



# RAF

reaktanty akutní fáze

© Biochemický ústav LF MU (V.P.) 2012

# 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>+</sup>) → „APP“  
bílkoviny akutní fáze



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

<sup>+</sup>) [ə'kju:t feiz ri'aektənts / 'pruuti:ns]

**A1AG** =  $\alpha_1$ -kyselý glykoprotein = orosomukoid

**A1AT** =  $\alpha_1$ -antitrypsin =  $\alpha_1$ -proteinasový inhibitor (**A1PI**)

**A1AC** =  $\alpha_1$ -antichymotrypsin

**FBG** = fibrinogen

**HPG** = haptoglobin

**CPL** = ceruloplasmin

**C3 , C4** - složky komplementu

**CRP** = C-reaktivní protein

	ALB	ALAG	ALAT (A/Pi)	CPL	HPG	TRF	C3	C4	CRP	(FW)	poznámka
zánět neb trauma	sn	zv	zv	zv	zv	sn	zv	zv	zv	zv	
androgeny	n	zv	zv	zv	zv	zv	zv	zv	n	zv	
estrogeny (těhotenství, p.o. antikoncepce...)	(sn)	(sn)	zv	zv	sn	zv	n	n	n	(zv)	
glukokortikoidy (prednison..)	n	zv	n	zv	zv	n	(zv)	(zv)		(zv)	
chron. jaterní onemocnění	sn	(sn)	zv	n	sn	sn	n	(sn)	n	zv	
biliární obstrukce					zv		zv				
konzumpce komplementu - klasická cesta							sn	sn			
- alternativní cesta							(sn)	n			
malnutrice	sn	(sn)	(sn)	(sn)	(sn)	sn	(sn)	(sn)	n	sn	pozn.č. 1
deficit železa	n	n	n	n	n	zv	n	n	n	n	
hemolýza in vivo	n	n	n	n	sn	n	n	n	n	v	pozn.č. 2
nefrotický syndrom	sn	sn	sn	(sn)	v	sn	n	sn	n	zv	
zvýšení Ig (poly- neb monoklonální)	sn	n	n	n	n	sn	n	n	n	n	pozn.č. 3

Zkratky:    **zv** = obvykle zvýšen                      **sn** = obvykle sniženo                      **n** = obvykle normální                      **FW** = sedimentace erytrocytů  
                  **(zv)** = může být zvýšen                      **(sn)** = může být sniženo                      **v** = variabilní

Poznámky:    1/ v konečných stádiích jaterního onemocnění nebo při těžké malnutrici mohou být sniženy hladiny všech bílkovin  
                  2/ komplement může být vyčerpán u autoimunní hemolytické anémie, transfuzních reakcí a při paroxysmální noční hemoglobinurii  
                  3/ jsou předpokládány normální podmínky: bez odpovědi akutní fáze, nejsou přítomny jaterní a ledvinná onemocnění, hemolýza nebo konzumpce komplementu

# 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** – obyčejně zvýšeny o 20 – 60 %:

CPL, C3, A2AP ( $\alpha_2$ -antiplasmin)<sup>+</sup>)

- **neutrální** - ani pravidelné, ani bezprostřední změny

A2M ( $\alpha_2$ -makroglobulin),

HPX (hemopexin), všechny Ig

- **negativní** - obvykle sníženy o 30 – 60 %

albumin, transferin, prealbumin, ...

<sup>+</sup>) plasmin = fibrinolysin, jeho proenzym je plasminogen v  $\beta$ -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 =  $\alpha_1$ -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 $\alpha$  a IL-1 zde nestimulují nebo dokonce inhibují syntézu !!
- exprese genů APP2 je obvykle zpočátku inhibována prostřednictvím TNF $\alpha$  a IL-1 → APP2 mají většinou pozvolnější dynamiku než APP1
- patří sem: fibrinogen (FBG)  
 $\alpha_2$ -makroglobulin (A2MG)  
ceruloplasmin (CPL)  
serpiny<sup>+</sup>)  $\alpha_1$ -antitrypsin (A1AT)  
=  $\alpha_1$ -proteinasový inhibitor (A1PI)  
 $\alpha_1$ -antichymotrypsin (A1ACT)  
inhibitor proteinu C

<sup>+</sup>) serpin = zkratka: **SER**ine **P**rotease **I**Nhibitor - inhibitor proteiny, která má serin ve svém aktivním centru. Asi 20 % proteinů krevní plasmy má povahu serpinů. 11

# Znalost anamnézy

## – předpoklad hodnocení některých APP :

	TRF
zánět / trauma	sn
androgeny	ZV
estrogeny <sup>+</sup> )	ZV

← negativní APP

<sup>+</sup>) p.o. antikoncepce, těhotenství

sn = snížení  
zv = zvýšení

# Syntéza APP (1) :

- vlastní podnět = nástup infekce a/nebo tkáňové poškození
- signál pro hepatocyt zprostředkován cytokiny  
- hl. IL-6, IL-1 (interleukiny) a TNF $\alpha$
- 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 proteinasy, 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 ( $\alpha_1$ -antitrypsin), A1AC ( $\alpha_1$ -antichymotrypsin) aj.

# Úloha APP v organismu (3) :

## 4/ odstraňování nežádoucích látek

- CRP opsonizuje<sup>+</sup>) 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 ( $\alpha_1$ -kyselý glykoprotein = orosomukoid) má v části molekuly homologní sekvenci aminokyselin s Ig membrány imunokompetentních buněk

<sup>+</sup>) **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 antigenů.

# Úloha APP v organismu (4) :

## 6/ kontrola bílkovin pojiva

A1AT a A1AC tvoří depozity na nových vláknech elastinu (= ochrana fibril před působením proteolytických enzymů)

## 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:
  - 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)

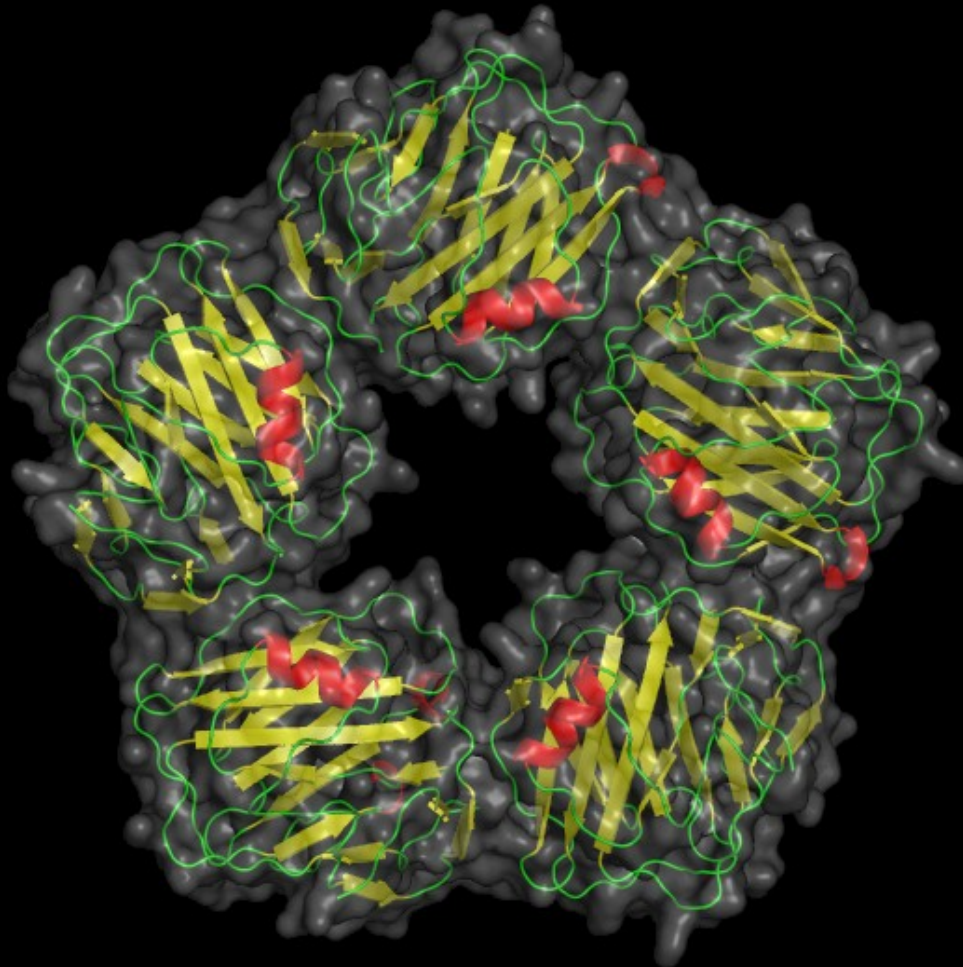
- vznik extracelulárních uložení bílkovin
- původně rozpustné bílkoviny krevní plasmy za nadprodukce se dostávají do okolních tkání
- tkáňové enzymy je přeměněny na nerozpustný komplex bílkoviny s dalšími látkami  
mikroskopicky: drobná vlákna – „fibrily“
- fibrily jsou resistantní vůči fagocytose a 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 ze *Streptococcus pneumoniae*  
→ název (1930)
- $M_r \approx 140.000$  (srovnání : albumin  $M_r = 66.290$ )
- patří mezi „pentraxiny“ → prstencový disk z 5 identických podjednotek, není glykosylován !!
- $\beta$ -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 monomerem – zkoumá se jeho vztah k oxidaci LDL a aktivaci komplementu

# Pentraxiny :

„krátké“ pentraxiny zahrnují komponentu sérového amyloidu P (SAP)  
a C reaktivní protein (CRP)



název:

„penta“ = pět,  
„ragos“ = bobule,  
„axis“ = osa  
(symetrie)

struktura:

5 monomerů



## CRP (2) :

hsCRP = „high sensitivity“,  
ultrasenzitivní CRP

- **normální hodnoty:** novorozenec 0 d < 0,6 mg . l<sup>-1</sup>  
1 d < 3,2  
týden < 1,6  
od 15 let < 5 mg . l<sup>-1</sup>
- velmi nízké hodnoty po narození → CRP neprochází placentou,  
není ovlivněn 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 :

infekce	bakteriální	virová
CRP	zv.	(n.)
mg . l <sup>-1</sup>	> 100	

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

CRP = 50 - 100 mg . l<sup>-1</sup> 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

# 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  
nebo: různé typy buněk secernují stejný cytokin)
- **redundantní účinek** („nadbytečnost“)  
(podobné funkce mohou být stimulovány různými cytokiny)
- **synergický / antagonistický účinek**

## receptory pro cytokiny – skupiny:

hematopoetinová

interferonová

tumor necrosis factor

chemokinová

