

# Metabolismus proteinů

(Jaroslav Masopust)

Proteiny spolu s nukleovými kyselinami jsou základními biomolekulami tvořícími podstatu živé hmoty na této planetě. Po chemické stránce to jsou lineární, nevětvené polymery sestávající z kombinace 20 různých  $\alpha$ -aminokyselin, jejichž uspořádání je zakódováno v deoxyribonukleové kyselině buněčného genomu. Velikost jejich molekul se pohybuje od 10 000 až do několika milionů. Jejich funkce v živých organismech je velmi rozmanitá a nezastupitelná. Jsou strukturními složkami všech buněk, mají účinky katalytické (většina enzymů jsou proteiny), jako protilátky jsou součástí imunitního obranného mechanismu, přenášejí a skladují malé molekuly a ionty, jsou účastny v regulačních systémech organismu jako hormony, cytokiny a jejich receptory, kontrolují genetickou expresi v podobě různých signálních molekul, zprostředkovávají interakci mezi buňkami apod.

Bílkoviny jsou proto základní složkou potravy. Dospělý člověk potřebuje denně v průměru 80–90 g hodnotných proteinů tj. takových, které obsahují všechny potřebné esenciální aminokyseliny. Denní metabolický obrat bílkovin je podstatně větší než jejich příjem potravou, činí v průměru 275 g, z toho 75 g proteinů vzniká ve sliznici střešní, 120 g se tvoří z cirkulujících aminokyselin a 80–90 g se resyntetizuje ze vstřebaných aminokyselin z proteinů v potravě.

Trávení bílkovin začíná v žaludku a je dokončeno ve střevě za účasti společného působení řady proteolytických enzymů, při čemž vznikají stále menší fragmenty proteinové molekuly. Na konec vzniklé tri- a dipetidy jsou štěpeny příslušnými peptidasami v kartáčovém lemu buněk sliznice tenkého střeva až na jednotlivé aminokyseliny. Aminokyseliny se vstřebávají z lumen střeva do slizniční buňky tenkého střeva především v kotransportu s  $\text{Na}^+$  na apikálním konci střevního epitelu. Bylo prokázáno nejméně 6 různých  $\text{Na}^+$ -dependentních přenašečů aminokyselin v apikální membráně kartáčového lemu. Tyto přenašeči mají překrývající specifitu pro různé aminokyseliny. Z nitra buněk se dostávají aminokyseliny ven prostřednictvím přenašečů usnadněné difuze.

Další metabolismus proteinů je metabolismem aminokyselin. Jako základní složka potravy aminokyseliny netvoří v organismu energetickou zásobu. Nadbytečný přívod nemůže organismus skladovat jako je tomu u sacharidů (kupř. jaterní a svalový glykogen) nebo tuků (triacylglyceroly v tukové tkáni) a proto jsou metabolizovány až na konečné produkty, kterými je urea a oxid uhličitý. Buňky však musí mít malou, ale nezbytnou *pohotovostní zásobu volných aminokyselin*, které potřebuje především pro výstavbu buněčných proteinů. Tato pohotovost představuje asi 120 g aminokyselin (u zdravého dospělého člověka); což činí 1 % celkového obsahu aminokyselin vázaných v proteinech. Hladina aminokyselin v plasmě je poměrně nízká (v průměru 3, 2 mmol/l), což znamená, že metabolický obrat volné aminokyseliny je řádově obdobný jako obrat glukosy nebo mastných kyselin. Hladina aminokyselin v krevní cirkulaci zůstává pozoruhodně stabilní, ačkoliv po jídle obsahujícím proteiny stoupne o 30 – 100%. Za lačnění (i protrahovaném) nikdy neklesne pod určitou normální hodnotu, protože se stále doplňuje. Plasmatické proteiny, především albumin, jsou hydrolyzovány intracelulárními proteinasami a jejich aminoskupiny jsou reutilizovány. Tkáně s rychlým metabolickým obratem jako jsou játra, pankreas nebo střevní sliznice mohou uvolnit své proteiny rychle. Kosterní svalstvo uvolňuje proteiny pomaleji, ale vzhledem k tomu, že tvoří 20 % celkového proteinového rezervoáru má na uvolňování v době potřeby největší podíl. Existuje určitý *tkáňový "pool" aminokyselin*; jeho množství v různých tkáních je různé a tato variabilita se týká i jednotlivých aminokyselin. Je možno s určitou mírou

zjednodušení rozdělit aminokyseliny z tohoto hlediska do 3 skupin: V první je *aspartát, glutamát, glutamin a taurin*, jejichž koncentrace v cytoplasmě buněk je 10 -15krát vyšší než v plasmě; v druhé skupině (početně největší) jsou aminokyseliny, jejichž koncentrace intracelulární se blíží koncentraci v krevní cirkulaci; třetí skupinu tvoří aminokyseliny s větveným řetězcem (*leucin, isoleucin, valin*), jejichž koncentrace v buňkách je nižší než v plasmě a dále *methionin a tryptofan*, jejichž nitrobuněčný cytoplasmatický obsah je velmi nízký

**Tab. 1: Počet enzymů potřebných pro syntézu aminokyselin**

(v závorce písmenový symbol dané aminokyseliny)

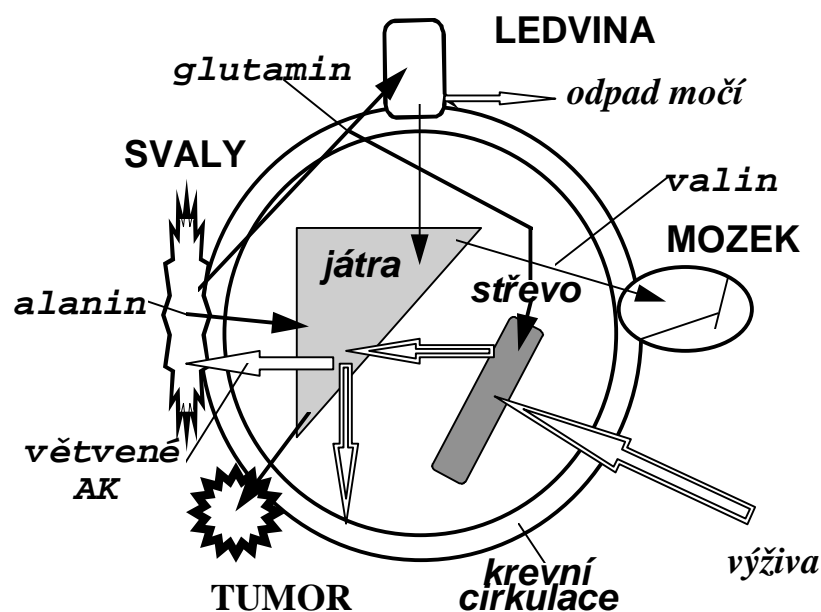
Nutričně esenciální (ev semiesenciální)	Nutričně neesenciální
Thr (T) 6	Ala (A) 1
Met (M) 5	Asp (D) 1
Lys (K) 8	Asn (N) 1
Ile (I) 8	Glu (E) 1
Val (V) 1	Gln (Q) 1
Leu (L) 3	Hyl 1 (z Lys)
Phe (F) 10	Hyp 1 (z Pro)
Trp (W) 5	Pro (P) 3
	Ser (S) 3
	Gly (G) 1
Arg (R) 7	Cys (C) 2
His (H) 6	Tyr (Y) 1

Z **biologického hlediska** je potřebných všech 20 základních aminokyselin, které tvoří primární strukturu proteinů v organismu. Z tohoto počtu 8 si nedokážeme syntetizovat a musí být přijaty potravou; byly nazvány **esenciální** (nezbytné). Druhá skupina, **neesenciální**, může být syntetizována zdravým dospělým jedincem. Za určitých okolností jako je zvýšená potřeba v období růstu nebo v rekonvalescenci ev. u některých onemocnění (renální selhání, ale také maligní nádorová onemocnění) se stávají některé neesenciální aminokyseliny deficitní; jedná se především o *arginin* (prekurzor radikálu oxidu dusnatého), *histidin*, dále je to *cystein, glycin, tyrosin a glutamin*; navíc ještě *taurin*. Tyto aminokyseliny dostaly název **semiesenciální** nebo **podmíněně esenciální**. Toto rozdělení vzniklo v průběhu fylogeneze; trvalý přísun některých aminokyselin v potravě umožnil je nevytvářet z jednoduchých látek náročnou biosyntézou vyžadující metabolickou energii a přítomnost řady enzymů. Tato neschopnost se zafixovala geneticky.

## 2. Výměna cirkulujících aminokyselin mezi jednotlivými orgány.

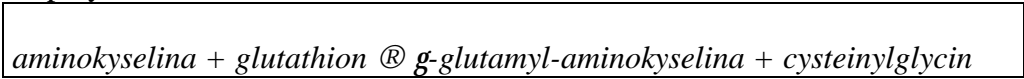
Za normálních okolností (u zdravého jedince) *neustálý tok aminokyselin mezi játry a dalšími orgány* zajišťuje trvalou dostupnost utilizovatelného dusíku (Obr. 1). Do jater je většina dusíku transportována z jiných tkání ve formě glutaminu nebo alaninu.

Vstřebané aminokyseliny *po jídle* se dostávají nejprve portálním oběhem do jater, kde jsou metabolizovány následovně: (a) neesenciální aminokyseliny jsou kompletně hepatocyty extrahovány; esenciální mají dvojí osud: Fenylalanin, lysin, methionin, threonin, tryptofan a histidin jsou v hepatocytech katabolizovány nebo podle potřeby organismu uvolňovány do krevní cirkulace. Aminokyseliny s rozvětveným řetězcem (valin, leucin, isoleucin) jsou extrahovány jen malým dílem a většina se dostává do systémového oběhu (asi 70% všech aminokyselin opouštějících játra). Kosterní svalstvo je hlavním orgánem, který větvené aminokyseliny metabolizuje (Využívá je v myofibrilárních proteinech).

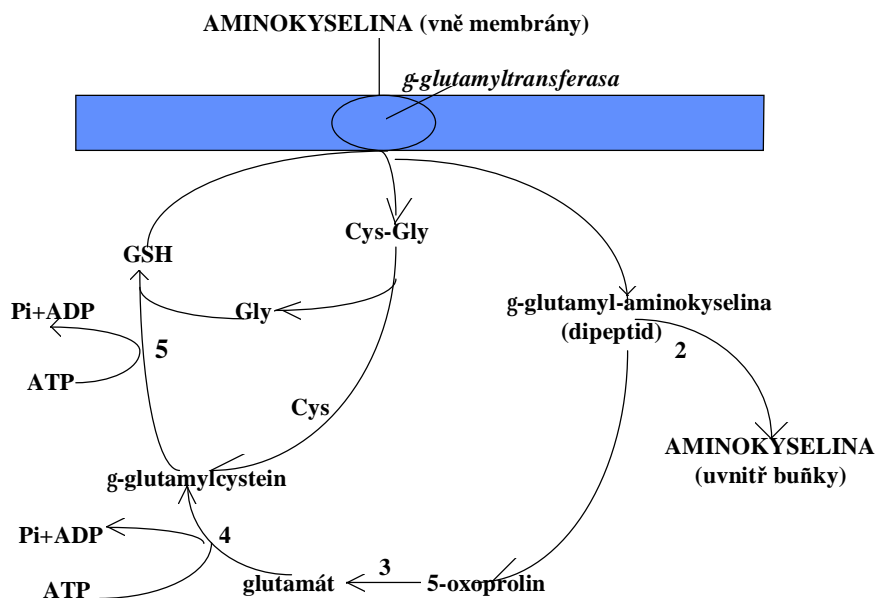


V době *lačnění* dochází k uvolňování aminokyselin ze svalů a plic. Více než 50% aminokyselin uvolňovaných ze svalů tvoří alanin a glutamin; vznikají z pyruvátu respektive z glutamátu. Aminoskupina přenášená na prekurzory těchto aminokyselin pochází z větvených aminokyselin. Do jater se vrací z kosterního svalstva především alanin, který po oxidativní deaminaci dává pyruvát a je tak hlavním zdrojem novotvořené glukosy při glukoneogeneze (alanin-glukosový cyklus) (Obr. 2). Vylučování urey močí je mírou glukoneogeneze z alaninu v játrech. Ten sem přichází z kosterního svalstva. Infúze 100-120 g glukosy denně u pacientů v těžkém stavu ušetří 2/3 svalových proteinů, jejichž aminokyseliny (alanin) slouží při nedostatku glukosy jako substrát pro glukoneogenezu. Kromě toho podaná glukosa podněcuje sekreci insulinu, který snižuje katabolismus proteinů. Do střevní sliznice se dostává ze svalů glutamin, kde slouží částečně jako zdroj energie (po přeměně na glutamát a 2-oxoglutarát, který je součástí citrátového cyklu). Glutamin, který přichází do ledvin, je zdrojem amonných iontů vylučovaných do moči. Glutamin však je též důležitým substrátem pro rostoucí nádor. (viz dále).

**Přenos aminokyselin přes buněčnou membránu** je zprostředkován několika transportními systémy, zčásti sdruženými s transportem sodíkových iontů. Jeden z těchto systémů navržený Alton Meisterem vysvětluje přenos prostřednictvím dipeptidu glutamové kyseliny. V tomto mechanismu slouží glutathion (=γ-glutamylcysteinylglycin) jako donor γ-glutamylové skupiny :

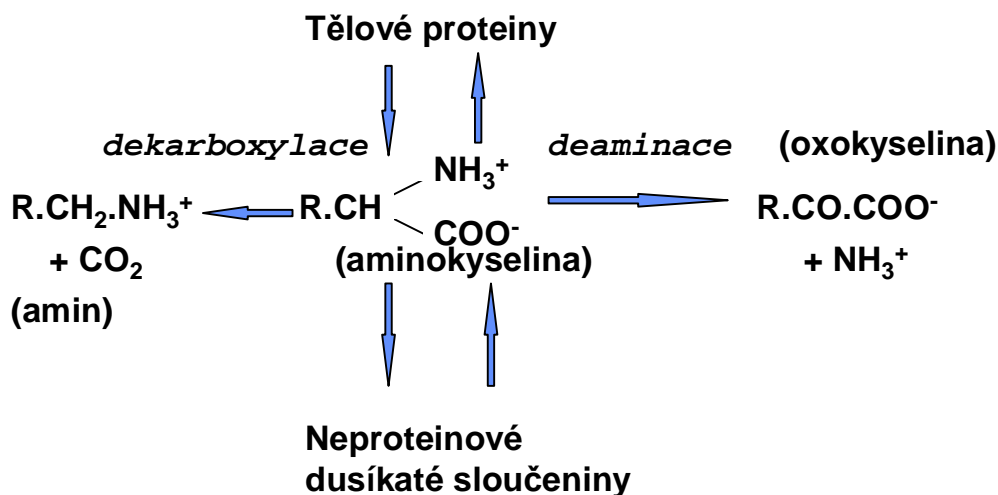


. Z γ-glutamylového komplexu je aminokyselina ihned hydrolyzována a glutathion je resyntetizován z cysteinylglycinu. Enzymem, který katalyzuje tuto reakci je γ-glutamyl-transferasa lokalizovaná v membráně. Substrátem mohou být všechny základní aminokyseliny vyjma prolinu. Podobným způsobem mohou být přenášeny i některé dipeptidy. Tento transportní mechanismus se nazývá **g-glutamylový neboli Meisterův cyklus**. V cytoplasmě se jeho katalýzy účastní další enzymy: dipeptidasa (2), 5-oxoprolinasa (3), γ-glutamylcysteinsynthasa (4) a γ-glutamylcysteinylglycinsynthasa (5). Transport potřebuje energii (2 molekuly ATP) (Obr. 3).

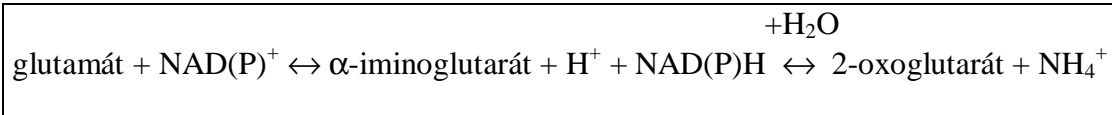


### 3. Katabolismus aminokyselin.

Odbourávání aminokyselin, a to jak přijatých potravou, tak vytvořených v organismu, (Obr. 4) začíná odstraňováním amino-skupin (oxidační deaminace) a pokračuje metabolizací uhlíkového skeletu

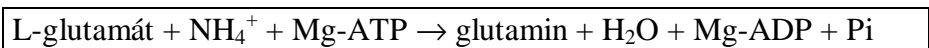


K odstranění  $\alpha$ -NH<sub>2</sub>-skupiny dochází prostřednictvím transaminace, při níž se aminoskupina přenáší na  $\alpha$ -ketokyselinu za vzniku  $\alpha$ -oxokyseliny a nové aminokyseliny. Tyto reakce jsou katalyzovány specifickými aminotransferasami; jako kofaktor zde působí pyridoxal-5-fosfát. Většina aminokyselin ve druhém stupni využívá jako substrát pouze 2-oxoglutarát (někdy též oxalacetát), takže konečným produktem je glutamát (nebo aspartát), které mohou být vzájemně přeměňovány účinkem glutamát-aspartátaminotransferasy. Glutamát je za pomoci glutamátdehydrogenasy (GMT) oxidačně deaminován v mitochondriích. Jako redoxní kofaktor je používán jak NAD<sup>+</sup> tak NADP<sup>+</sup>. Reakce je inhibována GTP a aktivována ADP; je téměř v rovnováze ( $\Delta G \approx 0$ ). Rychlost a směr reakce jsou regulovány koncentrací substrátů a produktů. V rovnováze je zvýhodněna tvorba glutamátu před uvolněním amoniaku :



Tento rovnovážný stav je fyziologicky velmi důležitý, protože napomáhá udržet velmi nízkou koncentraci  $\text{NH}_4^+$ , resp.  $\text{NH}_3$ , který je pro organismus toxický. *Detoxikace  $\text{NH}_4^+$*  u člověka se děje dvěma způsoby:

*První* s menší kapacitou, ale s vysokou účinností je realizován amidací glutamátu na glutamin v mitochondriích za přísunu energie, reakci katalyzuje glutaminsynthasa. Reakce je velice favorizována ve prospěch syntézy glutaminu:



Vzniklý *glutamin* je převažující aminokyselinou v plasmě i v tkáních. Krevní cirkulací probíhá přesun mezi orgány, především kosterním svalstvem, ledvinou, játry, střevem a orgány v splachnické oblasti. V ledvině je glutamin též hydrolyzován glutaminasou za vzniku  $\text{NH}_4^+$  a glutamátu. Tato reakce nevyžaduje přítomnost nukleotidů (ATP, ADP). Amonný ion je vylučován z tubulárních buněk do moči a podílí se tak na regulaci acidobazického metabolismu. *Druhý způsob detoxikace  $\text{NH}_4^+$  probíhá v játrech v cyklu tvorby močoviny (ureageneze)*. Je kapacitně velmi výkonný a odstraňuje přebytečné  $\text{NH}_4^+$  ionty přicházející z krevní cirkulace, ale též ze splachnicku cestou vena portae. Do cyklu nevstupuje  $\text{NH}_4^+$  přímo, ale prostřednictvím *karbamoylfosfátu*, který vzniká v mitochondriích z  $\text{NH}_4^+$ ,  $\text{HCO}_3^-$  a dvou molekul Mg-ATP za katalýzy karbamoylfosfátsynthetasy I. Existuje ještě cytosolová karbamoylfosfátsynthetasa II, která využívá jako donor dusíku glutamin a podílí se na syntéze pyrimidinů (důležité pro rostoucí tkáň). V cyklu tvorby močoviny reaguje karbamoylfosfát s ornithinem (ornithin-karbamoyl-transferasa) ze vzniku citrulinu, který s aspartátem za přísunu energie z ATP poskytuje argininosukcinát (argininosukcinátsynthetasa); ta je rozložena na fumarát a arginin (argininosukcinátlyasa); arginin je pak hydrolyzován (arginasa) na močovinu a ornithin. Močovinový cyklus je spojen s citrátovým cyklem jednak přes fumarát (z argininosubstrátu) a jednak přes 2-oxoglutarát, z kterého vzniká transaminací aspartát potřebný pro tvorbu argininosukcinátu.

Regulace močovinového cyklu se děje hned v prvním kroku při vzniku karbamoylfosfátu za katalýzy mitochondriální karbamoylfosfátsynthetasy I, která je allostericky aktivována N-acetylglutamátem.

## Poruchy ureageneze

Dědičné metabolické poruchy vznikají defektem ureagenetických enzymů. Onemocnění se projevuje většinou záhy po narození nebo v kojeneckém věku. Hlavním laboratorním příznakem je *hyperamonemie*. V klinickém obraze je zvracení, odmítání potravy s proteiny, intermitentní ataxie, zvýšená dráždivost, letargie, mentální retardace.

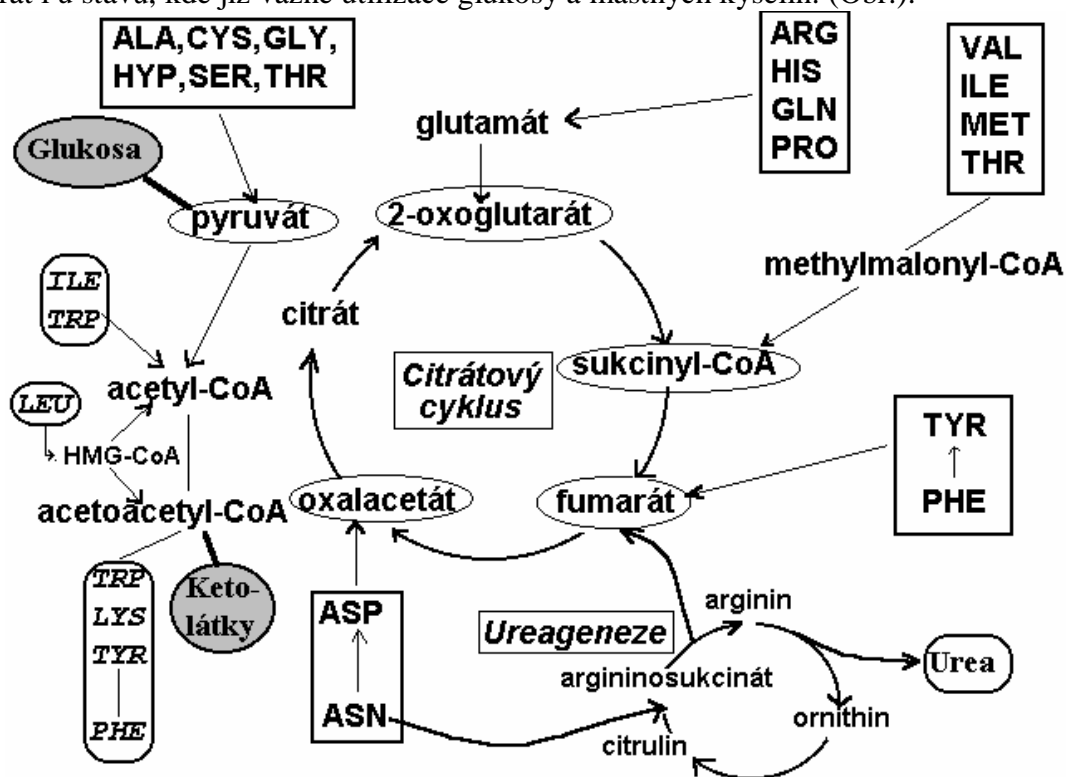
Patří sem:

- **Hyperamonemie typ I** (deficit karbamoylfosfátsynthetasy)
- **Hyperamonemie typ II** (deficit ornithintranskarbamoylasy) (zvýšení glutaminu v krvi, moči, moku)
- **Citrulinemie** (deficit argininosukcinátsynthetasy) (velké množství citrulinu v moči - 1 až 2g/den)
- **Argininosukcinátová acidurie** (defekt argininosukcinasy)
- **Hyperargininemie** (defekt arginasy)

#### 4. Katabolismus uhlíkového skeletu aminokyselin

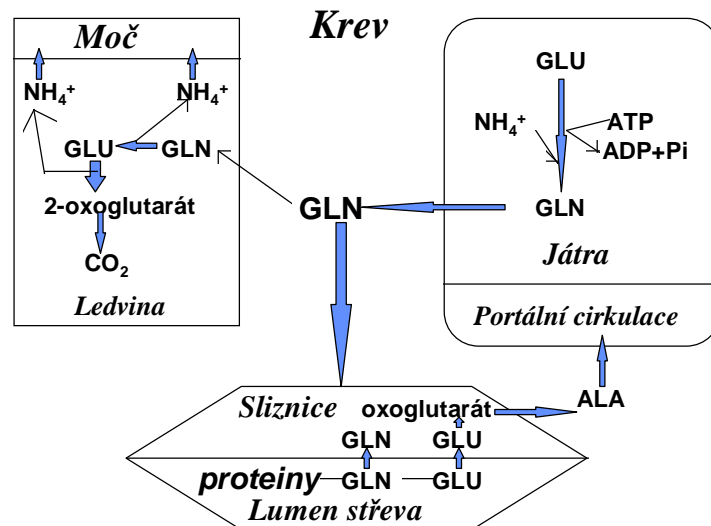
Tento metabolismus vyúsťuje především v tvorbu intermediárních produktů citrátového cyklu, čímž je umožněna interkonverze uhlíkového skeletu aminokyselin na skelet glukosy (glukoneogeneze) nebo ketolátek (ketogeneze) ev. cholesterolu a lipidů (lipogeneze). Podle výsledných produktů můžeme aminokyseliny dělit na *glukogenní* (14 aminokyselin), jedna je pouze *ketogenní* (Leu) a 3 jsou *glukogenní i ketogenní* (Ile, Phe, Tyr). Ne zcela vyjasněn zůstává v tomto ohledu osud *tryptofanu* a *lysinu*. Význam glukogenních aminokyselin spočívá v tom, že mohou být v době nedostatku glukosy v buňce jejím zdrojem (glukoneogeneze) pro správnou funkci citrátového cyklu.

Do jisté míry *specifický metabolismus prodělává lysin*. Intaktní molekula, tj. s oběma aminoskupinami ( $\alpha$ ,  $\epsilon$ ) reaguje s 2-oxoglutarátem za vzniku sacharopinu, který po hydrolyze a dehydrogenaci dává glutamát a  $\alpha$ -aminoadipát. Aminoskupina v poloze  $\epsilon$  se tak přenesla též do polohy  $\alpha$ . L- $\alpha$ -aminoadipát dává transaminací 2-oxoadipát a dále pak glutaryl-CoA. *Specifické postavení v metabolismu mají také aminokyseliny s rozvětveným řetězem (valin, leucin a isoleucin)*. První dva počáteční kroky jsou společné: transaminací vznikají příslušné 2-oxokyseliny, které po oxidační dekarboxylaci poskytují příslušné  $\alpha,\beta$ -thioestery nenasycených acyl-CoA. Tyto jsou pak metabolizovány samostatně, valin dává sukcinyl-CoA, isoleucin propionyl CoA a acetyl-CoA, leucin pak  $\beta$ -hydroxy- $\beta$ -methyl-glutaryl-CoA, který je prekurzorem jednak ketolátek (acetoacetát), jednak mevalonátu, tedy prekurzoru cholesterolu a polyisoprenoidů. Rozvětvené aminokyseliny mohou sloužit jako energetický substrát i u stavů, kde již vážně využije glukosy a mastných kyselin. (Obr.).



Svým způsobem má zvláštní postavení *alanin*, který je bezprostředním prekurzorem pyruvátu a je členem důležité cyklické výměny alaninu a glukosy mezi kosterním svalstvem a játry napojeným i na výměnu laktátu a glukosy mezi těmito orgány (*alanin-glukosový a glukosa-laktátový cyklus*). Oba cykly slouží k obnově dodávky glukosy pro tkáň, které ji potřebují jako hlavní zdroj energie v určitých situacích.

Podobně i *glutamin* slouží k dodávce energie pro rychle proliferující tkáň jako je sliznice střevní a buňky imunitního systému. Z jater se dostává *glutamin* krevní cirkulací do sliznice tenkého střeva, kde uhlíkový skelet slouží jako hlavní energetický substrát. Oxidují se však pouze 2 uhlíky a z pětiuhlíkového glutaminu vzniká tříuhlíkový *alanin*, který se vrací portálním oběhem do jater (*glutaminový cyklus*) (Obr. 6)



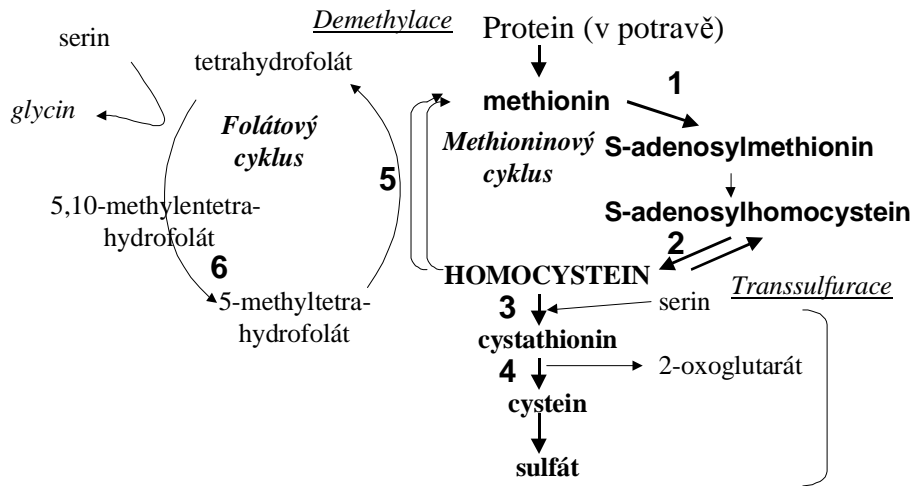
#### 4.1. Metabolismus aminokyselin obsahujících síru (metabolismus homocysteinu)

Přeměna *aminokyselin obsahujících síru* je propojena s řadou důležitých biochemických reakcí jako je methylace (prostřednictvím *S*-adenosylmethioninu) a remethylace (prostřednictvím tetrahydrofolátu), dále antioxidační reakce (glutathion) a “pufrování” redox potenciálu intracelulárních sulfhydrylových skupin. Esenciální aminokyselinou je *methionin*, který s ATP dává velmi reaktivní *S*-adenosylmethionin, předávající CH<sub>3</sub>-skupinu řadě akceptorů (kupř. fosfatidylethanolamin → fosfatidylcholin, noradrenalin → adrenalin, glykocycin → kreatin, RNA a DNA → methylované RNA a DNA); vzniká tak *homocystein*, centrální metabolit, který může být jednak remethylován na *methionin* (donorem CH<sub>3</sub>- je opět tetrahydrofolát), jednak reakcí se serinem může přejít na *cystathionin*; ten se pak rozkládá na *homoserin* a *cystein*; oxidací cysteinu (přes cysteinsulfínát) vzniká *taurin* (aminokyselina tvořící vysoký podíl intracelulárních volných aminokyselin zvláště v játrech kosterním svalstvu a myokardu).

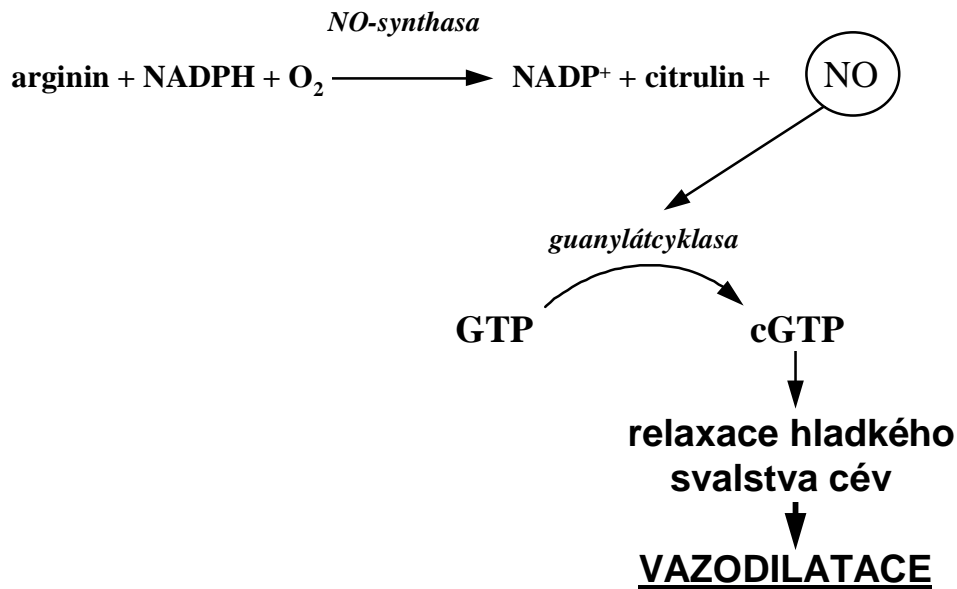
Za normálních okolností se udržuje vyvážená nízká koncentrace *homocysteinu* intracelulárně, tímže je buď remethylován zpět na *methionin* nebo metabolizován *transsulfurační cestou*. Při poruše tohoto vyváženého metabolismu dědičně podmíněnou alterací participujících enzymů (vitamin B<sub>6</sub>-dependentní cystathionin-β-synthasy (transsulfurační cesta) nebo methylenetetrahydrofolát-reduktasy či vitamin B<sub>12</sub>-dependentní methionin-synthasy (remethylační cesta). Genetický defekt (s autosomálně recesivní dědičností) se klinicky projevuje jako *hereditární homocystinurie* s výraznou hyperhomocystinemií a dalšími charakterickými příznaky. Existuje však *mírná hyperhomocystinemie* jako nezávislý rizikový faktor pro předčasný výskyt ischemické choroby srdeční, cerebrovaskulárních příhod nebo onemocnění periferních cév. Zatímco u dědičné homocystinurie se hladina homocysteinu v plasmě pohybuje kolem 50–500 μmol/l, u mírné hyperhomocysteinemie to je 15–25 μmol/l (normální hodnoty: 5–15 μmol/l).

## 4.2. Metabolismus argininu a vznik NO.

Obr.: Vznik volného radikálu oxidu dusnatého (NO) z argininu a jeho účinek na vazodilataci



- 1 = methionin-adenosyltransferasa
- 2 = S-adenosylhomocysteinhydrolasa
- 3 = cystathionin-β-synthasa (B6)
- 4 = γ-cystathionasa (B6)
- 5 = methioninsynthasa (B12)
- 6 = methylenetetrahydrofolátreduktasa

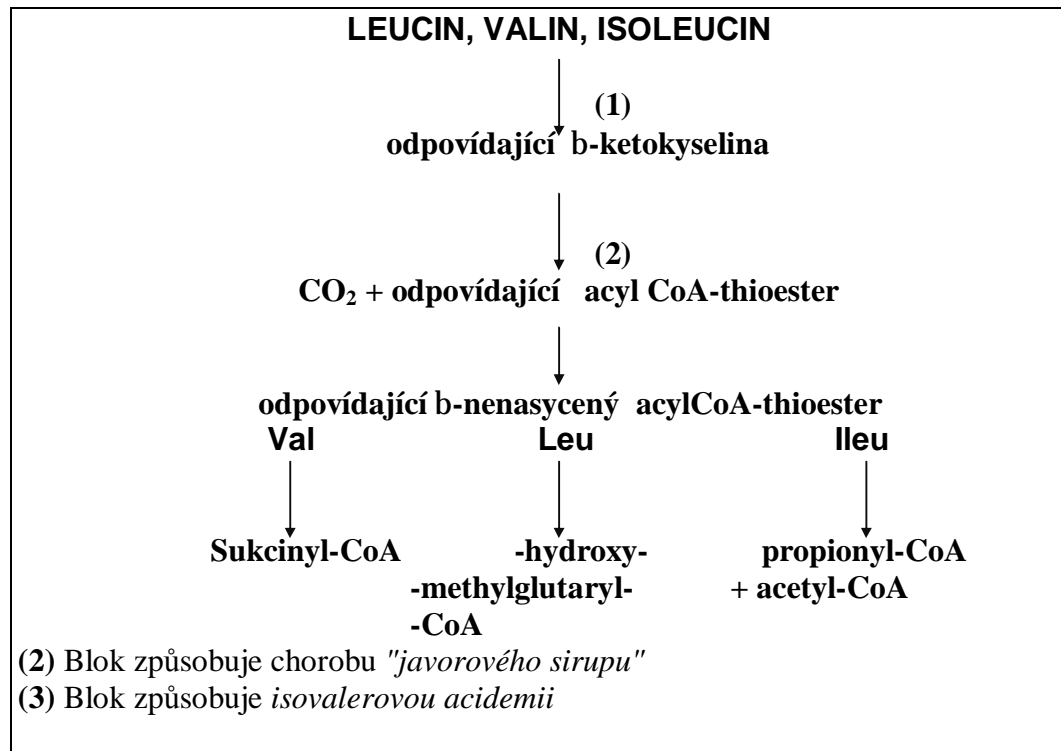




### 4.3. Metabolismus větvených aminokyselin

#### *Leucin, isoleucin, valin*

Tyto větvené aminokyseliny mají významný vztah k mozkové tkáni. Vychytávání valinu mozkem převyšuje všechny ostatní aminokyseliny. Oxidace leucinu, isoleucinu a valinu je v mozku 4 krát větší než v játrech. Mozek je primárním místem jejich utilizace v postabortivním stadiu. Degradace probíhá v prvním stupni transaminací za katalýzy společného enzymu.



### 5. Přeměna aminokyselin na specializované biologicky důležité produkty.

Kromě toho, že jednotlivé hlavní aminokyseliny tvoří primární strukturu proteinů, při níž záměna jedné aminokyseliny za jinou může vést k výrazným biologickým změnám alterované bílkoviny, jsou aminokyseliny nutné k biosyntéze jiných fyziologicky důležitých produktů jako jsou puriny, pyrimidiny, sloučeniny hemu, hormony, neurotransmitery a další biologicky aktivní peptidy .

#### Hem

succinyl-CoA + *glycin*  $\rightarrow$   $\delta$ -aminolevulát  $\rightarrow$  porfobilinogen  $\rightarrow$  **porfyriny**

#### Nukleotidy

*glycin, glutamin, aspartát, amino N*  $\rightarrow$  **purinové a pyrimidinové nukleotidy**

#### Biogenní aminy

*fenylalanin, tyrosin*  $\rightarrow$  **katecholaminy**

*histidin*  $\rightarrow$  histamin; *tryptofan*  $\rightarrow$  serotonin; *glutamát*  $\rightarrow$  4-aminomáselná kyselina (GABA)

#### Polyaminy

*arginin* ® *ornithin*  $\rightarrow$  **polyaminy**

#### Kreatinfosfát

*arginin*  $\rightarrow$  glykocyanin (guanidoacetát)  $\rightarrow$  kreatinfosfát

## Glutathion

*glutamát + cystein + glycin* →  $\gamma$ -glutamylcysteinylglycin

## Radikál oxidu dusnatého (NO·)

*arginin* → NO

## Foláty

pteroová kyselina + *glutamát* → tetrahydrofolát, donory jedné uhlíkové zbytků

## Peptidové hormony, enzymy

(*všechny aminokyseliny*)

## Signální peptidy, receptory

(*všechny aminokyseliny*)

## 6. Dědičné poruchy metabolismu aminokyselin

Geneticky podmíněné defekty v enzymových systémech katalyzujících odbourávání aminokyselin způsobují řadu chorobných stavů. Jejich odhalení má význam pro nasazení správné terapie (především vysazení té sloučeniny nebo jejich prekurzorů v dietě, jejichž metabolismus je narušen). Zabrání se tak často ireversibilnímu poškození některých orgánů.

### *Fenylalanin*

#### \* Hyperfenylalaninemie

V současné době se rozlišuje 8 typů, které se liší jak klinickým průběhem závažností) tak ev. terapií.

Tab.: Typy dědičných hyperfenylalaninemií

<i>Typ</i>	<i>Syndrom</i>	<i>Defekt</i>	<i>Terapie</i>
I	Fenylketonurie	chybění fenylalanin hydroxylasy	dieta s nízkým fenylalaninem
II	Persistentní hyperfenylalaninemie	snížení	žádná nebo jen občasná dietoterapie
III	Přechodná mírná hyperfenylalaninemie	opoždění ve vyžívání fenylhydroxylasy	jako u typu II
IV	Nedostatečnost dihydropteridin-reduktasy	Nedostatek nebo chybění enzymu	DOPA,5-hydroxytryptofan
V	Abnormální funkce dihydrobiopterinu	Defekt syntézy dihydrobiopterinu	jako u typu IV
VI	Persistentní hyperfenylalaninemie	? katabolismus tyrosinu	snížení dávky Phe v dietě
VII	Přechodná tyrosinemie u novorozenců	inhibice 4-hydroxy-fenylpyruvát oxidasy	vitamin C
VIII	Hereditární tyrosinemie	Nedostatečnost: 1. 4-hydroxyfenylpyruvátdeoxygenasy 2. tyrosinamino-transferasy v cytoplasmě 3. fumarylacetoacetát hydrolasy	↓ Tyr v dietě  ↓ Tyr aplikace glutathionu

### *Tyrosin*

#### \* Tyrosinemie Typ I (tyrosinosa)

Pravděpodobný defekt ve fumarylacetoacetylhydroxylase. U akutní formy kojenci mají průjem, zvracejí, neprospívají. Neléčená končí fatálně (selhání jater) do 6-8 měsíců.

#### \* Tyrosinemie Typ II

Pravděpodobně defekt v jaterní tyrosinaminotransferase. Obraz: oční a kožní poškození; mírná retardace mentální. V moči kromě Tyr též metabolity.

**\* Neonatální tyrosinemie**

Asi relativní deficit 4-hydroxyfenylpyruváthydroxylasy. Léčení dietou s nízkým obsahem proteinů, benigní.

**\* Alkaptonurie**

Defekt homogentisát oxidasy. Charakteristická moč, která stáním tmavne. Později pigmentace kolagenní tkáně (ochronosis) a dále projevy artritidy.

**Cystin**

**\* Cystinurie (lépe: cystin-lysinurie).** V moči kromě cystinu (20-30 krát více než je normál) je zvýšen též lysin, arginin a ornithin. Porucha renální zpětné resorpce, diaminokyselin. Hrozí nebezpečí cystinových močových kamenů. Pomáhá alkalizace moče.

**\* Cystinosis** (choroba z ukládání cystinu)

Jde o dědičné onemocnění, při kterém se cystinové krystaly ukládají v některých tkáních a orgánech (především v retikuloendotelu). Je provázena *generalizovanou hyperaminoacidurií*. Nebezpečí akutního renálního selhání.

**\* Homocystinuria**

Je několik forem. Jde o poruchu remethylačního cyklu s defektem různých enzymů (cystathionin- $\beta$ -synthasa, methylen tetrahydrofolatreduktasa apod.).

Některé formy jsou vitamin B<sub>6</sub> rezpozivní. Výživa dietou s nízkým obsahem methioninu a zvýšeným množstvím cystinu zabrání vzniku patologických změn, je-li s ní započato hned od narození.

**Prolin**

**\* Hyperprolinemie Typ I.**

Jde o defekt prolindehydrogenasy. Není porušen katabolismus hydroxyprolinu.

**\* Hyperprolinemie Typ II**

Porušena dehydrogenasa glutamát- $\gamma$ -semialdehydu (společné pro hydroxyprolin).

**Glycin**

**\* Glycinurie.** Má normální plasmatický glycin, ale výrazně vyšší v moči

**\* Primární hyperoxalurie**

Jde o poruchu metabolismu glyoxalátu, který se mění na oxalát. Zvýšené vylučování je příčinou oxalátových močových konkrementů už v dětství.

**Lysin**

Uhlíkový řetězec lysinu se metabolizuje na  $\delta$ -aminoadipát a  $\delta$ -ketoadipát přes sacharopin. Jsou známy 2 poruchy:

**\* Periodická hyperlysinemie s hyperamonemií.** Zvýšení lysinu nastává po požití bílkovin.

**Hyperamonemie** je důsledek kompetitivní inhibice jaterní arginasy.

**\* Persistentní hyperlysinemie bez hyperamonemie**

Někteří pacienti jsou mentálně retardováni. Není však hyperamonemie. Ani katabolity lysinu nemusí být zvýšeny.

**Tryptofan**

Metabolizuje se tzv. kynurenin-anthranilátovou drahou.

**\* Hartnupova choroba**

Je charakterizovaná pelagroidní kožní vyrážkou, intermitentní mozečkovou ataxií a mentální retardací. Je zvýšený tryptofan a derivát indolacetátu.

## 6. Vylučování dusíkatých sloučenin ledvinami (močí)

Ledviny jsou hlavním orgánem, který vylučuje konečné produkty metabolismu

- **močovinu** jako konečný metabolit dusíku bílkovin. Urea tvoří při snížené dietě asi 80% N vylučovaného močí. Urea podléhá glomerulární filtraci a tubulární zpětné resorpci (v proximálním tubulu se isotonicky vstřebává zpět a 50% glomerulem profiltrované urey spolu s H<sub>2</sub>O), v sestupném raménku Henleovy kličky se část urey vylučuje do lumen; ve sběrném kanálku pak nastává další zpětná resorpce.

Zvýšení urey v séru může proto nastat při omezeném průtoku krve ledvinou (kupř. hypovolemie při dehydrataci), aniž by byla ledvina organicky poškozena (tzv. prerenální uremie)

- **kreatinin** jako konečný metabolit energetického svalového metabolismu (z kreatinfosfátu). Kreatinin podléhá pouze glomerulární filtraci; v tubulech nedochází ke zpětné resorpci (rozdíl od urey); pouze malé množství se secernuje (asi 10%); toto secernované množství však stoupá, když je kreatinin v plasmě patologicky zvýšen a to až na 80%. Vzestup v plasmě však nastává až se sníží glomerulární filtrace na 50%. Stanovení tzv. clearance endogenního kreatininu je mírou glomerulární filtrace, pakliže glomerulární filtrace není nižší než 50%

- **aminokyseliny** podléhají glomerulární filtraci a v proximálním tubulu se resorbují zpět (mechanismus resorpce je uskutečňován specifickým mechanismem, který, je-li narušen, vede k hyperaminoacidurii)

- **kyselina močová** je konečným metabolitem metabolismu nukleových kyselin (purinů). Podléhá glomerulární filtraci i tubulární zpětné resorpci a sekreci

- **amoniak** se vylučuje ve formě NH<sub>4</sub><sup>+</sup> do moče v distálním tubulu (odstraňování H<sup>+</sup> jako důležitý regulační faktor acidobazické rovnováhy).

### . Proteinová a energetická malnutrice

Nedostatečný příjem proteinů a energie v potravě vede jak k úbytku celkové tělesné hmoty tak tukové tkáně, i když ne rovnoměrně. Proteinová a energetická malnutrice *primárně* vzniká, když kvalita i kvantita výživy je dlouhodobě insuficientní. V některých rozvojových zemích se vyskytuje endemicky, s prevalencí až 25%. Je to především problém tam, kde hlavní složkou potravy jsou rostlinné proteiny s nízkou biologickou hodnotou za současné vysoké incidence infekčních chorob. Při nedostatečném energetickém přívodu jsou oxidovány proteiny jako energetický zdroj a nejsou využívány pro syntézu tělesných bílkovin. Klinickým projevem u dětí v rozvojových zemích jsou to především dva syndromy: *kwashiorkor* a *marasmus*.

#### • **Kwashiorkor**

Předpokládá se, že je způsobena selektivním proteinovým deficitem. Projevuje se malým vzrůstem, edémem, hypoalbuminemií, steatózou jater, prezervací (uchováním) subkutánního tuku.

#### • **Marasmus**

Je způsoben jak nedostatečným (nekvalitním) příjmem proteinů tak nedostatečným přívodem kalorií. Je charakterizován zaraženým růstem, ztrátou tukové tkáně, generalizovaným úbytkem svalové hmoty; nejsou však edémy.

Smíšené formy se vyskytují jak u dětí tak u dospělých.

*Sekundární forma* proteino-energetické malnutrice se vyskytuje i v průmyslově rozvinutých zemích jako důsledek patologických stavů vedoucích k nedostatečnému příjmu výživy vzhledem k potřebám organismu.

Hlavní příčiny mohou být:

1. *Snížený perorální příjem*
  - anorexie
  - nauzea
  - dysfagie
  - bolest
  - GIT obstrukce
  - výrazný třes rukou
  - špatná dentice
2. *Zvýšené ztráty výživných látek*
  - malabsorpce
  - průjem
  - krvácení
  - glykosurie
3. *Zvýšená potřeba*
  - horečka
  - infekce
  - nádorové onemocnění
  - větší chirurgické zákroky

Malnutrice se může vyvíjet pomalu (chronické částečné hladovění) nebo rychle na základě těžké akutní choroby. U nekomplikovaného hladovění nebo částečného hladovění se organismus dokáže postupně adaptovat.

### Proteiny

Minimální denní potřeba proteinů u dospělého jedince činí 1g proteinu/kg/den tj u 70 kg jedince 11 gN/den

U hyperkatabolických stavů (dle situace) 1,3–2,0 g aminokyselin/kg/den

**Tab.: Nutriční obohacení určitými aminokyselinami (přidávky do běžných řízených diet)**

<i>Přídavek</i>	<i>Metabolický význam</i>	<i>Účinek</i>
<b>Glutamin</b>	Je energetickým zdrojem pro enterocyty a imunocyty. Potřebný pro hepatální glutathion	Parenterální podání snižuje infekciozitu a délku hospitalizace pacientů po transplantaci dřeně
<b>Arginin</b>	Podporuje cytotoxicitu lymfocytů prostřednictvím NO-radikálu. Je substrátem pro syntézu polyaminů, podporuje proteosyntézu stimulací růstového hormonu	Zvyšuje počet T-lymfocytů u pacientů léčených chirurgicky, snižuje délku hospitalizace, urychluje hojení ran
<b>Větvené aminokyseliny</b>	Regulují v kosterním svalstvu metabolismus svalových proteinů. Jsou sníženy u pacientů v katabolické fázi, zvýšeny u hepatopatií	Suplementace snižuje výskyt hepatální encefalopatie, zvyšuje dusíkovou bilanci u septických stavů
<b>Sírné aminokyseliny</b>	Glutathion je hlavním "zametačem" volných radikálů v krvi. Taurin tvoří konjugáty se solemi žlučových kyselin. Karnitin umožňuje transport mastných kyselin do mitochondrií pro $\beta$ -oxidaci. S-adenosylmethionin je donorem $\text{CH}_3$ -skupiny pro cholin a kreatin	Transulfurační metabolity bývají vyčerpány u pacientů na dlouhodobé parenterální výživě. S-adenosylmethionin snižuje nebezpečí cholestázy

### Dusíková bilance

Existuje dynamická rovnováha mezi tvorbou (anabolismus) a odbouráváním (katabolismus) tkáňových proteinů. U zdravých jedinců při vyvážené stravě je příjem dusíku a jeho výdej v rovnováze. Za patologických situací vedoucích k poškození organismu, po chirurgických zákrocích nebo při dlouhotrvajícím stresu dochází k metabolické odpovědi, při níž je převaha katabolismu nad anabolismem. Vzniká negativní dusíková bilance. Nejjednodušší přibližný výpočet získáme porovnáním přívodu N obsaženého v proteinech s obsahem N močovinou vyloučené za 24 hodin močí:

$$N\text{-rovnováha (v g)} = (\text{přívod bílkovin} / 6,25) - (dU\text{-urea v g}) + 2,5$$

$$\text{Proteinová rovnováha} = \text{příjem proteinů} - \text{ztráty proteinů} (= /dU\text{-urea v g} + 4/ \times 6,25)$$

*Poznámka:* Organismus není schopen skladovat proteiny do zásoby jako tomu je v případě glykogenu u sacharidů nebo triacylglycerolů u tuků. Existuje pouze tzv. pohotovostní zásoba aminokyselin (pool), činící u dospělého jedince asi 70–80 g, která je při hladovění vyčerpána v několika málo hodinách.

Doporučený minimální příjem proteinů za den u 70 kg jedince je 1g/kg hmotnosti, což odpovídá 11 g N/ za 24 h.

**Tab. Ztráty dusíku a proteinů u různých pooperačních stavů dle Freye, 1975)**

Chirurgický zákrok	Ztráty N za 24 h (v g)	Ztráty tělesných proteinů (g/24 h)
<i>Břišní operace</i>	10–18	62,5–112,5
<i>Resekce žaludku</i>	15–20	93,75–125,0
<i>Cholecystektomie</i>	do 15	do 93,75
<i>Resekce plic</i>	do 22	do 137,5
<i>Abdominální hysterektomie</i>	6–15	37,5–93,75
<i>Totální exenterace</i>	až 32	až 200

$$N\text{-rovnováha (v g)} = (\text{přívod bílkovin} / 6,25) - (dU\text{-urea v g}) + 2,5$$

$$\text{Proteinová rovnováha} = \text{příjem proteinů} - \text{ztráty proteinů} (= /dU\text{-urea v g} + 4/ \times 6,25)$$

### Klinická biochemie některých plasmatických proteinů

Krevní plasma obsahuje několik stovek bílkovinných komponent, z nichž většina byla identifikována, ale jen částečně určena jejich funkce. Z tohoto hlediska je můžeme rozdělit do několika kategorií:

- Transportní proteiny (kupř. Albumin, transthyretin, transferin, globulin vázající thyroxin, globulin vázající pohlavní hormony apod.)
- Proteiny akutní fáze (kupř. C-reaktivní protein, serum amyloid A,  $\alpha_1$ -antitrypsin,  $\alpha_1$ -kyselý glykoprotein apod.)
- Proteiny účastníci se srážení krve (fibrinogen, koagulační faktory)
- Proteiny imunitního systému (imunoglobuliny)
- Proteiny s regulační funkcí (proteinové hormony, cytokiny apod.)
- Proteiny a jejich fragmenty vyplavované z buněk a tkání při jejich degradaci nebo poškození (nitrobuněčné enzymy, tumorové markery, membránové proteiny apod.)

Nejčastěji vyšetřované pro diagnostické účely jsou:

**Proteiny akutní fáze** se tvoří ve zvýšené míře v buňkách jaterního parenchymu až po navození syntézy zánětlivou škodlivinou (syntéza *de novo*); tedy nejde o pouhé vyplavení ze zásoby v jaterní tkáni. Indukce syntézy v hepatocytu má tento sled: nejprve se aktivuje RNA-nukleotidyl-transferasa, která uskutečňuje syntézu bílkoviny, přitom hypertrofuje endoplasmatické retikulum a Golgiho komplex a nastává glykosylace polypeptid. řetězce.

Signál, kterým je jaterní buňka o zánětu informována, je vyplavení cytokinů (především interleukinu 6, dále interleukinu 1 a tumorového nekrotického faktoru  $\alpha$ ). Každý z nich indukuje syntézu různých proteinů.

*Proteiny akutní fáze mají specifické funkce:* Působí jako *regulátory zánětlivého procesu*, který je vlastně výrazem tvorby granulační tkáně jako průvodní jev celulární reparační a hojení. Zánětlivé proteiny se koncentrují v okolí zánětlivého ložiska. Toto nahromadění podporuje lokální venózní vasodilataci. Působí jako *mediátory různých biologických reakcí* (kupř. CRP nebo proteiny komplementu) nebo jako inhibitory (kupř.  $\alpha_1$ -antitrypsin nebo  $\alpha_1$ -antichymotrypsin) *vázající proteolytické fermenty* uvolněné z fagocytů, a brání tak poškození tkání; mají též úlohu „*zametačů*“. CRP opsonizuje fragmenty nukleových kyselin, sérumamyloid A protein podporuje vyčistění cholesterolových zbytků z rozpadlých membrán a haptoglobin váže hemoglobin v plasmě při intravazální hemolýze; *imunomodulační účinek* je přisuzován  $\alpha_1$ -kyselému glykoproteinu, jenž má určitou homologní sekvenci s Ig, který je exprimován na membráně imunokompetentních buněk; některé reaktanty akutní fáze *kontrolují bílkoviny pojiva*.  $\alpha_1$ -antitrypsin a  $\alpha_1$ -antichymotrypsin tvoří depozity na nově vytvořených vláknech elastinu.

V průběhu zánětlivého procesu obvykle převažuje vylučování bílkovin z jater nad jejich katabolismem, což vede ke vzestupu bílkovin akutní fáze. Netýká se to však všech druhů bílkovin.

Z tohoto hlediska možno reaktanty akutní fáze rozdělit do tří kategorií.

A. *Bílkoviny produkované rychleji, než jsou odbourávány (plasmatická koncentrace zvýšena):*

- C-reaktivní protein,
- sérumamyloid A protein,
- kyselý  $\alpha_1$ -glykoprotein (orosomukoid),
- $\alpha_1$ -antichymotrypsin,
- $\alpha_1$ -antitrypsin,
- haptoglobin,
- ceruloplasmin,
- fibrinogen.

B. *Bílkoviny produkované stejnou rychlostí jako odbourávané (plasmatická koncentrace se mění málo):*

- $\alpha_2$ -makroglobulin,
- C3-složka komplementu.

C. *Bílkoviny rychleji odbourávané než produkované (plasmatická koncentrace snížena):*

- Transferin,
- transthyretin,
- albumin.

Některé fyzikálněchemické charakteristiky proteinů akutní fáze jsou uvedeny v tab.

**Tab. :Fyzikálněchemické vlastnosti proteinů akutní fáze**

<i>Protein</i>	<i>M<sub>r</sub></i>	<i>ELFO pohyblivosti</i>	<i>pI</i>	<i>Obsah sacharidů (%)</i>	<i>Poločas (den)</i>
<b>Orosomukoid</b>	40 000	$\alpha_1$	2,7	45,0	2–3
<b><math>\alpha_1</math>-antitrypsin</b>	54 000	$\alpha_1$	4,5	12,0	4
<b><math>\alpha_2</math>- antichymotrypsin</b>	68 000	$\alpha_1$	3,8–4,0	26,0	
<b>Haptoglobin</b>	86 000 (Hp 1-1)	$\alpha_2$	4,1	16,5	4
<b>Ceruloplasmin</b>	135 000	$\alpha_2$	4,4	8,0	2–5
<b>Fibrinogen</b>	341 000	$\beta$ - $\gamma$	5,5	2,5	4–6
<b>C-reaktivní protein</b>	(21 500)	$\gamma(\beta)$	6,4	0	1

## Chování proteinů akutní fáze za fyziologických a patologických stavů

Bílkoviny akutní fáze mají kromě svého účinku při zánětlivých procesech nebo při jiných náhlých poškozeních tkání také některé účinky specifické; proto změna jejich koncentrace v krevní plasmě může být u některých stavů odlišná. Co se týče rychlosti nástupu a trvání změn, můžeme je rozdělit do čtyř skupin.

**V první skupině** jsou reaktanty akutní fáze s rychlou odpovědí, jako je *C-reaktivní protein*, *sérumamyloid A protein* (ev. *sérumamyloid P*). Jejich vzestup nastává už po 6 hodinách a dosahuje maxima za 48 hodin. Vzestup může být až 1000násobný oproti fyziologické hodnotě. Znamená to, že tyto reaktanty mají důležité postavení v reakci akutní fáze a tím v obranném mechanismu jedince. Nebyl totiž popsán žádný případ s deficitní syntézou.

**Ve druhé skupině** jsou proteiny, jejichž nástup i vrchol je o něco pozvolnější. K prokazatelnému zvýšení dochází 12–24 hodin po poškození tkání a vrcholí za 72–96 hodin. Návrat k normálním hodnotám je u nekomplikovaných případů za 18–21 dní. Patří sem  $\alpha_1$ -*antichymotrypsin*,  $\alpha_1$ -*antitrypsin*, *haptoglobin* a *fibrinogen*. Maximální vzestup je 2–4násobný.

**Třetí skupina**, zastoupená např. *ceruloplasminem*, *C3-složkou komplementu*, reaguje ještě pozvolněji a maximální vzestup je obvykle 50–100 %.

**Ve čtvrté skupině** je pak kupř. *transthyretin* (*prealbumin*), *transferin* a *albumin*, které se počítají jako negativně reagující reaktanty akutní fáze, u nichž se při poškození tkání koncentrace v krevní plasmě snižuje.

Tab. :Změny v koncentraci proteinů akutní fáze

Reaktant	Patologické zvýšení (krát)	Fyziologické hodnoty ( g/l )	Typická koncentrace při zánětu ( g/l )	Rychlost odpovědi (hodiny)
CRP	až 1000	0,00007–0,008	0,4	6–10
SAA	až 1000	0,001–0,030	2,5	6–10
$\alpha_1$ -antichymotrypsin	2–4	0,3–0,6	3,0	10
$\alpha_1$ -antitrypsin	2–4	1,0–2,0	7,0	
$\alpha_1$ -kyselý glykoprotein	2–4	0,5–1,4	3,0	24
Haptoglobin	2–4	1–3	6,0	
Fibrinogen	2–4	2–4,5	10	
Ceruloplasmin	0,5	0,15–0,6	2,0	
C-3 komplement	0,5	0,55–1,2	3,0	48–72
C-4 komplement	0,5	0,20–0,50	1,0	

### Vyšetření spektra reaktantů akutní fáze

I když spouštěcí mechanismus reakce akutní fáze je jednotný pro všechny vyvolávající škodliviny, může být odezva v syntéze proteinů akutní fáze za různých okolností různá. Reakci akutní fáze mohou ovlivnit tyto faktory:

a) *Geneticky podmíněné defekty proteinů akutní fáze*, např. PiZ-fenotyp u  $\alpha_1$ -antitrypsinu, Hp<sup>0</sup>-gen u haptoglobinu, Wilsonova choroba u ceruloplasminu.

b) *Těhotenství nebo perorální kontraceptiva stimulují syntézu ceruloplasminu, fibrinogenu, C-reaktivního proteinu,  $\alpha_1$ -antitrypsinu*. Zvýšení v těchto případech může mylně budít podezření ze zánětlivého onemocnění.



c) Doprovází-li reakci akutní fáze *intravazální hemolýza*, pak haptoglobin, který se váže na volný hemoglobin, je rychle vychytáván v retikuloendotelu a degradován, tzn. není zvýšen, ale naopak snížen. Podobná situace nastává, když chorobný proces navozující reakci akutní fáze je doprovázen intravazální koagulopatií, při které se spotřebovává fibrinogen.

d) *Zánětlivá onemocnění jater*, která vedou k omezení proteosyntézy v hepatocytech, nejsou provázena zvýšením některých proteinů akutní fáze v plasmě. Platí to především pro haptoglobin, kyselý  $\alpha_1$ -glykoprotein a fibrinogen, naproti tomu  $\alpha_1$ -antitrypsin není tolik ovlivněn. Pomáhá to při rozlišení akutní virové hepatitidy od cholangiolitidy, kde vzestup haptoglobinu, kyselého  $\alpha_1$ -glyko-proteinu a fibrinogenu není omezen.

e) *Terapie kortikoidy tlumí syntézu* především fibrinogenu, takže v průběhu revmatické horečky léčené těmito deriváty se hodnoty fibrinogenu (i sedimentace) rychle upravují, ale hladina haptoglobinu a kyselého  $\alpha_1$ -glykoproteinu zůstává ještě zvýšená.

f) *Při neléčené revmatické horečce* jsou v akutním stadiu zvýšeny hodnoty zejména fibrinogenu, dále haptoglobinu a kyselého  $\alpha_1$ -glykoproteinu, mnohem méně  $\alpha_1$ -antitrypsinu.

## Význam stanovení jednotlivých reaktantů

### C-reaktivní protein (CRP)

Jde o bílkovinu s elektroforetickou pohyblivostí  $\beta$ -globulinů o molekulové hmotnosti 110 000–140 000, která se skládá z pěti identických neglykolysovaných polypeptidových podjednotek (molekulová hmotnost 21 000). Každá podjednotka může vázat  $\text{Ca}^{2+}$ . CRP patří mezi tzv. *pentraxiny*, což je skupina proteinů účastnících se obrany organismu a vyskytující se u všech obratlovců. CRP má schopnost aktivovat komplementový systém, váže se na různé ligandy (např. polysacharidový obal pneumokoků C – odtud C-reaktivní protein, dále na cholinové fosfatidy a některé polykationtové a polyaniontové proteiny z rozpadlých buněk). Tím chrání organismus před škodlivým účinkem těchto nekrotických produktů. Aktivace komplementu působením CRP se děje nejen klasickou, ale též alternativní cestou (prostřednictvím „alternativní“ C3-konvertasy C3bBb, na rozdíl od klasické C3-konvertasy C4b2a. Kromě toho CRP může působit i na trombocyty účinkem na metabolismus prostaglandinů. Takto může CRP regulovat akutní zánětlivé procesy. Bylo prokázáno, že může bránit stimulaci T-lymfocytů a uvolňování lymfokinů. Dále může ovlivňovat fagocytózu působením na granulocytové a monocytové makrofágy. Pravděpodobně jednou z hlavních úloh je *opsonizace fragmentů nukleových kyselin a histonů* (vzniklých z chromatinu při rozpadu vlastních i mikrobiálních buněk) a tím umožnění jejich rychlejšího odstranění – zabrání se tak tvorbě autoprotilátek proti jaderným elementům.

Normální syntéza CRP (u stavů bez zánětu nebo nekrózy) činí 1–10 mg/24 h; při reakci akutní fáze se toto množství zvyšuje až na 1000 mg/den. U chronických afekcí syntéza může být omezena pravděpodobně sníženou tvorbou IL-1 v monocytech a makrofázích (kupř. u lupus erythematodes, colitis ulcerosa, progresivní systémové sklerózy, leukemie).

#### *Fyziologické hodnoty*

Citlivými metodami bylo prokázáno, že CRP se vyskytuje v séru i za fyziologických podmínek – v pupečnickovém séru průměrně 0,07 mg/l, u dospělých jedinců průměrně 1,3 mg/l s variačním rozmezím 0,068–8,2 mg/l. U novorozenců jsou hodnoty poněkud vyšší (3. den až 15 mg/l), u kojenců do 10 mg/l.

*Poznámka:* Pomocí vysoce citlivých metod (EIA) bylo nalezeno zvýšení „fyziologických“ hodnot CRP u mužů, kteří prodělali akutní infarkt myokardu (ale jsou už v klidové fázi – průměr 1,51 oproti 1,13 mg/l) nebo mozkovou mrtvici na bázi ischemie (1,38 oproti 1,13 mg/l). Předpokládá se, že bazální hodnota CRP predikuje riziko infarktu myokardu nebo mozkové mrtvice.

### Patologické změny

Za patologických stavů však koncentrace CRP v séru může stoupnout až tisíckrát ( $10^3$ ). CRP je dominující protein akutní fáze. U bakteriálních infekcí dosahuje CRP nejvyšších hodnot 200–300 mg/l. Naproti tomu u nádorových onemocnění nebývá tak zvýšen jako haptoglobin nebo  $\alpha_1$ -antitrypsin. Rovněž kupř. systémový lupus erythematosus má jen malé nebo žádné zvýšení, na rozdíl od revmatoidní artritidy nebo polymyalgia rheumatica, kde jsou hodnoty vysoké. Jeho vzestup po navození reakce akutní fáze (infekční noxa, chirurgický výkon, infarkt myokardu) je velmi rychlý; maxima dosahuje za 24–48 hodin; normalizace nastává během 4 dnů (nejsou-li přidruženy komplikace). U perinatální těžší infekce (septikemie, meningitida, peritonitida) je CRP vždy zvýšen (více než 50 mg/l). Na rozdíl od bakteriálních infekcí nebývá virová infekce provázena zvýšeným CRP. Užitečné je průběžné sledování hladiny CRP v séru. *Úspěšná terapie antibiotiky se projevuje rychlým poklesem; naproti tomu při neúspěšné léčbě zvýšení přetrvává.*

**Tab. : Hodnocení hladin CRP**

(pokračování tabulky na následující straně)

<b>Onemocnění</b>	<b>CRP (mg/l)</b>	<b>Patofyziologické poznámky</b>
<b>Těžká bakteriální infekce (seps)</b>	až 200–300	Začátek 6–8 hod, maximum 24–48 h. Pokles při úspěšné terapii.
<b>Virová infekce</b>	ne více než 50 u velmi těžkých; obvykle 5–20	U 50 % není zvýšení; lze tak rozlišit virovou pneumonii od bakteriální.
<b>Revmatická horečka</b>	15–100	Koreluje s aktivitou procesu. Rychlý nástup, rychle odpovídá na terapii; vzestup po normalizaci svědčí pro komplikaci. Nekryje se s FW (FW reaguje pomaleji).
<b>Revmatoidní artritida</b>	nad 15 obvykle 50, někdy i 100	Výhodné je použít kombinaci stanovení CRP, FW a Fe/Cu (lepší informace o aktivitě procesu). Osteoartritida nemá zvýšení (!).
<b>Polymyalgia rheumatica</b>	obvykle nad 30 a více	Zvýšena i FW, koreluje s aktivitou. Terapie hydrokortizonem rychle snižuje. Vysoké CRP odliší od jiných svalových bolestí.
<b>Juvenilní chronická artritida</b>	5–50	Zvýšení koreluje s aktivitou, ale ne tak dobře jako u dospělých.
<b>Morbus Bechtěrev</b>	nad 15 obvykle více	Zvýšení ještě před klinickými obtížemi. Koreluje s aktivitou.
<b>Lupus erythematosus</b>	normální – lehké↑	Vysoké hodnoty jsou podezřelé z přidružené bakteriální infekce.
<b>Psoriatická artropatie Reiterův syndrom</b>	nad 15	Koreluje s aktivitou. Pseudodna má jen malé zvýšení. Dna nemá zvýšení.
<b>Morbus Crohn</b>	nad 15 obvykle více	Koreluje s aktivitou. U colitis ulcerosa nebývá zvýšení (rozdíl !).
<b>Adnexitis</b>	obvykle nad 15	Při zánětu vždy zvýšen, FW jen u 80 %, leukocyty u 50 %.
<b>Chorioamnionitis (u těhotných)</b>	nad 15	Při náhlé ruptuře vaku blan.

<i>Onemocnění</i>	<i>CRP (mg/l)</i>	<i>Patofyziologické poznámky</i>
<b>Perinatální infekce</b>	10–20 (v pupečníku)	Bakteriální infekce může způsobit velmi vážný stav. Klinika: u matky horečka 38 °C. Novorozenec: tachypnoe, dyspnoe, apnoe, teplotní nestálost, hladké napjaté břicho.
<b>Meningitida</b> – virová – tuberkulózní – bakteriální	pod 20 20–60 nad 100	U virové často normální hodnoty.  Při úspěšné terapii do týdne normalizace
<b>Akutní pankreatitida</b>	až 100	Při přetrvávajícím zvýšení 2 a více týdnů předzvěst komplikací: cysty, pseudocysty.
<b>Infarkt myokardu, chirurgická operace</b>	15–50	Začátek vzestupu 6–8 h; maximum 24–36 h, návrat u nekomplikovaných případů po 1 týdnu. U těžkých abdominálních operací bývá maximum 3. den (50–150 mg/l). Při komplikacích (infekce, trombóza, nekrózy) zvýšení přetrvává.
<b>Nádorové onemocnění</b>	5–100	Obvykle méně výraznější zvýšení, než je zvýšení haptoglobinu a kyselého $\alpha_1$ -glykoproteinu. Výraznější zvýšení ukazuje na ev. metastázy. U M. Hodgkin asymptomatická forma mívá 5–20 mg/l, symptomatická 21–141 mg/l.

### **$\alpha_1$ -antitrypsin ( $\alpha_1$ -AT; $\alpha_1$ -proteinasový inhibitor, $\alpha_1$ -PI)**

$\alpha_1$ -antitrypsin patří mezi skupinu plasmatických bílkovin s antiproteinasovým účinkem. Je tvořen v játrech a vyznačuje se geneticky podmíněnými variacemi (Pi-systém), jejichž alely v genetickém lokusu se označují  $Pi^M$ ,  $Pi^S$  a  $Pi^Z$ . Klinicky důležité jsou varianty odpovědné za sníženou hladinu  $\alpha_1$ -AT v plasmě (defektní alely).  $Pi$  ZZ fenotyp (homozygot) má pouze 10–15 % koncentrace  $\alpha_1$ -AT v plasmě, heterozygoti  $Pi$  ZM 50–60 % a  $Pi$  ZS méně než 40 %. Akutní zánět (nebo jiný podnět reakce akutní fáze) může zvýšit syntézu  $\alpha_1$ -AT, takže se může dostat až do normálního rozmezí (nikoli však výrazně nad horní hranici, jako je tomu u nejobvyklejšího fenotypu  $Pi$  MM). Homozygotní nosiči  $Pi$  SS vykazují 50 % normální koncentrace, heterozygoti  $Pi$  SM asi 80 %. Snížená koncentrace je u jedinců s alelovou variantou  $Pi^1$ , úplně chybí u tzv. „nulové“ varianty  $Pi^{-}$ .

Snížená koncentrace  $\alpha_1$ -AT u některých postižených jedinců má za následek především výskyt **primárního plicního emfyzému** (chronická plicní obstrukční choroba). Dalším typem onemocnění sdruženým s nedostatkem antitrypsinu je **neonatální hepatitida nebo cirhóza**, dále někteří autoři uvádějí současný výskyt **glomerulonefritidy** nebo **revmatoidní artritidy**. Hlavní funkcí  $\alpha_1$ -antitrypsinu je jeho schopnost inaktivovat proteinasy uvolněné z lysosomů při rozpadu buněk do extracelulární tekutiny, je důležitým inaktivátorem elastasy uvolněné z granul neutrofilních leukocytů.

*Fyziologické rozmezí:*

Novorozenci 1,45–2,70 g/l.

Dospělí 0,78–2,00 g/l.

**Tab. : Patologické změny**

<b>Onemocnění (syndrom)</b>	<b><math>\alpha_1</math>-AT</b>	<b>Patofyziologické poznámky</b>
<b>Akutní záněty</b>	↑↑	Nespecifické záněty vedoucí k rozpadu leukocytů, tkáňové nekróze a fagocytóze zvyšují syntézu $\alpha_1$ -AT v játrech se vzestupem v plasmě (12–24 h, s maximem 4.– 5.den).
<b>Chronické záněty</b> <b>Pooperační syndrom</b> <b>Infarkt myokardu</b> <b>Infekce</b> <b>Bronchopulmonální zánětlivé onemocnění</b>	↑  N N	Zvýšení je méně vyjádřeno než u $\alpha_1$ -GP.  Narozdíl od $\alpha_1$ -GP zůstává $\alpha_1$ -AT nezvýšen.
<b>Hepatopatie</b> – akutní hepatitida – chronická hepatitida	↑(↑↑)	Zvýšení koreluje se stupněm zánětlivého procesu. Není však zvýšení ostatních reaktantů ( $\alpha_1$ -GP, Hp, fibrinogen). Negativně se odráží postižení jaterní proteosyntézy.
<b>Alkoholová cirhóza</b>	↑	Na rozdíl od $\alpha_1$ -GP je zde zvýšení.
<b>Maligní bujení</b>	↑↑	Výrazné zvýšení; liší se tak od nenádorového postižení jater.
<b>Progresivní polyartritida</b>	↑	Zvýšení koreluje s aktivitou procesu.
<b>Defektní alely Pi-systému</b>	↓-(↓↓↓)	Snížení $\alpha_1$ -AT podmíněné geneticky může negativně ovlivnit vzestup $\alpha_1$ -AT jako reaktantu akutní fáze.

### Haptoglobin (Hp)

Molekula je tvořena podobně jako u imunoglobulinu ze dvou lehkých řetězců ( $\alpha$ ) a ze dvou těžkých řetězců ( $\beta$ ) spojených navzájem disulfidovými můstky.  $\alpha$ -řetězec se vyskytuje v dědičně podmíněných variantách 1F, 1S, 2. K šesti obvyklým fenotypům Hp 1F-1F, 1F-1S, 1S-1S, 1F-2, 1S-2 a 2-2 přistupují ještě další méně časté varianty.

Syntéza haptoglobinu se děje v játrech, po snížení Hp (vazba na hemoglobin) se objeví původní koncentrace za 5–7 dní. Poločas odbourávání Hp je 3,5–4 dny, naproti tomu haptoglobin-

-hemoglobinový komplex je vychytáván z krevního oběhu za 9 minut. Funkce Hp spočívá především ve vychytávání uvolněného hemoglobinu (intravaskulární hemolýza). Chrání se tím především ledviny před možným poškozením a zabraňuje se ztrátám Fe potřebného k resyntéze krevního barviva. Další úloha Hp spočívá v jeho antiproteinasovém účinku, který mají reaktanty akutní fáze.

**Tab. : Rozmezí fyziologických hodnot**

<b>Skupina</b>	<b>S-haptoglobin (g/l)</b>	
	<i>průměr</i>	<i>min. – max.</i>
<b>Novorozenci</b>		
– donošení	0,13	0–0,70
– nedonošení	0,03	0–0,26
<b>Dospělí podle typu</b>		
<b>Hp 1-1</b>	1,36	0,77–1,94
<b>2-1</b>	1,08	0,32–1,84
<b>2-2</b>	0,82	0,15–1,49

*Patologické změny:*

**Zvýšení haptoglobinu v plasmě**

Hodnoty haptoglobinu stoupají při zvýšení syntézy v játrech, navozené poškozením pojivové tkáně infekcí, traumatem, neoplazií, zánětem apod. (reakce akutní fáze). Velikost zvýšení je dána současným stavem odbourávání Hp (zvýšený při tvorbě Hb-Hp komplexů).

**Tab. : Hodnocení zvýšení Hp**

<i>Onemocnění</i>	<i>Zvýšení Hp</i>	<i>Patofyziologické poznámky</i>
<b>Akutní zánětlivé choroby, infekce</b>	2–4krát	Zvýšení za 2 dny, maximum 10. den.
<b>Těžší chirurgická operace, trauma</b>	3–5krát	Zvýšení podle rozsahu poškození.
<b>Infarkt myokardu</b>	1,5krát	Nástup rychlý, maximum 3. den, 8 dní trvá návrat.
<b>Revmatická polyartritida</b>	1,5–3krát	Zvýšení je mírou aktivity procesu.
<b>Obstrukční ikterus</b>	1,5krát	Zvýšení bývá jak u maligních, tak benigních nádorů.
<b>Nádorové onemocnění</b>	0–3krát	U solidních lokalizovaných tumorů nebývá v počátečních stádiích zvýšení, i když je zvýšen kyselý $\alpha_1$ -glykoprotein nebo sedimentace; Hp koreluje více s $\alpha_2$ -frakcí než s $\alpha_1$ -frakcí. Je-li zvýšen, je ukazatelem průběhu, např. po ozáření se sníží; objeví se při recidivě.
<b>Hodgkinova choroba</b>		Zvýšení jen relativně časté.

**Snížení haptoglobinu v plasmě**

Probíhají-li vedle sebe pochody vedoucí jak ke zvýšení, tak ke snížení, výslednou hodnotu S-Hp nutno interpretovat velmi opatrně (např. při zánětu se současnou hemolýzou najdeme hodnoty normální).

**Tab. Hodnocení patologického snížení Hp**

<i>Onemocnění</i>	<i>P-Hp</i>	<i>Patofyziologické poznámky</i>
<b>Intravazální hemolýza hemolytické anemie, mechanické poškození erytrocytů např. umělými srdečními chlopněmi, hereditární sferocytóza, intravaskulární diseminovaná koagulopatie, paroxyzomální noční hemoglobinurie)</b>	↓ ↓ ↓ ↓ ↓	Hp váže velmi rychle volný Hb; komplex se rychle odbourává v RES (zejména v játrech). Někdy až nulové hodnoty Hp.
<b>Polycythaemia vera</b>	↓	Zvýšené odbourávání, kratší poločas.
<b>Neefektivní erythropoéza (nedostatek vitamínu B<sub>12</sub> nebo listové kyseliny)</b>	↓	Zvýšené odbourávání; hladina S-Hp je nepřímou mírou poločasu rozpadu erytrocytů (vhodné pro sledování terapie).
<b>Jaterní cirhóza</b>	↓	Porušená proteosyntéza v játrech.
<b>Proteinurie (ztrácí se jen Hp 1-1)</b>	↓ ↓ ↓	Neselektivní glomerulární proteinurie nebo smíšené proteinurie vedou ke zvýšeným ztrátám močí.

## Ceruloplasmin (Cpl)

Ceruloplasmin je  $\alpha_1$ -glykoprotein o molekulové hmotnosti 132 000, obsahující šest atomů Cu. Má enzymové vlastnosti oxidasy (polyfenoloxidas). Je v něm obsaženo až 90 % mědi v plasmě. Vlastním transportním proteinem Cu v plasmě je však albumin. Biologické funkce Cpl nejsou přesně známy. Předpokládá se, že se účastní metabolismu Fe (oxiduje  $\text{Fe}^{2+}$  na  $\text{Fe}^{3+}$ ), jako reaktant akutní fáze působí pravděpodobně jako ochranný faktor – inhibuje účinek sérové histaminasy; může oxidovat SH-skupiny některých vysokomolekulových proteinů.

Tvoří se v játrech. Jeho syntéza je pod vlivem hormonů. Zvýšená estrogenní aktivita ji zvyšuje; v těhotenství stoupá hladina ceruloplasminu až na trojnásobek. Zvýšení je též u žen při hormonální antikoncepci. Poločas katabolismu může u jednotlivých případů kolísat od 4–10 dnů.

*Fyziologické hodnoty* (imunochemická metoda):

Novorozenci:	0,03–0,17 g/l,
do 14 dní	0,01–0,19 g/l,
do 30 dní	0,08–0,28 g/l,
do 3 měsíců	0,06–0,54 g/l,
do 6 měsíců	0,21–0,69 g/l,
do 12 měsíců	0,27–0,67 g/l,
nad 1 rok	0,30–0,58 g/l.
Těhotné ženy:	0,40–0,90 g/l.

**Tab. : Patologické zvýšení**

<i>Onemocnění, syndrom</i>	<i>g/l</i>	<i>Patofyziologické poznámky</i>
<b>Akutní záněty (kupř. glomerulonefritidy)</b>	maximálně 1–2	Zvýšení je nespecifické, při postižení jater nebývá zvýšení; naopak při podávání estrogenních preparátů je hladina i bez zánětu vyšší.
<b>Infarkt myokardu</b>	0,6–2	
<b>Maligní tumory</b>	0,4–1,5	Především leukemie.
<b>Cirhóza</b>		Zejméná Laennecova nebo alkoholová.
<b>Biliární cirhóza</b>		Velmi často.
<b>Cholestáza</b>	0,6–1	Na rozdíl od hepatitidy, kde bývá i snížení.
<b>Hyperfunkce ovaria</b>		Efekt estrogenů.
<b>Těhotenství</b>		
<b>Hyperthyreóza</b>	0,4–0,9	

**Tab. : Patologické snížení**

<i>Onemocnění, syndrom</i>	<i>g/l</i>	<i>Patofyziologické poznámky</i>
<b>Wilsonova choroba (hepatolentikulární degenerace)</b>	pod 0,10	Výrazné snížení Cpl je pro toto onemocnění příznačné; vzácně však byly popsány případy jen s lehce nižším nebo normálním Cpl.
		Defekt spočívá v chyběni receptorového nebo transportního proteinu umožňujícího inkorporaci Cu do apoceruloplasminu a sekreci ceruloplasminu z hepatocytu do žluče.

<b>Nefrotický syndrom</b>	pod 0,3	Ztráty Cpl močí.
<b>Exsudativní enteropatie</b>		Ztráty stolicí.
<b>Malnutrice</b>		Snížená proteosyntéza.

## Imunoglobuliny

### Patobiochemie

Molekula imunoglobulinů plní dvě úlohy:

a) **Má imunitní aktivitu**, tj. schopnost specificky vázat příslušný antigen. Tato vlastnost je vázána na Fab-fragment a je podmíněna charakteristickým sledem aminokyselin (asi 110 zbytků)

N-terminálního konce obou řetězců – lehkého (L) a těžkého (H) – variabilními doménami označovanými jako  $V_L$  a  $V_H$ . Prostorovým uspořádáním řetězců L a H v této doméně vzniká hypervariabilní oblast (horké místo), které vytvoří jakousi „kapsu“ – vazebné místo pro antigen. Na Y (ypsilo-novém) tvaru molekuly imunoglobulinů jsou dvě vazebná místa; IgM, který je pentamerem, jich proto má 10;

b) **Má biologickou aktivitu**, která je vázána na Fc-fragment – na konstatní doménu těžkého řetězce ( $C_H$ ). Tato biologická aktivita molekuly imunoglobulinů se může projevit vazbou komplementu, průchodností placentou, fixací na tkáň; rozdělením v tělních prostorech (tekutinách), vazbou na monocyty, poločasem katabolismu. Projevy biologické aktivity nejsou u všech tříd imuno-globulinů stejné.

### Třídy a podtřídy imunoglobulinů

U člověka bylo rozlišeno pět tříd imunoglobulinů. Rozdíl je zakotven ve složení těžkých

(H) řetězců, které se označují písmeny řecké abecedy:  $\gamma$ ,  $\alpha$ ,  $\mu$ ,  $\delta$ ,  $\epsilon$ ; lehké (L) řetězce jsou u všech tříd stejné, a to dva typy ( $\kappa$ ,  $\lambda$ ).

**Imunoglobulin G (IgG)** (složení:  $\gamma_2\lambda_2$  nebo  $\gamma_2\kappa_2$ ) má čtyři podtřídy: IgG<sub>1</sub>, IgG<sub>2</sub>, IgG<sub>3</sub>, IgG<sub>4</sub>. Je kvantitativně nejčetnější třídou. Je obsažen především v plasmě, ale též v intersticiální tekutině. Má schopnost přímo neutralizovat toxiny, dále vázat řadu bakteriálních a virových antigenů a schopnost indukovat aktivitu komplementového systému. Je jediným Ig, který proniká placentární bariérou. Proto v séru pupečnickové krve se vyskytuje prakticky ve stejné koncentraci jako v séru dospělých jedinců. Biologický poločas IgG je 20 dní.

*Normální hladina* v séru u dospělých: 8–18 g/l.

**Imunoglobulin A (IgA)** (složení  $\alpha_2\lambda_2$  nebo  $\alpha_2\kappa_2$ ) má dvě podtřídy (IgA<sub>1</sub> a IgA<sub>2</sub>). Je imunoglobulinem ochraňujícím před infekcí povrch sliznic, kam je vylučován po navázání tzv. „sekrečního kousku“ (secretory piece) ve formě dimeru. Toto uspořádání činí molekulu odolnější vůči působení proteinas, které by ho v sekretech brzy rozložily. Je obsažen v krevním séru, ale též ve slinách, slzách, ve střevním a bronchiálním sekretu. Neproniká placentou, takže v séru novorozenců jeho hladina činí 1 % koncentrace dospělých. Má poločas 6 dní.

*Normální hodnoty* u dospělých: 0,9–4,5 g/l.

**Imunoglobulin M (IgM)** [složení:  $(\mu_2,\lambda_2)_5$  nebo  $(\mu_2,\kappa_2)_5$ ] je pentamer, kde jednotlivé monomery spojuje tzv. J-spojovací člen. Molekula má tímto 10 vazebných míst, takže projevuje vysokou afinitu k příslušnému antigenu. IgM je první třída protilátek, která vzniká jako humorální imunitní reakce vůči antigenu (infekci), se kterým se organismus setkává

poprvé. Neprochází placentou, v pupečnickovém séru se vyskytuje jen v nepatrném množství (cca 10 % hodnot dospělých). Je-li však koncentrace zvýšena (> 400 mg/l), znamená to perinatální infekci. IgM se vyskytuje v 75 % v krevní plasmě, kde relativně rychle reaguje na proniklou infekci. Má poločas 5 dní. Jeho úkolem je rychlá imunitní reakce vůči mikrobům a jiným velkým antigenům. Podobně jako IgG aktivují komplement.

*Normální hladina:* Ženy 0,7–2,8 g/l,  
muži 0,6–2,5 g/l.

**Imunoglobulin D (IgD)** patří mezi minoritní Ig; má krátký poločas katabolismu (2,8 dne). Tvoří spolu s IgM povrchové receptory lymfocytů pro reakci s antigeny a podílí se tak na aktivaci nebo supresi lymfocytů. Je velmi citlivý vůči proteolytickým enzymům, což je právě vhodné pro zpracování antigen-IgD komplexu.

*Fyziologická koncentrace:* 0–80 mg/l.

**Imunoglobulin E (IgE)** má molekulovou hmotnost 188 000; obsahuje 14 % sacharidů. Po svém vzniku je velmi rychle a velmi pevně vyvázan na povrchu mastocytů. Proto jeho koncentrace v séru je nepatrná. Při kontaktu s antigenem (alergenem) dochází k degranulaci mastocytů a uvolnění vasoaktivních aminů (histamin, serotonin).

Fyziologická úloha IgE spočívá pravděpodobně v ochraně slizničních povrchů tím, že uvolňuje v místě ataky mediátory a efekторы, které navodí zánětlivou reakci. Infekční agens, které prolomí IgA obranu, se dostane do styku s IgE na povrchu mastocytů, což spustí jejich degranulaci

a uvolnění vasodilatačních a chemotaktických faktorů.

*Fyziologická koncentrace:* 0–380 kU/l.

## Patologie imunoglobulinů

Při hodnocení patologického zvýšení nebo snížení jednotlivých tříd imunoglobulinů je nutno vycházet vždy z klinické situace a stadia onemocnění, popřípadě dalších laboratorních nálezů.

### *Polyklonální gamapatie*

Polyklonální hyperimmunoglobulinemie je relativně častým projevem řady onemocnění. Přehled změn v hladinách imunoglobulinů u různých patologických stavů podává tab.

**Tab. : Typický vývoj hladiny imunoglobulinů**

<i>Onemocnění</i>	<i>IgG</i>	<i>IgA</i>	<i>IgM</i>
<i>Infekce</i>			
<b>Infekční mononukleóza</b>	↑-↑↑	N-↑	↑-↑↑
<b>Subakutní bakteriální endokarditida</b>	↑-↑↑	↓-N	↑-↑↑
<b>Tuberkulóza</b>	↑-↑↑	N-↑↑↑	↓-N
<b>Aktinomykóza</b>	↑↑↑	↑↑	↑↑↑
<b>Hluboké plísňové infekce</b>	N	N-↑	N
<b>Bartonelóza</b>	↑	↓-N	↑↑-↑↑↑
<i>Choroby jater</i>			
<b>Akutní virová hepatitida</b>	N	N	↑↑
<b>Odeznívající akutní virová hepatitida</b>	(↑)	(↑)	↑-↑↑
<b>Rekonvalescence akutní hepatitidy</b>			↑
<b>Protrahovaná akutní hepatitida</b>	↑	N	↑



<b>Přechod protražované akutní hepatitidy do chronické aktivní hepatitidy</b>	↑↑	(↑)	↑-↑↑
<b>Chronická perzistující hepatitida</b>	↑ ↑↑-↑↑↑	N-(↑) N-(↑)	↑-↑↑ N-↑
<b>Chronická aktivní hepatitida</b>	↑↑	↑-↑↑	N-(↑)
<b>Lupoidní hepatitida</b>	↑↑	↑-↑↑	N-(↑)
<b>Přechod (tendence) do cirhózy</b>	↑↑	↑-↑↑	N-(↑)
<b>Přidatné poškození alkoholem</b>	N-(↑) (↑)	N-(↑) (↑)	N-(↑) (↑)
<b>Steatóza (I., II. stadium)</b>	(↑)-↑	↑-↑↑	(↑)
<b>Chronická steatohepatitida (III. stadium)</b>	↑	↑↑-↑↑↑	↑
<b>Alkoholová chronická steatohepatitida</b>	↑-↑↑ (↑)-↑	↑-↑↑	(↑)-↑ ↑↑↑
<b>Alkoholová cirhóza</b>	↑↑	↑-↑↑	↑-↑↑
<b>Cirhóza</b>	↑↑	↑-↑↑	↑-↑↑
<b>Primární biliární cholangitida, ev. cirhóza</b>			
<b>Zhoršení prognózy u cirhózy</b>			
<b>Kolagenózy</b>			
<b>Lupus erythematodes</b>	↑-↑↑↑	N-↑	N-↑↑
<b>Revmatoidní artritida</b>	N-↑↑↑	N-↑↑↑	N-↑↑
<b>Sjogrenův syndrom</b>	N-↑	N-↑	N-↑↑
<b>Sklerodermie</b>	N-↑	N	N-↑
<b>Akutní revmatická horečka</b>			↑-↑↑

### Monoklonální gamapatie

Monoklonální gamapatie je možno definovat jako poruchy proliferace B-buněk produkujících homogenní imunoglobulinovou komponentu (M-komponenta, paraprotein), kterou možno obvykle detekovat v krevním séru (Rádl).

Je možno rozlišit čtyři kategorie monoklonálních gamapatií:

- I. Maligní neoplastická proliferace B-buněk.
- II. Benigní neoplazie B-buněk.
- III. Imunodeficiencie s nevyváženým T-B imunitním systémem.
- IV. Homogenní protilátková odpověď.

*Paraprotein* je tedy imunoglobulin (nebo část molekuly Ig), který je tvořen jednou třídou těžkých řetězců ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\delta$ ,  $\epsilon$ ) a jedním typem lehkých řetězců ( $\kappa$ ,  $\lambda$ ).

Na elektroforéze v agarózovém gelu se monoklonální imunoglobulin projevuje jako homogenní úzká frakce lokalizovaná v oblasti  $\gamma$  až  $\alpha_2$ .

### Rozlišení „maligní“ a „benigní“ monoklonální gamapatie

Rozlišení monoklonálních gamapatií je velmi důležité jak z hlediska prognózy, tak z hlediska terapie.

Mezi „*maligní*“ monoklonální gamapatie patří: mnohočetný myelom, varianty myelomu, Waldenströмова makroglobulinemie, maligní imunoproliferativní choroby, choroba těžkého řetězce a monoklonální gamapatie u amyloidózy. „*Benigní*“ monoklonální gamapatie se někdy označují jako *monoklonální gamapatie nejasného významu* (Hoffmann; Kyle).

Kritéria určující diagnózu mnohočetného myelomu zahrnují:

– *přítomnost alespoň 10 % abnormálních, nezralých plasmatických buněk v kostní dřeni*

nebo histologický průkaz extramedulárního plasmocytomu,

– *obvyklé klinické symptomy myelomu,*

– *alespoň jednu z následujících známek:*

\* paraprotein v séru (obvykle > 30 g/l),

\* paraprotein v moči,

\* osteolytické léze.

*Poznámka:* Obvykle bývá snížení „nemyelomových“ tříd Ig.

Pacienti s diagnózou **monoklonální gamapatie nejasného významu** jsou podle Kyleho charakterizováni takto:

– *Méně než 5 % plasmatických buněk v kostní dřeni,*

– *nižší koncentrací paraproteinu v séru než 30 g/l,*

– *nemají známky anemie nebo osteolytických kostních lézí,*

– *mají normální koncentraci albuminu v séru,*

– *nemají paraprotein (nebo jen ve stopách) v moči.*

**Tab. : Kritéria diferenciální diagnostiky maligní monoklonální gamapatie a monoklonální gamapatie nejasného významu (Hoffmann)**

<i>Nález</i>	<i>Maligní MG</i>	<i>„Benigní“ MG</i>
<b>Koncentrace paraproteinů v séru (ELFO)</b>	IgG > 20 g/l IgM nebo IgA > 10 g/l	IgG < 20 g/l IgM nebo IgA < 10 g/l
<b>Průběh</b>	progresivní nárůst paraproteinemie	paraproteinemie konstantní
<b>Bence Jonesova bílkovina v moči</b>	> 100 mg/l	0–100 mg/l (většinou neprokážeme)
<b>Kostní dřev</b>	> 10 % plasmatických buněk nebo lymfoplasmocytoidní infiltrace nebo lymfatické buňky > 20 %	< 5 % plasmatických buněk; žádná lymfoplasmocytoidní infiltrace. < 20 % lymfatických buněk
<b>Symptomy</b>	bolesti v kostech, horečka, noční pocení, ztráta na hmotnosti	0
<b>Adenopatie</b>	0 až +	0
<b>Splenomegalie</b>	0 až +	0
<b>Krevní obraz</b>	anemie, lymfocytóza nebo lymfopenie	normální
<b>S-Ca</b>	normální až ↑	normální
<b>S-kreatinin</b>	normální až ↑	normální
<b>Stav skeletu</b>	normální, osteolýza, osteoporóza	normální

**Tab. : Vyhodnocení „stagingu“ u pacientů s mnohočetným myelomem (Durie-Salmon)**

<i>Stadium</i>	<i>Charakteristika</i>
<b>I</b>	B-Hb > 100 g/l S-Ca < 3,0 mmol/l Na RTG žádné kostní změny nebo jen solitární kostní plasmocytom. M-komponenta: IgG < 50 g/l IgA < 30 g/l Bence Jonesova bílkovina v moči < 4g/den.
<b>II</b>	Jen minimálně zvýšené limity uvedené pod I. Nepřítomnost žádných podmínek sub III.
<b>III</b>	Pozitivní nález jedné nebo více následujících situací: B-Hb < 85 g/l S-Ca > 3,0 mmol/l Pokročilé lytické léze na RTG kostí (stupeň 3) M-komponenta: IgG > 70 g/l IgA > 50 g/l Bence Jonesova bílkovina v moči > 12 g/den.

### **Význam stanovení podtříd IgG**

Kvantifikace podtříd IgG (tj. IgG<sub>1</sub>, IgG<sub>2</sub>, IgG<sub>3</sub>, IgG<sub>4</sub>), ev. specifická protilátková odpověď v podtřídách, je indikována u pacientů s opakovanými respiračními infekty, u nichž se předpokládá možnost imunodeficience. Část pacientů se selektivní imunodeficiencí v IgG může mít defekt v produkci IgG<sub>2</sub> nebo dohromady v IgG<sub>2</sub> a IgG<sub>4</sub>. U jiných pacientů to může být defektní protilátková odpověď na specifickou antigenní stimulaci v těchto podtřídách. Sekundární systémová protilátková odpověď na proteinový nebo virový antigen je především v podtřídě IgG<sub>1</sub> a IgG<sub>3</sub>. Odpověď na sacharidové antigeny je hlavně v IgG<sub>2</sub>. Selektivní deficit IgG<sub>2</sub> je provázen zejména respiračními infekty. Tato nedostatečnost může být manifestována snížením nebo chyběním podtřídy nebo selektivní neschopností tvořit specifické protilátky v IgG<sub>2</sub>, ačkoli hladina celkové protilátky IgG<sub>2</sub> je normální. U části pacientů může být kombinovaný defekt IgG<sub>2</sub> a IgG<sub>4</sub>; podtřída IgG<sub>4</sub> je zajímavá tím, že bývá sdružena s chronickou antigenní stimulací. Podání (intramuskulárně, intravenózně) imunoglobulinů nemocným může mít příznivý terapeutický účinek.

**Tab. : Charakteristiky IgG podtříd**

<i>Podtřída</i>	<i>M<sub>r</sub></i>	<i>Hladina (mg/l) (% Ig)</i>	<i>Poločas (dny)</i>	<i>Fixace komplementu</i>	<i>Transport placentou</i>
<b>IgG 1</b>	146 000	8 400 (70)	25	++	+
<b>IgG 2</b>	146 000	2 400 (20)	23	+	+–
<b>IgG 3</b>	165 000	800 (7)	9	+++	+
<b>IgG 4</b>	146 000	400 (3)	25	–	+