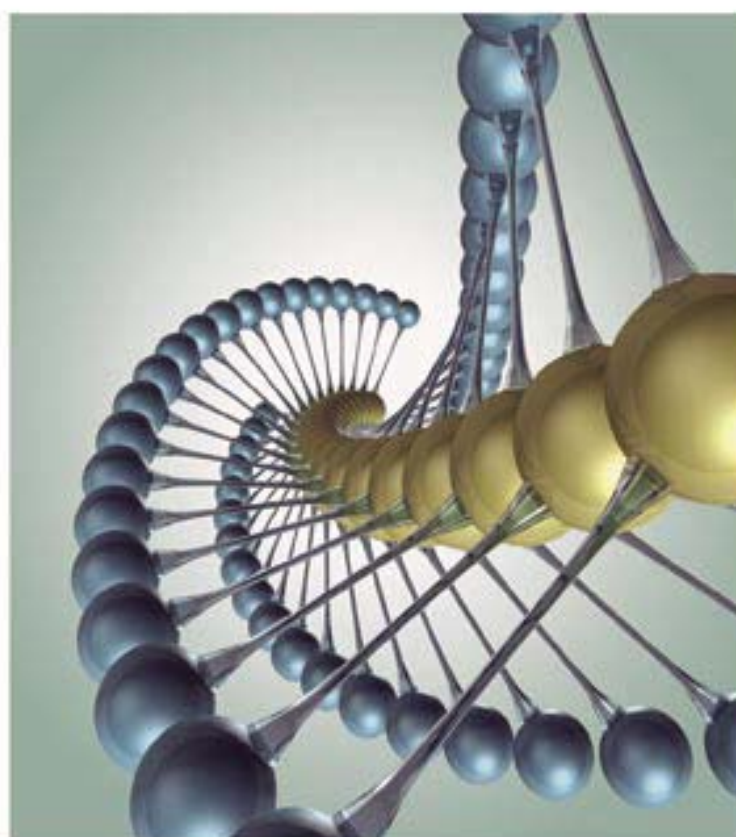


Marta Kalousová a kolektiv

---

# 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, umístování 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.

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

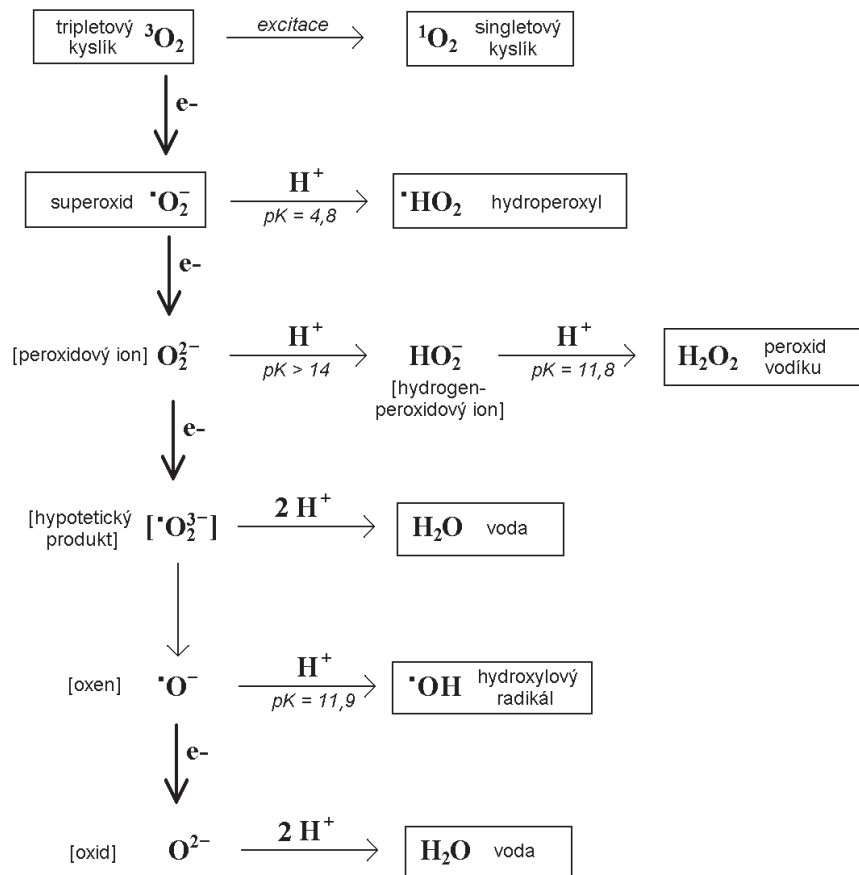
„Patobiochemie ve schématech“ je určena především studentům lékařských fakult a dalších biomedicínských oborů. Autorský kolektiv připravil učební pomůcku ke studiu patobiochemie nejčastějších klinických stavů. Obsahuje teze a schémata přednášek a seminářů o obecných mechanismech vzniku nemocí jako jsou 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*







(Green, MJ, Hill HAO;  
Meth. Enzymol. 1984, 105,  
3–22. Upraveno.)

## Superoxid



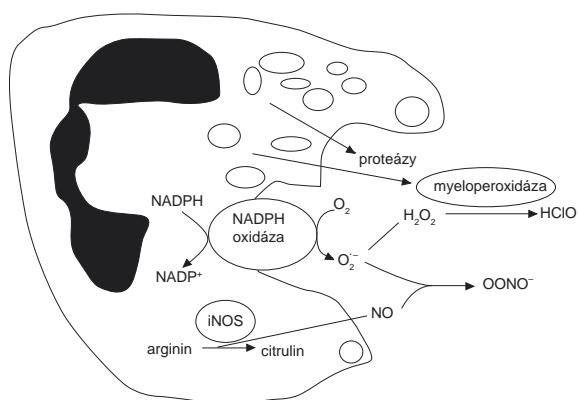
### • Zdroje v těle:

- 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  $\text{Fe}^{\text{II}}$ -hemoglobinu s kyslíkem
- Autooxidace (reakce s kyslíkem) různých látek (askorbát, glutathion a jiné thiohy, catecholaminy)

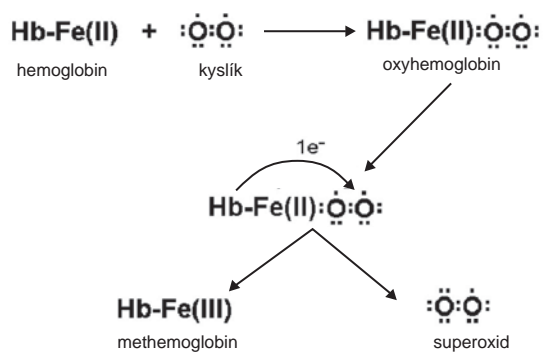
## Superoxid vzniká v dýchacím řetězci mitochondrií

- 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



Štěpek, 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:**

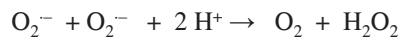


## Peroxid vodíku



- **Tvorba v těle:**

- Dismutace superoxidu (spontánní nebo katalyzovaná superoxidodismutázou):



- Přímo činností některých enzymů:

- xantinoxidáza
- monoaminoxidáza (MAO)

## Peroxid vodíku

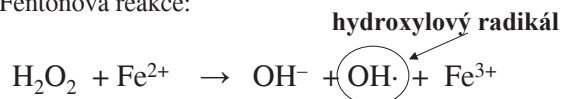


- **Vlastnosti:**

- 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:



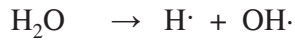
- Bezpečné odstranění glutathionperoxidázou nebo katalázou

## Hydroxylový radikál

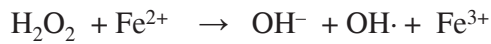


- **Vznik v těle:**

- Ionizační záření:



- Fentonova reakce:



- **Vlastnosti:**

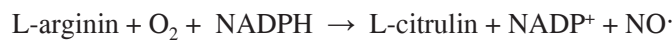
- Extrémně reaktivní. Poškozuje biomolekuly blízko místa svého vzniku.

## Oxid dusnatý



- **Vznik v těle:**

- NO syntázová reakce:



- Tři různé NO syntázy:

- NOS I (neuronální, konstitutivní)

- NOS II (fagocyty, indukibilní)

- NOS III (endoteliální, konstitutivní)

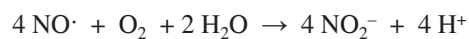
## Oxid dusnatý



- **Vlastnosti:**

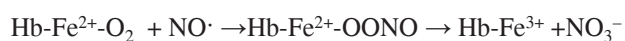
- Plynný radikál

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



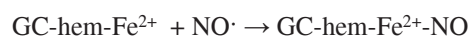
- Reakce s hemovým železem hemoglobinu

- (...fyziologická inaktivace):



- Reakce s hemovým železem guanylátcyklázy

- (...fyziologické účinky, relaxace hladkého svalstva atd.):



## Oxid dusnatý

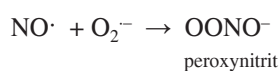


### • Vlastnosti (pokračování):

– Reakce se sulfhydrylovou skupinou glutathionu atd. na nitrosothiol (...transport NO):



– Reakce se superoxidem na peroxyinitrit a konečně hydroxylový radikál (...toxicita):



## Reaktivní formy kyslíku (Reactive Oxygen Species, ROS)

### • Radikály:

- superoxid,  $\text{O}_2^-$
- hydroperoxyl,  $\text{HO}_2 \cdot$
- hydroxylový radikál,  $\text{OH} \cdot$
- peroxy,  $\text{ROO} \cdot$
- alkoxy,  $\text{RO} \cdot$

### • Ne-radikály:

- peroxid vodíku,  $\text{H}_2\text{O}_2$
- kyselina chlorná,  $\text{HClO}$
- ozón,  $\text{O}_3$
- 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,  $\text{NO}^+$
- nitroxyl,  $\text{NO}^-$
- kyselina dusitá,  $\text{HNO}_2$
- oxid dusitý,  $\text{N}_2\text{O}_3$
- oxid dusičitý,  $\text{N}_2\text{O}_4$
- nitronium,  $\text{NO}_2^+$
- peroxyinitrit,  $\text{ONOO}^-$
- alkylperoxyinitrit,  $\text{ROONO}$

## Oxidativní poškození lipidů: lipoperoxidace

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

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

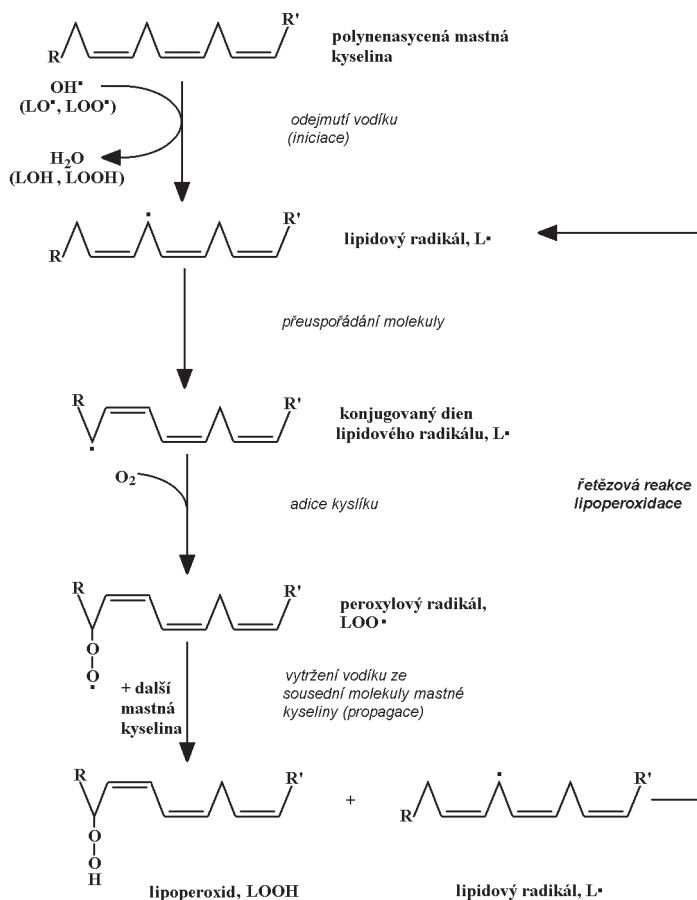
---

---

---

---

## Peroxidace lipidů




---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

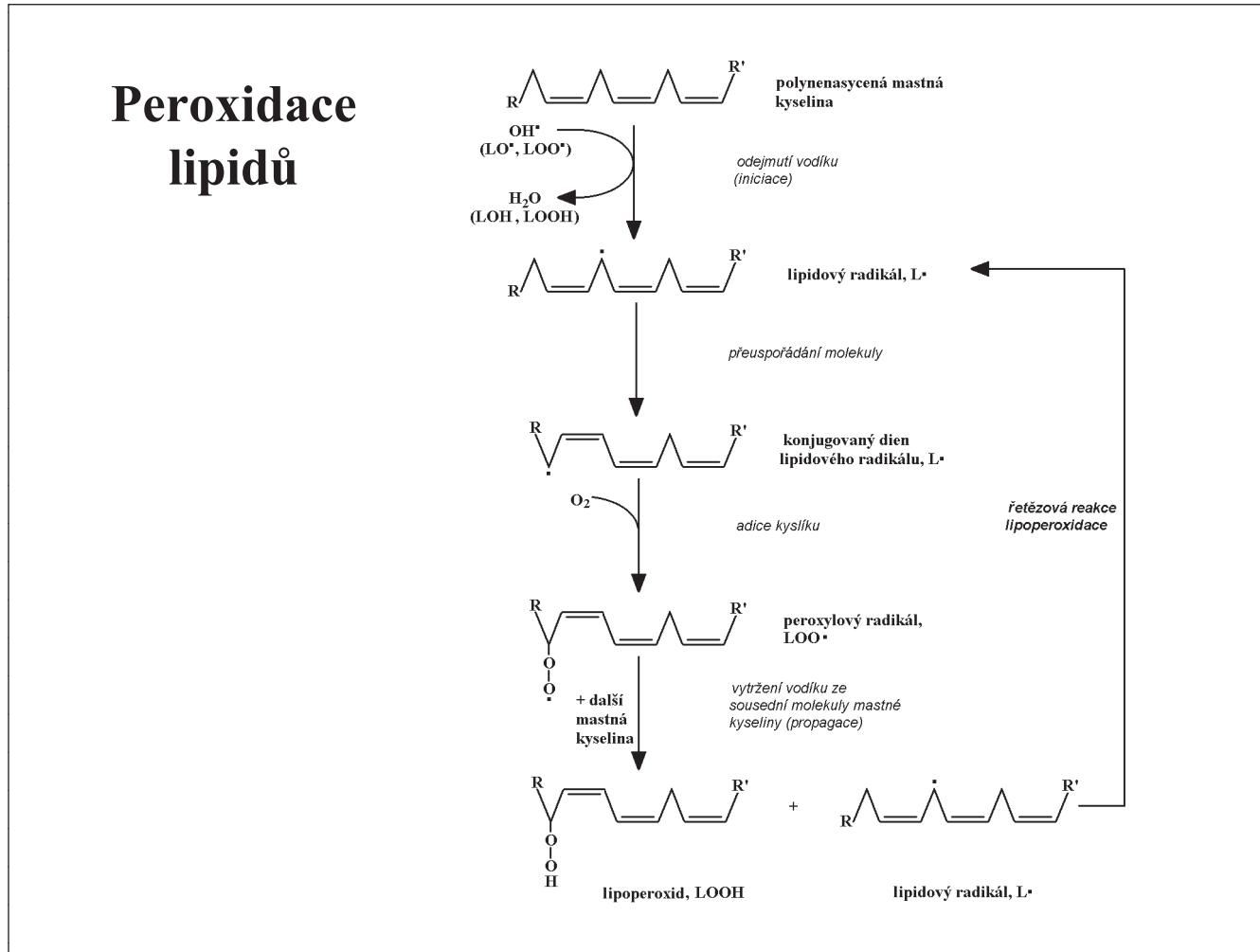
---

---

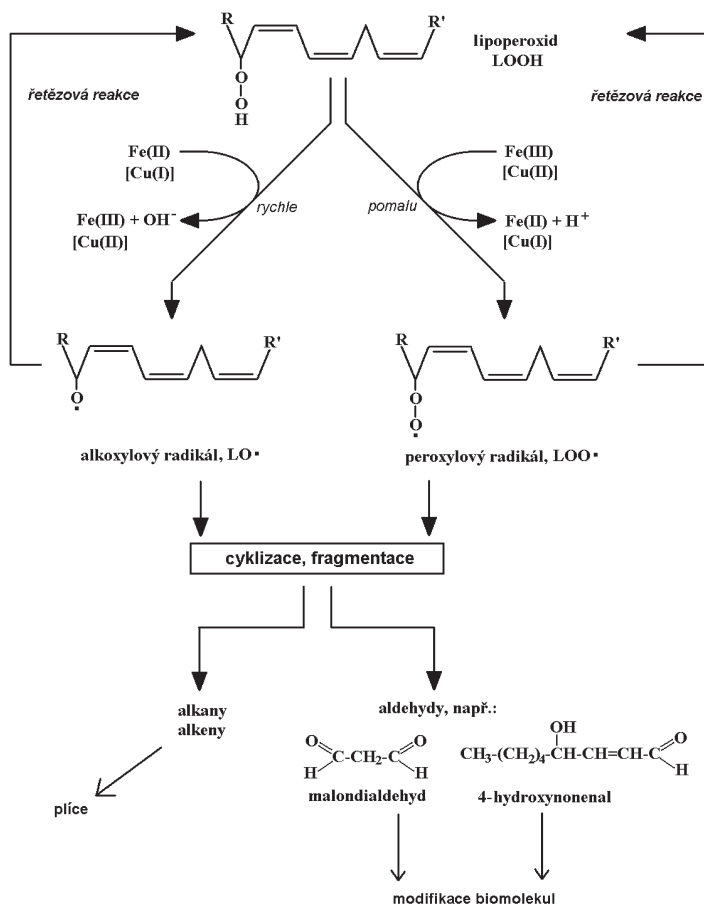
---

---

---



## 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-NH<sub>2</sub> 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

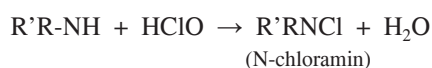
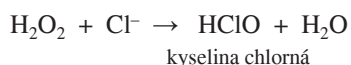
- Monooxygenázy: hydroxylace steroidů, xenobiotik etc.
- Fagocyty: zabíjení mikrobů nebo nádorových buněk
- Mediátory zánětlivé reakce
- Lokální hormony/mediátory:
  - NO:
    - neurotransmitér/neuromodulátor v CNS, funkce v synaptické plasticitě, učení a paměti
    - relaxace hladkého svalstva cévních stěn, 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:**



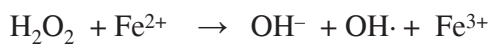
- **Proteázy:**

- synergizmus mezi ROS and proteázami:
  - HClO, R'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:



## Železo v těle

- „volné“ neexistuje
- $\text{Fe}^{\text{II}}$  se oxiduje molekulárním kyslíkem na  $\text{Fe}^{\text{III}}$  za vzniku kyslíkových radikálů
- $\text{Fe}^{\text{III}}$  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

<del>Superoxid Peroxid</del> ICT Fe/Cu	Superoxid Peroxid ECT <del>Fe/Cu</del>
superoxid-dismutáza glutathionperoxidáza kataláza  glutathion tokoferol askorbát	<i>Antioxidační enzymy &amp; hladiny glutathionu velmi nízké</i>  tokoferol askorbát karotenoidy, kyselina močová, albumin, glukóza, bilirubin...
low-molecular-weight Fe přítomno	Sekvestrace železa a mědi: – transferin, laktoferin – hemopexin – haptoglobin – ceruloplazmin (ferroxidáza) – Cu vázáno na albumin

## Volné radikály v patogenezi lidských onemocnění

- **Příčina chorobného stavu, např.:**
  - kancerogeneze v důsledku expozice ionizačnímu záření
  - retinopatie novorozenců (fibroplasia retrolentalis)
  - iron-overload disease
- **Významný podíl na patogenezi, např.:**
  - chronický zánět (např. revmatoidní artritida)
  - ARDS
  - ateroskleróza
  - mozkové trauma/hemoragie
  - diabetes mellitus
  - koncept ischemie/reperfuze
  - stárnutí
- **Jen epifenomenon** (obecný důsledek tkáňového poškození)

## Antioxidační ochrana

- prevence tvorby ROS/RNS (regulace produkujících enzymů, sekvestrace přechodných kovů)
- vychytávání, lapání a zhasení radikálů
- reparační systémy (fosfolipázy, proteazom, enzymy opravující DNA)

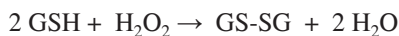
## Antioxidační ochrana: enzymy

- **Superoxiddismutáza:**

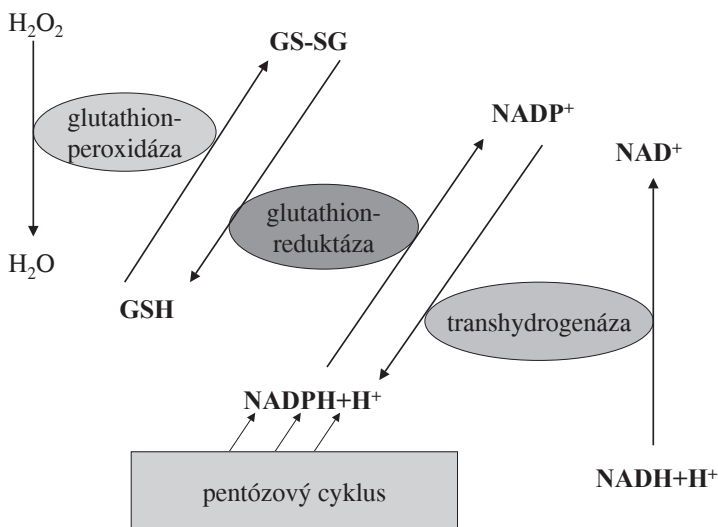
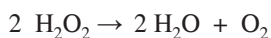


- Cu, Zn-SOD (cytosolová)
- Mn-SOD (mitochondriální)
- EC-SOD (extracelulární)

- **Glutathionperoxidáza:**



- **Kataláza:**



## Antioxidační ochrana: vysokomolekulární endogenní antioxidanty

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

