



RAF

reaktanty akutní fáze

© Biochemický ústav LF MU (V.P.) 2008

Poškození organismu :

1/ **místní reakce** - akutní zánět

2/ **celková reakce** - syntéza reaktantů akutní fáze



- sekreční proteiny jaterních bb.
- tvorba a uvolňování do cirkulace řízeny prozánětlivými cytokiny



(cytokiny jsou připomenuty
na konci RAF souboru)

RAF = reaktanty akutní fáze

acute phase reactants / proteins<sup>+) → „APP“
bílkoviny akutní fáze</sup>



- sekreční proteiny jaterních bb.
- posttranslačně upraveny → glykoproteiny
(výjimka: prealbumin, albumin a CRP)

^{+) [ə'kju:t feiz ri'aektənts / 'pru:ti:ns]}

A1AG = α_1 -kyselý glykoprotein = orosomukoid

A1AT = α_1 -antitrypsin = α_1 -proteinasový inhibitor (**A1PI**)

A1AC = α_1 -antichymotrypsin

FBG = fibrinogen

HPG = haptoglobin

CPL = ceruloplasmin

C3 , C4 - složky komplementu

CRP = C-reaktivní protein

APP – časová závislost :

1/ časné změny (do 6 – 12 h):

CRP, A1AC

2/ střední (odpověď za 1 – 2 d):

HPG, A1AG, A1AT, C4, FBG

3/ pozdní (změny za 3 - 5 d):

CPL, C3

APP - dle změn koncentrace v krvi :

- **pozitivní**

1/ **velmi silné**, „nápadné“ - zvýšeny 20 – 100krát:
CRP

2/ **silné** – obvykle zvýšeny 2 – 5krát:
A1AG, FBG, HPG, A1AC,
A1PI = A1AT

3/ **slabé** – obvykle zvýšeny o 20 – 60 %:
CPL, C3, A2AP (α_2 -antiplasmin)⁺)

- **neutrální** - ani pravidelné, ani bezprostřední změny
A2M (α_2 -makroglobulin),
HPX (hemopexin), všechny Ig

- **negativní** - obvykle sníženy o 30 – 60 %
albumin, transferin, prealbumin, ...

⁺) plasmin = fibrinolysin, jeho proenzym je plasminogen v β -frakci bílkovin plasmy

APP1 (proteiny akutní fáze – 1. skupina) :

- syntéza stimulována $\text{TNF}\alpha$, IL-1 a IL-6
(nezávisle, aditivně nebo synergicky)
- jsou indukovány během několika hodin po zánětlivém stimulu
- patří sem: C-reaktivní protein (CRP)
orosomukoid = α_1 -kyselý glykoprotein (A1AG)
C3 složka komplementu
haptoglobin (HPG)
hemopexin (HPX) a j.

APP2 (proteiny akutní fáze – 2. skupina) :



APP 2 výrazněji zvýšeny:

chronické záněty

některé virózy

některé hematologické malignity

APP2 (proteiny akutní fáze – 2. skupina) :

- syntéza stimulována IL-6 a glukokortikoidy
(→ APP2 někdy označovány „IL-6 specifické APP“)
- TNF α a IL-1 zde nestimulují nebo dokonce inhibují syntézu !!
- exprese genů APP2 je obvykle zpočátku inhibována prostřednictvím TNF α a IL-1 → APP2 mají většinou pozvolnější dynamiku než APP1
- patří sem: fibrinogen (FBG)
 α_2 -makroglobulin (A2MG)
ceruloplasmin (CPL)
serpiny⁺) α_1 -antitrypsin (A1AT)
= α_1 -proteinasový inhibitor (A1PI)
 α_1 -antichymotrypsin (A1ACT)
inhibitor proteinu C

⁺) serpin = zkratka: **SER**ine **P**rotease **I**nhibitor - inhibitor proteinasy, která má serin ve svém aktivním centru. Asi 20 % proteinů krevní plasmy má povahu serpinů. 10

Znalost anamnézy

– předpoklad hodnocení některých APP :

	TRF
zánět / trauma	sn
androgeny	ZV
estrogeny ⁺)	ZV

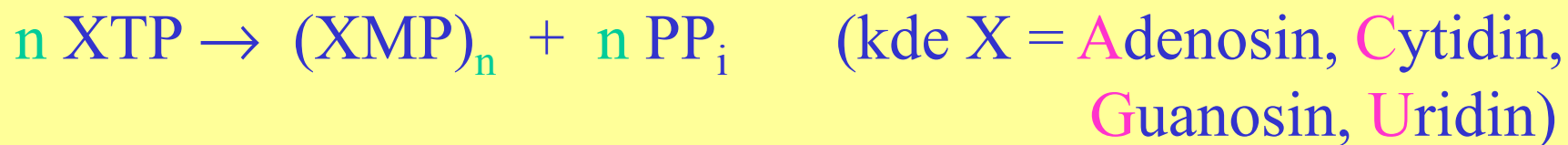
← negativní APP

⁺) p.o. antikoncepce, těhotenství

Syntéza APP (1) :

- vlastní podnět = nástup infekce a/nebo tkáňové poškození
- signál pro hepatocyt zprostředkován cytokiny
- hl. IL-6, IL-1 (interleukiny) a TNF α
- různé cytokiny indukují syntézu odlišných APP
- vlastní indukce syntézy = aktivace odpovídající RNA-nukleotidyl.transferasy (= RNA polymerasy)

RNA-nukleotidyl.trasferasa syntezuje mRNA podle DNA-templátu:



Syntéza APP (2) :

APP jsou **glykoproteiny** - glykosylace = posttranslační úprava, probíhající v endoplasmatickém retikulu a v Golgiho aparátu

Glykosylovány nejsou: CRP a z „negativních reaktantů“ prealbumin a albumin. Tyto jsou pouze z aminokyselin.

Odlišuj:

glykosylace = enzymová reakce uskutečněná glykosyl.transferasami

glykace = neenzymová reakce mezi aminoskupinou bílkoviny a aldehydovou skupinou glukosy
– viz např. glykované proteiny u diabetu (glykovaný Hb, ...)

Změny koncentrací APP :

- APP = bílkoviny, které po stimulu zvyšují („pozitivní APP“) nebo snižují („negativní APP“) svoji koncentraci alespoň o 25 %
- s výjimkou HPG (haptoglobin) všechny APP vykazují roční rytmus svých koncentrací
- nejnižší koncentrace jsou dosaženy v zimě (listopad až únor)
 - avšak TRF (transferin, negativní APP) je fázován opačně

Úloha APP v organismu (1) :

- základ většiny funkcí APP v organismu
= vytvoření komplexu „APP-ligand“
(s ligandy nejrůznějšího původu).
- komplexy jsou odstraňovány RES nebo hepatocyty
- takto se likvidují uvolněné proteiny, toxické molekuly (Hb, superoxidový anion), nukleové kys., (viz dále)
- syntéza „pozitivních APP“ je doprovázena poklesem „negativních APP“ mj. albuminu → snížení vazebných míst pro ligandy (mastné kys., hormony, vitaminy, stopové prvky, ...) → vazba těchto ligandů na „pozitivní APP“

Úloha APP v organismu (2) :

1/ regulátory zánětlivého procesu

- zánět je také hojivý proces → tvorba granulační tkáně
- nahromadění zánětlivých proteinů → lokální venózní vazodilatace

2/ mediátory biologických reakcí

např. CRP aktivuje komplementový systém → lýza buněk

3/ inhibitory enzymů

- z fagocytů uvolňované proteolytické enzymy → poškozování okolních tkání zabráněno vazbou enzymů na (inhibitory) A1AT (α_1 -antitrypsin), A1AC (α_1 -antichymotrypsin) aj.

Úloha APP v organizmu (3) :

4/ odstraňování nežádoucích látek

- CRP opsonizuje⁺) fragmenty nukleových kyselin
- sérum amyloid A protein odstraňuje cholesterol z rozpadlých membrán
- haptoglobin (HPG) váže hemoglobin (Hb) uvolněný při intravazální hemolýze → rychlé vychytávání v RES → spolu s Hb odbourán (→ snížení plasmatické koncentrace HPG)

5/ imunomodulační účinek

- A1AG (α_1 -kyselý glykoprotein = orosomukoid) má v části molekuly homologní sekvenci aminokyselin s Ig membrány imunokompetentních buněk

⁺) **opsonin** = molekula, která působí jako zesilovač fagocytosy [ř. *opson* = zákusek].
opsonizace: antigeny jsou vázány protilátkou a/nebo molekulami komplementu. Fagocytující bb. mají receptory, vázající molekuly opsoninu. Mnohé vazby zde nejsou možné bez opsonizace antigenu.

Úloha APP v organizmu (4) :

6/ kontrola bílkovin pojiva

A1AT a A1AC tvoří depozity na nových vláknech elastinu

7/ hojení ran

- fibrinogen (FBG) spolu s dalšími koagulačními faktory zesiluje hojení ran

8/ vazba kovů

kovy vázající APP

- minimalizují ztráty železa z poškozených tkání
- snižují množství železa využitelného bakteriemi
- působí jako scavenger pro volné kyslíkové radikály

Hlavní APP u savců :

1/ SAA = sérový amyloid A

2/ CRP nebo (v závislosti na druhu)

SAP = komponenta sérového amyloidu P

- značný rozsah a rychlost jejich indukce
- krátké poločasy
- účast na samém začátku obranné reakce
- není znám živý organismus neschopný syntézy těchto APP
→ mají **pravděpodobně zcela zásadní klinický význam**

ale: je o nich známo poměrně méně než o ostatních APP !!

SAA :

- „sérový amyloid A“ - APP plasmy → může podmiňovat jednu z forem amyloidosy (AA-Amyloidosa)
- zvýšení SAA: středomořská horečka (recesivně dědičná)
 - chronické infekce
 - tuberkulosa
 - lepra
 - osteomyelitis
 - chronické neinfekční záněty
 - colitis ulcerosa
 - Crohnovo onemocnění
 - psoriasis
 - Bechtěreva choroba
 - kolagenosy
 - arthritis rheumatoides
 - tumory
 - morbus Hodgkin
 - karcinomy

SAA:

amyloidosa: „amylum + eidos“ = škrobu podobný (barvitelnost iodem, Rudolf Virchow 1854)

- vznik extracelulárních uložení bílkovin
- původně rozpustné bílkoviny krevní plasmy za nadprodukce se dostávají do okolních tkání
- tkáňové enzymy je přemění na nerozpustný komplex bílkoviny s dalšími látkami
mikroskopicky: drobná vlákna – „fibrily“
- fibrily jsou resistantní vůči fagocytose a proteolyse (= nelze je odstranit)
- fibrily z původního sérového amyloidu A (SAA)
→ AA-amyloidosa
(lokalizace hl. ledviny, slezina, játra a nadledviny)

CRP (1) :

- citlivý APP, nespecifický
- váže C polysacharid pneumokoka → název (1930)
- $M_r \approx 140.000$ (srovnání : albumin $M_r = 66.290$)
- patří mezi „pentraxiny“ → prstencový disk z 5 identických podjednotek, není glykosylován !!
- β -frakce bílkovin plasmy
- $t_{1/2} = 2 - 4$ h
- **normální hodnoty** $< 10 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$
- **ovlivnění:** těhotenství, estrogeny (zv.)
tělesná zátěž, kouření, obezita (→ zv.)
dieta, poloha při odběru
věk, nadmořská výška
statiny (atorvastatin, ...) → sn.
- mCRP je monomerním – zkoumá se jeho vztah k oxidaci LDL a aktivaci komplementu

CRP (2) :

hsCRP = „high sensitivity“,
ultrasenzitivní CRP

- **normální hodnoty:** novorozenec 0 d < 0,6 mg . l⁻¹
1 d < 3,2
týden < 1,6
od 15 let < 5 mg . l⁻¹
- velmi nízké hodnoty po narození → CRP neprochází placentou,
není ovlivnění z krve matky
- u nedonošených dětí nižší hodnoty

CRP (3) :

diagnostika :

- CRP a Hcy = nezávislé markery kardiovaskulárního rizika
- hsCRP jako marker zánětu: zv. u akutního koronárního syndromu, ale nikoliv u stabilní ischemické choroby
- zv. hsCRP spojeno se zv. LDLchol + zv. BMI
- zv. CRP spojeno se sn. paraoxonasa 1
(= PON1 - enzym na HDL s protizánětlivým účinkem
→ index CRP / PON1
= ukazatel kardiovaskulárního rizika)

CRP (4) :

diagnostika :

zánět	bakteriální	virový
CRP	zv.	(n.)
mg . l ⁻¹	> 100	

úspěšná **terapie antibiotiky** se projevuje rychlým poklesem CRP, při neúspěšné léčbě zvýšení přetrvává

CRP = 50 - 100 mg . l⁻¹ představuje „přechodnou zónu“
pro možný výskyt bakteriální i
virové infekce

Používané symboly :

zv. = zvýšen

(zv.) = obvykle zvýšen

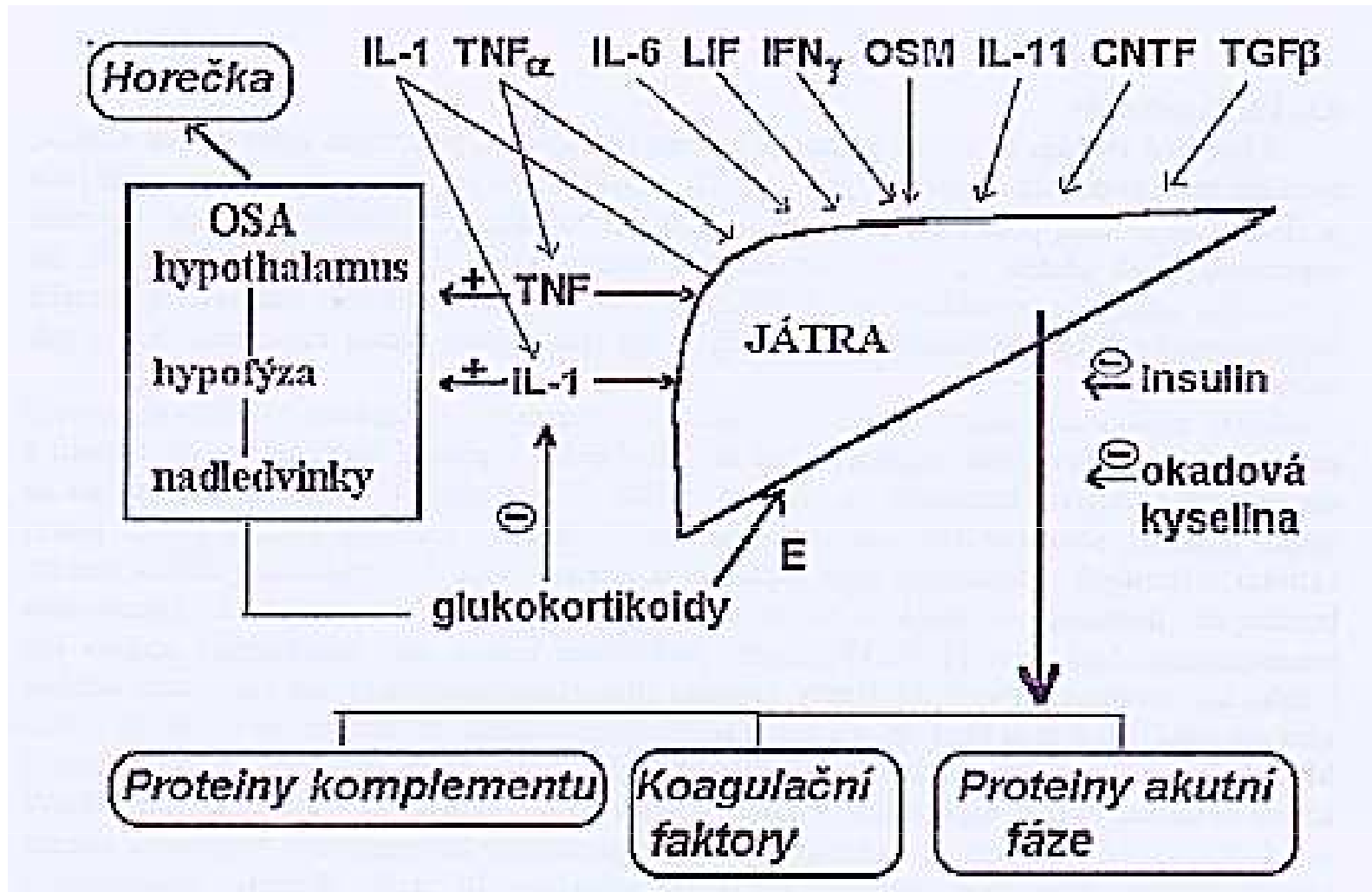
sn. = snížen

(sn.) = obvykle snížen

n. = normální hodnota

(n.) = obvykle normální hodnota

Mechanismus zánětlivé reakce :



Masopust J.: Požadování a hodnocení biochemických vyšetření, UK Praha 1996

(obr. ze str. 489 - scan 130 dpi, ostřeno, 85 % komprese → 18 kB JPEG)

Cytokiny :

- malé sekreční proteiny
- zprostředkovávají a regulují: imunitu,
zánět,
hematopoezu
- účinek je vázán na malou vzdálenost od místa vzniku,
krátký poločas,
velmi nízkou koncentraci
- vazba na specifické membránové receptory
signál přenášen do buňky cestou „druhého posla“,
- většinou tyrosinové kinasy
- odpověď: změna exprese membránových proteinů,
proliferace a sekrece efektorových molekul

Cytokiny :

„cytokiny“ = obecné pojmenování, zahrnuje:

- **lymfokiny** (cytokiny tvořené lymfocyty)
- **monokiny** (... z monocytů)
- **interleukiny** „IL“ (cytokiny tvořené jedním leukocytem a působící na ostatní leukocyty)

inter = mezi

leu = leukocyt

kin = cytokin „mezi leukocyty působící cytokin“

pro klasifikaci cytokinů mají význam především IL-1 a IL-6

- **interferony** (inhibují replikaci viru v napadené buňce)
- **chemokiny** („přitahují“ leukocyty k místům infekce - chemotaxe)

cytokiny jsou tvořeny různými populacemi buněk,
ale především helperickými T buňkami a makrofágy

Cytokiny :

- **pleotropní účinek**
(1 cytokin působí na více buněčných typů)
- **redundantní účinek („nadbytečnost“)**
(podobné funkce mohou být stimulovány různými cytokiny)
- **synergický / antagonický účinek**

receptory pro cytokiny – skupiny:

hematopoetinová
interferonová
tumor necrosis factor
chemokinová

