

## Obsah

### 1. Buňka – základní funkční jednotka organismu

#### 1.1 Stavba eukaryotní živočišné buňky

##### 1.1.1. Biologické membrány a jejich základní složky

##### 1.1.2 Membránové organely buňky

##### 1.1.3. Nemembránové buněčné struktury

### 2. Buněčný transport

#### 2.1. Vnitřní a vnější prostředí buňky a organismu

#### 2.2. Obecné principy buněčného transportu

##### 2.2.1 Charakteristika transportních proteinů

#### 2.3. Transport prostřednictvím akvaporinů a kanálů

##### 2.3.1 Akvaporiny

##### 2.3.2 Rozložení vody v těle a její transport

##### 2.3.3 Iontové kanály

#### 2.4. Transport prostřednictvím přenašečů

##### 2.4.1 Pasivní přenašečový transport – usnadněná difúze

##### 2.4.2 Aktivní přenašečový transport - pumpy

#### 2.5. Cytóza - transport prostřednictvím membránových váčků

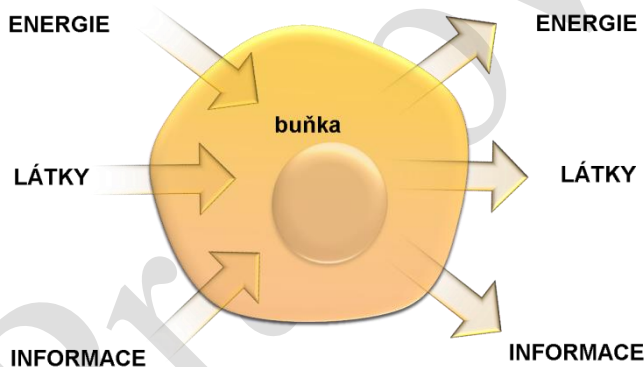
#### 2.6. Transcelulární a paracelulární transport

## 2. Buněčný transport

Živý organizmus je **otevřený systém s ustáleným vnitřním prostředím**. Aby se udržel při životě, musí se potýkat se dvěma protichůdnými požadavky vůči prostředí: do jisté míry se se od okolí **separovat**, ale zároveň s ním **komunikovat**. Musí se bránit neregulovaným a nahodilým tokům molekul a postupné degradaci a rozpadu tkání. Tento boj proti rozpadu a splynutí s neživým okolím je jedním ze základních atributů života a vyžaduje investování energie. Život, tak jak jej známe, nemá k dispozici jinou energii než primárně zachycenou ze slunečního záření. V tomto ohledu jsou heterotrofní organizmy<sup>1</sup> vděční autotrofům<sup>2</sup> za to, že jsou schopny sluneční energii zabudovávat do chemických vazeb svých těl (proces fotosyntézy). Jedině v této formě k ní mají heterotrofové přístup. O uvolnění energie v těle se postarají především oxidativní procesy vedoucí až ke konečným štěpným produktům - H<sub>2</sub>O a CO<sub>2</sub>, které již nemají pro organismus žádnou využitelnou energii. Živá buňka se tedy nemůže svému okolí zcela uzavřít, musí s ním komunikovat, přijímat z něj potravu, vracet do něj odpadní látky, vyměňovat teplo, dýchací plyny a také informace.

### 2.1. Vnitřní a vnější prostředí buňky a organismu

Rovnovážný, ustálený stav vnitřního prostředí – **homeostáza**, který si organismus usiluje udržet navzdory okolí, je tedy stavem **dynamickým**. Homeostatické systémy<sup>3</sup> mají za cíl tuto vnitřní rovnováhu v rámci tolerovatelných mezí udržet. Překročení akceptovatelných mantinelů vede k poškození a zániku organismu. Naprostá většina dílčích pochodů v organismu se nalézá ve stavu dynamické rovnováhy. Udržení integrity a homeostázy v rámci celého organismu je bezprostředně závislé na životaschopnosti a správném fungování jednotlivých buněk.



**Obr. 2.1.** Živé buňky jsou otevřenými systémy.

Rovnovážný stav buňky, tkání resp. celého organismu je udržován díky neustálé výměně látek, energii a informací s okolím.

Udržení vysoké organizovanosti buňky je podmíněno vyrovnaným tokem látek, energií a informací skrze ni (obr. 2.1.). Komunikaci mezi extracelulárním a intracelulárním prostředím zajišťuje cytoplazmatická membrána. Fosfolipidová dvojvrstva představuje selektivní, pro většinu látek volně nepropustnou, bariéru. Mezi vnitřním prostředím buňky a extracelulární tekutinou, tak udržuje často zcela odlišné prostředí. (obr. 2.2). Membrány buněčných organel

<sup>1</sup> nedokáží syntetizovat uhlíkaté řetězce organicky látek jen z anorganických

<sup>2</sup> schopni syntetizovat organické látky z energie světla a anorganických látek

<sup>3</sup> Nervový, endokrinní a imunitní systém

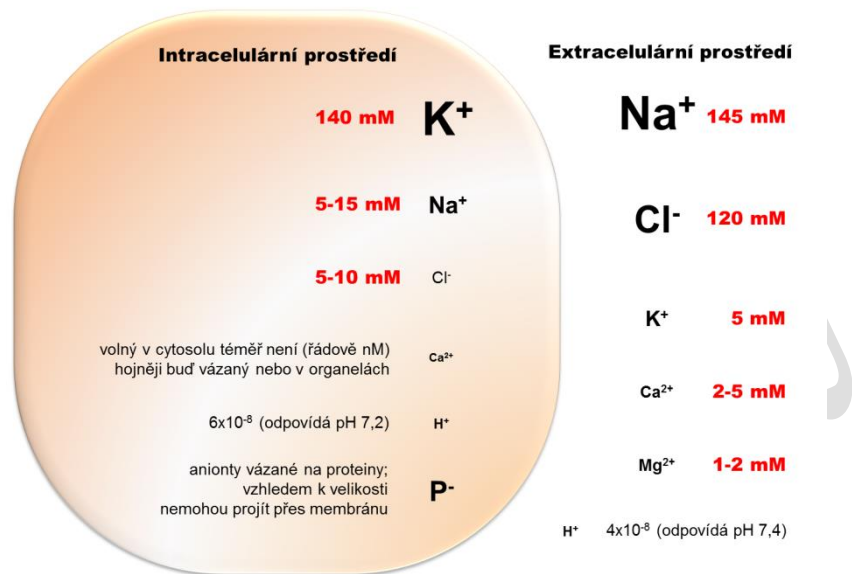
zase dokáží udržovat řízený gradient koncentrace některých látek mezi jejich obsahem v cytoplasmě a vnitřním prostředím konkrétní organely.

**Obr. 2.2. Rozložení iontů na buněčné membráně.**

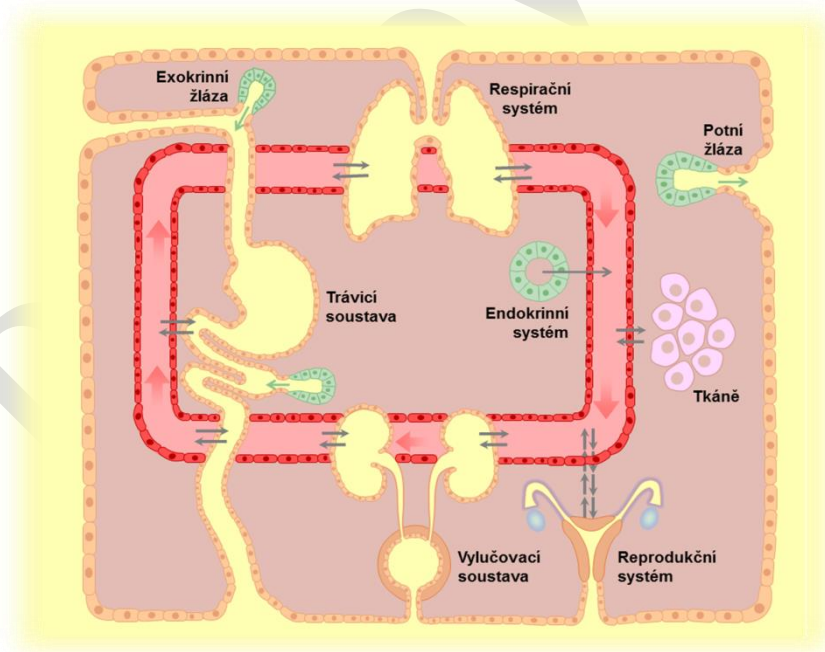
Hlavními extracelulárními ionty jsou  $\text{Na}^+$  a  $\text{Cl}^-$ .

Hlavními intracelulárními kationty jsou  $\text{K}^+$  a anionty bílkovin. Volný vápník se intracelulárně vyskytuje jen ve stopových množstvích (nM). Jeho vyšší koncentrace je v organelách (hl. ER) a extracelulárně.

Intracelulární koncentrace  $\text{H}^+$  je  $6 \times 10^{-8}$  což odpovídá pH 7,2. Extracelulární koncentrace  $\text{H}^+$  je  $4 \times 10^{-8}$  což odpovídá pH 7,4.



Na úrovni celého organismu je vnějším prostředím nejen prostředí obklopující organismus, ale také vnitřní prostor (lumen) dýchací, trávicí a urogenitální soustavy. Tyto dutiny jsou totiž v bezprostředním kontaktu s „pravým“ vnějším prostředím a od vnitřního prostředí těla je oddělují sliznice a epitely, jejichž buňky pak mají specifické ochranné funkce (obr. 2.3).



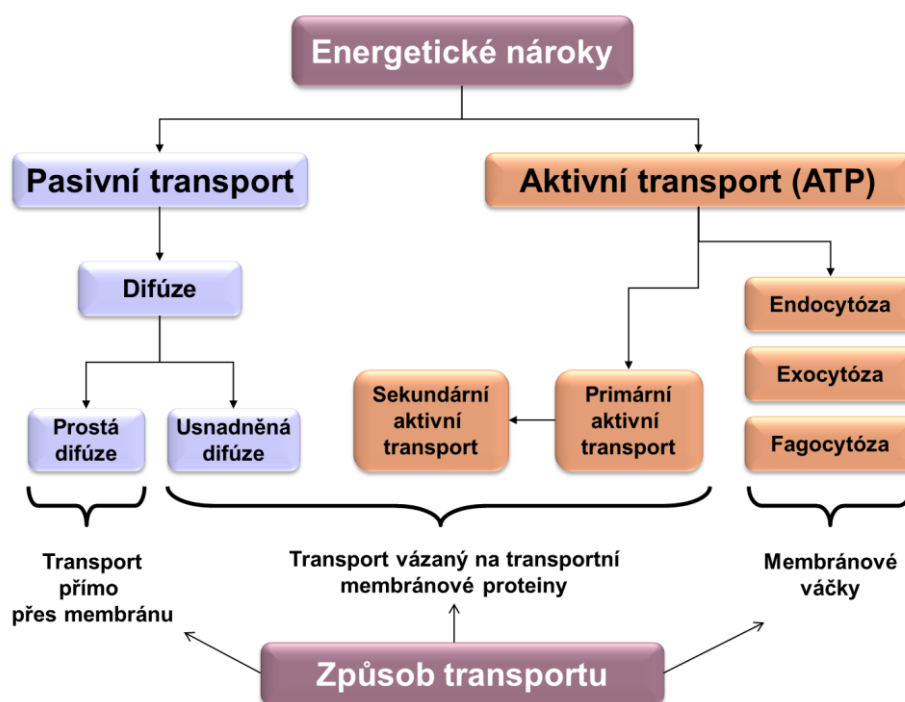
**Obr. 2.3 Vnější a vnitřní prostředí organismu**

Organismus je od vnějšího okolního prostředí oddělen tělním pokryvem (kůže, popř. srst, peří, chitinový skelet atd.) Prostředí dýchací, trávicí a urogenitální soustavy bezprostředně navazuje na okolí organismu a proto je třeba jej zahrnout k prostředí vnějšmu. Od vnitřního prostředí tkání je odděleno sliznicemi.

## 2.2. Obecné principy buněčného transportu

K vytvoření, udržení popř. obnově rozdílných koncentrací v jednotlivých částech buňky a následně udržení homeostázy organismu jako celku, je nutná **koordinovaná součinnost buněčných transportních mechanismů**. Prostřednictvím specializovaných transmembránových proteinů je možné nejen udržet koncentrační gradient různých iontů, ale také transportovat do/vně/skrze buňky všechny potřebné látky, resp. vyloučit odpadní produkty popř. látky určené k využití mimo danou buňku. S využitím metabolické energie tak může být v buňce aktivně vytvářeno a udržováno prostředí vhodné pro její život a správnou funkci. Jak již bylo řečeno, buňka je sama o sobě složitě členěným prostorem, a transport látek a signálů je nezbytný i v rámci její vlastní cytoplazmy a mezi vlastními organelami. Příkladem může být např. řízený transport  $\text{Ca}^{2+}$  iontů mezi ER a cytoplazmou nebo tzv. axonální transport látek v nervových vláknech, které mohou dosahovat až metrových vzdáleností.

**Podle energetických nároků** na přechod látek přes membránu dělíme transport na **pasivní** (není závislý na přísunu energie) a **aktivní** (vyžaduje energii). **Z hlediska zapojení membrány** resp. membránových proteinů, rozlišujeme 1) **přímý transport přes membránu**, 2) **transport za účasti membránových proteinů** (kanály, přenašeče) a 3) **transport prostřednictvím membránových váčků** (exo- a endocytóza) – obr. 2.4. Přehled konkrétních transportních mechanismů, transportovaných látek, energetických nároků a funkcí – viz tab. XX v příloze



**Obr. 2.4.** Klasifikace transportu z hlediska energetického a z hlediska zapojení membrány

Nejjednodušším transportním procesem látek je **prostá difúze přímo přes membránu**. Látka přechází náhodným tepelným pohybem molekul z výchozí oblasti, kde je koncentrovanější prostředí, do oblasti s nižší koncentrací. Takto pronikají lipidovou dvojvrstvou membrány např. látky lipofilní povahy (mastné kyseliny, steroidy), dále některé malé, neutrální molekuly (např.  $\text{CO}_2$  a  $\text{O}_2$ ), a v omezené míře i molekuly vody v nedisociovaném stavu. Na rychlost

difúze má vliv řada faktorů: teplota, povaha látky, vlastnosti prostředí, transportní vzdálenost, plocha pro difuzi atd.

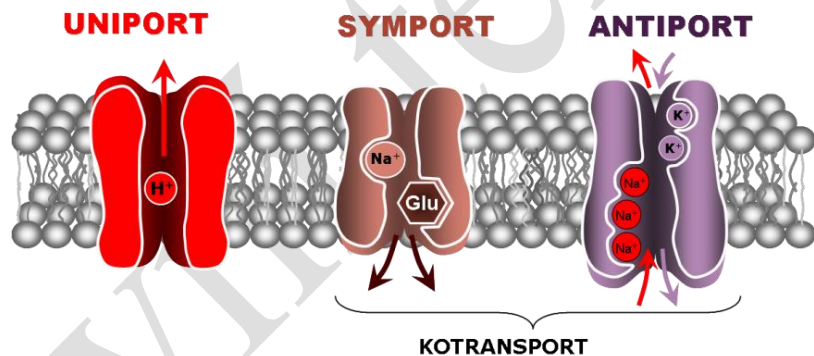
### 2.2.1 Charakteristika transportních proteinů

Pro všechny elektricky nabitě nebo polární látky a pro větší molekuly jsou biologické membrány účinnou a samovolně nepřekonatelnou bariérou, takže tyto látky nemohou přes membránu volně procházet. Transport je však umožněn a regulován specializovanými membránovými proteiny jako jsou aquaporiny, kanály, přenašeče a pumpy. **Z hlediska směru a počtu transportovaných částic** rozlišujeme obecně, bez ohledu na energetické nároky, následující typy transportních proteinů (obr. 2.5., tab XX v příloze-přehled):

- uniporty – transportují jeden typ částic (většina kanálů a aquaporinů, některé pasivní přenašeče a pumpy)
- symporty – transportují více typů částic jedním směrem (řada přenašečů, některé aquaporiny – např. aquaglyceroporiny)
- antiporty - transportují více typů částic opačným směrem (některé kanály a pumpy)

**Obr. 2.5** Transportní proteiny podle směru a počtu přenášených částic

Pokud je přenášen jen jeden typ částice, mluvíme o uniportu (vlevo). V případě přenosu více typů částic (bez ohledu na energetickou bilanci), mluvíme o kotransportu (uprostřed a vpravo). V rámci kotransportu pak rozlišujeme symport, pokud jsou částice transportovány stejným směrem, a antiporty, pokud jsou transportovány opačným směrem (pozn. v případě uvedených kotransportů se nejedná o kanály, ale o aktivní přenašeče, které budou probírány v následující kapitole; zde jsou uvedeny jen jako symboly pro demonstraci směru a počtu částic).



### 2.3. Transport prostřednictvím akvaporinů a kanálů

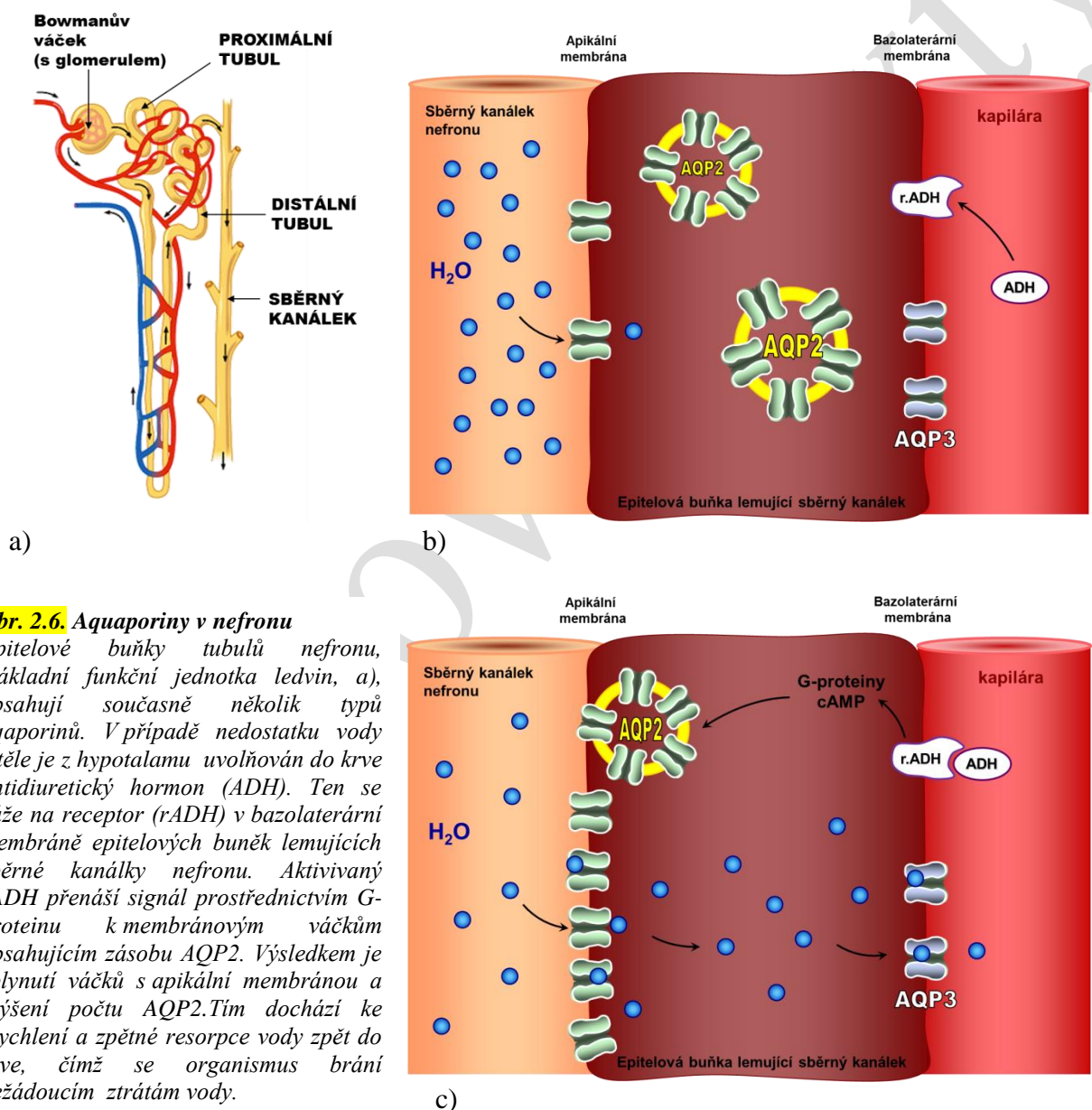
Jak akvaporiny, tak kanály jsou transmembránové proteiny, pro které platí tato základní obecná pravidla:

- přímo spojují vnější a vnitřní prostředí buňky
- transportují výhradně pasivně, bez potřeby dodání energie; z toho vyplývá, že:
- směr transportu je dán koncentračním spádem transportované látky
- transport je velmi rychlý a selektivní

#### 2.3.1 Aquaporiny

Membrána sama o sobě je pro vodu v zásadě nepropustná, resp. molekuly vody mohou díky své polaritě přes membránu volně difundovat jen velmi pomalu a omezeně. **Aquaporiny** (AQP, vodní kanál) jsou membránové proteiny specializované pro **rychlý pasivní transport**

**vody.** Voda vždy prochází z místa hypotonického<sup>4</sup> do místa hypertonického s vyšší koncentrací rozpuštěné látky. Aquaporiny se vyskytují jak u bakterií, rostlin, tak u živočichů bezobratlých, obratlovců vč. člověka. U savců bylo dosud popsáno nejméně 13 druhů vodních kanálů, označ. AQP0-AQP12. Jednotlivé AQP se od sebe liší výskytem a četností v určitých tkáních, typem transportovaných molekul<sup>5</sup>, ale také možnostmi hormonální regulace<sup>6</sup>. Některé kanály transportují spolu s vodou i některé další nepolární molekuly, např. glycerol (tzv. aquaglyceroporiny), CO<sub>2</sub>, amoniak, močovina aj. Buňky mají zpravidla více typů vodních kanálů. Největší koncentrace aquaporinů je v buňkách tkání, které hospodaří s tělními tekutinami. Např. u epitelových buněk sběrného kanálku nefronu byly prokázány nejméně čtyři typy aquaporinů (AQP1, 2, 3 a AQP4), přičemž koncentrace AQP2, je regulována hormonálně prostřednictvím antidiuretického hormonu hypotalamu. (obr. 2.6.)



<sup>4</sup> Prostředí s nižší koncentrací rozpuštěné látky a tedy vyšší koncentrací rozpouštědla resp. vody

<sup>5</sup> některé AQP transportují kromě vody další menší nepolární molekuly, např. glycerol (aquaglyceroporiny)

<sup>6</sup> např. koncentrace AQP2 ve sběrném kanálku ledvinových tubulů je regulována antidiuretickým hormonem, produkovaným hypotalamo-hypofyzárním systémem

**Tab 2.1** podává přehled známých aquaporinů spolu s místem výskytu a funkcí:

Typ	Nejčastější výskyt	Hlavní funkce
AQP-0	oko, buňky čočky	regulace vlhkosti
AQP-1	Erytrocyty, ledviny-proximální tubul oko-řasinkový epitel mozková tkáň plíce-alveolární epitel	regulace osmotického tlaku koncentrace moči produkce vodního prostředí produkce cerebrospinální tekutiny hydratace alveol
AQP-2	ledviny-sběrný kanálek	zprostředkování účinku antidiuretického hormonu
AQP-3*	ledviny-sběrný kanálek trachea-epitelové buňky	zpětná resorpce vody do krve sekrece vody do tracheje
AQP-4	ledviny-sběrný kanálek mozek-ependymové buňky mozek-hypotalamus plíce-epitel průdušek	zpětná absorpce vody rovnováha mozkomíšního moku ?monitorování osmotického tlaku sekrece tekutiny
AQP-5	slinné žlázy slzné žlázy ucho, oko	produkce slin sekrece slz
AQP-6	Ledviny – intracelulární vezikuly	nízká propustnost vody-funkce?
AQP-7*	tukové buňky varlata a spermie kapiláry kosterního i srdečního svalstva	transport glycerolu z adipocytů
AQP-8	pankreas, játra, střevo, ledviny, varlata a další	?
AQP-9	Leukocyty, játra	?
AQP-10	Tenké střevo	?

\* aquaglyceroporin

věk	muži	ženy
novorozenec	> 70 %	
do 1 roku	65%	
1-9 let	62%	
10-16 let	59%	
17-39 let	61%	51%
40-59 let	54%	47%
60-70 let	49%	47%
nad 80 let	48%	

**Tab. 2.2. Množství tělesné vody u člověka.**

Celkové množství vody u člověka s věkem klesá. V dospělosti se navíc liší množství tělesné vody v závislosti na pohlaví - protože svalová tkáň je na vodu bohatší než tuková, mají muži mají vzhledem k většímu podílu svaloviny více vody než ženy. (upraveno podle O. Kittnar 2011 Lékařská Fyziologie, a D.U.Silverthorn 2010 Human Physiology - An Integrated Approach)

**2.3.2. Rozložení vody v těle a její transport**

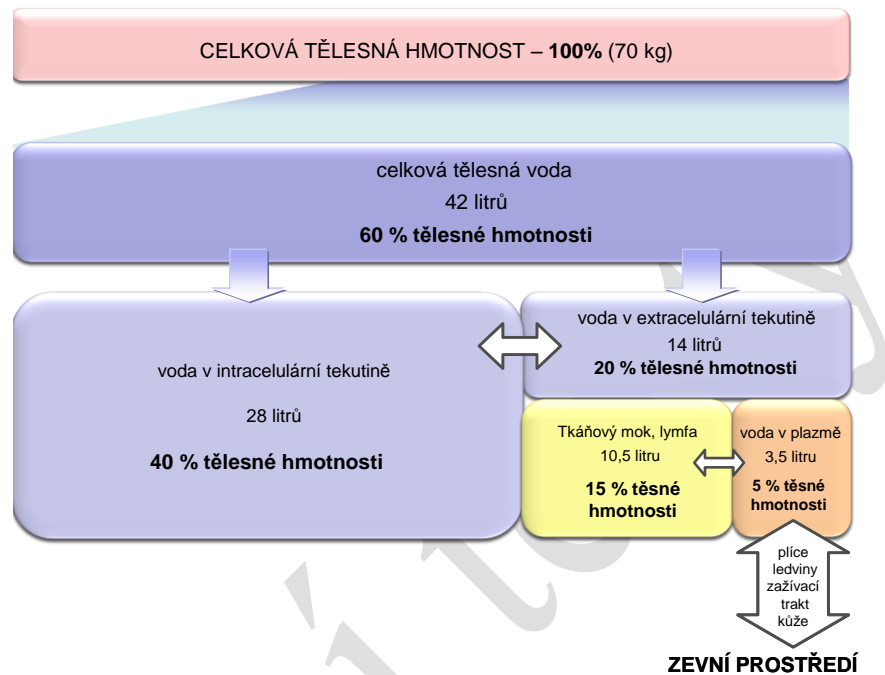
Celkové množství tělesné vody závisí na živočišném druhu<sup>7</sup>, vývojovém stádiu<sup>8</sup> resp. stáří, ale také na pohlaví (tab. 2.2). Voda se těle nachází jak **intracelulárně** (uvnitř buněk), tak

<sup>7</sup> Např. tělo medúzy obsahuje až 98% vody

**extracelulárně** v tělních tekutinách a mezibuněčných prostorech – krevní plazma, lymfa, tkáňový mok, mozkomíšni mok, synoviální tekutina kloubů a u bezobratlých také např. hemolymfa nebo hydrolymfa (obr. 2.7.).

**Obr. 2.7. Rozložení tělesné vody u člověka.**

U člověka voda tvoří v průměru 60% celkové hmotnosti organismu. 2/3 vody je vázáno přímo v buňkách (intracelulární voda), 1/3 se nachází extracelulárně a je součástí mezibuněčných prostor (tkáňový mok), krevní plazmy, lymfy, mozkomíšni tekutiny, synoviální tekutiny aj.



Chemické složení jednotlivých tělesných tekutin závisí na regulované propustnosti bariér, jež jednotlivá prostředí oddělují<sup>9</sup>. U organismů žijících ve vodě je navíc udržováno rozdílné složení vnitřních tekutin od okolního vodného prostředí. Bariéry oddělující jednotlivé tělesné tekutiny jsou tvořeny buňkami různých druhů epitelů, jejichž cytoplazmatické membrány obsahují specifické transportní proteiny a aktivně tak udržují gradient řady látek mezi dvěma sousedními vodnými prostředími.

**Voda prochází přes membránu vždy pasivně prostou nebo usnadněnou** (za pomoci akvaporinů) **difúzí**. Směr a intenzita proudění vody však závisí na koncentraci látek v prostředích oddělených cytoplazmatickou membránou a také na specifických vlastnostech konkrétní membrány dané buňky.

Pro správnou funkci buněk a tím i celého organismu má transport vody přes membrány a následně mezi jednotlivými tělními prostředími zásadní význam. K pochopení těchto procesů je nutné porozumět pojmům a dějům, které jsou s transportem vody nedílně spjaty (difúze, osmóza, osmolarita, tonicita).

### Difúze

Difúzí obecně rozumíme pasivní pohyb částic z místa vyšší koncentrace do místa nižší koncentrace. Jedná se o samovolný proces nevyžadující energii (využívá jen kinetickou energii mísících se částic). Difúze látek může probíhat přímo přes membránu (prostá difúze), nebo prostřednictvím membránových přenašečů (usnadněná difúze). Rychlost difúze je přímo úměrná teplotě (při vyšší teplotě probíhá rychleji) a nepřímo úměrná velikosti částic (větší částice difundují pomaleji než částice menší).

<sup>8</sup> Např. housenky hmyzu mají vyšší obsah vody než dospělci

<sup>9</sup> V tkáňovém moku savců je dominantním extracelulárním kationtem  $\text{Na}^+$ , zatímco v endolymfě vnitřního ucha je jím  $\text{K}^+$



**Osmóza**

Osmóza je specifická forma difúze, kdy pohybujícími částicemi jsou molekuly rozpouštědla (v biologických systémech především vody). Jedná se tedy o pohyb vody přes semipermeabilní membránu<sup>10</sup> z místa nižší koncentrace rozpuštěné látky do místa vyšší koncentrace rozpuštěné látky. Směr pohybu vody je tedy ovlivňován koncentrací rozpuštěných osmoticky aktivních látek (látky vyvolávající proudění vody-osmózu) mezi dvěma prostředími oddělenými cytoplazmatickou membránou. Směr proudění vody je tak dán koncentrací **osmoticky aktivních částic** (iontů, molekul) v roztoku, tzv. **osmolaritou roztoku (OsM)** – voda vždy proudí do místa vyšší koncentrace osmoticky aktivních látek.

**Osmolarita** je počet osmoticky aktivních částic látky v 1L roztoku. Částicemi mohou být molekuly disociujících sloučenin nebo ionty. Osmolarita roztoků dvou různých látek může být tedy rozdílná, přesto že molarita obou roztoků je stejná. Např.:

1M roztok glukózy obsahuje  $6,02 \times 10^{23}$  molekul v 1L roztoku

1M roztok chloridu sodného obsahuje  $6,02 \times 10^{23}$  molekul v 1L roztoku. Protože ale chlorid sodný disociuje na ionty  $\text{Na}^+$  a  $\text{Cl}^-$ , bude výsledný počet částic v 1M roztoku NaCl vyšší (až dvojnásobný při disociaci všech molekul NaCl). Tato skutečnost má velký význam pro určení směru a kvantifikaci osmotických dějů mezi dvěma prostředími v organismu. Voda proudí vždy z místa nižší koncentrace částic do místa vyšší koncentrace částic.

Pro kvantifikaci osmózy používáme termín **osmotický tlak**, který je přímo úměrný osmolaritě, tedy koncentraci osmoticky aktivních částic. Osmotický tlak si můžeme představit jako sací sílu („žízeň“) daného roztoku.

**Tonicita**

Osmotický tlak je jednou ze základních sil ovlivňujících život buňky. Vztah buňky a okolního roztoku vyjadřuje fyziologický termín **tonicita**. Neudává se v jednotkách; vyjadřuje pouze slovně jaký vliv na objem buňky má okolní prostředí.

Pokud buňka přijímá z okolního roztoku vodu a tím zvětšuje svůj objem, znamená to, že okolní prostředí je vzhledem k buněčnému obsahu **hypotonické** (méně koncentrované, má menší osmotický tlak, méně rozpuštěných částic). Pokud z buňky do okolního roztoku voda uniká a tím buňka zmenšuje svůj objem, znamená to, že okolní prostředí je vzhledem k buněčnému obsahu **hypertonické** (více koncentrované, má vyšší osmotický tlak, vyšší počet rozpuštěných částic). Pokud buňka v roztoku nemění svůj objem (proud vody do i z buňky je vyrovnaný), hovoříme o **izotonickém** nebo také **fyziologickém** roztoku. Jako příklad lze uvést krevní buňky rozptýlené v plazmě: U obojživelníků odpovídá koncentrace plazmatických solí roztoku 0,6% NaCl, který tedy můžeme z hlediska tonicity považovat pro žabí erythrocyty za fyziologický. V roztoku o vyšší koncentraci soli by žabí erythrocyty ztrácely vodu a postupně i správně fyziologické funkce. Pro erythrocyty člověka a ostatní savce je fyziologickým roztokem 0,9% roztok NaCl. V žabí krvi by se savčí erythrocyty zvětšovaly přítokem vody z okolního hypotonického prostředí.

**2.3.3 Iontové kanály**

Jedná se o transmembránové proteiny specializované k **pasivnímu transportu elektricky nabitých částic** (typicky  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{H}^+$ ,  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{HCO}_3^-$  aj.). Kanály se vyznačují vysokou selektivitou. Každý kanál má tzv. **iontový filtr**<sup>11</sup>, který selektuje typ iontů, jež mohou kanálem projít – konkrétní typ kanálu propouští jen jeden, popř. dva velikostně a nábojem

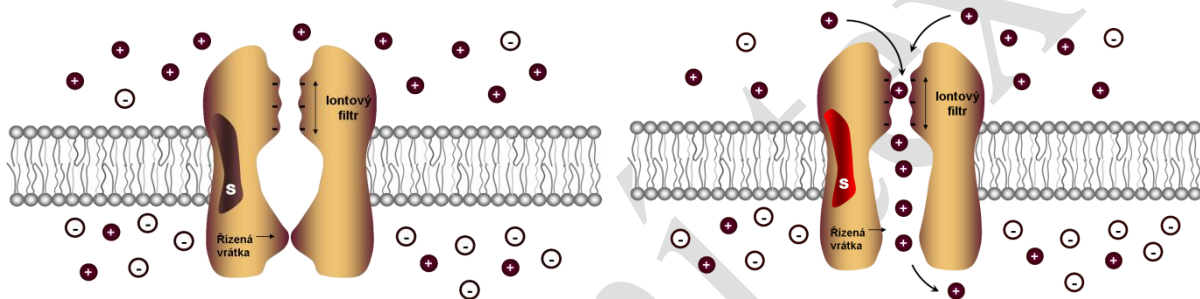
<sup>10</sup> = polopropustná, tzn. že propouští pouze malé molekuly vody jako rozpouštědla, ale nepropouští částice látky ve vodě rozpuštěné

<sup>11</sup> Specifická část kanálového proteinu, kde AMK zbytky mají opačný náboj, než je náboj transportovaného iontu

podobné ionty. Pokud jsou v oblasti iontového filtru koncentrovány kladně nabitě aminokyseliny, pak kanál propouští anionty. Záporně nabitý iontový filtr naopak propouští kationty (princip přitažlivosti).

Kanály mohou být buď stále otevřené (tzv. leaking channels). Mnohem častěji se ale vyskytují tzv. **vrátkové kanály**, které mají **pohyblivou doménu (vrátka)**, umožňující otevírání a zavírání kanálu jako odpověď na různé podněty. Kanály tedy hrají roli specificky řízených ventilů. Podle typu podnětu ovládajícího jejich průchodnost, rozlišujeme tři základní typy vrátkových kanálů:

- **Elektricky (napětím) řízené kanály** (voltage gated channels): aktivujícím podnětem je změna membránového napětí (potenciálu), která je zaznamenána specifickou oblastí kanálu, tzv. **kanálovým senzorem**. Ten iniciuje změnu prostorové konformace kanálového proteinu a udrží tak kanál po určitou dobu otevřený. Typickým příkladem jsou sodné a draselné kanály neuronů, podílející se na přenosu nervového signálu po neuritu (**obr. 2.9.**).



**Obr. 2.9.** Napětím řízený kanál

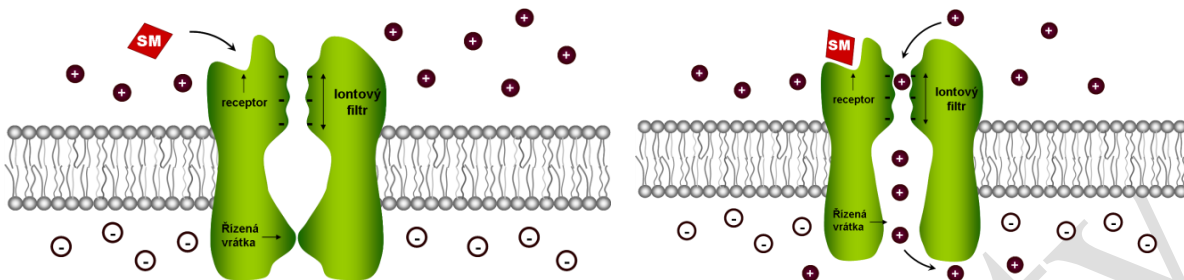
Oblast senzoru (S) reaguje na změny elektrického napětí na membráně. Pokud dojde ke změně elektrického náboje, senzor signalizuje k vrátkové doméně a ta změni svoji konformaci. Klidový stav kanálu se krátkodobě změni – např. uzavřený kanál se otevře a umožní transport specifických iontů po směru koncentračního spádu.

- **Chemicky řízené kanály**: podnětem je vazba **ligandu (signální molekuly)** na receptorové místo kanálu a následná změna konformace kanálu vedoucí k jeho otevření resp. uzavření. Podle lokalizace receptorové oblasti vzhledem ke kanálu, rozlišujeme dva základní typy chemicky řízených kanálů:

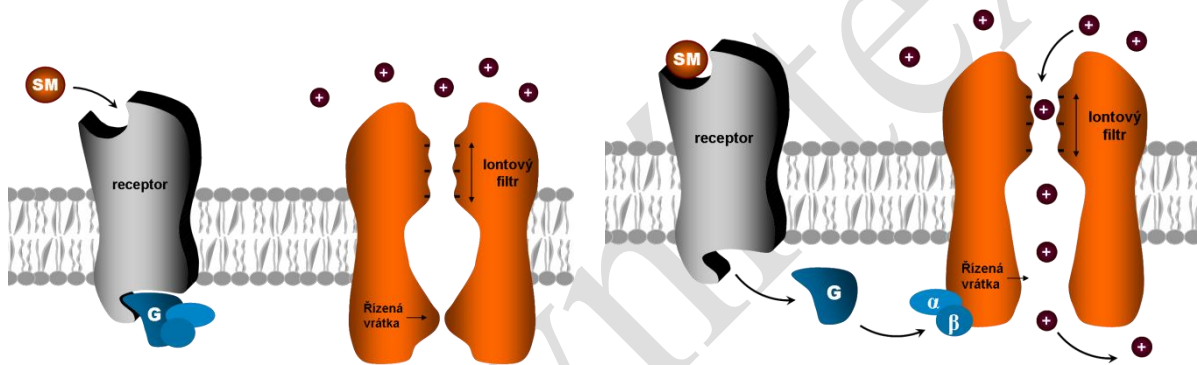
A. **Ionotropní kanál**. Receptorová oblast je přímo součástí daného kanálu. Příkladem jsou  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  kanály otvírané vazbou acetylcholinu. Jsou součástí postsynaptické membrány nervosvalové ploténky kosterního svalu, kde představují tzv. **nikotin-acetylcholinové receptory**. Dalším příkladem chemicky řízeného kanálu je **cystický fibrózní protein (CFTR)** v apikální membráně epitelu dýchacích, trávicích a urogenitálních cest. Jde o  $\text{Cl}^-$  kanál otvíraný molekulou ATP (není zdrojem energie, funguje jen jako ligand). Porucha funkce tohoto CFTR je příčinou onemocnění cystická fibróza. Narušením transportu  $\text{Cl}^-$  do lumenu dýchacího traktu je současně omezen transport  $\text{Na}^+$  a následně vody, která hydratuje stěny dýchacích cest. Snížená hydratace má za následek hromadění nepřírodně hustého hlenovitého sekretu, který omezuje správnou funkci řasinkového epitelu a ucpává dýchací cesty. Podobně může ucpávat vývod pankreatu nebo chámovody (**obr. 2.10.**).

B. **Metabotropní kanál**. Receptorová oblast není přímo součástí kanálového proteinu, ale představuje samostatný protein, který není ve fyzickém kontaktu s kanálem. Z receptoru je signál ke kanálu přenášen prostřednictvím G-proteinu. Příkladem je signalizace v srdeční svalovině: **adrenergní receptory** regulují prostřednictvím G

proteinu propustnost  $\text{Ca}^{2+}$  iontů do buněk pacemakeru<sup>12</sup>. Analogicky **cholinergní receptor** regulují prostřednictvím G proteinu propustnost  $\text{K}^+$  iontů z buněk pacemakeru<sup>13</sup> (obr. 2.11).



**Obr. 2.10.** Chemicky přímo řízený kanál – tzv. **ionotropní receptor**: Po navázání signální molekuly (SM) na receptorovou oblast kanálového proteinu dojde ke změně konformace kanálu. Klidový stav kanálu se krátkodobě změní – např. uzavřený kanál se otevře a umožní transport specifických iontů po směru koncentračního spádu.



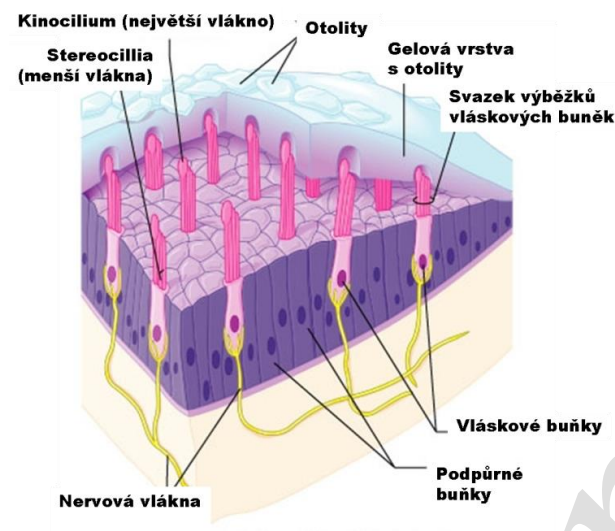
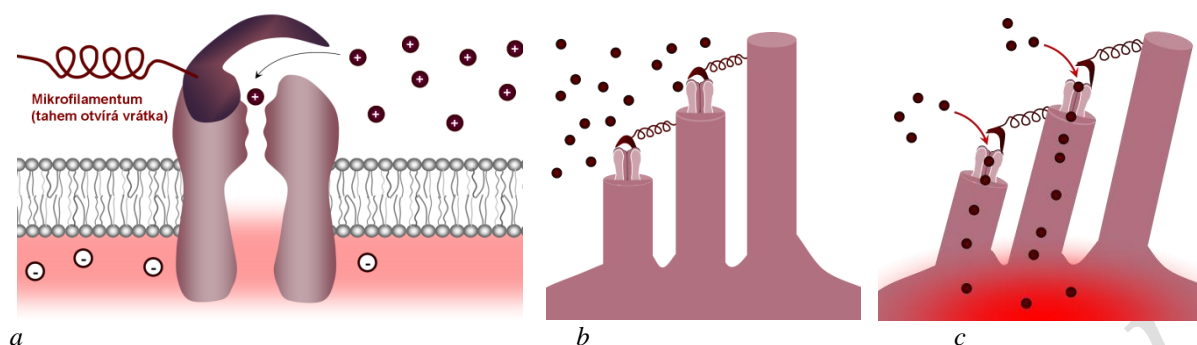
**Obr. 2.11.** Chemicky nepřímo řízený kanál – tzv. **metabotropní receptor**: Po navázání signální molekuly (SM) na receptor, který leží mimo oblast kanálu, dochází k signalizaci prostřednictvím druhého posla – G proteinu (G). Podjednotky  $\alpha$ ,  $\beta$  po uvolnění z receptoru aktivují změnu konformace kanálového proteinu a ten krátkodobě umožní transport specifických iontů po směru koncentračního spádu.

- **Mechanicky řízené vrátkové kanály:** reagují na tlak nebo tah. Jejich vrátka jsou mechanicky propojena s mikrofilamentem, jehož tahem dochází k otvírání nebo uzavírání vrátek a následné změně průtoku iontů. Příkladem jsou mechanicky regulované kanály buněk postranní čáry ryb, statokinetického ústrojí nebo sluchového Cortiho orgánu vnitřního ucha savců. (obr. 2.12.).

Existence iontových kanálů je klíčová především pro fungování všech vzrušivých tkání (nervové a svalové), pro činnost smyslů, ale i pro řadu dalších procesů v těle.

<sup>12</sup> Urychlují tím depolarizaci pacemakerových buněk a tím rychlejší nástup akčního potenciálu (zrychlení frekvence srdečních kontrakcí).

<sup>13</sup> Prohlubují tím negativní intracelulární náboj a tím prodlužují intervaly mezi dosažením prahové hodnoty AP v pacemakerových buňkách (zpomalení frekvence srdečních kontrakcí)



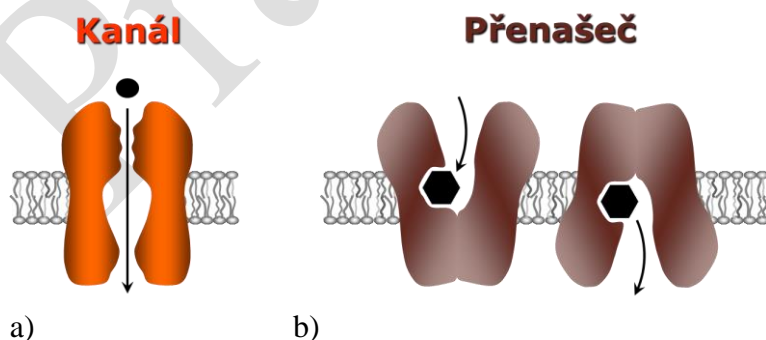
### Obr. 2.12. Mechanicky řízený kanál.

Vrátková oblast kanálu je spojena s mikrofilamentem, které se tahem nebo tlakem napíná a otvírá vstup do kanálu (a). Mechanicky řízené kanály jsou zpravidla umístěny na filamenty propojenými výběžky vláskových buněk sensorických orgánů (b). Pohybem okolní tekutiny nebo gelu dochází k ohybu vlásků, který vyvolá tah na mikrofilamenta a následnou změnu průchodnosti kanálu (c). Schéma uspořádání vláskových buněk v sensorické tkáni (d, upraveno podle Benjamin Cummings).

## 2.4. Transport prostřednictvím přenašečů

U látek, kterým polární charakter, elektrický náboj nebo velikost brání volnému transportu přes membránu, nebo u částic, které je třeba transportovat proti koncentračnímu spádu, je třeba využít specializovaných transportních proteinů, tzv. **přenašečů**.

Přenašeče, na rozdíl od kanálů, nikdy přímo nepropojují vnější a vnitřní prostředí, ale nacházejí se ve dvou prostorových konformacích: otevřen vně nebo otevřen dovnitř buňky (obr. 2.13.). Hnací silou (impulzem) pro změnu konformace přenašeče je buď koncentrační gradient přenášené látky (pasivní transport) nebo dodání energie (aktivní transport).



Obr. 2.13. Zatímco otevřený kanálový protein vytváří napříč membránou pór (a), přenašeč nikdy přímo nepropojuje vnější a vnitřní prostředí buňky; vyskytuje se ve dvou základních konformacích a transportovanou částici přenáší přes membránu díky konformačnímu překlopení. (b).

**Podle nároků na energii** klasifikujeme transport prostřednictvím přenašečů na:

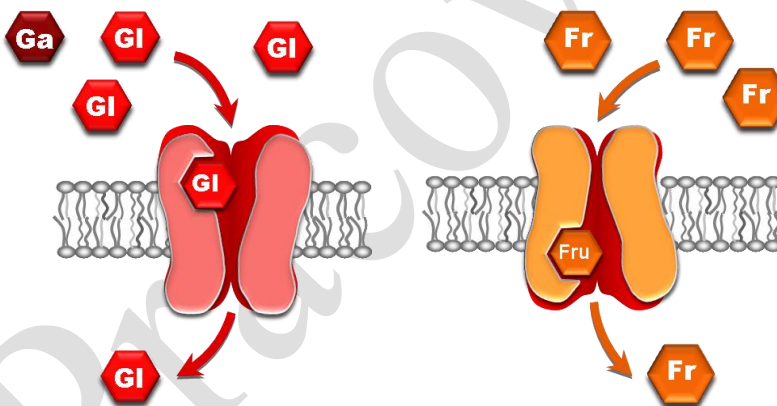
- Pasivní přenašečový transport – není závislý na dodávce energie; transportuje vždy po směru koncentračního spádu (tzv. usnadněná difúze)
- Aktivní přenašečový transport – je závislý na přísunu energie a to buď
  - přímo, ve formě ATP – tzv. primární aktivní transport, nebo
  - nepřímo, prostřednictvím energetického potenciálu jiných částic, který byl vytvořen s využitím ATP – tzv. sekundární aktivní transport

**Podle směru a počtu transportovaných částic** rozlišujeme, podobně jako u kanálů *uniporty* (transportují jeden druh částice), *symporty* (transportují více druhů částic stejným směrem) a *antiporty* (více druhů částic opačným směrem) – obr. 2.5.

### 2.4.1 Pasivní přenašečový transport-usnadněná difúze

Probíhá pasivně, bez nároku na dodávku energie. Protože transportuje částice výhradně po směru koncentračního spádu, mluvíme o tzv. **usnadněné difúzi**. Tento druh transportu využívají látky, které vzhledem k větší velikosti molekul nemohou volně procházet přes membránu prostou difúzí. Příkladem pasivního přenašeče jsou **transportní proteiny GLUT** (**glucose transporter**). GLUT transportují přirozeně se vyskytující hexózy (glukóza, manosa, galaktóza, fruktóza) oběma směry v závislosti na koncentračním spádu (obr. 2.14.).

Existují různé typy pasivních přenašečů GLUT, označované čísly. Liší se od sebe specificitou (výběrem přenášených substrátů) popř. afinitou (účinností, rychlostí přenosu) k jednotlivým monosacharidům. Dále se liší možností hormonální regulace, lokalizací a četností výskytu v buňkách jednotlivých tkání. Buňky zpravidla obsahují více typů GLUT přenašečů (∞ kap. ?). Relativně dobře je prozkoumáno prvních 5 typů těchto přenašečů; další (GLUT 6-GLUT 12) jsou méně probádané a jsou předmětem výzkumu.



**Obr. 2.14. Pasivní přenašeče GLUT:** Přenašeče GLUT1-4 transportují přednostně glukózu, zpepři dostatečných koncentracích jsou schopny transportovat i galaktózu, popř. fruktózu. Přenašeč GLUT5, byl původně považován za typ přenašeče pro fruktózu; později bylo ale prokázáno, že jde o specializovaný přenašeč pro fruktózu. Transport probíhá vždy pasivně tzv. usnadněnou difúzí z místa vyšší koncentrace do místa nižší koncentrace.

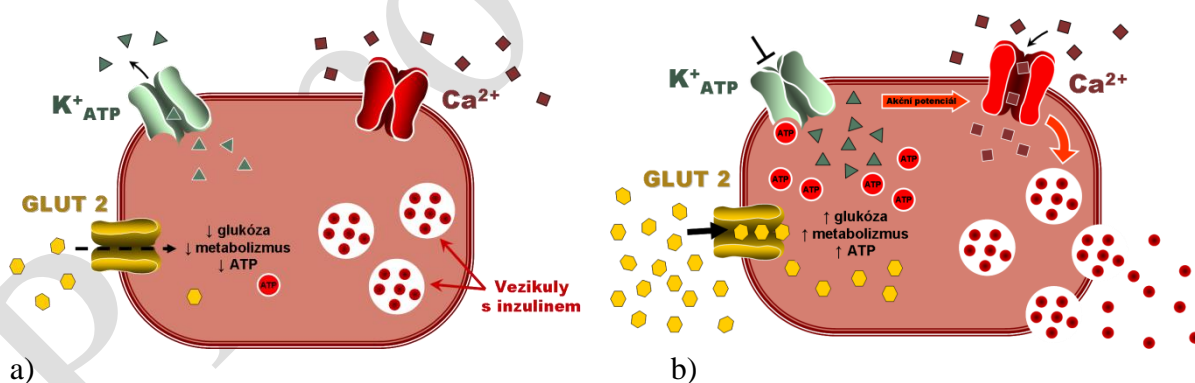
### Přehled typů glukózových transportérů a jejich funkcí:

- **GLUT 1:** je základním glukózovým přenašečem. Vyskytuje se ve **většině buněk** těla. V dospělosti je nejčetnější výskyt v membránách erytrocytů a nervových buněk. GLUT 1 jsou **velmi citlivé** ke koncentraci glukózy, tzn. že transportují glukózu do buněk i za relativně nízkých koncentrací v okolním prostředí (1,5-3 mmol/L). Jde o adaptaci k vysokým nárokům buněk CNS a erytrocytů na energetické požadavky). Podle novějších výzkumů<sup>14</sup> je GLUT 1 receptorem pro lidský virus T lymfocytů (HTLV)<sup>15</sup>

<sup>14</sup> Overbaugh J. HTLV-1 sweet-talks its way into cells. *Nature Medicine* 10, 20 - 21 (2004)

<sup>15</sup> human T-lymphotropic virus type, retrovirus vyvolávající jeden z typů leukémie

- **GLUT 2:** má nižší afinitu k hexózám - transport glukózy a dalších hexóz je pomalejší a probíhá až při koncentraci cca od 5,5 mmol/L. Oboustranný transport po směru koncentračního spádu; výskyt v **hepatocytech jater** a bazální membráně epiteliálních buněk **ledvin a tenkého střeva**, dále v  **$\beta$ -buňkách pankreatu**, kde se spolupodílí na řízení sekrece inzulinu (**obr. 2.15**). Transportuje preferenčně glukózu, ale také galaktózu popř. fruktózu.
- **GLUT 3:** vysoká afinita ke glukóze (transport glukózy a dalších hexóz do buněk i za velmi nízké koncentrace v krvi, tj. cca 1,5 mmol/L); výskyt v **neuronech** a **placentě**; hlavní transport glukózy a dalších hexóz do neuronů – zajišťují nezbytnou výživu neuronů i při relativně nízké glykémii.
- **GLUT 4:** výskyt v buňkách svalové, tukové a jaterní tkáně; činnost je regulována hormonálně (inzulinem) je jediný dosud známý glukózový přenašeč regulovaný inzulínem. Vyskytuje se v buňkách **inzulinem regulovaných tkání** jako je **kosterní svalovina, tuková a jaterní tkáň**. Pouze tyto tkáně dokáží zpracovat nadměrnou aktuálně energeticky nevyužitelnou glukózu a uložit ji jako energetickou rezervu ve formě polysacharidu glykogenu a tukové tkáně. Při zvýšení glykémie<sup>16</sup> cca nad 5,5 mmol/L, dochází ke stimulaci sekrece inzulinu z  $\beta$ -buněk pankreatu do krve. Inzulin pak prostřednictvím zvýšení počtu GLUT4 ve svalové, tukové a jaterní tkáni, stimuluje buňky těchto tkání k odčerpávání nadbytečné glukózy z krve a její následné zpracování do glykogenových a tukových rezerv. ( **$\infty$  kap. ?**).
- **GLUT 5:** výskyt v apikální membráně enterocytů epitelu tenkého střeva; původně popsán jako transportér glukózy; Po objevu, že ve skutečnosti **transportuje fruktózu**, již nebylo původní označení měněno
- **GLUT 6:** omylem považován za další transportér hexóz; po objasnění však už byl pojmenován další v řadě
- **GLUT 7:** intracelulární transportér hexóz na endoplazmatickém retikulu, podrobněji neprobádán – je předmětem dalšího výzkumu podobně jako další GLUT 8 – GLUT 12



**Obr. 2.15. Sekrece inzulinu jako odpověď na zvýšení glykémie:**

Při nízké koncentraci glykémie difunduje pře GLUT2  $\beta$  buněk pankreatu jen malé množství glukózy jejímž štěpením nevzniká v buňce nadbytek ATP. Chemicky řízený  $K^+$  kanál (v klidu, bez aktivace ligandem ATP, otevřený) propouští  $K^+$  ven z buňky a udržuje na membráně dynamickou elektrickou rovnováhu (a). Při zvýšení glykémie difunduje po koncentračním spádu do  $\beta$  buněk nadbytek glukózy, která je zpracovávána za vzniku nadbytku ATP. ATP, jako ligand aktivuje uzavření  $K^+$  kanálu, zvýšenou koncentrací intracelulárního  $K^+$  narušuje původní elektrickou rovnováhu a vyvolává depolarizaci membrány. Na to reaguje elektricky regulovaný  $Ca^{2+}$  kanál otevřením a navýšením cytoplazmatické koncentrace  $Ca^{2+}$  iontů. Volné  $Ca^{2+}$  působí jako signální látka a vyvolá exocytózu zásobních vehikul s inzulinem (b).

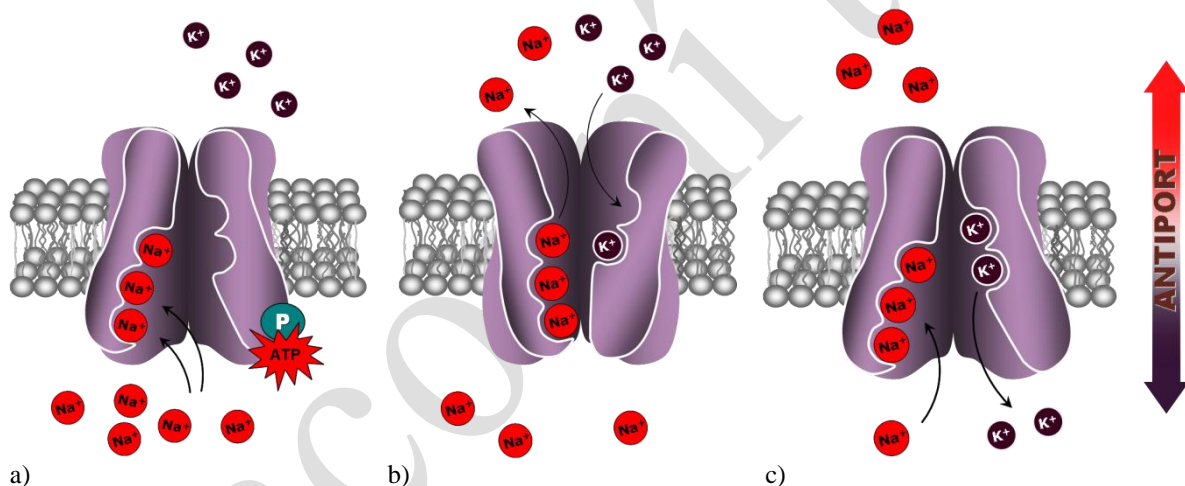
<sup>16</sup> koncentrace glukózy v krvi

### 2.4.2 Aktivní přenašečový transport - pumpy

Na mnoha místech v organismu je nutný transport látek tzv. „do kopce“ – proti koncentračnímu nebo elektrickému gradientu (spádu). Tento proces je realizovatelný pouze s vynaložením energie – prostřednictvím **aktivních membránových přenašečů**, které označujeme také jako **pumpy** (pumpují částice přes membránu z místa nižší koncentrace do místa vyšší koncentrace). Značná část chemické energie, kterou mají organismy k dispozici je vynaložena právě na tento aktivní transport, který je jedním ze základních mechanismů udržení homeostázy. Z hlediska formy využití energie, rozlišujeme dva základní typy aktivního přenašečového transportu:

#### A) Primární aktivní transport

Při primárním aktivním transportu využívá pumpa jako svůj „pohon“ energii přímo vázaného ATP, které se současně mění na ADP. Takové pumpy jsou také označovány jako ATPázy<sup>17</sup>. Nejznámějším příkladem primárního aktivního transportu je všudypřítomná **Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> pumpa** (sodno-draselná pumpa, antiport), která neustále vytváří/obnovuje gradient Na<sup>+</sup> iontů vně buňky a K<sup>+</sup> iontů uvnitř buňky (obr. 2.16.). Tento gradient je pak buňkami využíván v řadě životně důležitých procesů a je tedy pro fungování organismu zcela nepostradatelnou podmínkou<sup>18</sup>.



#### Obr. 2.16. Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> pumpa:

a) Pumpa je ve výchozí poloze otevřená směrem do intracelulárního prostředí. Vazba 3 Na<sup>+</sup> kationů stimuluje fosforylaci přenašečového proteinu vazbou ATP. b) Fosforylace vyvolá změnu konformace pumpy a její otevření do extracelulárního prostředí, kde dojde k samovolnému uvolnění 3 Na<sup>+</sup> kationů a navázání 2 K<sup>+</sup> kationů. c) Vazba K<sup>+</sup> iontů stimuluje uvolnění dosud vázaného fosfátu a tím následnou obnovu původní konformace pumpy. Po uvolnění 2 K<sup>+</sup> kationů do intracelulárního prostředí se celý proces opakuje. Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> pumpa je příkladem antiportu.

Další příklady významných ATPáz v živočišných tkáních:

- **Ca<sup>2+</sup>-ATPáza (uniport) v sarkoplazmatickém retikulu<sup>19</sup>** svalových buněk. Ca<sup>2+</sup> pumpa vytváří resp. obnovuje gradient vápenatých iontů v sarkoplazmatickém retikulu. Při aktivaci svalové buňky dochází k masivnímu uvolnění Ca<sup>2+</sup> ze SR do cytoplazmy, kde se

<sup>17</sup> Termín ATPáza je obecné označení enzymu, který štěpí resp. hydrolyzuje ATP.

<sup>18</sup> blokování činnosti Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> pumpy některými jedy bezprostředně ohrožuje život organismu

<sup>19</sup> = endoplazmatické retikulum svalových buněk; předpona sarko- označuje ve fyziologii vztah ke svalové tkáni

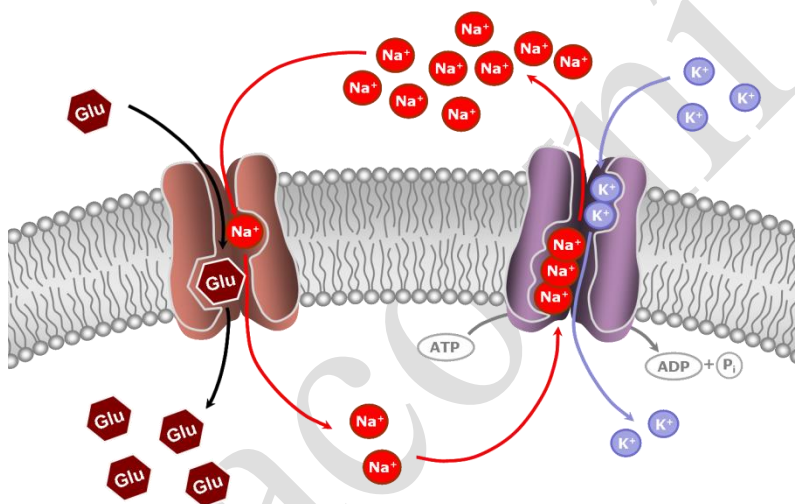
vazbou na troponin kontraktilního aparátu vyvolá kontrakci příčně pruhovaného svalstva.  $\text{Ca}^{2+}$  ATPázy jsou také součástí cytoplazmatické membrány a pumpují  $\text{Ca}^{2+}$  ven z buňky.

- **$\text{H}^+$ -ATPáza**, tzv. **protonová pumpa** (uniport) např. v ledvinných sběracích tubulech. Protonová pumpa se nachází v apikální membráně<sup>20</sup> sběracích kanálků nefronu ledvin. Pumpováním  $\text{H}^+$  iontů do vnějšího prostředí (lumen sběrného kanálku) chrání organismus před okyselením.
- **$\text{H}^+/\text{K}^+$  - ATPáza** (antiport) v apikální membráně pohárkovitých buněk<sup>21</sup> žaludeční sliznice. Pumpa transportuje  $\text{H}^+$  vně do lumenu žaludku výměnou za  $\text{K}^+$  směrem do pohárkovité buňky. Proces je energeticky velmi náročný, protože transport probíhá proti vysokému koncentračnímu gradientu.

## B. Sekundární aktivní transport

Jedná se o transport, při kterém je látka pumpována proti elektrochemickému gradientu, ale přenašeč sám energii ATP nespotřebává. Hybnou silou je totiž dříve vytvořený gradient jiné látky, která membránou prochází souběžně, pasivně s tím, že „strhne s sebou“ i dotyčnou látku určenou k transportu proti koncentračnímu spádu. Nejčastěji je využíváno gradientu  $\text{Na}^+$  nebo  $\text{H}^+$  na jehož vytvoření bylo potřeba přímo ATP.

Příkladem sekundárního aktivního transportu je **sodíko-glukózový transportní přenašeč SGLT** (sodium glukose transporter), který se nachází v apikální membráně enterocytů<sup>22</sup> kde zajišťuje aktivní transport glukózy z natrávené potravy. (obr. 2.17.).



**Obr. 2.17.** SGLT-sekundární aktivní transport:

$\text{Na}^+/\text{K}^+$  vytváří za přímé spotřeby energie z ATP gradient  $\text{Na}^+$  iontů na vnější straně membrány (vpravo).  $\text{Na}^+$  ionty tak získají energii a potenciál vrátit se samovolně po směru koncentračního spádu zpět do buňky. Energie  $\text{Na}^+$  iontů je využita sodíko-glukózovým přenašečem (SGLT) k transportu molekul glukózy proti koncentračnímu spádu, aniž by přímo spotřeboval energii

Zvláštním typem membránového transportního proteinu je **ATP-syntáza**, která se nachází na vnitřní membráně mitochondrií a účastní se **oxidativní fosforylace**. Přes ATP-syntázu procházejí pasivně z mezimembránového prostoru do lumenu mitochondrie  $\text{H}^+$  ionty<sup>23</sup> a jejich energie je využita k syntéze ATP z ADP (fosforylaci) – obr. 2.18.

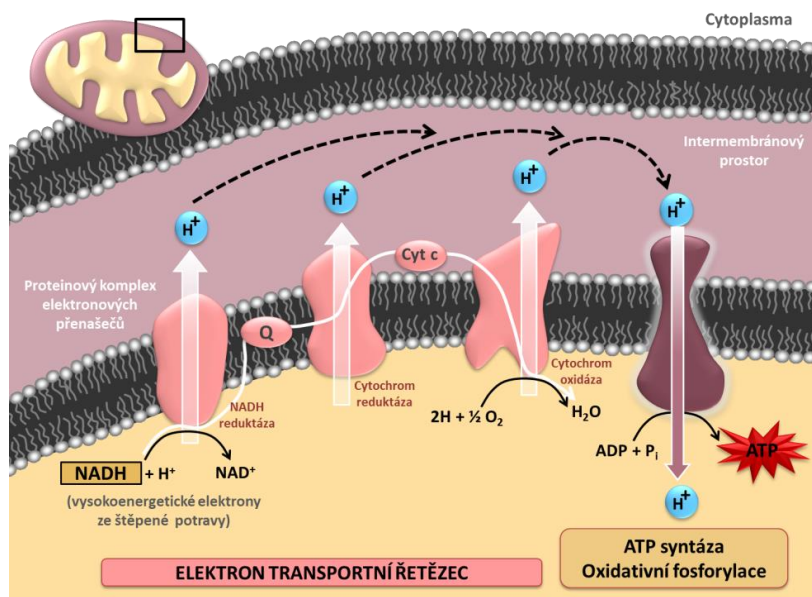
<sup>20</sup> epitelové buňky lemující kanálky nefronu jsou apikální membránou otočeny směrem do lumenu kanálku (vnější prostředí) a bazální membránou otočeny do vnitřního prostředí tkání

<sup>21</sup> buňky žaludeční sliznice vylučující kyselinu chlorovodíkovou a tím okyselují prostředí nutné k aktivaci enzymu pepsinogenu na pepsin

<sup>22</sup> epitelové buňky tenkého střeva

<sup>23</sup> Gradient  $\text{H}^+$  iontů byl v mezimembránovém prostoru mitochondrií vytvořen činností cytochromů v elektronovém transportním dýchacím řetězci.





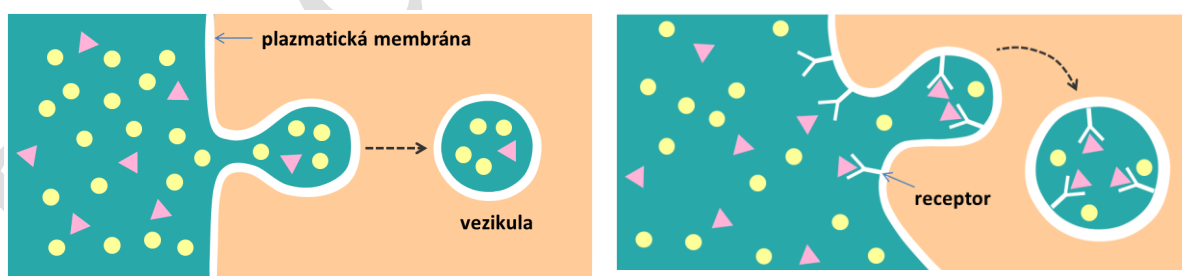
**Obr. 2.18** Aktivní transportní mechanismy na vnitřní membráně mitochondrií:

$H^+$  pumpy na vnitřní membráně mitochondrií transportují (s využitím energie z vysokoenergetického elektronu, uvolněného při štěpení potravy) protony do mezimembránového prostoru. Tento gradient je využíván dalším specializovaným transportním proteinem - ATP syntázou k syntéze ATP.

## 2.5. Cytóza - transport prostřednictvím membránových váčků

V porovnání s tradičním pojetím transportu prostřednictvím kanálů a přenašečů, je **cytóza** zcela odlišný typ aktivního transportu. Je založen na tvorbě **vezikul** vznikajících oddělováním kousků plazmatické membrány nebo membrán jiných organel. Umožňuje transport větších částic a molekul, které by membránou ani jejími přenašeči neprošli. Cytóza není náhodný, ale vysoce organizovaný proces za účasti cytoskeletu. Kontraktilní cytoskeletální aparát za spotřeby energie ATP transportuje vezikuly s transportovanou látkou do buňky nebo z buňky ven. Podle směru transport rozeznáváme následující procesy (obr. 2.19.):

- **Endocytóza**, vysoce specifický proces, kterým jsou na základě receptorové signalizace selektivně transportovány částice do buňky
- **Pinocytóza**, nespecifický transport tekutiny s rozpuštěnými látkami
- **Exocytóza**, opak endocytózy, proces, který buňka využívá k transportu nově syntetizovaných proteinů a k vylučování buněčného odpadu z lysozómů.



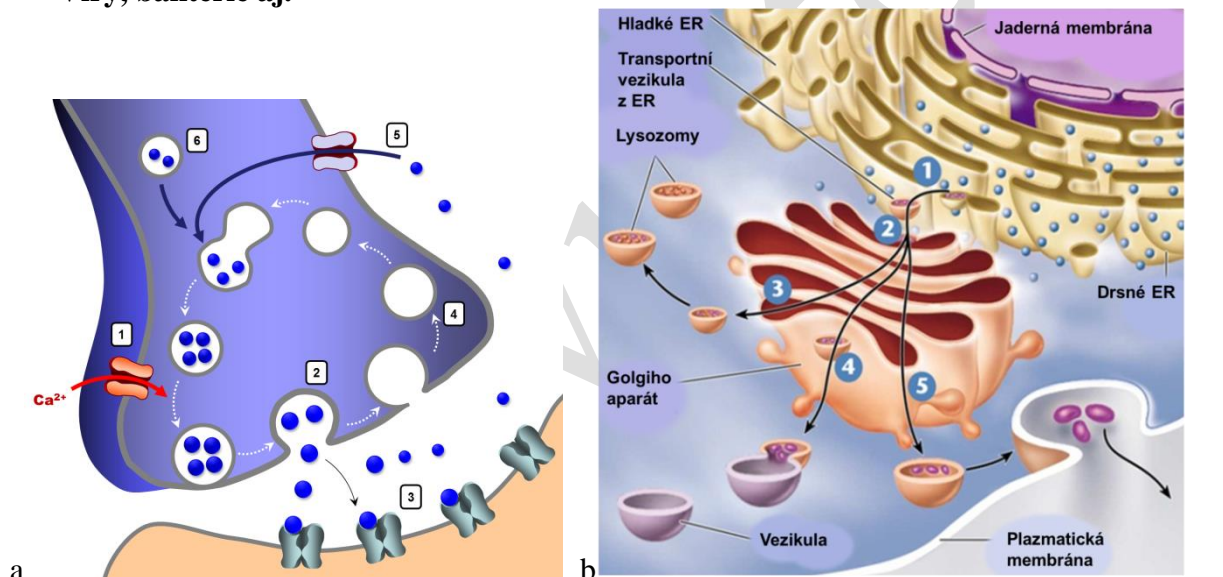
**Obr. 2.19.** Cytóza.

Cytóza umožňuje import (endocytóza) nebo export (exocytóza) látek, včetně velkých molekul a částic. Ve spolupráci s cytoskeletem jsou, za spotřeby energie, uzavřeny do váčků (vezikulů) a transportovány. A) Pinocytóza je nespecifický proces, kdy buňka přijímá tekutinu s rozpuštěnou látkou. B) Endocytóza je vysoce specifický, receptory iniciovaný proces příjmu částic. C) fagocytóza je specifická forma endocytózy.

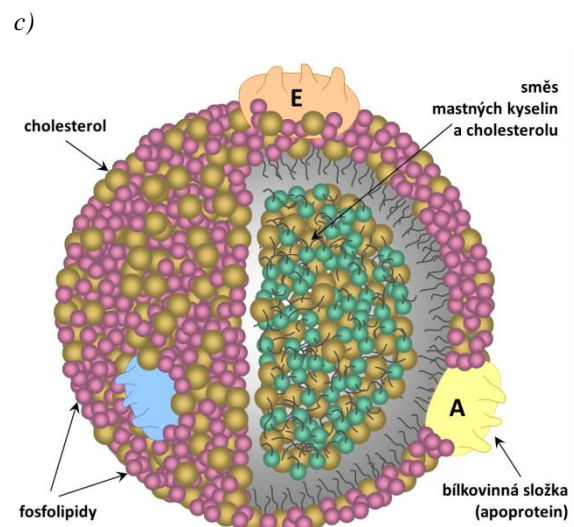
c

Hlavní skupiny látek transportovaných cytózou:

- **Funkční a stavební proteiny**, produkované v endoplazmatickém retikulu buňky ze které jsou transportované k cílovým buňkám
- Další **transportní bílkoviny**: např.
  - *transferin* - glykoprotein syntetizovaný v játrech a zajišťující transport železa<sup>24</sup> především ze střev (místa absorpce) k ostatním buňkám
  - *ceruloplasmin* – plazmatická bílkovina syntetizovaná v játrech; váže až 70% mědi v organismu; má oxidativně-enzymatickou aktivitu
  - *albuminy* – bílkoviny syntetizované v játrech a vyskytující se hl. plazmě, ale také tkáňovém moku a ve svalech. Albuminy transportují řadu iontů ( $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ), steroidní hormony (thyroxin, trijodthyronin), léky a mastné kyseliny.
- **Neurotransmitery** na synapsích, např. acetylcholin, histamin, serotonin, noradrenalin aj.
- **Lipoproteiny** = sférické útvary podobné membránovým vezikulám (obr. 2.20.). Povrch je tvořen hydrofilní částí fosfolipidů, vnitřek je vyplněn transportovanými hydrofóbními částicemi. Proteinová součást lipoproteinů je označována jako apoprotein, jehož prostřednictvím dochází k vazbě lipoproteinu na membránu cílové buňky a následné receptorové endocytóze.
- **Viry, bakterie aj.**



**Obr. 2.20.** a) Exocytóza neurotransmiteru na synapsi: Vápenaté ionty (1) aktivují splynutí membrány vezikuly s membránou presynaptického neuronu a následnou exocytózu neurotransmiteru (2), který aktivuje receptor na postsynaptické membráně (3). Prázdná vezikula je recyklována (4) a znovu se naplní neurotransmiterem, který je zpětně transportován ze synaptické štěrby do neuronu (5); popř. je, jako nově syntetizovaný, transportován z těla neuronu (6). b) propojenost membránových systémů mezi jednotlivými organelami: z drsného ER (1) je odškrcen transportní váček (2), který je postupně transportován přes Golgiho komplex a může splynout s lysozomem (3), nebo zformuje zásobní (4), popř. exkrecní vezikulu (5).



<sup>24</sup> Železo je ve volném stavu pro organismus toxické

c) *Obecné schéma lipoproteinové částice. Jednotlivé lipoproteiny se od sebe liší velikostí, resp. hustotou, proporcionálním zastoupením mastných kyselin, triacylglycerolů a cholesterolu, a typem apoproteinu (apoA, apoB, apoE aj.) který určuje afinitu k cílovým buňkám. Základní typy lipoproteinů: LDL-low density lipoprotein, tzv. „zlý cholesterol“, HDL-high density lipoprotein, tzv. „hodný cholesterol“.*

V procesu cytózy hraje důležitou roli řada membránových proteinů, zajišťujících různé dílčí kroky endocytózy a exocytózy.

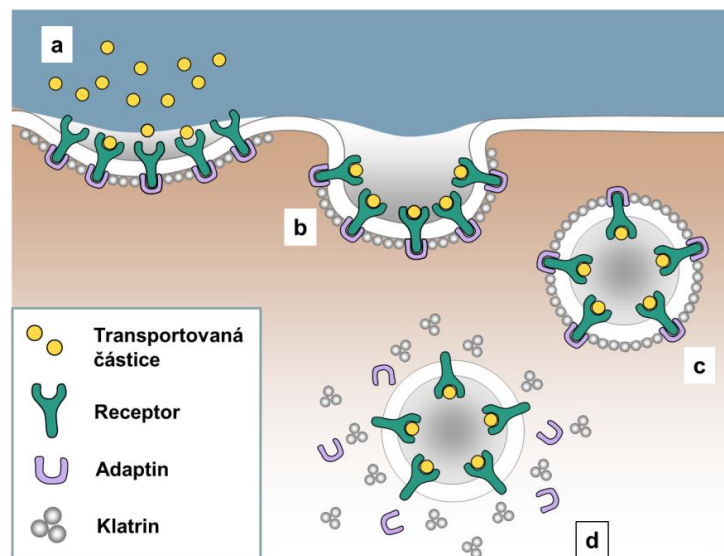
- **Receptory:** rozpoznávají částici určenou k transportu a iniciují receptorovou endocytózu
- **Klatrin** (clathrin): proteiny vystylající endocytózní váček (obr. 2.21.)
- **Adaptiny:** proteiny spojující receptor a klatrin. Typ adaptinu závisí na typu transportované látky

**Obr. 2.21.** proteiny účastníci se receptorové endocytózy:

a) miskovitě prohnutí membrány s receptory pro danou částici. b) odškrcující se váček s transportovanou látkou navázanou na receptory. c) vezikula obklopená klatriny. d) uvolnění klatrinu a adaptinu z vezikuly.

**Klatrin (clathrin)** – protein vystylající endocytózní váček. Tvar molekul klatrinu vytváří v prostoru útvar se třemi výběžky, tzv. *triskelion*.

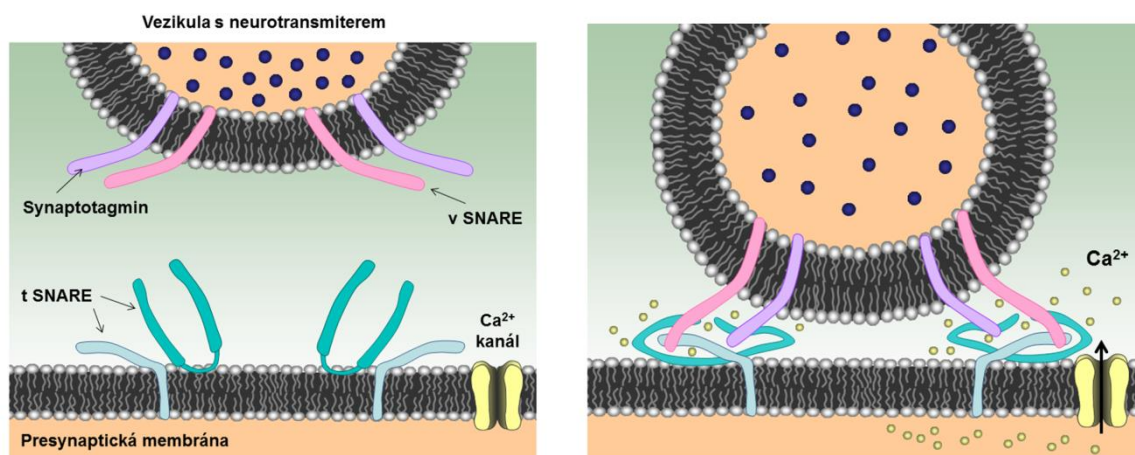
**Adaptiny** – další proteiny propojující klatrin a receptor. Typ adaptinu závisí na charakteru transportované molekuly (tzv. *cargo*).

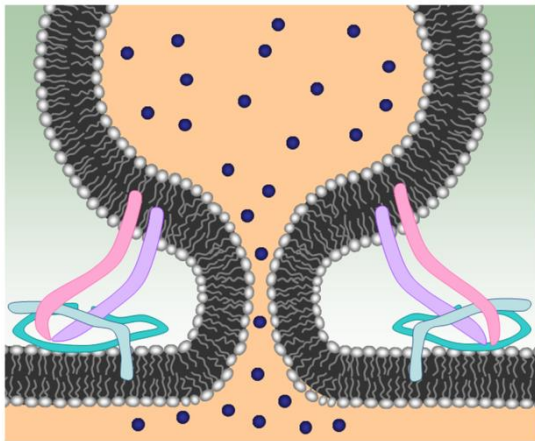


- **SNARE proteiny:** transmembránové proteiny, které hrají klíčovou roli při fúzi vezikuly a membrány; pomáhají nasměrovat transportní vezikuly na správné místo k membráně  
SNARE proteiny se vyskytují ve dvou formách:

- v-SNAREs proteinové markery na povrchu vezikuly
- t-SNAREs proteinové markery na cílovém místě membrány

v-SNAREs se komplementárně váže k t-SNAREs na povrchu membrány. Vazba (párování) v-SNAREs a t-SNAREs iniciuje splynutí dvou fosfolipidových dvojvrstev (obr. 2.22)





**Obr. 2.22. Úloha v-SNAREs a t-SNAREs proteinů při fúzi membránových listů.**

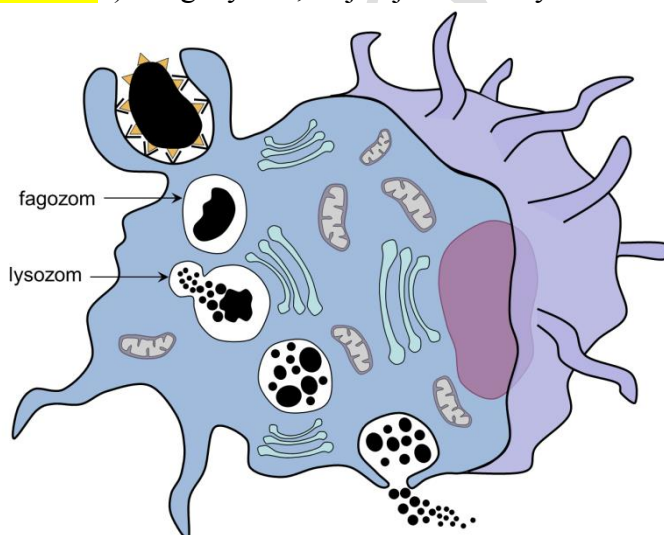
Jako signální iont, který umožňuje spojení vezikulární a cytoplazmatické membrány, funguje velice často  $Ca^{2+}$ .

### Panel XX. BIOMEDICINSKÉ aspekty: SNAREs proteiny a bakteriální toxiny

SNAREs proteiny jsou cílem toxinů bakterie *Clostridium tetani* (tetanospasmin) a *Clostridium botulinum* (botulotoxin)

- BOTULOTOXINY na nervosvalové ploténce blokuji vyplavování Ach a tím způsobují ochrnutí svalů (vzniká následný kolaps dýchacího systému v důsledku křečí dýchacích svalů); Využití v kosmetice – botoxové injekce k odstranění vrásek
- TETANOSPASMINY v CNS inhibují uvolňování inhibičních neurotransmiterů GABA a glycinu (následný vznik tonických křečí na jakékoli svalové podráždění)

Specifickým příkladem cytózy je **fagocytóza**. Schopnost fagocytovat mají jen specializované imunitní buňky, tzv. fagocyty (např. neutrofilní granulocyty, monocyty a jejich tkáňové formy - makrofágy, dendritické buňky aj.). Jedná se o proces, kdy buňky pohlcují cizorodou nebo nežádoucí částici do váčku, tzv. fagosomu, který splyne s lysozóm, jež obsah váčku rozloží (obr. 2.23). Fagocytóza, stejně jako endocytóza není náhodný, ale receptorově řízený proces.



**Obr. 2.23. Fagocytóza:**

Fagocytující buňka rozpozná povrchovými receptory částici určenou k likvidaci. Vchlípením membrány fagocytující buňky je patogen uzavřen do fagosomu, který následně splyne s lysozómem. Lysozóm pohlcenou částici rozloží a tím ji inaktivuje. Produkty rozkladu jsou formou exocytózy odstraněny z buňky.

Fagocytující buňky rozpoznávají částice určené k rozkladu různými typy receptorů:

- TLR<sup>25</sup> (váží různé struktury bakteriálních buněk),
- manozový a galaktózový receptor (rozpoznávají sacharidové zbytky na povrchu bakterií)

<sup>25</sup> Toll-Like Receptor -

- scavengerové receptory, označované jako tzv. uklízeči r. (váží vlastní LDL a řadu negativně nabitých částic určených v těle k rozkladu)
- Fc receptory (rozpoznávají protilátky, které jsou navázány na patogeny nebo vlastní poškozené buňky určené k likvidaci)

(∞ *Obecná fyziologie II, kap. mezibuněčná komunikace*)

## 2.6. Transcelulární a paracelulární transport

U složitějších mnohobuněčných živočichů vytvářejí buňky komplexnější celky – tkáně a orgány, přičemž je potřeba udržovat homeostázu nejen v rámci celého organismu, ale i samostatně, v jednotlivých tkáních a orgánech. Funkci bariéry oddělující „uvnitř“ od „vně“, kterou u jednotlivé buňky zastávala buněčná membrána, přejímají u tkání mnohobuněčných organismů skupenství buněk označovaných jako **epitely** (∞ *Obecná fyziologie II, kap. Tkáně*). Ty představují plošné bariéry oddělující společný extracelulární prostor od jiných prostředí v organismu, které mohou mít zcela jiné složení. Např. kůže odděluje organismus od okolního vzduchu; endotel cév odděluje krev od ostatních tkání; epitel střevní sliznice odděluje obsah střeva od okolní tkáně; epitel ledvinového tubulu odděluje moč od okolní tkáně, atd. Pro vzájemnou soudržnost buněk epitelů má zásadní význam **bazální membrána** tvořená **extracelulární hmotou (matrix)**, převážně kolagenem. Přes epitely se látky mohou dostat dvěma základními způsoby (**obr. 2.24.**):

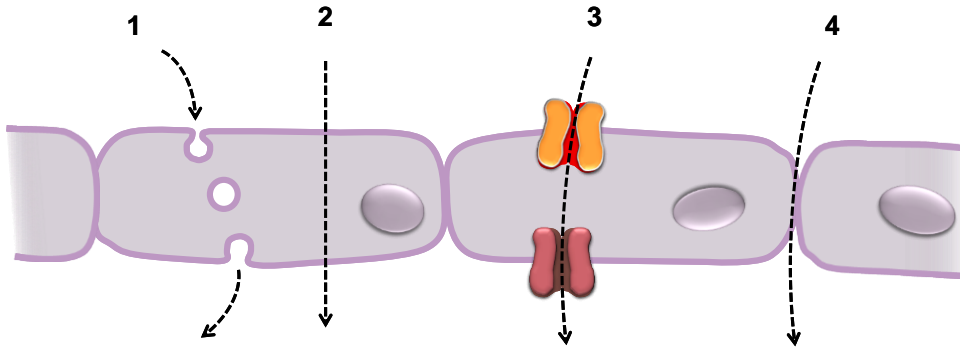
- **Transcelulární transport** – látka vstupuje do epitelové buňky na jedné straně (buď přímo, prostřednictvím transportních proteinů nebo endocytózou) a na jiném místě, opět přímo, prostřednictvím transportních proteinů nebo exocytózou z buňky vystupuje ven. Látka tedy prochází skrze celou buňku, přičemž musí překonat dvakrát cytoplazmatickou membránu: na vnější (apikální) straně a na vnitřní (bazální) straně epitelové buňky. Typ transportu apikální a bazální membráně je často odlišný jak z hlediska typů transportních proteinů, energetických nároků, tak i z hlediska možné endokrinní regulace. Př. transcelulárního transportu:
  - *přenos monosacharidů* přes střevní sliznici probíhá na apikální straně enetrocytů aktivně prostřednictvím SGLT a na bazální membráně pasivně přes GLUT2
  - *transport vody* přes epitelové buňky sběrného kanálku nefronu: přes apikální membránu prochází voda přes AQP-2 (četnost je hormonálně regulovaná ADH hypotalamu); přes bazální membránu je voda transportována přes AQP 3, a AQP 4, již nezávisle na hormonální regulaci (**obr. 2.6**).
  - *transport slizničních IgA protilátek* sekretovaných do lumenu trávicí/dýchací soustavy: na bazální membráně je protilátka pohlcena receptorovou endocytózou a na apikální membráně je sekretována exocytózou.
- **Paracelulární transport** – transport „kolem buněk“, mezibuněčnými prostory (**obr. 2.24.**). Může probíhat pouze v místech, kde je to prospěšné; Na takových místech proto není epitel kompaktní jejich bazální membrána<sup>26</sup> není celistvá. Př. mezibuněčného transportu:
  - Epitel ledvinových tubulů
  - Fenestrováný (dírkovitý<sup>27</sup>) endotel kapilár kostní dřeně – potřeba transportovat dokonce celé buňky
  - Fenestrované jaterní kapiláry – potřeba transportovat do krve proteiny syntetizované v játrech
  - “otevřené” mizní kapiláry – jsou schopny z tkání vychytávat lipoproteiny ale i např. bakteri nebo viry

<sup>26</sup> vláknitý útvar tvořený extracelulární hmotou; mechanická opora epitelu, kontrola průchodnosti epitelu

<sup>27</sup> nezaměňovat s „dírkovitým“ spojením gap junction!

Naopak, má-li epitel hrát roli neprostupné stěny – například jako hematoencefalická bariéra zajišťující oddělení mozkomíšního moku od lymfy a krve, pak jsou epitelové buňky nahloučeny těsně jedna vedle druhé bez možnosti průtoku látek mezi nimi. Jde o typ mezibuněčného spoje zvaný **těsné spojení – tight junction**.

Prostupnost epitelů je tedy dána, jednak typem jejich mezibuněčných kontaktů, ale také velikostí molekul, pro které mají být, nebo naopak nesmí být průchodné. Např. velké molekuly bílkovin jsou „uvězněny“ v cévním řečišti (plazmatické bílkoviny), protože vnitřní výstelka cév – endotel je pro ně nepropustná.



**Obr. 2.24. Přehled transportu látek přes buňky epitelu.**

1) Transcytóza: částice vstupuje na jedné straně epitelové buňky receptorovou endocytózou, ve váčku prochází přes buňku a na druhé straně vystupuje exocytózou. 2) Transport přes membrány epitelových buněk bez účasti transportních proteinů a energie (př. dýchací plyny). 3) Transcelulární transport prostřednictvím transportních proteinů. Transport pasivní nebo aktivní. Typ transportu se může na obou stranách membrány lišit. 4) Paracelulární transport v tzv. „děravých epitelech“ (gap junction) nebo lymfatických kapilárách. Vždy pasivní.