

Vybrané proteiny akutní fáze (indikace a interpretace)

Nováčková, L.

ÚKB FNsP Ostrava

Květen 2006

**Bílkoviny jsou, současně s
nukleovými kyselinami, základem
živé hmoty a nositeli
biochemických projevů života.**

Zátěž



- **Příčina zátěže:**
 - infekce, trauma - poranění, nádor,
 - změna teploty, hlad, strach
- **Reakce organismu na zátěž:**
 - Homeostáza
 - Adaptační reakce

SIRS: System Inflammatory Response Syndrom.

- Dysbalance regulační odpovědi. Přetrvávající dysbalance vede k poškození endotelií a mikrocirkulace , rozvíjí se některá z forem

MODS (Multi Organ Dysfunction Syndrome)

sepsis: je podmnožinou SIRS a předpokládá masivní bakteriální inzult

CARS: Compensatory Antiinflammatory Responce Syndrome.

- Protiregulační mechanismus, který tlumí expanzi syntézy a účinku zánětlivých mediátorů.

Proteiny akutní fáze

Původní definice:

PAF jsou plasmatické bílkoviny tvořené v játrech, jejichž koncentrace během prvních 7 dnů po zánětovém stimulu stoupá (klesá) o 25% a více.

Pozitivní:

- „rychlé“ (2- 10 hod)..... CRP, SAA
- „středně rychlé“(12 – 36 hod)..... oroso, Hp, AAT, A2M, Hpx
- „pomalé“(48 – 72 hod)..... C3, C4, Cpl

Negativní:

- „středně rychlé“ (12 – 26 hod)..... Alb, prea, Trf

Definice

- **PAF jsou sekreční proteiny jaterních buněk, jejichž tvorba a uvolnění do cirkulace jsou regulovány prozánětlivými cytokiny.**
- **PAF tedy nejsou:**
 - hormony tvořené jaterními buňkami, např. PCT
 - cytokíny jaterních buněk: např. IL -1, IL -6, IL-8
 - růstové faktory tvořené v játrech.

Současné poznání

- **PAF jsou proteiny tvořené v průběhu zánětové odpovědi nejrůznějšími typy buněk. (jaterní buňka, buňky endotelu, fibroblasty)**
- **Na syntéze a uvolňování PAF se vedle prozánětlivých cytokinů podílí i protizánětlivé cytokíny, hormony (glukokortikoidy), růstové faktory, těžké kovy, fyzikální faktory (hypertermie).**

Rozdělení proteinů akutní fáze

- **Pentraxiny:** CRP, SAP
- **Inhibitory serinových proteáz:** a) AAT, AACT
- b) inhibitor proteinu C (PCI), Inhibitor aktivátoru plasminogenu 1 (PAI-1), A2 antiplasmin (AP)
- **Metaloproteázy:** Cpl, Hp, Hpx, (superoxiddismutáza)
- **Proteiny s imunomodulační aktivitou:** Oroso, A2M
- **Složky komplementu:** C3, C4, inhibitor C1 esterázy, MBP
- **Koagulační faktory:** Fbg, vWf
- **Transportní proteiny:** Alb, Trf, Prea, RBP

Rozdělení proteinů akutní fáze



- **Pozitivní:** Uplatňuje se vliv IL-1, TNF, IL-6 a jejich kombinací. Plazmatická hladina během zánětu stoupá a přibližně i koreluje s tíží onemocnění .
- **Negativní:** jejich syntéza je inhibována prozáněťovými cytokíny ve prospěch pozitivních reaktantů
- *Jsou to transportní a strukturní proteiny.*
- **Neutrální:** za určitých podmínek např. A2M

Rozdělení proteinů akutní fáze:

- **PAF I**
- Proteiny stimulovány: **IL-1, TNF, IL-6**, (*IL-1 stimuluje IL-6*)

- **PAF II**
- Proteiny stimulovány: **IL – 6 a glukokortikoidy**
- (*TNF a IL-1 se na stimulaci nepodílejí a spíše ji inhibují*)

Základní funkce proteinů akutní fáze:

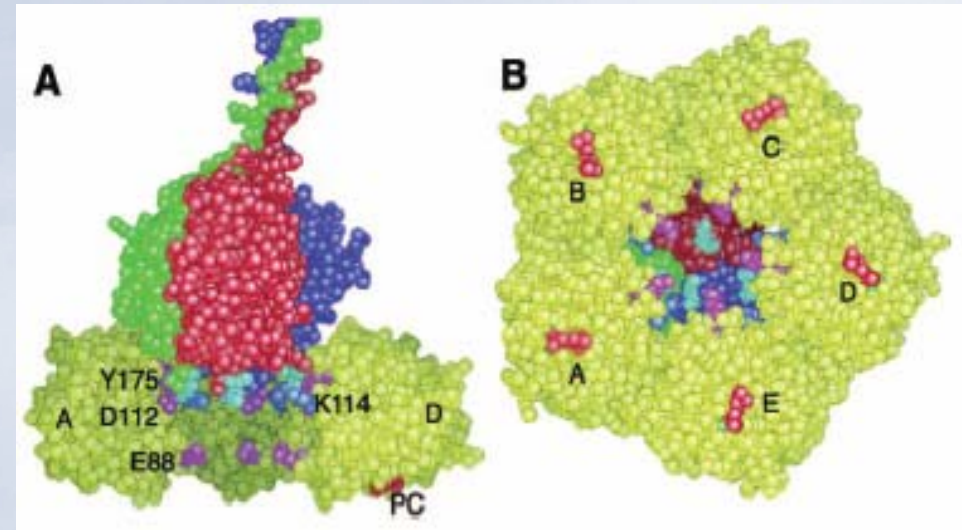
- *Oponizace bakteriálních membrán a struktur poškozených a nekrotických buněk*
- *Inaktivující vazba proteolytických enzymů, ochrana před proteolytickým poškozením tkáně*
- *Funkce scavengerů, zametačů kyslíkových radikálů, ochrana před oxidačním stresem*
- *Imunomodulační aktivita - přímé ovlivnění leukocytů prostřednictvím specifických receptorů pro PAF, ovlivnění tvorby cytokínů a jejich kinetiky*
- *Navození prokoagulačního stavu při současné inhibici fibrinolýzy*
- *Aktivace komplementu*
- *Úloha v reparačním procesu, v angiogenezi a v regulaci buněčné proliferace*

Hlavní význam reakce akutní fáze

- Udržení vodní bilance, elektrolytové a teplotní homeostázy
- Protiinfekční děje
- Vnímání bolesti
- Odstranění ireverzibilně poškozené tkáně
- Dostatečná nabídka energie
- Nabídka stavebního materiálu (zejména AMK pro tvorbu protilátek, enzymů, hormonů a pro reparační a regenerační děje).

C – reaktivní protein CRP

- pět podjednotek (pentraxin),
- každá podjednotka váže 2 atomy Ca^{2+}
- vývojově velmi starý protein
- $M_r = 120$ kDa
- Biologický poločas:
< 0,05 dne



CRP - funkce

- opsonizující faktor pro fagocytózu bakterií, parazitů a imunokomplexů, aktivuje klasickou kaskádu komplementu (vazbou C1q).
- CRP váže chromatin, histony a malé částice jaderných nukleoproteinů.
- rozpozná vlastní poškozené struktury

CRP

- Bazální koncentrace mírně stoupá s věkem, fyziologicky vyšší v časném stádiu těhotenství, u novorozenců (kolem 3. dne 15 mg/l)
- Snížená syntéza je u starších novoroz. a kojenců (oproti dospělým)
- CRP se syntetizuje i u imunosuprimovaných pacientů - u nichž chybí běžné známky infekce (neutrofilie, horečka)
- Využití u pacientů – po transplantaci kostní dřeně, po chemoterapii

CRP

Význam v diagnostice



- **Po aktivaci IL-6 velmi výrazně stoupá**
- Vzestup:
- Bakteriální infekce (progresivní vzestup za 48 hodin)
bakteriální infekce: 100- 300 mg/l,
těžká bakteriální infekce: 300 – 500 mg/l
- Těžké virové infekce (30 – 90 mg/l)
- Infekční zánětlivé komplikace (pooperační, po porodu, po úrazech, po transplantacích)
„fyziologicky“: 1. – 3. den vzestup, 4. – 5. den pokles
- Tkáňové nekrózy (infarkt, pankreatitída, nádorové onemocnění (zvýšené hladiny)

Hs - CRP

- **vztah ke kardiovaskulárnímu onemocnění**
- 0,1 – 0,7 mg/l nízké riziko
- 0,7 – 1,1 mg/l mírné riziko
- 1,1 – 1,9 mg/l střední riziko
- 2,0 – 3,0 mg/l významné riziko
- 3,0 – 3,8 mg/l vysoké riziko
- 3,8 – 15 mg/l velmi vysoké riziko

Alfa1-kyselý glykoprotein, orosomukoid, AGP

- Protein s neobvykle nízkým pI (2,8 – 3,8)
- 45% obsah sacharidů
- **Mr = 41 – 43 kDa (183AMK)**
- **evolučně velmi starý, u všech živočišných druhů**
- **Modulace: Il-1, Il-6, TNFalfa**
- **Biologický poločas: 5,2 dne**

Orosomukoid

Funkce:

- imunomodulace (závisí na cukerné složce molekuly)
- Inhibuje chemotaxi a oxidační metabolismus neutrofilů, agregaci trombocytů , aktivaci komplem., inhibice T lymf.
- Během zánětu udržuje kapilární permeabilitu membrán.
- Stimuluje fibroblasty
- Vazebný protein endogenních i exogenních látek transportuje léky - farmakokinetika-(tamoxifen, propranolol, fenobarbital, heparin, serotonin,)
- Vysoká hladina je prognosticky nepříznivým faktorem průběhu septické reakce.

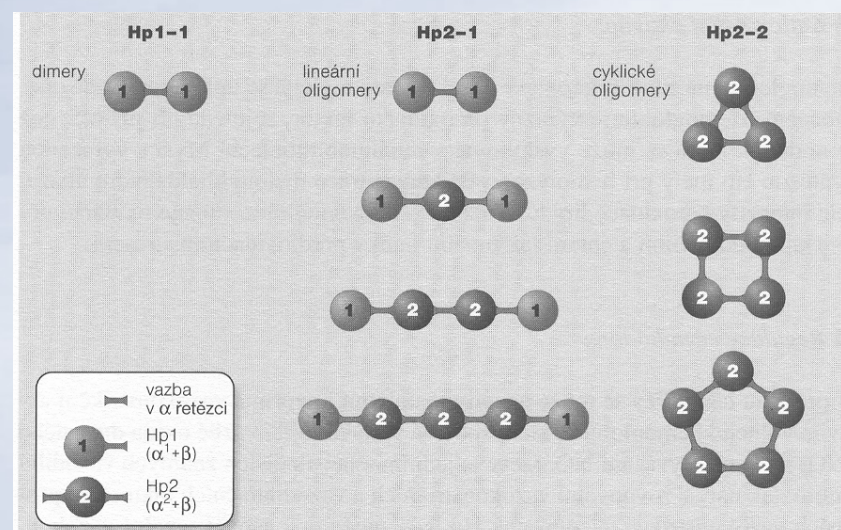
- *Patří do skupiny lipokalinů (RBP, A1M, oroso, BTP) : vážou a transportují malé hydrofobní substance.*

Orosomukoid

- Vzestup hodnot je málo závislý na vyvolávající příčině.
- Stoupá:
 - Bakteriální infekce
 - Virové infekce
 - Tkáňové nekrózy
 - Proliferace zhoubných nádorů (metastázy)
 - Autoimunní onemocnění (*reumatoidní artritida, systémový lupus erythematosus, Crohnova terminální ileitida, atd...*)

Haptoglobin, Hp

- Alfa2- glykoprotein s tetramerickým uspořádáním.
- Geneticky podmíněný polymorfismus:
Hp1-1, Hp2-1, Hp 2-2
- Stimulace IL -6
- Biologický poločas:
2 – 4 dny



Haptoglobin

Funkce:

- plasmatický vazebný protein pro volný hemoglobin (ochrana tubulár. buňky před akutním nekrotickým poškozením.)
- Hb má výrazně prooxidační charakter – zvláště při pH 6,5 – tubuly – oxidační stres.
- Hb vyvazuje NO (oxid dusnatý), NO je silný vazodilatátor. Je-li Hp ↓ nastává vazokonstrikce.
- Poznámka
Prokázáno: homozygoti s Hp 2-2 mají 5 x vyšší riziko kardiovaskulárního onemocnění.
- Genetická variabilita využívána v soudním lékařství – paternita.

Haptoglobin

- Syntéza v rámci akutní zátěže stoupá.
- V přítomnosti intravaskulární hemolýzy však naměříme normální, nízké nebo velmi nízké hodnoty.
- Vhodné monitorovat spolu s orosomukoidem. Mají stejnou dynamiku.
↑oroso, +↓Hp = akutní zátěž s hemolytickou složkou
- Klinika: u pacientů s mnohočetným myelomem.
- Laboratorní problém stanovení koncentrace.

Alfa1 – antitrypsin, AAT

- **Mr = 52 – 54 kDa**
- **glykoprotein syntetizovaný v játrech
(v makrofázích a v neutrofilech)**
- **Biologický poločas: 3,9 dnů**

Alfa1 – antitrypsin

Funkce:

- Inaktivuje proteinázy uvolněné z lysozomů při rozpadu buněk a inaktivuje elastázu uvolněnou z granul neutrofilních leukocytů (serinové proteázy neutrofilů -SERPIN)
- Vytvořením komplexu *proteáza- AAT* dojde k její inaktivaci a rychlému odstranění z oběhu.
- Gen pro syntézu AAT je značně pleomorfní (70 variant). Dědičnost je kodominantní.
- Nejčastější fenotypy M, S, Z (podle elektroforetické pohyblivosti)
- Pi ZZ se vyskytuje cca 1/ 7000 až 1/2000 novorozenců.
- AAT se významně zvyšuje všude tam, kde jsou postižena játra

Alfa1 – antitrypsin

- **Zvýšení:**
 - Akutní záněty
 - Nádory
 - Hepatopatie – akutní i chronická hepatitída,
 - alkoholová cirhóza
 - Progresivní polyartritída
- **Zásadní význam má nález velmi nízkých hodnot.**
- **Nízká koncentrace je spojena s výskytem**
 - primárního plicního emfyzému
 - neonatální hepatitídy
 - Glomerulonefritídy
 - revmatoidní artritídy

Alfa 2 – makroglobulin, A2M



- **Mr = 725 kDa**
- **(čtyři podjednotky o 185 kDa)**
- **Biologický poločas: 7 – 8 dnů**

Alfa 2 – makroglobulin

Funkce:

- **Váže řadu biologicky významných molekul a iontů (zinek, nikl). Interferuje s fibrinolýzou, interferuje s regulací buněčné proliferace, moduluje aktivitu cytolytické kaskády závislé na lektínech.**
- **Inaktivace proteáz:**
Váže např: trypsin, antichymotrypsin, elastázu neutrofilů, trombin. Mění při tom konformaci – tato změna vede k rychlému vychytávání z oběhu.
- **Vazba cytokínů, růstových faktorů, hormonů:**
TNF α , IL - 1 β , IL – 2, IL-6, IL-8, TGF β , INF γ , ...
- ***Důsledek:***
Vazba tak ovlivňuje biologický poločas řady cytokínů i jejich dostupnost pro cílové tkáně.

Alfa 2 – makroglobulin

- Chybění A2M se tak může nepříznivě projevit na úrovni dysbalance antiproteináz.
- *Důsledek:*
Uvolněné proteázy pak působí destruktivně na lokální i systémové úrovni.
- Chybí-li A2M projeví se to i ve stadiu sekundární systémové zánětové odpovědi, která je mediována cytokínovou sítí.
- Předpokládá se, že právě hyperstimulace cytokínové kaskády je hlavním mechanismem vedoucím k multiorgánovému selhání.

Cerulopasmin, Cpl

- **Mr= 132 kDa**
- **Syntéza v játrech, molekula obsahuje 6 atomů mědi (váže 95 % Cu).**
- **Modulován: IL-6**
- **Biologický poločas: 4 – 10 dnů**

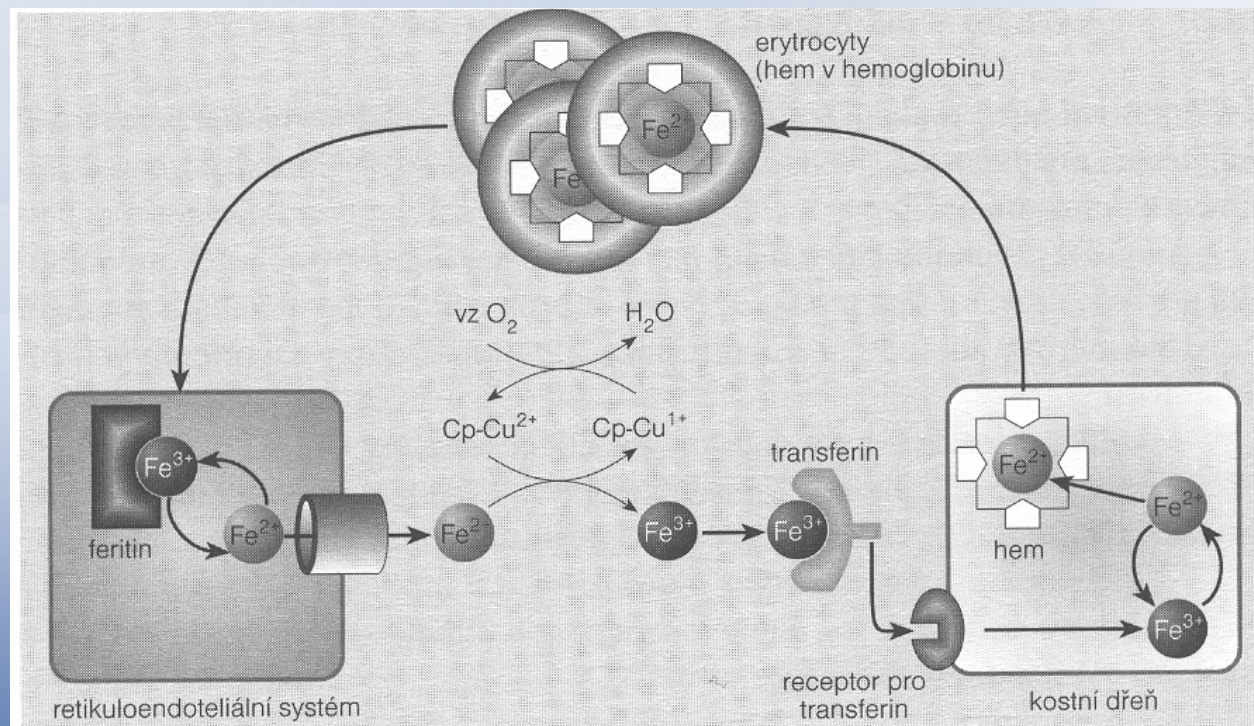
Ceruloplasmin

Funkce:

- Je transportním proteinem pro Cu , ale ne nezbytným.
- Cpl je oxidáza (polyfenoloxidáza, polyaminoxidáza, oxiduje kyselinu askorbovou)
- Brání vzniku volných radikálů, lipoperoxidaci.
- Redukovaná forma Cpl představuje asi 1/3 antioxidantové aktivity séra a je součástí ochranných mechanismů před působením volných radikálů.

Ceruloplasmin

Je nezbytným mezičlánkem v metabolismu železa (oxidace Fe^{2+} na Fe^{3+})



Ceruloplasmin

- **Zvyšuje se:**
 - u cholestázy
 - u obstrukce žlučových cest
 - v graviditě
 - u některých hemoblastóz (M. Hodgkin)
- **Klesá:**
 - u M. Wilson
- **Poznámka:**

Použití jako marker akutní a chronické alkoholické hepatopatie.

M. Wilson

(Autosomálně recesivně dědičná porucha)

- Chybí specifická ATP-áza-(ATP7B)
- Důsledek:
 - Měď přinesená do jater se nezabuduje do Cpl.
 - Měď se kumuluje v jaterní buňce a poškozuje ji (*cirhóza, selhání*).
 - Po nekróze jater. buňky se Cu uvolní a poškozuje další tkáně. (*mozek, oči, ledviny*)
 - Cpl bez Cu se uvolňuje do oběhu, je nefunkční, rychle se odbourává.
- Biochemie: naměříme nízkou hladinu Cu v séru, vysokou v moči, nízkou hladinu Cpl v séru.
- Klinika: ztráta váhy, slabost, ascites, hepatosplenomegalie
- Neurologické příznaky: tremor, porucha svalového tonu, zpomalení, porucha koordinace.
- Psych.: agresivita (apatie), suicidní sklony

Hereditární aceruloplasmie

- **Autosomálně recesivně dědičná porucha metabolismu železa. V cirkulaci chybí Cpl.**
- **Manifestace:**
 - diabetes: Fe 2+ se akumuluje v pankreatu – *(zvláště v Langerhansových ostrůvcích - zanikají b buňky)*
 - degenerace sítnice
 - neurologické symptomy: Fe 2+ se akumuluje v mikroglíích
- **Aceruloplasmie je onemocnění s fatálním průběhem.**

Hemopexin, Hpx

- **Mr= 57 kDa**
- **Biologický poločas: 1,8 – 2,5 dnů**

Hemopexin

Funkce

- **Váže hem a transportuje jej do jater.**
- **Volný hem proniká do lipidových membrán a účastní se**
- **Fentonioho reakce tvorby hydroxylových radikálů.**
- **Hem je katalyzátorem tvorby peroxidu vodíku, oxiduje**
- **nízkodenzní lipoproteiny a aktivuje neutrofilní leukocyty**

Negativní proteiny akutní fáze

Albumin, Alb

- **Mr = 67 kDa**
- **Biologický poločas: 19 – 20 dnů**

Albumin

Funkce:

- **Multifunkční transportní protein.**
Váže velké množství endogenních a exogenních sloučenin reverzibilní vazbou
Farmaka, metabolity, produkty katabolismu, toxíny, vitamíny, kationty - Mg, Ca, bilirubin.
- **Udržování onkotického tlaku**
- **Snížení:**
 - **Akutní zánět – kvalitativní změny v jaterní proteosyntéze**
 - **Chronický zánět – snížení proteosyntézy (*malnutrice, hepatopatie*)**
 - **Zvýšené ztráty (*nefrotický syndrom, enteropatie, popáleniny*)**
 - **Arteficiální snížení (*diluce při infuzní léčbě*)**
- **Zvýšení:**
 - **Při hemokoncentraci (*nemá klinický význam*)**

Albumin



Nízká hladina albuminu koreluje s vysokou morbiditou a mortalitou hospitalizovaných pacientů.

- **Nízká hladina odráží:**
 - Katabolický stav
 - Ztráty albuminu
 - Redistribuci v organismu
 - Perfuzní změny při poklesu onkotického tlaku
- **Alb se podílí na nárazníkových systémech ABR.**
Alb = \uparrow HCO₃ - \Rightarrow vývoj metabolické alkalózy.

Hypoalbuminémie je spojena s delším hojením rány.

Cancer index: Oroso / prea

- Je-li index větší než 10, signalizuje to chronický zánět nebo nádor.
- PINI index
(protein - inflammation – nutrition – index)
$$\text{PINI} = \frac{\text{S-CRP} \times \text{S - oroso}}{\text{S - Alb} \times \text{S - prea}}$$

(CRP, oroso, prea v mg/l, Alb v g/l)
- Hodnota indexu:
 - Pod 1 zdraví jedinci
 - Do 10 lehký stupeň akutní zátěže
 - 11- 20 středně těžký stupeň
 - Nad 20 velmi těžká zátěž
 - Nad 30 letální průběh onemocnění

Proteiny akutní fáze

- Vždy vyšetřovat skupinu reaktantů
- Hodnotit jejich vzájemné vztahy
- Sledovat trend

Pozor

- Těžká distrofie jaterního parenchymu
- Kompenzatorní syntéza proteinů
- Ztráty do moči či zažívacího traktu

Adaptační reakce

- Rychlá mobilizace procesu
- Ve vývoji opakovaně úspěšně používaný
- Postupně geneticky zakotvený
- Vybavitelný ve všech situacích jako prefabrikát

(prof. Charvát)

Kniha:
Pavel Maruna
Proteiny akutní fáze

**nakladatelství
Maxdorf,
2004**

