

Bílkoviny krevní plazmy

Význam plazmatických bílkovin

- ***transport***
 - především látek nerozpustných ve vodě, případně i léků
 - Albumin – Ca , Mg, Zn, thyroxin, bilirubin, léky
 - Prealbumin – thyroxin
 - Transferin –Fe
 - Apoproteiny - lipidy
- ***obrana proti infekci***
 - Imunoglobuliny, komplement

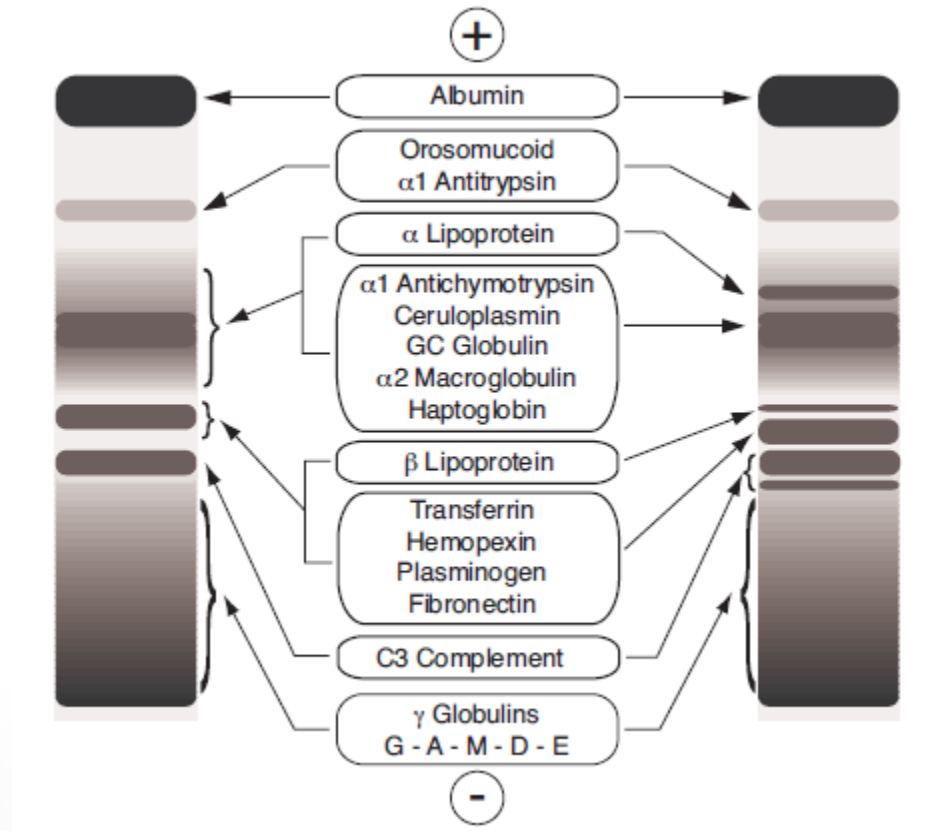
Význam plazmatických bílkovin

- **udržování onkotického tlaku**
 - albumin
- **hemokoagulace a fibrinolýza**
 - koagulační faktory a faktory zajišťující rozpouštění trombu
- **enzymy**
 - cholinesteráza a ceruloplazmin
- **inhibitory proteáz**
 - brání napadení poškozených a zanícených tkání proteolytickými enzymy
 - 1-antitrypsin, a1-antichymotrypsin a a2-makroglobulin
- **ochrana před volnými radikály**, resp. zábrana jejich tvorby (albumin, ceruloplazmin, haptoglobin, hemopexin)
- **acidobazická rovnováha**

Celková bílkovina 64-83 g/l

- **Snížená syntéza**
 - Hepatopathie
 - Malnutrice
- **Zvýšené ztráty**
 - Močí – nefrotický syndrom
 - Stolicí – exsudativní enteropathie
- **Zvýšení cirkulujícího objemu**
(edémy, ascites, exsudáty)

ELFO bílkovin



Prealbumin

- Jaterní transportní protein pro [hormony štítné žlázy](#), molekulová hmotnost 55 000, váže i transportní bílkovinu pro vitamín A (zábrana ztrátám do moči)
- ↓ = porucha proteosyntézy v játrech u těžkých hepatopatií nebo proteinové malnutrice
- Referenční meze 0,2-0,4g/l
- Poločas 2 dny
- Hodnocení nutričního stavu

Albumin (35-53g/l)

- Hlavní plazmatická bílkovina, biologický poločas 20 dní
- tvoří se v játrech, molekulová hmotnost 68 000,
- ze 75% se podílí na onkotickém tlaku plazmy
- transportní bílkovina pro nekonjugovaný bilirubin, hormony štítné žlázy, vápník, hořčík, zinek a jiné minerály. Váže i některé léky.
- Součást extracelulárního antioxidačního systému v ochraně proti volným radikálům.

- ↓ = snížená syntéza u těžké hepatopatie či proteinové malnutrice, zvýšený katabolismus u akutních zánětů a nádorů
- Zvýšené ztráty ledvinami (nefrotický syndrom), do GIT, kůží
- Fyziologicky v těhotenství – roste objem cirkulující tekutiny

INFOLAB

20/11/2012-11.36 20/11/2012-12.52

[/D/M/R-h.m]

[ml/h.m]

[ml/h]

Číslo,datum.. 5251/20/11/2012-11.51
 Oddělení..... 2233 F10 Zo..E
 Rodné číslo..
 Jméno.....
 Diagnóza.....T068
 Pojišťovna...111
 Lékař.....72100550
 Komentář...>.

moč..
 moč..
 plasm
 moč+s
 krev.
 IONTY
 jedno
 plasm

sérum...
 pl.voda.
 stolice.
 Dex.t.I.
 Dex.t.II
 UIgG....
 Výška [cm]
 Váha [kg]

Dat.nar. 16/ 2/1950-Ž-(M/Ž)

VYŠETŘENÍ.....

13073/20/11

Na = 142	ALT = 2.89+	SIL = 7.00
K = 3.5	AST = 2.40+	SII = 8.00
Cl = 116+	GGT = 0.15	PrVz= 1.00
Urea= 5.2	ALP = 0.28-	TAT = 61
Krea= 63	LD = 9.92+	AKR =* Metod
KM = 259	CK = 15.28+	PSM =399.00
BilT= 5.7	CB =< 20.0	
BilD= 2.3	Alb = 14.4-	
Gluk= 11.3+	CRP =< 1.0	
Lakt= 7.5+	SIH = 4.00	

121

121

61

Konec = ESC

F2 = Tisk

Listování = Page Up,Page Down

INFOLAB

19/11/2012- 6.01 19/11/2012-08.36

[/D/M/R-h.m]

[ml/h.m]

[ml/h]

Číslo,datum.. 5161/19/11/2012- 8.04

Oddělení..... 1231 F10 Zo..E

Rodné číslo....

Jméno.....

Diagnoza.....N048

Pojišťovna...111

Lékař.....72100170

Komentář.....

moč..

moč..

plasm

moč+s

krev.

IONTY

jedno

plasm

sérum...

pl.voda.

stolice.

Dex.t.I.

Dex.t.II

UIgG....

Výška [cm]

Váha [kg]

Dat.nar.-----15/ 9/1992-M-(M/Ž)

VYŠETŘENÍ.....

12492/19/11

Na = 141	ALT = 1.35+	SII = 13.00
K = 4.6	AST = 0.45	PrVz= 1.00
Cl = 108+	GGT = 1.50+	TAT = 32
Ca = 1.94-	ALP = 1.14	AKR =* Metod
P = 1.71+	AMS = 0.93	PSM =357.00
Mg = 0.72	CB = 46.6-	
Urea= 30.9+	Alb = 26.8-	
Krea= 504+	CRP =< 1.0	
BilT= 4.7	SIH = 5.00	
Gluk= 5.2	SIL = 3.00	

111

166

6

Konec = ESC

F2 = Tisk

Listování = Page Up,Page Down

INFOLAB

16/11/2012-10.36 16/11/2012-12.36

[/D/M/R-h.m]

[ml/h.m]

[ml/h]

Číslo,datum.. 1540/16/11/2012-10.59

Oddělení..... 1231 F10 Zo..R

Rodné číslo..

Jméno.....

Diagnoza.....N048

Pojišťovna...111

Lékař.....72100170

Komentář...>.

Dat.nar.-----15/ 9/1992-M-(M/Ž)

VYŠETŘENÍ.....

moč.. 2350/24.00

moč..

plasm

moč+s

krev.

IONTY

jedno

plasm

sérum...

pl.voda.

stolice.

Dex.t.I.

Dex.t.II

UIgG....

Výška [cm]

Váha [kg]

12991/16/11

dUCB= 7.77+

AKR =* Metod

PSM =216.00

129

61

129

Konec = ESC

F2 = Tisk

Listování = Page Up,Page Down

[/D/M/R-h.m]		[ml/h.m]	[ml/h]
Číslo, datum..	1335/12/11/2012- 8.04	moč..	sérum...
Oddělení.....	1211 F10 Zo..R	moč..	pl.voda.
Rodné číslo..		plasm	stolice.
Jméno.....		moč+s	Dex.t.I.
Diagnoza.....	K500	krev.	Dex.t.II
Pojišťovna...	111	IONTY	UIgG....
Lékař.....	72100171	jedno	Výška [cm]
Komentář.....		plasm	Váha [kg]
Dat.nar.-----29/ 1/1992-Ž-(M/Ž)			
VYŠETŘENÍ.....		12254/12/11	

Na = 141	Gluk= 5.0	Ferr= 57.5	AKR =* Metod
K = 3.9	Chol= 3.8	CB = 48.7-	PSM =2872.0
Cl = 107	TG = 2.59+	Alb = 25.9-	
Ca = 2.09-	ALT = 0.34	Prea= 0.29	
P = 1.09	AST = 0.37	Trf = 2.46	
Mg = 0.56-	GGT = 0.51	CRP = 1.0	
Cu = 10.9-	ALP = 1.32	SIH = 4.00	
Urea= 4.1	Fe = 4.8-	SIL = 9.00	
Krea= 62	B 12= 50-	SII = 4.00	
BilT=< 1.7	FOL => 45.4	PrVz= 1.00	
106	152	144	157
23	155		

Reakce akutní fáze

- Nespecifická obranná reakce na poškození organismu akutním zánětem
- Projevy: horečka, leukocytóza, hormonální odpověď, změna koncentrace tzv. bílkovin akutní fáze
- **Proteiny akutní fáze**
 - Tvorba v jaterním parenchymu (de novo)- po vyplavení cytokinů IL 6, TNF
 - Regulátory zánětlivého procesu
 - Mediátory biologických reakcí
 - Inhibitory vzájemných proteolytických enzymů

Proteiny akutní fáze

- **POZITIVNÍ**
- Plazmatická koncentrace během zánětu stoupá korelace s aktivitou onemocnění (koncentracemi prozánětlivých cytokinů)
 - CRP, PCT, orosomukoid, α 1antitrypsin, haptoglobin, ceruloplasmin, fibrinogen
- **NEUTRÁLNÍ**
- Produkované stejnou rychlostí
 - A2makroglobulin
- **NEGATIVNÍ**
- Prozánětlivé cytokiny inhibují syntézu v játrech
 - Transferin, albumin, prealbumin

Proteiny akutní fáze

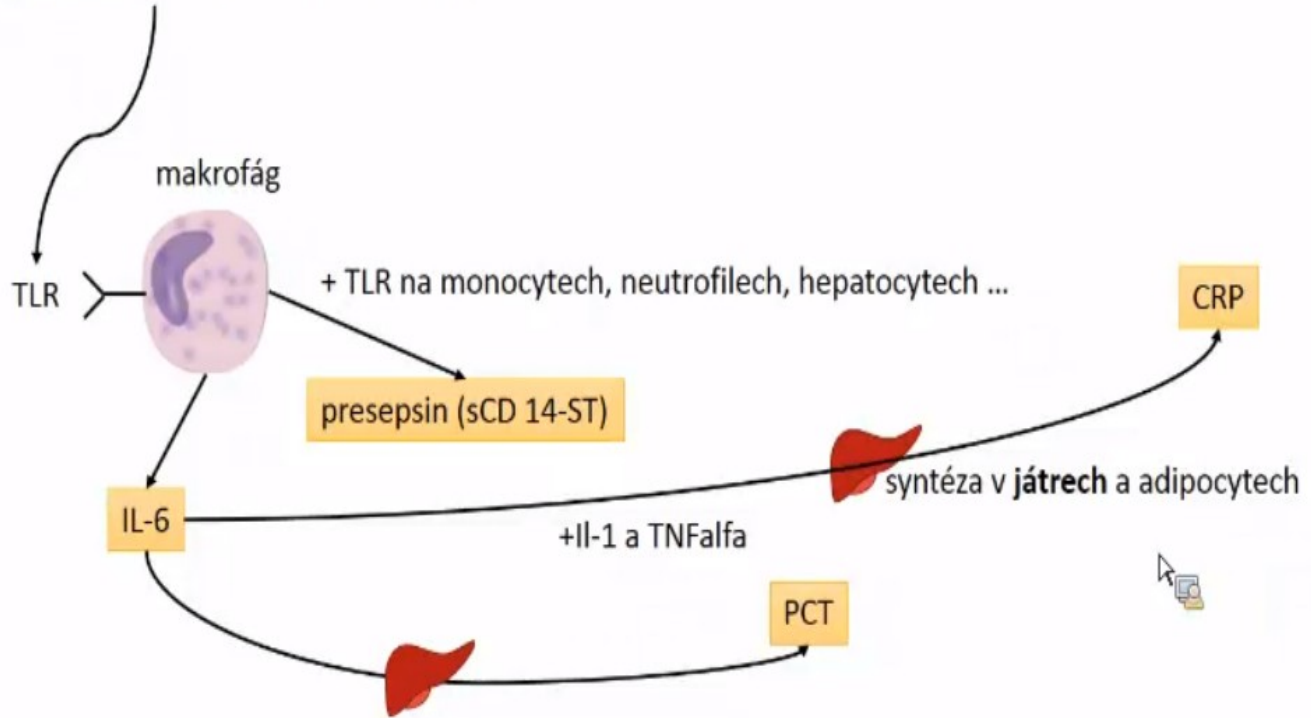
- S rychlou odpovědí
 - IL-6 vzestup za 2 hod, PCT vzestup za 2-4 hod
 - CRP -vzestup po 6 hod, maximum za 48 hod , vzestup až 1000násobný
- Nástup i vrchol pozvolnější
 - Vzestup za 12-24 hod, vrchol 3-5 dní (α 1antitrypsin, haptoglobin)
- Koncentrace se snižuje
 - Prealbumin, albumin, transferin

Ovlivnění bílkovin akutní fáze

- Geneticky (ceruloplasmin, α_1 antitrypsin)
- Těhotenství, p.o. kontraceptiva (ceruloplasmin)
- Intravaskulární hemolýza (haptoglobin)
- Zánětlivá onemocnění jater-omezení proteosyntézy

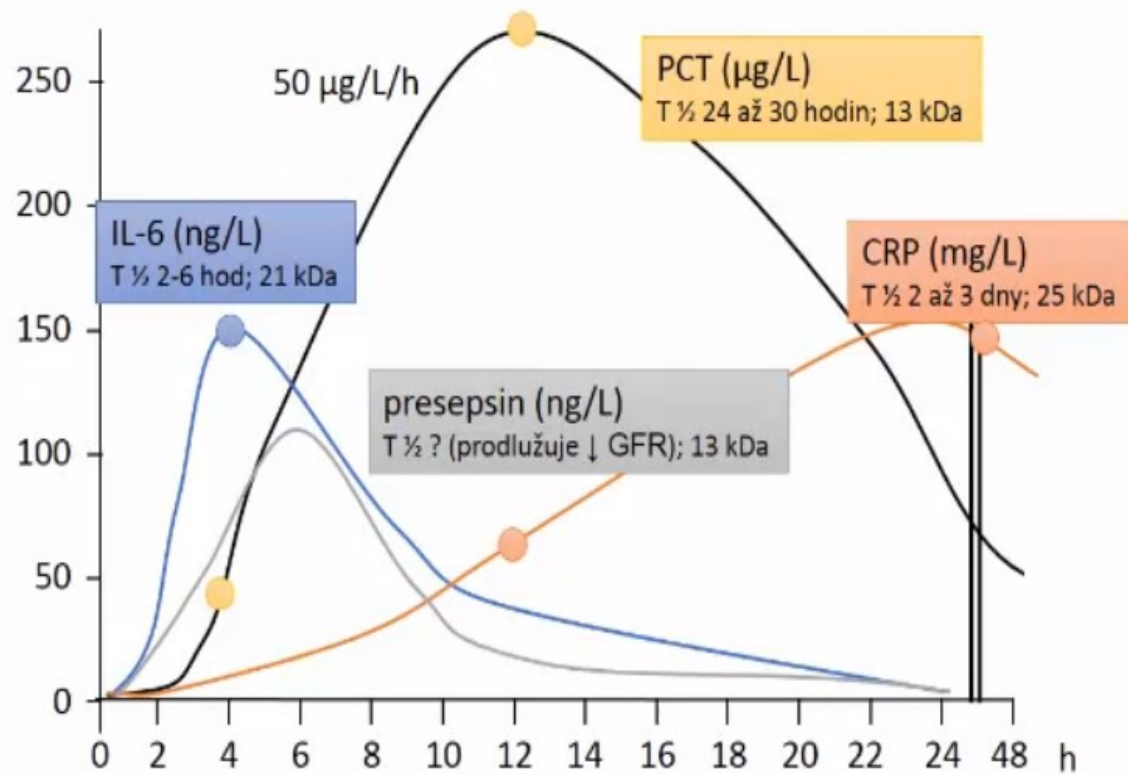
Impulzy k produkci

PAMP (Pathogen Associated Molecular Patterns)



syntéza v mnoha tkáních (v sepsi hlavně **játra**; ledviny, střevo, plíce, l

Dynamika markerů zánětu



CRP

- Bílkovina akutní fáze nejdéle používaná, výrazná dynamika, zvl. u bakteriálních infekcí
- ↑ = akutní zánět, akutní stavy (revmatické choroby, malignity, pooperační stavy apod.)
- 6-8 hod od začátku zánětu
- Vrchol 1-2 dny

- Oponizace struktur poškozených buněk a bakterií - Ca dependentní vazba CRP na fosfatidylcholin bakteriální stěny a na buněčné membrány
- Aktivace komplementu
- Imunomodulační efekt (neutrofily, monocyty, NK buňky)
- Antioxidační aktivita
- Patogeneze aterosklerózy

CRP

- Indikace:
 - Včasná diagnostika bakteriálních infekcí
 - Sledování průběhu léčby
 - Odlišení bakteriální a virové etiologie
 - Novorozenci, kojenci – syntéza snižená
 - Adekvátní syntéza u imunosuprimovaných pacientů
 - Pozdní reakce na SIRS
 - Nepřispívá k odlišení SIRS a sepse

```
[7/D/M/K H.M.]
Číslo,datum.. 5346/06/12/2015-21.15
Oddělení..... 3121          F10 Zo..E
Rodné číslo. ....
Jméno.....
Diagnóza.....S000
Pojišťovna...111
Lékař.....72100085
Komentář...>.
—Dat.nar.—12/10/1973—M—(M/Ž)—
F9 VYŠETŘENÍ.....
```

Na = 130-	AST = 4.11+	PSM =639.00
K = 3.7	GGT = 1.13+	Iont
Cl = 84-	ALP = 1.08	JaTe
Urea= 34.3+	CRP = 641.0+	
Krea= 562+	SIH = 11.00	
BilT= 54.5+	SIL = 11.00	
Gluk= 4.0	SII = 60.00+	
Etyl=< 2.2	PrVz= 1.00	
Et%o=< 0.1	TAT = 36	
ALT = 2.01+	AKR =* Metod	

Prokalcitonin

- Struktura identická s prohormonem kalcitoninu
- PCT, který je produkován při zánětu nedochází ke konverzi na kalcitonin (sekrece –játra, plíce, ledviny, tenké střevo)
- Tvorba PCT při zánětu úzce svázána s bakteriálním endotoxinem a s prozánětlivými cytokiny
- Vzestup PCT zejména u bakteriálních infekcí, při sepsi

Prokalcitonin

INPOLAB **		02/12/2012-16.51	
[/D/M/R-h.m]			
Číslo, datum..	5284/02/12/2012-16.09	moč..	
Oddělení.....	8332 F10 Zo..E	moč..	
Rodné číslo..	[REDACTED]	plasm	
Jméno.....	[REDACTED]	moč+s	
Diagnoza.....	S700	krev.	
Pojišťovna...111		IONTY	
Lékař.....	72100132	jedno	
Komentář.....		plasm	
Dat.nar.....	29/ 6/1985-M-(M/Ž)		
VYŠETŘENÍ.....			
Na =	135-	PrVz=	1.00
K =	5.3+	PCT =	6.01+
Cl =	99	TAT =	42
Urea=	17.1+	AKR =*	Metod
Krea=	550+	PSM =	843.00
Lakt=	nedodán		
CRP =	369.8+		
SIH =	3.00		
SIL =	20.00		
SII =	2.00		

Ref.meze do 0,5 ug/l

Chronický zánět 0,5-1ug/l

Lokalizovaná bakteriální infekce 0,5-2ug/l

SIRS 5-10ug/l

SEPSE nad 10,20 ug/l

Alfa 1 antitrypsin

- Ochrana tkání před destrukčním působením proteáz (elastázy, kolagenázy) uvolňovaných při zánětlivé reakci z neutrofilů.
- ↑ = akutní záněty a akutní závažné stavy, těhotenství
- ↓ = těžké hepatopatie
dědičný defekt tvorby
(důsledkem může být cirhóza jater, dále se rozvíjí plicní emfyzém)

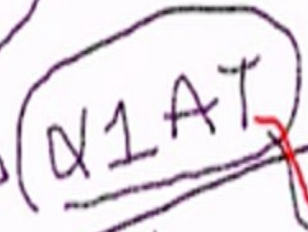
AR)

$\alpha 1$ Antitrypsin

mutation

- enzyme

WBC
↓
NE



Blood



attacks

Liver damage

- $\alpha 1$ AT protects the lung from

Lung

Damage from Neutrophil elastase

Alfa 1 antitrypsin

Genotyp MZ

```
BiIT= 6.2
ALT = 0.26
AST = 0.58
GGT = 0.22
ALP = 8.50+
LD = 4.21
CK = 2.07
alat= 0.64-
CIK =?
SIH = 18.00
```

Zdraví – genotyp MM
Nemocní genotyp ZZ

Referenční meze 0,9-2,0 g/l

Transferin

- Jaterní b1-globulin, molekulová hmotnost 76 500, může vázat dva atomy železa (Fe^{3+}), transportní bílkovina pro železo
- \uparrow = nedostatek železa v organismu (při malnutrici nedojde ke zvýšení);
- \downarrow porucha proteosyntézy v játrech, akutní zátěž organismu
- *Bezsacharidový transferin* – transferin se sníženým podílem cukerné složky (carbohydrate-deficient transferin, CDT)

INFOLAB 26/11/2012-10.36 26/11/2012-14.31

[/D/M/R-h.m]

[ml/h.m]

[ml/h]

Číslo,datum.. 1784/26/11/2012-12.37

Oddělení..... 3124 F10 Zo..R

Rodné číslo..

Jméno.....

Diagnoza....R55

Pojišťovna...211

Lékař.....72100516

Komentář.....

Dat.nar.-----27/11/1987-Ž-(M/Ž)

VYŠETŘENÍ.....

moč..

moč..

plasm

moč+s

krev.

IONTY

jedno

plasm

sérum...

pl.voda.

stolice.

Dex.t.I.

Dex.t.II

UIgG....

Výška [cm]

Váha [kg]

13089/26/11

Fe = 4.0-

SatF= 0.03-

B 12= 209

FOL = 11.6

Ferr= 4.6-

Trf = 4.75+

SIH = 1.00

SIL = 3.00

SII = 12.00

PrVz= 1.00

PSM =2074.0

Ref.meze 2,0-3,6 g/l

152

162

61

125

Konec = ESC

F2 = Tisk

Listování = Page Up,Page Down

Haptoglobin

- Vazba molekuly volného hemoglobinu – komplex je rychle vychytáván z krevního oběhu
- Snížení oxidačního potenciálu volného hemoglobinu
- Stimulace angiogeneze
- Protizánětlivé působení (inhibice chemotaxe, fagocytózy...)

- Vzestup koncentrace
 - Akutní stavy
- Pokles koncentrace
 - Indikátor intravaskulární hemolýzy

[/D/M/R-h.m]		[ml/h.m]	[ml/h]
Číslo, datum..	1729/26/11/2012-12.01	moč..	sérum...
Oddělení.....	6923 F10 Zo..R	moč..	pl.voda.
Rodné číslo.		plasm	stolice.
Jméno.....		moč+s	Dex.t.I.
Diagnoza.....	D580	krev.	Dex.t.II
Pojišťovna...	211	IONTY	UIgG....
Lékař.....	72100653	jedno	Výška [cm]
Komentář.....		plasm	Váha [kg]
Dat.nar. 5/10/2010-M-(M/Ž)			
VYŠETŘENÍ.....			12960/26/11

Urea= 3.3	SIL = 19.00			
Krea= 29	SII = 27.00+			
KM = 182	PrVz= 1.00			
BilT= 17.4	AKR =* Metod			
ALT = 0.32	PSM =950.00			
AST = 0.68+				
LD = 5.62+				
Ferr= 34.1				
Hpl =< 0.03	Ref.meze 0,3-2,0 g/l			
SIH = 15.00				

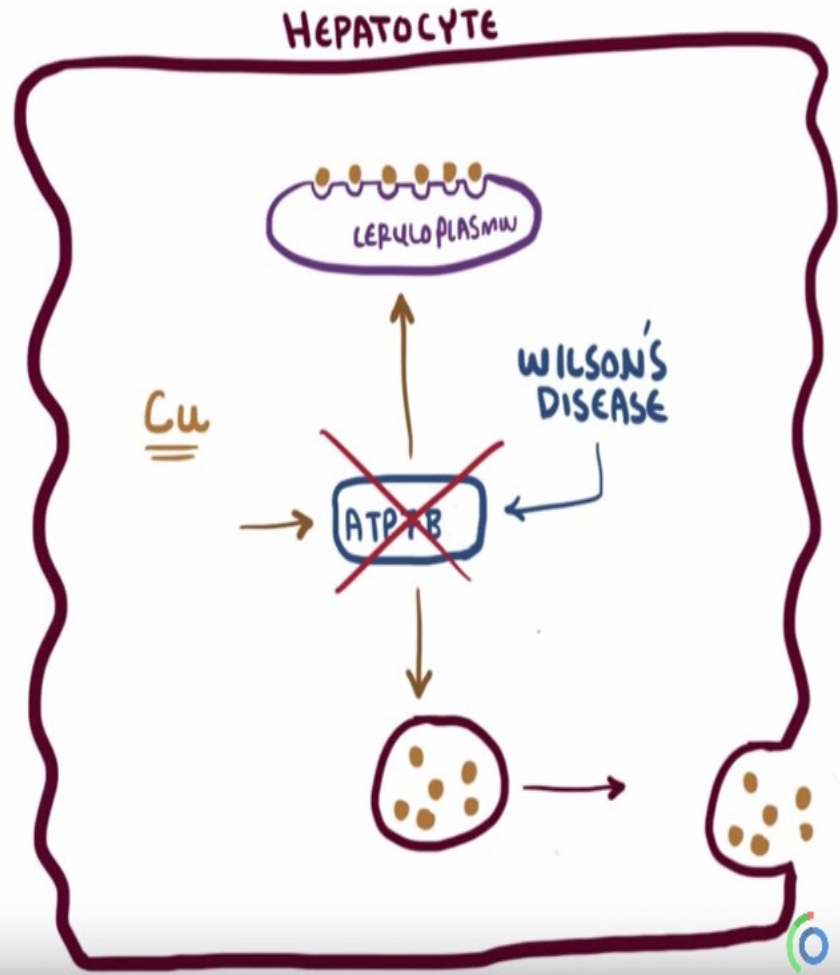
Ceruloplazmin

- Hlavní transportní protein mědi (8 atomů mědi)
- Redukovaná forma Cp představuje 1/3 antioxidační aktivity séra
- Mobilizuje a oxiduje Fe^{2+} na Fe^{3+} s následnou inkorporací do transferinu
- Vzestup koncentrace těhotenství
- Pokles koncentrace – Wilsonova choroba

WILSON'S DISEASE

ATP7B

- ① BIND **Cu** to
APOCERULOPLASMIN
↳ **Cu**-carrying protein
- ② Package into vesicles
for exocytosis to **BILE**



WILSON'S DISEASE

LIVER DAMAGE

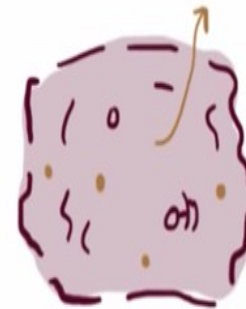


- symptoms ~ late childhood

Blood

1. ↓ ceruloplasmin

2. ↑ Cu ...



Damaged hepatocyte

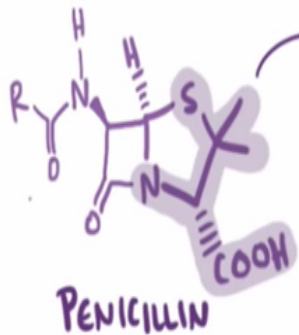
URINE

1. ↑ Cu

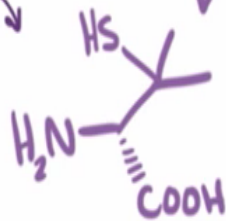
WILSON'S DISEASE

TREATMENTS

PENICILLAMINE



PENICILLIN



- No antibiotic properties
- copper-chelating agent



ZINC + Ammonium tetrathiomolybdate

↓ Cu reabsorption

EXCRETE
in
URINE

LIVER TRANSPLANT



Kasuistika

Mnohočetný myelom



Anamnéza

- Muž 60 let
- Asi 7 měsíců bolesti žeber, i při nádechu – uzavřeno jako Tietzův syndrom, klasifikace bolesti dle VAS 6-7, dále bolesti zad, užíval analgetika, běžná analgetika bez efektu, Doreta (paracetamol+tramadol) s částečným efektem, přidala se výrazná únava
- Léčí se s hypertenzí
- FA: Prestarium

Laboratorní vyšetření

Sloupec1	14.7.2011	30.7.2015	jednotk
S-urea	7,9	9,8	mmol/l
S-kreatinin	128	153	umol/l
S-kyselina močová	499	446	umol/l
S-CRP	3,8		mg/l
S-CB		71	g/l
S-beta2mikroglobulin		4,38	mg/l
S-Ca		2,65	mmol/l
U-CB		2,95	g/l
M+S	bílkovina 1		arb.j.
KO			
Erytrocyty	3,46*10 ¹²	3,23	l
Hemoglobin	124	106	g/l
Hematokrit	0,33	0,3	
Leukocyty	7,4*10 ⁹	9,14	l
Lymfocyty	35,80%	30,8	%
Granulocyty	54,90%	58,6	%
Trombocyty	335*10 ⁹	366	l
FW	30/50		

- Nárůst retence N látek v séru
- Hyperkalcémie
- Diskrepantní nález bílkoviny v moči :
 - kvantitativně výrazná proteinurie
 - kvalitativně pomocí suché chemie -1 (POZOR - průkaz pouze albuminu)
- Prohloubení anémie

Další postup?

Laboratorní vyšetření

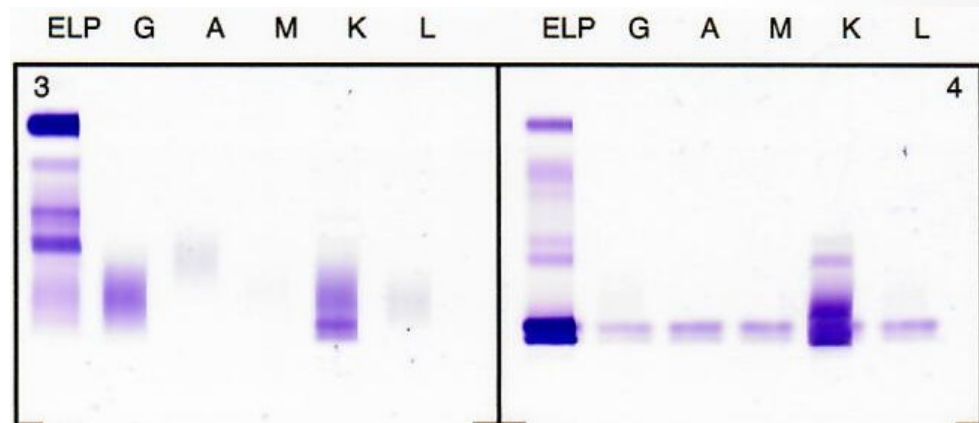
Elektroforéza

sérum moč



Imunofixace –sérum

Imunofixace moč

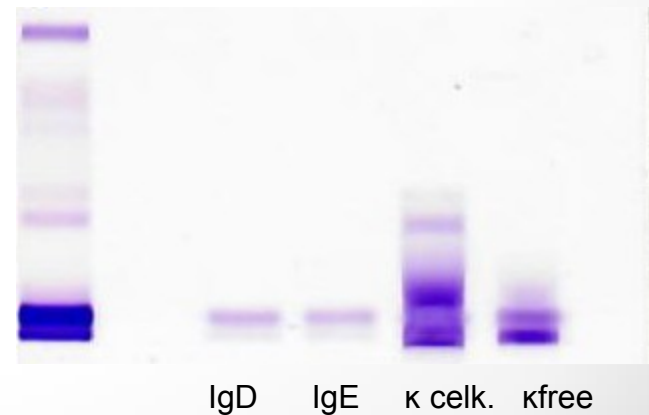


S-ifix: průkaz FLC κ v séru

U-ifix: FLC κ 2,9g/24 hod

FLC κ kvant. v séru > 18000 mg/l (3,3-19,4g/l)

FLC λ kvant. v séru 1,0 mg/l (5,7-26,3mg/l)



Další vyšetření

- **RTG skeletu**
 - vícečetná lytická ložiska ve skeletu lebky, obou klavikul, humerů, lopatek, žeber bilat., v menším rozsahu postiženy i oba femory
- **Trepanobiopsie**
 - masívní infiltrace plazmatickými buňkami patologické morfologie, redukce granulopoezy

Stanovení diagnózy – terapie, sledování

- Mnohočetný myelom III A (DS)
- Symptomatický – anémie, hyperkalcémie, hrozící renální poškození

Terapie:

6 cyklů CHT (efekt - dosaženo VGPR- velmi dobrá parciální odpověď – více jak 90% pokles ve 24 hod vylučování FLC v moči)

1. autologní transplantace – CR (kompletní remise)- nepřítomnost průkazu monoklonálního proteinu v séru nebo v moči a normalizace FLC v séru

Imunoglobuliny

Sekreční produkty diferencovaných plazmatických buněk

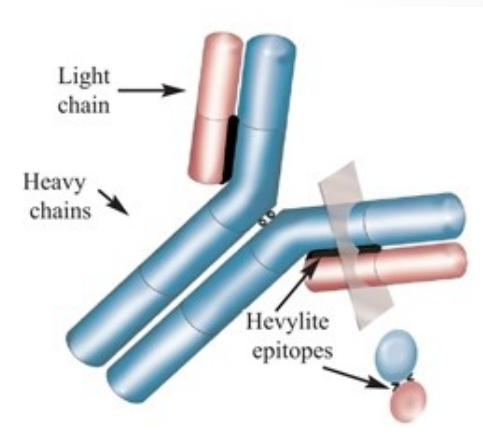
- Složení 2 těžké(H) a 2lehké řetězce(L)
- Typy lehkých řetězců kappa,lambda
- Třída (izotyp) IgG,A,M,D,E
- Část konstantní, část variabilní

Polyklonální imunoglobuliny

- různé idiotypy

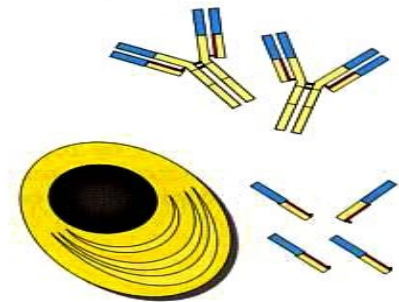
Monoklonální imunoglobulin

- produkt jednoho klonu plazmatických buněk
- stejný izotyp a idiotyp
- molekula stejných fyzikálních i chemických vlastností



Monoklonální gamapatie

- Maligní monoklonální gamapatie
 - Mnohočetný myelom
 - Méně časté formy myelomu
 - Maligní lymfoproliferativní onemocnění
 - Amyloidóza
- Monoklonální gamapatie neznámého významu (MGUS)

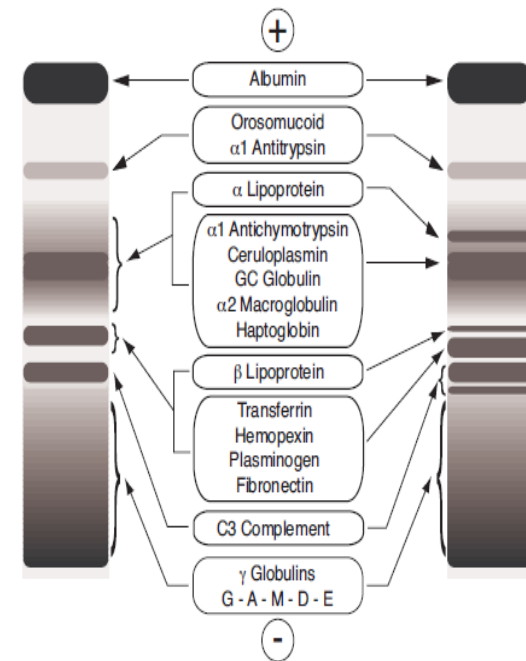
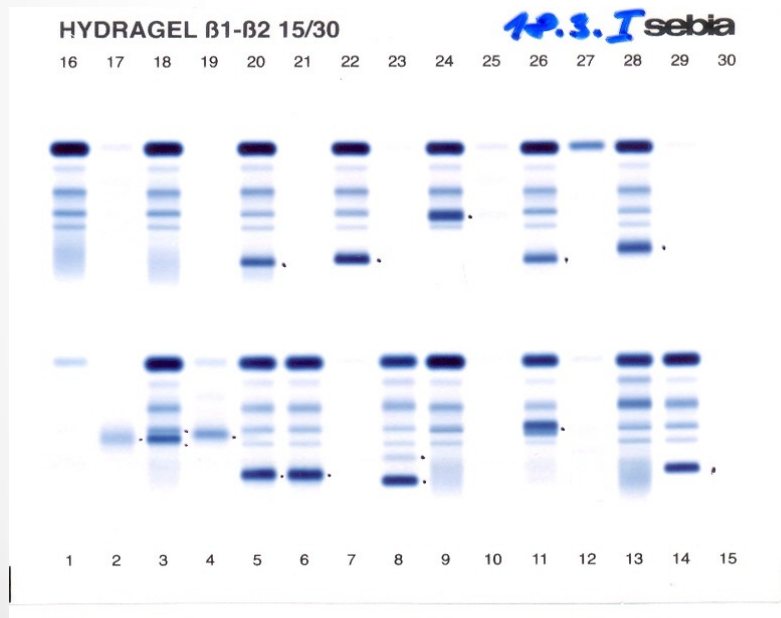


Laboratorní metody pro průkaz monoklonálního imunoglobulinu

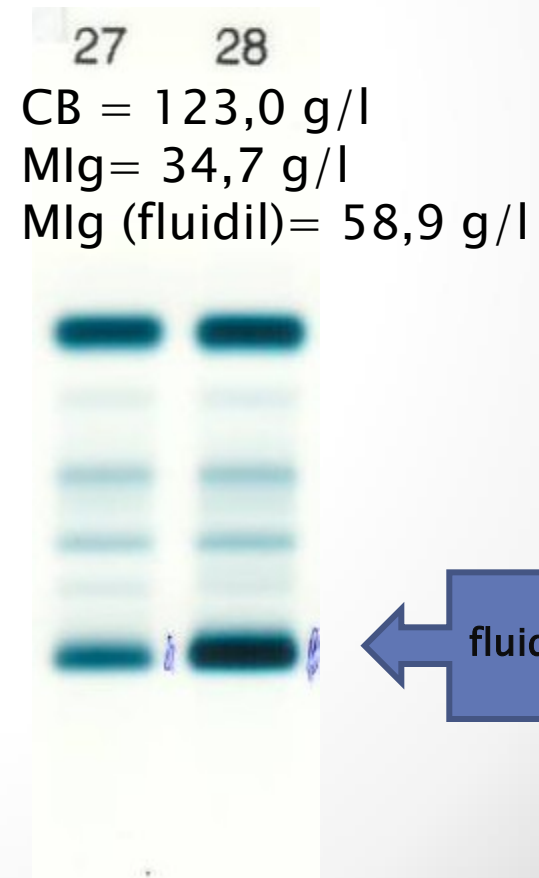
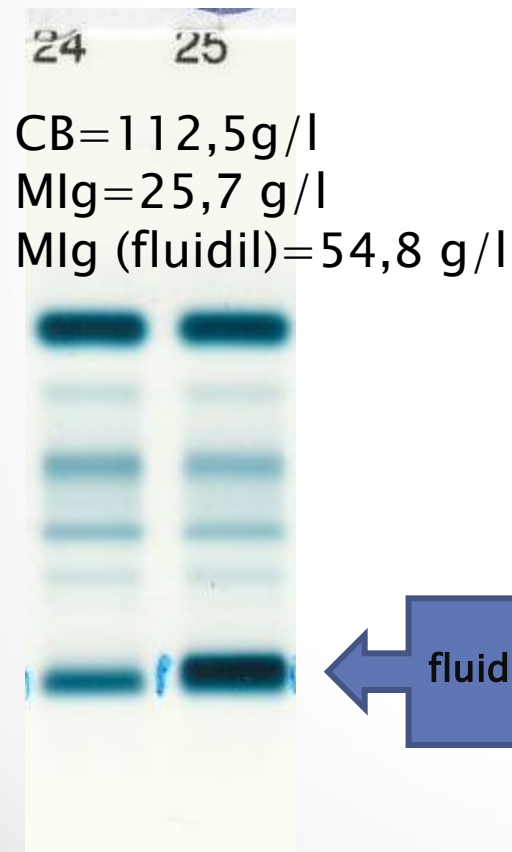
- Elektroforéza séra a moče
- Elektroforéza s následnou imunofixací v séru a v moči
- Stanovení volných lehkých řetězců v séru

Průkaz monoklonálního proteinu

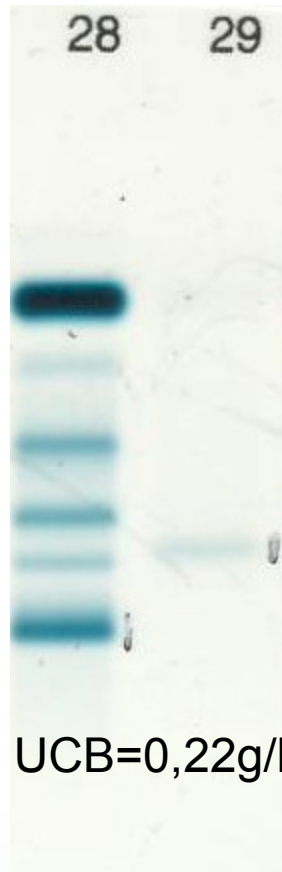
ELFO sérum a moč



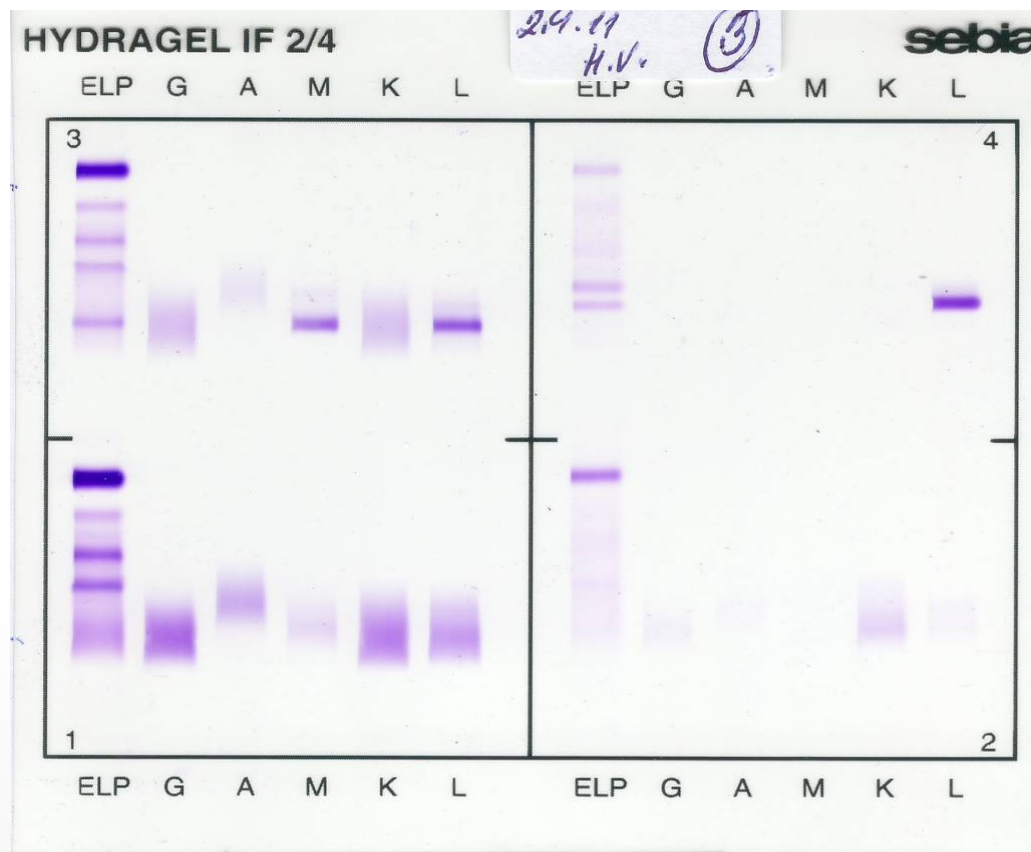
Zpracování vzorků s vysokou hodnotou celkové bílkoviny



Elektroforéza sérum,moč



Elektroforéza s následnou imunofixací v séru a v moči



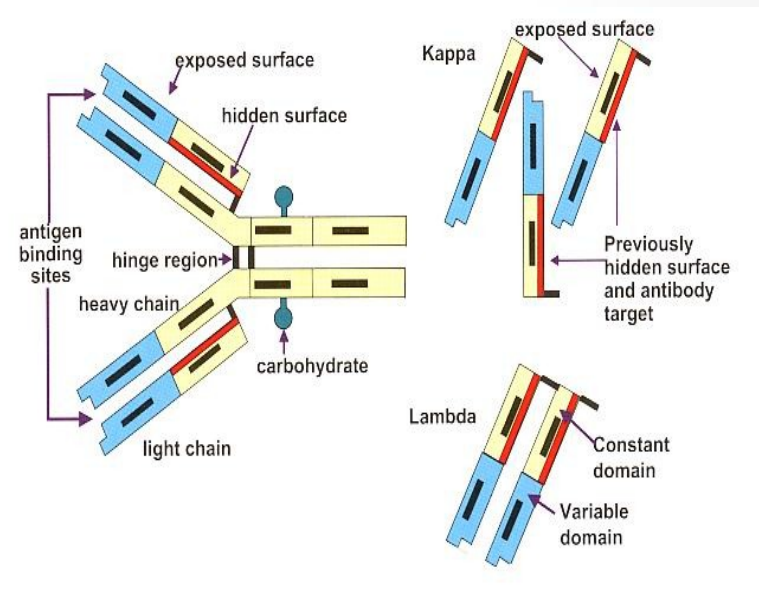
Elektroforéza s následnou imunofixací v séru a v moči-pentavalentní antisérum



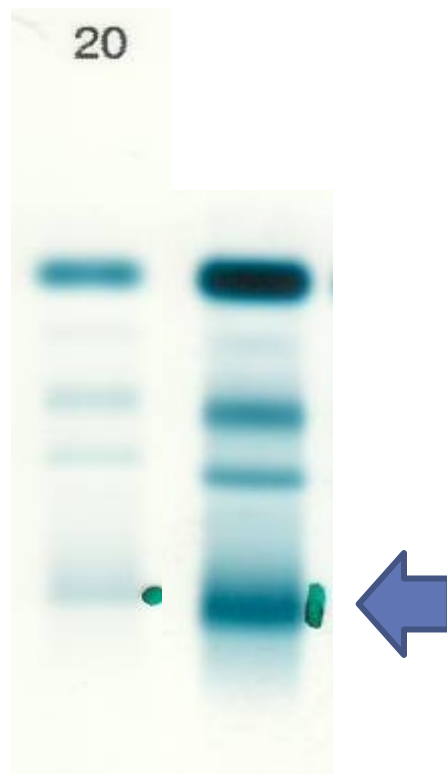
Free light chains

- Set FreeLite firmy BindingSite
- Analyzer IMMAGE 800 (Beckman Coulter) imunoturbidimetrie (NIPIA)
- antibodies are directed against internal epitopes light chains, which are hidden in the complete molecule

- Kappa free 3,3-19,4mg/l
- Lambda free 5,7-26,3 mg/l
- ratio κ/λ 0,26-1,65



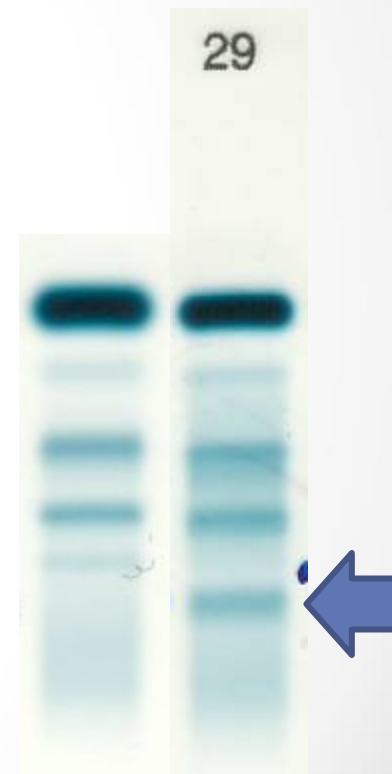
Přítomnost kryoproteinu



CB=89,6 g/l

Inkubace s
BME, 37 °C

1



Inkubace s
BME, 37 °C

9