**Bílkoviny**

* polypeptidové řetězce (více jak 100 AMK) se složitou strukturou – až 4 úrovně
* všechny bílkoviny jsou složeny pouze z 20/(21) aminokyselin (tzv**. proteinogenní AMK**):
	+ α-aminokyseliny, kde α je označení uhlíku, na kterém je aminoskupina -NH2 (výjimka: prolin, který je α-iminokyselina)
	+ L- aminokyseliny (označení L určuje u AMK uspořádání na α-uhlíku)
	+ AMK jsou opticky aktivní látky (výjimka: glycin)
	+ AMK jsou amfolyty, tj. jsou schopné se chovat jako kyseliny i jako zásady - tj. kation H+ jak přijmout, díky NH2-skupině, tak odštěpit, díky COOH-skupině



* forma AMK, která má zároveň kladný i záporný náboj a ve výsledku je tedy náboj nulový se označuje jako **amfion = zwitterion = obojetný ion**
* **pH,** při kterém se AMK nachází v podobě amfiontu, je označováno jako **izoelektrický bod**
* v bílkovinách jsou AMK navzájem spojeny **peptidovou vazbou** (**CO-NH**), pro vznik peptidové vazby je třeba dodání energie v podobě ATP
* peptidový řetězec je lineární



**Funkce proteinů:**

1. strukturní /stavební - kolagen, elastin, keratin
2. mechanická/pohybová – aktin, myosin
3. transportní – Hb, myoglobin, transferin, albumin
4. obranné – ochrana organismu – Ig, fibrinogen (srážení krve)
5. regulační – hormony (thyreotropin, folitropin, lutropin)
6. katalytické - enzymy (bílkovinná část se označuje jako apoenzym)

**Rozdělení proteinů:**

1. Jednoduché – pouze protein
2. Složené – krom bílkovinné složky, obsahují ještě nějakou další nebílkovinnou část
	1. glykoproteiny (TSH)
	2. lipoproteiny (Apo A1, apo B)
	3. nukleoproteiny (DNA+ histony)
	4. metalloproteiny (např. enzymy obsahují kovy – Zn, Mn, Fe)
	5. fosfoproteiny

**Metabolismus bílkovin**

* štěpení bílkovin probíhá prostřednictvím enzymů – proteázy (proteolytické enzymy štěpící peptidovou vazbu – řadí se k hydrolázám)
* dle místa působení na protein rozlišujeme:
	1. Exopeptidázy – štěpí bílkovinu od krajních AMK
		1. Aminopeptidázy (od N-konce)
		2. Karboxypeptidázy (od C-konce)
	2. Endopeptidázy – štěpí bílkovinu uvnitř řetězce
* dle specificity rozlišujeme proteázy:
	1. specifické – proteinový řetězec štěpí na konkrétních místech (např. trypsin – C-konec obsahuje lysin či arginin; chymotrypsin – C-konec obsahuje tyrosin či fenylalanin)
	2. nespecifické - štěpí proteinový řetězec na libovolném místě (např. pepsin)

**Trávení bílkovin přijatých potravou:**

* postupná hydrolýza proteinů na peptidy až jednotlivé AMK, které se dostávají do krevního řečiště
* trávení bílkovin je urychleno denaturací bílkovin (pomáhá kyselé pH žaludku)
* v těle se vytváří – pravidelně obnovuje vnitřní hotovost AMK = pool AMK (kompletní škála proteinogenních AMK)
* proteolytické enzymy jsou syntetizovány ve žlázách v neaktivní podobě = tzv. proenzymy = zymogeny – ukládány do granul – ty se uvolňují na základě nervového či hormonálního podnětu ⇒ z proenzymu se vytváří enzym

**Žaludek: pepsinogen ⇒ pepsin**

**Tenké střevo (pankreatická šťáva): trypsinogen, chymotrypsinogen ⇒ trypsin, chymotrypsin**

* bílkoviny jsou postupně rozloženy na jednotlivé AMK, které se mohou stát součástí poolu AMK, nebo být odbourány – nejprve dojde k deaminaci a uhlíkatá kostra pak má různý osud, podle toho o jakou AMK jde:
	+ Glukoplastické – mohou se zapojit do metabolismu sacharidů (přeměňují se na některou z látek citrátového cyklu) - většina
	+ Ketoplastické – mohou se z nich vytvářet ketolátky jako např. acetoacetát (leucin, lysin)
	+ Schopné vytvářet jak ketolátky, tak se zapojit do metabolismu sacharidů (isoleucin, fenylalanin, tyrosin, tryptofan)
* při deaminaci se z AMK odstraní aminoskupina, v podobě amoniaku – amonný kation je poté zapojen do **močovinového = ornitinového cyklu (probíhá v játrech)** a přeměněn **na močovinu**, která je z těla vyloučena močí

**referenční hodnota pro celkovou bílkovinu** v séru: 65-85 g/l

**Elektroforéza bílkovin**

Při elektroforéze bílkovin se používá elektroforéza buďto na agarózovém nebo acetylcelulozovém gelu. Obě tyto techniky separují bílkoviny pouze na základě celkového náboje proteinových molekul a provádí se za konstantní hodnoty pH elektrolytu. ELFO bílkovin se prování v alkalickém pufru (pH = 8,6), ve kterém bílkoviny mají záporný náboj, jsou tedy v podobě aniontů a pohybují se směrem od katody k anodě – „pravidlo“ tří **A:** **A**lkalické pH -**A**nionty bílkovin – směřují k **A**nodě.

Elektroforéza bílkovin sloužení k rozdělení bílkovin krevního séra (případně mozkomíšního moku) do jednotlivých frakcí. Při elektroforéze krevního séra rozlišujeme 5 základních frakcí: albumin – α1 globuliny –
α2 globuliny – β globuliny –
γ globuliny. Dále je skupina β globulinů rozdělována na podskupiny β1 a β2 globulinů.

**Významné plazmatické bílkoviny**

**Stanovení:** nejčastěji se ke stanovení koncentrace jednotlivých bílkovin využívají imunochemické metody (ELISA, či imunoturbidimetrie/imunonefelometrie)

**Prealbumin**

* vzniká v játrech
* slouží jako transportní protein pro hormony štítné žlázy (dominantně T4) a pro retinol binding protein = bílkovinu vázající vitamín A (brání ztrátám bílkoviny vázající vitamin A do moči)
* snížen je při porušené proteosyntéze v játrech (těžká hepatopatie) či u proteinové malnutrice

**Albumin**

* nejvíce zastoupená plazmatická bílkovina
* vzniká v játrech
* ze 75% se podílí na onkotickém tlaku plazmy
* transportní bílkovina pro nekonjugovaný bilirubin, NEMK, hormony štítné žlázy, vápník, hořčík, zinek a jiné minerály; váže i některé léky
* součást extracelulárního antioxidačního systému v ochraně proti volným radikálům

**Referenční hodnoty**: 35 – 53 g/l

**Hypoalbuminémie:**

* snížená syntéza u těžké hepatopatie či proteinové malnutrice;
* zvýšený katabolizmus u akutních zánětů a nádorů;
* zvýšené ztráty ledvinami (nefrotický syndrom), do GIT, kůží;
* při hyperhydrataci pacienta.

**Stanovení:**

* fotometricky – detekce komplexu vytvořeného mezi albuminem a barvivem (bromkresolovou zelení či bromkresolovým purpurem); standardem musí být lidský albumin
* imunochemicky = imunoturbidimetrie

**Alfa1 antitrypsin (AAT) = Alfa1 inhibitor proteáz (API)**

* hlavní podíl v alfa1-globulinech
* vzniká v játrech
* slouží jako inhibitor proteolytických enzymů (elastázy, kolagenázy) uvolňovaných při zánětlivé reakci z makrofágů
* snížen u těžké hepatopatie, při dědičném defektu tvorby (důsledkem může být cirhóza jater, dále se rozvíjí plicní emfyzém)
* zvýšen u akutních zánětů a v akutních závažných stavech, fyziologicky v těhotenství

**Alfa1-fetoprotein (AFP)**

* vzniká ve žloutkovém vaku, v játrech plodu; v nádorových buňkách u nádorů jater, produkován je též maligními teratomy (nádory složené z různých tkání, které v daném místě normálně nebývají a které vznikly z embryonální tkáně)
* zvýšen je fyziologicky v těhotenství, patologicky u nádorů jater a maligních teratomů, a mírné zvýšení je i u akutní a chronické hepatitidy
* v průběhu těhotenství jeho koncentrace postupně vzrůstá, testuje se ve druhém trimestru – moc vysoké koncentrace budí podezření na rozštěpové vady CNS – moc nízké koncentrace zase značí riziko Downova syndromu

**Haptoglobin**

* vzniká v játrech
* velmi pevně váže hemoglobin za vzniku komplexu hemoglobin-haptoglobin, který je z krevního oběhu rychle odstraňován
* zvýšen u akutních stavů
* snížen při poruše proteosyntézy v játrech, u hepatitidy jeho koncentrace koreluje se závažností onemocnění

**Ceruloplazmin**

* ve své molekule obsahuje měď (8 atomů na jednu molekulu)
* jeho funkcí je transport mědi
* vykazuje oxidázovou aktivitu, kdy způsobuje oxidaci Fe2+ na Fe3+ – čímž brání vzniku hydroxylového radikálu a působí tedy antioxidačně
* Zvýšené hodnoty: fyziologicky v těhotenství
* snížené hodnoty způsobují rozvoj tzv. Wilsonovy choroby

**Feritin**

* Lokalizace: játra, slezina, kostní dřeň, v malém množství v séru
* obsahuje železo – jeho koncentrace v séru odráží stav tkáňových zásob Fe
* slouží jako zásobárna Fe

**Transferin**

* vzniká v játrech
* slouží jako transportní bílkovina - může vázat dva atomy železa (Fe3+), vychytává z plazmy volné železo
* za fyziologických podmínek je kapacita transferinu nasycena železem cca z 1/3 – zbývající 2/3 se nazývají **volná vazebná kapacita železa**
* z kolika procent je transferin saturován železem udává tzv. **saturace transferinu**
* zvýšen je při nedostatek železa v organismu (při malnutrici nedojde k jeho zvýšení neb je málo i bílkovin)
* snížen je naopak při přebytku železa v organismu (hemosideróza, hemochromatóza, osteomyelofibróza aj.); dále pak při poruše proteosyntézy v játrech, při akutní zátěži organismu

**Hemopexin**

* váže hem (podobná funkce jako haptoglobin – ten váže celý hemoglobin)

**C-reaktivní protein (CRP)**

* název pochází z jeho schopnosti srážet = precipitovat C-polysacharid pneumokoků
* vzniká v játrech, jeho syntéza je vyvolána cytokiny (IL-6)
* CRP je bílkovina akutní fáze s rychlým nástupem (6-9 hodin po začátku zánětu, vrchol 1-3.den) a nejvýraznější reakcí ze všech bílkovin akutní fáze, nejvýrazněji roste u bakteriálních infekcí (u virových infekcí roste jen minimálně)

**Fibrinogen**

* plazmatická bílkovina, která se uplatňuje se při hemokoagulaci
	+ působením trombinu dochází k přeměně fibrinogenu na fibrin, který následně polymerizuje
* snížen u těžké hepatopatie (nedostatečná syntéza), diseminovaná intravaskulární koagulopatie = DIC (zvýšená spotřeba)

**Imunoglobuliny**

* obsahují dva páry těžkých (H, heavy) a dva páry lehkých (L, light) polypeptidových řetězců, které jsou v molekule uspořádány symetricky a spojeny S-S můstky; molekula Ig má tvar písmene **Y .**
* existuje pět variant těžkých řetězců označených γ, α, μ, δ, ε - odtud rozdělení do pěti tříd imunoglobulinů (t.j. G, A, M, D, E) a dvě varianty lehkých řetězců označených kappa a lambda

**Reakce akutní fáze**

Reakce akutní fáze je nespecifická obranná reakce na poškození organismu akutním zánětem.

Zánět: může být vyvolán fyzikální, chemickou či infekční agens. Může se projevit lokálně (zarudnutí, otok, teplé místo) nebo celkovou reakcí organismu (horečka, leukocytóza, hormonální odpověď – produkce stresových hormonů, kortizolu, změna koncentrace některých bílkovin – tzv. reaktantů akutní fáze zánětu).

Reaktanty akutní fáze zánětu

* tvorba probíhá v játrech a je vyvolána působením cytokinů (IL-6, IL-1, TNFα);
* **vlastní/pozitivní reaktanty akutní fáze:** CRP; inhibitor proteáz α, α1-kyselý glykoprotein, haptoglobin, hemopexin, fibrinogen;
* nejrychleji reaguje CRP a jeho koncentrace se mění nejvýrazněji
* na zánět reagují i složky komplementu, i když stoupají méně výrazně než CRP
* **negativní reaktanty akutní fáze**: albumin, prealbumin, transferin – koncentrace těchto bílkovin v akutních stavech klesá; což je dáno urychleným katabolismem, upřednostněním tvorby pozitivních reaktantů akutní fáze

Další parametry akutního zánětu

* Prokalcitonin (PCT): prekurzor kalcitoninu, jeho tvorba je stimulována bakteriální a mykotickou infekcí; na virovou infekci téměř nereaguje
* Elastáza: uvolňuje se z granulocytů při jejich reakci na bakteriální zánět, reakce je rychlá a má prognostický význam