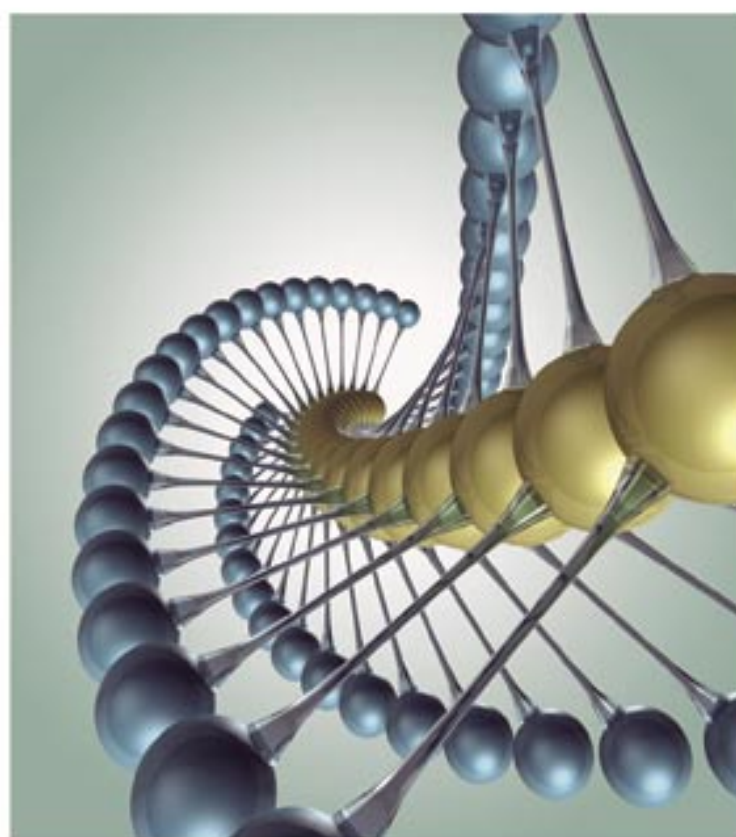


Marta Kalousová a kolektiv

PATOBIOCHEMIE

VE SCHÉMATECH



Upozornění pro čtenáře a uživatele této knihy

Všechna práva vyhrazena. Žádná část této tištěné či elektronické knihy nesmí být reprodukována a šířena v papírové, elektronické či jiné podobě bez předchozího písemného souhlasu nakladatele. Neoprávněné užití této knihy bude **trestně stíháno**.

Používání elektronické verze knihy je umožněno jen osobě, která ji legálně nabyla a jen pro její osobní a vnitřní potřeby v rozsahu stanoveném autorským zákonem. Elektronická kniha je datový soubor, který lze užívat pouze v takové formě, v jaké jej lze stáhnout s portálu. Jakékoliv neoprávněné užití elektronické knihy nebo její části, spočívající např. v kopírování, úpravách, prodeji, pronajímání, půjčování, sdělování veřejnosti nebo jakémkoliv druhu obchodování nebo neobchodního šíření je zakázáno! Zejména je zakázána jakákoliv konverze datového souboru nebo extrakce části nebo celého textu, umísťování textu na servery, ze kterých je možno tento soubor dále stahovat, přitom není rozhodující, kdo takovéto sdílení umožnil. Je zakázáno sdělování údajů o uživatelském účtu jiným osobám, zasahování do technických prostředků, které chrání elektronickou knihu, případně omezují rozsah jejího užití. Uživatel také není oprávněn jakkoliv testovat, zkoušet či obcházet technické zabezpečení elektronické knihy.



Copyright © Grada Publishing, a.s.



Copyright © Grada Publishing, a.s.



Copyright © Grada Publishing, a.s.

Marta Kalousová a kolektiv

PATOBIOCHEMIE ve schématech

Pořadatelka díla:

Marta Kalousová

Autorský kolektiv:

Lenka Fialová, Marta Kalousová, Jiří Kraml, Evžen Křepela, Kateřina Mrázová, Jan Pačes, Jan Pláteník, Ivan Šebesta, Jan Štěpán, Stanislav Štípek, Martin Vejražka, Miroslav Zeman, Tomáš Zima, Aleš Žák

Recenze:

Doc. MUDr. Ivan Matouš-Malbohan, CSc.

© Grada Publishing, a.s., 2006

Cover Photo © profimedia.cz/CORBIS, 2006

Vydala Grada Publishing, a.s.

U Průhonu 22, Praha 7

jako svou 2410. publikaci

Odpovědná redaktorka PhDr. Anna Monika Pokorná

Fotografie na obálce profimedia.cz/CORBIS

Obrázky dodali autoři.

Sazba a zlom Martin Hanslian

Počet stran 264

První vydání, Praha 2006

Vytiskly Tiskárny Havlíčkův Brod, a.s.

Husova ulice 1881, Havlíčkův Brod

Názvy produktů, firem apod. použité ve skriptech mohou být ochrannými známkami nebo registrovanými ochrannými známkami příslušných vlastníků, což není zvláštním způsobem vyznačeno.

Postupy a příklady v těchto skriptech, rovněž tak informace o lécích, jejich formách, dávkování a aplikaci jsou sestaveny s nejlepším vědomím autorů. Z jejich praktického uplatnění ale nevyplývají pro autory ani pro nakladatelství žádné právní důsledky.

Všechna práva vyhrazena. Tato skripta ani jejich část nesmějí být žádným způsobem reprodukovány, ukládány či rozšiřovány bez písemného souhlasu nakladatelství.

ISBN 80-247-1522-8 (tištěná verze)

ISBN 978-80-247-6352-8 (elektronická verze ve formátu PDF)

© Grada Publishing, a.s. 2011

Obsah

Seznam autorů	7
Předmluva	8
1 Patobiochemie volných radikálů (Jan Pláteník).....	9
2 Antioxidační systém a jeho insuficience, stárnutí (Stanislav Štípek)	22
3 Biochemie zánětu (Marta Kalousová).....	37
4 Enzymopatie (Jiří Kraml)	43
5 Poruchy metabolismu tetrapyrrolů, iktery (Evžen Křepela).....	51
6 Poruchy metabolismu purinů a pyrimidinů (Ivan Šebesta).....	69
7 Patobiochemie metabolismu vápníku a kostní hmoty (Jan Štěpán).....	79
8 Patobiochemie hyperlipoproteinemie a dyslipoproteinemie (Aleš Žák).....	93
9 Ateroskleróza – patobiochemické aspekty (Aleš Žák)	115
10 Ateroskleróza – úloha cholesterolu v aterosklerotickém procesu (Lenka Fialová).....	126
11 Diabetes mellitus (Miroslav Zeman).....	141
12 Oxidační a karbonylový stres v patobiochemii diabetes mellitus a chronického selhání ledvin (Marta Kalousová).....	158
13 Metabolismus alkoholu a jeho důsledky na člověka (Tomáš Zima).....	175
14 Molekulární podklady apoptózy (Evžen Křepela).....	185
15 Patobiochemie nádorového bujení – nádorové markery (Marta Kalousová)...	204
16 Patobiochemie likvoru (Kateřina Mrázová)	212
17 Patobiochemie vybraných neurologických onemocnění (Marta Kalousová)...	221
18 Poruchy acidobazické rovnováhy – patobiochemie a diagnostika poruch ABR a iontového hospodářství (Martin Vejražka).....	226
19 Parenterální výživa (Marta Kalousová)	243
20 Bioinformatika a proteomika (Jan Pačes).....	252
Doporučená literatura	263

Seznam autorů

MUDr. Lenka Fialová, CSc.

Univerzita Karlova v Praze, 1. lékařská fakulta, Ústav lékařské biochemie

Doc. MUDr. Marta Kalousová, Ph.D.

Univerzita Karlova v Praze, 1. lékařská fakulta a Všeobecná fakultní nemocnice v Praze, Ústav klinické biochemie a laboratorní diagnostiky, Ústav lékařské biochemie

Prof. MUDr. Jiří Kraml, DrSc.

Univerzita Karlova v Praze, 1. lékařská fakulta, Ústav lékařské biochemie

MUDr. Evžen Křepela, CSc.

Univerzita Karlova v Praze, 1. lékařská fakulta, Ústav lékařské biochemie; Fakultní nemocnice Na Bulovce a 3. lékařská fakulta, Klinika pneumologie a hrudní chirurgie, Laboratoře molekulární a buněčné biologie

MUDr. Kateřina Mrázová

Univerzita Karlova v Praze, 1. lékařská fakulta a Všeobecná fakultní nemocnice v Praze, Ústav klinické biochemie a laboratorní diagnostiky

Mgr. Jan Pačes, Ph.D.

Univerzita Karlova v Praze, 1. lékařská fakulta, Ústav lékařské biochemie; Akademie věd České republiky, Ústav molekulární genetiky

MUDr. Jan Pláteník, Ph.D.

Univerzita Karlova v Praze, 1. lékařská fakulta, Ústav lékařské biochemie

MUDr. Ivan Šebesta, CSc.

Univerzita Karlova v Praze, 1. lékařská fakulta a Všeobecná fakultní nemocnice v Praze, Ústav klinické biochemie a laboratorní diagnostiky

Prof. MUDr. Jan Štěpán, DrSc.

Univerzita Karlova v Praze, 1. lékařská fakulta a Všeobecná fakultní nemocnice v Praze, III. interní klinika – klinika endokrinologie a metabolismu, Osteocentrum

Prof. MUDr. Stanislav Štípek, DrSc.

Univerzita Karlova v Praze, 1. lékařská fakulta, Ústav lékařské biochemie

MUDr. Martin Vejražka

Univerzita Karlova v Praze, 1. lékařská fakulta a Všeobecná fakultní nemocnice v Praze, Ústav lékařské biochemie, Ústav klinické biochemie a laboratorní diagnostiky

MUDr. Miroslav Zeman, CSc.

Univerzita Karlova v Praze, 1. lékařská fakulta a Všeobecná fakultní nemocnice v Praze, IV. interní klinika – klinika hepatologie a gastroenterologie

Prof. MUDr. Tomáš Zima, DrSc.

Univerzita Karlova v Praze, 1. lékařská fakulta a Všeobecná fakultní nemocnice v Praze, Ústav klinické biochemie a laboratorní diagnostiky

Doc. MUDr. Aleš Žák, DrSc.

Univerzita Karlova v Praze, 1. lékařská fakulta a Všeobecná fakultní nemocnice v Praze, IV. interní klinika – klinika hepatologie a gastroenterologie

Předmluva

„Patobiochemie ve schématech“ je určena především studentům lékařských fakult a dalších biomedicínských oborů. Autorský kolektiv připravil učební pomůcku ke studiu patobiochemie nejčastějších klinických stavů. Obsahuje teze a schémata přednášek a seminářů o obecných mechanismech vzniku nemocí jako jsou oxidační stres, zánět, změny vnitřního prostředí a apoptóza. V dalších kapitolách je pojednáno o příčinách a monitoraci diabetes mellitus, o mechanismu vzniku aterosklerózy, dyslipoproteinemiích, dědičných poruchách metabolismu či nádorových markerech. Skriptum má sloužit k přípravě na výuku a po doplnění vlastními poznámkami k přípravě na zkoušku. Má pomoci studentům nalézt vztahy mezi biochemií a klinickou medicínou. Může být prospěšné i studentům nelékařských oborů k přiblížení problematiky vzniku nejčastějších onemocnění.

Autorský kolektiv zahrnuje nejen zkušené biochemiky, ale také klinické pracovníky, kteří promítají poznatky teoretického studia do každodenní lékařské praxe a ukazují studentům význam kvalitních teoretických základů pro pochopení chorobných stavů.

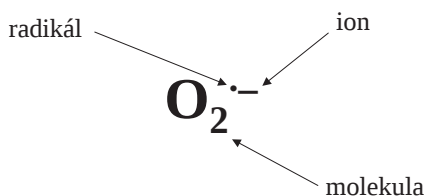
*Tomáš Zima
Stanislav Štípek*

1 Patobiochemie volných radikálů

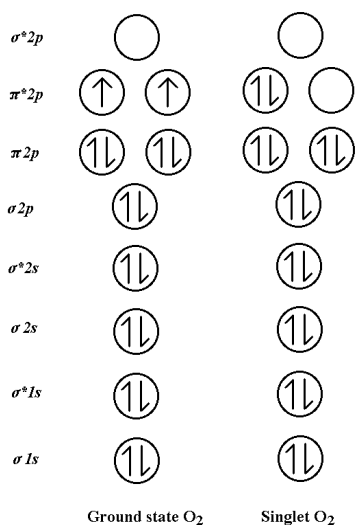
Jan Pláteník

Co je volný radikál?

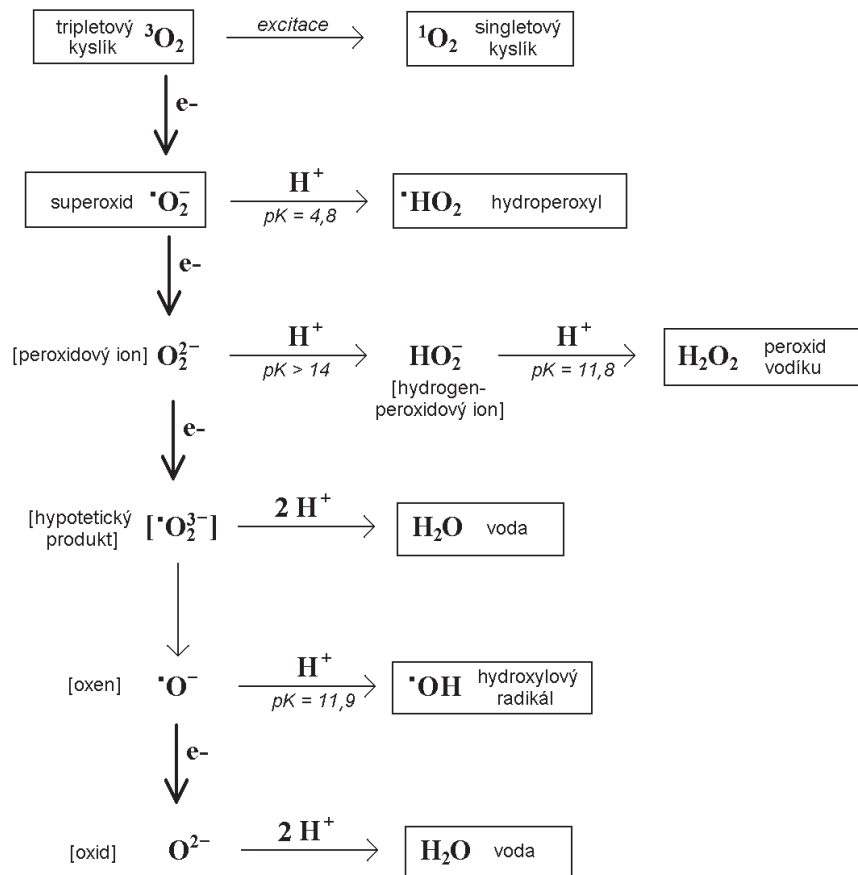
molekula, atom, nebo ion schopný samostatné existence, který obsahuje alespoň jeden nepárový elektron



Spinová restrikce kyslíku



- Normální (triplet) O_2 je biradikál, s vysokou afinitou k elektronům.
- Ale příjem elektronu vyžaduje, aby jeden ze stávajících nepárových elektronů změnil svůj spin, což je relativně pomalý proces.
- Bez této restrikce bychom v kyslíkové atmosféře planety okamžitě shořeli.
- Singletový O_2 je excitovaná, vysoce reaktivní forma kyslíku.



Superoxid



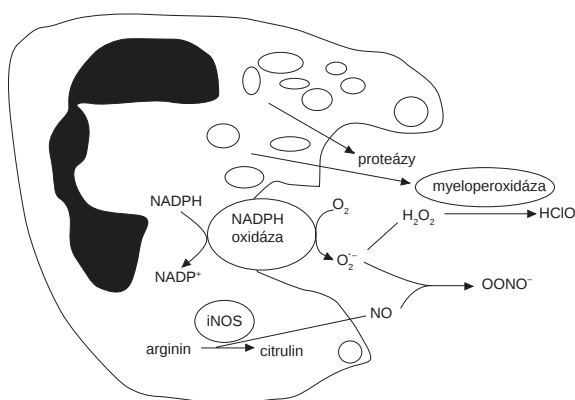
• **Zdroje v těle:**

- Únik elektronů na kyslík
 - dýchací řetězec v mitochondriích
 - jiné podobné redoxní systémy, např. mikrozomální cytochrom P450 monooxygenáza
- NAD(P)H oxidáza:
 - fagocyty („respiratory burst“)
 - nefagocytární buňky
- Některé enzymy:
 - xantinoxidáza
 - cyklooxygenáza
 - lipooxygenáza
- Reakce Fe^{II} -hemoglobinu s kyslíkem
- Autooxidace (reakce s kyslíkem) různých látek (askorbát, glutathion a jiné thiol, catecholaminy)

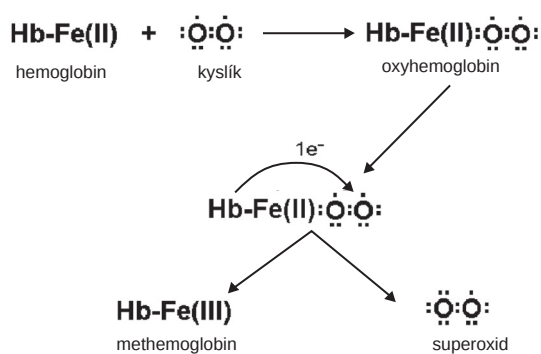
Superoxid vzniká v dýchacím řetězci mitochondrií

- 1–2 % z celkové tělesné spotřeby kyslíku
- Únik elektronů z redoxních center komplexů I a III, nejvíce ze semichinonu

Respirační vzplanutí fagocytu



Vznik superoxidu z oxyhemoglobinu



Štípek, S. et al.: Antioxidanty a volné radikály ve zdraví a nemoci.
Grada Publishing, Praha, 2000.

Superoxid

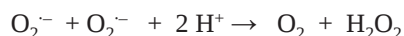


• Vlastnosti:

- Nepříliš reaktivní, oxidační i redukční činidlo
- Omezená možnost průchodu přes membrány (jen skrz aniontové kanály nebo ve své protonované formě)
- Uvolňuje železo z Fe-S clusterů

• Osud:

– Dismutace:



– Reakce s oxidem dusnatým:

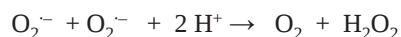


Peroxid vodíku



• Tvorba v těle:

- Dismutace superoxidu (spontánní nebo katalyzovaná superoxiddismutázou):



- Přímo činností některých enzymů:

- xantinoxidáza
- monoaminoxidáza (MAO)

Peroxid vodíku

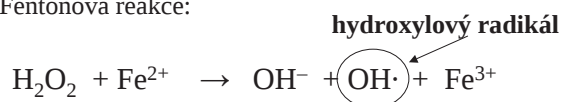


• Vlastnosti:

- Není radikál
- Volně prochází skrz biologické membrány
- Sám o sobě celkem nereaktivní
- Ale rychle reaguje s redukovanými přechodnými kovy jako železo a měď (Fentonova reakce)

• Osud:

- Fentonova reakce:



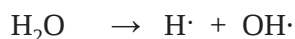
- Bezpečné odstranění glutathionperoxidázou nebo katalázou

Hydroxylový radikál



• Vznik v těle:

– Ionizační záření:



– Fentonova reakce:



• Vlastnosti:

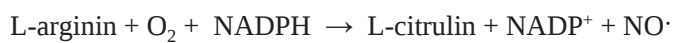
– Extrémně reaktivní. Poškozuje biomolekuly blízko místa svého vzniku.

Oxid dusnatý



• Vznik v těle:

– NO syntázová reakce:



– Tři různé NO syntázy:

- NOS I (neuronální, konstitutivní)
- NOS II (fagocyty, inducibilní)
- NOS III (endoteliální, konstitutivní)

Oxid dusnatý



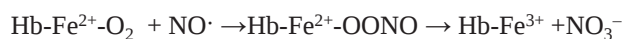
• Vlastnosti:

– Plynný radikál

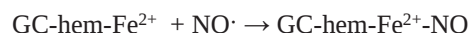
– Reakce s kyslíkem na dusitan (pomalá in vivo):



– Reakce s hemovým železem hemoglobinu (...fyziologická inaktivace):



– Reakce s hemovým železem guanylátcyklázy (...fyziologické účinky, relaxace hladkého svalstva atd.):



Oxid dusnatý



- **Vlastnosti (pokračování):**
 - Reakce se sulfhydrylovou skupinou glutathionu atd. na nitrosothiol (...transport NO):
$$\text{NO} \cdot + \text{GSH} \rightarrow \text{GSNO} + \text{H}^+ + \text{e}^-$$
 - Reakce se superoxidem na peroxynitrit a konečně hydroxylový radikál (...toxicita):
$$\text{NO} \cdot + \text{O}_2^{\cdot -} \rightarrow \text{OONO}^-$$

peroxynitrit

$$\text{OONO}^- + \text{H}^+ \rightarrow \text{HOONO} \rightarrow \text{OH} \cdot + \text{NO}_2 \cdot$$

kyselina peroxydusitá hydroxylový radikál

Reaktivní formy kyslíku
(Reactive Oxygen Species, ROS)

- **Radikály:**
 - superoxid, $\text{O}_2^{\cdot -}$
 - hydroperoxyl, $\text{HO}_2 \cdot$
 - hydroxylový radikál, $\text{OH} \cdot$
 - peroxy, $\text{ROO} \cdot$
 - alkoxy, $\text{RO} \cdot$
- **Ne-radikály:**
 - peroxid vodíku, H_2O_2
 - kyselina chlorná, HClO
 - ozón, O_3
 - singletový kyslík, $^1\text{O}_2$

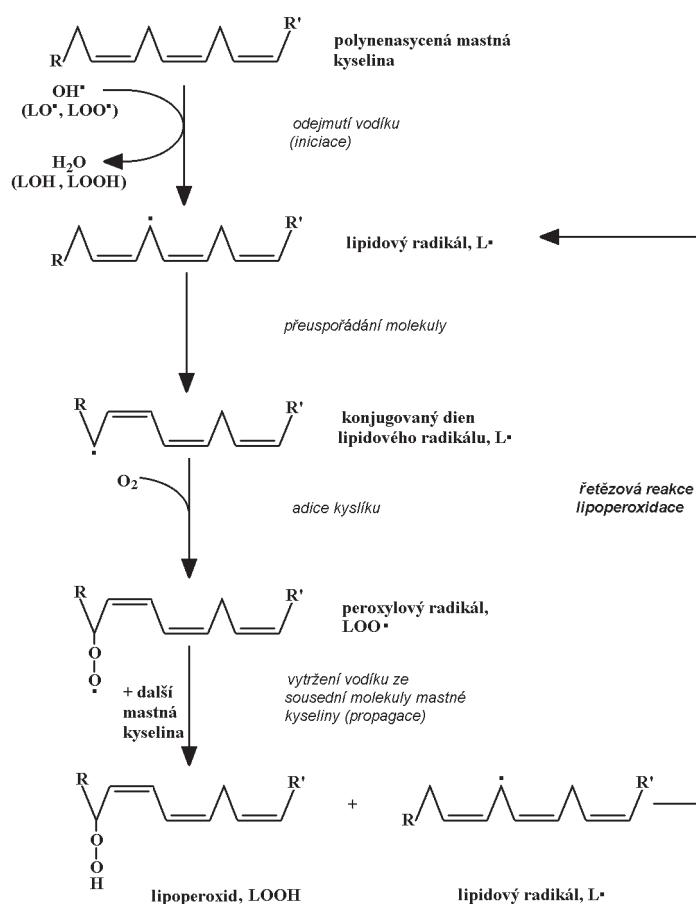
Reaktivní formy dusíku
(Reactive Nitrogen Species, RNS)

- **Radikály:**
 - oxid dusnatý, $\text{NO} \cdot$
 - oxid dusičitý, $\text{NO}_2 \cdot$
- **Ne-radikály:**
 - nitrosonium, NO^+
 - nitroxyl, NO^-
 - kyselina dusitá, HNO_2
 - oxid dusitý, N_2O_3
 - oxid dusičitý, N_2O_4
 - nitronium, NO_2^+
 - peroxynitrit, ONOO^-
 - alkylperoxynitrit, ROONO

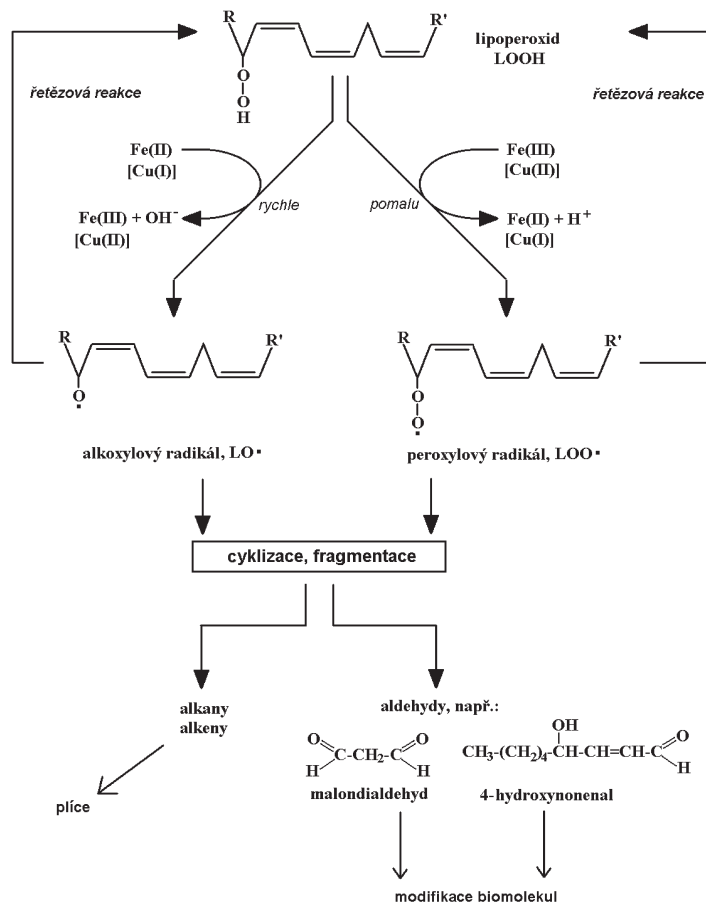
Oxidativní poškození lipidů: lipoperoxidace

- Změny fluidity a permeability membrán
- Produkce toxických & reaktivních aldehydů (malondialdehyd, 4-hydroxynonenal):
 - zesítnění (cross-link) proteinů
 - chemoatraktanty pro makrofágy

Peroxidace lipidů



Další osud lipoperoxidů



Oxidativní poškození proteinů

- Oxidativní modifikace aminokyselinových zbytků
- Hydroxylace aromatických aminokyselin hydroxylovým radikálem
- Nitrace aromatických aminokyselin peroxynitritem
- Agregace a síťování proteinů reaktivními aldehydy (produkty lipoperoxidace)
- Železem katalyzovaná oxidace ϵ -NH₂ skupin zbytků Lys, produkující karbonylové skupiny
- Ztráta funkce enzymu nebo transportéru
- Proteolytická degradace modifikovaných proteinů
- Změny v antigenicitě → autoimunitní reakce

Oxidativní poškození DNA

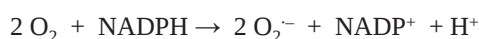
- Reakce hydroxylového radikálu s deoxyribózou: produkce malondialdehydu a zlomu v řetězci DNA
- Hydroxylace purinových/pyrimidinových bází: změna párování bází
 - → mutagenese, kancerogeneze, apoptóza, stárnutí

Kde jsou RONS prospěšné

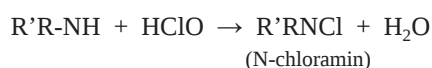
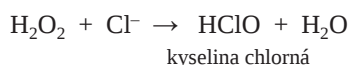
- Monooxygenázy: hydroxylace steroidů, xenobiotik etc.
- Fagocyty: zabíjení mikrobů nebo nádorových buněk
- Mediátory zánětlivé reakce
- Lokální hormony/mediátory:
 - NO:
 - neurotransmitér/neuromodulátor v CNS, funkce v synaptické plasticitě, učení a paměti
 - relaxace hladkého svalstva cévní stěny, gastrointestinálního traktu, corpus cavernosum penis
 - inhibice adheze a agregace trombocytů, adheze leukocytů
 - superoxid stejně tak, účinky protichůdné NO?
- Intracelulární signalizace (ROS jako „second messengers“, redoxní senzory na proteinech?)

Výzbroj fagocytu

- Membránová NADPH oxidáza:



- Myeloperoxidáza:



- Proteázy:

- synergismus mezi ROS and proteázami:
 - HClO , $\text{R}'\text{RNCI}$ → inhibice $\alpha 1$ -antitrypsinu
 - aktivace metaloproteináz oxidací

Centrální úloha železa/mědi v oxidačním stresu

- Redoxně aktivní přechodné kovy (Fe, Cu) přijímají/dávají jeden elektron snadno
 - ... obcházejí spinovou restrikcí kyslíku
 - ... kovy jsou v aktivních centrech všech proteinů pracujících s kyslíkem
- Tytéž vlastnosti Fe, Cu jsou však škodlivé, pokud nejsou kontrolovány
 - Fentonova reakce:




 oxidativní poškození biomolekul

Železo v těle

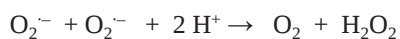
- „volné“ neexistuje
- Fe^{II} se oxiduje molekulárním kyslíkem na Fe^{III} za vzniku kyslíkových radikálů
- Fe^{III} tvoří nerozpustné oxohydroxidy
- Lidské tělo obsahuje kolem 4 g železa
- Hemoglobin: 70 %
- Myoglobin, cytochromy, enzymy obsahující hemové nebo nehemové železo: 10 %
- Feritin: 20–30 %
- Transferin, laktoferin

Pool „nízkomolekulárního“ železa

- komplexy Fe s polyfosfáty, nukleotidy, polykarboxylovými kyselinami (citrát)
- fyziologicky pouze uvnitř buněk, plazma 0
- pouze toto železo může reagovat ve Fentonově reakci
- kontrola/minimalizace tohoto poolu reaktivního železa představuje základní antioxidační strategii organismu

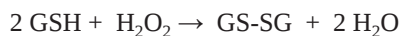
Antioxidační ochrana: enzymy

- **Superoxiddismutáza:**

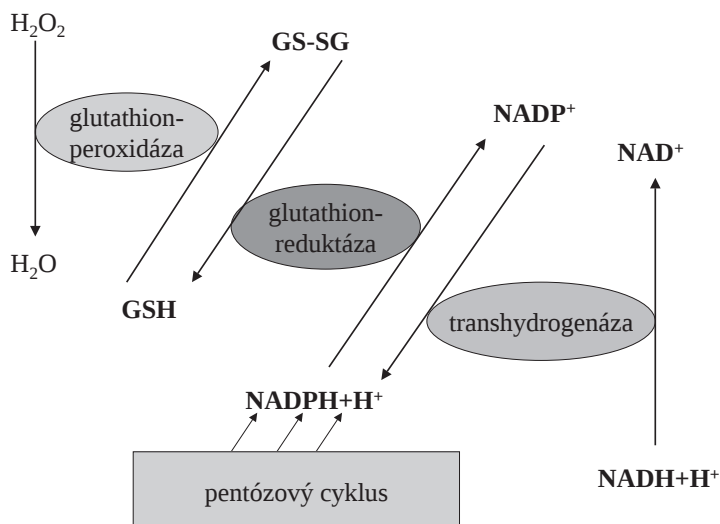
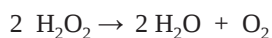


- Cu, Zn-SOD (cytosolová)
- Mn-SOD (mitochondriální)
- EC-SOD (extracelulární)

- **Glutathionperoxidáza:**



- **Kataláza:**



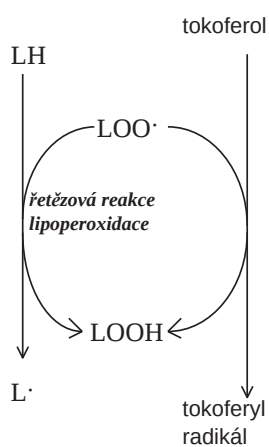
Antioxidační ochrana: vysokomolekulární endogenní antioxidanty

- Proteiny zacházející s železem a/nebo mědí:
 - transferin
 - laktoferin
 - feritin
 - haptoglobin
 - hemopexin
 - ceruloplazmin
 - albumin
- Chaperony

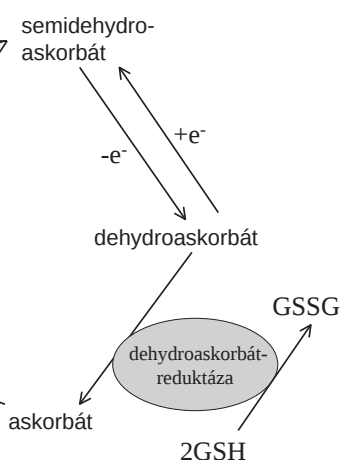
Antioxidační ochrana: nízkomolekulární endogenní antioxidanty

- askorbát (vitamin C)
- α -tokoferol (vitamin E)
- ubichinon (koenzym Q)
- karotenoidy, vitamin A
- glutathion
- kyselina lipoová
- kyselina močová
- bilirubin
- flavonoidy

membránový kompartment:



hydrofilní kompartment:



2 Antioxidační systém a jeho insuficience, stárnutí

Stanislav Štípek

Úvod

V biologických systémech včetně lidského organismu se dvouatomová molekula kyslíku metabolicky redukuje na **reaktivní formy kyslíku** (ROS – reactive oxygen species – tj. superoxid, peroxid a hydroxylový radikál). Tyto formy jsou užitečné v řadě katalyzovaných reakcí a při uvolňování energie ze živin. Jejich koncentrace je udržována na fyziologické hladině **antioxidačním systémem**. Pokud převládne tvorba ROS nebo se zpomalí jejich odstraňování, poruší se oxidoredukční rovnováha, ROS patologicky oxidují biomolekuly a poruší signální metabolismus buněk. Je to stav **oxidačního stresu**, jeden ze základních patogenetických mechanismů vedoucích k různým onemocněním (zánět, ateroskleróza, hypertenze, degenerativní choroby CNS, maligní nádory a projevy stárnutí).

Oxidoredukční prostředí (redoxní stav) buňky

Je definováno intenzitou oxidační zátěže, které jsou buňka nebo její oddíl vystaveny (včetně tvorby ROS), kapacitou antioxidačního systému a dostupností redukčních ekvivalentů.

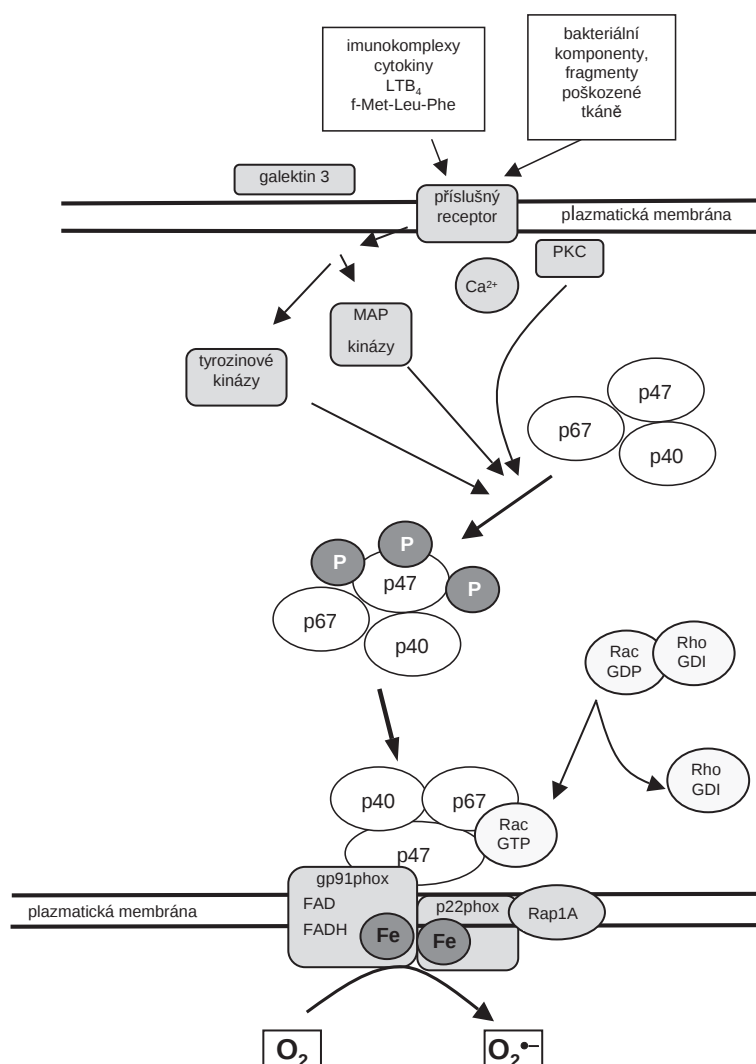
Zdroje řízené produkce ROS

- NADPH oxidáza
- xantinoxidoreduktáza (XOR)
- oxidoreduktázy dýchacího řetězce vnitřní mitochondriální membrány
- lipooxygenázy

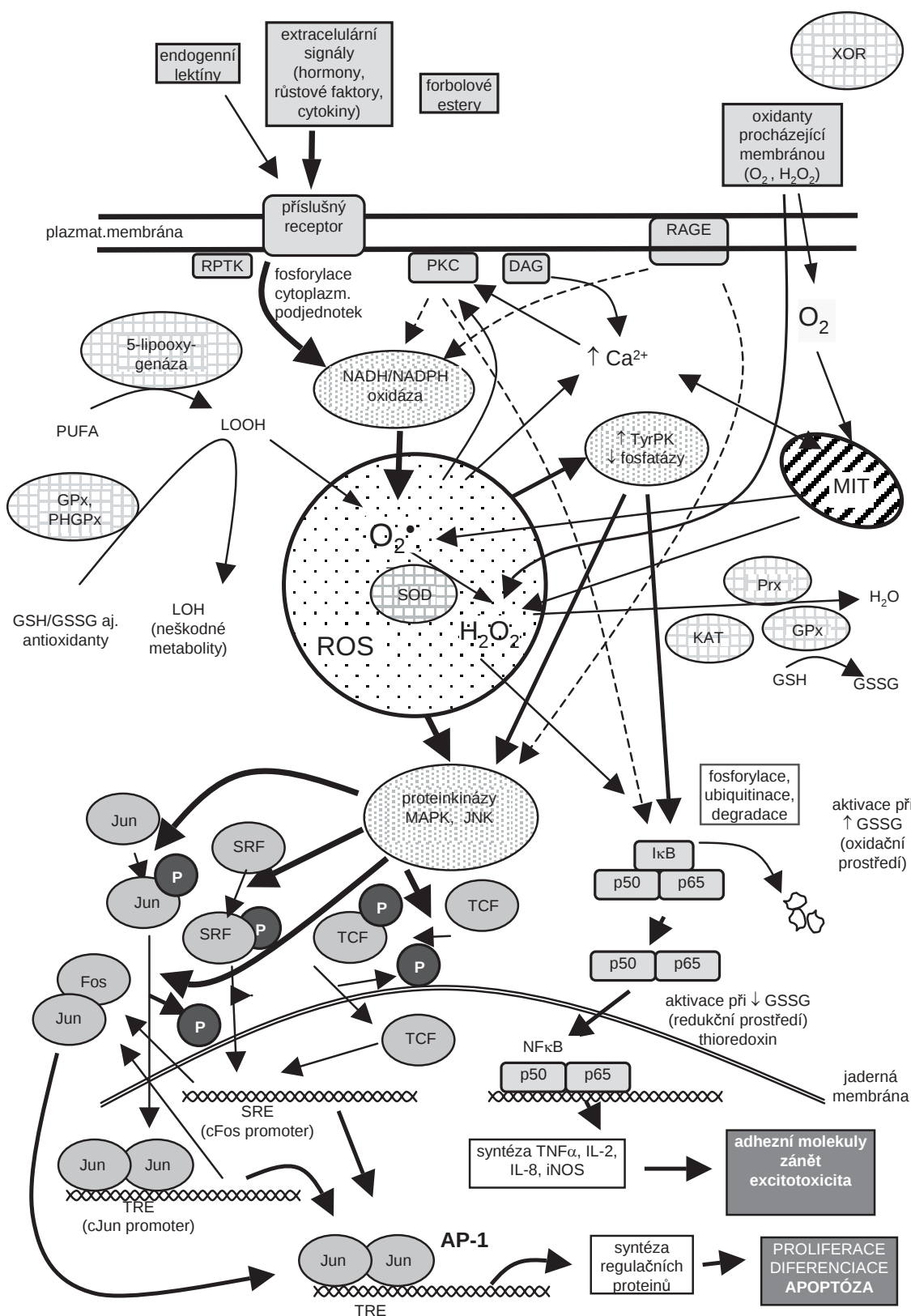
Příklad řízené produkce superoxidu

Řízení aktivace NADPH oxidázy signálními cestami

Fosforylace podjednotky p47 je podstatná pro sestavení aktivního membránového komplexu



ROS z různých zdrojů ovlivňují v buněčných kompartmentech aktivitu signálních molekul, regulačních faktorů a enzymů tím, že mění oxidoredukční stav senzorových struktur (sulfhydrylových skupin a komplexů iontů železa). Tím se mění jejich konformace, aktivita a vazebné schopnosti. Na obrázku je znázorněno ovlivnění transkripčních faktorů AP-1 a NFκB hladinou ROS a změnami vlastností signálních molekul.



Příklady redoxních senzorových molekul

- Transkripční faktory (bakteriální OxyR, SoxR, p53, NFκB)
- Signální molekuly (proteinfosfatázy)

ANTIOXIDAČNÍ OCHRANNÝ SYSTÉM

je tvořen **antioxidanty**, tedy látkami, které jsou schopny v relativně nízké koncentraci soutěžit s jinými oxidovatelnými biomolekulami, a tak významně zpomalit nebo inhibovat oxidaci těchto substrátů. Jsou to:

- **neenzymové látky**, zejména tokoferol (vit. E), karoten, askorbát (vit. C) a glutathion
- **enzymy**, které mění reaktivní formy kyslíku a dusíku (RONS) v méně reaktivní produkty
- **buněčné a biochemické ochranné systémy**, odstraňující nebezpečné oxidačně poškozené struktury z organismu

ANTIOXIDAČNÍ OCHRANNÝ SYSTÉM

Nízkomolekulární látky

- askorbát
- tokoferoly
- karotenoidy
- koenzym Q (ubichinon)
- thiol a disulfidy
- lipoová kyselina
- urát
- bilirubin
- flavonoidy

Antioxidační enzymy

- superoxid dismutázy (SOD)
- glutathionperoxidázy (GPX)
- glutathiontransferázy (GST)
- kataláza (CAT)

Jiné antioxidační proteiny

- transferin
- ferritin
- ceruloplazmin
- haptoglobin a hemopexin

Jiné antioxidační mechanismy

- reparační mechanismy DNA
- apoptóza

