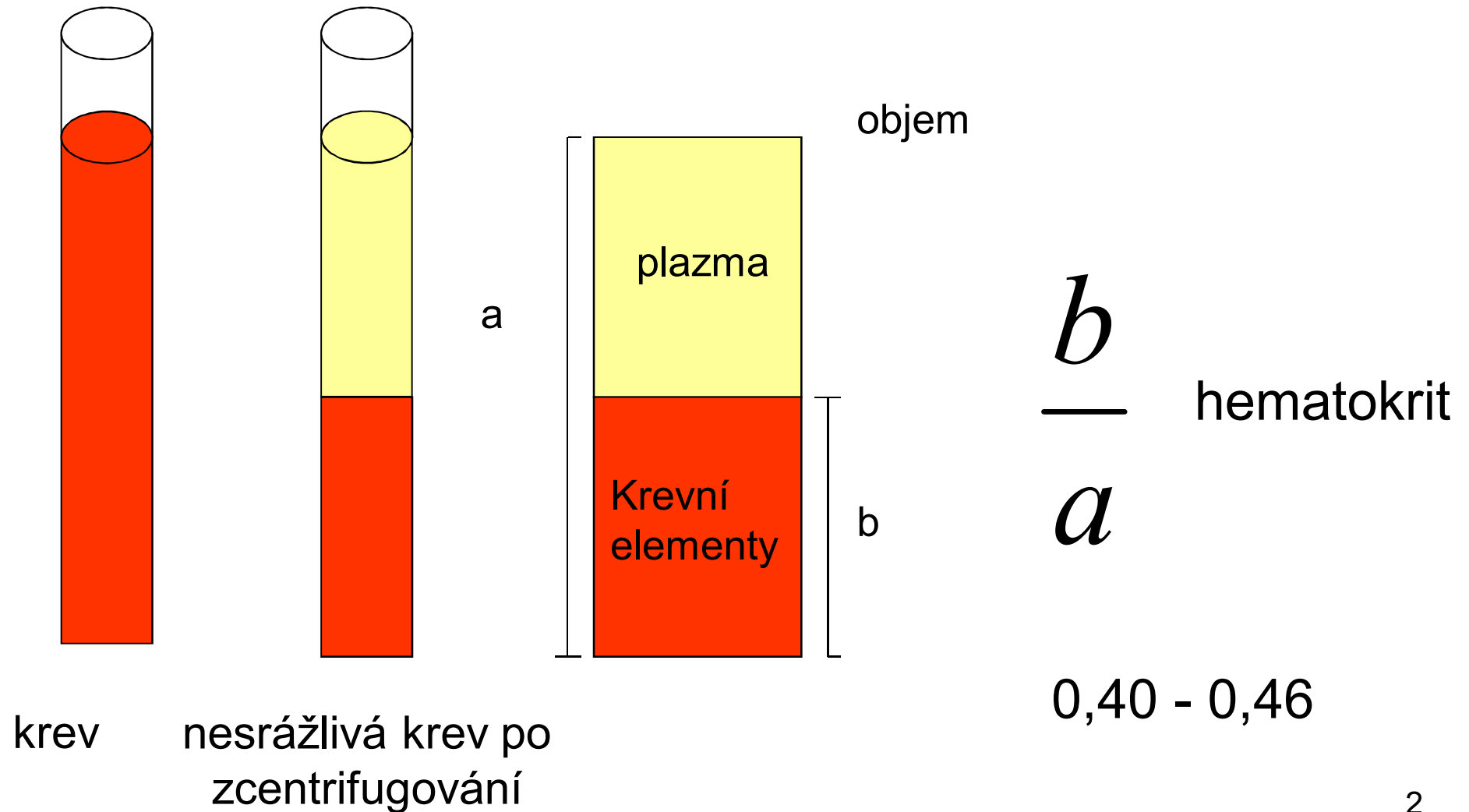


Nejvýznamnější proteiny krevní plazmy.

© Biochemický ústav LF MU 2018
(MK, ET)

Plazma a krevní elementy



Plazma x Sérum

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 K^+)

Proteiny krevní plazmy

Koncentrace proteinů v plazmě: 65 - 85 g /l

Funkce proteinů v plazmě

- Enzymy
- Enzymové inhibitory
- Transportní proteiny
- Obranné proteiny
- 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, RBP (retinol binding protein), TBG (thyroid binding globulin), transkortin, SHBG (sex hormone binding globulin), transkobalamin

Koagulační faktory

Obranné funkce:

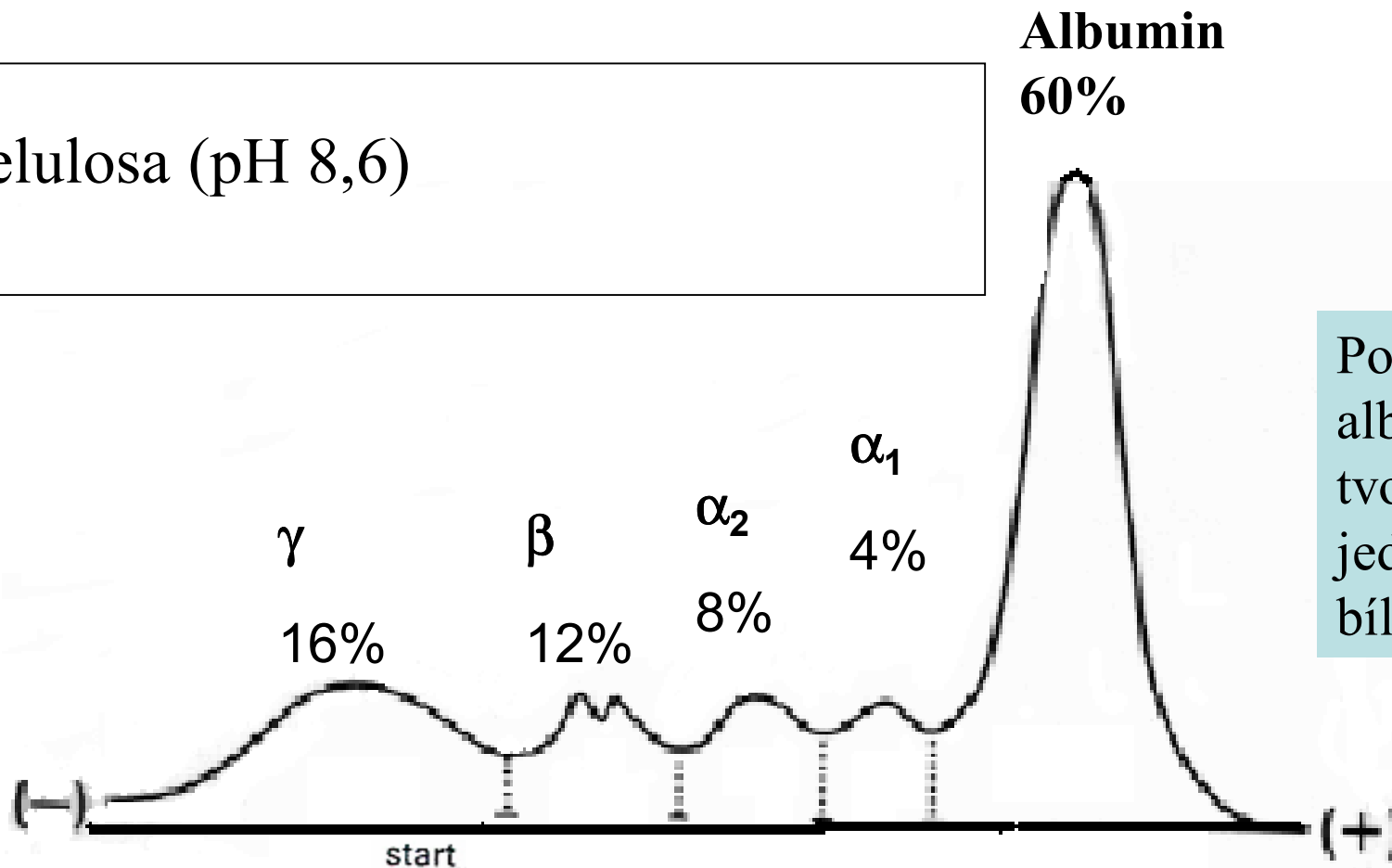
Imunoglobuliny, proteiny komplementu, CRP (C-reaktivní protein)

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 γ $\beta_2\beta_1$ α_2 α_1 albumin

Příklady zastoupení bílkovin v elektroforetických frakcích

Frakce	Bílkoviny
albumin	Prealbumin (transthyretin), albumin
α_1 -globuliny	α_1 -kys.glykoprotein, α_1 -antitrypsin, HDL, α_1 -fetoprotein, α_1 -mikroglobulin
α_2 -globuliny	Ceruloplasmin, haptoglobin, ferritin, α_2 -makroglobulin
β -globuliny	Hemopexin, transferin, fibrinogen, LDL, složky C ₃ a C ₄ komplementu, C-reaktivní protein
γ -globuliny	IgM, IgA, IgE, IgD, IgG

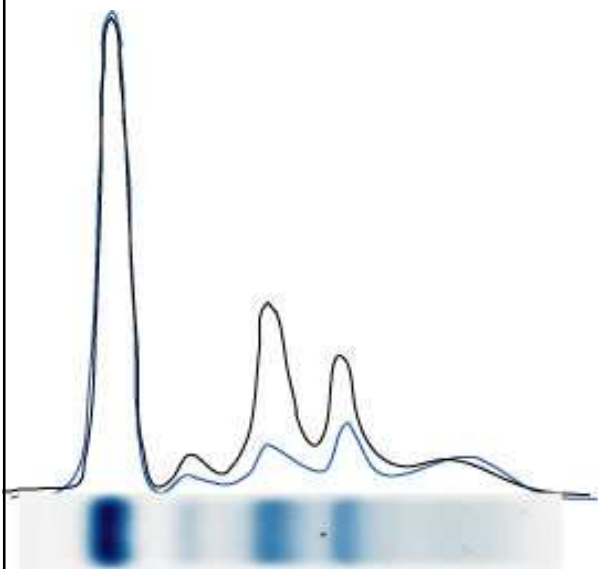
Příklady typických elektroforeogramů

Typ akutního zánětu

Celková bílkovina je normální, lehké snížení albuminu.

Nejvýraznější je vzestup α_1 α_2 globulinů, často i β_2 -globulinů.

Modře je vyznačen standardní elektroforeogram

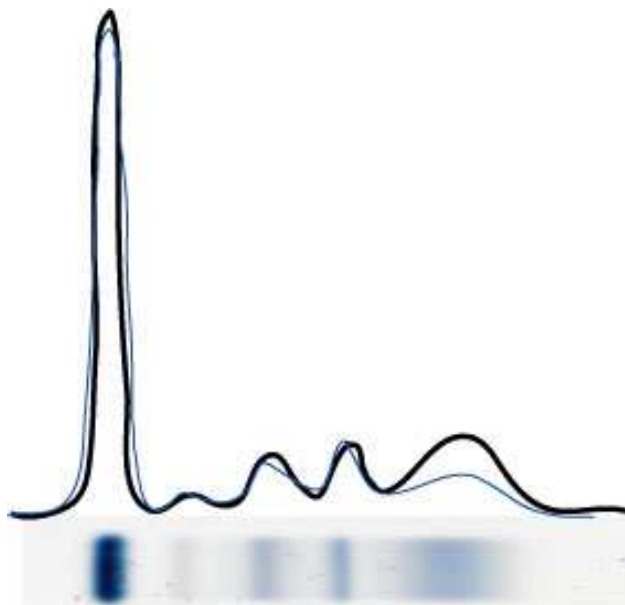


Typ chronického zánětu

Vzestup α_1 α_2 globulinové frakce (méně výrazný než u akutního zánětu)

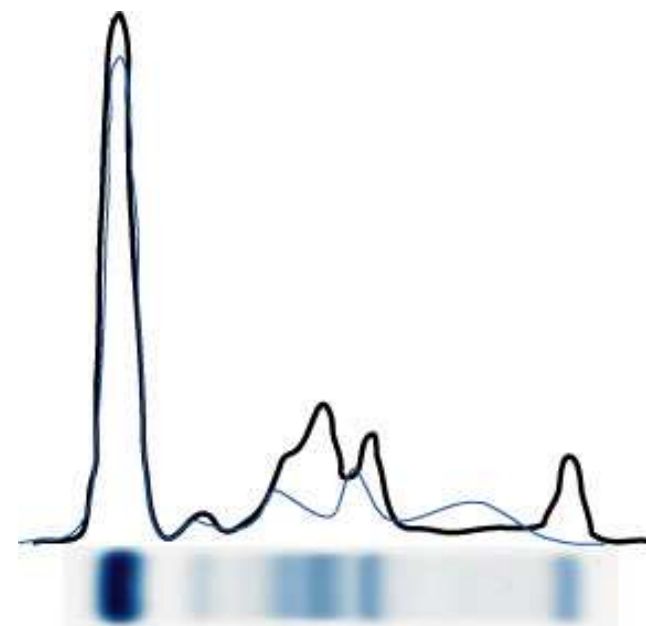
Široký pruh γ -globulinové frakce (polyklonální hyperimmunoglobulinemie)

Nález je provázen poklesem koncentrace albuminu.



Monoklonální hyperimmunoglobulinemie.

Úzký proužek monoklonálního imunoglobulinu kdekoli od α_1 po γ frakci. Bývá nižší koncentrace albuminu. U těžších stavů vymizí frakce γ -globulinů.



Albumin

- syntéza: játra 10-12 g/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 19 dní

Význam albuminu

- Transportní funkce:
 - Mastné kyseliny
 - Ca^{2+}
 - Cu^{2+}
 - Steroidní hormony
 - Bilirubin
 - T_4 , 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 (RBP)
- Snížená hodnota může být markerem malnutrice

Haptoglobin

- Syntéza v játrech
- Koncentrace v séru: 1-3 g /l (α_2 -globulin)
- Biologický poločas: 5 dní
- Polymorfní 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 anémiích

Hemopexin

- β_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 anémie, ↓ u chronické anémie jiného typu
- β_1 - glykoprotein
- Význam: transport 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 – zvýšený bezsacharidový transferin
(carbohydrate-deficient transferrin 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
- α_2 -globulin
- Mol. hmotnost $\approx 160\ 000$, váže 6 Cu^{2+}
- Koncentrace v séru $\approx 0,3 - 0,6\ \text{g / l}$ (modré zbarvení)
- Transportuje 95% Cu^{2+} přítomné v krvi, zbylých 5% je transportováno albuminem.
- Poněvadž vazba Cu k albuminu je slabší, zdá se, že za transport Cu^{2+} do tkání zodpovídá především albumin
- Ceruloplasmin patří k reaktantům akutní fáze

Význam ceruloplasminu

- Je nezbytný pro oxidaci Fe^{2+} na Fe^{3+} v krvi (v plazmě rozpustná ferooxidáza) – je potřebný pro redistribuci Fe mezi játry a dalšími orgány
- Ceruloplasminový analog **hefestin** působí obdobně v enterocytech, oxiduje Fe^{2+} na Fe^{3+}
- Nízká hladina při Wilsonově chorobě
- Enzymy vyžadující Cu^{2+} : cytochrom C oxidasa, superoxid dismutasa, lysyl oxidasa, tyrosinasa, oxidasa kys. askorbové, dopamin 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
- Cu^{2+} je rychle resorbováno v žaludku a tenkém střevě a dostává se do portální žíly, vazba na albumin
- Vychytání játry
- 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 ATPasa, která zabudovává Cu do ceruloplasminu a 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 Cu^{2+} v séru a moči je zvýšená
- **Menkesova choroba** – nefunkční Cu-ATPasa v enterocytech a dalších buňkách (ne v játrech) \Rightarrow porušená resorbce Cu ze střeva, deficit Cu v séru, akumulace v buňkách

α_1 - antiproteinasa (α_1 -proteinasový inhibitor API, α_1 -antitrypsin AT)

- syntéza: játra, makrofágy
- koncentrace: 1,3-3,7 g/l (sérum)
- mol.hmotnost \approx 52 000, α_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

α_2 -makroglobulin

- syntéza: hepatocyty, monocyty, astrocyty ad.
- 8-10 % proteinů plazmy
- mol. hmotnost $\approx 820\ 000$, α_2 - frakce
- Význam: váže trypsin, elastasu a další proteasy
- Transportuje Zn (10% celkového Zn)

Komplex proteinasa- α_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). Tento vzestup je indukován cytokiny (interleukiny, TNF...), které vstupují do krevního oběhu z makrofágů, epitelových buněk, fibrocytů
- „Proteiny akutní fáze“ (produkovány játry):
C-reaktivní protein, α_1 - antiproteinasa, haptoglobin, α_1 - kyselý glykoprotein, fibrinogen, ferritin, ceruloplasmin, C3 a C4 složky komplementu.....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, β -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 – 19 – 23
Immunoglobulin G	15 – 18 – 26
Transferrin	7 – 8.5 – 10
Immunoglobulin A	5.5
Kyselý α_1 -glykoprotein	5.2
Fibrinogen	4 – 4.5 – 5.5
Haptoglobin	4
Immunoglobulin M	4
Transthyretin (prealbumin)	2

Bílkoviny komplementu

- Komplex proteinů (cca 20) obsažených v neaktivní formě v plazmě, β -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
monomer	pentamer	monomer	dimer	monomer

Frakce gama-globulinů

Produkovány plasmocyty

V plazmě hlavní IgG

