

Úvod do buněčné a obecné fyziologie

Michal Procházka
KTL 2. LF UK a FNM



Buňka

- základní prvek živého organismu
- nejmenší entita, která může být označena jako živá
- membránou ohraničená jednotka naplněná koncentrovaným vodným roztokem chemických sloučenin schopná vytvářet kopie sama sebe
- prokaryontní (bakterie) X eukaryontní



Buňka

- membrána
- organely
- cytoplasma
- cytoskelet
- výběžky
- adhezní molekuly



Buněčné organely

- jádro
- ribosomy
- endoplasmatické retikulum
- golgiho komplex
- mitochondrie
- lysozomy a peroxizomy



Buněčné organely - jádro

- ústřední organela
 - obklopeno dvojitou membránou, komunikuje s cytosolem skrz jaderné póry
 - vnější membrána plynule přechází v ER
 - molekuly DNA v něm tvoří chromozomy
 - fce:
 - regulace diferenciaci a maturace buňky
 - replikace a přenos genetické informace do nové buňky
 - syntéza RNA
-
-

Buněčné organely - ribosomy

- 2 podjednotky
 - volné či vázané na ER
 - navázané na mRNA = polysomy
 - vznik v jádře (rRNA z jádra + proteiny transportované z cytoplasmy)
 - překlad mRNA do řetězce AK
-
-

Buněčné organely – endoplasmatické retikulum

- labyrint buněčných prostorů uzavřených membránou
 - hlavní místo syntézy nových membrán
 - k velké části cytosolového povrchu přisedlé ribosomy (= drsné ER) účastníci se syntézy proteinů, které jsou poté dodávány do ER
 - hladké ER plní specifické fce – syntéza steroidních hormonů (nadledviny), detoxikace alkoholu (játra)
-
-

Buněčné organely – Golgiho komplex

- zploštělé membránové váčky
- úprava molekul vytvořených v ER



Buněčné organely – mitochondrie

- podobné bakteriím
- obsahují vlastní DNA a RNA a mohou tvořit vlastní proteiny (99% mitochondrie produktem jaderného genomu)
- tvorba většiny buněčného ATP = buněčné dýchání
- dvě oddělené membrány, vnitřní zprohýbaná a záhyby směřují dovnitř mitochondrie

Buněčné organely – endosomy, lysozomy a peroxizomy

- endosomy – třídění látek pohlčených buňkou
 - lysozomy – nitro kyselá vůči cytoplasmě, odbourávání opotřebovaných organel a částic pohlčených při endocytóze za pomoci enzymů (kolagenáza, ribonukleáza, ...), při jejich defektu tzv. lysosomal storage diseases
 - peroxisomy - oxidace toxických molekul (aktivace PPARs způsobují proliferaci lysozomů)
-
-

Buněčné organely

- mezi ER, GK, lysozomy a vnějším prostředím neustálá výměna
 - vchlípení membrány ... vznik váčku ... fúze s jinou organelou
 - v obou směrech – endocytóza X exocytóza
 - endocytóza
 - pinocytóza (“buněčné pití”)
 - fagocytóza (“buněčné trávení”)
-
-

Cytosol

- vodný roztok s vysokou koncentrací molekul
- místo mnoha chem. rcí
- místo prvního kroku odbourávání molekul potravy
- na ribosomech syntéza proteinů



Cytoskelet

- soustava různých vláken
 - aktinová mikrofilamenta (nejjemnější, svalová buňka), intermediární filamenta (mechanická opora), mikrotubuly (nejtlustší, úloha při dělení buněk)
 - fce obecně: mechanická pevnost, tvar buňky, pohyb buňky
-
-

Typy buněk

- 200 různých typů X 4 zákl. typy tkání
 - epitel – souvislé buněčné vrstvy, krytí některých vnějších a vnitřních povrchů těla
 - pojivová tkáň – buňky + mezibuněčná hmota (amorfní část + vláknitá část – kolagen, elastin)
 - svalová tkáň – koná práci stahem (kosterní/hladká/srdeční svalovina)
 - nervová tkáň – specializované (neurony) + podpůrné (glie) buňky
-
-

Chemické reakce v buňce

- katabolické = rozklad živin na menší molekuly provázený uvolněním dále využívané energie
 - +
- anabolické (biosyntetické) = energie z katabolismu využita k syntéze dalších molekul
 - =
- metabolismus

Získávání energie buňkou

- slučování atomů uhlíku a vodíku pocházejících z organických sloučenin s kyslíkem (**oxidace**) za vzniku CO₂ a H₂O (energeticky nejstálejší formy uhlíku a vodíku) = respirace
 - oxidace
 - v jednom kroku ... hoření – energie=teplo (nevyužitelné k dalším rcím)
 - postupná ... využití enzymových katalyzátorů
 - = adice kyslíku; obecněji reakce, při které jsou mezi atomy přenášeny elektrony (odstranění elektronů)
 - vždy současně s redukcí (adice elektronů)
-
-

Získávání energie buňkou

- pokud molekula v buňce získá e^- , často získá současně i H^+ (volně dostupné ve vodě) –
hydrogenační rce ... redukce X dehydrogenační rce ...
oxidace
 - *u organické molekuly:*
 - zvýšení počtu C-H vazeb = redukce (*C má větší afinitu k e^- než H*)
 - snížení počtu C-H vazeb = oxidace
 - *překonání aktivační energie (“zapálení ohně”) ...
enzymy*
-
-

Získávání energie buňkou

- nutnost skladovat energii uvolněnou z potravy v chemicky dostupné formě pro využití v dalších rcích
 - většinou v aktivovaných “nosičových molekulách” obsahujících energeticky bohaté vazby
 - nutnost směnitelnosti energie
-
-

Aktivované přenašeče

- skladování energie:
 - chemická skupina, která se snadno přenáší
 - elektrony s vysokým obsahem energie
 - ATP
 - NADH
 - NADPH
 - acetyl-CoA
 - vznik při spřažených reakcích: energeticky výhodná rce využita při pohonu rce nevýhodné, při které tvořen aktivovaný nosič
 - *“peníze jimiž buňky platí za reakce, které by jinak neproběhly”, “palivo”*
-
-

Adenosin-5-trifosfát (ATP)

- nejdůležitější, nejvšestranější (“*univerzální platidlo*”)
- vznik při energeticky nevýhodné fosforylaci, kdy je k ADP přidána fosfátová skupina

Adenosin-5-trifosfát (ATP)

- 90% bazální VO₂ je mitochondriální a 80% je spojeno se syntézou ATP
- využití:
 - buněčné pumpy (čerpání látek z/do buňky)
 - svalová kontrakce
 - transport látek v rámci axonu (výběžek) neuronu
 - syntéza proteinů
 - ...

NAD+ nikotinamidadenindinukleotid
NADP+ nikotinamidadenindinukleotidfosfát

- energie přenášena pomocí elektronů s vysokou energií a atomů vodíku
 - redukované formy (NADH/NADPH) získaly dva vysokoenergetické e⁻ a H⁺ (dohromady H⁻ ... “přenašeče vodíkových iontů”)
 - redukované formy ochotně odevzdávají hydridový ion, čímž dosáhnou stálejšího uspořádání elektronů ... uvolnění velkého množství energie
-
-

Získávání energie z potravy

- rozložení makromolekul potravy na malé molekuly (proteiny na aminokyseliny, polysacharidy na monomerní cukry, tuky na mastné kyseliny a glycerol) = trávení
- transport malých molekul do buňky
- postupná oxidace – 2 fáze:
 - fáze 1 začíná v cytosolu a končí v mitochondriích
 - fáze 2 v mitochondriích

Fáze 1

- glukosa (6C) ... 2 x pyruvát (3C) = glykolýza – vznik ATP a NADH
- pyruvát poté přestupuje do mitochondrie a tam vzniká CO_2 a acetylová skupina (2C), která se připojí ke koenzymu A (acetyl-CoA)

Fáze 2

- acetyl-CoA vstupuje do cyklu kys. citronové a je postupně oxidován na CO₂ za současné tvorby množství NADH
 - elektrony s vysokým obsahem energie z NADH procházejí řetězcem přenosu elektronů ve vnitřní mitochondriální membráně, kde se jejich energie využívá k tvorbě ATP za spotřeby molekulárního kyslíku O₂ ... tato fosforylace ADP na ATP = oxidativní fosforylace
 - anaerobní podmínky: pyruvát zůstává v cytosolu a je převáděn na produkty, které jsou z buňky vylučovány (CO₂ + etanol u kvasinek, laktát ve svalu)
-
-

Tuky

- mastné kyseliny transportovány do mitochondrií a postupně oxidovány na acetyl-CoA...
- ...acetyl-CoA vstupuje do cyklu kys. citronové a je postupně oxidován na CO₂ za současné tvorby množství NADH...

Mitochondrie

- do mitochondrií transportován pyruvát a mastné kyseliny za účelem tvorby acetyl-CoA ... vstup do cyklu kys. citronové a postupná oxidace na CO₂ a H₂O
- mitochondrie místem produkce většiny ATP v živočišných buňkách



Některé základní termíny z obecné fyziologie

- difuze
- osmóza
- osmotický tlak
- osmolarita (tonicita)
- pH



Total body water

- ECF 1/3
 - intersticiální tekutina
 - intravazální tekutina (krevní plasma)
- ICF 2/3

Složení těla

- 18% proteiny
- 7% minerály
- 15% tuk
- 60% voda
 - 40% ICF
 - 20% ECF (z toho $\frac{3}{4}$ extravazálně a $\frac{1}{4}$ intravazálně)

Struktura membrán

- základem lipidová dvojvrstva (“sendvič”)
 - lipidy: hydrofilní (“vodu milující”) hlavička + hydrofobní (“vody se bojící”) uhlovodíkový konec
 - nejčastěji fosfolipidy (fosfatidylcholin)
 - amfipatické molekuly (mající hydrofilní i hydrofobní vlastnosti)
 - hydrofilní hlavička přitahována k vodě + hydrofobní konce od vody odpuzovány, tendence k agregaci s jinými hydrofobními molekulami ... vznik lipidové dvojvrstvy (“uspokojí všechny”, energeticky nejvýhodnější uspořádání)
-
-

Struktura membrán

- každé rozhraní s vodou energeticky nevýhodné ...
utvoření hraniční plochy kolem uzavřeného prostoru
 - průchod molekul – obecně: čím menší a hydrofobnější (= nepolární) molekula tím rychlejší difuze přes membránu
 - malé nepolární: O₂, CO₂ rychlá difuze
 - nenabitě polární: H₂O, ethanol rychle, glycerol pomaleji, glukosa jen stěží
 - ionty a nabitě molekuly: neprojdou
-
-

Membránové proteiny

- specifické fce membrány
 - asi 50% hmotnosti membrán
 - fce
 - přenašeče
 - spojníky
 - receptory
 - enzymy
 - často spojeny se sacharidy = glykoproteiny, proteoglykany
-
-

Transport látek přes membránu

- nutnost přívodu živin (cukry, mastné kyseliny, aminokyseliny) a odstraňování metabolitů
- nutnost upravovat koncentrace H^+ , Na^+ , K^+ a Ca^{++}
- toto zajišťují membránové transportní proteiny



Membránové transportní proteiny

- přenašečové
 - na jedné straně membrány naváží solut (rozpuštěná látka) a změnou konformace ho přemístí dovnitř
- kanálové (iontové kanály)
 - tvoří v membráně hydrofilní póry, kterými mohou soluty difundovat (většinou anorg. ionty)

Koncentrace iontů uvnitř a vně buňky

- mimo buňku nejhojnější Na^+
- v buňce nejhojnější K^+
- nutnost elektroneutality –
 - mimo buňku Cl^-
 - uvnitř buňky Cl^- , PO_4^{---} , HPO_4^{--} a organické molekuly nesoucí záporně nabitě skupiny (COO^-) = “vázané anionty” (moc velké na to, aby prošly membránou)

Přenašečové proteiny

- transport malých organických molekul
 - selektivní – pro cukry, aminokyseliny, nukleotidy, pyruvát (ve vnitřní membráně mitochondrií)...
 - *“otáčivá závora s turniketem”*
 - *umožní průchod pouze těm molekulám, které se hodí do vazebného místa proteinu*
-
-

Pasivní a aktivní transport

- PT
 - “z kopce”, samovolně z místa o vyšší koncentraci do míst s koncentrací nižší za předpokladu existence cesty (přenašečový protein)
 - “usnadněná difuze” (bez výdajů energie ze strany transportního proteinu)
 - přenašeč glukosy v membráně jaterní buňky:
 - po jídle hodně glukosy vně buňky – glukóza jde dovnitř X při hladovění naopak ... transport dle koncentračního gradientu
- AT
 - spřažení s reakcí, při které se uvolňuje energie

Gradient elektrochemického potenciálu

- celková síla ženoucí **nabitý** solut přes membránu
 - = koncentrace + náboj
 - existuje rozdíl v elektrickém potenciálu mezi oběma povrchy membrány = **membránový potenciál** - vnitřní povrch záporně nabitý vůči vnějšímu ... kationty chtějí dovnitř, anionty ven
 - Na^+
 - napětí + koncentrační gradient jedním směrem ... strmý elektrochemický gradient
 - K^+
 - chemický gradient ven X elektrický dovnitř
-
-

Aktivní transport

- základní děj v importu solutů jejichž koncentrace je vně buňky nižší než uvnitř (proti gradientům)
 - spřažené přenašeče
 - jeden solut “z kopce” a jeden “do kopce”
 - pumpy poháněné ATP
 - transport do kopce spřažený s hydrolýzou ATP (uvolnění energie)
 - využívají se navzájem
 - existuje pumpa čerpající Na^+ vně ... vznik vysokého koncentračního gradientu ... Na^+ z kopce spolu s xxx solutem
-
-

Na^+/K^+ - ATPáza

- pumpa hydrolyzující ATP na ADP (a zároveň tedy enzym)
 - spotřebuje 30% všeho ATP v buňce
 - 3Na^+ ven, 2K^+ dovnitř ... elektrogenní pumpa (přispívá k membránovému potenciálu)
 - důležitá při udržování osmotické rovnováhy buněk:
 - zastavení pumpy ... Na^+ a Cl^- dovnitř buňky ... následovány vodou ... prasknutí buňky
-
-

Ca⁺⁺ - ATPáza

- pumpa hydrolyzující ATP na ADP (a zároveň tedy enzym)
 - mnohem nižší konc. Ca⁺⁺ než Na⁺, ale také rozdíl v koncentracích uvnitř a vně buňky (uvnitř méně)
 - zvýšení intracelulární koncentrace – vylučování signálních molekul, kontrakce svalových buněk
 - v plazmatické membráně **i v membráně ER**
-
-

Spřažené přenašeče

- využití např. gradientu Na^+ vytvořeného Na^+/K^+ - ATPázou k transportu solutu proti gradientu
 - oba soluty (Na^+ a xxx) stejným směrem = symport
 - soluty opačným směrem = antiport
 - pasivní přenašeč (ne spřažený přenašeč) jednoho solutu = uniport
-
-

Spřažené přenašeče

- glukoso-sodný symport na apikální straně buněk střevního epitelu
 - přenos glukózy z lumen do buňky proti gradientu
 - na bazální straně pasivní uniport (do krve)
 - antiport Na^+/H^+ - čerpání H^+ ven ... regulace pH
 - aniport $\text{Na}^+/\text{Ca}^{++}$ - svalová buňka:
 - vzrůst intracel. koncentrace Ca^{++} ... kontrakce ...
nutnost rychlého vyčerpání Ca^{++} ven
-
-

Iontové kanály

- vodné póry (neselektivní, poměrně velké):
 - mezerové spoje mezi dvěma buňkami (gap junctions)
 - poriny (ve vnější membráně mitochondrií)
 - vlastní iontové kanály
 - **selektivita** (průměr a tvar kanálu, náboj aminokyselinových zbytků)
 - **uzavíratelnost**
 - 1000x rychlejší než přenašečové proteiny X pasivní transport
-
-

Iontové kanály

- řízené napětím (změnami MP)
- řízené ligandem (receptory)
- mechanicky aktivované (vláskové buňky ve vnitřním uchu)



Membránový potenciál

- sodnodraselná pumpa ... vyšší koncentrace K^+ uvnitř buňky
 - K^+ výtokové kanály – v klidu hlavními otevřenými iontovými kanály ... větší průchodnost K^+ membránou než ostatní ionty (selektivita)
 - K^+ chtějí ven (koncentrační gradient) ... proudění kladného náboje z buňky ... v buňce zůstává záporný náboj (vázané anionty)... rovnováha – elektrický gradient pro K^+ (dovnitř) vyrovnává koncentrační gradient pro K^+ (ven) ... **membránový potenciál** (kolem -70 mV, vnitřek záporný)
-
-

Akční potenciál

- místní depolarizace membrány nad prahovou hodnotu (změna MP na méně zápornou hodnotu), např. otevřením ligandy řízených kanálů) ...
otevření napětově řízených Na^+ kanálů ... tok Na^+ dovnitř buňky ... další depolarizace .. změna MP na kladný (asi 40mV) ... vyrovnání koncentračního (dovnitř) a elektrického (ven) gradientu pro Na^+
 - sodné kanály existují ve třech stavech:
 - otevřený
 - zavřený
 - inaktivovaný (depolarizace ho neotevře)
-
-

Akční potenciál

- depolarizace ... otevření Na^+ kanálů ... zesílení depolarizace sousedních částí membrány ... otevření Na^+ kanálů ... šíření akčního potenciálu (nervové buňky, buňky srdečního svalu,..) ... **poté automatická inaktivace Na^+ kanálů**
 - repolarizaci (obnovení MP) pomáhají také napět'ově řízené K^+ kanály – K^+ ven ... repolarizace
-
-

Mezibuněčná komunikace

- převod jedné formy signálu na druhou (text na papíře ... mluvené slovo přes telefon ... text na papíře) = transdukce signálu
 - **OBEČNĚ:**
 - signalizující buňka produkuje specifický typ molekul, které jsou předávány cílové buňce pomocí receptorového proteinu, který signální molekulu rozpozná a specificky na ni odpoví
 - receptor je prvním krokem převodu extracelulárního signálu na intracelulární, který řídí chování buňky (v konečném důsledku změnu genové exprese)
-
-

Mezibuněčná komunikace

- signální molekuly: proteiny, peptidy, aminokyseliny, steroidy, mastné kyseliny,...
 - signály
 - pro celé tělo (uvolňovány do oběhu) = hormony produkované endokrinními buňkami
 - pro okolí buňky = parakrinní signalizace (lokální mediátory)
 - neuronová signalizace – transdukce elektrického signálu na chemický (nervový mediátor) a naopak
 - signalizace závislá na kontaktu
-
-

Signální molekuly

- velké a hydrofilní ... membránou neprojdou a receptory musí ležet na ní
 - malé a hydrofobní (steroidní hormony, hormony štítné žlázy) ... prochází membránou – receptory v cytosolu nebo v jádře
 - oxid dusnatý – z AK argininu, prochází membránou a přímo aktivuje enzym, působí jako lokální mediátor působící uvolnění buněk hladké svaloviny
-
-

Receptory

- spojené s iontovými kanály
 - tok iontů vedoucí k elektrickým jevům
- spojené s G-proteiny
 - uvolní se aktivovaná jednotka membránového proteinu, difunduje v rovině PM, kde vyvolá další pochody
- spojené s enzymy
 - změna aktivity enzymu

Životní cyklus buňky

- vznik
 - buněčným dělením
- zánik
 - dtto, smrtí
 - apoptóza
 - nekróza

Díky za pozornost...

