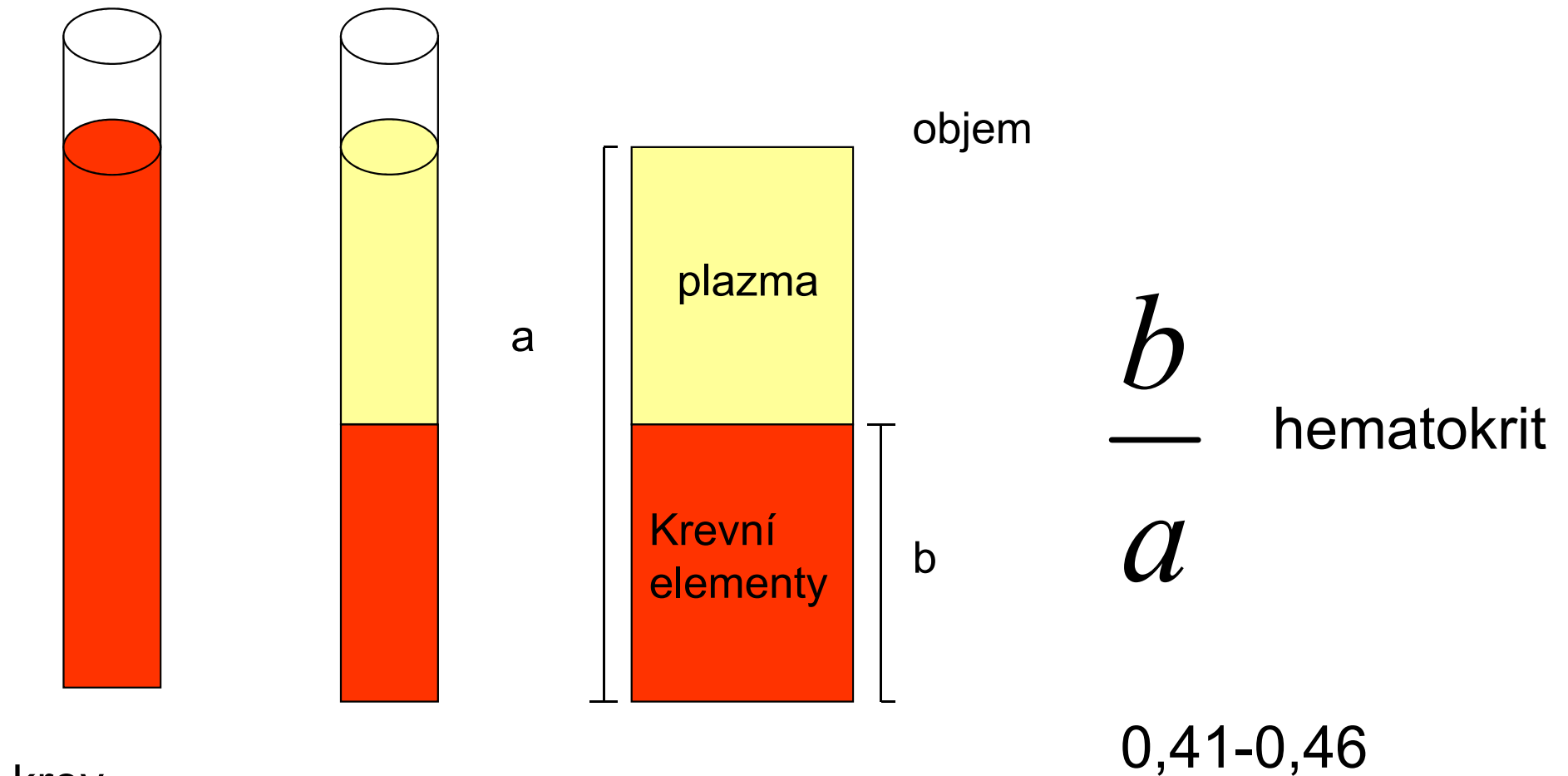


# Nejvýznamnější proteiny krevní plazmy.

© Biochemický ústav LF MU 2014  
(E.T.)

# Plazma a krevní elementy



# Plazma x Serum

Obsahuje fibrinogen a další faktory krevního srážení

Získá se odstředěním po přidání antikoagulantů

Neobsahuje fibrinogen a koagulační faktory

Získá se po odstředění sražené krve

Obsahuje produkty rozpadu trombocytů

(vyšší hladina CP, K<sup>+</sup>)

# Proteiny krevní plazmy

Koncentrace proteinů v plazmě: 62-82 g /l

## Funkce proteinů v plazmě

- Enzymy
- Enzymové inhibitory
- Transportní proteiny
- Obranné
- Faktory srážení a fibrinolýzy
- Udržování onkotického tlaku

## Strukturní typy proteinů

- Jednoduché polypeptidy
- Glykoproteiny
- Lipoproteiny  
(komplexní)

# Proteiny krevní plazmy

# Nejvýznamější proteiny krevní plazmy

## Transportní:

Albumin, transferin, ceruloplasmin, haptoglobin, hemopexin, prealbumin, RBG (retinol binding globulin), TBG (thyroid binding globulin), transkortin, SHBG (sex hormone binding globulin) transcobalaminy

Koagulační faktory

## Obranné funkce:

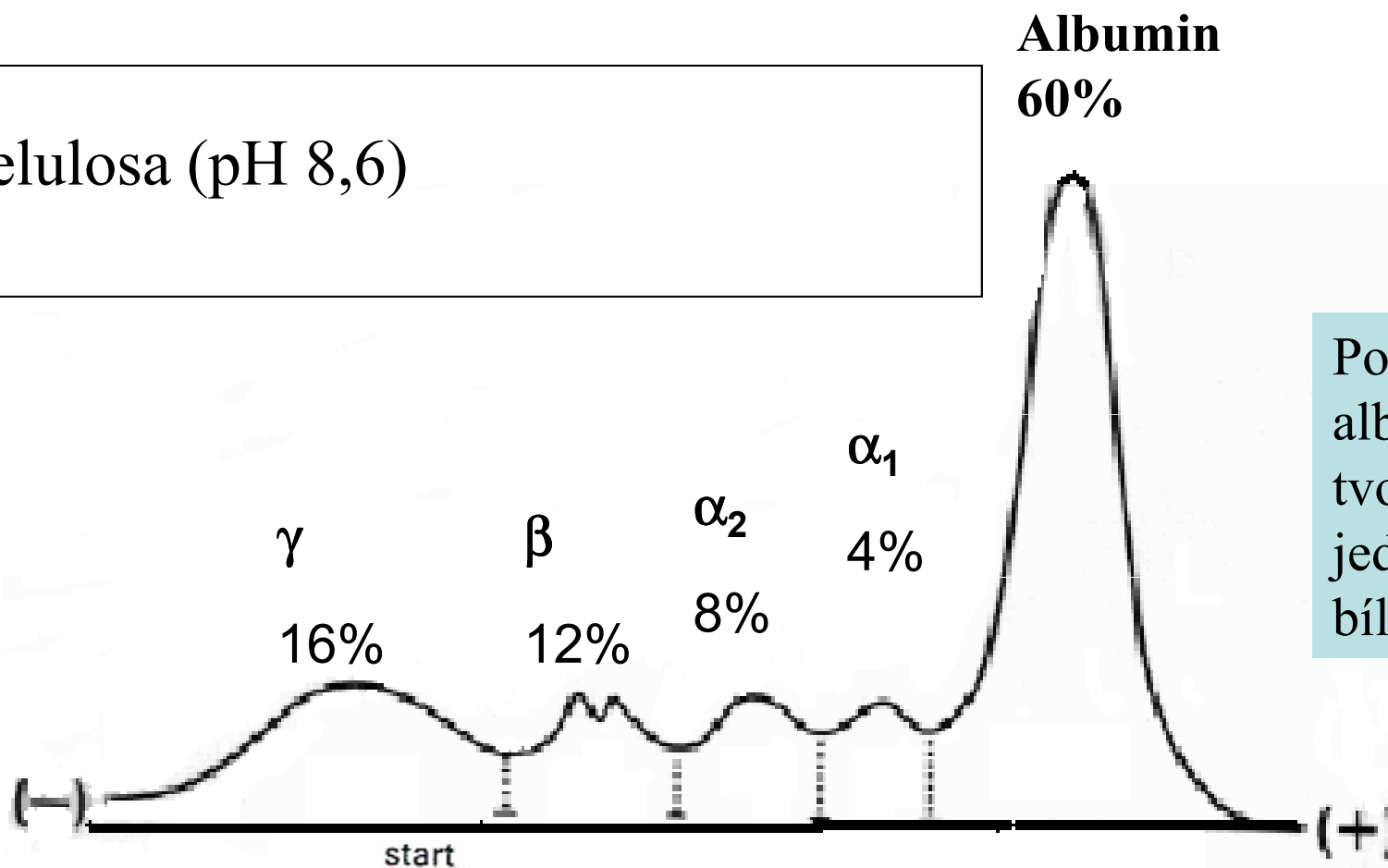
Imunoglobuliny, proteiny komplementu, CRP (C-reaktivní protein)

## Proteiny spojené se zánětem:

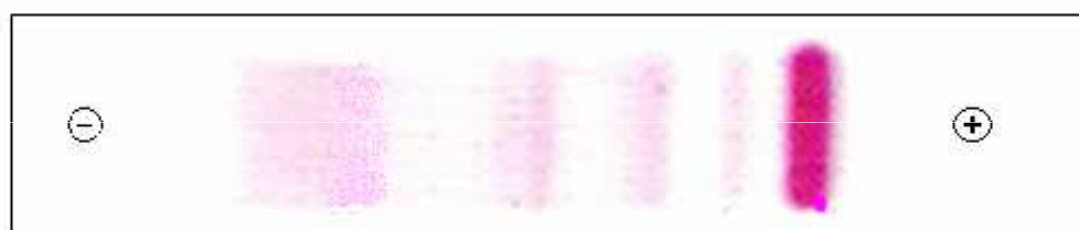
CRP, C3, C4, C1 INA, alfa 1-antitrypsin, alpha 1-antichymotrypsin, alfa 1-kyselý glykoprotein, haptoglobin, ceruloplasmin, fibrinogen ad.

# Elektroforéza plazmatických bílkovin

Acetylcelulosa (pH 8,6)



Pouze frakce albuminu je tvořena jedinou bílkovinou



globuliny  $\gamma$      $\beta_2\beta_1$      $\alpha_2$      $\alpha_1$     albumin

## Příklady zastoupení bílkovin v elektroforetických frakcích

Frakce	Bílkoviny
albumin	Prealbumin (transthyretin), albumin
$\alpha_1$ -globuliny	$\alpha_1$ -kys.glykoprotein, $\alpha_1$ -antitrypsin, HDL, $\alpha_1$ -fetoprotein, $\alpha_1$ -mikroglobulin
$\alpha_2$ -globuliny	Ceruloplasmin, haptoglobin, ferritin, $\alpha_2$ -makroglobulin
$\beta$ -globuliny	Hemopexin, transferin, fibrinogen, LDL, složky C <sub>3</sub> a C <sub>4</sub> komplementu, C-reaktivní protein
$\gamma$ -globuliny	IgM, IgA, IgE, IgD, IgG



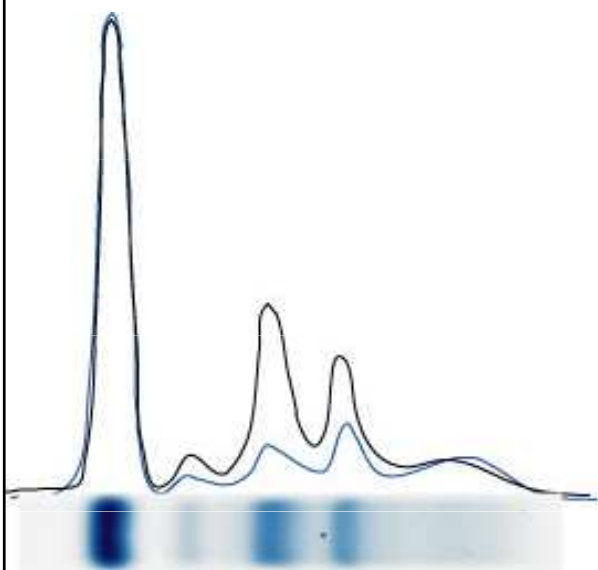
# Příklady typických elektroforeogramů

## Typ akutního zánětu

Celková bílkovina je normální, lehké snížení albuminu.

Nejvýraznější je vzestup  $\alpha_1$   $\alpha_2$  globulinů, často i  $\beta_2$ -globulinů.

Modře je vyznačen standardní elektroforeogram

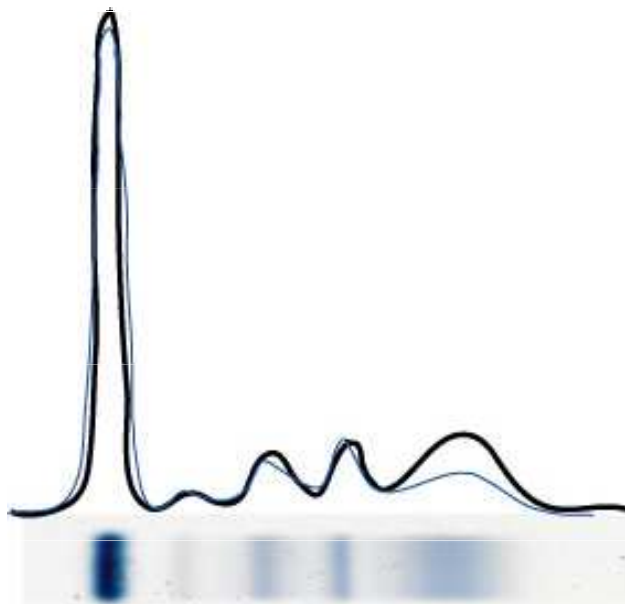


## Typ chronického zánětu

Vzestup  $\alpha_1$   $\alpha_2$  globulinové frakce (méně výrazný než u akutního zánětu)

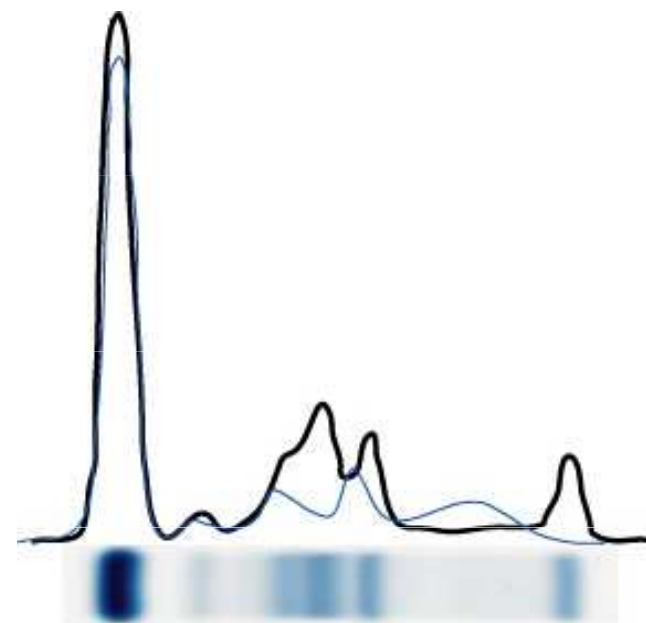
Široký pruh  $\gamma$ -globulinové frakce (polyklonální hyperimmunoglobulinemie)

Nález je provázen poklesem koncentrace albuminu.



## Monoklonální hyperimmunoglobulinemie.

Úzký proužek monoklonálního imunoglobulinu kdekoli od  $\alpha_1$  po  $\gamma$  frakci. Bývá nižší koncentrace albuminu. U těžších stavů vymizí frakce  $\gamma$ -globulinů.



# Albumin

- syntéza: játra 10-12g/den
- hlavní protein plazmy 35-53 g /l (sérum)
- mol.hmotnost  $\approx$  69 000 585 AK
- degradace patrně nejvíce v endotelu kapilár, kostní dřeni a hepatocytech
- biologický poločas 20 dní

# Význam albuminu

- Transportní funkce:
  - Mastné kyseliny
  - $\text{Ca}^{2+}$
  - $\text{Cu}^{2+}$
  - Steroidní hormony
  - Bilirubin
  - $\text{T}_4$ ,  $\text{T}_3$
  - Léky (salicyláty, sulfonamidy, penicilin, barbituráty  
.....)
- Udržování onkotického tlaku
- Pufrační schopnost

# Hypoalbuminemie

- příčiny:
  - poruchy jater
  - malnutrice
  - ztráty ledvinami, popáleniny, chronické záněty tr.traktu
  - hyperhydratace
- důsledek: ascites a edémy

# Prealbumin (transthyretin, thyroxin vázající prealbumin)

- Syntéza v játrech
- Koncentrace v séru: 0,1-0,4 g/l
- **Biologický poločas 2 dny**
- Váže v plazmě thyroxin, vytváří komplex s bílkovinou transportující vitamin A
- Snížená hodnota může být markerem malnutrice

# Haptoglobin

- Syntéza v játrech
- Koncentrace v séru: 1-3 g /l ( $\alpha_2$ -globulin)
- Biologický poločas: 5 dní
- Polymorfnní formy Hp1-1, Hp 2-1, Hp 2-2
- Mol. hmotnost (Hp 1-1)  $\approx$  90 000
- Funkce: vychytávání plazmatického Hb, komplex Hb-Hp je vychytáván RES (poločas 90 min)
- Význam: zabraňuje průniku volného Hb ledvinami
- Snížené hladiny při hemolytických anemiích

# Hemopexin

- $\beta_1$ -glykoprotein
- Syntéza v játrech
- Mol. hmotnost  $\approx 70\ 000$
- Význam: váže volný hem a prostřednictvím receptorově zprostředkované endocytosy je vychytáván játry, recykluje zpět do krve

# Proteiny transportující kovové ionty v plazmě

## Transport a ukládání železa

- Transferin
- Ferritin
- Hemosiderin

## Transport a ukládání mědi

Ceruloplasmin  
Albumin



# Transferin

- syntéza: játra
- koncentrace: 2-3,6 g/l (sérum)
- ↑ u sideropenické anemie, ↓ chronické anemie jiného typu
- $\beta_1$ - glykoprotein
- Význam: transport  $\text{Fe}^{3+}$  do tkání  $2\text{Fe}^{3+}/\text{Tf}$
- Normálně  $\approx 1/9$  Tf je saturována,  $4/9$  má obsazeno 1 vazebné místo,  $4/9$  jsou volné (1/3 celkového transferinu je nasycena)

U alkoholiků – bezsacharidový transferin (carbohydrate-deficient transferin CDT)

# Ferritin

- syntéza: játra, slezina, kostní dřeň ....
- apoferritin mol.hmotnost  $\approx 81\ 000$  (24 podjednotek)
- Až 20 typů isoferritinů
- vazebná kapacita –  $4500\ \text{Fe}^{3+}/\text{apofe}$
- Význam: hlavní forma ukládání železa v buňkách (játra, slezina, střevo, k.dřeň....)
- Do krve se uvolňuje jen malé množství, koncentrace v séru odráží zásobu Fe

# Ceruloplasmin

- Syntéza : játra
- $\alpha_2$ -globulin
- Mol.hmotnost  $\approx 160\ 000$ , váže 6  $\text{Cu}^{2+}$
- Koncentrace v séru  $\approx 0,3-0,6\ \text{g /l}$  (modré zbarvení)
- Transportuje 95%  $\text{Cu}^{2+}$  přítomné v krvi, zbylých 5% je transportováno albuminem.
- Poněvadž vazba Cu k albuminu je slabší, zdá se, že za transport  $\text{Cu}^{2+}$  do tkání zodpovídá především albumin
- Ceruloplasmin patří k reaktantům akutní fáze

## Význam ceruloplasminu

- Je nezbytný pro oxidaci  $\text{Fe}^{2+}$  na  $\text{Fe}^{3+}$  v krvi (v plazmě rozpustná ferooxidáza) – je potřebný pro redistribuci Fe mezi játry a dalšími orgány
- Ceruloplasminový analog **hepestin** působí obdobně v enterocytech, oxiduje  $\text{Fe}^{2+}$  na  $\text{Fe}^{3+}$
- Nízká hladina při Wilsonově chorobě
- Enzymy vyžadující  $\text{Cu}^{2+}$ : cytochrom C oxidasa, superoxid dismutasa, lysyl oxidasa, tyrosinasa, oxidasa kys. askorbové, dopamine beta hydroxylasa

# Metabolismus Cu

- V potravě cca 4-6 mg Cu denně, cca 40% je resorbováno a přibližně stejné množství se vrací žlučí zpět do střeva
- $\text{Cu}^{2+}$  je rychle resorbováno v žaludku a tenkém střevě a dostává se do portální žíly, vazba na albumin
- Vychytání játry (mechanismus neznámý)
- Játra jsou centrálním orgánem homeostázy Cu: Cu se zde ukládá, dostává se do krve ve formě ceruloplasminu a je vylučována do žluče
- **Wilsonova choroba** – nefunkční P-ATPasa, která transportuje Cu do žluči  $\Rightarrow$  akumulace Cu v játrech a dalších tkáních (poškození jater), neurologické symptomy (akumulace Cu v bazálních gangliích)
- důsledkem je **nízká hladina ceruloplasminu** v plazmě (Cu se neváže do apoceruloplasminu), koncentrace  $\text{Cu}^{2+}$  v séru a moči je zvýšená
- **Menkesova choroba** – nefunkční Cu- P-ATPasa v v enterocytech a dalších buňkách ( ne v játrech)  $\Rightarrow$  porušená resorbce Cu ze střeva, deficit Cu v séru, akumulace v buňkách

# $\alpha_1$ - antiproteinasa ( $\alpha_1$ -proteinasový inhibitor API, $\alpha_1$ -antitrypsin AT )

- syntéza: játra, makrofágy
- koncentrace: 1,3-3,7 g/l (serum)
- mol.hmotnost  $\approx$  52 000,  $\alpha_1$ - glykoprotein
- Význam: inhibuje trypsin, elastasu a další proteasy vylučované polymorfonukleárními leukocyty (PMN), tvoří s nimi komplexy
- Vyskytuje se v polymorfních formách
- Zvýšená koncentrace při zánětech

# $\alpha_2$ -makroglobulin

- syntéza: hepatocyty, monocyty, astrocyty ad.
- koncentrace: g/l (serum)      8-10% proteinů plazmy
- mol.hmotnost  $\approx$  820 000,       $\alpha_2$ - frakce
- Význam: váže trypsin, elastasu a další proteasy
- Transportuje Zn (10% celkového Zn)

Komplex proteinasa-  $\alpha_2$  makroglobulin je vychytáván receptory na mnoha buňkách a internalizován

- Váže rovněž cytokiny a přenáší je pomocí receptorové endocytosy do buněk
- v plazmě se zvyšuje při nefrotickém syndromu

# Proteiny akutní fáze

- Hladina některých proteinů v plasmě vzrůstá během zánětu (nebo u některých tumorů). Je indukována cytokiny (interleukiny, THF...), které vstupují do krevního oběhu z makrofágů, epitelových buněk, fibrocytů
- „Proteiny akutní fáze“ (produkovány játry):  
C-reaktivní protein,  $\alpha_1$ - antiproteinasa, haptoglobin,  $\alpha_1$ - kyselý glykoprotein, fibrinogen, ferritin, ceruloplasmin, C3 a C4 komponenty.....ad.
- Koncentrace se může zvýšit až 1000x, (typický vzhled elektroforeogramu)



# C-reaktivní protein

Syntéza v játrech je stimulována cytokiny

Část molekuly je homologní s konstantní částí těžkého řetězce Ig

Koncentrace u zdravého člověka nízká, stoupá 6-9 hod po začátku zánětu, vrchol po 1-3 dnech

Nárůst nastává zejména při bakteriální infekci, u virových je nárůst malý

Marker bakteriální infekce

• mol.hmotnost  $\approx$  100-115 000,  $\beta$ -frakce

# Negativní reaktanty akutní fáze

Jejich syntéza je snížena v katabolickém stavu:

Transthyretin (prealbumin)	Doba odezvy	< 24 h
Transferrin		24 – 48 h
Albumin		> 48 h

## Biologické poločasy plazmatických proteinů

	<u>dny</u>
Albumin	17 – <b>19</b> – 23
Immunoglobulin G	15 – <b>18</b> – 26
Transferrin	7 – <b>8.5</b> – 10
Immunoglobulin A	<b>5.5</b>
Kyselý $\alpha_1$ -glykoprotein	<b>5.2</b>
Fibrinogen	4 – <b>4.5</b> – 5.5
Haptoglobin	<b>4</b>
Immunoglobulin M	<b>4</b>
Transthyretin (prealbumin)	<b>2</b>

# Bílkoviny komplementu

- Komplex proteinů (cca 20) obsažených v neaktivní formě v plazmě,  $\beta$ -frakce
- Faktory nespecifické humorální imunity
- Aktivace několika cestami ( např. komplexem antigen-protilátka, reakce polysacharidů bakteriální stěny s C3b)
- Aktivované složky komplementu mají cytolytickou aktivitu, opsonizační schopnost, chemotaktické účinky ad.
- Nejčastěji se stanovují složky C3 a C4 (vzestup při akutní zátěži organismu)

# Imunoglobuliny

IgG	IgM	IgD	IgA	IgE
12 g/l	1,2 g/l	0,1 g/l	3g/l	<0,001g/l

Frakce gama-globulinů

Produkovány plasmocyty

V plazmě hlavní IgG