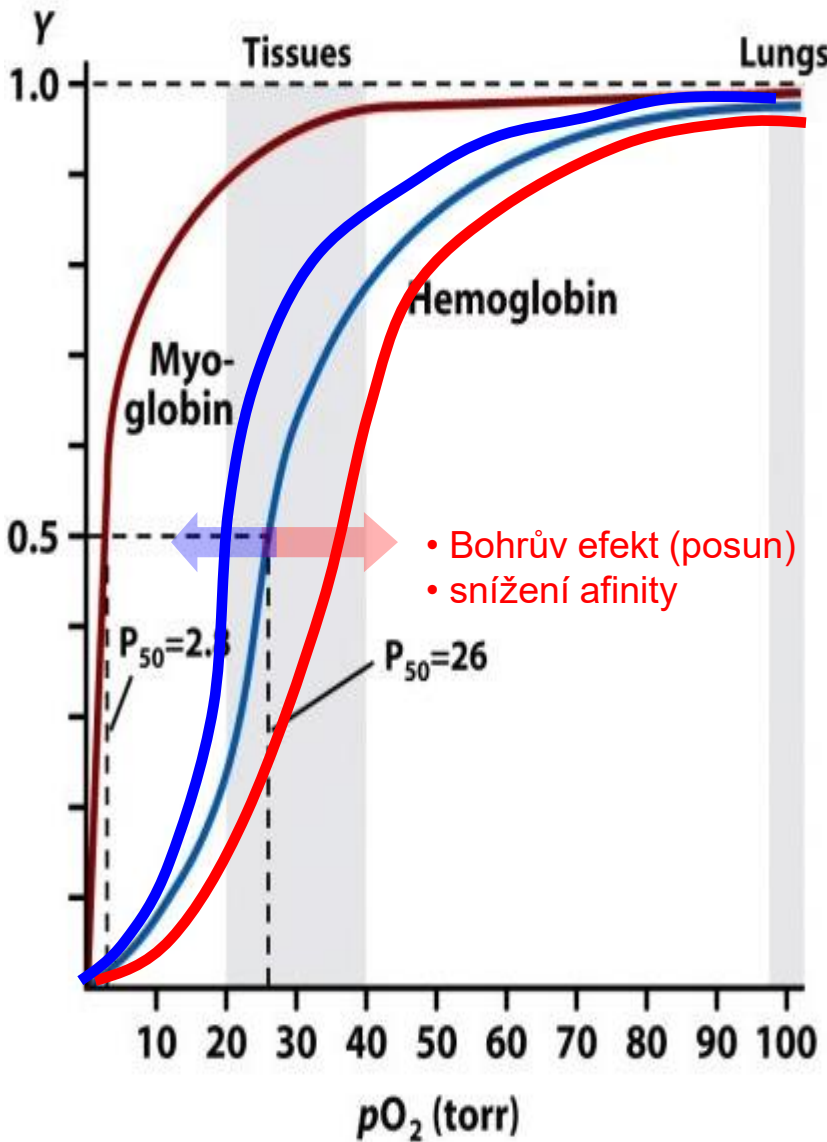


ke 100% nasycení Hgb kyslíkem dochází až za tlaku 120 Torrů = 16 kPa

- **v plicích** je rel. vysoká koncentrace kyslíku (vyjádřená parciálním tlakem pO₂ = 100 mm Hg)
 - **Hgb se sytí kyslíkem** až jsou všechny pozice na všech molekulách Hgb okupovány kyslíkem
- měřítkem afinity barviva ke kyslíku je P₅₀ → koncentrace (parciální tlak) kyslíku, kdy je polovina Hgb nasycena (čím nižší, tím vyšší afinita)
- **ve tkáních** je rel. nízká koncentrace kyslíku
 - pO₂ = 40 mm Hg v klidu
 - pO₂ = 20 mm Hg u pracujícího svalu
 - **Hgb se vzdává kyslíku**
 - ca. 25% kyslíku se uvolní v klidu
 - 75% a více kyslíku se uvolní v pracujícím svalu
- **myoglobin** má vysokou afinitu ke kyslíku
 - může jej odebírat od hemoglobinu ve tkáních, skladovat jej a uvolňovat, až když hladina kyslíku poklesne velmi nízko ...

- **vliv modulátorů:** teplota, pH, $p\text{CO}_2$, organofosfáty

savci: 2,3-DPG, difosfoglycerát (5 mM v RBC)
 ptáci: IP5, inositolpentafosfát
 ryby: ATP, GTP



Posun křivky doprava (snížení afinity) (vyšší výdej ve tkáních):

- hypertermie obtížnější vazba za vyšší energetické hladiny
- hyperkapnie vzestup $p\text{CO}_2$ způsobuje pokles pH, vazba CO_2 na globin \rightarrow karbamináty
- acidóza pokles pH, **Bohrův posun**
- vazba **2,3-DPG** na částečně deoxygenovaný Hgb

Fyziologický význam:

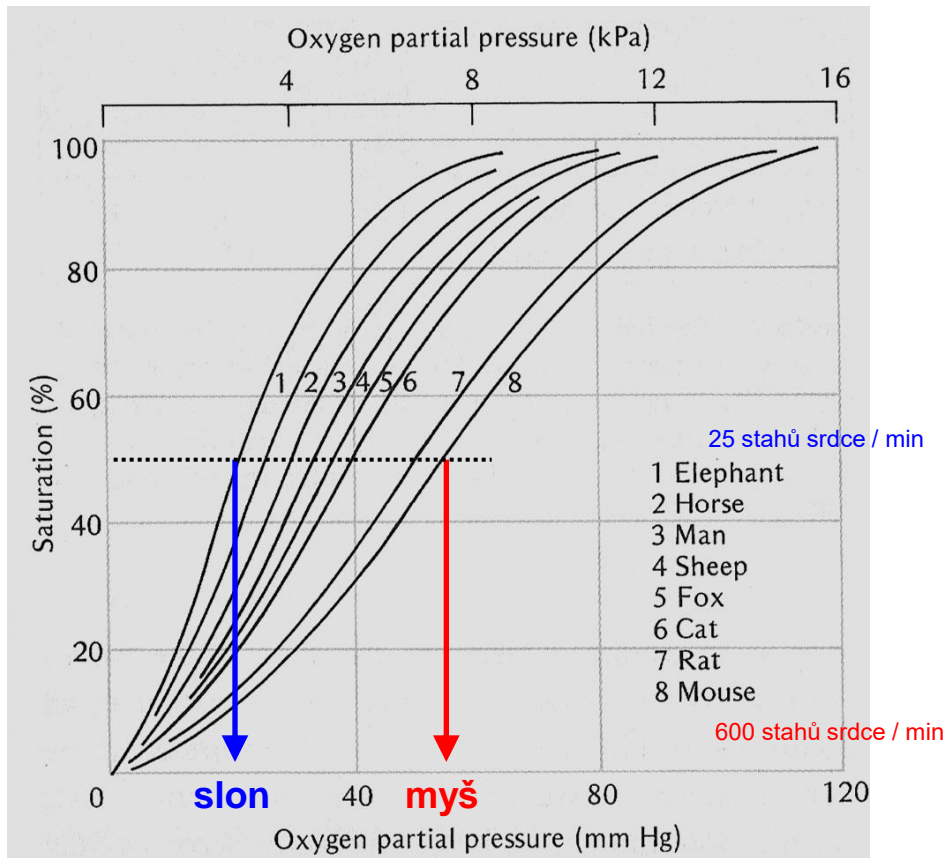
- aktivní tkáň by měla být přednostně zásobena kyslíkem
- parametry aktivní tkáně posunují křivku doprava \rightarrow snižují afinitu Hgb ke kyslíku \rightarrow **zvyšují výdej kyslíku v aktivní tkáni**
- aktivní tkáň se prozradí: vyšší teplotou
 vyšší hladinou CO_2
 vyšší kyselostí (sníženým pH)
 vyšší produkcí 2,3-DPG (produkt glykolýzy)

Posun křivky doleva (zvýšení afinity) (nižší výdej ve tkáních):

- hypotermie
- hypokapnie
- alkalóza
- disociace **2,3-DPG**

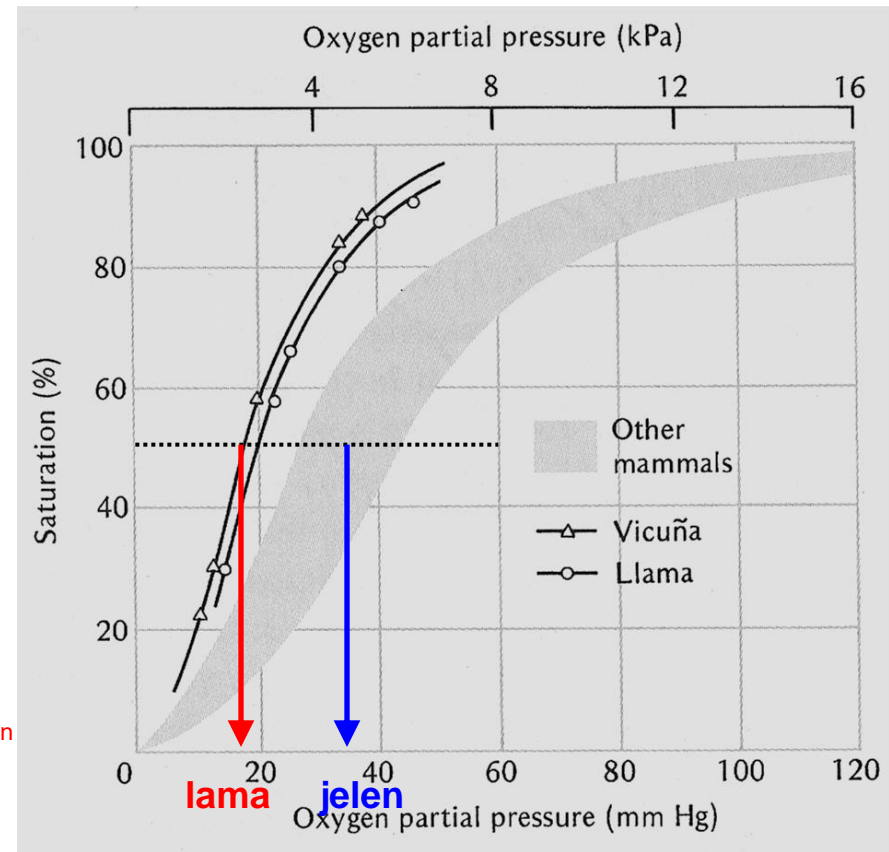
• závisí na:

1. velikosti těla (relativní rychlosti metabolismu)



- myš má rychlejší metabolismus než slon, proto se její hemoglobin „ochotněji“ vzdává kyslíku ve prospěch tkání (má nižší afinitu ke kyslíku)
- podobná závislost bude platit i pro dva stejně velké organismy, lišící se celkovou aktivitou (šelma x lenochod) (endoterm x ektoterm)

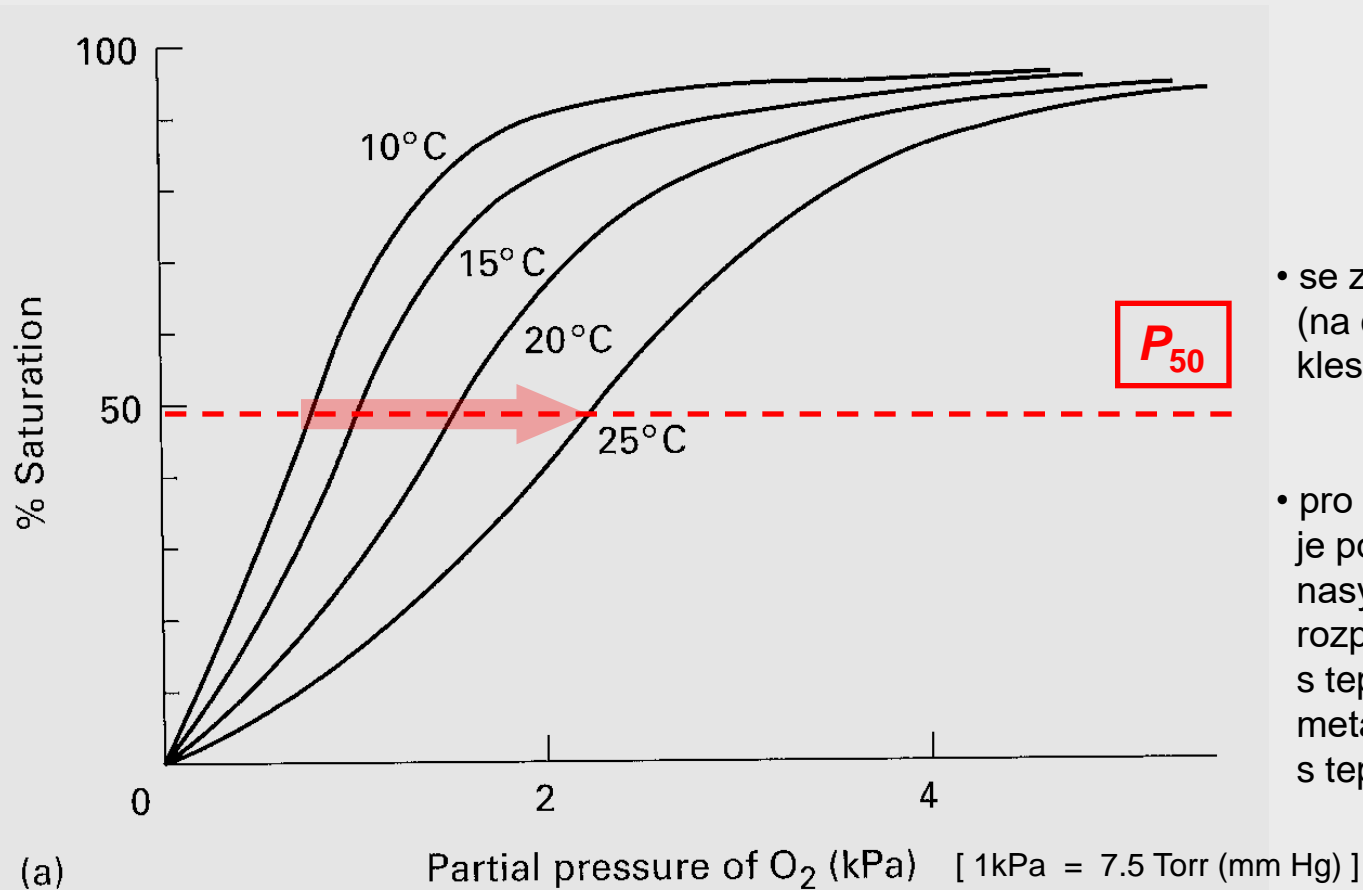
2. množství kyslíku v prostředí



- lama žije v nadm. výšce kolem 5000 m, kde je ca. poloviční parciální tlak kyslíku, proto má její hemoglobin vyšší afinitu ke kyslíku, aby jej lépe vychytával z „řídkého vzduchu“
- podobná závislost bude platit i pro živočichy obývající hypoxická prostředí (nory, stojaté vody) a také např pro lidský plod (kyslík z matčiny krve)

- vliv teploty

týká se hlavně poikilotermů, hibernátorů, v daleko menší míře homeotermů (člověka)

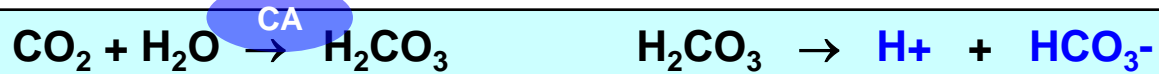


- se zvyšující se teplotou prostředí (na obr. vody) klesá afinita barviva ke kyslíku

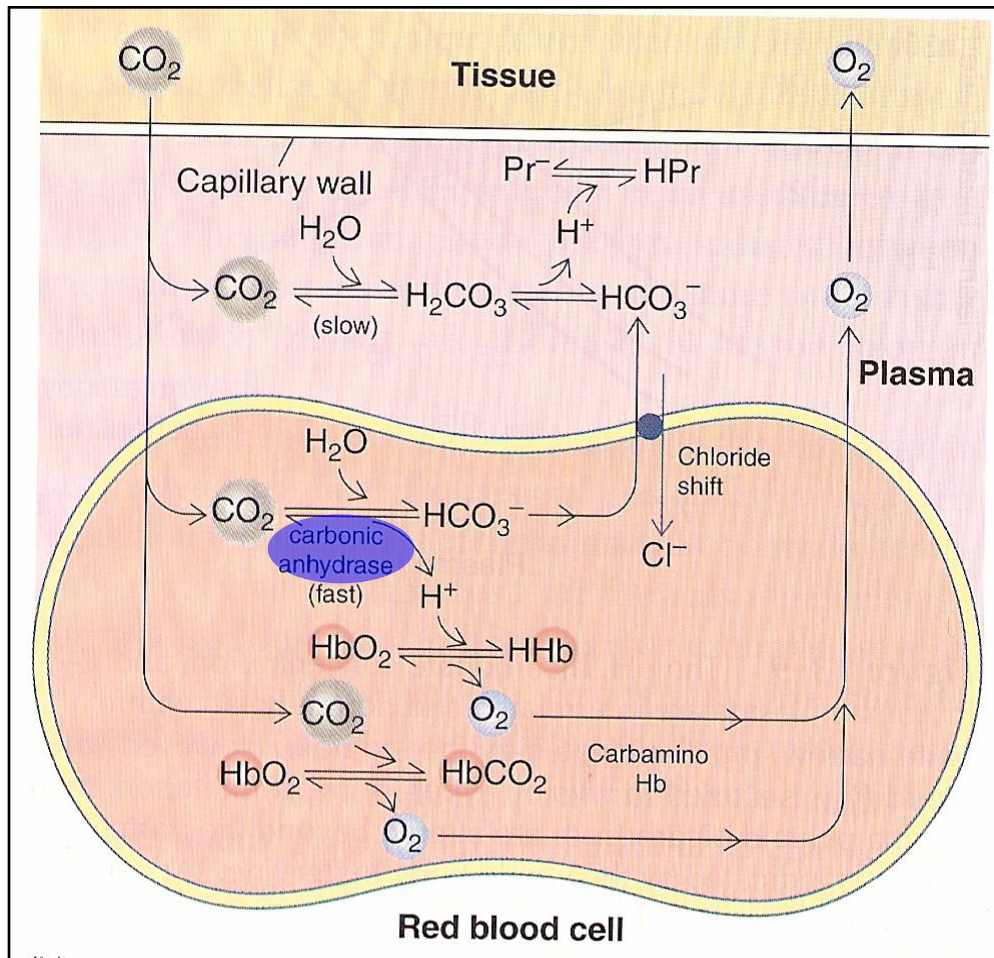
- pro živočichy (na obr. krab) je poté obtížnější nasytit barvivo kyslíkem a navíc, rozpustnost kyslíku ve vodě s teplotou také klesá a naopak metabolická rychlost s teplotou roste ... → potíže

- pokles afinity hemocyaninu kraba ke kyslíku při zvyšující se teplotě

- CO₂ má vysokou rozpustnost ve vodě (krvi)
- dochází k jeho rychlé přeměně na kyselinu uhličitou a dále pak na proton + hydrogenuhličitan



- reakce je uvnitř erythrocytů katalyzována *karbonát anhydrázou* (carbonic anhydrase, CA)

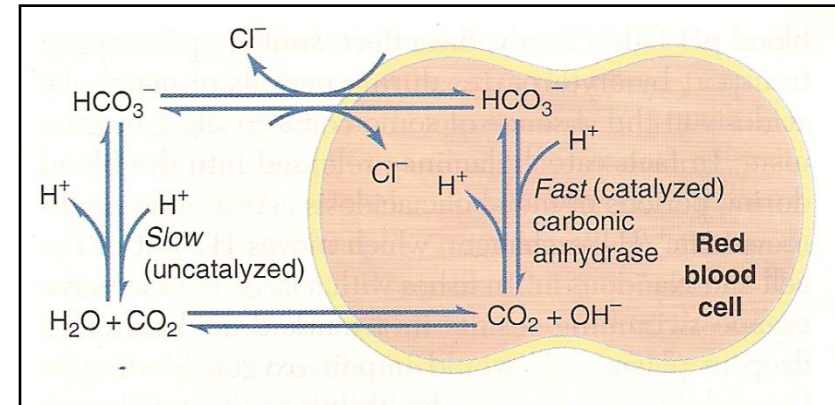


- CO₂ produkovaný buňkami difunduje do krve
- v plazmě pomalu (a v RBC rychle) se mění na hydrogenuhličitan za současné produkce H⁺
- okyselení sníží afinitu Hgb ke kyslíku (**Bohr shift**) a kyslík je uvolněn pro tkáň
- část CO₂ se váže na globin za vzniku **karbamino-Hgb** a tímto rovněž snižuje afinitu Hg pro kyslík (hyperkapnie)
- **Band III protein** je kanál, který vyměňuje hydrogenuhličitan za chloridový anion aby nedošlo k narušení osmotické a elektrické rovnováhy
- v plicích probíhá děj velmi podobně, v zásadě opačně

- koncentrace protonů (pH) a koncentrace CO_2 jsou svázané hodnoty
 - aktivní metabolismus stále produkuje protony
 - dehydrogenační (oxidační) reakce intermediárního metabolismu
 - hydrolýza ATP při anaerobní svalové práci
 - produkce CO_2 a jeho následný rozpad na HCO_3^- a H^+
- rychlou regulaci pH zajišťuje změna rychlosti ventilace plic

• zvýšení rychlosti ventilace plic znamená

- snížení obsahu CO_2 v krvi
- snížení jeho přeměny na hydrogenuhličitan a proton
- snížení kyselosti krve
- (zvýšení pH krve)



- **Jacob-Stewartův cyklus** CO_2 , HCO_3^- a H^+ zajišťuje transport a rovnováhu obou iontů v tělních tekutinách

• dlouhodobá jemná rovnováha pH

- je regulována exkrecí protonů a hydrogenuhličitanu do moči (v ledvinách)

Regulace dýchání

• primární roli hraje chemorecepce

Cílem regulace je zabezpečit:

- 1) dostatečné zásobení tkání kyslíkem
- 2) dostatečně rychlý odvod CO₂
- 3) stálé pH

Sledované veličiny:

pO₂ krve
pCO₂ krve
pH krve

Regulace pomocí:

- rychlosti a objemu ventilace
- rychlosti a objemu cirkulace

Ryby

pO₂ : 7 – 15 kPa
pCO₂ : 0.3 – 1.2 kPa
HCO₃ : 5 – 8 mM

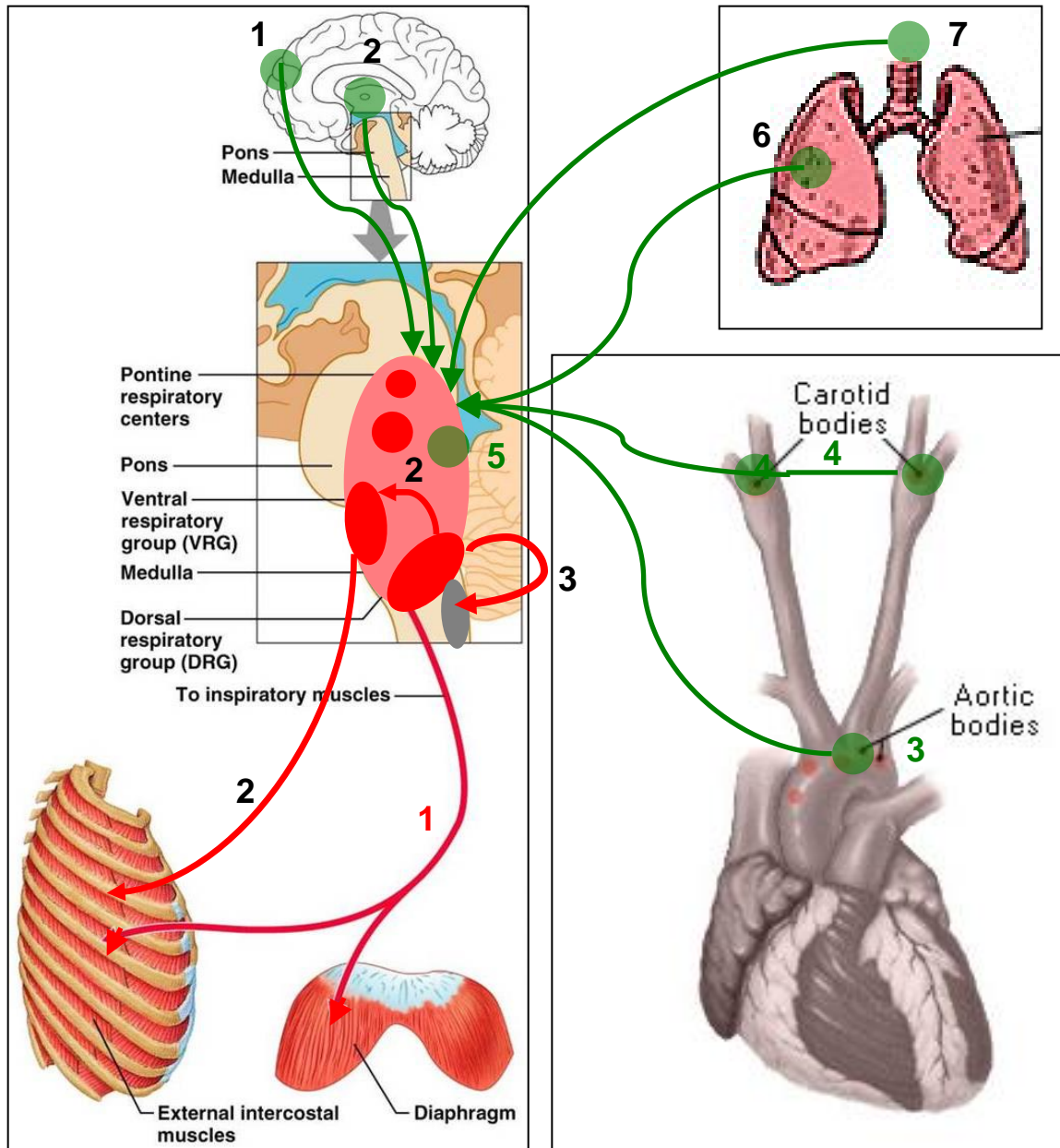
- ve vodním prostředí je hlavním, limitujícím a variabilním faktorem zejména koncentrace O₂
- **ryby sledují především hladinu kyslíku, pO₂ v krvi** pomocí sensorů ve ventrální aortě
- nervový signál směřuje do respiračního centra v prodloužené míše
- eferentní signály kontrolují:
 - ventilační pohyby
 - srdeční stahovou frekvenci
 - lokomoci (pryč z hypoxických podmínek)

Suchozemští obratlovci

pO₂ : 4 – 12 kPa
pCO₂ : 2 – 5.7 kPa
HCO₃ : 13 – 40 mM

- koncentrace O₂ je stálá a vysoká, hlavními limitujícími faktory jsou tedy odvod CO₂ a přísná regulace pH
- **reagují především na změny pCO₂ v krvi a s tím související změny pH krve** pomocí sensorů v aortických a karotických tělískách a hlavně pak pomocí centrálních receptorů pH
- sledování pO₂ v krvi nabývá významu při hypoxii
- nervový signál směřuje do respiračního centra v prodloužené míše
- eferentní signály kontrolují:
 - rychlost a hloubku ventilace plic
 - srdeční stahovou frekvenci

• respirační centrum v prodloužené míše a mostu



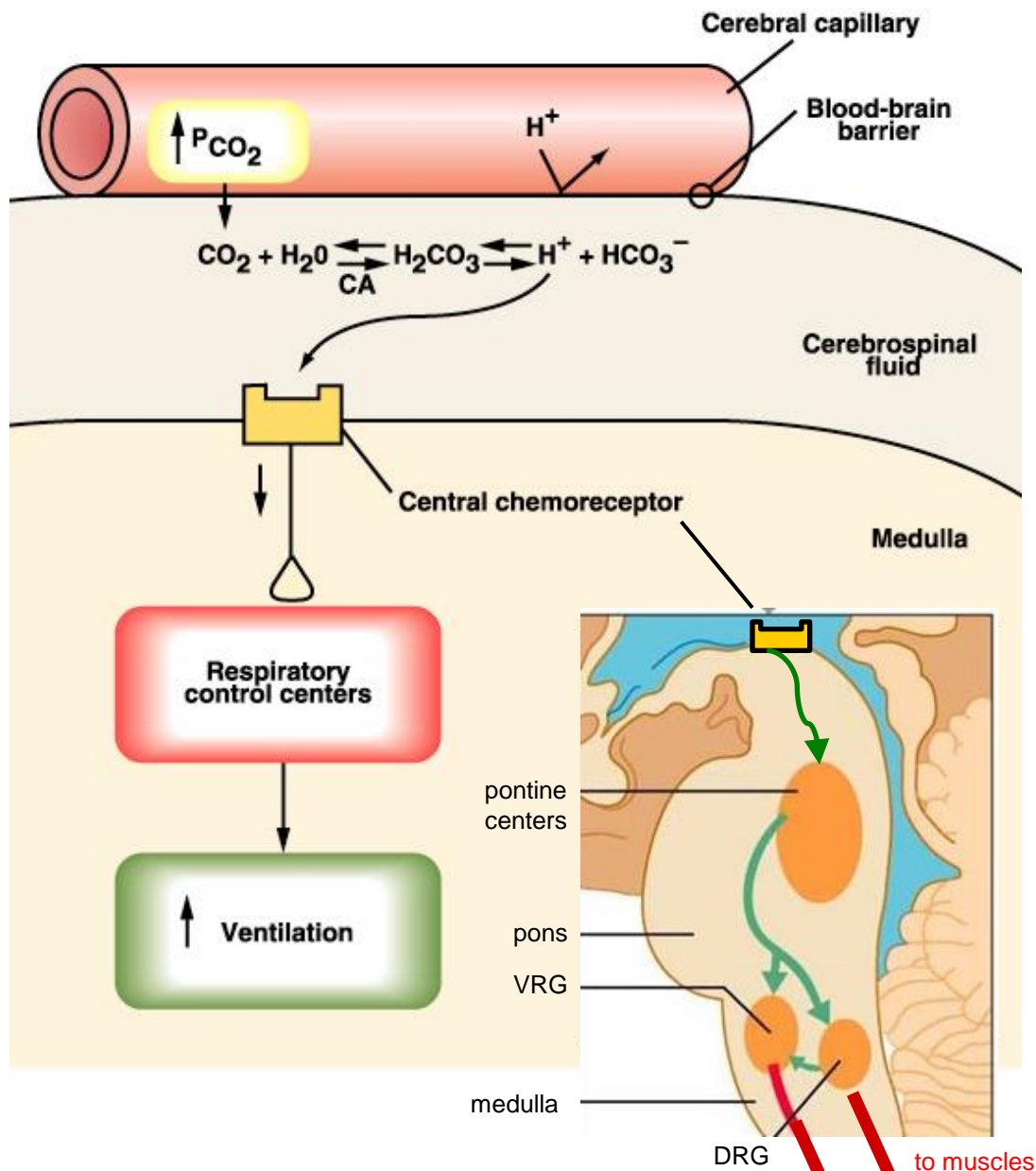
Aferentní signály přicházejí z:

- 1) kůry mozku – vědomé řízení
- 2) limbického systému – emoce
- 3) aortických tělísek – pO_2
- 4) karotických tělísek – pO_2
(částečně i pCO_2 , pH, teplota)
- 5) centrálních receptorů pCO_2 a pH
- 6) plicních stretch-receptorů
- 7) receptorů podráždění ve vzdušných cestách (nos, hrtan, průdušnice, průdušky) (→ kašel, pčikání)

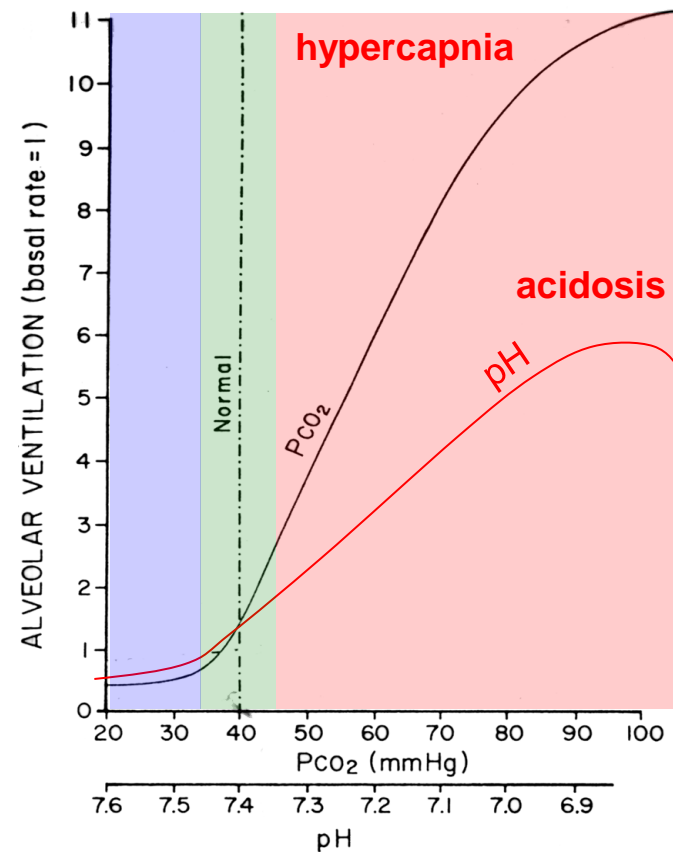
Eferentní signály odcházejí do:

- 1) vnějších mezižebních svalů a bránice → nádech
- 2) vnitřních mezižebních svalů a břišních svalů → výdech (aktivně pouze při zvýšené ventilaci)
- 3) kardiovaskulárního centra v prodloužené míše → stahová frekvence srdce

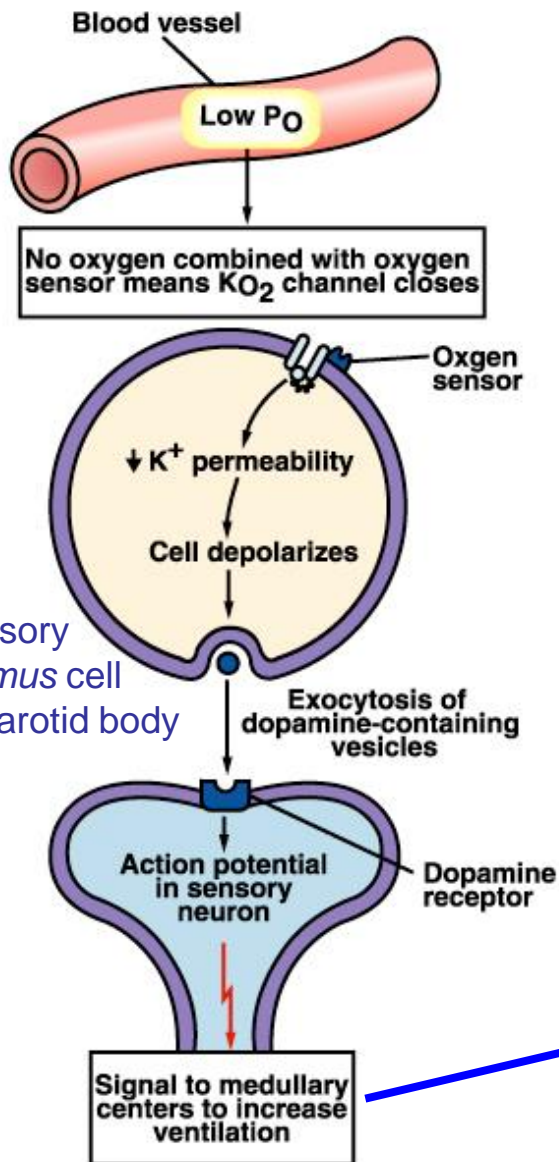
• centrální chemoreceptory



- pCO_2 a pH jsou svázané hodnoty díky rychlé přeměně CO₂ na HCO₃⁻ a H⁺
- cerebrospinální tekutina má slabé pufrací schopnosti → rychle reaguje na změnu pH krve
- centrální chemoreceptor H⁺ je patrně spojen s iontovým kanálem ...

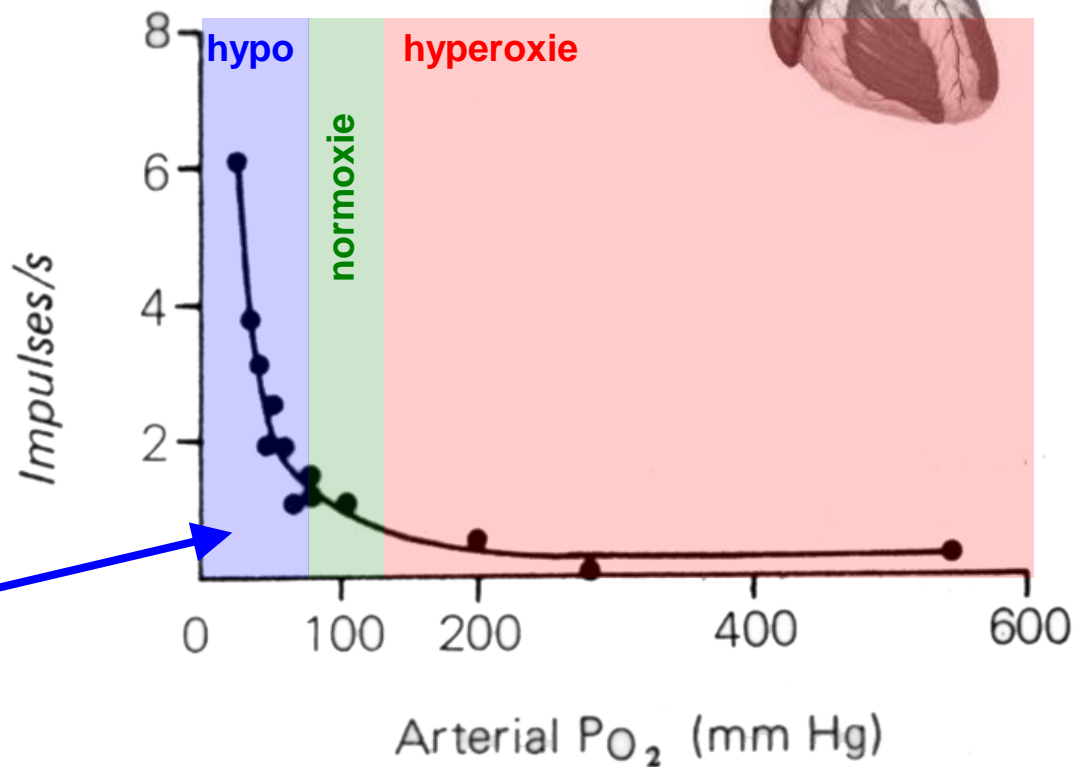
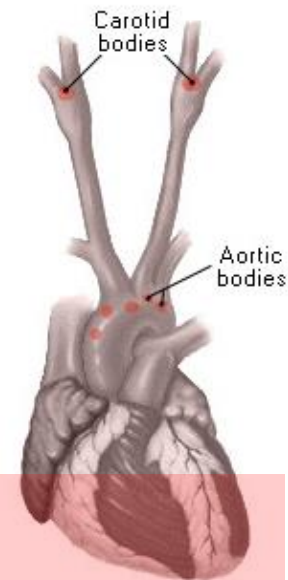


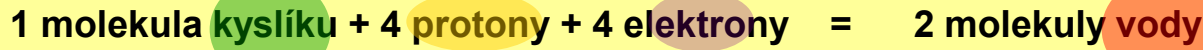
• periférní chemoreceptory



• sensory glomus cell of carotid body

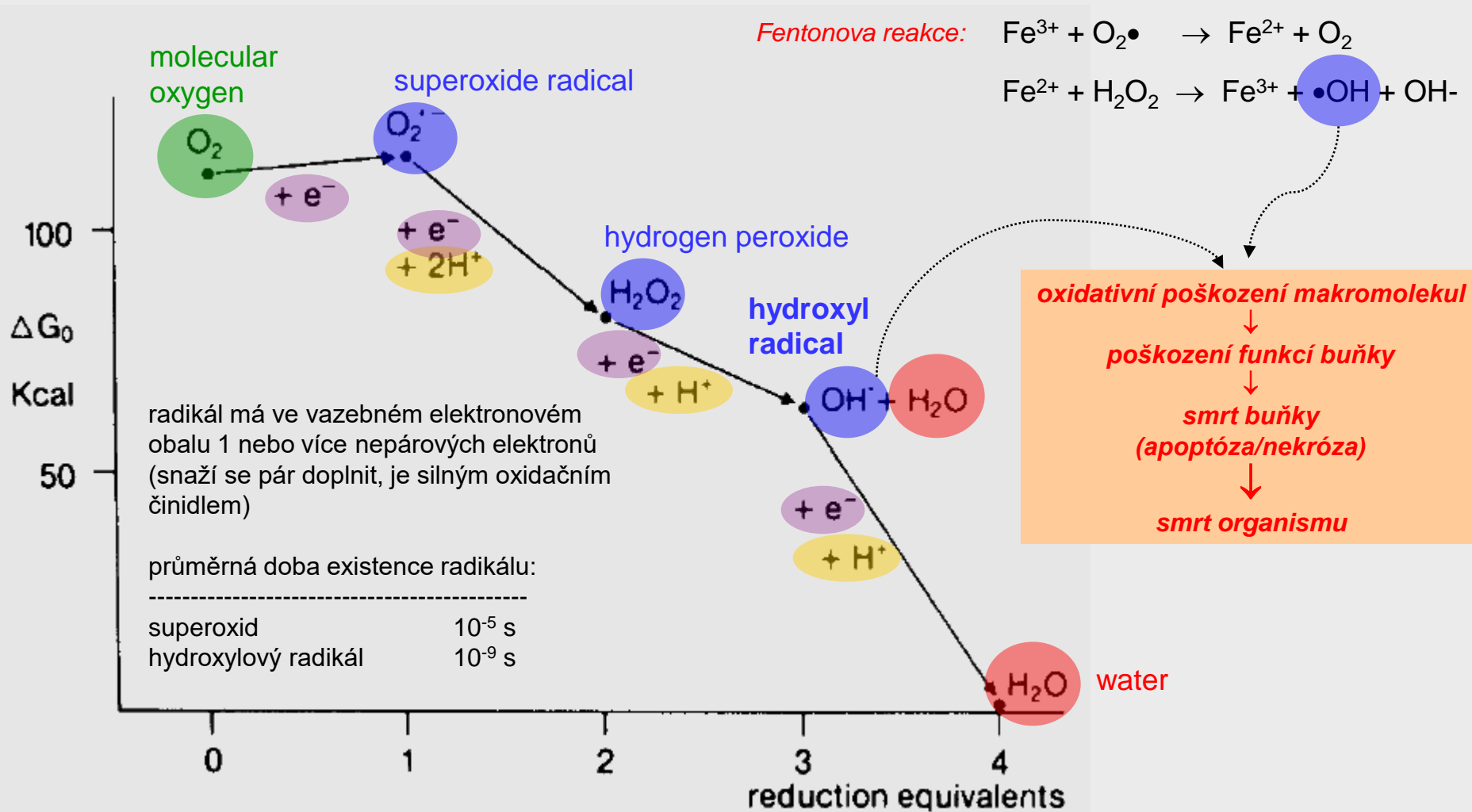
- sensor kyslíku (?) ovládá draslíkový kanál
- nízká hodnota pO₂ (hypoxie) je převedena na zvýšenou frekvenci nervového signálu který směřuje do respiračního centra
- respirační centrum zvýší ventilaci a komunikuje s kardiovaskulárním centrem, aby to zvýšilo frekvenci srdečních stahů ...





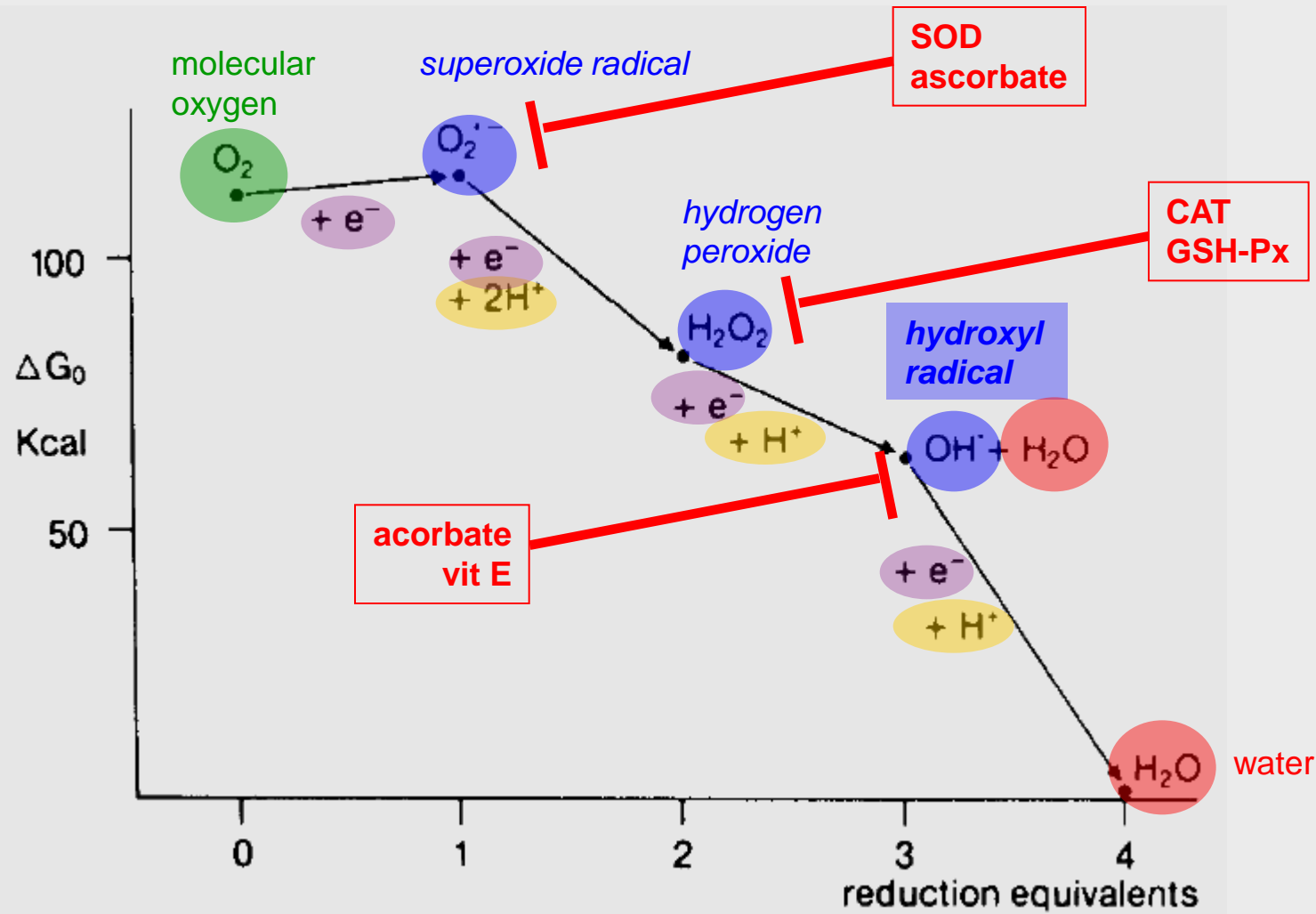
ROS Reactive Oxygen Species

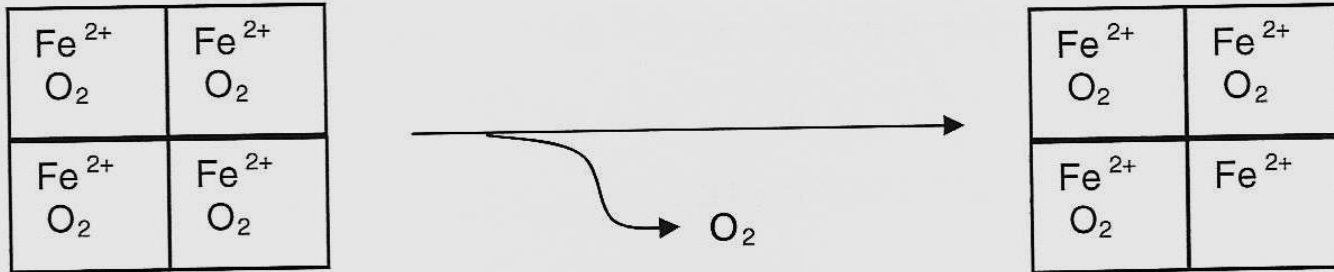
• postup finální redukce kyslíku komplexem (IV.) cytochróm c oxidázy:



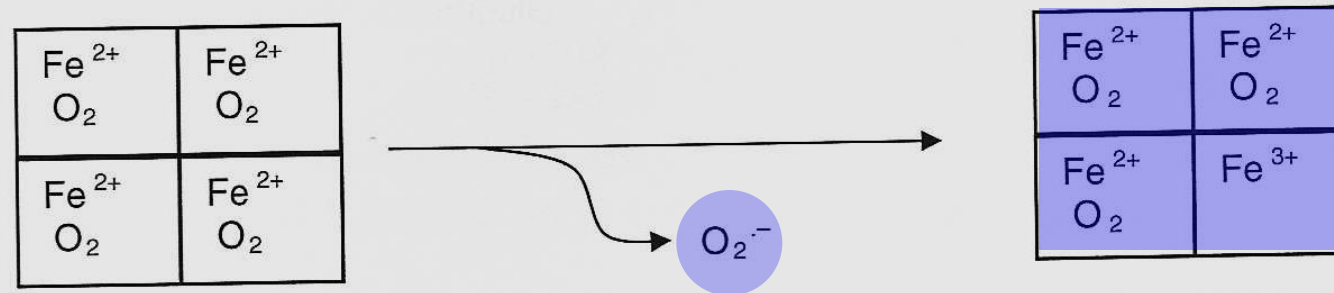
• enzymatické systémy

ROS Reactive Oxygen Species





Fully oxygenated haemoglobin releases one atom of O_2 and the haem group-iron remains in the reduced state.

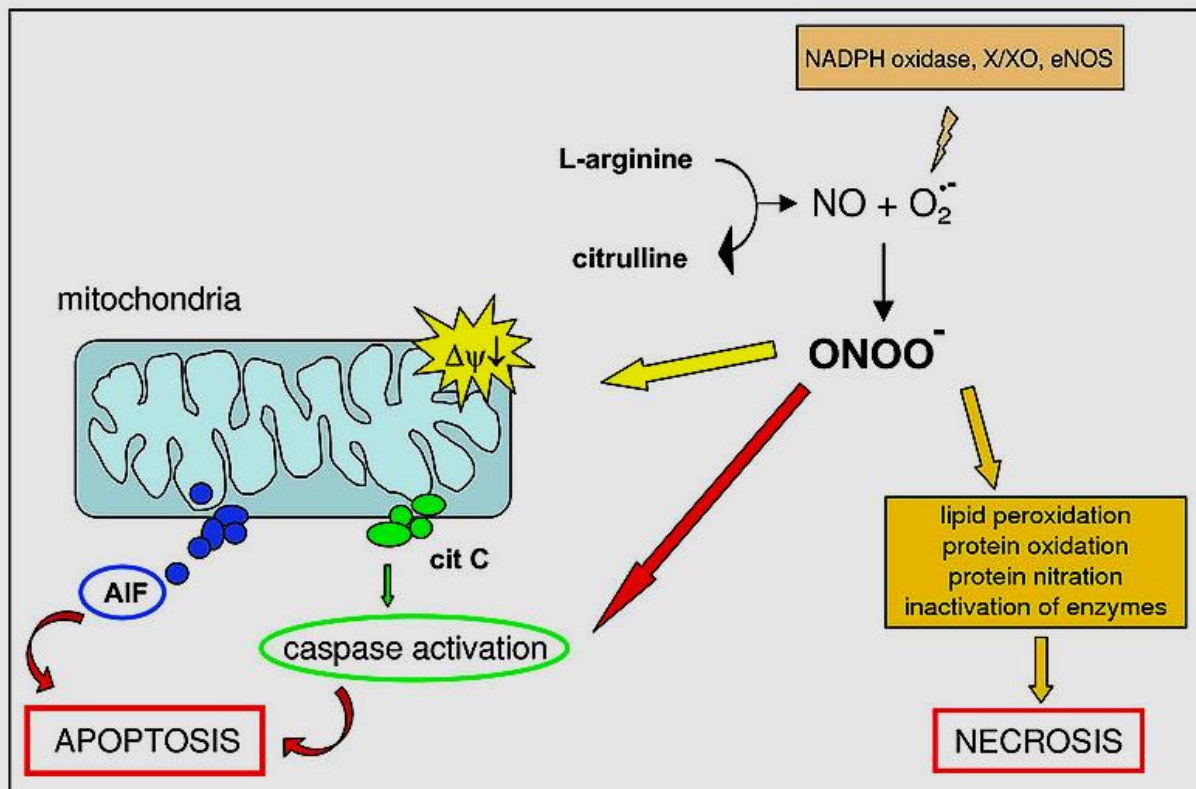


- **superoxid**

- **met-hemoglobin**

- vzniká při uvolnění superoxidu, který sebou odnáší jeden nepárový elektron
- železo je oxidováno (Fe^{3+})
- může být redukováno zpět na Fe^{2+} pomocí přenosu elektronu od systému: $NAD^+ \rightarrow NADH + H^+$

- peroxynitrit vzniká v mitochondriích reakcí superoxidového radikálu s oxidem dusnatým
- jeho zvýšené hladiny vyvolávají poškození mitochondrií a apoptózu, ještě vyšší koncentrace pak nekrózu ...

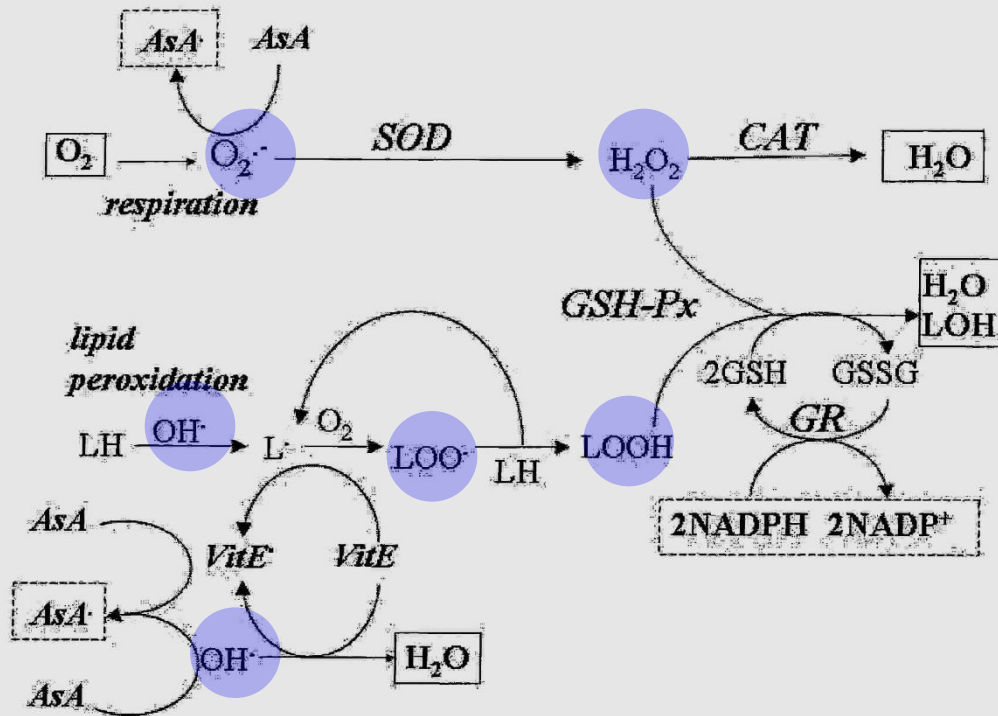


In the presence of higher levels of ROS, the right NO/superoxide ratio are disbalanced and may lead again to generation of highly reactive RNS, such as N_2O_3 or $ONOO^-$ at levels that are able to induce more aggressive oxidation, nitrosation/S-nitrosation and nitration of different biological macromolecules, potentially leading either to necrotic or apoptotic cell death.

$ONOO^-$ may be responsible for irreversible damage to complexes I and II of the respiratory chain, inhibition of ATP synthesis and eventually AIF (Apoptosis Inducing Factor) translocation from inter-membrane space to cytosol and/or Cytochrome C (cit C) release and induction of caspase-dependent apoptosis.

It should also be noted that, in the presence of significant redox stress, NO can potentiate damaging effects, resulting in a scenario of necrotic cell death rather than apoptosis. This is likely to occur particularly when the redox state is significantly affected, as in conditions resulting in depletion of GSH or significant alterations of the GSH/GSSG ratio.

• odbourávání ROS se účastní enzymy a molekulární scavengery



- superoxidový radikál je dismutován na peroxid vodíku pomocí SOD
- askorbát (AsA) může také reagovat (rel. pomalu) se superoxid radikálem
- peroxid je rozložen na vodu pomocí CAT nebo GSH-Px
- glutathion je re-redukován pomocí GR
- GSH-Px rovněž rozkládá lipidové peroxidy (LOOH) na vodu a lipidové alkoholy (LOH)
- hydroxylové radikály jsou vychytávány jednak askorbátem (ve vodě) a také vitamínem E (v lipidech)
- vitamín E rovněž reaguje s lipidovými radikály a tak zastavuje peroxidaci lipidů
- radikál vitaminu E může reagovat s askorbátem a tak se re-aktivovat
- radikál askorbátu je stabilní a je vylučován ven z těla
- finální produkty: voda, lipidické alkoholy a askorbátový radikál
- spotřebovává se NADPH při re-redukci GSSG na GSH

AsA	ascorbic acid (vitamín C)
VitE	vitamín E (tokoferol)
SOD	superoxid dismutáza (Mn, Cu, Zn)
CAT	kataláza (Fe)
GSH-Px	glutathion peroxidáza (Se)
GR	glutathion reduktáza
LH	lipid
LOO•	lipidový radikál
LOOH	lipidový peroxid