

**2. Lékařská fakulta University Karlovy v Praze
Ústav klinické biochemie a patobiochemie**

PATOBIOCHEMIE
metabolických drah
(2. doplněné vydání)

Jaroslav MASOPUST
Richard PRŮŠA

Praha 2004

Obsah	strana
1. Intermediární metabolismus	3 – 9
2. Patobiochemie metabolismu glukosy	10 – 33
3. Metabolismus glykogenu a jeho poruchy	34 – 41
4. Metabolismus dusíkatých sloučenin a jeho poruchy	42 – 58
5. Patobiochemie metabolismu lipidů	59 – 95
6. Metabolismus eikosanoidů a jeho poruchy	96 – 99
7. Energetický metabolismus	100 – 108
8. Metabolismus purinů (pyrimidinů) a močové kyseliny a jejich poruchy	109 – 115
9. Biosyntéza hemu a její poruchy	116 – 122
10. Degradace hemoglobinu; tvorba a vylučování žlučových barviv a jejich poruchy	123 – 126
11. Acidobazická rovnováha a její poruchy	127–139
12. Metabolismus vody a elektrolytů a jeho poruchy	140–153
13. Metabolismus vápníku a fosforu a jeho poruchy	154–159
14. Metabolismus stopových prvků a jeho poruchy	160–167
15. Patobiochemie regulací	168– 195
16. Patobiochemie výživy	196–210
17. Genetická exprese a její poruchy	211–217

INTERMEDIÁRNÍ METABOLISMUS

1. Úvod

Přeměna živin po strávení a vstřebávání v organismu představuje děje, kterým říkáme **(intermediární) metabolismus**.

Metabolické pochody možno rozdělit do 3 kategorií:

(a) *anabolické*: Na jejich základě vznikají v živých organismech nové sloučeniny biosyntéza); k tomu je třeba volné energie, která se bere z pochodů další kategorie:

(b) *katabolické*: Tyto zahrnují oxidativní procesy uvolňující ze sloučenin chemický potenciál (volnou energii) ve formě energeticky bohatých fosfátů (~ P) a redukčních ekvivalentů (H⁺). Vznikají přitom sloučeniny s nižším energetickým potenciálem až konečné metabolity (kupř. CO₂ a H₂O nebo urea, kreatinin, močová kyselina apod.)

(c) *amfibolické*: mají více funkcí a představují jakousi "křížovátku" metabolických pochodů spojující jak anabolické, tak katabolické pochody (příkladem je cyklus citronové kyseliny).

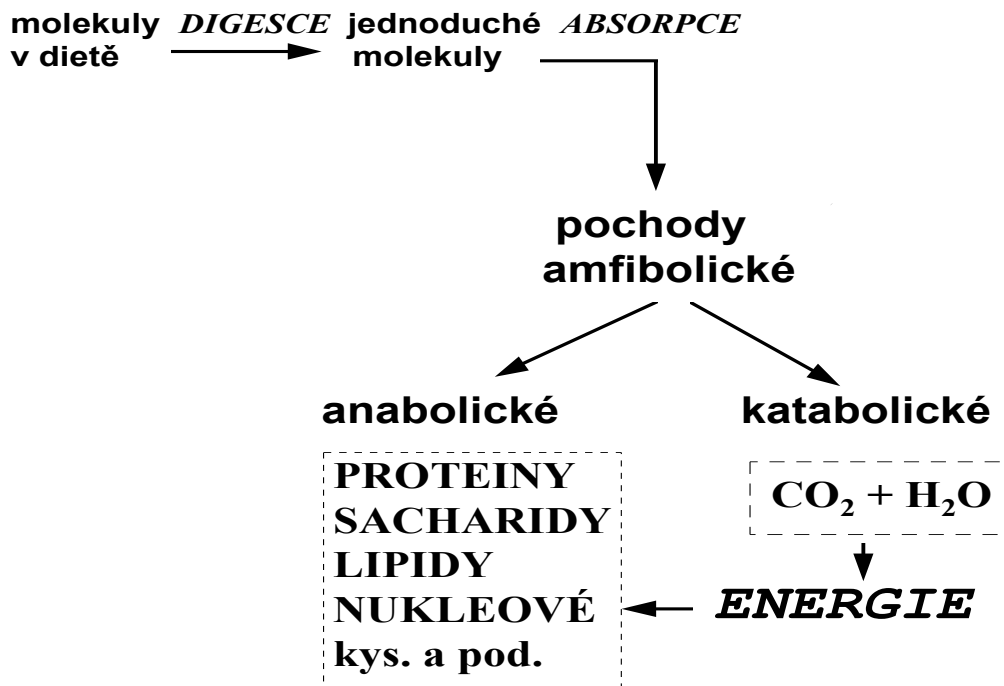
HLAVNÍ METABOLICKÉ POCHODY

a/ katabolické uvolňují volnou energii ve formě redukčních ekvivalentů (2 H⁺) nebo vysokoenergetických fosfátů (~ P)

b/ anabolické umožňují výstavbu nových biomolekul

c/ amfibolické působí jako spojka mezi oběma předcházejícími

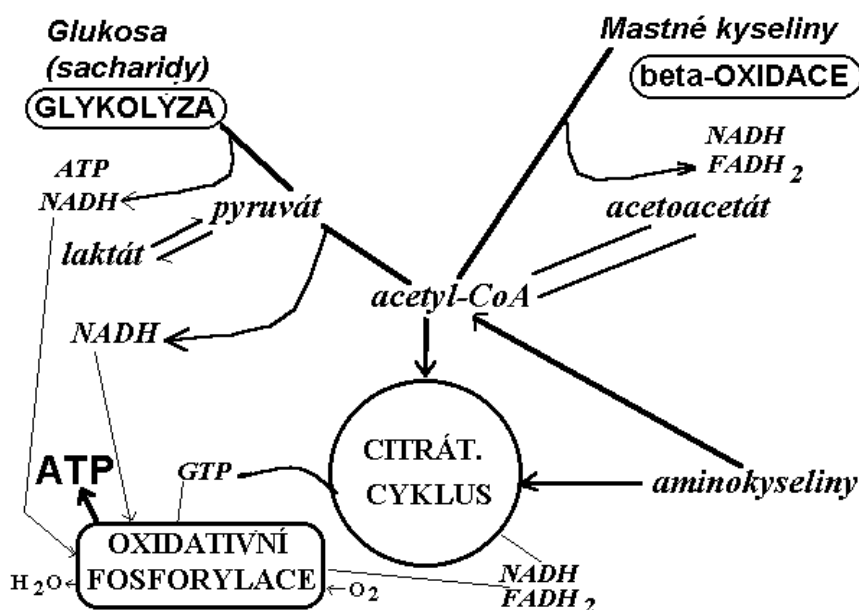
Obr. : Hlavní metabolické pochody



Poznání, jak všechny tyto pochody probíhají, je důležité pro porozumění fyziologickým i patologickým dějům v organismu. Fyziologický metabolismus zahrnuje variace a adaptaci metabolismu na období hladovění, zvýšené tělesné námahy, těhotenství, laktace, zátěžové situace apod. Patologický metabolismus vzniká jako důsledek kupř. dlouhodobého nedostatku živin, stopových prvků, minerálů, vody, také kyslíku, vitaminů apod. , nebo je následkem působení toxických látek, infekce, nebo je pozměněn pro genetické abnormality (deficit enzymů, abnormální struktura proteinů apod.). I když prakticky u všech chorobných stavů dochází ke změnám v metabolismu, zvláštní skupinu tvoří tzv. metabolické choroby (jako je kupř. diabetes mellitus nebo dědičné poruchy metabolismu).

2. Hlavní metabolické dráhy

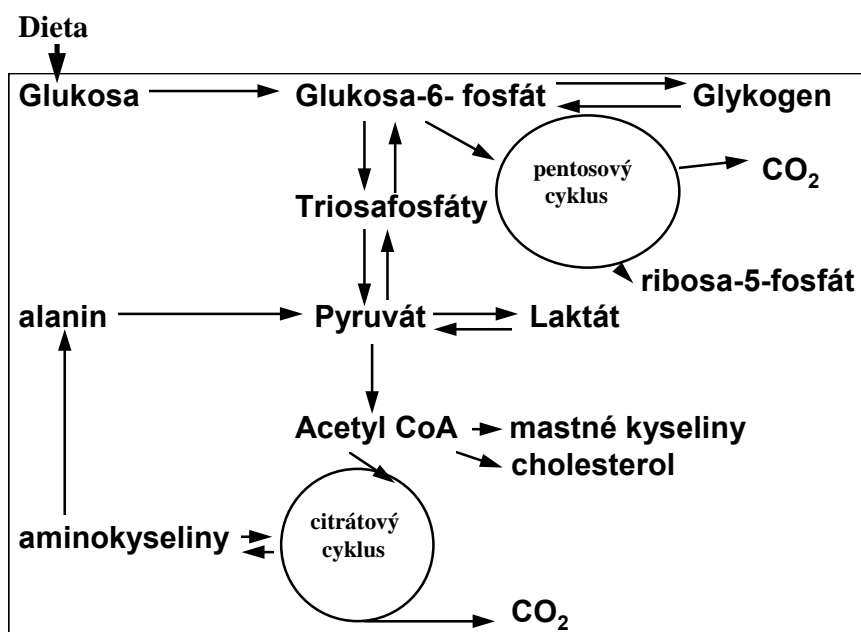
Týkají se zpracování 3 hlavních živin přijímaných v potravě: sacharidů, tuků a bílkovin, respektive jejich základních metabolitů: glukosy, mastných kyselin, glycerolu a aminokyselin.



2. 1. Metabolismus sacharidů

Glukosa je metabolizována na pyruvát a laktát cestou glykolýzy. Má-li však do ní vstoupit, musí být nejprve aktivována fosforylací na glukosa-6-fosfát. Za nepřístupu O_2 končí glykolytická dráha laktátem (anaerobní glykolýza); s dostatkem kyslíku může být pyruvát dekarboxylován na acetyl-CoA (ústřední metabolit, v němž se křižují metabolické dráhy všech 3 hlavních živin). Úplná oxidace na CO_2 a H_2O se děje prostřednictvím cyklu citronové kyseliny. Přitom uvolněná energie je zachycena v základní energeticky bohaté sloučenině, která poskytuje energii pro anabolické procesy - tj. adenosintrifosfátu (ATP). Děje se tak oxidativní fosforylací v kaskádě tzv. dýchacího řetězce umístěného na vnitřní membráně mitochondrií. Glukosa je zdrojem energie pro všechny tkáně (pro některé výlučným). Glukosa se účastní též jiných metabolických drah: glykogenogeneze pomocí které je skladována ve formě polysacharidu glykogenu nebo pentosafosfátové dráhy, jejímž účelem je poskytovat redukční ekvivalenty ve formě NADPH (nutné pro některé biosyntetické pochody jako kupř. tvorba triacylglycerolů); dále je zdrojem ribosa-5-fosfátu, který tvoří cukernou složku nukleových kyselin. Z triosafosfátů (intermediární metabolity glykolytické dráhy) se tvoří glycerolové jednotky acylglycerolů (tuky a další lipoidní látky).

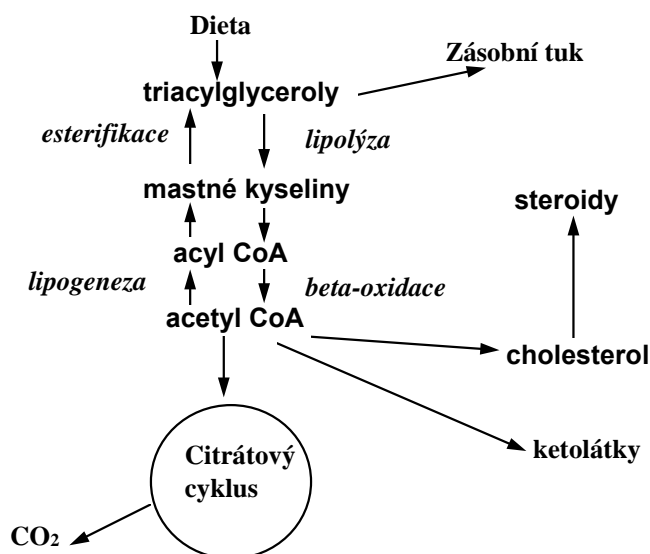
Obr. : Metabolismus sacharidů (přehled)



2. 2. Metabolismus lipidů

Je spojen s metabolismem mastných kyselin s dlouhým postranním řetězcem a s metabolismem cholesterolu. Mastné kyseliny uvolněné z triacylglycerolů se mohou katabolizovat β -oxidací na acetyl-CoA. Ten pak může být oxidován na CO₂ a H₂O v cyklu citronové kyseliny nebo v játrech může být metabolizován na ketolátky acetoacetát, 3-hydroxybutyrát, případně aceton) nebo může sloužit k syntéze cholesterolu a steroidů. Mastné kyseliny v katabolické dráze slouží tedy jako zdroj volné energie, a to velmi vydatný; jsou však ve vodě nerozpustné a k tkáním, které jich využívají, se dostávají ve vazbě na albumin nebo formou triacylglycerolů umístěných v lipoproteinových částicích. Ketolátky jsou naproti tomu ve vodě rozpustné a v cirkulaci nevyžadují transportní protein.

Obr. : Metabolismus mastných kyselin (lipidů)



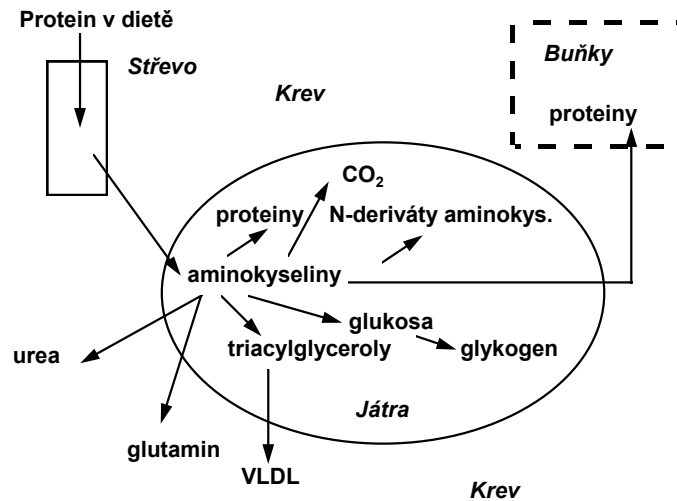
2. 3. Metabolismus proteinů (aminokyselin)

Aminokyseliny jako základní stavební jednotka bílkovin se dělí na nutričně esenciální, bez nichž se v potravě neobejdeme a nutričně neesenciální, které si organismus může vytvořit sám (z esenciálních aminokyselin a intermediárních metabolitů). Přenos aminoskupiny se děje transaminací. Katabolismus dusíku aminokyselin je spojen s oxidativní deaminací; vysoce toxický NH_3 při tom uvolněný musí být detoxikován a nakonec přeměněn na močovinu (ureogeneza v játrech). Uhlíkový skelet aminokyselin může být buď využit pro tvorbu glukosy (glukoneogeneze) nebo ketolátke nebo může být oxidován cestou cyklu citronové kyseliny.

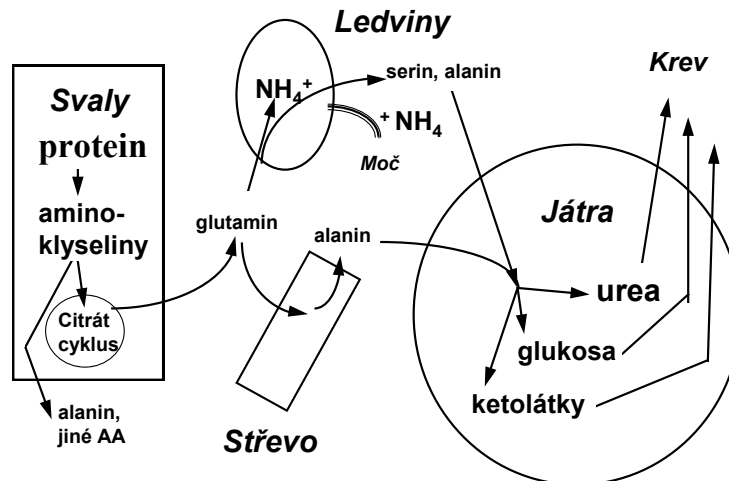
Aminokyseliny jsou potřebné nejen k tvorbě bílkovin, ale jsou prekurzorem pro biosyntézu dalších produktů: puriny, pyrimidiny, hormony apod.

Obr. : Metabolismus aminokyselin (proteinů)

A. Po jídle



B stav lačnění



3. Klíčové metabolity

V organismu se vyskytuje velké množství různých metabolitů, jejichž molekuly mají velmi různou dobu trvání. Rozdílnost se projevuje dále ve schopnosti podléhat metabolickým přeměnám a také pronikat buněčnými membránami.

Z těchto hledisek můžeme metabolity dělit na:

(a) **metabolity vysoce reaktivní**, které mají vysoký obsah chemického potenciálu (volné energie). Jsou to především sloučeniny fosforylované. Na prvním místě je třeba jmenovat ATP, dále pak

* **hexosafosfáty (glukosa-6-fosfát, fruktosa-1,6-bisfosfát)**

* **triosafosfáty (glyceraldehyd-3-fosfát)**

* **glycerol-3-fosfát**

* **fosfoenolpyruvát**

* **karbamoylfosfát**

* **5-fosforibosyl-1-difosfát**

* **uridindifosfát-glukosa**

Dále sloučeniny s koenzymem A (CoA)

* **acetyl-CoA**

* **acyl-CoA**

* **sukcinyl-CoA**

nebo

* **S-adenosylmethionin**

(b) **Metabolity tvořící pohotovostní zásobu (pool)**

Sem patří především **glukosa, mastné kyseliny, ketolátky, aminokyseliny, laktát, albumin**. Tyto látky jsou do buněk dodávány z krevní cirkulace a cytoplasma buněk má jejich malou pohotovostní zásobu. Nejsou to však látky skladované. Do metabolických drah vstupují obvykle až po aktivaci (fosforylace glukosy na glukosa-6-fosfát nebo reakci s CoA jako acetoacetyl-CoA nebo palmityl-CoA apod.).

(c) **Skladové metabolity**

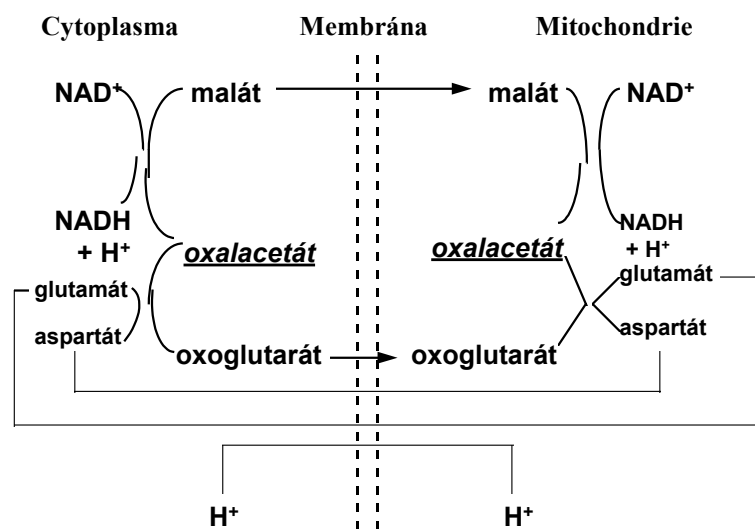
Představují zásobu především energie. Sem patří **glykogen** a **triacylglyceroly** a slouží k úhradě energie v době hladovění. Tkáňové proteiny (zejména svalové) se používají jako energetický zdroj, až když ostatní produkty jsou vyčerpány; nejde však o rezervu v pravém slova smyslu.

Substrát	Množství	kcal	Vystačí na dobu
glykogen	500 g	2 x 10 ³	1 - 2 dny
protein	1500 g	6 x 10 ³	
triacylglyceroly	13 000 g	120 x 10 ³	80 dní

Transport metabolitů přes buněčné membrány

Prostupnost membrán vzhledem k metabolitům je různá. Transport metabolitů mezi mitochondriemi a cytoplasmou je omezen jen na některé metabolity. NADH nemůže přecházet mitochondriální membránou. Přitom extramitochondriální NADH se nemůže v cytoplasmě hromadit a musí být oxidován na NAD^+ kaskádou respiračního řetězce v mitochondriích. Redukční ekvivalenty se proto přenášejí přes mitochondriální membránu formou substrátů, a to tzv. **glycerofosfátovým** nebo **malát–aspartátovým kyvadlem** (v cytoplasmě vzniká z oxalacetátu (není prostupitelný) působením malátdehydrogenasy malát, ten vstupuje do mitochondrií, kde z něho vzniká za působení malátdehydrogenasy oxalacetát a NADH). Oxalacetát je nepropustný mitochondriální membránou; tou může kromě malátu přecházet 2-oxoglutarát a aspartát i glutamát, které jsou členy tohoto "kyvadla".

Obr.: Malát–aspartátový kyvadlový přenos



Glycerofosfátové kyvadlo realizuje přenos redukčních ekvivalentů pomocí glycerol-3-fosfátu a dihydroxyacetonfosfátu za účasti enzymu glycerol-3-fosfátdehydrogenasy; z NADH v cytoplasmě vzniká FADH_2 v mitochondriích. Toto kyvadlo působí pouze v játrech a svalstvu, není v myokardu a jiných tkáních. Ve svalech přenos energeticky bohatých fosfátů z mitochondrií do sarkolemy umožňuje kreatinfosfátové kyvadlo. Toto má značný význam zejména v myokardu, kde funguje jako "energetický nárazník", který na krátký čas chrání myokard před náhlým nedostatkem energie při hypoxii.

4. Lokalizace hlavních metabolických drah v buňce a prostupnost metabolitů membránami

Pochody vyžadující větší množství energie stejně jako pochody poskytující větší množství energie jsou lokalizovány **v mitochondriích**

- cyklus citronové kyseliny
- β -oxidace mastných kyselin
- ketogeneza
- 1. fáze ureageneze (tvorba karbamoylfosfátu)
- 1. fáze a poslední fáze biosyntézy hemu.

Pochody probíhající v cytoplasmě

- glykolýza
- glukoneogeneze (začátek karboxylace pyruvátu na oxalacetát je v mitochondriích)
- glykogenogeneze
- glykogenolýza
- pentosafosfátová dráha
- metabolismus triacylglycerolů

Pochody v endoplasmatickém retikulu

- lipogeneze (biosyntéza mastných kyselin)
- biosyntéza cholesterolu
- proteosyntéza

PATOBIOCHEMIE METABOLISMU GLUKOSY

1. Význam udržování hladiny krevní glukosy (homeostáza glukosemie)

Lidské tělo potřebuje plynulou dodávku chemické energie, kterou mu poskytuje ATP. Zdrojem ATP jsou metabolické děje při katabolismu hlavních živin (sacharidů [50–70% celk. energie], proteinů a lipidů). Potrava se však přijímá přerušovaně a vstřebané živiny nepřetrvávají v krevní cirkulaci v dostatečné koncentraci do dalšího jídla. Jsou proto vytvářeny v organismu zásobárny chemické energie především ve formě glykogenu (polymer glukosy) a triacylglycerolů (tuk); také tělesné proteiny mohou být spotřebovávány jako zdroj energie, i když jejich hlavní funkcí je činnost katalytická, strukturální, nosičová anebo receptorová. Nadměrné využívání tělesných bílkovin jako zdroj energie jde na úkor těchto funkcí. Jedním z důležitých zdrojů energie pro tvorbu ATP je katabolismus glukosy (glykolýza). Při anaerobním odbourávání (končící na úrovni laktátu) je zisk pouze 2 mol ATP na 1 mol glukosy; při aerobním (oxidaci v cyklu citrátovém) je zisk 38 mol ATP. (Podle novějších údajů je zisk pouze 31 mol ATP na oxidaci 1 mol glukosy) **Glukosa je hlavním zdrojem energie pro většinu tkání.** Pro erythrocyty, které nemají mitochondrie dokonce jediný; rovněž mozek je závislý na plynulé dodávce glukosy, protože není schopen využít mastné kyseliny; ketolátky začne využívat až po několikadenním hladovění, kdy jejich hladina v krvi mnohonásobně stoupne. Hladina glukosy v krvi (glukosemie) je proto udržována v relativně úzkém rozmezí 3–7 mmol/l (ve srovnání s hladinou mastných kyselin, kde rozdíly v koncentraci mohou být až 10-ti násobné; u ketolátek dokonce 100-násobné). Při poklesu glukosemie (hypoglykemie) pod 1,5 mmol/l mozek už není dostatečně energeticky zajištěn, koncentrace ATP v mozku klesá a funkce mozkové tkáně je narušena; trvalý pokles končí v kómatu. Při zvýšených hodnotách glukosy (hyperglykemie) negativní účinek je dán jednak zvýšením osmolarity krve (což vede k "nasávání" vody a elektrolytů z tkání do cirkulace), jednak tím, že dochází ke glykaci (neenzymová reakce semiacetálového hydroxyly glukosy s volnými aminoskupinami proteinů) některých bílkovin (hemoglobin, kolagen, lipoproteiny, bílkoviny oční čočky, bazální membrány glomerulů apod.).

2. Metabolické děje udržující fyziologickou hladinu glukosy

(glykolýza, glukoneogeneze, glykogenolýza, glykogenogeneze, lipogeneze, Cori-ho cyklus)

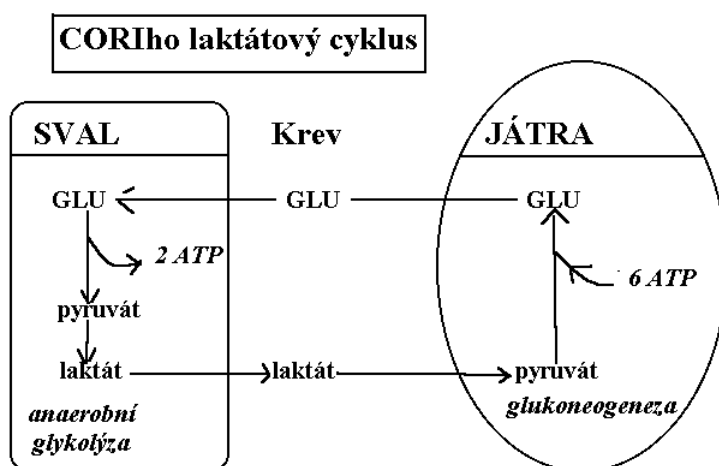
Glukosemie je regulována buď stimulací jejího využívání buňkami (glykolýza) anebo nasměrováním do zásob (glykogenogeneze, lipogeneze), je-li jí přebytek, anebo omezením jejího využití a současně její novotvorba (glykogenolýza, glukoneogeneze), nastane-li její pokles v cirkulaci.

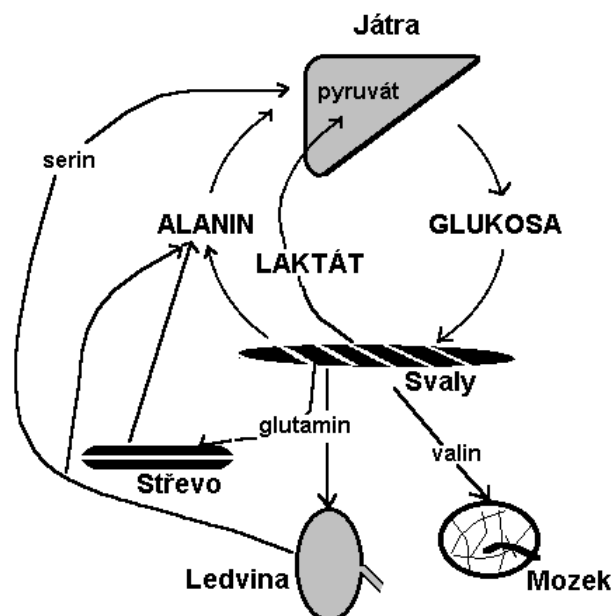
Po požití potravy se dostává glukosa cestou vena portae (koncentrace zde stoupne až na 15 mmol/l) do jater, kde je přeměňována z různě velké části na glykogen, v periferní cirkulaci nepřevyšuje za normálních okolností hodnotu tzv. renálního prahu 9,5 – 10 mmol/l (obvyklé maximum 6,5– 7,2 mmol/l). Z cirkulace je glukosa přenášena do buněk tkání, které ji využívají (svalstvo, tuková tkáň apod.) pomocí proteinového přenašeče umístěného na membráně. Tento přenos je regulován pomocí insulinu. Některé tkáně (mozek, erytrocyty, játra) této regulaci nepodléhají a vstup glukosy do buněk odvisí pouze na její hladině v cirkulaci. Tedy tkáně, které využívají krevní glukosu pomocí řízeného glukosového přenašeče, vychytávají glukosu jen když je v přebytku. Buňky používají glukosu nejen pro tvorbu chemické energie ve formě ATP (glykolýza), ale část ji přeměňují na skladovou formu - glykogen (glykogenogeneze) (zejména játra, svalstvo, ledviny). Některé tkáně (játra a tuková tkáň) dovedou přeměnit glukosu na mastné kyseliny (lipogeneze), které jsou uchovány v tukové tkáni jako zásobní triacylglyceroly.

V době lačnění, když glukosa v cirkulaci poklesne k dolní hranici (asi za 2,5 až 3 hodiny), začne se chybějící glukosa doplňovat rozpadem jaterního glykogenu (glykogenolýza) podporovaná glukagonem. Zásoba glykogenu se zcela vyčerpá za 24 až 48 hodin, proto už za několik hodin (4-8 h) nastává syntéza glukosy "de novo" především z aminokyselin tělesných proteinů (glukoneogeneze); potřebná energie se získává z odbourávání mastných kyselin za trvalého hladovění. Toto může probíhat pořadu týdnů (do vyčerpání tělesných zásob proteinů).

V kosterním svalstvu, zejména při zvýšené aktivitě, vzniká větší množství laktátu pro vystupňovanou glykolýzu. Laktát ze svalů přechází prostřednictvím krevní cirkulace

Obr. : C o r i - h o (laktátový) cyklus a glukosa-alaninový cyklus

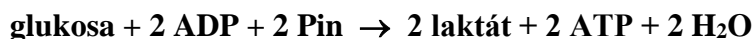




do jater, kde se Coriho - ho (laktátový) cyklus a glukosa-alaninový cyklus využije jako zdroj glukosy cestou glukoneogeneze. Glukosa uvolněná z jater do cirkulace se dále dostává do ostatních tkání, především do kosterního svalstva, kde je využita jako zdroj energie (Coriho laktátový cyklus). Zdrojem glukosy v glukoneogenetické dráze je také svalový alanin, který prostřednictvím krevní cirkulace se dostává do jater a tam se mění na pyruvát z kterého vzniká glukosa (glukosa-alaninový cyklus).

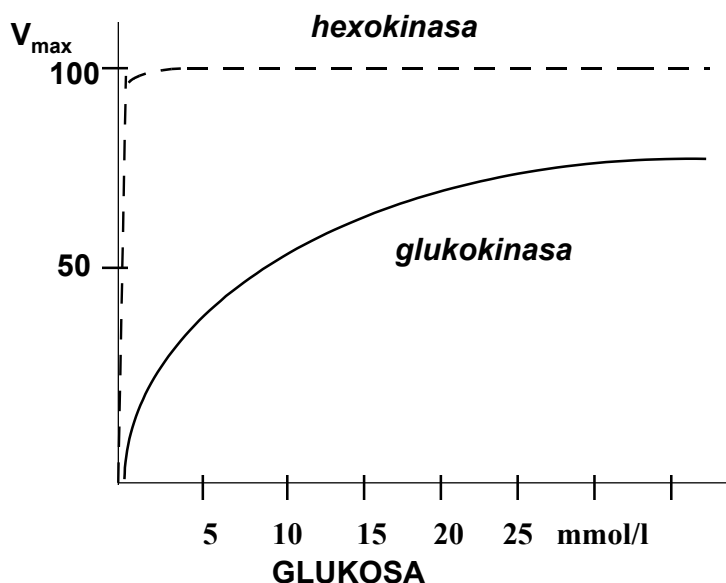
3. Glykolýza a glukoneogeneze

O glykolýze v užším slova smyslu hovoříme o přeměně glukosy na pyruvát resp. laktát, která se odehrává v cytoplasmě buněk. K jejímu průběhu není potřeba přítomnosti kyslíku (tzv. anaerobní fáze). To je velmi důležité pro tkáně jako je kosterní svalstvo, kde v zátěžových situacích je náhle potřeba více energie než může být momentálně k dispozici při aerobní oxidaci glukosy, tj. přeměně až na CO_2 a H_2O prostřednictvím citrátového cyklu. Za dostatečného přísunu O_2 glykolýza probíhá aerobně (aerobní fáze), to znamená, že *pyruvát podléhá oxidační dekarboxylaci a vzniká acetyl-CoA*, který kondensuje s oxalacetátem za vzniku citrátu. Tato reakce a další metabolizace citrátu až na oxid uhličitý a vodu se děje v mitochondriích. Energetický zisk anaerobní glykolýzy jsou 2 mol ATP, zatím co jedno "otočení" citrátového cyklu poskytuje 12 mol ATP na každou molekulu acetyl-CoA. Srdeční sval na rozdíl od kosterního svalu je přizpůsoben především na aerobní způsob získávání energie a má jen velmi malou schopnost využívat anaerobní glykolýzy a proto je velmi citlivý k ischemii. Obecná přeměna glukosy na laktát je následující:



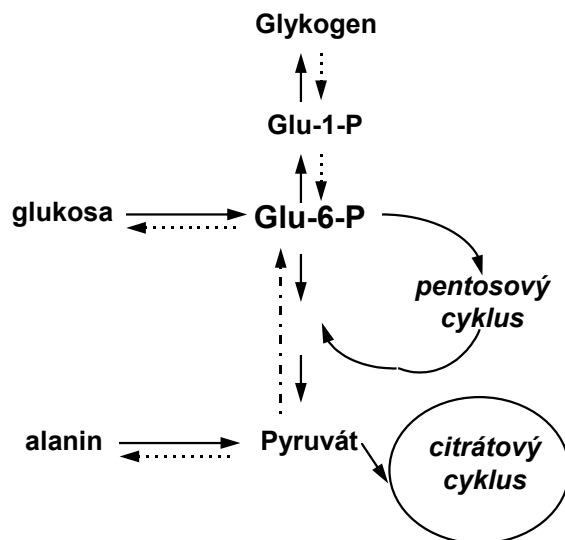
Prvním krokem je fosforylace glukosy na glukosa-6-fosfát za přívodu energie z ATP a přítomnosti enzymu hexokinasy nebo v jaterní buňce glukokinasy. Hlavní rozdíl spočívá v tom, že K_m (Konstanta Michaelisova) u glukokinasy pro glukosu je 20 mmol/l, zatímco K_m u hexokinasy je 50 $\mu\text{mol/l}$. To znamená, že aktivita hexokinasy není ovlivněna kolísáním glukosemie (nasycení substrátem je vždy dostatečné); naproti tomu aktivita glukokinasy podléhá citlivě změnám glukosemie; kupř. kolísání glukosemie z 3 na 7 mmol/l znamená V_{max} z 13,2 % na 25,9 %. Jinými slovy jaterní buňka využívá glukosu v citlivé závislosti na její dodávce.

Obr.: Závislost aktivity hexokinasy a glukokinasy na hladině glukosy



Glukosa-6-fosfát je intermediární metabolit, který může vstoupit do glykolytické dráhy, nebo být přeměněn na glykogen nebo metabolizován v pentosafosfátovém cyklu.

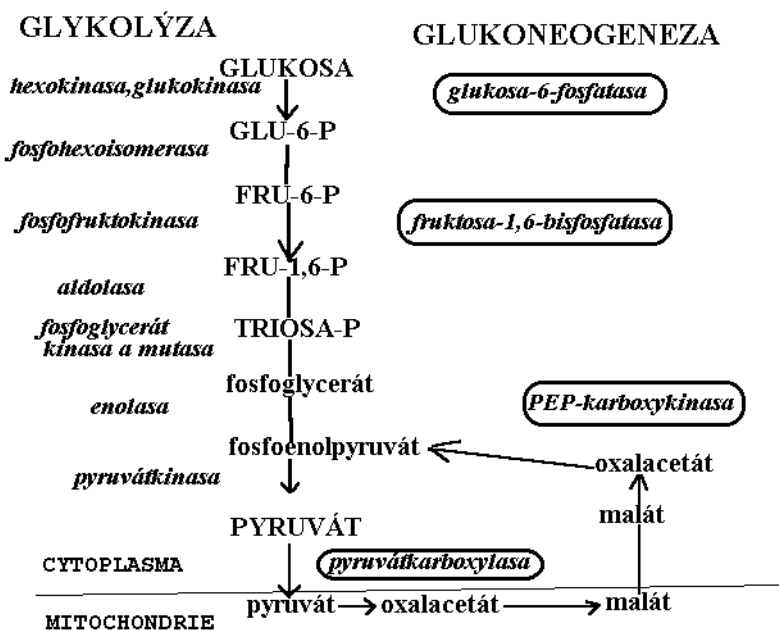
Obr. : Možné přeměny glukosa-6-fosfátu



Mechanismus glykolýzy a glukoneogeneze

Většina stupňů (jednotlivých reakcí) glykolýzy jsou vratné. Pouze 3 reakce jsou ireversibilní (tvoří termodynamickou bariéru): reakce katalyzovaná (1) hexokinasou (nebo glukokinasou), (2) fosfofruktokinasou a (3) pyruvátkinasou. Při glukoneogeneze, která může být chápána jako obrácená glykolýza, tyto 3 reakce musí probíhat jiným způsobem. Přeměna pyruvátu zpět na fosfoenolpyruvát začíná v mitochondriích za přítomnosti pyruvátcarboxylasy, která vytváří spolu s ATP, biotinem a CO_2 z pyruvátu nejprve oxalacetát; další enzym fosfoenolpyruvátcarboxykinasa katalyzuje přeměnu oxalacetátu na fosfoenolpyruvát.

Obr. : Schéma glykolýzy a glukoneogeneze



Oxalacetát však je nepropustný mitochondriální membránou, proto musí být nejprve přeměněn na malát (ten membránou prochází) a ten opět v cytoplasmě na oxalacetát. Další enzym glukoneogeneze fruktosa-1,6-bisfosfatasa hydrolyzující fruktosa-1,6-bisfosfát na fruktosa-6-fosfát je též klíčovým enzymem, jehož přítomnost určuje zda příslušná tkáň bude syntetizovat glykogen nejen z pyruvátu, ale též z triosafosfátu. Je přítomen v játrech, ledvině a příčně pruhovaném svalstvu; není však v myokardu a v hladkém svalstvu. Další enzym "reverzní glykolýzy", přeměňující glukosa-6-fosfát zpět na glukosu - glukosa-6-fosfatasa je přítomna v játrech a ledvině, ale chybí ve svalstvu a tukové tkáni. Její přítomnost umožňuje dodávat glukosu z jater (ev. ledviny) do krevní cirkulace.

Glycerol, který vzniká lipolýzou v tukové tkáni může být v tkáních, které obsahují glycerolkinasu (kupř. játra a ledviny) fosforylován na glycerol-3-fosfát a dále oxidován na dihydroxyacetonfosfát a zařazen tak do glykolytické dráhy.

4. Regulace glykolýzy a glukoneogeneze

Oba metabolické pochody zaujímají stejnou dráhu a proto nemohou vedle sebe probíhat současně; tedy musí být i recipročně řízeny. Jsou to změny v dostupnosti substrátu, které určují přímo nebo nepřímo směr metabolismu. Jejich kolísání v krevní cirkulaci způsobené jejich příjmem v potravě ovlivňuje sekreci příslušných hormonů, které pak mají vliv na aktivaci nebo inhibici klíčových enzymů. Regulace enzymové aktivity se děje buď (1) změnou v rychlosti syntézy enzymu nebo (2) kovalentní modifikací enzymu reverzibilní fosforylací molekuly nebo (3) allosterickým efektem (modifikací molekuly enzymu vazbou modifikující efektoru na jiném místě). Indukce nebo represe syntézy klíčového enzymu není příliš rychlý děj, trvá několik hodin, naproti tomu kovalentní modifikace nebo alosterická modifikace jsou rychlé. Centrální úlohu v hormonální regulaci krevní glukosy hraje insulin. Je produkován β -buňkami Langerhansových ostrůvků slinivky břišní a to nejprve jako peptid preproinsulin ($M_r = 11500$) z kterého je odštěpena peptidová sekvence 23 aminokyselin tzv. směrovací sekvence, která nasměruje proinsulin ($M_r = 9000$) do cisteren endoplasmatického retikula. Molekula proinsulinu se skládá z B řetězce – spojovacího C peptidu – A řetězce. Molekula proinsulinu je přenesena do Golgiho aparátu, kde začíná proteolýza s odštěpením C-peptidu a vznikem aktivního hormonu - insulinu. Proinsulin má 5% biologické aktivity

insulinu; C-peptid nemá aktivitu. Diagnostický význam C-peptidu spočívá v tom, že jeho hladina v periferní krevní cirkulaci je mírou endogenní syntézy insulinu. Není totiž degradován v játrech jako se to děje z částí insulinu (40-60%); dále má jiné imunologické vlastnosti než insulin, tedy při jeho stanovení neinterferuje exogenně podávaný insulin. Poločas katabolismu plasmatického insulinu je velmi krátký: 3–5 minut. Sekrece insulinu je pochod vyžadující energii a je v něm zapojen mikrotubulární a mikrofilamentový systém β -buněk. Primárním sekrečním signálem je zvýšení hladiny glukosy. Klíčovou úlohu zde hraje specifická (pro β -buňky) glukokinasa (Je označována jako "glukosový senzor"). Glukosa v β -buňkách stimuluje řadu transmembránových reakcí; změna akčního potenciálu vede nakonec k influxu Ca^{2+} z cytosolu, což je signálem pro sekreci. Důležitou úlohu zde hraje také spoluúčast ATP-senzitivního kalium-iontového kanálu (K-ATP). Sekreci insulinu podněcují kromě glukosy (maximální odpověď při glukosemii 16,5–27,5 mmol/l a začínající při 4,4–5,5 mmol/l), též aminokyseliny nebo některé léky, především sloučeniny sulfonylurey, tolbutamid apod. Také hormony ovlivňují uvolňování insulinu: Adrenalin tlumí sekreci insulinu, je-li tato navozena glukosou; naopak beta-adrenergní mimetika stimuluji uvolnění insulinu pravděpodobně zvýšením intracelulárního cAMP.

Tab. : Enzymy glykolýzy, glykogeneze, oxidace pyruvátu

	<i>Aktivita při dodávce sacharidů</i>	<i>Hladovění způsobuje</i>	<i>Induktor</i>	<i>Represor</i>	<i>Aktivátor</i>	<i>Inhibitor</i>
Glykogen syntasa	↑	↓	insulin		insulin	glukagon (cAMP) fosforylace glykogenu
Hexokinasa						glukosa-6 fosfát
Glukokinasa	↑	↓	insulin	glukagon (cAMP)		
Fosfofruktokinasa -1	↑	↓	insulin		AMP, FRU-6-P, FRU-2,6-bis P	citrát, ATP, glukagon
Pyruvát-kinasa	↑	↓	insulin, FRU	glukagon (cAMP)	FRU-1, 6-bis P	ATP, ALA, glukagon, adrenalin
Pyruvát-dehydrogenasa	↑	↓			CoA, NAD, insulin pyruvát	Ac-CoA, NA, ATP

Tab. : Enzymy glukoneogeneze

	<i>Aktivita při dodávce sacharidů</i>	<i>Hladovění</i>	<i>Induktor</i>	<i>Represor</i>	<i>Aktivátor</i>	<i>Inhibitor</i>
Pyruvát-karboxylasa	↓	↑	glukokortikoidy, glukagon adrenalin	insulin	Ac-CoA	ADP

fruktosa-1,6-bisfosfatasa	↓	↑	dtto	insulin	glukagon (cAMP)	FRU-1,6-bisP, AMP, FRU 2,6-bis P
Fosfoenolpyruvátkarboxykinasa	↓	↑	dtto	insulin	glukagon	
Glukosa-6-fosfatasa	↓	↑	dtto	insulin		

Tab. : Enzymy pentosafosfátové dráhy a lipogeneze

	<i>Aktivita při dodávce sacharidů</i>	<i>hladovění</i>	<i>Induktor</i>	<i>Represor</i>	<i>Aktivátor</i>	<i>Inhibitor</i>
Glukosa-6-fosfát-dehydrogenasa	↑	↓	insulin			
6-fosfoglukonát-dehydrogenasa	↑	↓	insulin			
"jablečný enzym"	↑	↓	insulin			
ATP-citrát-lyasa	↑	↓	insulin			ADP
acetyl-CoA karboxylasa	↑	↓	insulin?			Ac(dlouhý řetězec)-CoA, cAMP glukagon
Synthasa mastných kyselin	↑	↓	insulin			

Účinek insulinu: Insulin je anabolický hormon; stimuluje syntézu glykogenu, proteinů, lipidů, podporuje růst buněk a jejich dělení. Naopak tlumí rozklad glykogenu (glykogenolýzu) a lipidů (lipolýzu). Insulin především podněcuje utilizaci glukosy buňkami: *Podporuje transportní mechanismus, kterým se přenáší glukosa do buňky (s výjimkou jaterních buněk!), stimuluje glykolýzu aktivačním účinkem na její enzymy jako je glukokinasa, fosfofruktokinasa, pyruvátkinasa; naopak tlumí glukosa-6-fosfatasa a tím znemožňuje uvolňování glukosy z jaterní buňky; stimuluje přeměnu glukosy na glukosa-6-fosfát, a dále jeho isomerizaci na glukosa-1-fosfát, prekurzor syntézy glykogenu. Účinek insulinu na transport glukosy, glykolýzu a glykogenogenezu probíhá v sekundách nebo minutách, protože jde o účinek na enzymy realizovaný fosforylací nebo defosforylací. Účinek insulinu na glukoneogenezi je negativní a dlouhodobý.*

Hlavním projevem účinku insulínu na *metabolismu glukosy* je snížení její koncentrace v krvi. V tomto účinku stojí insulín proti opačně působícím jiným hormonům jako je glukagon, adrenalin, kortisol, růstový hormon.

Účinek insulínu na *metabolismus lipidů* se projevuje stimulací lipogeneze v tukové tkáni (poskytuje acetyl-CoA a NADPH, dále glycerol a udržuje normální hladinu acetyl-CoA karboxylasy, inhibuje lipolýzu v játrech a tukové tkáni; snižuje intracelulární cAMP). Insulín snižuje hladinu mastných kyselin v cirkulaci, a tím opět snižuje glukoneogenezu a podporuje glykolýzu. Insulín ovlivňuje tvorbu a metabolismus lipoproteinu (VLDL a LDL).

Glukagon je hormon produkovaný α -buňkami Langerhansových ostrůvků pankreatu. V podstatě má opačný účinek než insulín. Jeho sekrece je stimulována hypoglykemií. V játrech podněcuje glykogenolýzu aktivací fosforylasy. Na rozdíl od adrenalinu glukagon nepůsobí na odbourávání glykogenu ve svalcích. Podporuje glukoneogenezu z aminokyselin a laktátu. Glykogenolýza v játrech a podpora glukoneogeneze je hlavní příčinou hyperglykemie. Adrenalin podněcuje glykogenolýzu jak v játrech, tak i ve svalstvu. V játrech, kde je glukosa-6-fosfátaasa dochází k uvolňování glukosy; ve svalstvu vzniká laktát. Glukokortikoidy (11-oxysteroidy) podněcují glukoneogenezu jako důsledek zvýšeného katabolismu proteinů. Kromě toho inhibují utilizaci glukosy v extrahepatálních tkáních. ACTH a růstový hormon zvyšují rovněž glykémii a působí jako antagonisté insulínu. Hormony štítné žlázy mají diabetogenní účinek.

5. Poruchy metabolismu sacharidů

5.1. Trávení, absorpce a transport cukrů

Sacharidy (starý název–uhlohydráty) tvoří 40–45% energetického přívodu v potravě. Z největší části jsou to rostlinné škroby (amylosa a amylopektin), dále sacharosa ev. laktosa a jen málo glukosa a fruktosa. K tomu ještě nutno připočítat tzv. vlákninu (celulosa, hemicelulosa, pektiny, a další), které nemají energetický význam pro člověka, ale ovlivňují střevní střebávání a motilitu.

Štěpení škrobu probíhá účinkem α -amylasy (slinné a hlavně pankreatické; končí disacharidem maltosou. Ta je spolu s dalšími disacharidy - laktosou, sacharosou, isomaltosou a trehalosou – štěpena specifickými disacharidasami v kartáčovém lemu buněk střevní sliznice na příslušné monosacharidy, které jsou jen v této formě vstřebatelné

5.2. Metabolismus glukosy

5.2.1. Obecná charakteristika

Zvýšení hladiny glukosy v krvi nad 7,77 mmol/l se označuje jako hyperglykemie; naopak snížení pod 2,5 mmol/l je hypoglykemie. Za fyziologických podmínek je průměrná spotřeba glukosy (u dospělého jedince) tj. 38 mmol/hod (= 6, 8 g/hod) vyvážena její produkcí v játrech v množství 39 mmol/h (7, 0 g/h).

5.2. 2. Hypoglykemie

Hypoglykemií se rozumí stavy, při níž hladina glukosy klesá pod 2,2 mmol/l. U novorozenců je tento limit 1,7 mmol/l a u nedonošených 1, 1 mmol/l. Hlavním nebezpečím hypoglykemie je nedostatečné energetické zásobení mozku ("*neuroglykopenie*"), s příznaky, jako je pocit hladu, bolesti hlavy, usínání, mentální zmatenost, halucinace a konečně křeče a kóma. Druhá skupina příznaků pramení z aktivace adrenergního systému a zvýšení sekrece katecholaminů (palpitace, úzkost, chvění, pocení).

Hypoglykemie vzniká při zvýšené utilizaci glukosy extrahepatálními tkáněmi (kupř. nadměrná tělesná námaha) nebo při omezení přívodu sacharidů. Náhlým poklesem pod hodnoty 2,5 mmol/l (u dospělých jedinců) je nejvíce ohrožena mozková tkáň (zásoba intracelulární glukosy pro mozek vystačí pouze 10 - 15 minut).

Podle příčin vycházejících z fyziologické regulace glykemie můžeme dělit hypoglykemie na dvě skupiny: (1) z nedostatečného přívodu glukosy do krevní cirkulace, (2) z příliš rychlého vychytávání z cirkulace. Praktičtější je však rozdělení na:

Hypoglykemie při lačnění

Jsou způsobeny:

- a) *tumory β -buněk Langerhansových ostrůvků* (karcinom, adenom) nebo jejich hyperplazií (nesidioblastóza);
tumory extrapankreatickými (secernujícími nebo nesecernujícími insulin);
- b) *endokrinopatiemi* způsobujícími nedostatek kontra-insulinových hormonů (panhypopituitarismus, izolovaný deficit růstového hormonu nebo adrenokortikotropinu, hypoadrenalismus, hypotyroidismus, defekt glukagonu);
- c) *jaterními cirhózami* (hepatitida, městnání v játrech při srdeční nedostatečnosti);
- d) *glykogenózami* (typ I, VII, IX) a defektem enzymů glukoneogenetického metabolismu;
- e) nedostatkem prekurzorů glukosy (alanin); (těhotenská hypoglykemie, ketózová hypoglykemie kojenců, uremie, těžká podvýživa);

Hypoglykemie u novorozenců a kojenců

U novorozenců je glykemie nižší než u dospělých (v průměru 1,94 mmol/l) a krátce po narození klesá dále (tak jak se vyčerpává zásoba jaterního glykogenu) až na hodnoty kolem 1,66 mmol/l. u donošených a 1,11 mmol/l u nedonošených anižby došlo ke klinickým projevům hypoglykemie.

Nejčastější příčinou neonatální hypoglykemie je prematuritas, syndrom dechové tísně, diabetes mellitus u matky, těhotenská toxemie, dále podchlazení, polycytemie. Hypoglykemie je obvykle přechodná.

U kojenců už nemusí být přechodná a bývá způsobena dědičnými poruchami metabolismu (galaktosemie, glykogenózy, dědičná intolerance fruktosy, deficience enzymů glukoneogeneze) nebo jde o ketózovou hypoglykemii, která vzniká při hladovění nebo v horečnatých stavech. Další příčinou může být přecitlivělost na leucin, endogenní hyperinsulinismus, Reyův syndrom nebo idiopatická hypoglykemie (McQuarrieho syndrom).

Hypoglykemie postprandiální

- a) alimentární (u pacientů s gastrektomií, gastrojejunostomií apod.);
- b) v časně fázi diabetes mellitus;
- c) funkční idiopatická hypoglykemie;
- d) leucinem indukovaná hypoglykemie;
- e) fruktosou indukovaná hypoglykemie (deficit fruktosa-1-fosfát-aldolasy nebo deficit fruktosa-1, 6-bisfosfátaldolasy).

Hypoglykemie navozená léky

- a) insulin;
- b) perorální antidiabetika;
- c) salicyláty, propranolol.
- d) alkohol (ethanol inhibuje glukoneogenezu)

Reaktivní hypoglykemie

Jde o klinický syndrom, který se projevuje postpandiálně známkami ze strany autonomního nervového systému (slabost, třes, studený pot, nauzea, pocit hladu, epigastrický diskomfort) doprovázený hypoglykemií (pod 2,5 - 2,77 mmol/l), a to běžně v průběhu dne. Reaktivní hypoglykemie je nutné odlišit od glykemie vznikající z hladu. Reaktivní hypoglykemie je benigní stav a možno ji chápat i jako fyziologickou situaci. K diagnóze napomůže stanovení glykemie v době nástupu klinických příznaků; méně vhodný je 5-6 h glukosový toleranční test.

”Nonhypoglykemie”

Nespecifické klinické příznaky (únava, slabost, palpitace, svalové spasmy, otupělost, pocení, bolesti apod.), které bývají přičítány na vrub hypoglykemie, která však u toho nebyla nikdy prokázána.

Příčiny hypoglykemie

<i>A. Snížený přísun</i>	<i>B. Zvýšená utilizace</i>
snížení jaterní glukoneogeneze dědičné poruchy metabolismu intoxikace alkoholem otravy malabsorpce hladovění	zvýšená tělesná aktivita hyperinsulinismus nádor β -buněk nedostatek antagonistů insulínu M. Addison hypopituitarismus léčba sulfonylureou -předávkování insulinem

5.2.3. Hyperglykemie

Diabetes mellitus

Toto onemocnění charakterizované absolutním nebo relativním nedostatkem insulínu má několik forem i několik stádií, které je třeba rozlišit jak z důvodů prognostických, tak terapeutických.

* Diabetes mellitus typ 1 (dříve označovaný jako insulíndependentní neboli juvenilní typ,) (=IDDM)

IDDM je *polygenní autoimunitní choroba*. Genetická predispozice kombinovaná s určitými vnějšími faktory jako je virová infekce, toxiny, stres může navodit prediabetickou fázi onemocnění, která trvá i několik let. V této době dochází k pomalé destrukci β -buněk Langerhansových ostrůvků zprostředkovanou aktivovanými T-lymfocyty a cytokiny, která se projevuje jako insulitida (lymfocytová infiltrace ostrůvkových buněk, zánět). Insulitida postupně snižuje počet funkčních β -buněk, což způsobuje poruchy syntézy a sekrece insulínu. Diabetes se klinicky manifestuje v době, kdy je autoimunitním zánětem zničeno až 60-70% pankreatických β -buněk. Mezi rizikovou populaci patří nejen sourozenci diabetických dětí (s relativním rizikem kolem 12% s velkým individuálním rozptylem) a děti diabetických rodičů (relativní riziko asi 6% u otce diabetika a 2% u matky diabetičky), ale též dospělí (rodiče diabetického dítěte). Existuje totiž asi 5 - 10 % nepoznaných diabetiků . typu 1, u nichž se choroba manifestovala až v dospělosti (*pomalu progredující autoimunitní insulitida = LADA*), kteří však mohou být léčeni jako diabetes typu 2 s možnými katastrofickými následky.

Markery postupující insulitidy zahrnují několik typů protilátek namířených proti různým typům ostrůvkových antigenů jako je isoforma glutamátdekarboxylasy (GAD65) nebo autoprotiilátky proti insulínu a proinsulínu, proti buňkám Langerhansových ostrůvků. Také první fáze sekrece insulínu je snížena ještě před zjevnými klinickými projevy diabetu. Přítomnost autoprotiilátek není příčinou destrukce β -buněk, ale jejich vyšetření má význam pro predikci rizika výskytu IDDM. Zdá se, že nejvhodnějším predikčním markerem je

isoforma glutamátdekarboxylasy označovaná jako GAD65. Byla prokázána asociace mezi diabetem typu 1 a genetickými markery HLA (HLA-DR/DQ).

Amylin je peptidový hormon produkovaný pankreatickými ostrůvky, který ovlivňuje hladinu glukosy v krvi: snižuje glykémii po perorální zátěži v souvislosti se zpomalováním vyprazdňování žaludku. Pramlintid, analog lidského amylinu, ovlivňuje příznivě homeostázu glykémie u pacientů s IDDM i NIDDM léčených insulinem.

Obr. : Patogeneze diabetu typu 1

Genetická predispozice (náchyllost vůči virové infekci)



Virová infekce



**Zánětlivé reakce mění antigenicitu
povrchu β -buněk**



**Autoimunitní reakce
(cytotoxicita)**



Destrukce β -buněk



Defekt v syntéze insulinu



Metabolické důsledky chybění insulinu

Metabolismus

Sacharidů

*snížená utilizace
glukosy tkáněmi

*zvýšená glyko-
genolýza

*zvýšená gluko-
neogeneze

Lipidů

*zvýšená lipo-
lýza

*zvýšená oxi-
dace mastných
kyselin

*zvýšená produkce
ketoláték

Proteinů

*snížená syntéza
bílkovin

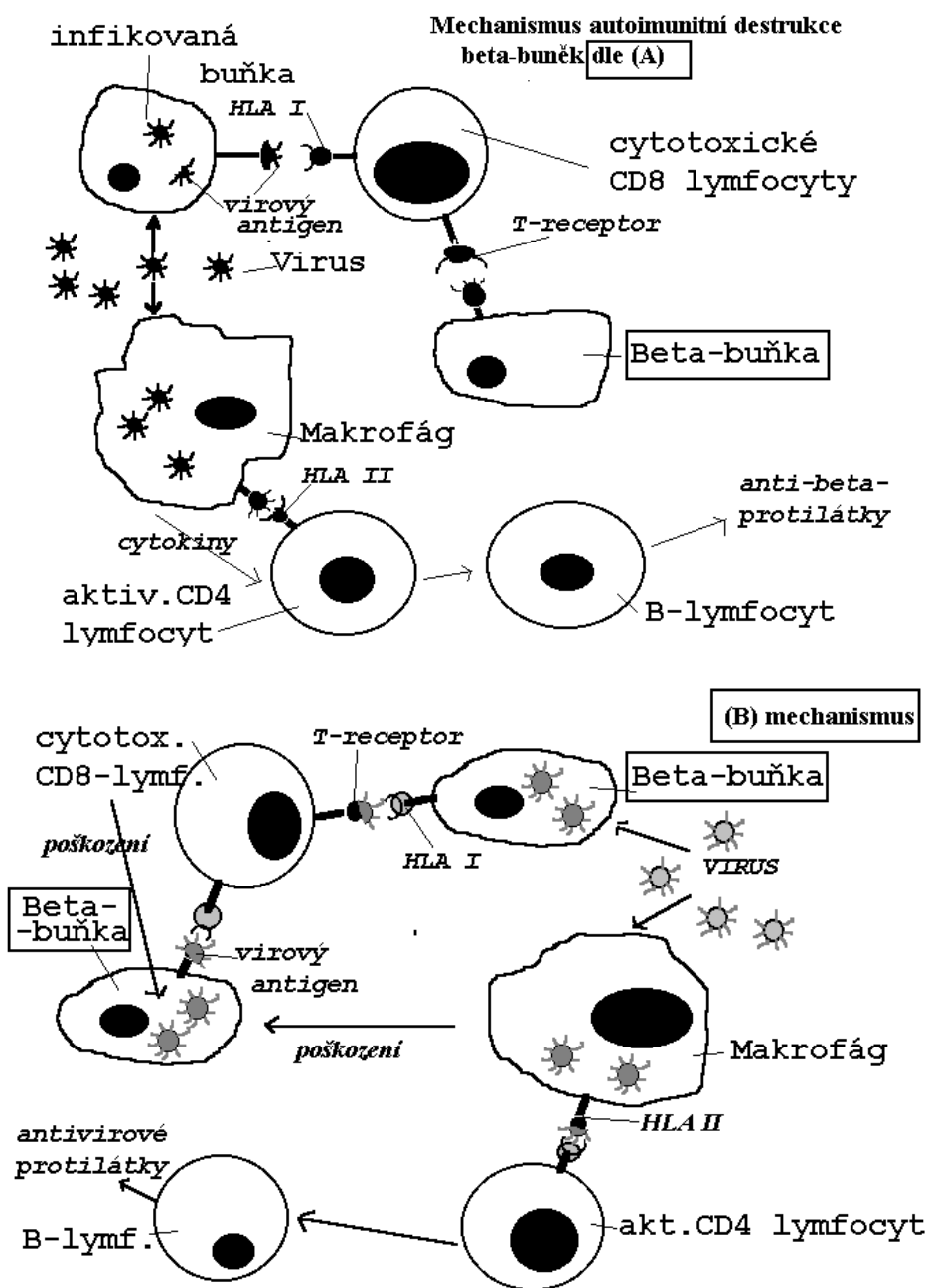
*zvýšený katabo-
lismus bílkovin

Elektrolytů pH a H₂O

*snížený vstup K⁺
do buněk

*osmotická diuréza
(pro hyperglykémii)

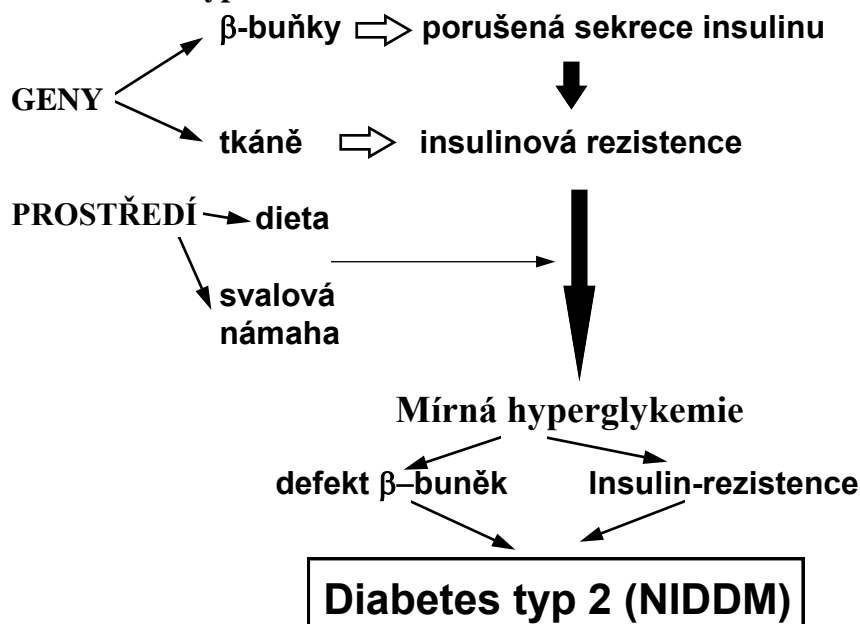
*acidóza (pro ↑ keto-
láték)

Obr. :Schematický výklad mechanismu vzniku imunotoxicity vůči β -buňkám

* Diabetes mellitus, typ 2 (dříve non-insulindependentní neboli adultní typ)(NIDDM)

Hyperglykemie je způsobena kombinací insulinové rezistence a relativního nedostatku insulinu. (abnormální insulin, protilátky proti insulinu) Rezistence na působení insulinu může být výsledkem sníženého počtu plazmatických membránových receptorů na cílových buňkách nebo následkem postrecepční blokady nitrobuněčného metabolismu glukosy (snížený počet receptorů nebo snížená afinita; snížená aktivita komplexu; abnormální převod signálu nebo abnormální fosforylační reakce pro nadměrnou tvorbu $TNF\alpha$). Stupeň insulinové nedostatečnosti je odrazem postupné ztráty schopnosti β -buněk reagovat na glukosu; zůstává však ještě schopnost reagovat na sulfonylmočovinu a jiné stimulanty.

Obr. : Patogeneze diabetu typu 2



I když patogeneze diabetu typu 2 není plně objasněna, soudí se, že přechod od normální tolerance glukosy na diabetes typu 2 u geneticky náchylných jedinců je způsoben rezistencí na insulin, dysregulací produkce glukosy v játrech, porušenou tolerancí glukosy a postupným ubýváním funkční zdatnosti β -buněk. Někteří jedinci, i když jsou obézní a mají zvýšenou sekreci insulínu, uniknou klinickému rozvoji diabetu. Ti jedinci, jejichž β -buňky nejsou schopny kompenzovat zvýšenou produkci rezistencí na insulin, začnou mít trvalejší hyperglykémii, která se v dalším vývoji zhoršuje a umocňuje preexistující dysfunkci β -buněk.

* MODY (Maturity Onset Diabetes of the Young)

Jde o diabetes adultního typu vyskytující se u mladistvých. Projevuje se mírnou hyperglykemií bez sklonu ke ketóze. Předpokládá se dědičnost autosomálně dominantní s třemi variantami mutací : Gen pro MODY 1 je umístěn na dlouhém raménku chromosomu 20, pro MODY 3 na dlouhém raménku chromosomu 12; MODY 2 je způsoben mutací genu pro glukokinasu na krátkém raménku chromosomu 7. Glukokinasa je klíčovým enzymem pro metabolismus glukosy v β -buňkách pankreatických ostrůvků, kde působí jako "glukosový senzor" tj. reguluje sekreci insulínu podle hladiny glukosy.

* Diabetes v těhotenství

Snížená tolerance glukosy v těhotenství je obvyklá a podílí se na ní pravděpodobně produkce placentárního laktogenu. Kromě toho je v těhotenství zvýšena glomerulární filtrace o 50-100 %, takže tubuly dostávají vyšší dávku glukosy, než je jejich zpětná resorpční kapacita; proto i glykosurie bývá v těhotenství častým zjevem. V těhotenství se však může poprvé projevit skutečný diabetes, který je třeba rozpoznat nejen z hlediska matky, ale i plodu.

* Stavy s hyperglykemií nebo sníženou tolerancí glukosy jiné než diabetes mellitus

Jde o tato onemocnění:

- *endokrinní choroby* (akromegalie, Cushingův syndrom, tyreotoxikóza, feochromocytom, glukagonom),

- *choroby pankreatu* (pankreatitida, hemochromatóza, karcinom),
- *choroby jater* (cirhóza, nádory)
- *těžká akutní onemocnění* (akutní koronární insuficience, cerebrovaskulární příhoda, trauma, infekce),
- *hyperglykemie po léčích* (salicyláty, kontraceptiva, kortikosteroidy, thiazidová diuretika).

Nejčastější příčinou je diabetes mellitus. Je třeba toto onemocnění odlišit od porušení glukosové tolerance (orální glukosový toleranční test).

Tab. : Rozdíly mezi typy diabetu

<i>Charakteristika</i>	<i>Typ 1</i>	<i>Typ 2</i>
Věk	obvykle pod 30	obvykle nad 30
Častost (% všech diabetiků)	10 - 20 %	80 - 90 %
Vznik symptomů	akutní nebo subakutní	pomalý
Obezita	není obvyklá	velmi častá
Vyvolávající faktory	Změněná imunitní reakce po virové infekci	obezita, těhotenství, stress
Obsah pankreatického insulinu	nepřítomen nebo stopy	nízký, normální, vysoký
Glukagon v plasmě	vysoký, ale potlačitelný insulinem	vysoký, ale resistentní na insulin
Protilátky proti pankreatickým ostrůvkům	přítomny u 85 % případů	méně než u 5 %
Primární rezistence na insulin	minimální	obvykle výrazná
Odpověď na léčení insulinem	+++	+ až -
Odpověď na dietní léčbu samotnou	nepatrná	vždy přítomna, ale různého stupně
Odpověď na léčbu perorálními antidiabetiky	nepřítomná	přítomná
Obvykle akutní komplikace	Ketoacidóza	Hyperosmolární kóma
Sdružení s HLA	ano	ne

Komplikace diabetu

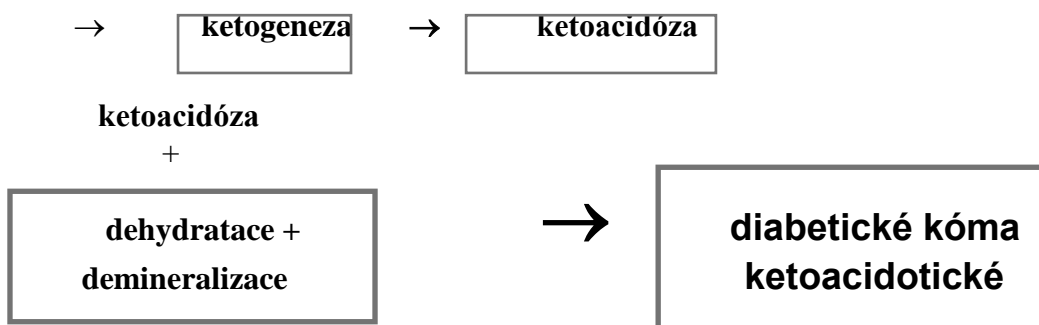
Diabetická ketoacidóza je velmi nebezpečná komplikace DM Typu I. Vzniká jako důsledek sekvence metabolických událostí, na jejichž počátku je nedostatek insulinu:

nedostatek insulinu → snížená utilizace glukosy →

a/ → hyperglykemie → hyperosmolarita → osmot. diuréza

→ **dehydratace, demineralizace**

b/ → **nadbytek glukagonu** → **glukoneogeneze, lipolýza** →



Léčit musíme současně jak ketoacidózu, tak dehydrataci a demineralizaci (tj. insulin + infúzní terapie).

Hyperosmolární (nonketoacidotické) kóma je mnohem častější u noninsulindependentního DM. Zbytková sekrece insulinu stačí zabránit ketoacidóze, ale nezabrání hyperglykémii (pro převahu glukagonu) → hyperosmolaritě → osmotické diuréze → dehydrataci a demineralizaci. Tato situace spolu s nedostatečným příjmem vody (zvláště u starších lidí) vede k hyperosmolárnímu kómatu. Letalita je vysoká (30 - 50%).

Hypoglykemie je další náhlá metabolická příhoda. Vzniká, není-li vyvážena dávka insulinu (nebo jeho účinek) s dávkou jídla (vynechání) nebo spotřebou glukosy (zvýšená tělesná námaha). Není-li glukosemie zvýšena (nad 3, 5 mmol/l), může dojít k poškození mozku (chemická energie v mozkové tkáni je hrazena pouze glukosou nikoliv mastnými kyselinami). Dochází-li k tomu častěji, může dojít k vážným poruchám. Hypoglykemie je mnohem méně častá u NIDDM (insulin v těchto případech podléhá ještě fyziologické kontrole).

Dlouhodobé komplikace DM

- Diabetická nefropatie

Vzniká za 2-5 let po začátku DM. Možno ji odhalit ještě v preklinickém stadiu pomocí vyšetření tzv. mikroalbuminurie (hodnoty albuminu v moči vyšší než 20 mg/l, ale nižší než 250 - 300 mg/l). (Nad tuto hodnotu zvýšený albumin je už prokazatelný běžným papírkovým testem - jako kupř. Albuphan = makroalbuminurie). Zvýšená permeabilita albuminu v glomerulárních kapilárách je vysvětlována sníženým obsahem negativně nabitých aniontových proteoglykanů v bazální membráně (negativní náboje sacharidových řetězců brání prostupu středně velkých molekul s negativním nábojem jako je kupř. albumin).

- **Diabetická oftalmopatie** (retinopatie, katarakta apod.)

- **Diabetická neuropatie**

Patogeneze těchto komplikací je vysvětlována několika možnými mechanismy

(a) *Akumulace polyolů* (sorbitol), které vznikají ve zvýšené míře při hyperglykémii (klíčový enzym - aldosareduktasa má relativně nízkou afinitu k svému substrátu, tj. glukosa; uplatňuje se proto při vyšších koncentracích). Účinek polyolů může být osmotický (v oční čočce).

(b) *Oxidační stres*, který je způsoben nahromaděním respektive nedostatečným odstraňováním superoxidů nebo volných radikálů, které poškozují buňky.

(c) *Neenzymová glykace proteinů*.

Je způsobena adiční reakcí glukosy s volnou aminoskupinou peptidových řetězců (lysin); v první fázi této reakce vzniká labilní Schiffova báze (aldimin), v další fázi Amadoriho přesmyku pak stabilní ketoamin.

Glykovaný hemoglobin

Hemoglobin z dospělých lidských erytrocytů lze iontoměničovou chromatografií na katexu rozdělit na osm složek označovaných jako A_{1a}, A_{1b}, A_{1c}, A_{1d}, A_{1e}, A₂ (hlavní složka), A_{3a} a A_{3b}. Bylo zjištěno, že především složka A_{1c} je u diabetiků zvýšena. Glykace molekuly hemoglobinu vzniká neenzymovou reakcí glukosa-6-fosfátu nebo glukosy s NH₂-skupinou terminálního valinu β-řetězce hemoglobinu. Nejprve vzniká Schiffova báze (aldimin), která je labilní a snadno disociovatelná; přesmykuje se na stabilní - ketoamin. Z reakční rovnováhy vyplývá, že množství nebo lépe podíl glykovaného hemoglobinu, tvořený in vivo je úměrný koncentraci volné glukosy. Proto u pacientů s diabetes mellitus, u kterých je hladina glukosy trvale zvýšena, se vytvoří větší množství glykovaného hemoglobinu. Reakce probíhá pomalu a postupně; kromě toho je hemoglobin umístěn v erytrocytech, takže děje, které se na jeho molekule odehrávají, jsou vázány na dobu života červené krvinky (tj. normálně 120 dní). Stanovení podílu glykovaného hemoglobinu (především Hb_{1c}) je tedy jakousi "biochemickou pamětí" předcházející hyperglykemie. Jinými slovy řečeno, jedno stanovení glykohemoglobinu ukazuje na průměrný stav glykemie za dobu 4-8 týdnů. Situace není tak úplně jednoduchá. Ukázalo se, že hodnota glykovaného hemoglobinu nemusí být stálá a může kolísat i během glykemické křivky; je to způsobeno tím, že některé metody nedokáží odlišit formu labilní (Schiffovu bázi - aldimin), která se tvoří relativně rychle (odráží situaci za 24 hodin), od formy stabilní (ketoamin), která je už stálá (odráží střední hodnotu glykemie za 4-6 týdnů). V organismu se však při chronickém zvýšení neglykuje pouze hemoglobin, ale i jiné bílkoviny. Tento mechanismus se dává do souvislosti s poškozením některých orgánů a tkání jako projev komplikace diabetu (glykace proteinů bazální membrány glomerulů, glykace kolagenu stěny cév nebo kloubů, glykace proteinů oční čočky apod.). Stanovení glykohemoglobinu je proto cenným ukazatelem úspěšnosti kompenzace diabetu (udává stav kompenzovanosti diabetu za posledních 8 týdnů).

Poznámka: V literatuře se používá několik termínů, které se mohou plést (Pro lepší porozumění je definujeme):

Glykohemoglobin - suma sacharidových adduktů na N-terminálním konci aminokyselin nebo ε-aminoskupině lysinu v hemoglobinu

HbA_{1c} - glukosový addukt valinu na N-terminálním konci β-řetězce hemoglobinu; odpovídá N-[1-deoxyfruktosyl] hemoglobinu

HbA₁ - suma různých minoritních frakcí hemoglobinu (glykovaných) včetně HbA_{1c}, jako je HbA_{1a1/a2}, HbA_{1b1/b2/b3}, HbA_{1d1/d2/d3} a HbA_{1e}.

Fyziologické hodnoty:

HbA_{1c}: 3, 1 - 6, 3 % (z celkového Hb)

HbA₁: 4, 7 - 8, 8 %

Patologické změny

HbA₁ < 9 kompenzace diabetu: velmi dobrá

9-11 dobrá

11-13 špatná

>13 naprosto nedostatečná

Indikace stanovení glykohemoglobinu

- labilní diabetes (velké výkyvy glukosemie)
- "problémový" pacient (neukázněný v životosprávě)
- nový pacient bez informace o předcházejících výsledcích,
- pacient s interkurentním onemocněním (např. bronchopneumonie)

- potvrzení a správného vedení samokontroly,
- objasnění "stresové" hyperglykemie (např. při akutním infarktu myokardu, po těžším chirurgickém výkonu).

Glykovaný protein (= fruktosamin) vzniká obdobně, jen jeho poločas katabolismu je kratší, takže odráží situaci (tj. předcházející periody hyperglykemie) 1-3 týdny před stanovením. Hodnoty se vyjadřují obvykle v mmol/l deoxymorfolinfruktosy.

AGE produkty (Advanced Glycation End Products)

Jde o produkty neenzymové reakce glukosy s některými proteiny in vivo (viz HbA_{1c}). Takto modifikované proteiny (AGE-kolagen, AGE-LDL) mohou být zachyceny specifickými receptory na povrchu některých buněk, které mohou stimulovat k produkci cytokinů, růstových faktorů a k syntéze proteinů extracelulární matrix. Toto může být mechanismus vzniku poruch vedoucích k pozdním komplikacím diabetu. Uvažuje se (Berg, 1997), že příčinou diabetické mikroalbuminurie může být stimulace mezangiálních buněk v renálních glomerulech.

Mikroalbuminurie

Mikroalbuminurie je časným indikátorem vzniku diabetické nefropatie. Pokrývá "šedé pásmo" proteinurie mezi 30 - 150 mg/l, kdy ještě nereaguje pozitivně testací proužek. Vyšetření je nejlépe provádět ve třech po sobě jdoucích sběrech moči přes noc. S vyšetřováním začít nejdříve za 2 roky po začátku diabetu; pak 3 krát ročně.

Otázky z homeostázy glukosemie

1. Během lačnění, který enzym je odpovědný za produkci volné glukosy v játrech:

- /A/ Glukagon
- /B/ Glukosa-6-fosfátdehydrogenasa
- /C/ Glukokinasa
- /D/ Hexokinasa
- /E/ Glukosa-6-fosfatasa

Odpověď:

/A/ - Špatně: Glukagon není enzym, ale peptidový hormon, který zvyšuje hladinu glukosy v krvi glykogenolýzou, stimuluje glukoneogenezu a ketogenezi. Hlavní cílovou tkání jsou játra.

/B/ - Špatně. Glukosa-6-fosfátdehydrogenasa je enzym, kterým začíná odbourávání glukosy pentosafosfátovým cyklem.

/C/ - Špatně. Glukokinasa je jaterní enzym, který fosforyluje glukosu v cytoplasmě hepatocytu na glukosa-6-fosfát. Její aktivita je značně ovlivňována hladinou glukosy.

/D/ - Špatně. Hexokinasa je enzym, který katalyzuje fosforylaci glukosy na glukosa-6-fosfát v extrahepatálních tkáních. Aktivita hexokinasy pro velmi nízkou hodnotu K_m není ovlivněna koncentrací glukosy v krvi.

/E/ Správná odpověď. Glukosa-6-fosfatasa hydrolyzuje glukosa-6-fosfát a poskytuje volnou glukosu. Je přítomna v játrech a ledvině; chybí (!) ve svalstvu a tukové tkáni. Její přítomnost umožňuje dodávku glukosy z tkání do krevní cirkulace.

2. Který z uvedených metabolitů nemůže poskytovat uhlíkové atomy pro glukoneogenezi?

/A/ Alanin

/B/ Pyruvát

/C/ Laktát

/D/ Palmitát

/E/ Oxalacetát

Odpověď:

/A/ Špatně. Alanin za katalýzy alaninaminotransferasy se může metabolizovat na pyruvát, který pak za účasti pyruvátkarboxylasy, M^{2+} , ATP a CO_2 dá vznik oxalacetátu a po redukcí malát (vše se odehrává v mitochondriích). Tento přestupuje mitochondriální membránu (oxalacetát je nepropustný) znovu se v cytoplasmě oxiduje na oxalacetát a ten za účasti fosfoenolpyruvátkarboxykinasy, GTP a CO_2 se mění na fosfoenolpyruvát.

/B/ Špatně. Pyruvát se sice nemůže přeměnit přímo na fosfoenolpyruvát (pyruvátkinasa může pracovat z termodynamických důvodů jen jedním směrem), ale prostřednictvím pyruvátkarboxylasy a dále fosfoenolpyruvátkarboxykinasy přes oxalacetát, malát a znovu oxalacetát vzniká v glukoneogenetické dráze opět fosfoenolpyruvát.

/C/ Špatně. Laktát po dehydrogenaci laktátdehydrogenasou dává pyruvát, který "oklikou" tj. prostřednictvím enzymů glukoneogeneze (pyruvátkarboxylasa, fosfoenolpyruvátkarboxykinasa) se může změnit na fosfoenolpyruvát.

/D/ Správně. Palmitát podléhá β -oxidaci a dá vznik na konec 8 acetyl CoA, které ještě v mitochondriích mohou být dále oxidovány v cyklu kyseliny citronové na CO_2 a H_2O už na prvních stupních cyklu, takže nezbyvá příliš uhlíkových zbytků přeměněných na dostatečné množství oxalacetátu potřebného pro glukoneogenezi. Je-li totiž oxalacetát odejmut z cyklu a není-li nahrazen, kapacita buňky tvořit velmi potřebný ATP by byla omezena. Tedy acetyl-CoA není vhodným substrátem pro glukoneogenezi; tím je pyruvát vznikající z aminokyselin (alaninu), který poskytuje reakci katalyzovanou pyruvátkarboxylasou dostatek oxalacetátu. Tím glukoneogeneze nenarušuje metabolizaci v cyklu kyseliny citronové.

/E/ Špatně. Oxalacetát je důležitým substrátem glukoneogeneze. Vzniká z pyruvátu působením pyruvát karboxylázy. Je však neprostupný přes mitochondriální membránu, proto musí být přeměněn na malát, který je prostupný; v cytoplasmě se znovu dehydrogenuje na oxalacetát, který dává za účasti fosfoenolpyruvátkarboxykinasy fosfoenolpyruvát; ten přes triosafosfáty a hexosafosfáty poskytuje v glukoneogenetické dráze glukosu.

3. Insulin urychluje:

/A/ produkci glukosy játry

/B/ vychytávání glukosy ve svalech

/C/ vylučování mastných kyselin z tukové tkáně

/D/ přeměnu glykogenu na glukosu v játrech

/E/ přeměnu aminokyselin na glukosu ve svalech

Odpověď:

/A/ Špatně. Naopak insulin podněcuje aktivitu jaterní glukokinasy a fosforyluje intracelulární glukosu na glukosa-6-fosfát. Tím snižuje intracelulární hladinu glukosy a nepřímou tak

podporuje tok glukosy z cirkulace do hepatocytu. Insulin podporuje jaterní glykolýzu. Naopak inhibuje aktivitu jaterní glukosa-6-fosfatasy, která uvolňuje glukosu z jater.

/B/ Správně. Insulin podporuje utilizaci glukosy ve svalstvu tím, že podporuje translokaci glukosy prostřednictvím transportního systému z cirkulace do buňky, dále stimuluje tvorbu glukosa-6-fosfátu, který může být isomerizován na glukosa-1-fosfát, prekurzor pro syntézu glykogenu.

/C/ Špatně. Insulin má efekt opačný, podněcuje lipogenezi a je velmi účinným inhibitorem lipolýzy.

/D/ Špatně. Insulin má naopak účinek podporující syntézu glykogenu z glukosy.

/E/ Špatně. Insulin naopak podněcuje vstup aminokyselin do buněk, stimuluje syntézu proteinů (anabolický efekt).

4. Který z následujících enzymů má úlohu v Cori-ho cyklu?

/A/ Laktátdehydrogenasa

/B/ Glukosa-6-fosfátdehydrogenasa

/C/ Pyruvátdehydrogenasa

/D/ Glukokinasa

/E/ Hydroxymethylglutaryl-CoA reduktasa

Odpověď:

/A/ Správně. Úlohou Coriho cyklu (též cyklus kyseliny mléčné) je přenos nadbytečných redukujících ekvivalentů ze svalstva do jater. V rychle pracujících svalech (při kontrakci) nestačí dodávka O₂ mitochondriím být tak rychlá, aby byl reoxidován NADH vzniklý při glykolýze. Když koncentrace cytoplasmatického NADH stoupá laktátdehydrogenasa katalyzuje přenos redukčních ekvivalentů z NADH na pyruvát za vzniku laktátu. Tento proniká ze svalů do cirkulace a je vycytán játry. V nich laktátdehydrogenasa přenáší elektrony zpět na NAD za vzniku pyruvátu. Pyruvát pak v glukoneogenetické dráze je přeměněn na glukosu, která opouští játra a z cirkulace se dostane do svalstva. Tento cyklus dovoluje, aby kosterní svalstvo pracovalo po určitou krátkou dobu v anaerobních podmínkách.

/B/ Špatně. Glukosa-6-fosfátdehydrogenasa je úvodní enzym, kterým se začíná pentosafosfátová dráha metabolismu glukosy.

/C/ Špatně. Pyruvátdehydrogenasa přeměňuje pyruvát na acetyl CoA, který vstupuje do cyklu kyseliny citronové. Před tím musí pyruvát cytoplasmu být přenesen do mitochondrií. Tam pyruvát podléhá oxidativní dekarboxylaci katalyzované multienzymovým komplexem, který se souborně nazývá pyruvátdehydrogenasový komplex.

/D/ Špatně. Glukokinasa katalyzuje fosforylaci glukosy v játrech na glukosa-6-fosfát a zahajuje tak glykolytickou dráhu. /E/ Špatně. Hydroxymethylglutaryl-CoA reduktasa je klíčový enzym při syntéze cholesterolu.

5. Po přijetí potravy (smíšená strava) dochází k sekreci insulinu. Tento vzestup insulinu působí u normálního člověka, že:

/1/ uvolňování glukosy z jater . . .

/2/ vycytávání glukosy svalstvem a tukové tkáni. . . .

/3/ glukoneogeneze v játrech. . . .

/4/ syntéza mastných kyselin. . . .

/5/ sekrece glukagonu. . .

Napiš, když stoupá: A , když klesá : B, když se nemění: C

Odpověď (správná)

/1/ B

/2/ A

/3/ B

/4/ A

/5/ B

6. Glukagon řídí funkci cílových buněk tak, že se naváže nejprve na specifický membránový receptor a tím se zvyšuje uvnitř buňky:

/A/ neurotransmitter

/B/ specifický peptid, který aktivuje určité enzymy

/C/ cAMP (cyklický adenosinmonofosfát)

/D/ nukleové kyseliny

/E/ syntézu enzymů

Odpověď:

/A/ Špatně

/B/ Špatně

/C/ Správně. Glukagon vazbou na povrchový membránový receptor aktivuje adenylát cyklosomový systém a zvyšuje tak obsah cAMP v buňce (cAMP působí jako "druhý posílčák" = second messenger), tím dochází k alosterické aktivaci cAMP- dependentní proteinkinasy, která mění fosforylasu b na aktivní fosforylasu a, která štěpí glykogen v játrech (glykogenolytický účinek glukagonu v játrech; nikoliv ve svalech); přitom dochází k inaktivaci glykogensyntézy (inaktivuje se proteinfosfatasou 1). Po požití potravy se dostává glukosa do vena portae, glukosemie stoupá; maxima dosahuje za 30 - 60 minut; u zdravého jedince hodnota nepřevyšuje 10 mmol/l (obvykle 7 - 8 mmol/l).

7. Jaké jsou metabolické příčiny hyperglykemie u diabetes mellitus? (vyber všechny)

/A/ Snížení utilizace glukosy v tkáních

/B/ Glukoneogeneze ve svalech

/C/ Glukoneogeneze v játrech

/D/ Přenos glukosy přes membránu hepatocytu podmíněný deficitem insulinu

/E/ Zvýšení renálního prahu pro glukosu

/F/ Zvýšení účinku glukagonu nad účinkem insulinu

/G/ Inhibice lipolýzy (odbourávání mastných kyselin)

Odpověď:

/A/ Správně. Absolutní nebo relativní nedostatek insulinu brání transportu glukosy přes buněčnou membránu (vyjma hepatocytu), snižuje aktivaci hexokinasy a tím její fosforylaci na glukosa -6-fosfát.

/B/ Špatně. Místem glukoneogeneze jsou hlavně játra, nikoliv svalstvo.

/C/ Správně. Jaterní glukoneogeneze se podílí významně na hyperglykemii u diabetu.

Hlavním substrátem glukoneogeneze jsou aminokyseliny (alanin), který je přeměněn na pyruvát a glukoneogenetickou dráhou na glukosu. Reakce vyžaduje energii, která se bere z oxidace mastných kyselin (lipolýza). Zvýšené produkce acetyl CoA (β -oxidace mastných kyselin) allostericky aktivuje pyruvátcarboxylasu (enzym, který zahajuje zpětnou přeměnu pyruvátu až na fosfoenolpyruvát) a naopak inhibuje pyruvátdehydrogenasu, která je nutná pro vstup pyruvátu (resp. acetyl CoA) do cyklu kyseliny citronové. Zvýšenou koncentrací alaninu a mastných kyselin se brzdí přeměna fosfoenolpyruvátu na pyruvát a tím se inhibuje glykolýza a podporuje glukoneogeneze.

/D/ Špatně. Přenos glukosy do hepatocytu není závislý na insulinu. U jiných buněk tento proteinový nosič glukosy usnadňuje translokaci glukosy přes membránu a potřebuje insulin. Nepřímo však nedostatek insulinu ovlivňuje vstup glukosy z cirkulace do hepatocytu u diabetu tím, že není dostatečně aktivována glukokinasa, která za normálních okolností zvyšuje gradient mezi "volnou" glukosou vně a uvnitř jaterní buňky.

/E/ Špatně. Zvýšení renálního prahu pro glukosu vzniká až později v průběhu diabetu a je spíše následkem hyperglykemie než její primární příčinou. Zvýšený renální práh u pokročilého diabetu se však může podílet na diskrepančním nálezu vysoké hyperglykemie při relativně malé glykosurii.

/F/ Správně. Při nedostatku insulinu převažuje účinek glukagonu, který podporuje hyperglykémii zvýšenou jaterní glykogenolýzou a stimulací glukoneogeneze.

/G/ Špatně. Deficit insulinu naopak (pro relativní nadbytek glukagonu) podporuje lipolýzu, která je potřebná jako energetický zdroj pro glukoneogenezu.

8. Jaké jsou metabolické příčiny diabetické ketoacidózy? (vyber všechny)

/A/ Snížené odbourávání ketolátek v játrech

/B/ Kombinace deficitu insulinu s nadbytkem glukagonu

/C/ Konverze acetoacetátu na aceton

/D/ Katabolismus mastných kyselin (lipolýza)

/E/ Zvýšená produkce acetyl CoA v játrech

/F/ Zvýšená tvorba hydroxymethylglutaryl-CoA v mitochondriích

Odpověď:

/A/ Špatně. Nejde o snížené odbourávání, ale o zvýšenou produkci ketolátek v játrech.

/B/ Správně. Kombinace deficitu insulinu (nebo jeho účinku) se zvýšeným účinkem glukagonu vede k nedostatečnému využití glukosy, ke glukoneogeneze, stimulaci lipolýzy (vystupňování β -oxidace mastných kyselin a nadprodukci acetyl CoA v játrech).

/C/ Špatně. Neenzymová konverze acetoacetátu na aceton naopak navozuje možnost vylučování ketolátek též plicemi (v dechu cítit ovocný zápach).

/D/ Správně. Zvýšený katabolismus mastných kyselin v játrech, které se sem dostanou z lipolýzy z tukových depot, vede k nadprodukci acetyl CoA, který nemůže být odbourán v

cyklu kyseliny citronové (nedostatek oxalacetátu vzniklého při glykolýze); z molekuly acetyl- CoA se kondensuje na acetoacetyl-CoA, z kterého vzniká acetoacetát; při nedostatku O₂ se může redukovat na hydroxybutyrát. Obě karboxylové kyseliny jsou středně silné (pK' kolem 4) a značně ovlivňují pH krve ve smyslu acidemie.

/E/ Správně. Zvýšená produkce acetyl-CoA v játrech, vede k hromadění kondensačního produktu - acetoacetátu. Jde tedy o nadměrnou produkci ketolátek v játrech, nikoliv o snížené odbourávání.

/F/ Správně. Tvorba hydroxymethylglutaryl- CoA (HMG-CoA) je jedna z cest, z kterých vzniká acetoacetát. Acetoacetyl- CoA přibírá další molekulu acetyl CoA; vzniká tak HMG-CoA, který působením HMG-CoA- lyasy odštěpuje acetyl- CoA a zůstává "volný" acetoacetát. Tento způsob tvorby acetoacetátu z aceto-acetyl-CoA se zdá být významnější než jednoduché deacylace.

9. Jaké jsou hlavní příčiny hyperosmolárního komatu u diabetes mellitus?

/A/ Osmotická diuréza pro hyperglykémii při nedostatečném přísunu vody

/B/ Úplné chybění insulinu kombinované s nadbytkem glukagonu

/C/ Nedostatek insulinu snižuje využití glukosy v mozku, což způsobí poruchu v mozkových centrech řídících metabolismus vody a elektrolytů

/D/ Glykace kolagenu v bazální membráně glomerulů, která vede ke zvýšené permeabilitě

Odpovědi:

/A/ Správně. Trvajícím výrazným hyperglykémie u noninsulin dependentního diabetu navodí osmotickou diurézu. Za stavu nedostatečné dodávky vody, zejména u starších lidí po mrtvici nebo infekci, dochází k hyperosmolaritě ECT. Zbytková sekrece insulinu stačí zabránit nadměrné ketogenezi, ale nestačí ovlivnit hyperglykémii. Hyperosmolární koma se proto vyskytuje častěji u noninsulindependentního diabetu; má vysokou mortalitu (až 50%).

/B/ Špatně. Chybění insulinu kombinované s nadbytkem glukagonu je příčinou ketoacidotického komatu u IDDM. U NIDDM zbytková sekrece insulinu zabrání zvýšené produkci ketolátek, ale nezabrání hyperglykémii.

/C/ Špatně. Insulin neovlivňuje využití glukosy mozky.

/D/ Špatně. Glykace kolagenu v bazální membráně glomerulů sice způsobí zvýšenou permeabilitu, která vede nejprve k tzv. mikroalbuminurii jako první laboratorní známce počínající diabetické nefropatie; není však příčinou osmotické diurézy.

Příklady pacientů

Pacientka s nadváhou a bolestmi v břiše

49-letá žena, dlouhá anamnéza tloušťky bez snahy o dietu a redukci váhy. Má bolesti v pánvi. Gynekolog. nález: chron. pánevní zánět. Při poslední návštěvě zvýšený krevní tlak, glykemie na lačno 15,8 mmol/l.

Otázky:

1. Jakým typem diabetu pravděpodobně pacientka trpí?
2. Co působí zvýšený glukagon?
3. Co je příčinou zvýšeného vylučování urey močí u diabetes mellitus?

Odpovědi:

1. NIDDM.

2. Glukagon usnadňuje glykogenolýzu, tím stoupá krevní glukosa.
3. Nedostatek insulinu vede ke zvýšenému odbourávání bílkovin pro zvýšení glukoneogeneze. Zvýšená urea v séru je odrazem zvýšeného katabolismu aminokyselin.

Žena, 21 roků s diabetem typu 1

byla přijata k hospitalizaci v obluženém stavu. s tachypnoe. V dech cítit ovocný zápach..

V anamnéze akutní infekce dýchacích cest.

Laboratorní nálezy:

B-glukosa: 22 mmol/l

S-urea: 11,8 mmol/l

B-hydrogenkarbonát: 9,5 mmol/l

S-Na⁺: 136 mmol/l

S-K⁺: 5,7 mmol/l

Otázky:

1. O jakou diagnózu se jedná
2. Jak lze vysvětlit nízkou hladinu hydrogenkarbonátu (patobiochemický podklad)
3. Proč je zvýšená hladina urey a K⁺.

Odpovědi:

1. Jde o diabetické ketoacidotické kóma.
2. Nízká hladin hydrogenkarbonátu je známkou metabolické acidózy pro nadměrné hromadění ketokyselin (acetocetová a 3-hydroxymáselná). Nedostatek insulinu vede k nedostatku glukosy v buňce. Tato situace navodí glukoneogenezu tj syntézu glukosy z uhlíkového skeletu aminokyselin. Energie se získává z β -oxidace mastných kyselin která vede k nadprodukci ketolátek a k jejich hromadění pro nemožnost metabolizace v citrátovém cyklu.
3. Zvýšená urea v séru je způsobena jednak dehydratací navozenou osmotickou diurézou pro hyperglykémii (snížený cirkulující objem \rightarrow snížené prokrvení ledvin \rightarrow snížená glomerulární filtrace – prerenální uremie), jednak zvýšeným odbouráváním aminokyselin při glukoneogeneze (zvýšená ureageneze). Hyperkalemie u některých pacientů provází metabolickou acidózu a je výrazem výstupu K⁺ z buněk do ECT. Při protrahované osmotické diuréze dochází ke značným ztrátám K⁺ močí a hladina plasmatického K⁺ se snižuje jako výraz už velmi nebezpečné kaliové deplece.

Zdravotní sestra, 24 roků

mívala opakované stavy hypoglykemie. Laboratorní vyšetření ukázalo následující výsledky:

B-glukosa opakovaně 0,9 – 1,1 mmol/l

C-peptid: 0,01 pmol/l až neprokazatelný (opakovaně)

Otázka:

1. Jaká je nejpravděpodobnější příčina hypoglykemie

Odpověď:

Jde nejspíše o diagnózu hypoglycaemia facticia. Pro nepřítomnost insulinomu mluví velmi nízká hladina C-peptidu. Sestra si hypoglykemie navozovala pícháním insulinu.

Pacient na parenterální výživě

Muž, 32 roků, v pokročilém stadiu Crohnovy choroby (ileitis terminalis), ve stavu těžké malnutrice byl na parenterální výživě.

Laboratorní vyšetření:

B-glukosa (ne nalačno): 9,8 mmol/l

S-fosfát: 0,3 mmol/l

S-albumin: 27 g/l

S-Ca: 1,96 mmol/l

Otázky:

1. Jaké je vysvětlení laboratorních hodnot

Odpověď:

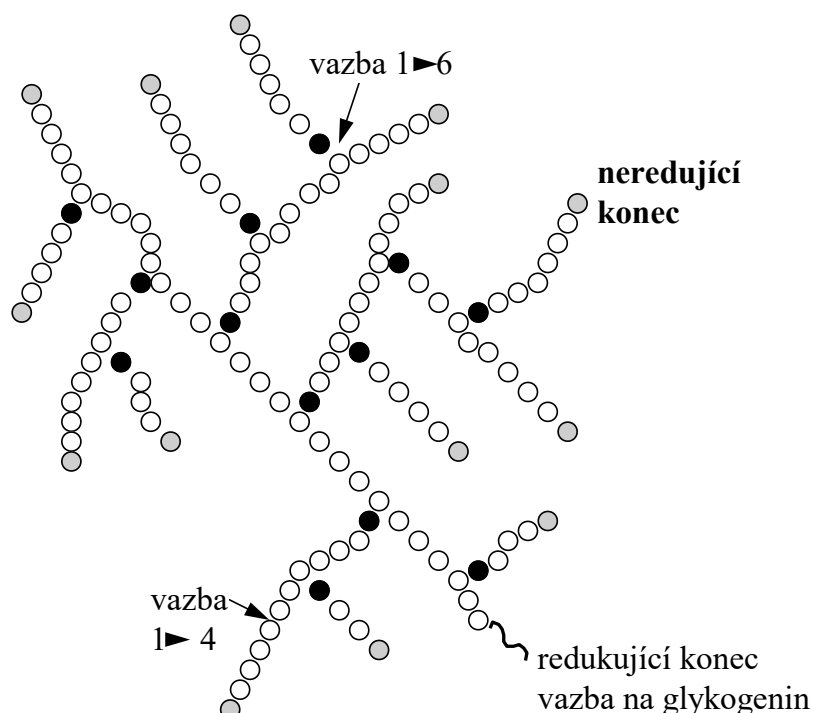
Při parenterální výživě se často podává více glukosy než tkáň stačí průběžně využít, a proto nález hyperglykemie bývá častý. O využití glukosy (vstupu glukosy do buněk) svědčí nízká hladina anorganického fosfátu v plasmě. Vstup glukosy do buňky s následnou fosforylací na glukosa-6-fosfát je vždy provázen též přesunem fosfátu z ECT do ICT a jeho využitím při regeneraci ATP. Nízká hodnota albuminu u těžké formy Crohnovy choroby je způsobena exsudativní enteropatií (ztráty plasmatických proteinů sliznicí poškozené části střeva). Nízká hodnota Ca provází snížení albuminu (50% Ca je vázáno na albumin).

METABOLISMUS GLYKOGENU A JEHO PORUCHY

1. Úvod

Glykogen je polysacharid s vysoce větvenou strukturou na bázi glukosy. Základ tvoří 10ti až 18ti-členné α -D-glukopyranosové zbytky s α [1 \rightarrow 4]- glykosidickými vazbami s větvemi, oddělujícími se od tohoto základu prostřednictvím α [1 \rightarrow 6]- glykosidických vazeb.

Obr.: Struktura glykogenu



Je hlavní zásobní formou sacharidů u člověka ve většině buněk; uvolňuje se z něho pro energetický metabolismus tkání tak potřebná glukosa. Jaterní glykogen (až 6% hmotnostního podílu), který slouží i jako zásoba glukosy pro udržování hladiny krevního cukru, je vyčerpán kompletně za 12 - 18 hodin hladovění; svalový glykogen (nejvýše 1% hmotnosti, ale co do celkového obsahu v těle 3-4 krát více než jaterní) je vyčerpán pouze po velmi těžké a

prolongované tělesné námaze. Uspořádání molekuly do bohatého větvení umožňuje jeho velmi rychlé odbourání na glukosové jednotky.

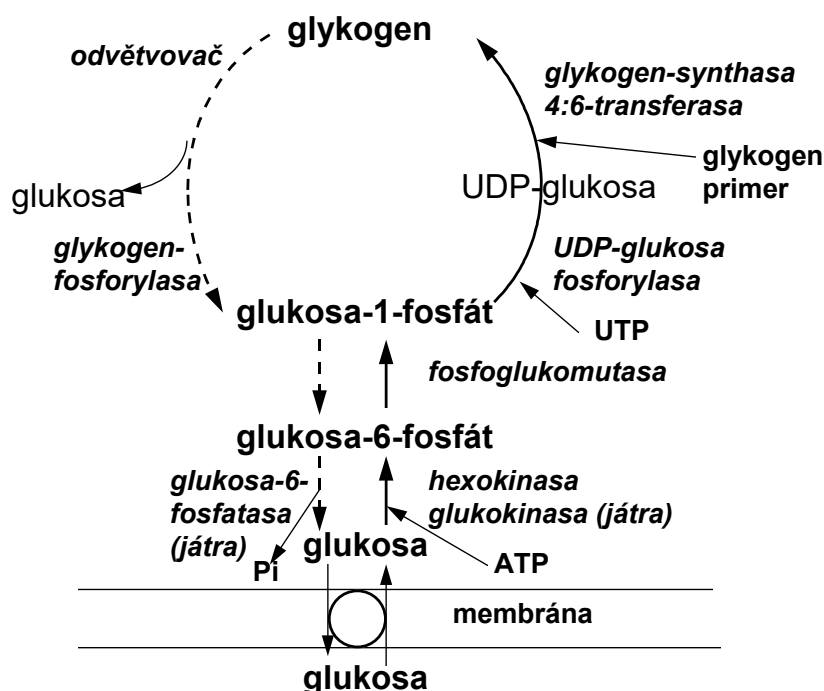
2. Biosyntéza glykogenu (glykogeneze)

Syntéza a degradace glykogenu v játrech je regulována hormonálním mechanismem, jehož hlavním signálem je hladina glukosy- Glukosa je v hepatocytech fosforylována na glukosa-6-fosfát za účasti glukokinasy (ve svalech a jiných tkáních je to hexokinasa). Glukosa-6-fosfát se mění působením fosfoglukomutasy na glukosa-1-fosfát. Dalším krokem je reakce s uridintrifosfátem za vzniku aktivního nukleotidu uridindifosfát-glukosy (za katalýzy UDP-Glu-pyrofosforylasy). Působením enzymu glykogensyntasy dochází ke glykosidické vazbě mezi uhlíky C1 a C4 aktivního nukleotidu (UDP-Glu). Tímto způsobem se tvoří skelet polysacharidu; podmínkou je přítomnost malého množství "glykogenového primeru". Přidáním dalších glykosylových zbytků z UDP-glukosy se řetězec prodlužuje až vznikne řetězec o 11 zbytcích. Z něho se odštěpí amylo-4:6-transferasou 6–8 zbytků, které se znovu napojí vazbou α -1,6 jako postranní větev. Větvení řetězů 1 \rightarrow 6 glykosidickou vazbou se děje pomocí větvcího enzymu. (amylo [1 \rightarrow 4] \rightarrow [1 \rightarrow 6]-transglukosidasy).

3. Odbourávání glykogenu (glykogenolýza)

Není to "obrácená" glykogenogeneze, ale samostatná metabolická dráha, katalyzovaná dvěma enzymy: glykogenfosforylasou a odvětvujícím enzymem. Štěpení začíná s glykogenfosforylasou, která je limitujícím enzymem glykogenolýzy. Při této fosforolýze se štěpí vazba 1 \rightarrow 4 a odštěpuje se glukosa-1-fosfát. Takto se odbourávají glukosové jednotky až zůstane čtyřglukosový zbytek řetězce. Enzym α -[1 \rightarrow 4] \rightarrow α -[1 \rightarrow 4] glukantransferasa přenáší trisacharidovou jednotku z jedné větve na druhou vystavujíc přitom místo [1 \rightarrow 6]-glykosidické vazby hydrolytickému účinku. Hydrolýza této vazby se děje za katalýzy odvětvovacího enzymu - amylo-[1 \rightarrow 6]-glukosidasy. Po odstranění postranní větve může pokračovat působení fosforylasy:

Obr. Schéma glykogenolýzy a glykogenogeneze



4. Regulace tvorby a odbourávání glykogenu

Regulace syntézy glykogenu v různých tkáních se řídí funkcí glykogenu v některé tkáni. Jaterní glykogen slouží hlavně jako zdroj glukosy cirkulující v krvi, která je v době hladovění nutná pro energetický metabolismus buněk, které ji využívají výlučně nebo v době nedostatku z vlastních zdrojů. Regulace je uskutečňována podle poměru insulin/glukagon a dle hodnoty glykemie. Degradace jaterního glykogenu je spouštěna též působením adrenalinu, který je uvolňován z dřeně nadledvinek při fyzické zátěži, při hypoglykémii apod. Naproti tomu svalový glykogen slouží jako zásoba glykosylových jednotek vstupujících do glykolytické dráhy, aby poskytla energii pro regeneraci ATP při svalové práci. Koncentrace AMP je signálem nedostatku ATP ve svalové buňce a je spouštěcím signálem svalové glykogenolýzy. Rovněž adrenalin uvolňovaný za stresových situací navozuje glykogenolýzu ve svalech.

cAMP sdružuje regulaci glykogenolýzy a glykogenogeneze, a to prostřednictvím glykogenfosforylasy, a to jak alosterickým mechanismem, tak kovalentní modifikací navozenou reversibilní fosforylací a defosforylací enzymového proteinu. Fosforylasy jaterní a svalové se liší jak imunologicky, tak geneticky. Fosforylasy svalové je aktivována adrenalinem prostřednictvím cAMP-dependentní proteinové kinasy (fosforylací inaktivní fosforylasy b na aktivní fosforylasu a). Ca^{2+} synchronizuje aktivaci fosforylasy se svalovou kontrakcí. Glykogenolýza ve svalech tímto mechanismem po svalové kontrakci stoupá až několikrát. Důležitou roli hraje přitom *kalmodulin*. Glykogenolýza v játrech může probíhat též bez závislosti na cAMP. Bylo totiž zjištěno, že kromě tvorby cAMP po vyplavení (podání) glukagonu dochází také k aktivaci fosforylasy v játrech prostřednictvím $\alpha 1$ -receptorů; z nich nastartovaný "chemický" signál se uplatní prostřednictvím uvolnění Ca^{2+} z mitochondrií a jejich toku do cytosolu, kde je tak vyvolána aktivace kalmodulin-senzitivní fosforylasy.

Regulace glykogenového metabolismu je výrazem vyvážené aktivity mezi glykogensynthasou na jedné straně a fosforylasou na straně druhé.

Obr. Regulace zásob glykogenu v játrech a ve svalstvu

Stav	Regulátor	Odpověď tkání
------	-----------	---------------

	Játra	
Lačnění	V krvi: glukagon ↑, insulin ↓ V tkáních: cAMP ↑	odbourávání glykogenu ↑, tvorba ↓
Po jídle se sacharidy	V krvi: glukagon ↓, insulin ↑, glukosa ↑. V tkáních: cAMP ↓, glukosa ↑	degradace glykogenu ↓, tvorba ↑
Svalová námaha, stres	V krvi: adrenalin ↑ V tkáních: cAMP ↑, Ca ²⁺ -kalmodulin ↑	degradace glykogenu ↑, tvorba ↓
	Svalstvo	
Lačnění (klid)	V krvi: insulin ↓	tvorba ↓, transport glukosy ↓
Po jídle (klid)	V krvi: insulin ↑	tvorba glykogenu ↑, transport glukosy ↑
Svalová námaha	V krvi: adrenalin ↑ V tkáních: cAMP ↑. Ca ²⁺ -kalmodulin ↑	tvorba glykogenu ↓, degradace ↑, glykolýza ↑

5. Dědičné metabolické choroby z ukládání glykogenu (glykogenózy)

Příčina těchto chorob tkví v deficienci enzymů, které se účastní buď glykogenolýzy nebo glykogenosyntézy, Podle toho o který enzym jde, možno glykogenózy rozdělit do několika typů, které se liší jak klinickým průběhem, tak i biochemickým nálezem a prognózou. Hlavními biochemickými příznaky bývá hypoglykemie, hyperlaktátemie, metabolická acidóza, hyperlipidemie nebo hyperurikemie. Jednotlivé typy glykogenóz se v těchto nálezech liší:

Laboratorní nález	Glykogenóza (Typ)		
	I	III	VI
Hypoglykemie	+++	++	+
Hyperlaktátemie	++	-	-
Metabolická acidóza	+	-	-
Hyperlipidemie	++	±	±
Hyperurikemie	+	±	-

Tab.: Klasifikace a základní charakteristiky různých typů glykogenóz

Typ	Název (synonyma)	Enzymový deficit	Postižené orgány	Klinické příznaky
O		glykogensynthasa	játra	hypoglykemie, ketóza časný exitus

Ia	Hepatorenální glykogenóza (choroba von Gierkeho)	glukosa-6-fosfatasa	játra, ledviny, střevo	hepatomegalie, zvětšení ledvin, hypoglykemie na lačno, acidóza, hyperlipemie, hyperurikemie dysfunkce trombocytů Později vznik jaterních adenomů a glomerulosklerózy
Ib		mikrosomální membránová glukosa-6-fosfát translokasa	játra	jako sub Ia; navíc návratná neutropenie, bakteriální infekce
Ic		mikrosomální P-transportér	játra	jako sub Ia
II	Generalizovaná glykogenóza (Pompeho choroba, kardiální glykogenóza)	lysosomální kyselá α -1. 4-glukosidasa	všechny orgány	kardiomegalie, hepatomegalie (není hypoglykemie)
III	Koncová dextrinóza, ("limit"dextrinosis, Coriho choroba, Forbesova choroba)	system odvětvovačů (debrancher) (amylo-1→6-glukosidasa a oligo-1→4-glukantransferasa)	játra, (svaly, srdce) abnormální glykogen	hepatomegalie, normální lipidy i EKG, mírná hypoglykemie zvýšení AST a ALT, (cirhóza) (zvýšení CK)
IV	Amylopektinóza (Andersenova choroba, glykogenóza z poruchy větvení)	amylo-1→4-1→→6-transglukosidasa ("brancher enzyme")	abnormální glykogen (amylopektin v orgánech)	hepatosplenomegalie, ascites, cirhóza, jaterní selhání
V	Syndrom McArdlerův	svalová fosforylase	kosterní svalstvo (pouze)	slabost a křeče svalů při cvičení, není hyperlaktátemie, ale ↑ CK
VI	Deficit jaterní fosforylasy (Hersův syndrom)	jaterní fosforylase (50% normálu)	játra	hepatomegalie, normální slezina, hypoglykemie, není hyperlipemie, ani ascites

VII		fosfofruktokinasa	svalstvo, erytrocyty	svalová slabost, křeče při cvičení mírná hemolytická anemie
dříve VIII IX, VIb		fosforylase b kinasa	játra, leukocyty svaly (?)	hepatomegalie, hypoglykemie (jako sub VI) dědičnost vázaná na X-chromosom
X		cAMP dependentní protein-kinasa	játra, svalstvo	hepatomegalie, není však onemocnění kosterního svalstva nebo myokardu
Neklasif- ikované		aktivita všech enzymů je normální	játra nebo játra a ledviny	hepatomegalie s Fanconiho syndromem; rachitida rezistentní na vitamin D; hereditární intolerance fruktosy

Glykogenózy jsou choroby způsobené patologickým metabolismem glykogenu. Dochází zde k obvykle k nahromadění glykogenu v některých orgánech především v játrech (>70 mg/g tkáně) nebo ve svalech (>15 mg/g svalové tkáně). Dědičnost je, až na deficienci fosforylasy b kinasy, autosomálně recesivní. Mezi nejzávažnější patří typ 0 (umírající velmi brzy) a dále typ II (Pompe), kdy může dojít k úmrtí ještě v prvním roce života. Nejcitlivěji reagují na deficit kyselých glukosidasy kardiomyocyty. Naproti tomu u typu V (McArdle), při němž je porušena glykogenolýza pro deficienci fosforylasy v kosterním svalstvu, klinické příznaky (svalová bolest a slabost) se projevují až v dospělosti, a to ještě v závislosti na intenzitě svalové námahy. Typ I (von Gierke) je charakterizován vysokou hladinou krevního laktátu a pyruvátu, zvláště dojde-li z různých příčin k vyplavení adrenalinu. Příznačná je též hypoglykemie, objevující se za různých situací, bývá spojena s ketoacidózou. U typu VII se nejedná o defekt v metabolismu glykogenu v pravém slova smyslu; chybí fosfofruktokinasa především v kosterním svalstvu, méně v játrech. To znemožňuje glykolýzu v svalech, což se projevuje svalovými potížemi po námaze.

Otázky

1. Biosyntéza glykogenu (vyber správné tvrzení)

- A - vyžaduje anorganický fosfát jako jeden ze substrátů
- B - zahrnuje tvorbu α -1 \rightarrow 6 odvětvení přenosem glukonové jednotky z α -1 \rightarrow 4 vazeb
- C - zahrnuje syntézu UDP-glukosy přímo z uridintrifosfátu a glukosa-6-fosfátu

D - zahrnuje přenos glukosylového zbytku u UDP-glukosy na redukovaný konec "primeru" glykogenu

Odpověď:

/A/ Špatně. Tvorba glykogenu začíná z glukosa-1-fosfátu a nevyžaduje přítomnosti anorganického fosfátu; ten je potřeba pro fosforylaci glukosy na glukosa-6-fosfát.

/B/ Špatně. Větvení řetězce glykogenu [1 → 6] α-glykosidickou vazbou se neděje přenosem glukosové jednotky z [1 → 4] α-glykosidické vazby. Děje se tak pomocí "větvičícího enzymu" (= amylo [1 → 4] → [1 → 6]-transglukosidasy).

/C/ Špatně. Při této reakci se nevychází z glukosa-6-fosfátu, ale z glukosa-1-fosfátu.

/D/ Správně. Glukosa-1-fosfát reaguje s uridindifosfátglukosou (za katalýzy UDP-glucopyrofosforylasou). Působením glykogensynthasy dochází ke glykosidické vazbě mezi uhlíky C1 a C4 aktivního nukleotidu (UDP-glu). Podmínkou tvorby skeletu polysacharidu je přítomnost malého množství "glykogenového primeru".

2. Glukagon působí tak, že (vyber správné tvrzení)

A - inhibuje cAMP-dependentní proteinovou kinasu v játrech

B - stimuluje glykolýzu v játrech

C - stimuluje glukoneogenezu ve svalech

D - stimuluje fosforylaci glykogen-fosforylasy b v játrech

E - stimuluje defosforylaci glykogensynthasy v játrech

Odpověď:

/A/ Špatně. Glukagon naopak navozuje sled reakcí vedoucí k aktivaci cAMP-dependentní proteinové kinasu v játrech.

/B/ Špatně. Stimulaci glykolýzy v játrech nedělá glukagon, ale insulin. Glukagon působí inhibičně na enzymy glykolýzy (fosfofruktokinasou a pyruvátkinasou).

/C/ Špatně. Glukoneogeneze probíhá hlavně v játrech ev. v ledvině, nikoliv v kosterním svalstvu. Ten je producentem laktátu, ale ten je metabolizován na glukosu v játrech (Cori-ho cyklus).

/D/ Správně. Glukagon v játrech (podobně jako adrenalin v játrech a ve svalech) navozují nejprve zvýšenou tvorbu cAMP v buňce ("druhého posílka"), což aktivuje cAMP-dependentní proteinovou kinasu; tato aktivuje enzym fosforylasa-kinasu b na aktivní fosforylasa-kinasu a; tato zase aktivuje fosforylasu b na aktivní fosforylasu a. Tento enzym zahajuje glykogenolýzu.

3. Glykogenózu typu I (Gierkeho choroba) způsobuje (vyber všechny eventuality)

A - deficit glukosa-6-fosfátdehydrogenasy v játrech

B - deficit glukosa-6-fosfatasy v játrech a ledvinách

C - abnormální struktura jaterního glykogenu

D - deficit amylo-1 → 6- glukosidasy v játrech a ve svalech

E - deficit jaterní fosforylasy

Odpověď:

/A/ Špatně. Deficit glukosa-6-fosfát dehydrogenasy znemožňuje metabolizaci glukosy v pentosovém cyklu.

/B/ Správně. Glykogenóza typu I je způsobena deficitem glukosa-6-fosfatasy v játrech a ledvinách.

/C/ Špatně. Glykogenóza typu I nespočívá v abnormální struktuře glykogenu. To je u typu IIIa, IIIb, IV.

/D/ Špatně. Deficit α -[1 \rightarrow 4]-glukosidasy způsobuje glykogenózu typu IIa (Pompeho choroba).

/E/ Špatně. Deficit jaterní fosforylasy způsobuje glykogenózu typu VIa (Hers).

Příklady pacientů**Novorozenec mírně hypotrofický, s cyanózou a s výraznou hypoglykemií**

Jde o novorozence porozeného v 38. týdnu gestace, 2 100g (adekvátní hmotnost: 3 300g), délky 47 cm, mírně cyanotický (pro hypoxii), s tachykardií (35/min).

Glykemie: 0,8 mmol/l (dolní limit pro novorozence: 2,5 mmol/l).

Matka 35 roků. V posledním trimestru měla mírnou hypertenzi a dále opakující se infekce močového ústrojí., zvracela a velmi málo jedla.

Otázka:**(1) Jaká je příčina tak nízké hladiny u novorozence?**

Odpověď: Nedostatek glykogenu v játrech novorozence. V posledních 9 – 10 týdnech gestace glukosa procházející z cirkulace matky placentární bariérou do cirkulace plodu se též ukládá v játrech plodu ve formě glykogenu účinkem převažujícího vlivu insulinu v tomto období. Po porodu, kdy dojde náhle k přerušení dodávky glukosy od matky, zdrojem glukosy u novorozence v prvních hodinách po porodu je glykogen uložený v játrech. Nepřijímá-li matka v posledních týdnech před porodem dostatek potravy, nemůže se vytvořit dostatečná zásoba glykogenu ve fetálních játrech, protože hypoglykemie brzdí aktivaci glykogensynthasy.

(2) V čem je odlišný energetický metabolismus fétu od novorozence?

Odpověď: Jediným zdrojem energie fétu v děloze je plynulý přísun glukosy z mateřské cirkulace. Hladina glukosy ve fetální krvi činí asi 75% mateřské glykemie. Fetální tkáně jsou z hlediska energetického metabolismu pod dominantním hormonálním účinkem insulinu, který podporuje růst plodu. V posledních 10ti týdnech těhotenství se začíná tvořit energetická zásoba pro první hodiny po porodu ve formě jaterního glykogenu.

Porodem končí plynulá dodávka glukosy z mateřské cirkulace a zdrojem glukosy před přijetím první potravy je jaterní glykogenolýza. Novorozenec se musí adaptovat na přerušovanou dodávku živin (tuk, glukosu a galaktosu z laktosy v mléce). Potřeba glukosy u novorozence je relativně větší než u dospělého člověka, protože hmotnost mozkové tkáně je větší než hmotnost jater. Novorozenec proto obtížněji udržuje homeostázu glukosy a při větší zátěži může snadno upadnout do hypoglykemie.

Uzávěrem pupečníku se musí novorozenec vyrovnat velmi rychle s dominujícím fetálním hyperinsulinismem. To je umožněno sekrecí “protihormonů”: adrenalinu a glukagonu, které zabraňují progresivnímu propadu glykemie stimulací glykogenolýzy a glukoneogeneze.

Kojenec s opakujícími se stavy hypoglykemie

U kojence s opakujícími se stavy hypoglykemie už od narození byl proveden test s aplikací glukagonu as 1 hodinu po stravě bohaté na sacharidy. Glykemie stoupla z 3,9 mmol/l na 6,1 mmol/l. Za 3 hodiny poté klesla glykemie na 2,5 mmol/l. Po další aplikaci glukagonu však nebyl zaznamenán žádný vzestup glykemie.

Otázka:

Jaká je příčina této formy odpovědi na aplikaci glukagonu (vyber)?

- A. Deficience jaterní glykogenfosforylasy nebo “odvětvovače” glykogenu
- B. Deficience glukosa-6-fosfatasy.
- C. Defekt v receptoru pro glukagon.
- D. Neschopnost secernovat adekvátní množství glukagonu.
- E. Problém v glukoneogeneze.

Odpověď: Jde pouze o problém v glukoneogeneze. Pacient rychle odpovídá adekvátním zvýšením glykemie po dodávce sacharidů a dalším zvýšením glykemie za 1 hod po aplikaci glukagonu. Znamená to, že je schopen normálně tvořit i odbourávat jaterní glykogen. Rovněž jeho glukosa-6-fosfatasa uvolňuje glukosu z glukosa-6-fosfátu v hepatocytu- Rovněž musí být funkční receptor pro glukagon a proteinkinasa a. Hladina glukosy však při lačnění rychle klesá na podnormální hodnoty.. Zásoby glykogenu nejsou schopny na delší dobu udržet normální hladinu glykemie, i přestože glukagon funguje správně. Chyba je tedy v alternativním zdroji glukosy – v glukoneogeneze. Může jít o deficienci některého z klíčových enzymů glukoneogeneze jako kupř. pyruvátdehydrogenasy, pyruvátkarboxylasy, fosfoenolpyruvát karboxykinasy nebo fruktosa-1,6-bisfosfatasy, glukosa-6-fosfatasa je v pořádku.

Pacient s glykogenózou typu V (McArdle-ho choroba) a pacient s glykogenózou typ VI (Hersova choroba)

Příčinou obou stavů je dědičně podmíněný deficit klíčového enzymu degradace glykogenu: glykogenfosforylasy.

Otázka: Který z těchto typů má závažnější klinické příznaky a proč?

Odpověď: Jaterní a svalová glykogenfosforylasy jsou geneticky odlišné formy. Deficience jaterní GF se klinicky projevuje jako Hersova choroba. Hlavním příznakem je hypoglykemie v době lačnění, protože nefunguje jaterní glykogenolýza. Pokud je v pořádku glukoneogeneze z jiných zdrojů, hypoglykemie bývá mírná. Může však být fatální, když tento zdroj glukosy nefunguje.

Naproti tomu deficience svalové glykogenfosforylasy (McArdleho choroba) se projevuje pouze při zvýšené svalové námaze (svalová únavnost, svalové křeče, dále myoglobinurie a vyplavení kreatinkinasy do krevní plasmy). V klidu je pacient prakticky bez příznaků.

METABOLISMUS AMINOKYSELIN (PROTEINŮ) A JEHO PORUCHY

1. Úvod

Úkolem aminokyselin v organismu přiváděných proteinovou potravou jsou čtyři hlavní funkce:

(1) Jsou základem výstavby tělesných proteinů, (2) Jejich uhlíkový skelet může sloužit jako zdroj energie (3) Jejich dusíkové atomy mohou být použity k syntéze důležitých dusíkatých

látek, (4) Jejich uhlíkový skelet může být zdrojem bezdusíkatých substrátů, kupř. glukosy. 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. Metabolický obrat proteinů v organismu představuje u dospělého člověka v průměru 400 g/den (= 4,6 mol/l), z čehož 50 g připadá na syntézu trávicích enzymů a dalších 15 g na tvorbu hemoglobinu. 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 protražovaném) 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 Počet enzymů potřebných pro syntézu aminokyselin

(v závorce písmenový symbol dané aminokyseliny) (1)

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

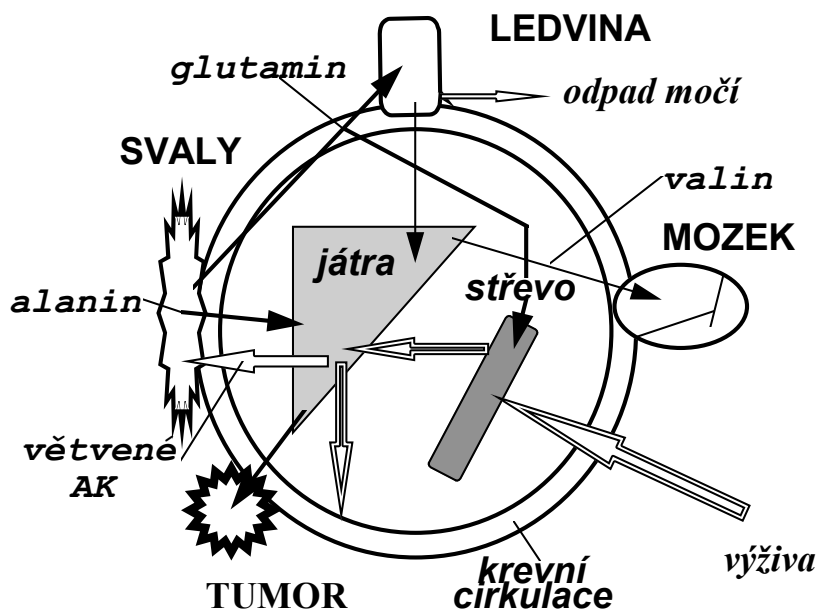
Z biologického hlediska je potřebných všech 20 základních aminokyselin, které tvoří primární strukturu proteinů v organismu. Z tohoto počtu 8 si nedokážeme syntetizovat a musí být přijaty potravou; byly nazvány esenciální (nezbytné). Druhá skupina, neesenciální, může být syntetizována zdravým dospělým 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.

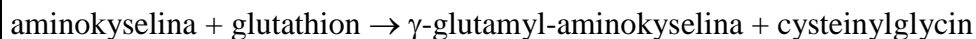
Vstřebané aminokyseliny po jídle se dostávají nejprve portálním oběhem do jater, kde jsou metabolizovány následovně: (a) neesenciální aminokyseliny jsou kompletně hepatocyty extrahovány; esenciální mají dvojitý osud: Fenylalanin, lysin, methionin, threonin, tryptofan a histidin jsou v hepatocytech katabolizovány 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).



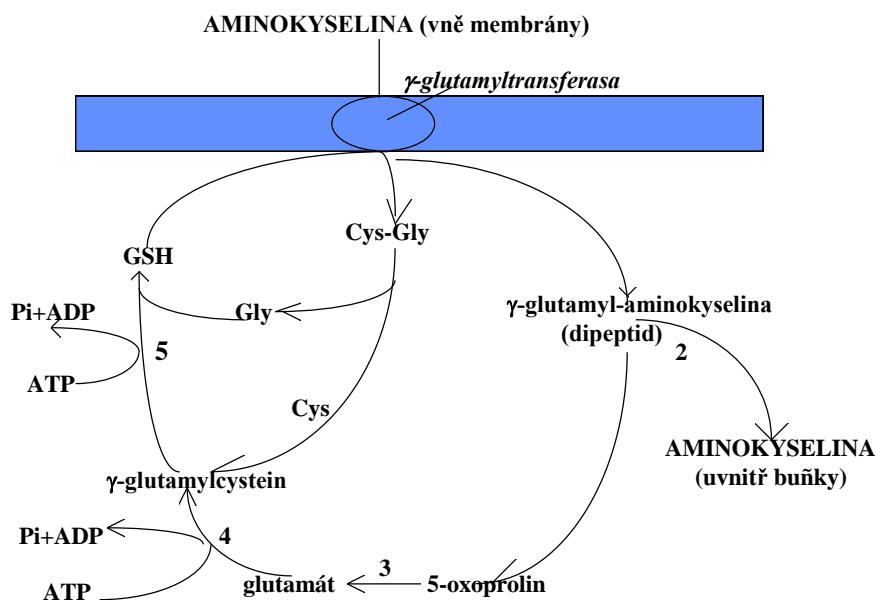
V době lačnění dochází k uvolňování aminokyselin ze svalů a plic. Více než 50% aminokyselin uvolňovaných ze svalů tvoří alanin a glutamin; vznikají z pyruvátu respektive z glutamátu. Aminokupina přenášená na prekurzory těchto aminokyselin pochází z větvených aminokyselin. Do jater se vrací z kosterního 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 :

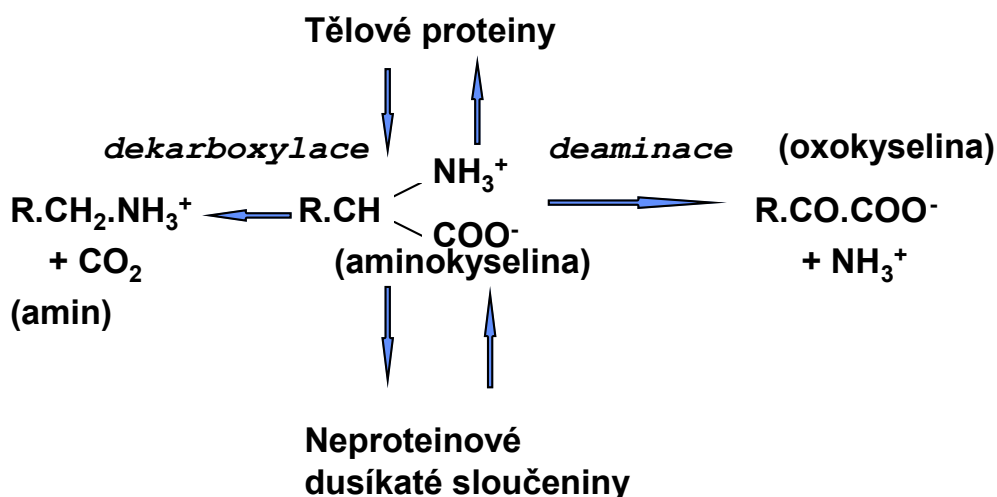


. Z γ-glutamylového komplexu je aminokyselina ihned hydrolyzována a glutathion je resyntetizován z cysteinylglycinu. Enzymem, který katalyzuje tuto reakci je γ-glutamyltransferasa lokalizovaná v membráně. Substrátem mohou být všechny základní aminokyseliny vyjma prolinu. Podobným způsobem mohou být přenášeny i některé dipeptidy. Tento transportní mechanismus se nazývá γ-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) (Obr3).

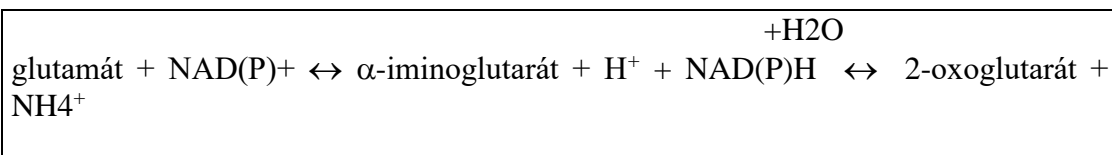


3. Katabolismus aminokyselin.

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

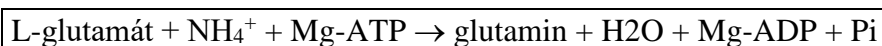


K odstranění α - NH_2 -skupiny dochází prostřednictvím transaminace, při níž se aminoskupina přenáší na α -ketokyselinu za vzniku α -oxokyseliny a nové aminokyseliny. Tyto reakce jsou katalyzovány specifickými aminotransferasami; jako kofaktor zde působí pyridoxal-5-fosfát. Většina aminokyselin ve druhém 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 koenzym je používán jak NAD^+ tak NADP^+ . 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 NH_4^+ , resp. NH_3 , který je pro organismus toxický. Detoxikace 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 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 NH_4^+ probíhá v játrech v cyklu tvorby močoviny (ureageneze). Je kapacitně velmi výkonný a odstraňuje přebytečné NH_4^+ ionty přicházející z krevní cirkulace, ale též ze splachnicku cestou vena portae. Do cyklu nevstupuje NH_4^+ přímo, ale prostřednictvím karbamoylfosfátu, který vzniká v mitochondriích z NH_4^+ , 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 (argininosukcinátsynthasa); 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 karbamoylfosfátsynthasy 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.

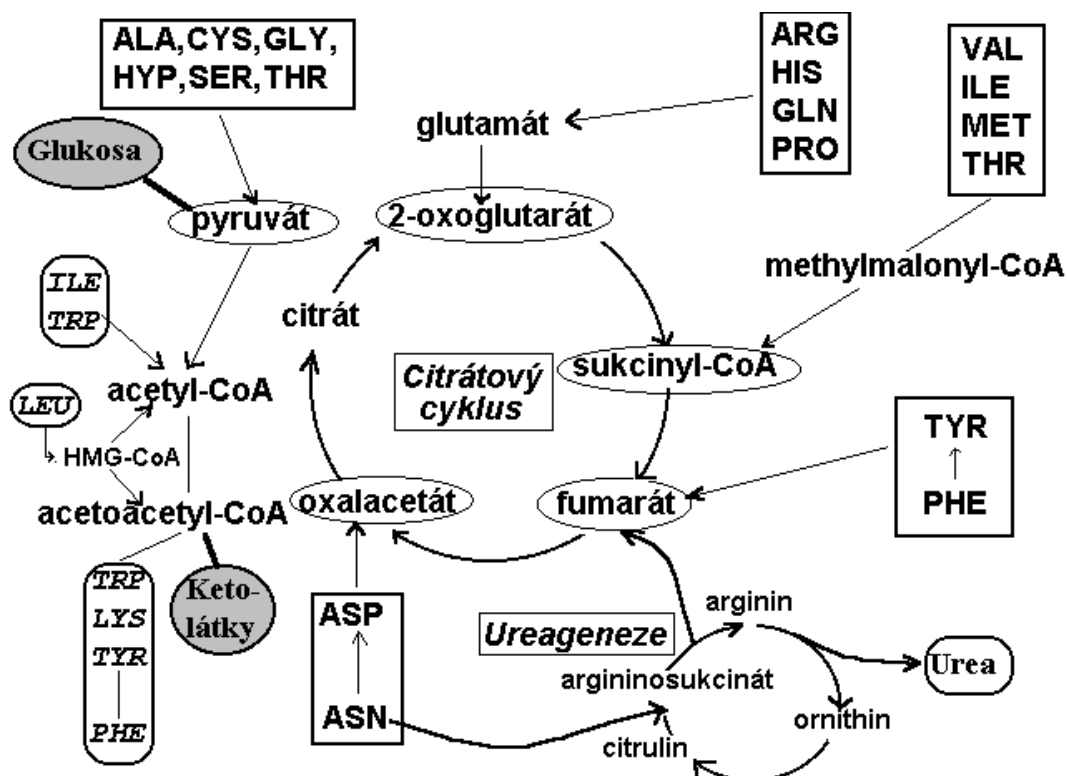
Patří sem:

- *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

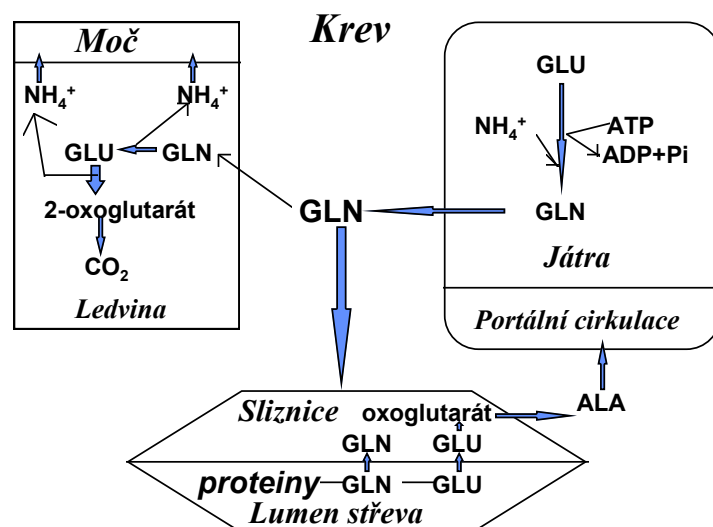
Tento metabolismus vyúsťuje především v tvorbu intermediárních produktů citrátového cyklu, čímž je umožněna interkonverze uhlíkového skeletu aminokyselin na skelet glukosy (glukoneogeneze) nebo ketolátek (ketogeneze) ev. cholesterolu a lipidů (lipogeneze). Podle výsledných produktů můžeme aminokyseliny 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 (1, 2). 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 (α , ϵ) reaguje s 2-oxoglutarátem za vzniku sacharopinu, který po hydrolýze a dehydrogenaci dává glutamát a α -aminoadipát. Aminoskupina v poloze ϵ se tak přenesla též do polohy α . L- α -aminoadipát dává transaminací 2-oxoadipát a dále pak glutaryl-CoA. Specifické postavení v metabolismu mají také aminokyseliny s rozvětveným řetězem (valin, leucin a isoleucin) (2, 4). První dva počáteční kroky jsou společné: transaminací vznikají příslušné 2-oxokyseliny, které po oxidační dekarboxylaci poskytují příslušné α , β -thioestery nenasycených acyl-CoA. Tyto jsou pak metabolizovány samostatně, valin dává sukcinyl-CoA, isoleucin propionyl CoA a acetyl-CoA, leucin pak β -hydroxy- β -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 (4). (Obr. 5).



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 tkáně, které ji potřebují jako hlavní zdroj energie v určitých situacích.

Podobně i *glutamin* slouží k dodávce energie pro rychle proliferující tkáně 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 portální oběhem do jater (**glutaminový cyklus**) (Obr. 6)



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 CH₃-skupinu řadě akceptorů (kupř. fosfatidylethanolamin → fosfatidylcholin, noradrenalin → adrenalin, glykocyamin → kreatin, RNA a DNA → metylované RNA a DNA); vzniká tak homocystein, centrální metabolit, který může být jednak remetylován na methionin (donorem CH₃- je opět tetrahydrofolát), jednak reakcí se serinem může přejít na cystathionin; ten se pak rozkládá na homoserin a cystein; oxidací cysteinu (přes cysteinsulfinát) vzniká taurin (aminokyselina tvořící vysoký podíl intracelulárních volných aminokyselin zvláště v játrech kosterním svalstvu a myokardu).

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

sukcinyl-CoA + glycin → δ-aminolevulát → porfobilinogen → porfyriny

Nukleotidy

glycin, glutamin, aspartát, amino N → purinové a pyrimidinové nukleotidy

Biogenní aminy

fenylalanin, tyrosin → katecholaminy

histidin → histamin; tryptofan → serotonin; glutamát → 4-aminomáselná kyselina (GABA)

Polyaminy

arginin → ornithin → polyaminy

Kreatinfosfát

arginin → glykocyamin (guanidoacetát) → kreatinfosfát

Glutathion

glutamát + cystein + glycin → γ-glutamylcysteinylglycin

Radikál oxidu dusnatého (NO•)

arginin → NO

Foláty

pteroová kyselina + glutamát → tetrahydrofolát, donory jednoválcových zbytků

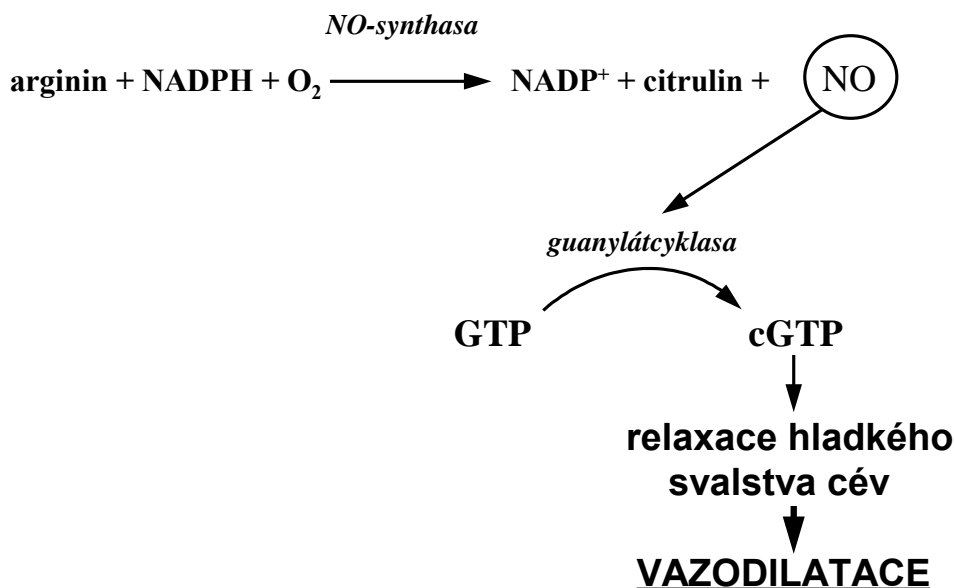
Peptidové hormony, enzymy

(všechny aminokyseliny)

Signální peptidy, receptory

(všechny aminokyseliny)

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



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

Typ	Syndrom	Defekt	Terapie
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-hydroxy-tryptofan
V	Abnormální funkce dihydrobiopterinu	Defekt syntézy dihydrobiopterinu	jako u typu IV
VI	Persistentní hyperfenylalaninemie	? katabolismus tyrosinu	snížení dodávky Phe v dietě
VII	Přechodná tyrosinemie u novorozenců	inhibice 4-hydroxy-fenylpyruvát oxidasy	vitamin C
VIII	Hereditární	Nedostatečnost:	

	tyrosinemie	1. 4-hydroxyfenylpyruvátdeoxygenasy 2. tyrosinaminotransferasy v cytoplasmě 3. fumarylacetoacetát hydrolasy	↓ Tyr v dietě ↓ Tyr aplikace glutathionu
--	-------------	---	---

Tyrosin

* Tyrosinemie Typ I (tyrosinosa)

Pravděpodobný defekt ve fumarylacetoacetáthydroxylase. 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-hydroxyfenylpyruvátdeoxygenasy. 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 provázána generalizovanou hyperaminoacidurií. Nebezpečí akutního renálního selhání.

* Homocystinuria

Je několik forem. Jde o poruchu remethylačního cyklu s defektem různých enzymů (cystathionin- β -synthasa, methylenetetrahydrofolatreduktasa apod.).

Některé formy jsou vitamin B₆ 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- γ -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 D-aminoadipát a D-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

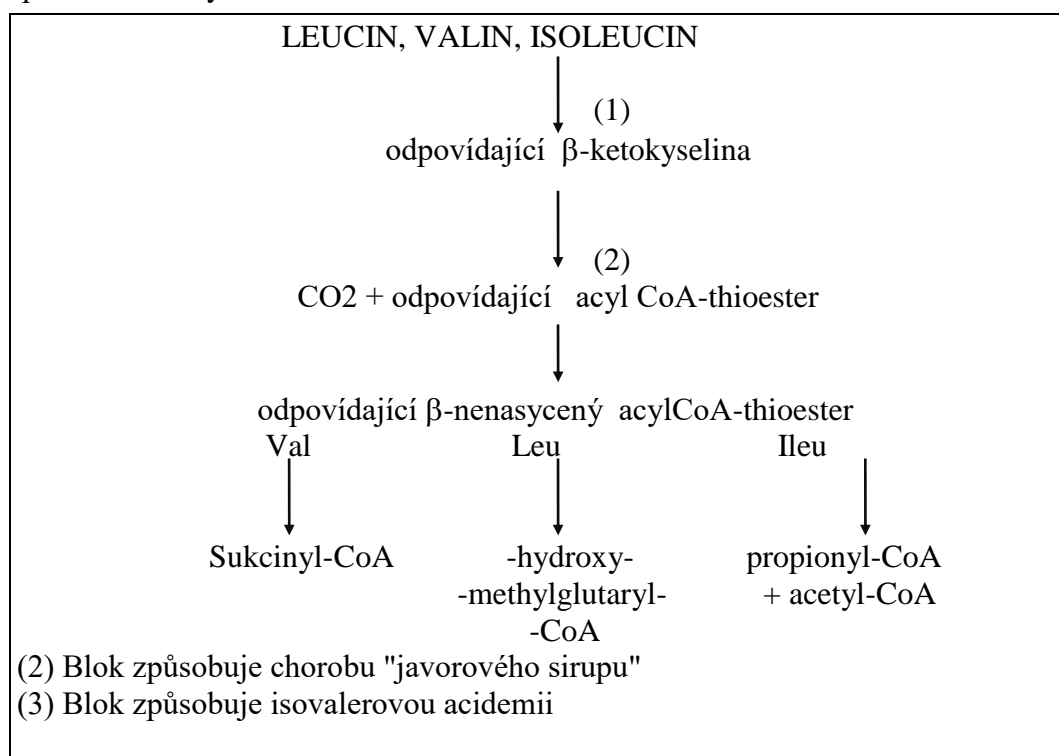
Metabolizuje se tzv. kynurenin-anthranilátovou drahou.

* *Hartnupova choroba*

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

Leucin, isoleucin, valin

Tyto větvené aminokyseliny mají významný vztah k mozkové tkáni. Vychytávání valinu mozkiem 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.



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 H₂O), 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

- amoniak se vylučuje ve formě NH_4^+ do moče v distálním tubulu (odstraňování H^+ jako důležitý regulační faktor acidobazické rovnováhy).

O t á z k y

1. Které aminokyseliny jsou převážně přijímány ledvinami

- A - glycin
- B - arginin
- C - alanin
- D - glutamová kyselina
- E - glutamin
- F - leucin
- G - histidin
- H - tyrosin

Odpověď:

- A - špatně
- B - špatně
- C - špatně
- D - špatně
- E - Správně. Glutamin je vychytáván ledvinou, který se i v ledvině tvoří z glutamátu a NH_4^+
- F - špatně
- G - špatně
- H - špatně.

2. Které aminokyseliny odevzdává sval do krevní cirkulace v největším množství

- A - glycin
- B - arginin
- C - alanin
- D - glutamová kyselina
- E - glutamin
- F - leucin
- G - histidin
- H - tyrosin

Odpověď:

- A - Špatně. Glycin se tvoří v řadě tkání. Nejvíce v játrech (za účasti glycinaminotransferasy, která katalyzuje přenos aminoskupiny z glutamátu nebo alaninu na glyoxalát)
- B - špatně - Arginin se tvoří hlavně v játrech jako součást ureagenetického cyklu

C - Správně. Alanin je vylučován ze svalstva do cirkulace v relativně velkém množství (50% všech aminokyselin). V játrech prodělává oxidativní deaminaci a dává vznik pyruvátu, který je hlavním substrátem glukoneogeneze.

D - Špatně.

E - Správně. Také glutamin je svalem uvolňován v relativně velkém množství.

F - Špatně. Větvené aminokyseliny, mezi něž leucin patří, jsou vychytávány hlavně játry a vychytávány svaly a především mozkem.

G - Špatně.

H - Špatně. Tyrosin se tvoří v játrech za katalýzy fenylalaninhydroxylasy z Phe.

3. Enzymové defekty v cyklu tvorby močoviny vedou k poruchám mozkové činnosti.

Čím je to způsobeno?

A - Hyperamonemií

B - Tvorbou atypických aminokyselin

C - Zvýšenou tvorbou biogenních aminů

D - Hyperurikemií

E - Hypoglykemií (glukoneogeneze z aminokyselin je snížena)

Odpověď

A - Správně. Amoniak je velmi toxický pro všechny buňky. Je proto detoxikován jednak tvorbou glutaminu (fixace NH_4^+ glutamát) a dále tvorbou močoviny. Ureageneze, která se děje takřka výlučně v játrech vychytává jak amoniak ze střeva, tak hlavně amoniak vznikající oxidativní deaminací aminokyselin (cestou glutamátdehydrogenasy z glutamátu).

B - Špatně. Při defektu v ureageneze se netvoří atypické aminokyseliny; při určitém bloku se mohou hromadit ve větším množství intermediátory (kupř. argininsukcinát apod., též glutamin jako následek snahy odstranění excessu NH_4^+).

C - Špatně. Biogenní aminy nevznikají primárně ve zvýšené míře při poruše ureageneze.

D - Špatně. Zvýšení hladiny kyseliny močové nemá vztah k poruše ureageneze.

E - Špatně. Hypoglykemie nevzniká jako důsledek poruchy ureageneze.

Hypoglykemie však může způsobit poruchu mozkové činnosti (mozek je energeticky závislý na dodávce glukosy).

4. Která(é) aminokyselina(y) není (nejsou) nutričně esenciální?

A. Methionin

B. Fenylalanin

C. Cystein

D. Tyrosin

E. Leucin

F. Isoleucin

G. Valin

H. Threonin

Odpověď:

A - Špatně. Methionin je esenciální aminokyselinou

B - Špatně. Fenylalanin je esenciální aminokyselinou

C - Správně. Cystein není esenciální aminokyselinou. Je tvořen z methioninu a serinu cestou S-adenosylmethioninu, který dá vznik homocysteinu; ten reaguje serinem za vzniku cystathioninu.

D - Správně. Tyrosin není esenciální. Vzniká z esenciálního fenylalaninu hydroxylací na C-4 pomocí fenylalaninu hydroxylasy a biopterinu jako kofaktoru.

E - Špatně. Leucin je esenciální.

F - Špatně. Isoleucin je esenciální.

G - Špatně. Valin je esenciální. Důležitý zejména pro činnost mozkové tkáně jako ostatní větvené aminokyseliny.

H - Špatně. Threonin je esenciální

5. Která(é) z aminokyselin není glukogenní.

A. Isoleucin

B. Leucin

C. Histidin

D. Cystin

E. Lysin

F. Valin

G. Tryptofan

Odpověď:

A - Špatně. Isoleucin je ketogenní i glukogenní. Jeden z jeho katabolitu je propionyl CoA, který přechází na sukcinyl-CoA, ten pak přes další intermediární produkty na oxalacetát; který přes fosfoenolpyruvát (za katalýzy fosfoenolpyruvátcarboxykinasy) vstupuje do glukoneogenetické dráhy.

B - Správně. Leucin je pouze ketogenní aminokyselina, která přes β -methylkrotonyl CoA a β -hydroxy- β -methylglutaryl CoA dává acetoacetát a acetyl-CoA.

C - Špatně. Histidin je glukogenní aminokyselina. Přes glutamát poskytuje 2-oxoglutarát a tak vstupuje do intermediátoru citrátového cyklu.

D - Špatně. Cystin je glukogenní aminokyselina. Konverze na pyruvát začíná oxidací eventuelně transaminací.

E - Špatně. Lysin je ketogenní, ale i glukogenní aminokyseliny, Katabolismus lysinu se děje přes sacharopin za vzniku δ -keto adipátu a glutaryl-CoA .

F - Špatně. Valin je glukogenní aminokyselina. Vstupuje do citrátového cyklu přes sukcinyl-CoA.

G - Špatně. Tryptofan je ketogenní, ale i glukogenní aminokyselina.

6. Tyrosin je prekurzor pro syntézu:

A. Noradrenalinu

B. Adrenalinu

C. Melaninu

D. DOPA

Odpověď:

A, B, C, D - Správně. Tyrosin je prekurzorem všech uvedených metabolitů. Tyrosinhydroxylasou za účasti bipterinu vzniká nejprve DOPA, dekarboxylací dopamin, oxidací noradrenalin a z něho adrenalin. Cesta na melaniny vede přes dopachinon.

7. Klíčovým intermediárním metabolitem pro syntézu cysteinu v játrech je:

A. Argininosukcinát

B. Homoserin

C. Semialdehyd glutamové kyseliny

D. Cystathionin

E. Xanthurenová kyselina

Odpověď:

A - Špatně. Argininosukcinát je intermediát cyklu tvorby močoviny.

B - Špatně. Homoserin je produkt, který vzniká současně s cysteinem při reakci serinu s homocysteinem, který vzniká z methioninu.

C - Špatně. Glutamátsemialdehyd je intermediátorem syntézy prolinu nikoliv cysteinu.

D - Správně. Cystathionin je klíčovým metabolitem při syntéze cysteinu. Vzniká reakcí serinu s homocysteinem. Štěpí se pak na homoserin a cystein.

E - Špatně. Xanthurenová kyselina je metabolit tryptofanu.

8. Mechanismus vylučování kreatininu ledvinami spočívá:

A. V glomerulární filtraci (bez tubulární sekrece nebo tubulární zpětné resorpce)

B. V glomerulární filtraci a v malém podílu tubulární sekrece

C. V glomerulární filtraci a tubulární zpětné resorpci

D. V tubulární sekreci

Odpověď:

A. Špatně. Kreatinin se nechová jako látka "bezprahová" jako je tomu u inulinu.

B. Správně. Kreatinin se vylučuje glomerulární filtrací a malou (asi 10%) tubulární sekrecí. Podíl sekrece se zvyšuje u patologické hyperkreatininemie.

C. Špatně. Kreatinin nepodléhá tubulární zpětné resorpci na rozdíl od močoviny

D. Špatně. Kreatinin je především filtrován glomeruly.

9. Při prerenální uremii je

A. Zvýšený kreatinin úměrně se zvýšenou ureou

B. Zvýšená urea a kreatinin na horní hranici normálu

C. Zvýšený kreatinin a urea na horní hranici normálu

D. Kreatinin i urea jen na horní hranici normálu.

Odpověď:

A - Špatně. Úměrné zvýšení obou je u renálního selhání

B - Správně. Urea je zvýšena mnohem více než kreatinin. Důvodem je zvýšená antidiuréza, která vede k zvýšené zpětné resorpci vody spolu s elektrolyty a ureou (isoosmolární zpětná difúze).

C - Špatně. Zvýšení kreatininu není charakteristické pro prerenální uremii.

D - Špatně. U prerenální uremie vždy zvýšena urea.

Příklady pacientů

Kojenec s psychomotorickou retardací

Kojenec, 3 a 1/2 měsíce, porod normální. Po několika týdnech matka pozorovala, že dítě (ve srovnání se sourozenci) jeví malý zájem o okolí a že neprospívá. Moč v plenkách měla zvláštní zápach, jako po myších. U děvčátka se též objevil třes končetin.

V laboratoři byl prokázán pozitivní Guthrieho test na hyperfenylalaninemii, moč dávala pozitivní reakci s ferichloridem na kyselinu fenylpyrohroznovou

Koncentrace fenylalaninu v plasmě: 1089 $\mu\text{mol/l}$ (N: < 109 $\mu\text{mol/l}$)

Vyšetření bioptického vzorku jater ukázalo výrazné snížení (na 1%) fenylalanin hydroxylasy.

To svědčí pro přítomnost "klasické" formy fenylketonurie

Otázky:

(1) Proč nelze při dietním léčení fenylketonurie vyloučit zcela přítomnost fenylalaninu v potravě?

Odpověď: Z fenylalaninu vznikají další velmi důležité metabolity jako je DOPA, katecholaminy apod. V "bezfenylalaninové" dietě je proto vždy malé množství (250–300 mg denně) fenylalaninu.

(2) Čím může být ohrožen plod těhotné ženy s fenylketonurií (který tuto poruchu nezdědil)

Odpověď: Eventuelní hyperfenylalaninemií. Fenylalanin prochází placentární bariérou z cirkulace matky do cirkulace plodu, jehož centrální nervový systém může být fenylalaninem poškozen .

(3) Může organismus pacienta s deficitem fenylalaninhydroxylasy tvořit tyrosin?

Pokud by byl úplný nemůže, ale i 1% aktivita fenylalaninhydroxylasy stačí za přítomnosti malého množství fenylalaninu syntetizovat tyrosin. Tyrosin u pacienta s fenylketonurií se vlastně stává esenciální aminokyselinou. (jako je fenylalanin)

Pacient s dislokací očních čoček a mírnou retardací se záchvatem křečí

Chlapec, 15 roků, dostal náhle záchvat křečí připomínající “grandmal”. Lékař našel ochabnutí svalů na levé tváři a na levé horní a dolní končetině, a proto chlapce odeslal k hospitalizaci s diagnózou cerebrovaskulární příhody (pravá hemisféra).

Zde byl podrobněji vyšetřen a v anamnéze zjištěna operace (iridektomie) obou očních čoček pro jejich velkou dislokaci, Chlapec byl mírně mentálně retardován. Tyto údaje vedly k podrobnějšímu vyšetření aminokyselin obsahujících síru. Nálezy potvrdily diagnózu homocystinurie: celkový homocyst(e)in v séru – 965 $\mu\text{mol/l}$ (N: < 30), cystein neměřitelný, folát a B₁₂ normální.

(1) Který enzym je u tohoto onemocnění deficientní a k jakým změnám v metabolismu aminokyselin to vede?

Odpověď: U dědičné homocystinurie chybí cystathioninsynthasa ev. cystathionasa.. Defekt vede ke zvýšení methioninu a homocysteinu, Cystein je naopak nízký. Metabolizace na cystein je přerušena, nahromaděný homocystein je ve zvýšené míře přeměňován za přítomnosti tetrahydrofolátu a vitamínu B₁₂ na methionin.

(2) Může být způsobena zvýšená hladina homocyst(e)inu a homocystinurie též dietou?

Odpověď: Ano, při nedostatku methyltetrahydrofolátu, který vzniká z dihydrofolátu a vitamínu B₁₂. Dieta chudá na listovou kyselinu a nedostek vitamínu B₁₂ to může způsobit

(3) Zvýšená hladina homocysteinu rizikovým faktorem. Pro které stavy?

Odpověď: Předčasný výskyt aterosklerózy (to může vysvětlovat cerebrovaskulární příhodu u chlapce: tvorba trombu, vznik embolie, poškození cévní stěny). Také zvýšená koncentrace methioninu v mozku vyčytává adenosin (vzniká S-adenosylhomocystein). Adenosin potlačuje mozkovou aktivitu a jeho deficience v mozku snižuje práh pro vznik křečí.

Pacient s renální kolikou

Chlapec, 16 roků, byl hospitalizován pro prudkou bolest v levém boku vystřelující do pubické oblasti. Měl červenohnědou moč a v močovém sedimentu výrazná erytrocyturie a po okyselení moče kyselinou octovou byly v sedimentu nalezeny ploché transparentní hexagonální krystalky. Zobrazovacími technikami nalezeny konkrementy v obou ledvinách.

Otázky:

(1) Jaký močový konkrement zde přichází v úvahu?

Odpověď: Hexagonální transparentní krystalky vypadávající v kyselém prostředí z moče jsou typické pro cystin.

(2) Jaká porucha (deficience) je podstatou dědičné cystinurie?

Odpověď: U cystinurie je deficientní transportní protein, který přenáší dibazické aminokyseliny (cystin, lysin, arginin a ornithin) přes buněčnou membránu buněk proximálního renálního tubulu a buněk sliznice tenkého střeva.. Nemožnost zpětné resorpce

těchto diaminokyselin z primární moče vede k výrazné cystin-lysin-arginin-ornithinurii. Cystin, který je v moči pod pH 6,5 velmi nerozpustný, vypadává a tvoří konkrementy.

(3) Jak lze zabránit nebo alespoň snížit tvorbu cystinových kaménků?

Odpověď: Alkalinizací moče zvýšenou diurézou a dále snížením bílkovin dietě .

(4) Jaký je rozdíl mezi cystinurií a cystinózou ?

Odpověď: U těchto dvou syndromů jsou deficientní dva rozdílné transportní systémy pro cystin. U cystinurie jde o transportní protein specifický pro diaminokyseliny, a to v proximálním tubulu a sliznici střevní; u cystinózy je to transportní protein umožňující přenos cystinu přes lysosomální membránu lysosomových váčků do cytosolu. Cystin se tak v lysosomech hromadí, poškozuje buňky, tvoří krystaly v některých tkáních a porušuje jejich funkci. Postižené děti umírají na renální selhání obvykle v 6–12 letech. U cystinózy není diaminoacidurie,

PATOBOCHEMIE METABOLISMU LIPIDŮ

1. Význam lipidů v organismu

Lipidy mají v organismu tři hlavní úkoly:

/a/ Slouží jako zdroj energie alternativní ke glukose

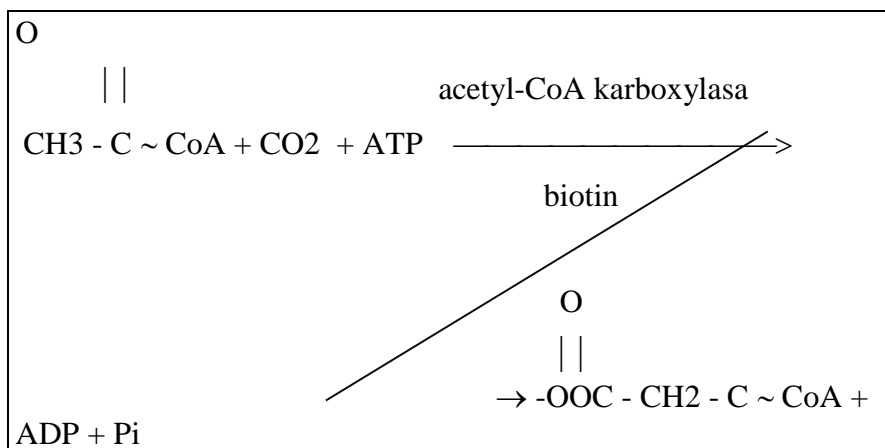
/b/ Tvoří součást buněčných membrán

/c/ Jsou velmi dobrým izolátorem (podkožní tuk; obaly nervových vláken)

Pro tyto úkoly jsou vybaveny velkým množstvím nepolárních skupin, které je činí relativně málo rozpustnými ve vodě. Má to výhodu v tom, že jsou málo hydratovány a vysoce hydrogenovány (redukovány), takže jsou výhodnou formou zejména zásobní energie (na gram tuku připadá dvojnásobek chemické energie ve srovnání s cukry nebo proteiny). Hydrofobní charakter je důležitý pro funkci membrán. Na druhé straně malá rozpustnost lipidů ve vodě dělá problémy při jejich přenosu z jednotlivých míst organismu. Většina tkání je schopna využívat lipidy jako zdroj energie; děje se tak v době, kdy je omezeno využívání glukosy. Při příjmu potravy nadbytečné množství glukosy a aminokyselin je metabolizováno na mastné kyseliny, které jsou základní energetickou složkou lipidů. Za lačnění jsou opět mastné kyseliny uvolňovány z tukových zásob (triacylglycerolů) a slouží jako energetický zdroj.

2. Syntéza mastných kyselin

Syntéza mastných kyselin se odehrává v cytoplasmě jaterních buněk v menším rozsahu též tukové tkáni. Vychází se přitom z acetyl-CoA vznikajícím při odbourávání glukosy a mastných kyselin. Primárním produktem syntézy mastných kyselin je u člověka palmitová kyselina (nasyčená mastná kyselina se 16 ti uhlíky). Je syntetizována postupně po 2 uhlících v serii reakcí katalyzovaných enzymem synthasou mastných kyselin. Ačkoliv je palmitát tvořen nárůstem 2-uhlíkových inkrementů jen C15 a 16 jsou odvozeny přímo z acetyl CoA. Uhlíky C1 až C14 se navěšují do řetězce cestou malonyl CoA, který vzniká karboxylací acetyl-CoA za katalytického působení acetyl CoA-karboxylasy enzymu vyžadujícího biotin. Reakce spotřebovává energii z ATP.



Další enzym, na kterém se napojují acetyl-CoA na malonyl-CoA je syntéza mastných kyselin. Jde o enzymový komplex tvořený 2 identickými polypeptidovými řetězci.

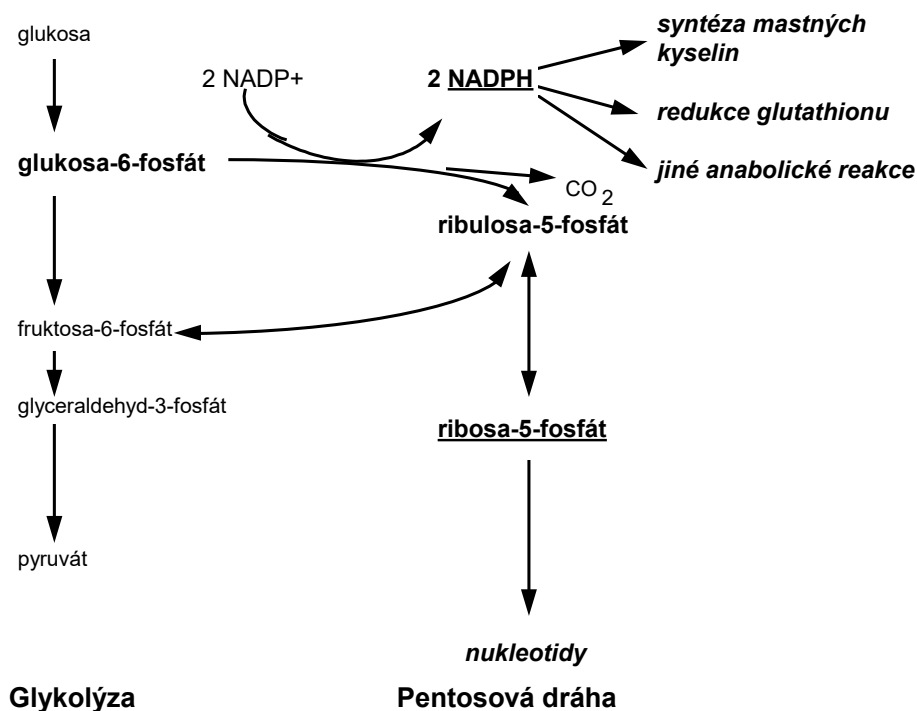
Prvním krokem syntézy palmitátu je kovalentní navázání substrátů na 2 sulfhydrylové skupiny, jedna je součástí cysteinového zbytku a druhá fosfopantotheinu. Na první sulfhydrylovou skupinu se naváže acetyl-, na druhou malonyl-; přitom se uvolňují molekuly CoA. V dalším kroku dochází ke kondenzaci acetylu na radikál malonylový za současné dekarboxylace; pak následuje redukce keto-skupiny acetoacetylu (donorem H je NADPH) s následnou dehydratací; vytvoří se tak methylenová skupina. Vzniklý počáteční řetězec se přenesse na sulfhydrylovou skupinu cysteinu a volná prostetická skupina fosfopantotheinu je schopna přijmout další molekulu malonyl-CoA. Tento cyklus se opakuje 6 krát. Když je navázán řetězec o 16 uhlíků, z enzymu se uvolní volná mastná kyselina. Část palmitátu je přeměněna na další mastné kyseliny prodloužením řetězce a desaturací. Toto se děje v endoplasmatickém retikulu.

U člověka však není možná desaturace na více nenasycené mastné kyseliny jakým je linolová (C18: 2;9,12) a linolenová kyselina (C18:3;9,12,15). Tyto musí člověk získat z potravy jako esenciální mastné kyseliny.

Syntéza mastných kyselin závisí na cytoplasmatické dodávce acetyl-CoA. Tato dodávka pochází z částečného odbourávání nadbytečných cukrů a aminokyselin v potravě. Glukosa je katabolizována na acetyl-CoA, který se spojuje s oxalacetátem za vzniku citrátu. Aminokyseliny se také odbourávají na sloučeniny, které jsou součástí cyklu kyseliny citronové. Uhlíkové sloučeniny potřebné pro syntézu mastných kyselin pocházejí z citrátu, který je přenesen z mitochondrií do cytoplasmy a štěpen na acetyl-CoA a oxalacetátu působením citrátlyasy.

Redukční reakce při syntéze mastných kyselin potřebují nikoliv NADH, ale NADPH. Ten je získáván ze 2 zdrojů: /1/ z tzv. "jablečného enzymu": NADP-dependentní malátdehydrogenasa, což je cytoplasmatický enzym, který katalyzuje přeměnu malátu na pyruvát.

PENTOSA-FOSFÁTOVÁ DRÁHA



Význam pentosové dráhy:

Produkce: 1. **NADPH**

(pro syntézu mastných kyselin)

2. **RIBOSA-5-FOSFÁT**

(pro syntézu nukleotidů a nukleových kyselin)

/2/ z pentosafosfátové metabolické dráhy (= hexosamonofosfátový zkrat), který kromě NADPH poskytuje též ribosa-5-fosfát. Tato metabolická dráha má dvě části, nezávisle řízené: oxidativní, při které se oxiduje účinkem glukosa-6-fosfát-dehydrogenasy glukosa-6-fosfát na 6-fosfoglukonát a dále dehydrogenuje a dekarboxyluje na ribulosa-6-fosfát; při těchto reakcích vznikají 2 molekuly NADPH.

Poznámka: V erythrocytech je pentosafosfátová dráha jediným zdrojem NADPH, který je v erythrocytech potřeba k odstraňování reaktivních kyslíkových sloučenin (superoxidový radikál) redukováním glutathionem. K jeho regeneraci je potřeba glutathionreduktasy a NADPH. Energie pro tyto reakce se získává z anaerobní glykolýzy. Neodstraněný H₂O₂ (glutathionperoxidasou) poškozuje erythrocytovou membránu a dochází k hemolytické anemii. Příčinou může být dědičný defekt glukosa-6-fosfát dehydrogenasy v erythrocytech, oxidační stres navozený infekcí, některými léky (antimalarika, sulfonamidy) nebo purinovými glykosidy z velkých bobů. Porušený ochranný antioxidační systém vede k agregaci methemoglobinu, k jeho usazování u membrány (Heinzova tělíska) a tím k menší mechanické odolnosti při průchodu nejužšími kapilárami (→ hemolýza).

Metabolické cesty vyžadující NADPH

Detoxikace

- * redukce oxidovaného glutathionu
- * cytochrom P450–monooxygenasa

Redukční syntéza

- * syntéza a elongace mastných kyselin
- * syntéza cholesterolu
- * syntéza neurotransmiterů
- * syntéza nukleotidů

*Neoxidační fáze pentosafosfátové dráhy se děje za účasti tzv. transketolasy, která potřebuje jako koenzym thiaminpyrofosfát. Při této reakci vzniká z erythrosa-4-fosfátu a xylulosa-5-fosfátu fruktosa-6-fosfát a glycerinaldehyd-3-fosfát. Genetická varianta transketolasy způsobuje onemocnění nazývané *Wernicke-Korsakoffův syndrom* často se objevující u alkoholiků (paralýza pohybu očních bulbů, abnormální "chůzi" a "postoj", porucha duševních funkcí). Tato varianta transketolasy má menší afinitu k svému koenzymu a proto se projevuje při nedostatečné dodávce thiaminu v dietě (což je časté u alkoholiků).*

Syntetizované mastné kyseliny jsou inkorporovány v triacylglycerolech, jakožto vhodné formě pro transport do různých tkání a dále jako forma energetické zásoby (tukové depot).

3. Katabolismus mastných kyselin

V době lačnění mastné kyseliny skladované v tukové tkáni a ve svalech, jsou postupně z triacylglycerolů odbourávány. Uvolnění první kyseliny je katalyzováno triacylglycerol-lipasou; zbývající 2 mastné kyseliny jsou uvolňovány jinými lipasami. Po transportu mastných kyselin do tkání (v krevní cirkulaci jsou přenášeny ve vazbě na albumin) jsou nejprve aktivovány esterifikací s CoA a v této formě pak přeneseny do mitochondrií prostřednictvím karnitinu (jako acylkarnitin) za účinku karnitinacyltransferasy. V mitochondriích jsou pak odbourávány pochodem, kterému se říká β -oxidace až na acetyl-CoA.

Přesmyk ze syntézy na odbourávání triacylglycerolů v tukové tkáni je řízen na úrovni triacylglycerolové lipasy, s vysokým K_m , která má charakter hormon-senzitivní lipasy, to znamená, že je aktivována fosforylací a inaktivována defosforylací účinkem hormonového signálu na rozdíl od svalové lipasy, která má nízké K_m a není regulována hormonálně. Během lačnění je triacylglycerolová lipasa aktivována cAMP-dependentní proteinkinasou. Signálem je uvolnění noradrenalinu ze sympatiku; adrenalin secernovaný z dřeně nadledvinek účinkem stresu rovněž aktivuje TG-lipasu a tím mobilizaci mastných kyselin. Naopak defosforylace tedy inaktivace je podporována vzestupem glukosemie a sekrecí insulinu.

Rovnováha mezi syntézou a odbouráváním mastných kyselin je řízena prostřednictvím enzymu, který limituje syntézu mastných kyselin, tj. acetyl-CoA karboxylasy. V průběhu lačnění, když se zvýší hladina glukagonu, acetyl-CoA karboxylasa je fosforylována a tím inhibována cAMP-dependentní proteinkinasou. Naopak při zvýšení hladiny glukosy uvolněný insulin je signálem pro defosforylací, která znamená aktivaci tohoto enzymu. Acetyl-CoA-karboxylasa je také allostericky aktivována citrátem a inhibována palmityl-CoA. Degradace mastných kyselin cestou β -oxidace je limitována jejich přenosem do mitochondrií ve formě acylkarnitinu. Enzym, který tento přenos katalyzuje - karnitin acyltransferasa I je inhibována produktem acetyl CoA karboxylasy, tj. malonyl CoA. Tedy aktivace syntetické dráhy mastných kyselin současně brání katabolismu mastných kyselin.

Při nedostatku insulinu, který hraje důležitou roli jak v metabolismu glukosy, tak i lipidů a proteinů dochází k mobilizaci mastných kyselin v tukové tkáni a k nadměrné syntéze ketokyselin a tím ke ketoacidóze.

4. Membránové lipidy

Buněčné membrány tvoří hydrofóbní bariéru obklopující vodné prostředí buňky a brání difúzi ve vodě rozpustných sloučenin z jednoho kompartmentu do druhého. Membrány jsou z největší části tvořeny amfipatickými lipidy (tj. s polárními a nepolárními skupinami). Membrány obsahují 3 skupiny lipidů: fosfoglyceridy, sfingolipidy a cholesterol.

Fosfoglyceridy obsahují 2 mastné kyseliny (nepolární část) vázané esterovou vazbou na skelet glycerolu, na který je dále napojena fosforylová skupina s polární sloučeninou (ethanolamin nebo cholin nebo inositol nebo serin).

Sfingolipidy mají také 2 mastné kyseliny; skelet tvoří serin; polární část tvoří buď fosforylcholin (u sfingomyelinu) nebo glycidy (u glykolipidů). Cukernou složku může tvořit až 9 cukerných jednotek (z glukosy, galaktosy, neuraminové kyseliny a N-acetylgalaktosaminu). Vyskytují se hlavně v nervové tkáni. Ty které obsahují neuraminovou kyselinu a

N-acetylgalaktosamin se nazývají gangliosidy. Při jejich syntéze se mohou vyskytnout dědičné defekty potřebných enzymů, což vede ke klinickým syndromům nazvaným sfingolipidózy (Fabryho choroba, Gaucherova choroba, Krabbeho choroba, metachromatická leukodystrofie, Niemann-Pickova choroba nebo Tay-Sachsova choroba). Jsou způsobeny nahromaděním lipidového substrátu, jehož enzym je defektní. Společným klinickým příznakem bývá mentální retardace.

Cholesterol je třetí lipidovou složkou membrán. Má však odlišné uspořádání. Tvoří jej plochý kruh a neobsahuje mastné kyseliny. Hydroxylová skupina cholesterolu je jeho polární skupinou. U člověka se cholesterol získává buď z potravy nebo je v organismu syntetizován z acetyl-CoA, a to tak, že nejprve 2 molekuly se kondenzují na acetoacetyl-CoA, s další molekulou vzniká β -hydroxy- β -methylglutaryl-CoA (HMG-CoA). (Ten je také intermediární sloučeninou při tvorbě ketoláték. Rozdíl však je v tom, že syntéza cholesterolu se děje v cytoplasmě, kdežto ketogeneza v mitochondriích, takže obě metabolické dráhy spolu neinterferují). Klíčovým enzymem při biosyntéze cholesterolu je hydroxymethyl-glutaryl-CoA reduktasa, která za přítomnosti 2 NADPH poskytuje mevalonát, ten je přeměněn na aktivovanou isoprenovou sloučeninu (isopentenylpyrofosfát). Šest isoprenových jednotek se kondenzuje na squalen, který se pak cyklizuje na lanosterol. Z něho nakonec vzniká cholesterol.

Potlačením aktivity enzymu HMG-CoA reduktasy medikamentózně kupř. Lovastatinem, lze snížit endogenní syntézu cholesterolu a tak upravit u některých pacientů nebezpečnou hypercholesterolemii.

5. Biologické membrány

Biologické membrány jsou nepolární bariéry, které obklopují všechny živé buňky. Membrány regulují tok molekul a signálů do i z nitra buněk a dále poskytují bariéru, na které se ustavuje iontový gradient. U eukaryontů membrány rozdělují také vnitřní prostor buněk na různé druhy organel (jádro, cytoplazma, endoplasmatické retikulum, Golgiho aparát, lysosomy sekreční vakuoly a mitochondrie). Toto uspořádání dovoluje, aby v buňce různé pochody (metabolické) probíhaly odděleně.

Hlavní složkou membrán jsou výše uvedené lipidy a dále proteiny. Hlavní funkcí lipidů je tvořit nepolární bariéru. Membránové proteiny katalyzují reakce probíhající na membránách a

zprostředkovávají selektivní komunikaci přes membrány. Uspořádání složek membrány se vysvětluje jako fluidní mozaikový model. Základem je dvojvrstva amfipatických lipidů, uspořádané tak, že polární části molekul jsou obráceny na oba povrchy (vnější a vnitřní); nepolární části tvoří jádro membrány. Buňky se liší v lipidovém složení membrán, stejně jako se liší obě strany membrány. Kupř. plasmatická membrána červených krvinek obsahuje převážně fosfatidylserin a fosfatidylethanolamin na cytoplasmatické straně, kdežto sfingomyelin a fosfatidylcholin na straně druhé. Glykolipidy jsou vždy na necytoplasmatické straně. Uspořádání lipidů do dvojvrstvy je zvýhodněno hydrofobním vzájemným účinkem nepolární části lipidů. Lipidy volně difundují laterálně ve vnitřní části membrány, ale protože nepolární fáze membrány představuje bariéru pro polární skupiny, mohou lipidy jen pomalu se přemisťovat z jedné strany membrány na druhou. Většina fosfolipidů membrány obsahuje nasycené mastné kyseliny nebo jen s jednou vazbou. Protože nenasycené mastné kyseliny jsou "bent", přerušují pravidelné uspořádání lipidů v dvojvrstvě a zvyšují tím její fluiditu.

Proteiny, které jsou vnořeny do lipidové dvojvrstvy se nazývají integrální membránové proteiny. Ty, které pronikají celou tloušťkou membrány jsou označovány jako transmembránové proteiny. Periferní membránové proteiny nasedají na povrch a jsou spojeny s jinou molekulou membránového proteinu.

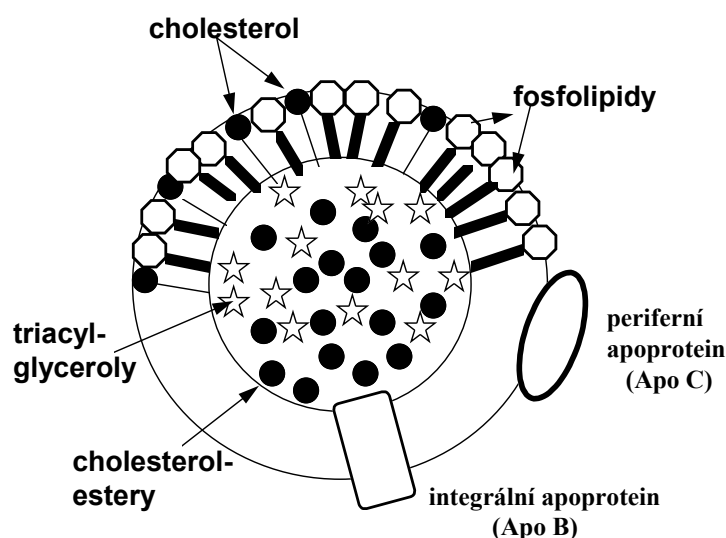
6. Transport lipidů v organismu

Lipidy jsou ve vodě normálně nerozpustné, proto musí být při transportu v krevní nebo lymfatické cirkulaci solubilizovány. Děje se tak vazbou na proteiny:

Mastné kyseliny, které jsou přenášeny po lipolýze v tukové tkáni do svalů nebo do jater nebo po vstřebání ve střevě do tukové tkáně a svalů jsou přenášeny pomocí albuminu.

Cholesterol, fosfolipidy, estery cholesterolu a triacylglyceroly jsou přenášeny v komplexu se specifickými proteiny (apoproteiny=apolipoproteiny)) v lipoproteinových částicích (=lipoproteiny)

Schéma lipoproteinové částice



Jejich základní uspořádání je podobné, liší se velikostí a složením. Transportované lipidy (triacylglyceroly a estery cholesterolu) jsou uloženy v nepolárním jádře. Rozpustnost ve vodním prostředí je umožněna povrchovou jednovrstvou amfipatických lipidů (fosfolipidy a cholesterol) orientovaných svou polární částí vně. Na této vrstvě nebo dovnitř jsou umístěny specifické proteiny zvané apolipoproteiny. Jejich úkolem je /1/ zprostředkování sekrece částic

z buněk kde vznikají, /2/ vypouštění přenášených lipidů z jádra částice do cílových tkání, /3/ regulace katabolismu zbytků částic po té co byl vyčerpán jejich obsah (ligandy pro specifické receptory).

. **Lipoproteinové částice** se dělí na tyto třídy:

HDL..... Lipoproteiny o vysoké hustotě

LDL Lipoproteiny o nízké hustotě

VLDL Lipoproteiny o velmi nízké hustotě

Chylomikrony

Lipoproteinová částice (densita: g/ml)	ELFO	Zdroj	FUNKCE
HDL 1,064-1,21	α	<i>játra, střevo</i> <i>VLDL, chylo</i>	reverzní transport cholesterolu
LDL 1,02-1,063	pre- β	<i>z IDL</i>	transport cholesterolu
IDL 1,007-1,019		<i>z VLDL</i>	prekursor LDL
VLDL 0,96-1,006	β	<i>játra</i>	transport endogenních triglyceridů
chylomikra < 0,95		<i>start střevo</i>	transport exogenních triglyceridů

Hlavní funkcí apolipoproteinů je jednak regulace metabolismu plazmatických lipidů a stabilizace lipidové emulze, jednak schopnost se specificky vázat na určité membránové receptory; tak apoB (Apo B48) je nutný pro absorpci lipidů ze střeva, a to nejen triacylglycerolů a sterolů, ale též pro vitamíny rozpustné v lipidech. (Některé klinické příznaky dědičného deficitu apo-B = abetalipoproteinemie jsou právě způsobeny karencí těchto vitamínů; jde o retinitis pigmentosa, svalovou slabost, neuropatii). ApoB má dva podtypy: apoB100, který se tvoří hlavně v játrech a je důležitý pro sekreci a transport VLDL, a apoB48 (obsahuje pouze 48% polypeptidového řetězce jaterního ApoB; proto název ApoB48), který se tvoří výlučně v buňkách sliznice tenkého střeva, a je proto součástí chylomikronů; je nutný pro jejich sekreci z enterocytů a vstup do lymfatického oběhu. Další důležitou vlastností apoB100 je jeho schopnost vázat se na specifické membránové receptory (tzv. apoB-receptory = LDL receptory, dle Browna a Goldsteina) některých buněk (fibroblasty, endotelové buňky, jaterní buňky, buňky hladké svaloviny, lymfocyty, buňky endokrinních žláz tvořících steroidy). Existuje dědičný defekt apoB-receptorů, který vede k poruše regulace metabolismu cholesterolu a k familiární hypercholesterolemii. ApoB je tedy potřebný nejen pro biosyntézu, ale též pro katabolismus VLDL a LDL.

Apolipoproteiny skupiny C jsou kofaktory a regulátory hydrolýzy lipoproteinů bohatých na triacylglyceroly. Nedostatek apo C-II vede k výrazné hypertriacylglycerolemii (nad 30 mmol/l); apo C-III moduluje kofaktorový účinek apo C-II a dále zabraňuje vychytávání lipoproteinů bohatých na triacylglyceroly játry.” ”

Apolipoproteiny skupiny A jsou velmi důležité pro metabolismus cholesterolu a cholesterolových esterů. ApoA-I aktivuje lecithin: cholesterolacyltransferasu (LCAT). LCAT je odpovědná za syntézu 80% esterů cholesterolu v krevní plazmě; substrátem je především třída HDL3. Ale katalytickým působením LCAT se mění jak chemická struktura, tak metabolický osud všech lipoproteinů. Dochází totiž k přenosu esterů cholesterolu i k přenosu triacylglycerolů z jednotlivých lipoproteinových částic - z HDL na VLDL. Tento přenos je umožněn prostřednictvím specifických přenosových bílkovin, tzv. E. T. -proteinů. Také přenos cholesterolu a fosfolipidů mezi jednotlivými lipoproteinovými třídami, který je jinak volný, je urychlován E. T -proteiny.

ApoE je ligandem řady buněčných receptorů: jaterních LDL-receptorů, jaterních a mozkových chylomikronových receptorů, jaterních receptorů stimulujících lipolýzu, VLDL-receptorů v tkáních se zvýšeným metabolismem mastných kyselin (myocyty, adipocyty). Apo E se vyskytuje v chylomikronech, VLDL, LDL a HDL. Podílí se na transportu cholesterolu krevní cirkulací, je aktivátorem jaterní lipoproteinové lipasy a LCAT. Je odpovědný za katabolismus zbytků ("remnants") chylomikronů, ev. zbytků VLDL v játrech. . Hraje úlohu při stabilizaci struktur v centrálním nervovém systému a podílí se na procesech oprav poškozených neuronů

Tab.: Charakteristika apolipoproteinů

<i>Apo</i>	<i>Umístění</i>	<i>Molekulová hmotnost</i>	<i>Funkce</i>
A I	HDL, Chylo	28 000	aktivátor LCAT
A II	HDL, Chylo	17 000	inhibitor LCAT
B100	LDL VLDL, IDL	550 000	liganda pro LDL receptor (syntetizován v játrech)
B48	Chylo chylo-zbytky	260 000	nutný pro sekreci chylomiker (syntetizován ve střevě)
C I	VLDL, HDL	7 600	aktivátor LCAT (?)
C II	VLDL chylo-zbytky	8 800	aktivátor lipoproteinové lipasy
C III	VLDL, Chylo HDL	8 750	má polymorfní formy
D	HDL (subfrakce)	20 000	transferový protein
E	VLDL	34 000	zvýšený v β -VLDL (typ III)
	HDL, chylo	34 000	Liganda pro chylo- remnants receptor a LDL- receptor

7. Metabolismus lipidů a lipoproteinů

Chylomikrony (částice velmi bohaté na triacylglyceroly) se tvoří v buňkách sliznice tenkého střeva vstřebáním tuku v potravě. Podmínkou sekrece chylomikrů z cisteren Golgiho aparátu enterocytů je přítomnost apolipoproteinu B48 (=ApoB48). Tento apolipoprotein obsahuje pouze 48% peptidové molekuly jaterního apolipoproteinu, který je proto označován jako ApoB100 (tedy 100% peptidového řetězce). Chylomikrony nejsou normálně přítomny v krevní plazmě po 12-14 hodinách lačnění. Jsou ihned hydrolyzovány při vstupu do krevního kapilárního řečiště působením endotelové lipoproteinové lipasy (LPL) za vzniku chylomikronových zbytků (chylomicron remnants). Během lipolytického působení těchto enzymů se uvolňují mastné kyseliny; některé složky chylomikronů (apoA-I, apoA-II, apoC a fosfolipidy) jsou přenášeny na částice HDL a jiné složky (apoE a cholesterollestery) jsou přenášeny z HDL na chylomikrony. Chylomikronové zbytky, obsahující apoB48 a apoE jsou vychytávány svými receptory v játrech. Vznik těchto receptorů v buňkách jaterní tkáně je regulován množstvím cholesterolu a tuků v dietě. Jejich aktivita klesá s věkem. ApoE usnadňuje vychytávání chylomikronových zbytků, zatímco apo C-III tento proces brzdí. Fyziologický význam chylomikronů spočívá v dodávce mastných kyselin z potravy adipocytům a svalovým buňkám.

VLDL

Syntéza VLDL se děje v játrech a je intenzivnější u obézních jedinců. Je regulována částečně dietou a hormony a je bržděna vychytáváním chylomikronových zbytků v játrech. Působením lipoproteinové lipasy (=LPL) umístěné na membráně endotelových kapilár se za účasti apoC-II jako kofaktoru hydrolyzují triacylglyceroly nesené částicemi VLDL, aby byly k dispozici v příslušných buňkách jako zdroj energie nebo pro uložení ve formě zásobních triacylglycerolů. Při tomto procesu některé složky z VLDL (apoE, apoC) jsou přenášeny na HDL, zatímco apoB100 zůstává na VLDL-zbytcích (VLDL-remnants nebo-li intermediární lipoproteinové částice = IDL). Konečným produktem katabolismu VLDL jsou LDL. Za patologických stavů (u některých pacientů s těžkou hypertriacylglycerolemií) jsou VLDL odstraňovány z krevní plazmy bez přeměny na částice LDL. Játra produkují různé druhy VLDL-částic: Při dietě chudé na tuky jsou to částice o Sf 60-400, které jsou větší a neaterogenní; při stravě bohaté na tuky vznikají převážně malé denzní VLDL o Sf 12-60, které jsou naopak velmi aterogenní, tvoří se z nich malé denzní LDL-B. Receptorem pro lipoproteinové "zbytky" (VLDL remnants a chylomicron remnants) je tzv. protein příbuzný LDL-receptoru (=LDL receptor related protein). Specifický ligandem je Apo E

Lipoproteinová lipasa (=LPL), která katalyzuje odštěpování mastných kyselin z triacylglycerolů v chylomikronech a VLDL je v povrchové části endotelových kapilár především v tukové tkáni a svalstvu, kde je nutná jednak pro tvorbu zásobních triacylglycerolů a pro utilizaci mastných kyselin jako zdroje energie. Aktivátorem je Apo CII. Insulin neovlivňuje přímo aktivitu LPL ale je třeba pro její udržení. Naproti tomu tzv. hormon-senzitivní lipasa (=HSL), která hydrolyzuje intracelulární triacylglyceroly (uvolněné mastné kyseliny se dostávají do krevní cirkulace a ve vazbě na albumin do jater), je ovlivňována insulinem přímo, a to ve smyslu inhibice. Glukagon naopak její aktivitu stimuluje. Tedy po jídle insulin podporuje ukládání mastných kyselin v adipocytech a naopak za hladovění dochází k jejich uvolňování do cirkulace a vychytávání v játrech a ve svalech.

LDL

LDL jsou hlavní částice, které přenášejí cholesterol v krevní plazmě. Největší část pochází z transformace VLDL, ale některé jsou syntetizovány přímo (zvláště u pacientů s familiární hypercholesterolemií). Hlavní bílkovinnou komponentou LDL je apoB100. LDL mohou být

katabolizovány různými typy buněk, a to jak LDL-receptordependentním mechanismem, tak LDL-receptorindependentním mechanismem ("scavenger" mechanismus).

Po vazbě na membránový receptor (jeho trvání je 5-7 minut) je částice LDL buňkou internalizována a rozložena. Vzniklý volný cholesterol inhibuje aktivitu 3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA-reduktasy, která je klíčovým enzymem pro syntézu (de novo) cholesterolu v buňce. Tímto způsobem je řízena syntéza cholesterolu podle potřeb buněk. LDL nezachycené receptory periferních buněk (asi jedna třetina) jsou katabolizovány "zametacími" (=scavenger) buňkami. Tento způsob však není řízen potřebou buněk. Část LDL se též metabolizuje v játrech. Uvolněný cholesterol je buď katabolizován na žlučové kyseliny a vyloučen do žluče, nebo je znovu použit k syntéze lipoproteinů.

Oxidované LDL částice jsou "patologické" částice, silně aterogenní, které vznikají oxidací konjugovaných dvojných vazeb v mastných kyselinách působením volných kyslíkových radikálů. (Oxidace LDL pozitivně koreluje s obsahem polynenasycených mastných kyselin [PUFA] a naopak negativně s obsahem mononenasycených kyselin v lipoproteinových částicích, a dále s obsahem ubichinolu (=koenzym Q10) a neesterifikovaným cholesterolem. Ubichinol inhibuje časné stadium oxidace LDL a je významný jako první antioxidant, které vylučuje volné radikály. Dalšími látkami bránícími oxidaci LDL jsou flavan-3-oly, β -karoten (poslední ochrana). Neesterifikovaný cholesterol snižuje fluiditu povrchu částic a brzdí tak difúzi volných radikálů do nitra částice. Naopak urychlení oxidace působí Cu, Fe, Ni, Cd, dále nedostek Mg, ale i světlo.

Malé denzní LDL-B jsou snázeji oxidovatelné než větší LDL-A, které mají vyšší obsah antioxidantů. Oxidace LDL částic se pravděpodobně neděje v krevní plasmě, která obsahuje hodně antioxidantů i látky vážající kovové ionty potřebné k Fentonově reakci, ale ve stěně arterií, kde může dojít snadněji k oxidačnímu stresu. Oxidované LDL jsou vysoce aterogenní, protože nejsou vylučovány LDL-receptory, ale receptory "zametacích buněk" a napomáhají tak ke vzniku pěnových buněk ateromových plátů. Časté stavy trvající hyperglykemie vedoucí ke zvýšené tvorbě glykovaných proteinů (tedy i lipoproteinů) stimuluje oxidaci LDL. Vytvářejí se i pokročilé konečné produkty glykace (=AGE = Advanced Glycosylation End products), které tvoří křížové vazby (cross links) s LDL částicemi, které jsou pak snázeji oxidovatelné.

HDL

Částice HDL jsou syntetizovány v hepatocytech a enterocytech. Od svého vzniku procházejí několika stupni vývoje; Do krve se dostávají ve formě prekursoru zvaného nascentní HDL. Tyto mají diskoidní tvar a sestávají pouze s dvojrvtvy fosfolipidů a Apo A I, Apo A II, Apo C a Apo E. Nascentní HDL jsou akceptory neesterifikovaného cholesterolu, který pochází z buněčných membrán různých tkání nebo z povrchových struktur jiných krevních lipoproteinů. Na povrchu HDL částice je cholesterol esterifikován za katalýzy enzymu lecithin: cholesterol-acyltransferasy (LCAT). Aktivátorem je Apo A I, Apo C I a snad i Apo A-IV. Akumulací esterů cholesterolu se diskoidní částice přeměňuje na sférickou - HDL3. Další akumulací esterů cholesterolu se HDL3 mění na HDL2. V séru zdravých osob je poměr HDL3/ HDL2 2: 1 až 3: 1. Částice HDL procházejí při interakci s lipoproteiny bohatými na triacylglyceroly cyklickou přeměnou: HDL3 je akumulací cholesterolesterů transformována na HDL2a; ta se výměnou cholesterolesterů za triacylglyceroly mění na HDL2b. Této výměny se účastní především částice VLDL a chylomikrony, které postupně přecházejí na částice remnantní (IDL a nebo chylomikronové zbytky). Výměna je zprostředkována specifickým proteinem: CETP (=Cholesterol-Ester-Transfer-Protein). Částice HDL2b obohacené o triacylglyceroly jsou opět transformovány na HDL3 lipolýzou triacylglycerolů a fosfolipidů účinkem jaterní triacylglycerolové lipasy (=HTGL). Jako aktivátor přitom působí

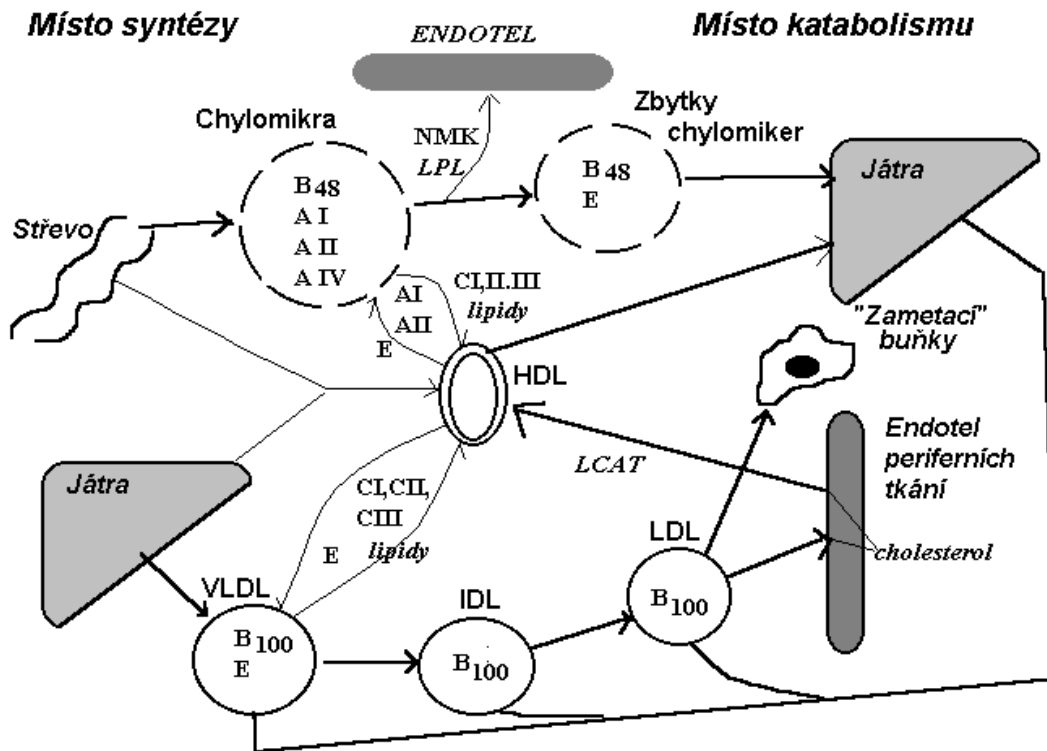
Apo A II. Cholesterollestery ve VLDL a chylomikronových zbytcích se dostávají do jater dvojitou cestou (1) vychytáváním remnantních částic receptorem pro Apo B/E na hepatocytech a (2) nepřímo cestou IDL, které podléhají v játrech další hydrolyze účinkem jaterní triacylglycerolové lipasy a mění se na LDL. Tyto jsou ze 2/3 vychytávány v játrech cestou LDL-receptorů; pouze 1/3 končí v periferních buňkách, kde jsou zachytávány LDL-receptory. Kromě toho se předpokládá, že celé částice HDL mohou být vychytávány hepatocyty a degradovány, takže i touto cestou končí cholesterol z periferních tkání v játrech. Částice HDL tak hrají klíčovou úlohu v tzv. reverzním transportu cholesterolu, který umožňuje odstraňování přebytečného cholesterolu z periferních tkání a z lipoproteinů jiných tříd zpět do jater, které jsou jediným orgánem, který dovede cholesterol odbourávat (na žlučové kyseliny) a vylučovat cestou žluče z organismu. Zabrání se tak akumulaci cholesterolu v makrofázích ve stěně arterií, a zpomaluje se tak vývoj aterosklerózy.

Metabolické vztahy mezi HDL a triacylglyceroly.

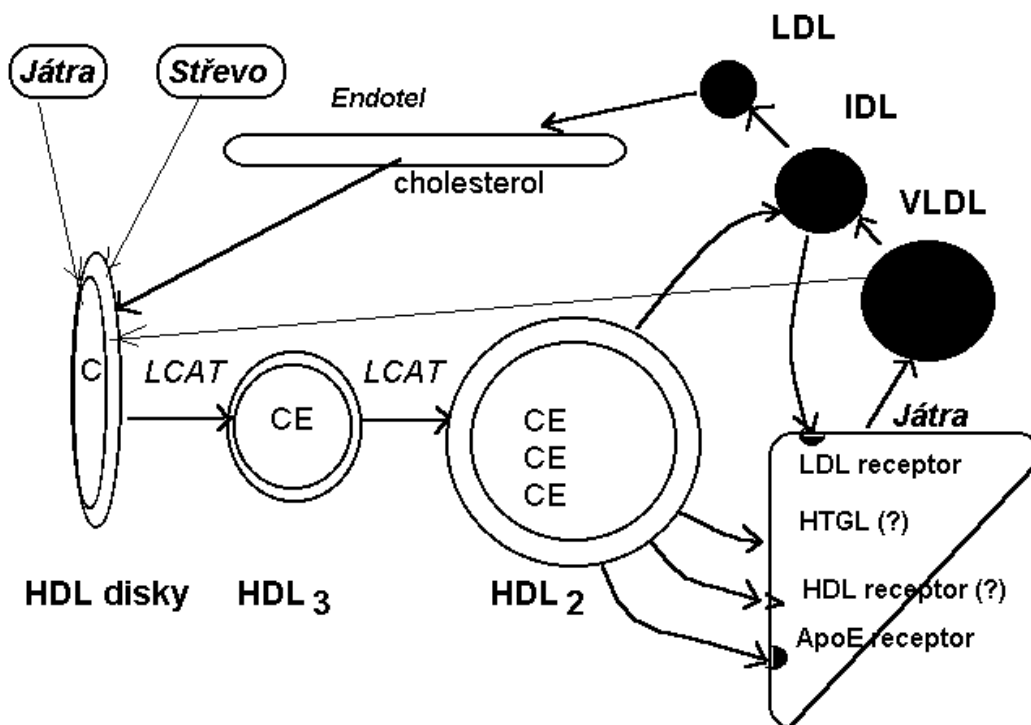
Částice bohaté na triacylglyceroly (VLDL, ev. IDL, chylomikrony, chylomikronové zbytky, LDL-B) a lipoproteiny o vysoké hustotě (HDL) si vzájemně vyměňují své komponenty: Z HDL je transportován apolipoprotein E a C a estery cholesterolu; naopak část triacylglycerolů z VLDL (ev. dalších lipoproteinů bohatých na triacylglyceroly) je přenášena na HDL. Na tuto interakci má vliv LCAT a CETP; aktivita CETP je ovlivňována též koncentrací mastných kyselin uvolňovaných při lipolýze VLDL zejména za stavů vedoucích k hypertriacylglycerolemii. Zvýšená aktivita CETP vede ke snížení HDL-cholesterolu. Tato zvýšená aktivita CETP byla prokázána např. u kuřáků nebo obézních pacientek, kde je pokles HDL-C typickým nálezem. Při zanechání kouření nebo při redukci nadváhy se aktivita CETP normalizuje. Nesporně rozhodujícím faktorem v regulaci esterifikace a remodelaci (přeměna HDL2a → HDL2b) HDL částic a tím i v regulaci hladin HDL-C je koncentrace triacylglycerolů v plasmě. Prvotní příčinou poklesu HDL-C u hypertriacylglycerolemie je pravděpodobně nejvíce hladina volných mastných kyselin (=VMK). Typickým příkladem je metabolický syndrom X (Reaven): Insulinorezistence vede nejen k poruše vstupu glukosy do buněk ale též k poruše vstupu VMK do tukové tkáně. Zvýšená plasmatická koncentrace VMK pak k jejich zvýšenému vychytávání v játrech, kde jsou z nich tvořeny nové triacylglyceroly, které jsou pak inkorporovány do VLDL a vylučovány do cirkulace. V důsledku insulinorezistence (a tedy hyperinzulinemie) je inhibována aktivita LPL, což je další příčinou přetrvávající hypertriacylglycerolemie. Nejde však pouze o kvantitativní změnu v množství syntetizovaných VLDL, ale i o změnu kvality VLDL; místo "normálních" VLDL o Sf 60 - 400, se tvoří atypické VLDL velmi bohaté na triacylglyceroly, které jsou navíc rezistentní k účinku LPL. Atypické VLDL jsou konvertovány na velmi aterogenní denzní částice ("small dense LDL") za současného poklesu HDL-C. Vysoká koncentrace atypických VLDL velmi bohatých na triacylglyceroly vede ke zvýšené výměně triacylglycerolů za estery cholesterolu s HDL-částicemi účinkem CETP; to způsobuje postupnou depleci cholesterolu v částicích HDL.

Určitá část lipoproteinových částic (zvláště když jsou v plazmě zvýšeny nebo je-li jejich složení abnormální, kupř. následkem lipoperoxidace), jsou vychytávány tzv. "zametacími" buňkami ("scavenger cells" tj. makrofágy a histiocyty RES) prostřednictvím zvláštních receptorů za vzniku pěnových buněk. Tento proces není regulován podle obsahu cholesterolu v buňkách a může být spojen se vznikem xantomu, s lymfadenopatií nebo s hepatosplenomegalií.

Obr. Schéma metabolismu lipoproteinových částic



Obr. Reverzní transport cholesterolu



8. Patologie metabolismu lipidů (lipoproteinů)

Poruchy metabolismu lipidů se mohou týkat buď transportu lipidů (hyperlipoproteinemie, hypolipoproteinemie, dyslipoproteinemie), nebo ukládání lipidů v buňkách (sfingolipidózy). Kromě primárních hyperlipoproteinemií, vznikajících na genetickém podkladě jako dědičné poruchy metabolismu, jsou hyperlipoproteinemie sekundární, vyvolané jinými chorobami

nebo s nimi spojené, jako je diabetes, hepatopatie, renální selhání, alkoholismus, endokrinopatie. S některými hyperlipoproteinemiemi bývá spojena ateroskleróza a obezita.

8.1. Poruchy transportu lipidů

Klasifikace hyperlipoproteinemií se opírala v minulosti především o Fredricksonovo elektroforetické schéma, které umožňovalo rozdělit hyperlipoproteinemie do šesti skupin označených římskými číslicemi I až V, přičemž typ II má podskupinu IIa a IIb. V současné době se od této klasifikace ustupuje. Lipoproteinový typ dle Fredricksona není totiž nosologickou jednotkou; u téhož jedince se může měnit v závislosti na životosprávě nebo medikaci (kupř. typ V může přejít na typ IV a posléze na typ IIb). Stejně tak se může geneticky přesně definovaná choroba projevovat u různých jedinců jako odlišný lipoproteinový typ (kupř. familiární kombinovaná hyperlipidemie se může projevit jako elektroforetický typ IIb ale i jako typ IV nebo IIa).

Tab. 195: Fredricksonova klasifikace hyperlipoproteinemií

Typ	Výskyt (% z celkového počtu hyperlipoproteinemií)	ELFO (zmnožená frakce)	Cholesterol	Triacylglyceroly	Vzhled séra	Riziko arterosklerózy
I	1%	chylomikra	(↑)	↑↑↑	smetanové	malé
IIa	10-15 %	β(LDL)	↑↑↑	N	čiré	značně vysoké
IIb	22-25 %	pre-β (VLDL) β(LDL)	↑↑	↑	opalescentní	značně vysoké
III	1-5 %	"Široké" β a pre-β(LDL), (VLDL atypické)	↑↑	↑↑	zkalené	značně vysoké
IV	50-60 %	pre-β (VLDL)	(↑)	↑	zkalené	vysoké
V	1-5 %	pre-β (VLDL)+ chylomikra	↑	↑↑↑	smetanové	malé

Tab. 196: Apolipoproteiny u poruch metabolismu lipoproteinů

Syndrom	A-I	A-II	B	C-I	C-II	C-III	D	E	
Exogenní hyperlipidemie (typ I) (chylomikrony)	↓ ↓ ↓	↓↓↓	↓	-	-	N	N	-	deficience lipoproteinové lipasy
Hypercholesterolemie (typ IIa) (LDL)	N	N	↑↑	N	N	N	N	N	zvýšení volného LP-B

Kombinovaná hyperlipidemie (typ IIb) (LDL+VLDL)	N	N	↑↑	N	N	↑↑	N	N	zvýšení komplexu LP-B: C
Remnant-hyperlipidemie (familiární dysbetalipoproteinemie)	N	N	N	↑	↑	↑	N	↑↑	defekt apo E-3 a E-4 zvýšení komplexu LP-B: C: E-1 a 2
Endogenní hyperlipidemie (typ IV) (VLDL)	N	N	↑	N	N	↑↑	N	N	
Smíšená hyperlipidemie (typ V), (VLDL+ chylomikra)	N	N	↑	↑↑↑	↑↑↑	↑↑	N	↑↑	zvýšení komplexu LP-B: C: E
Analfalipoproteinemie (tangierská choroba)	chybí	↓↓↓	N-(↓)	↓	N	↓	↓↓	N-↓	
Abetalipoproteinemie	↓ ↓	↓↓	chybí	↓	↓↓	↓↓ ↓	↓	N	
Hypobetalipoproteinemie	N	N	↓↓ ↓	N	N	↓	-	N	
Deficience lecithin: cholesterolacyltransferasy (lamelární hyperlipoproteinemie)	↓ ↓	↓↓	↓	-	-	-	N	-	

Současná klasifikace primárních hyperlipoproteinemií a hypolipoproteinemií

Vychází se při ní ze základní etiopatogenní příčiny na podkladě genetických změn.

HYPERLIPOPROTEINEMIE

Primární hypercholesterolemie

Byly rozpoznány 2 hlavní dědičně podmíněné příčiny:

(1) *Deficience LDL-receptoru* (= familiární hypercholesterolemie) s autosomálně dominantní dědičností

(2) *Deficience ligandy na LDL-částici* (= familiární defekt apoB100). Dochází k mutaci B-100 kodonu 3500 (Arg3500 → Gln); tím je znemožněna vazba LDL-částice na LDL-receptor a LDL částice se neodbourávají cestou LDL-receptorův periferní tkáni. Dochází k jejich hromadění v cirkulaci → hyperlipoproteinemie LDL. Odstraňování VLDL-zbytků z plasmu není ovlivněno.

Incidence v evropské populaci a v USA kolísá od 1:500 až 1:700.

** Familiární hypercholesterolemie*

Jde o primární hypercholesterolemii, která se dědí autosomálně dominantně. Incidence heterozygotů je 3-4 na 1 000 obyvatel a homozygotů 3-4 na 1 milion.

Příčinou jsou různé mutace postihující gen pro LDL-receptor, který je umístěn na krátkém raménku 19. chromozómu. Postižení jedinci mají deficitní syntézu LDL-receptorů nebo je tvoří normálně a porucha tkví v nemožnosti transportovat tyto receptory na povrch buňky a nebo je porušena vazba receptoru na lipoproteinovou částici; dále může vážnout internalizace komplexu lipoprotein-receptor.

Klinické příznaky: Nejčastějším projevem jsou šlachové xantomy a arcus corneae. Základním rysem onemocnění jsou projevy předčasné aterosklerózy (IACHS)

- U heterozygotů se xantomy a arcus corneae objevují ke konci dospívání a infarkt myokardu počátkem čtyřicítky.

- U homozygotů se objevují příznaky už mnohem dříve, v dětství; neléčené případy umírají většinou na akutní infarkt myokardu do 20ti let.

Biochemický nález: Hlavním znakem je hypercholesterolemie:

- u heterozygotů 7, 15-15 mmol/l.

- u homozygotů 16-23 mmol/l.

Fosfolipidy jsou také zvýšeny, zejména u homozygotů. Hyper-LDL-lipoproteinemie je konstantní; apoprotein B je rovněž značně zvýšen; poměr LDL-cholesterol/fosfolipidy je výrazně zvýšen, zatímco poměr HDL-cholesterol/fosfolipidy je snížen.

Patobiochemie: Jde o deficit LDL-receptorů (=apoB-receptorů) na povrchu fibroblastů, adipocytů, buněk hladké svaloviny (u homozygotů) nebo o jejich snížení (u heterozygotů). LDL se neodbourávají normálním způsobem, hromadí se v cirkulaci a poškozují stěnu cév. Zároveň je narušena regulace syntézy apoproteinu B; zvýšená syntéza v játrech a snížený katabolismus na extrahepatálních buňkách. LDL se neodbourávají pomocí regulovaných LDL-receptorů, ale jiným způsobem ("scavenger" cells - "zametací" neboli "odklízecí" buňky), LDL-cholesterol není internalizován v LDL-receptorových buňkách; tím nedochází k inhibici klíčového enzymu pro syntézu cholesterolu, kterým je reduktasa hydroxymethylglutaryl-CoA (HMG-CoA-reduktasa); proto není potlačována syntéza cholesterolu v buňkách a je aktivována tvorba esterů cholesterolu, které se ukládají v intimě cévní stěny.

Prognóza: Riziko kardiovaskulární příhody je 25 krát vyšší než u normální populace.

Léčení:

- U heterozygotů -dieta s nízkým obsahem cholesterolu a nasycených tuků (efekt není příliš velký: S-cholesterol klesá asi o 5-10%); je proto nutná farmakoterapie (už v dětství) tj. podávání léků snižujících hladinu cholesterolu (colestipol, cholestyramin, ev. niacin a hlavně inhibitory hydroxymethyl-glutaryl-CoA-reduktasy = statiny).

- U homozygotů - těžké případy někdy vyžadují portokavální zkrat, ev. čerění krevního cholesterolu pomocí perfúze plasmy pacienta přes adsorpční kolonu s protilátkami proti LDL.

** Familiární defekt ApoB100*

Jde o genetický defekt v polypeptidu apolipoproteinu B100. Bodovou mutací v poloze 3500 je zaměněn glutamin za arginin (odtud ApoB3500); tato změna molekuly apolipoproteinu B narušuje jeho schopnost vázat se na LDL-receptor. LDL částice se hromadí v plasmě, stoupá jak celkový cholesterol (7-10 mmol/l), tak především LDL-cholesterol a hladina ApoB.

Diagnostika je založena na metodikách molekulové biologie.

Terapie je podobná jako u ostatních primárních hypercholesterolemií; statiny však nejsou tak účinné.

** Polygenní hypercholesterolemie*

Hladina plasmatického cholesterolu je regulována řadou faktorů, genetických i exogenních. Kombinace několika nepříznivých genetických změn spolu s faktory zevního prostředí vede k obvykle mírnému zvýšení S-cholesterolu (do 8 mmol/l) a ke zvýšenému riziku ICHS.

Primární smíšené hyperlipidemie

** Familiární kombinovaná hyperlipoproteinemie*

Je nejčastější geneticky podmíněnou poruchou metabolismu lipoproteinů. Frekvence se odhaduje na 1 : 100 až 1 : 50. Dědičnost označena většinou jako autosomálně recesivní.

Klinické projevy: Často se objevuje u obézních a u diabetiků. Nejsou xantomy nebo arcus corneae; patologické projevy z aterosklerózy (ICHS, ischemie dolních končetin) nastupují až v dospělosti.

Biochemické nálezy: Abnormální lipidový nálezy je obvykle zjištěn až v dospělosti; sérum je čiré nebo opalescentní; jsou zvýšené VLDL (pre- β -lipoproteiny), též LDL (β -lipoproteiny) a apoprotein B, cholesterol se pohybuje mezi 10-15 mmol/l, triacylglyceroly mezi 2, 26-5, 65 mmol/l. Bývá snížený HDL-cholesterol a apoprotein C-II a C-III. Na elektroforéze lipoproteinů se projevuje familiární kombinovaná hyperlipoproteinemie jako typ IIb, IV nebo i IIa či V; někdy bývá patrná další frakce pre- β (pre- β 1 a pre- β 2), způsobená zvýšením lipoproteinu (a) [=Lp(a)].; chylomikrony nejsou prokazovány na lačno.

Patobiochemie: Za příčinu je považována abnormálně vysoká syntéza Apo B v játrech, provázená zvýšenou produkcí VLDL.

Prognóza: Častou komplikací je infarkt myokardu před šedesátým rokem věku; častá je asociace s diabetem a obezitou.

Léčení:

- především úprava životosprávy: redukce tělesné hmotnosti, dieta s nižším obsahem tuku (preference tuku s nenasycenými mastnými kyselinami místo nasycených) - snížení příjmu cholesterolu.

- Medikamentózní terapie jen u pacientů, u nichž prokazatelně úprava životosprávy nepomáhá; nejčastěji se užívají fibráty, ev. pryskyřice, (kupř. Lipanthyl ev. Gevilon v kombinaci s Colestidem); někdy pomáhá nikotinová kyselina.

** Familiární dysbetalipoproteinemie (= hyperlipoproteinemie typ III = zvýšení β -VLDL)*

Jde o vzácnou chorobu přenášenou autosomálně dominantně. Jiný název je familiární dysbetalipoproteinemie nebo hyper-VLDL-emie "zbytků" (remnants). Hlavním defektem je pravděpodobně narušená přeměna VLDL na LDL

Klinické projevy:

Dominují různé formy xantomů:

- tuberózní xantomy (v 80%)
- palmární xantomy (70%) - jsou příznačné,
- šlachové xantomy (30%),
- erupivní xantomy (řídké).

Hyperurikemie a diabetes jsou pozorovány asi u poloviny pacientů. Časné arterosklerotické změny postihují nejprve nohy a koronární artérie (u mužů před čtyřicátým rokem, u žen před padesátým rokem věku).

Biochemický nálezy: Sérum opalescentní; zvýšený jak cholesterol tak triacylglyceroly: S-cholesterol obvykle nad 7, 5 mmol/l, někdy až 25 mmol/l, S-triacylglyceroly 2-10 mmol/l, zřídka 20 mmol/l.

Charakteristický vzhled ELFO-lipoproteinů: "široká" β -frakce (splývající frakce pre- β a β). Na polyakrylamidovém gelu je abnormální frakce mezi VLDL a LDL (tzv. β -VLDL). U postižených jedinců je nalézána isoforma ApoE-2 (často funkčně odlišná). Charakteristické je

zvýšení poměru cholesterol/triacylglyceroly na hodnotu $>0,30$, snížení normálního LDL a naopak zvýšení IDL a chylomikronových zbytků.

Patobiochemie: Jde o poruchu přeměny VLDL na LDL, konkrétně LDL1 (IDL) na LDL2 (IDL se hromadí). Poměr VLDL-cholesterolu a VLDL-triacylglycerolů je $>0,35$ (rozdíl od typu IIb nebo IV)

Prognóza a léčení: Typ III představuje značné aterogenní riziko, pokud se nezačíná včas dietní terapií. Nejsou-li výsledky dietní léčby přiměřené, podávají se léky snižující cholesterol.

Primární hypertriacylglycerolemie

* *Familiární hyperchylomikronemie* (= familiární hyperlipoproteinemie typ I)

Tato vzácná choroba s autosomálně recesivní dědičností je způsobena chyběním enzymu lipoproteinové lipasy (LPL). Do stejné skupiny patří i defekt proteinového kofaktoru LPL (apoprotein C-II) nebo přítomnost inhibitoru LPL.

Klinické příznaky

- abdominální bolest (75% případů) lokalizovaná v epigastriu kolem pupku, někdy vystřelující do zad,
- hepatosplenomegalie (66%),
- eruptivní xantomy (50%) se žlutavými kožními uzlíky,
- retinální lipemie: mléčný vzhled cév na očním pozadí.

Biochemický nále: Mléčný nebo smetanový vzhled séra způsobený přetrvávající chylomikronemií. (i na lačno). Při stání v lednici (4°C) přes noc se vytvoří na povrchu vrstva flotujících chylomikronů. Hodnoty triacylglycerolů často přes 20 mmol/l (někdy až 120 mmol/l); pokles HDL- a LDL-cholesterolu, stejně jako apoproteinů A-I, A-II, B a D. Poměr LDL-cholesterol/fosfolipidy je snížený, stejně jako HDL-cholesterol/fosfolipidy. Test na postheparinovou lipolytickou aktivitu ukazuje nulovou nebo velmi nízkou aktivitu.

Patobiochemie: Chybění lipoproteinové lipasy způsobuje nahromadění chylomikrů, které nemohou být normálně odbourávány a které jsou odstraněny nepřírodným způsobem pomocí makrofágů. U defektu apo C-II je LPL přítomna, ale není aktivní.

Prognóza: Není zvýšené riziko aterosklerózy, ale je značné riziko akutní pankreatitidy (zejména u hypertriacylglycerolemie nad 20 mmol/l).

Léčení:

- Striktní omezení tuku v dietě, u dospělých pod 30 g/d (lépe 15 g/d), a to ve formě rostlinného tuku bohatého na polyenové mastné kyseliny.
- Dodávka vitaminů rozpustných v tucích.
- Podávání tuků s mastnými kyselinami se středně dlouhým řetězcem (C8-C12). Jsou totiž absorbovány do portální cirkulace přímo.

Medikamentózní léčba hypolipidiky selhává; fibráty jsou dokonce kontraindikovány (inhibují ev reziduální aktivitu LPL).

* *Familiární hypertriacylglycerolemie* (= typ IV = zvýšení VLDL)

Jde o familiární hypertriacylglycerolemii v monogenní formě děděnou autosomálně dominantně. Projevuje se až v dospělosti a je častou formou hyperlipoproteinemií: (0,2 - 0,3% populace).

Klinické příznaky: Charakteristická je nepřítomnost šlachových xantomů; objevuje se však slabost, ospalost, špatné trávení, často bývá obezita a abnormální glukosový toleranční test. Riziko ischemické choroby srdeční není velké (asi dvojnásobné), pokud nejsou přítomny i jiné aterogenní faktory (hypertenze, kouření apod.); bývá však zvýšené riziko ischemické choroby dolních končetin

Biochemický nález: zvýšení S-triacylglycerolů, často přes 10 mmol/l; ale hodnoty kolísají podle předcházející diety (2, 3 - 11, 3 mmol/l). Ve většině případů je sérum opalescentní (pro zvýšení VLDL), jen zřídka mléčně zkalené (zvýšení chylomikronů). Lehké zvýšení S-cholesterolu bývá pouze u případů, u nichž hladina S-triacylglycerolů převyšuje hodnotu 3 mmol/l. Vždy je však poměr triacylglycerolů a cholesterolu větší než 2, 5. Na elektroforéze je zvýšení pre- β -lipoproteinu ("hyper-VLDL-emie"). Hladina apoproteinu B a A je normální; je však zvýšen apoprotein C-III. Často bývá hyperurikemie a diabetes typu 2 (non-insulindependentní) sdružený s hyperinzulinemií. (při hyperglykémii dochází též ke zvýšené glykaci ApoB, který nabývá tímto větší aterogenicitu)

Patobiochemie: Zvýšení VLDL může teoreticky vzniknout z těchto příčin:

- zvýšení syntézy VLDL v játrech,
- snížení intravaskulárního katabolismu VLDL.

Příkladem zvýšené syntézy VLDL je hypertriacylglycerolemie navozená chronickým požíváním alkoholu. Alkohol je totiž játry oxidován přednostně (před ostatními substráty, jako jsou mastné kyseliny nebo glukosa). Hromadí se acyl-CoA, který je metabolizován na triacylglyceroly a jejich transportní formu: VLDL. Také hyperinzulinemie podněcuje syntézu VLDL. Pokles katabolismu VLDL je druhou možnou příčinou hypertriacylglycerolemie. Příčinou této poruchy může být nadbytek apoproteinu C-III, který je inhibitorem lipoproteinové lipasy, nebo deficit apoproteinu C-II, který je naopak aktivátorem LPL.

Aterogenní riziko zvýšených VLDL je diskutabilní. Normální VLDL mají příliš velkou molekulu, aby mohly pronikat cévním endotelem. Ale současná přítomnost jiných rizikových faktorů, jako je hypertenze a nikotinismus, vede k poškození stěny cév, a tím se aterogenní účinek může projevit. Rovněž se předpokládá i změna ve velikosti částic ("malé VLDL") Někteří autoři se domnívají, že pokles HDL v plazmě snižuje reverzní transport cholesterolu z periferních buněk do jater.

Prognóza a léčení: Léčení spočívá hlavně ve snížení ev. nadměrné tělesné hmotnosti, dále v dietě s nízkým obsahem sacharidů a zákaz alkoholu.

Doporučuje se užívat preparát rybího oleje, ev. nikotinová kyselina; užitečné jsou i fibráty.

* *Familiární hyperlipoproteinemie typ V* (= zvýšení VLDL + chylomikronů)

Jde o onemocnění poměrně vzácné (1: 5000); častěji u dospělých, kteří jsou obézní, mají hyperurikemii a diabetes. Vyvolávajícím faktorem může být požívání alkoholu a léků s estrogeny, stejně tak renální insuficience.

Klinické projevy: Typ V není aterogenní; avšak je značný sklon k akutní pankreatidě. Je sdružen s eruptivními xantomy, artritidou, suchostí v očích a ústech a emocionální labilitou.

Biochemický nález: Mléčně zkalené sérum pro přítomnost chylomikronů a VLDL. Na ELFO zvýšené frakce pre- β a zvýšení frakce "na startu" (chylomikronů). S-triacylglyceroly se pohybují mezi 10-20 mmol/l (i když byly popsány hodnoty ještě vyšší). S-cholesterol je rovněž zvýšen (zejména jsou-li triacylglyceroly vysoké). Obvyklé hodnoty jsou 7,75-13 mmol/l. Poměr VLDL-cholesterol/triacylglyceroly je menší než 0,30 (rozdíl od typu III). Podobně jako u typu IV je zvýšen apoprotein C-III a poměr C-II / C-III je snížen. Typ V bývá někdy sdružen s výskytem neobvyklé isoformy apoE-4.

Patobiochemie: Příčina vzniku tohoto typu není zcela vysvětlena. Soudí se, že jde o poruchu metabolismu VLDL a chylomikronů. Aktivita postheparinové lipasy je však normální (rozdíl od typu I). Příčina současného zvýšení VLDL a chylomikronů se vysvětluje třemi možnými způsoby: (1) Zvýšená tvorba a sekrece VLDL játry vede k saturaci mechanismu odstraňujícího částice bohaté na triacylglyceroly, tedy i chylomikrony, (2) Syntéza triacylglycerolů je normální, ale je porušen mechanismus jejich vylučování, (3) Může jít o kombinaci obou mechanismů.

Forma navozená požíváním alkoholu je v některých zemích (kupř. ve Francii) velmi častá. Rozlišení typu IV od V je obtížné, stejně jako odlišení od sekundární formy navozené dietou (nadměrný přívod tuků a sacharidů).

Prognóza a léčení: Akutní pankreatitida není častá. Základní léčení spočívá v nízkoenergetické dietě a v zákazu požívání alkoholu.

HYPERALFALIPOPROTEINEMIE

** Familiární hyper- α -lipoproteinemie*

Jde o genetickou lipoproteinovou abnormalitu spojenou s výskytem dlouhověkosti v rodině (o 8 - 12 let oproti průměru v populaci); předpokládaná forma dědičnosti je autosomálně dominantní. Familiární formu je však nutno odlišit od formy získané (sekundární) kupř. při abúzu alkoholu nebo při užívání antikoncepčních preparátů nebo přípravků na bázi estrogenů.

Syndrom je charakterizován výrazným zvýšením HDL-cholesterolu (zvýšení α 1-lipoproteinu na ELFO), mírné až střední zvýšení celkového cholesterolu v plasmě a normální koncentrace S-triacylglycerolů. Jsou zmnoženy HDL částice obsahující jen ApoAI nikoliv částice obsahující jak ApoAI tak ApoAII [LpA I: A II].

Abnormalita je pravděpodobně způsobena zvýšenou syntézou apo AI. Je snižené riziko kardiovaskulárních chorob navozených aterosklerózou.

HYPOLIPOPROTEINEMIE

** Familiární hypo- β -lipoproteinemie*

Je považována zatím za vzácnou genetickou abnormalitu, pravděpodobně s autosomálně dominantní dědičností. Hladina LDL cholesterolu v plasmě je snížena pod 5ti percentilní hranici normálního rozpětí. Podobně jako hyper- α -lipoproteinemie je i tato anomálie sdružena s dlouhověkostí, pravděpodobně pro nízkou incidenci infarktů myokardu.

Biochemický nálezný spočívá v nízkých hodnotách LDL-cholesterolu; LDL-frakce je však přítomna vždy, na rozdíl od abetalipoproteinemie, kde chybí úplně. Koncentrace částic VLDL a HDL může být snížena nebo normální nebo i zvýšena.

Defekt spočívá ve snížené tvorbě částic s ApoB (asi na polovinu); přitom katabolismus LDL je normální. Vzhledem k tomu, že LDL částice jsou produktem VLDL a pacienti s hypo- β -lipoproteinemií mají nízkou hladinu S-triacylglycerolů, je také u nich snížena produkce VLDL U některých jedinců byl však prokázán Apo B ve formě oddělených peptidů (truncated form), které jsou velmi rychle z plasmu vychytávány LDL-receptory příslušných buněk.

** Abetalipoproteinemie*

Jde o vzácnou autosomálně recesivně přenášenou chorobu, při níž chybí úplně lipoproteinové částice, obsahující ApoB. Heterozygoti nemají žádné zjevné klinické příznaky. Hladina LDL-cholesterolu je u nich snížena, ale jinak je laboratorní vyšetření normální. Naproti tomu homozygoti trpí už od kojeneckého věku malabsorpcí tuku; mají steatoreu pokud jejich dieta obsahuje tuk. Nepřibývají na váze a mají opožděný růst. Nedostanou-li suplementaci vitamínu E (ve vodě rozpustnými preparáty), objeví se progresivní degenerace CNS. Nedostatek vitamínu A a karotenu vede ke snížení ostrosti zraku a k šerosleposti. V krevním obraze se objevují erytrocyty zvláštního tvaru, tzv. acanthocyty podle rohovitých nebo ostruhovitých výběžků. Pro deficit vitamínu K mají prodloužený prothrombinový čas.

Biochemický defekt spočívá v nemožnosti syntetizovat nebo secernovat lipoproteinové částice obsahující ApoB. Chybí proto v cirkulaci chylomikrony; je narušen transport endogenního cholesterolu k periferním buňkám cestou LDL. Je porušena tvorba kortisolu v nadledvinách při stimulaci ACTH. Cholesterol v částicích obsahujících ApoE je transportován normálně.

* *Hypoalfalipoproteinemie*

Stavy se sníženým HDL-cholesterolem mají zvýšené riziko aterosklerózy a z ní plynoucí kardiovaskulární onemocnění. Familiární forma se zdá mít dominantní dědičnost.

Byly popsány i abnormality v polypeptidové složení apoA-I a jeden takovýto lipoprotein byl nazván podle místa popsaného případu apoA-IMilano. Pacienti jsou po většině asymptomatictí.

Bez apoA-I se nemůže tvořit HDL a bez HDL nemůže být apoC-II transportován zpět do jater v průběhu odbourávání VLDL. Důsledkem je relativní nedostatek apoC-II a zvýšená hladina VLDL.

* *Choroba "rybích očí"*

Onemocnění je charakterizováno zákalem rohovky. Hladina HDL-cholesterolu je snížena 10% hladiny normální; je snížena především HDL₂, současně je snížen apoA-I. Bývá vyšší triacylglycerolemie.

* *Analfalipoproteinemie (Tangierská nemoc)*

Je to vzácná choroba s autosomálně recesivní dědičností. charakterizovaná úplným chyběním HDL v plasmě. Homozygoti mají nedetekovatelné množství HDL-cholesterolu a extrémně nízký apoA-I a apoA-II. Na elektroforéze lipoproteinů chybí α -frakce. Celkový cholesterol i LDL-cholesterol jsou sníženy; je mírná hypertriacylglycerolemie.

Biochemický defekt tkví pravděpodobně v abnormálně rychlém katabolismu HDL a apoA-I.

V klinickém obraze jsou nápadné žlutooranžové depozity esteru cholesterolu na sliznici hltanu a konečníku, zvětšení tonzil a adenoidních vegetací. Pacienti trpí opakující se periferní neuropatií; mají ptózu víček, svalovou atrofii a ochablé svalové reflexy. Častá je splenomegalie a trombocytopenie.

ATEROSKLERÓZA

Prvním krokem v patogenezi aterosklerózy je pravděpodobně poškození endotelových buněk, na které se nalepí monocyty a T-lymfocyty; ty pak pronikají do prostoru intimy, kde se mění v makrofágy, které jsou hlavními buňkami podílejícími se na procesu aterosklerózy. Dalším krokem je pohlcování lipoproteinových částic makrofágy, především jsou to β -VLDL (IDL, částice s vysokým obsahem triacylglycerolů), méně pak LDL; avšak po lipoperoxidaci působením volných radikálů je pohlcování LDL urychleno. Děje se tak prostřednictvím tzv. zametacích (scavenger) receptorů, jejichž množství na povrchu buněk není regulováno podle potřeby cholesterolu v buňkách jako je tomu u LDL-receptorů popsaných Brownem a Goldsteinem. To způsobuje masivní nahromadění lipoproteinových částic uvnitř makrofágů a jejich přeměnu na pěnové buňky, které jsou podkladem ateromových plátů. Rozpoznání oxidovaných LDL makrofágovými zametacími receptory je spojeno se ztrátou lysinových zbytků v Apo B100 ev. i s vazbou s malondialdehydem a dále s kovalentní vazbou volných NH₂-skupin s karbonylovými skupinami vzniklými lipoperoxidací. Oxidované LDL a fosfatidylcholin stimulují buňky hladké svaloviny, endotelu i monocyty k tvorbě chemotaktických a růstových faktorů jako PDGF (= destičkový růstový faktor), FGF (fibroblastový růstový faktor) IL 1 β , a TNF α a epidermální růstový faktor vázající heparin. Tím dochází ke zvýšené replikaci buněk hladkých svalů, což zrychluje proces aterogeneze: Endotelové buňky působením oxidovaných LDL navozují produkci tkáňového faktoru a snižují syntézu inhibitoru plasminogenového aktivátoru. Tím jsou dány podmínky k urychlené agregaci krevních destiček a tvorbě trombu, zvláště v místě, kde kalcifikovaný (působením některých oxysterolů) ateromový plát praská.

Podle současných názorů je stále větší význam přikládán oxidačnímu stresu, který se může uplatňovat jednak při modulaci jednak při vlastním zprostředkování účinku rizikových

faktorů. Spojovacím článkem mezi kauzálními rizikovými faktory a aterosklerózou je podle některých autorů dysfunkce cévního endotelu. Lokalizovaná nebo generalizovaná dysfunkce endotelu je sdružena s tendencí k vazokonstrikci, thrombogeneze a zvýšené propustnosti stěny cévy pro lipoproteinové částice. Bývá spojována se sníženou lokální syntézou a koncentrací radikálu oxidu dusnatého a oslabením jeho antiproliferativního účinku.

Lipoperoxidace je sledem reakcí, ve kterých volné kyslíkovové a dusíkové radikály odebírají vodík z molekuly polynenasycených mastných kyselin (PUFA), při čemž dojde ke změně pentadienového uspořádání dvojných vazeb na konjugované dieny. Tyto reagují s atomárním kyslíkem ($1O_2$) nebo kyslíkovým radikálem ($\bullet O_2$) za vzniku peroxylového radikálu, který může atakovat další řetězce PUFA. Odebírá jim atomy vodíku za vzniku lipidových hydroperoxidů (lipoperoxidů), cyklických peroxidů a cyklických endoperoxidů. Jejich hydrolýzou vznikají toxické aldehydy – jako je malondialdehyd (MDA), 4-hydroxy-2,3-trans-nonenal, alkoxyradikály a nízkomolekulární těkavé uhlovodíky (pentan, hexan). Jedna molekula hydroxyperoxylového radikálu může atakovat řadu molekul PUFA. K terminaci dojde reakcí dvou radikálů nebo reakcí s lapači ("scavengers"). Toxické radikály pak reagují se skupinami $-SH$ a $-NH_2$ v bílkovinách, mění jejich chemickou strukturu a funkci. Dochází k fragmentaci apoB100, sesítování apo AI se snižuje jejich kapacita přijímat cholesterol a aktivovat LCAT. Oxidabilita LDL je ovlivněna množstvím a typem mastných kyselin, které jsou součástí fosfolipidů a cholesterylesterů. Antioxidačně působí olejová kyselina; naopak prooxidační charakter mají PUFA řady n.3 i a-6 stejně jako trans-monoenové mastné kyseliny (zvláště elaidová kyselina), vznikající parciální hydrogenací rostlinných i živočišných tuků. Oxidační modifikaci podléhají nejen LDL ale též VLDL s vysokým obsahem triacylglycerolů ($Sf > 400$) a jejich remnantní částice. Intracelulární transport VLDL a VLDL-remnants do makrofágů prostřednictvím scavenger-receptorem B1 (SR-B1) je výrazně umocněn jejich oxidační modifikací.

Až dosud bylo rozpoznáno více než **200 rizikových faktorů** pro kardiovaskulární choroby. Mezi 3 nejznámější patří: (1) Abnormální lipidy (Je známo více než 15 typů lipoproteinů obsahujících cholesterol a 4 různé druhy částic bohatých na triacylglyceroly; některé jsou aterogenní), (2) Vysoký krevní tlak a (3) Kouření cigaret. K tomu pak přistupují další jako je diabetes, nadváha, nedostatečná fyzická aktivita a řada jiných, včetně abnormalit ve faktorech účastnících se srážení krve (fibrinogen, faktor VII, inhibitory aktivátorů plasminogenu nebo nově zjištěných (homocystein, isoformy apo E 4). Důsledek působení těchto faktorů je stenóza až uzávěr arterií zásobujících životně důležité orgány (srdce, mozek) a končící akutním infarktem myokardu nebo mozkovou mrtvicí. Asi 50% případů infarktu myokardu má za následek snížení normální komorové ejekční frakce. V těchto případech odstranění 75% až 95% stenózy v artérii upravuje ejekční frakci k normě u čtvrtiny pacientů a zlepšuje ji u třetiny. Když se v průběhu 3-5ti let podaří snížit hladinu cholesterolu, může se stenóza remodelovat a redukovat. U řady pacientů se tím průtok koronárním řečištěm zlepší. Provedení se angioplastika nebo koronární "by-pass" zachrání se "hibernující" myokard. Nepředěje se však pozdějším infarktům, které se objevují asi u poloviny pacientů, protože se vytvoří nové tukové uloženiny v koronárních artériích. Tyto lipidové depozity jsou pokryty jen tenkou vrstvou endotelových buněk a představují tak velmi nestabilní lézi, která může snadno popraskat a dát příčinu vzniku masivní trombózy v oblasti bez kolaterál. Toto nebezpečí může být sníženo velmi agresivní hypolipidemickou terapií.

9. Charakteristika obecného hodnocení lipidových rizikových faktorů

- Cholesterol

Je dobře známo, že výskyt kardiovaskulárních onemocnění pozitivně koreluje s hladinou celkového cholesterolu a s věkem. U mužů i žen nad 70 let je dvojnásobný ve srovnání s jedinci padesátiletými: Ve framinghamské studii byla nalezena nezávislá statisticky významná korelace s cholesterolem a výskytem ICHS. Přitom však ve velkém vyšetřovaném souboru (s hodnotami cholesterolu mezi 3,9 až 7,8 mmol/l) docházelo k překrývání obou skupin (s výskytem i bez ICHS). Studie ukázala, že pouze vyšetření cholesterolu pro predikci rizika je u 90% jedinců nejisté. Až 20% jedinců s cholesterolem pod 5,2 mmol/l mělo ICHS. Podle této studie nejvíce pacientů s ICHS mělo hladinu cholesterolu 5,8 mmol/l, jedinci s hodnotami mezi 3,8 - 5,2 měli ICHS ve 20%, s hodnotami 5,2 - 7,8 ve 40% a s hodnotami nad 7,8 mmol/l v 90%. Je proto důležité odhalit těch 20%, kteří jsou kandidáty na ICHS, přestože mají cholesterol < 5,2 mmol/l, stejně jako 40% s hodnotami kolem 5,8 mmol/l. Diskriminačním parametrem jsou hodnoty především HDL-cholesterolu, LDL-cholesterolu a triacylglycerolů.

- Lipoproteiny o vysoké hustotě (HDL)

Vysoká hladina HDL-cholesterolu (HDL-C) je spojená s nízkým rizikem ICHS, a naopak jedinci, kteří mají celkový cholesterol < 5,2 mmol/l, ale HDL-C < 1,04 mmol/l mají stejně vysoké riziko ICHS jako jedinci s cholesterolem 6,7 mmol/l. Jedinci cholesterolem 6,7 mmol/l nejsou chráněni hladinou HDL-C 1,3 - 1,5 mmol/l. Z toho vyplývá, že existuje různá optimální adekvátní hladina HDL-C, které odpovídá určité hladině cholesterolu. Pro zjednodušení se doporučuje počítat poměr celk. chol. /HDL-C, který má lepší predikaci rizika zejména u seniorů, než samotné hodnoty obou parametrů. Pomocí indexu celk. cholesterol/HDL-C se dá předpovědět až u 80% jedinců ev. restenóza po léčbě na základě koronární angioplastiky. Restenóza obvykle vzniká do 6ti měsíců po zákroku. Intenzivní hypolidemická terapie trávající nejméně jeden rok může situaci zlepšit.

- Lipoproteiny o nízké hustotě (LDL)

LDL-cholesterol je velmi významný rizikový faktor, ale sám o sobě pokud jeho hladina není enormně vysoká (>7,8 mmol/l), nemá valnou cenu v predikci individuálního rizika. Ze studií vyplynulo, že kupř. vrchol incidence ICHS (tj. 40%) je při hladině cholesterolu 5,8 mmol/l. Pro rozpoznání rizika je nutné vyšetřit ještě hodnotu HDL-cholesterolu.

-Triacylglyceroly (=TG)

Hladina plasmatických triacylglycerolů je dalším nezávislým faktorem rizika ICHS, zejména v souvislosti s HDL-C. Muži s hladinou TG > 1,7 mmol/l a s HDL-C < 1,04 mmol/l mají dvojnásobné riziko. Ženy s TG > 1,7 mmol/l a HDL-C < 1,35 mmol/l mají vysoké riziko ICHS. U těchto jedinců byla též nalezena zvýšená rezistence na insulin, hypertenze a centrální typ obezity a tendence k hyperurikemii. Reaven toto seskupení nazval metabolický syndrom X. U jiné studie (PROCAM) bylo zjištěno, že u 73 jedinců s nově vzniklou ICHS mělo 37 z nich TG > 1,7 mmol/l a HDL-C < 0,9 mmol/l. V helsinské studii (Helsinki Heart Study) léčení gembrozilem u pacientů s indexem LDL/HDL > 5 a TG > 2,3 mmol/l poklesla incidence infarktu myokardu o 71%.

-Lipoproteiny o velmi nízké hustotě (VLDL)

Játra tvoří různé typy VLDL. Jedinci na vegetariánské dietě nebo s vyšší konzumací alkoholu, stejně jako pacienti léčení estrogény nebo colestipolem produkují tzv. "puffy" VLDL (tj. větší, neaterogenní VLDL o Sf = 60 - 400). Většina těchto částic se vrací z cirkulace zpět do jater nebo je transformována na částice LDL-A, které jsou jen v malém množství vychytávány makrofágy; většina se vrací zpět do jater. Naproti tomu u jedinců žijících na stravě bohaté na

(nasyčené) a na cholesterol, která vede k centrálnímu typu obezity, produkující malé VLDL o zvýšené denzitě ($S_f = 12 - 60$), které jsou metabolizovány na malé denzní LDL-B. Obě tyto lipoproteinové částice jsou dychtivě vycytávány makrofágy ve stěně arterií. Hladina TG je považována za vhodný marker této situace (70% případů s hypertriacylglycerolemií má zvýšené malé denzní VLDL, které jsou vysoce aterogenní). Bylo zjištěno, že když vzroste hladina TG na hodnotu 1. 1 mmol/l, začnou se objevovat malé denzní LDL-B částice; při koncentraci TG kolem 1. 7 mmol/l vymizí dokonce kompletně z cirkulace normální (neaterogenní) LDL A částice a v plasmě zůstávají již jenom aterogenní LDL-B částice.

Závěr: Pro odhalení vyššího rizika je třeba nejprve vyšetřit celk. cholesterol; je-li > 3.8 mmol/l a index celk. chol. /HDL-C > 4 , je nutno vyšetřit ještě TG (nejsou-li > 1.7 mmol/l) nebo LDL a tím zjistit, zda se má léčit hypertriacylglycerolemie (fibráty, niacin) nebo zvýšený cholesterol (statiny).

Vyšetřování jednotlivých rizikových faktorů aterosklerózy

(a) Lipoproteiny

Apolipoprotein AI (nízká hodnota)

Je to strukturální protein především HDL částic a dále aktivátor LCAT. Nízké hodnoty jsou rizikovým faktorem ICHS.

Fyziologické hodnoty: muži - 1,0 - 1,5 g/l

ženy - 1,1 - 1,6 g/l

Riziková hodnota: pod 0,9 g/l

Apolipoprotein B

Fyziologické hodnoty (dospělí) - muži: $1,05 \pm 0,25$ g/l

ženy: $0,95 \pm 0,25$ g/l

Tab.: Hodnocení apoB ve vztahu k riziku aterosklerózy:

apoB :	<0,9 g/l	riziko: velmi nízké
	0,9 - 1,20 g/l	nízké
	1,20 - 1,40 g/l	střední
	> 1,40 g/l	vysoké

Apolipoprotein E, isoformy

ApoE je hlavní složkou VLDL a chylomikronových zbytků. Gen pro apoE lokalizovaný na chromosomu 19 má 3 alely (ϵ_2 , ϵ_3 , ϵ_4), které dávají vznik šesti možným variantám (3 homozygotní, 3 heterozygotní). Rozdíl jednotlivých isoform je dán záměnou cysteinu za arginin v polypeptidovém řetězci; apoE-2 má 2 zbytky cysteinu, apoE3 1 cystein a 1 arginin, apoE-4 žádný cystein a 2 argininy. To ovlivňuje afinitu lipoproteinových částic, které je obsahují vůči specifickým receptorům jednak v játrech jednak vůči receptorům extrahepatálním. . Homozygoti mající apoE-2/2 se vyznačují sníženou clearancí VLDL a chylomikronových zbytků z krevní cirkulace prostřednictvím jater, protože apoE-2 se špatně váže na apoE receptor. Kromě toho jedinci s apoE-2 mají sníženou lipolytickou konverzi VLDL na LDL, takže v plasmě mají méně LDL a více VLDL. Vzniká u nich tzv. dysbetalipoproteinemie, vyznačující se na ELFO-lipoproteinů "širokým β " (Typ III dle Fredricksona). Jedinci s apoE-4 se vyznačují zvýšenou konverzí VLDL na LDL, což vede ke snížení VLDL v plasmě a naopak ke zvýšení LDL.

Lipoprotein Lp(a)

Jako nezávislý faktor je považována zvýšená koncentrace specifického lipoproteinu Lp(a) v séru. Jde o lipoproteinovou třídu s molekulovou hmotností vyšší než 5,4 milionů, pohybující se na elektroforéze v β 1-oblasti; při ultracentrifugaci se nalézá v HDL-frakci a je označována jako "sinking pre- β ". Hlavním apolipoproteinem je apo B100; Lp(a) má však ještě specifický antigen: apoprotein(a) (=apo(a)). Apo(a) je složen ze 7 "kringle" (preclíkový) domén, které mají vysokou homologii s "kringle"-doménami plasminogenu, a dále z 1 proteasové domény. Podobnost s plasminogenem vede k možnosti obsazení receptorových míst na fibrinu a k inhibici fibrinolýzy; Lp(a) má tedy dvojitý rizikový efekt: působí aterosogenně (přítomnost apo B-100) a antifibrinolyticky [přítomnost apo(a)]. Apo(a) má 6 geneticky podmíněných isoform: F, B, S1, S2, S3, S4, které se liší molekulovou hmotností; bylo popsáno však ještě 11 dalších polymorfních forem. Apo(a) je metabolizován jiným způsobem než jiné lipoproteiny obsahující apoB. Je možno ho považovat za reaktant akutní fáze, protože se přechodně zvyšuje kupř. po větších chirurgických zákrocích nebo při akutním infarktu myokardu. Přechodný vzestup byl také zaznamenán u nestabilní anginy pectoris (bez zvýšení CRP). Fyziologická funkce není známa. Spekuluje se, že jeho schopnost vázat se na fibrin umožňuje dodávku cholesterolových molekul do organizujícího se trombu.

Fyziologické hodnoty Lp(a) (dospělí): 0,10-0,2 g/l

Riziková hodnota : > 0,30 g/l

Poznámka: Výše hladiny celé molekuly Lp(a) nemusí odpovídat stupni rizika aterosklerózy (podmíněno různými genetickými variantami). Větší výpovědní hodnotu má stanovení "volného" apolipoproteinu (a). K vazbě Apo (a) na částici LDL dochází až extracelulárně, takže v krevní cirkulaci se nalézá jak kompletní Lp(a) tak volný Apo(a).

LDL-cholesterol (vypočtený) (=LDL-C)

Výpočet dle Planella, který zahrnuje ještě stanovení ApoB, má lepší výpovědní hodnotu než vzorec dle Friedewalda.

LDL-C (mmol/l) = 0,41. celk. cholesterol (mmol/l) - 0,32. triacylglyceroly (mmol/l) + 1,70. ApoB (g/l) - 0,27

Tab: Hodnocení cholesterolemie:

<i>Normolipidemi</i>	<i>Typ IIa</i>	<i>Typ IIb</i>	<i>Typ IV</i>
3,19±0,56	6,46±2,21	5,27±0,93	3,40±0,48

(Hodí se zejména pro rozlišení Fredriksonova typu IIb od typu IV ("cut-off"=4,13 mmol/l)

Tab.: Zvýšení lipidů a lipoproteinů ve vztahu k riziku aterosklerózy (podle Assmanna)

Parametr (mmol/l)	Žádné riziko	Podezřelé rozmezí (nutnost léčeni podle klinického nález)	Vysoké riziko (nutno léčit)
S-triacylglyceroly	< 1,7	1,7 - 2,3	> 2,3
S-cholesterol	< 5,7	5,7 - 6,7	> 6,7
S-LDL-cholesterol	< 3,9	3,9 - 4,9	> 4,9
S-HDL-cholesterol			
muži			
ženy	> 1,4	0,9 - 1,4	< 0,9
	> 1,7	1,2 - 1,7	< 1,2

Tab.: Hodnoty S-cholesterolu jako rizikového faktoru v různých věkových skupinách (podle NIH)

Věková skupina (roky)	Střední riziko	Vysoké riziko

v mmol/l

2 - 19	> 4,4	> 4,78
20 - 29	> 5,17	> 5,7
30 - 39	> 5,7	> 6,2
40 a více	> 6,2	>6,72

Tab.: Hodnoty rizikových faktorů (podle Roseneu a van Biervlieta)

Parametr	Jednotky	Kojenci	Dospělí
S-cholesterol	mmol/l	> 4,13	>6,2
S-HDL-cholesterol	mmol/l	< 1,16	< 1,16
apo B	g/l	> 0,90	> 1,10
apo A-1	g/l	< 1,10	< 1,10
apo A-I/apo B		< 1,2	< 1,0

(b) Nelipoproteinové biochemické rizikové faktory**Homocystein**

Homocystein je důležitý (ústřední) metabolit metabolismu methioninu. Nenachází se v přijímané potravě ale vzniká z methioninu při jeho metabolizaci na S-adenosylmethionin. Homocystein se pak může metabolizovat čtyřmi možnými způsoby: V t. zv. remethylační dráze získává CH₃-skupinu z betainu nebo 5-methyltetrahydrofolátu za opětného vzniku methioninu. Ten s ATP dává S-adenosylmethionin, který je bezprostředním donorem methylových skupin kupř. pro syntézu purinového jádra. V transsulfurační dráze (To je v případě, když je methioninu nadbytek nebo když má být syntetizován cystein) se homocystein kondenzuje se serinem za vzniku cystathionu, který se hydrolyzuje na α -ketobutyrát a cystein. Čtvrtá cesta je export intracelulárního homocysteinu do extracelulárního prostředí (když produkce převažuje nad utilizací v buňce). V průběhu 24 hodin se dostává z buněk do plasmy asi 1, 2 mmol. U cévních chorob bylo pozorováno zvýšení jak homocysteinu volného (asi 5 - 10%) tak vázaného (na albumin) a také jako homocysteinylcysteinu. Zvýšení plasmatického homocysteinu se ukazuje být samostatným rizikem (asi trojnásobným) zejména pro periferní vaskulární choroby a cerebrovaskulární choroby, méně pro onemocnění koronárních arterií. Dědičný defekt enzymů metabolismu homocysteinu jako je cystathionin- β -synthasa nebo N,N'- 10'-metylen-tetrahydrofolátreduktasa vede ke zvýšení homocysteinu. Podobně i nedostatek některých vitaminů jako je listová kyselina, vitamin B12 a pyridoxalfosfát (derivát vitamínu B6) způsobují hyperhomocysteinurii. Rovněž kouření a pití kávy ji podněcuje. Patogeneza poškození cév navozené zvýšením homocysteinu není vyjasněna. Homocystein může zhoršovat funkci endotelových buněk, dokonce vede k jejímu poškození; navozuje také zvýšené srážení krve. Ovlivňuje normální protrombolytickou a antikoagulační aktivitu endotelových buněk.

Fyziologické hodnoty: 11, 58 \pm 4, 48 μ mol/l (10, 2 - 14, 8 μ mol/l)

(12 - 15 μ mol/l) (se stoupajícím věkem se hodnoty zvyšují)

Patologické zvýšení (v μ mol/l):

* mírné zvýšení. 16 - 31

* střední zvýšení. 32- 100

* výrazné zvýšení > 100

- pacienti s aortokoronárním bypassem (Hyánek, 1996) . . . 14, 2 \pm 4, 9 (ženy); 16, 0 \pm 5, 3 (muži)

- mozková mrtvice: 15, 7 \pm 5, 0

Příčinou může být:

- dědičný defekt enzymů:
 - (i) heterozygoti deficiencie cystathionin- β -synthasy (incidence 1-2%)
 - (ii) snížená aktivita methylenetetrahydrofolátreduktasy
 - (iii) snížená aktivita methylenetetrahydrofolát: homocystein-methyltransferasy
 - (iv) defekty v regulaci metabolismu homocysteinu přeměnou na S-adenosylmethionin

Zvýšení u jiných patologických stavů:

- *klasická homocystinurie* (typ I) (deficiencie cystathionin- β -reduktasy): $\approx 258 \mu\text{mol/l}$ (a více) (Typ II: defekt v tvorbě methylkobalaminu; typ III: deficiencie methylenetetrahydrofolátreduktasy)
- *deficit vitamínu B12*
- *deficit listové kyseliny*
- *jiné (psoriáza, leukemie, solidní tumory, hypertyreóza)*
- *zvýšená tvorba kreatinu (kreatininu)*
- *snížení renálních funkcí*

Zvýšený homocystein představuje nezávislý rizikový faktor pro předčasný výskyt kardiovaskulárního onemocnění (zvýšení rizika o 20 - 30%).

Hladinu homocysteinu snižuje příjem vitamínů (listová kyselina, vitamin B12, pyridoxin), dále zvýšená konzumace zeleniny a ovoce. Proto u některých případů hyperhomocystinémie pomáhá suplementace folátem (5mg/den; cave: epilepsie).

Poznámka: Pro stanovení je velice důležité, co nejdříve oddělit plasmu od krvinek nebo serum od koagula, nejlépe odebrat do ledem chlazené odběrky a takto urychleně dopravit do laboratoře k centrifugaci (nejpozději do 1 hodiny). Jinak dochází k výraznému artificálnímu zvýšení.

Zátěžový test s L-methioninem (dle Hyánka)

Princip: po podání L-methioninu (7 g) se sleduje jeho zvýšení za 6 hod. Výraznější zvýšení svědčí pro deficit aktivity dihydrofolátreduktasy a pro riziko poškození cévního endotelu homocysteinem.

Fibrinogen

Zvýšená hodnota plasmatického lipoproteinu představuje další možné riziko ICHS

Tkáňový aktivátor plasminogenu = tPA

Představuje další možný rizikový faktor infarktu myokardu (P. Ridker)

Hodnoty:

- kontrolní: 9, 2 $\mu\text{g/l}$
- vysoké riziko: nad 12, 2 $\mu\text{g/l}$ (trojnásobné riziko)
- nízké riziko: pod 5, 2 $\mu\text{g/l}$

Mikroalbuminurie

Mikroalbuminurie je definována jako abnormální vylučování albuminu močí, a to v množství mezi 20 - 200 $\mu\text{g/min}$ (tj. 30 - 300 $\mu\text{g/den}$). Je sdružena s řadou rizikových kardiovaskulárních faktorů jako je: * *zvýšený krevní tlak a změněný denní profil krevního tlaku*

* *insulinová rezistence a senzitivita na NaCl*

* *aterogenní lipidový profil*

* *dysfunkce systémového endotelu*

* *zvýšená aktivita renin - angiotensinového systému*

Mikroalbuminurie je markerem časného poškození orgánů při esenciální hypertenzi jako je hypertrofie levé komory, poškození cév retiny, ztluštěná stěna karotid a glomerulární hyperfiltrace.

Vyšetření mikroalbuminurie a její sledování je proto hodnotným a relativně levným laboratorním markerem (prediktorem morbidity i mortality) kardiovaskulárních onemocnění.

Mnohočetný metabolický syndrom podle Reavena (= "syndrom X")

Jde o asociaci několika rizikových faktorů, jejímž podkladem je zřejmě insulinová rezistence sdružená s obezitou, hypertenzí, hypertriacylglycerolemií, hyperglykemií, ke kterým přibyly další jako hyperurikemie, hirzutismus, dále poruchy krevního srážení a fibrinolyzy, mikroalbuminurie a vznik tzv. malých LDL částic; důležité je, že všechny tyto známky se spojují s vývojem předčasné aterosklerózy. Metabolický syndrom a jeho příčiny však nelze chápat jako projev opotřebení nebo stárnutí, ale je založen na geneticky disponovaném terénu

Leptin

Obezita je rizikovým faktorem pro řadu civilizačních chorob.. Leptin je proteohormon o Mr= 16 000 patřící do rodiny hematopoetických cytokinů, který je produktem OB-genu na chromosomu 7q31.3, a který hraje klíčovou úlohu v regulaci tělesné hmotnosti. Je produkován diferencovanými adipocyty. Hlavním faktorem určujícím hladinu cirkulujícího leptinu je množství tukové tkáně. Koncentrace stoupá s indexem tělesné hmotnosti BMI = $[\text{hmotnost}(\text{v kg})]/[\text{výška}(\text{v m})]^2$ nebo s podílem tělesného tuku. I malé variace v množství tělesného tuku mají za následek výrazné rozdíly v hladině leptinu – od 0,03 µg/l u anorektických pacientů až po hodnoty > 100 µg/l u extrémně obézních jedinců. Hladina leptinu vykazuje závislost na věku (až do 20ti let).

Biologický účinek leptinu je zprostředkován leptinovým receptorem (OB-R), který patří do rodiny receptorů cytokinů třídy I. Leptin působí snížení příjmu potravy (u pokusných zvířat) a zvýšený výdej energie, včetně thermogeneze. Kromě toho leptin ovlivňuje řadu endokrinních systémů. Tento účinek je zprostředkován působením na hypothalamus, a to na produkci neuropeptidu Y (NPY) – leptin potlačuje expresi a sekreci NPY, který je stimulatorem příjmu potravy a reguluje řadu hypofyzárních hormonů. Velmi zjednodušeně řečeno, leptin představuje signál z tukové tkáně, kterým je informován organismus o zásobě energie uskladněné v tukových depot. (Blum, 1997).

10. Choroby a stavy sdružené se sekundární hyperlipoproteinemií

Geneticky podmíněné primární hyperlipoproteinemie je nutno odlišit od stavů, u nichž se může hyperlipoproteinemie vyskytnout druhotně. Zvýšená hladina lipidů obvykle vymizí, když se upraví základní choroba. Představují asi 40% všech hyperlipoproteinemií. Jejich léčení spočívá především v léčení primárního onemocnění. Patří sem hyperlipoproteinemie u těchto stavů:

Obezita

Asi 30-50% pacientů s **otylostí** má zároveň hyperlipoproteinemii charakterizovanou biochemickými změnami jako u typu IV. Tyto vymizí po léčení nízkoengetickou dietou a po zákazu alkoholu.

Alkoholismus

U některých "predisponovaných" pacientů i mírné, ale pravidelné požívání alkoholu navozuje změny v lipidovém spektru odpovídající typu IV (nadměrná tvorba VLDL pro nahromadění acyl-CoA). U chronických alkoholiků je stav vystupňován a dochází nejen k

hyper-VLDLemii, ale také k hyperchylomikronemii (lipidový profil jako u typu V). Zároveň je i nebezpečí výskytu akutní pankreatitidy.

U **Zieveho syndromu**, který je možno nalézt u chronických, špatně živených alkoholiků, je hypertriacylglycerolemie provázena poruchami jaterní funkce se žloutenkou a hemolytickou anemií.

Hepatopatie

Akutní hepatitida, chronická hepatitida a akutní jaterní selhání se vyznačují výrazným zvýšením triacylglycerolu při normální nebo snížené hladině cholesterolu. U akutní hepatitidy lipidový profil odpovídá většinou typu IV, u chronické hepatitidy spíše typu IIb. Zároveň je snížen α -lipoprotein; na ELFO splývá frakce β s pre- β . Je to podmíněno syntézou abnormální LDL-frakce označované jako lipoprotein X (LP-X), který se objevuje zejména u případů s cholestázou. Zvýšení triacylglycerolů je obvykle spojeno se sníženou produkcí LCAT v játrech. U případů jaterní cirhózy s vyšší hladinou neesterifikovaných mastných kyselin, ale s normální aktivitou LCAT jsou triacylglyceroly v plazmě normální. Aktivita LCAT koreluje také s hladinou esterů cholesterolu; jejich snížení, které je pro difúzní hepatocelulární poškození typické, je podmíněno právě nízkou aktivitou LCAT. U hepatocelulárního karcinomu bývá asi u čtvrtiny dospělých pacientů hypercholesterolemie. Také při akutní intermitentní porfyrii bývá hypercholesterolemie (zvýšení LDL).

Cholestáza

U intrahepatální i extrahepatální cholestázy bývá výrazná hypercholesterolemie (zvýšení 2-5 krát), a to především zvýšení "volného" cholesterolu. V séru je prokazatelný LP-X-lipoprotein jako citlivý indikátor cholestázy (na rozdíl od jiných lipoproteinů putuje při ELFO v agarovém gelu ke katodě). Kromě případů biliární cirhózy a hepatocelulárního karcinomu je hladina LP-X vyšší u extrahepatální obstrukce než u intrahepatální.

Diabetes mellitus

U 40% diabetiků je hyperlipoproteinemie typu IV; typ IIb je méně častý a typ V vzácný. Klasická "diabetická hyperlipemie", tj. především zvýšení VLDL (triacylglyceroly: 11, 3-20 mmol/l, probíhající pod obrazem těžké smíšené hyperlipoproteinemie s eruptivními xantomy a lipaemia retinalis a s projevy ketózy, se nachází pouze u neléčených diabetiků typu I (insulindependentní). Nedostatek insulinu vede k mobilizaci triacylglycerolu v tukové tkáni; nadměrné množství uvolněných mastných kyselin se metabolizuje v játrech na ketolátky a část na triacylglycerol, který vstupuje do VLDL. Později však produkce apoproteinu v játrech vážně a klesá aktivita lipoproteinové lipasy a tím se zhoršuje odbourávání VLDL. V obou případech to vede k hyper-VLDL-emii.

Nefropatie

Nefrotický syndrom (bez ohledu na jeho etiologii) se vyznačuje výraznou hypercholesterolemií. Zvýšení triacylglycerolů je variabilní. U mírnějších forem má hyperlipidemie charakter typu IIa, u těžších je to typ IIb. Tedy především zvýšení LDL, které roste úměrně s klesající hladinou albuminu. Když poklesne albumin pod 10 g/l, zvyšují se i VLDL, někdy extrémně (s odpovídajícím vzrůstem triacylglycerolů). VLDL u nefrotického syndromu jsou bohaté na estery cholesterolu. Mechanismus vzniku hyperlipoproteinemie u nefrotického syndromu není zcela jasný; snad je to adaptivní proteosyntéza plazmatických bílkovin (a tedy i lipoproteinů) na výrazné ztráty bílkovin močí, aby byl zachován onkotický tlak krevního oběhu. Výskyt infarktů myokardu u dospělých pacientů je zvýšen. U pacientů s chronickým renálním selháním (asi v 70% případů) je hyperlipoproteinemie typu IV s poklesem HDL. V 90% případů pacientů s transplantacemi ledvin se objevuje hyperlipoproteinemie typu II a nebo IIb.

Endokrinopatie

Bývají velmi často spojeny s poruchami v metabolismu lipidů.

Hypotyroidismus

Při hypotyroidismu je téměř vždy hypercholesterolemie (typ IIa nebo IIb) se zvýšením LDL a HDL. VLDL bývají normální. Je snížen katabolismus apoproteinu B, a tak porušena přeměna "VLDL-remnants".

Steroidní hyperlipoproteinemie

Při podávání glukogenních kortikoidů nebo při Cushingově syndromu bývá přítomna hypercholesterolemie i hypertriacylglycerolemie (zvýšení cholesterolu vždy převažuje). Jsou zvýšeny VLDL i LDL (endogenní nebo smíšená hyperlipoproteinemie); typ IIb podle Fredricksonova schématu.

Estrogenní hyperlipoproteinemie

Je známo, že estrogény zvyšují hladinu HDL (premenopauzální období u žen) což je připisováno antiaterogenní ochraně žen (na rozdíl od mužů). Podávání estrogenů (např. formou antikoncepčních pilulek) zvyšuje VLDL, zvláště v kombinaci s nortestosteronovými deriváty.

Hypopituitarismus

Při hypopituitarismu se často vyskytuje hyperlipoproteinemie (zvýšení triacylglycerolů, menší zvýšení cholesterolu). Deficit růstového hormonu vede ke snížené oxidaci mastných kyselin v játrech a ke ketogenezi se současnou zvýšenou syntézou triacylglycerolů a VLDL.

Akromegalie

Hladina triacylglycerolů a cholesterolu je značně variabilní. Mírná forma bývá spojena s lehkým zvýšením triacylglycerolů a s mírným poklesem cholesterolu. Obvykle je i zvýšená rezistence na insulin.

Stresová hyperlipoproteinemie

Stresové situace jsou provázeny mobilizací neesterifikovaných mastných kyselin z tukové tkáně. Zvýšená hladina triacylglycerolů (endogenní hypertriacylglycerolemie) je způsobena jak zvýšenou sekrecí VLDL z jater, tak porušeným katabolismem. Hladina cholesterolu a LDL je snížena. Stresová hyperlipoproteinemie se vyskytuje u stavů, jako je akutní infarkt myokardu, spontánní nebo emoční stres, rozsáhlé popáleniny, sepse navozená zvláště gramnegativní flórou.

Anorexia nervosa

Asi u poloviny pacientů se objevuje hypercholesterolemie; hladina triacylglycerolů je většinou normální. Snad je to způsobeno sníženým fekálním vylučováním metabolitů cholesterolu a omezeným transportem cholesterolu do jater.

Feochromocytom

Někdy bývá hyperlipoproteinemie typu IV.

Iatrogenní hyperlipoproteinemie

Podávání některých léků může navodit hyperlipoproteinemii:

- thiazidové preparáty zvyšují hlavně VLDL (typ IV),
- kortikosteroidy při dlouhodobé aplikaci způsobují hyperlipoproteinemii typu IV, při vysokých dávkách typu I,
- β -blokátory (propranolol) někdy způsobují hyper-VLDLemii (typ IV).

Exogenní hypercholesterolemie

Nadměrný přívod cholesterolu v potravě vede k hypercholesterolemii. Byl popsán případ pacientky, která denně pravidelně jedla 8-12 vaječných žloutků (asi 3, 5 g cholesterolu). Hladina cholesterolu se u ní pohybovala kolem 24 mmol/l. Při normální dietě hladina postupně klesala.

Monoklonální gamapatie

U pacientů s paraproteinemií se může nalézt endogenní hyperlipoproteinemie (VLDL-remnants). U IgA myelomu však bývá též i hypocholesterolemie (snížení LDL). Nacházejí se i komplexy VLDL a LDL s abnormálními imunoglobuliny. Klinickými projevy hyperlipoproteinemií u paraproteinemií bývají dlaňové xantomy (příznačné).

Glykogenózy

Endogenní nebo smíšená hyperlipoproteinemie je charakteristická pro hepatorenální glykogenózu (Gierkeho choroba). Je pravděpodobně navozena hypoglykemií, která vede k hyperinzulinismu a zvýšenému odbourávání tuků z tukové tkáně. Léčení proto spočívá v zabránění hypoglykemických stavů častějším podáváním stravy. Při jiných jaterních glykogenózách (typ III a typ IV) mohou být hyperlipoproteinemie.

Hyperurikemie

Bývá často spojena s hyperlipoproteinemií typu IV.

11. Poruchy z ukládání lipidů

Kromě poruch metabolismu lipidů, vyznačujících se hlavně změnami v cirkulujících lipoproteinech, nacházíme poruchy, jejichž místo leží v přeměně lipidů v buňkách (enzymové defekty v lyzosomech). Můžeme je dělit na metabolické poruchy katabolismu cholesterolu a na poruchy v přeměně sfingolipidů.

11.1. Poruchy z ukládání cholesterolu

* Wolmanova choroba

Jde o vzácnou dědičnou poruchu metabolismu s autosomálně recesivním přenosem, při níž dochází k ukládání esterů cholesterolu a triacylglycerolů v buňkách jater, ledviny, nadledviny, hematopoetického systému a tenkého střeva. Je to způsobeno chybením lyzosomální kyselé lipasy. Choroba se projevuje až několik týdnů po narození (v šesti měsících): neprospívání, hepatosplenomegalie, opakované zvracení, trvalé průjmy se steatoreou, bilaterální kalcifikace nadledvin. Průběh je většinou fatální. Potvrzení diagnózy je histochemické (deficit lyzosomální kyselé lipasy, hromadění esterů cholesterolu v lyzosomech buněk postižených tkání).

* Choroba z ukládání esterů cholesterolu

Je to vlastně mírnější obdoba Wolmanovy choroby. Deficit kyselé lyzosomální lipasy není úplný (aktivita 1-20% normálu); klinické projevy se objevují mnohem později (pacienti se dožívají i 40 let), hepatomegalie a rozsah ukládání esterů cholesterolu v buňkách není tak velký. Soudí se, že u obou chorob jde o alelickou mutaci postihující stejný genetický lokus.

* Familiární deficit lecithin: cholesterolacyltransferasy (LCAT)

Jde o deficit klíčového enzymu uskutečňujícího esterifikaci cholesterolu. Je to velmi vzácná dědičná porucha s autosomálně recesivním přenosem. V séru jsou zvýšeny triacylglyceroly a hladina cholesterolu je variabilní; ale chybějí estery cholesterolu (3-30% oproti 75-70%). Dochází k ukládání lipidů na rohovce (mléčné zkalení), v glomerulární membráně (proteinurie), v kostní dřeni a slezině (sea blue histiocyty), v erytrocytech (anemie), v cévní stěně (ateromy). Jsou změny i v plazmatických lipoproteinech: triacylglycerolemie 2,26 – 11,3 mmol/l. Většina lipoproteinových tříd má abnormální charakter (jiná velikost, jiná ELFO pohyblivost atd.).

11.2. Sfingolipidózy

Jde o skupinu dědičných poruch metabolismu membránových lipidů, a to sfingolipidů, které se projevují hromaděním těchto lipidů v příslušných orgánech. Jejich schematický přehled je uveden v tabulce.

Tab: Přehled nejdůležitějších sfingolipidóz

<i>Název</i>	<i>Klinické projevy</i>	<i>Místo poškození</i>	<i>Enzymový defekt</i>
Gangliosidóza - Normanova- Landigova choroba	mentální retardace, degenerace nervového systému, hepatosplenomegalie, třešňově červená makula na očním pozadí	mozek, játra, slezina, kosti	gangliosido- β-galaktosidasa
Tayova-Sachsova - choroba	mentální retardace, degenerace nervového systému	mozek, nervový systém	hexosaminidasa A
Glukocerebrosidóza - Gaucherova choroba (3 typy)	mentální retardace, degenerace nervové ho systému, hepatosplenomegalie eroze na kortexu dlouhých kostí a pánve (patologické zlomeniny)	játra, slezina, nervový systém, kostí	cerebrosyl- β-glukosidasa
Galaktosylceramidóza - Krabbeho choroba - Scholzova choroba	mentální retardace, degenerace centrálního a periferního nervového systému (globoidní tělíska) mentální retardace, degenerace centrálního a periferního nervového systému	mozek, nervový systém mozek, nervový systém	cerebrosyl- β-galaktosidasa arylsulfatasa A
Ceramidtrihexosidóza - Fabryho choroba	difuzní angiokeratom, poškození rohovky	krevní cévy, kůže, ledvina	α-galaktosidasa A
Sfingomyelinóza - Niemannova- Pickova choroba (5 forem: A až E)	hepatosplenomegalie, mentální retardace, degenerace nervového systému, třešňově červená makula na očním pozadí, "pěnové" buňky v kostní dřeni	játra, slezina, mozek, kostní dřeň	sfingomyelinasa
Ceramidóza - Farberova choroba	mentální retardace, degenerace nervového systému	kůže, klouby, mozek	ceramidasa

Otázky

1. Které z tvrzení týkající se LDL je pravdivé?

- A. Účastní se přísunu triacylglycerolů periferním tkáním
- B. Hlavní složkou povrchové části jsou estery cholesterolu
- C. Pro jeho funkci je potřeba apolipoproteinu C

D. Tato částice je odstraňována z cirkulace endocytózou zprostředkovanou receptorem

Odpověď:

A. Špatně. Přisun triacylglycerolu periferním tkáním se děje prostřednictvím VLDL nebo chylomikronů. LDL je hlavní transportní částice pro cholesterol.

B. Špatně. Estery cholesterolu jsou hydrofobní a jsou proto umístěny nikoliv na povrchu, ale v jádře lipoproteinových částic.

C. Špatně. Apolipoprotein C je kofaktorem lipoproteinové lipasy

D. Správně. LDL prochází póry endotelové stěny, kapilára je cílovými buňkami vycytávána pomocí specifických receptorů, které váží apolipoprotein B. Vzniklý komplex je obalen vchlípením části buněčné membrány (endocytóza); tím se vytvoří váček, který se kombinuje s lysosomy. Jejich hydrolytické enzymy degradují LDL částici; uvolněný cholesterol se použije k výstavbě membrán buňky nebo je (je-li ho nadbytek) transportován zpět do jater (centripetální transport) pomocí HDL částic.

2. Která z následujících látek se neúčastní esterifikace při centripetálním transportu cholesterolu?

A. Lecithin-cholesterolacyltransferasa (LCAT)

B. Fosfatidylcholin

C. Apolipoprotein A

D. Apolipoprotein B

E. HDL

Odpověď

A. Špatně. LCAT se účastní; katalyzuje esterifikaci cholesterolu

B. Špatně. Fosfatidylcholin se účastní jako donor mastné kyseliny po esterifikaci

C. Špatně. Apolipoprotein A je kofaktorem LCAT.

D. Správně. Apolipoprotein B nemá význam pro centripetální transportní systém cholesterolu. Jeho úloha při metabolismu VLDL částic (zprostředkuje jejich sekreci z hepatocytů) a LDL částic (je vazebnou bílkovinou pro receptorem zprostředkovanou endocytózu).

E. Špatně. Na HDL-částicích po vycytání cholesterolu z membrány buněk se děje esterifikace pomocí LCAT a fosfatidylcholinu.

3. Skvalen je intermediárním metabolitem při biosyntéze:

A. Cholesterolu

B. β -hydroxybutyrátu

C. Nenasycených mastných kyselin

D. Sfingomyelinu

E. Acylkarnitinu

Odpověď

A. Správně. Skvalen vzniká ze 6ti isoprenových jednotek (isopentenylpyrofosfát). Ten je pak cyklizován na lanosterol.

B. Špatně. D-hydroxybutyrát je ketolátka, která vzniká z acetoacetátu při ketogeneze. Tato se odehrává v mitochondriích a nikoliv v cytoplasmě (na rozdíl od biosyntézy cholesterolu).

C. Špatně. Nenasycené mastné kyseliny nemají prekursor skvalen.

D. Špatně. Sfingomyelin vzniká ze serinu a palmityl-CoA, které dávají sfingosin, ten je přeměněn na ceramid připojením další mastné kyseliny. Reakcí s cytidindifosfátcholinem vzniká sfingomyelin. E. Špatně. Acylkarnitin se účastní transportu mastných kyselin mitochondriální membránou.

4. Triacylglycerolová lipasa hormon senzitivní nedělá, že:

A. Katalyzuje odbourávání triacylglycerolů, které jsou transportovány v jádře VLDL částic

B. Je indukována insulinem

C. Je regulována fosforylací a defosforylací

D. Je integrální součástí HDL

Odpověď:

A. Špatně. Účastní se lipolýzy triacylglycerolu z chylomikronů a to v kapilárách tukové tkáně; má vysokou hodnotu K_m (na rozdíl od lipasy ve svalstvu).

B. Špatně. Je indukována insulinem a tedy regulována hormonálně. Na rozdíl od lipoproteinové lipasy ve svalstvu, která má vysokou hodnotu K_m a není regulována hormonálně.

C. Špatně. Aktivita hormon-senzitivní lipasy je regulována fosforylací nebo defosforylací.

D. Správně. Lipoproteinová lipasa není integrální součástí

HDL. Je umístěna na povrchu endotelu kapilár v tukové tkáni.

5. Co má za následek úplné chybění apolipoproteinu B-48?

A. VLDL nemohou být tvořeny

B. Chylomikrony nemohou být tvořeny

C. Nemohou vznikat LDL částice

D. Je porušena syntéza cholesterolu v játrech

Odpověď:

A. Špatně. Částice VLDL obsahují apolipoprotein B-100, který jim umožňuje sekreci z hepatocytů.

B. Správně. Chylomikrony, které se tvoří ve sliznici střevní potřebují pro sekreci do lymfatického oběhu přítomnost apolipoproteinu B-48.

C. Špatně. LDL částice obsahují apolipoprotein B-100, který funguje jak vazebný protein pro receptorem zprostředkovanou endocytózu.

D. Špatně. Syntézu cholesterolu v játrech neovlivňuje přítomnost apolipoproteinu B-48.

6. Mastné kyseliny uvolněné z tukové tkáně jsou transportovány cirkulací

A. Ve vazbě na albumin

B. Jako triacylglyceroly přenášené chylomikrony

C. Jako lecithin na povrchu HDL částic

D. Žádným uvedeným mechanismem

Odpověď:

A. Správně. Mastné kyseliny po uvolnění lipolýzou v tukové tkáni jsou transportovány v cirkulaci ve vazbě na albumin.

B. Špatně. Jako triacylglyceroly uvnitř chylomikronů jsou transportovány mastné kyseliny ze střeva do tukové tkáně nebo svalstva.

C. Špatně. Lecithin na povrchu HDL částic poskytuje mastnou kyselinu pro esterifikaci cholesterolu.

D. Špatně. Jedna z odpovědí je správná.

7. Katabolismus mastných kyselin stimuluje glukoneogenezu ve všech následujících způsobech vyjma:

A. Tím, že přispívá k produkci NADH

B. Tím, že poskytuje uhlíky pro glukosový skelet

C. Tím, že aktivuje pyruvátcarboxylasu

D. Tím, že přispívá k produkci ATP

Odpověď:

A. Špatně. Odbourávání mastných kyselin vede k produkci NADH, který je potřeba pro glukoneogenezu. Je však nutné, aby NADH byl přenesen z mitochondrií (mitochondriální membrána není pro NADH prostupná) do cytoplasmy pomocí tzv. malátového nebo glycerolfosfátového "shuttle".

B. Správně. Katabolismus mastných kyselin β -oxidací neposkytuje atomy uhlíku pro skelet glukosy. Mastné kyseliny se odbourávají na acetyl-CoA a acetoacetát, který slouží k tvorbě ketolátek. Většina atomů uhlíku je pro glukoneogenezu poskytována z uhlíkového skeletu aminokyselin. Některé aminokyseliny jsou katabolizovány na pyruvát a tedy vstupují do glukoneogenetické dráhy cestou pyruvátcarboxylasové reakce. Jiné jsou přeměněny na 4 - až 5- uhlíkaté intermediáty cyklu kyseliny citronové a tedy zvyšují obsah oxalacetátu a malátu v mitochondriích. Pouze leucin je kompletně degradován na acetyl CoA je tedy pouze ketogenní. Ostatní aminokyseliny jsou glukogenní nebo obojí. C. Špatně. Katabolismus mastných kyselin zvyšuje obsah acetyl CoA, který podporuje (allosterická aktivace) pyruvátcarboxylasu.

D. Špatně. Většinu energie pro glukoneogenezu dodává katabolismus mastných kyselin.

8. Mastné kyseliny slouží jako zdroj energie pro: (vyjmenuj všechny)

A. Játra

B. Mozek

C. Svalstvo

D. Červené krvinky

Odpověď:

A. Ano. V játrech probíhá katabolismus mastných kyselin, který poskytuje při kompletní oxidaci palmitátu na CO₂ tj. β -oxidace + odbourávání acetyl-CoA v cyklu kyseliny citronové, 129 molekul ATP tj. 8,1 ATP/1 atom C.

B. Ne. Mozek je závislý ve spotřebě energie na glukose.

- C. Ano. Kosterní svalstvo i myokard využívá mastných kyselin jako zdroj energie.
 D. Ne. Červené krvinky nemohou využívat mastných kyselin jako zdroj energie, protože nemají mitochondrie.

9. Který výrok o HDL je správný?

- A. Působí antiaterogenně
 B. Vznikají v tukové tkáni
 C. Přenášejí triacylglyceroly ve svém jádře
 D. Umožňují centripetální transport cholesterolu
 E. V cirkulaci předávají chylomikronům apolipoprotein E a C

Odpověď:

A. Ano. HDL působí antiaterogenně, protože zbavují buňky nadbytečného cholesterolu, provádí jeho přeměnu na cholesterolestery a v této formě jej přenáší do jater, kde je cholesterol metabolizován.

B. Ne. HDL vznikají v játrech, část vzniká při konverzi chylomikronů na chylomikronové zbytky.

C. Ne. HDL přenášejí ve svém jádře estery cholesterolu

D. Ano. HDL zprostředkovávají centripetální (=reverzní) transport cholesterolu z periferních tkání do jater.

E. Ano. HDL v cirkulaci předávají nově vzniklým chylomikronům apolipoproteiny E a C.

Apolipoprotein CII je aktivátorem lipoproteinové lipasy na endotelu kapilár, která štěpí triacylglyceroly, aby jejich mastné kyseliny mohly být využity příslušnými tkáněmi.

Apolipoprotein E pak umožňuje vychytávání chylomikronových zbytků játry.

10. Zmnožení částic LDL je z hlediska aterogenity nebezpečnější než zmnožení chylomikronů nebo VLDL, protože:

A. Částice LDL jsou menší než VLDL nebo chylomikra, takže pronikají póry stěny krevních kapilár a dostávají se až k cílovým buňkám, kterým dodávají cholesterol.

B. Obsahují lecithin-cholesterolacyltransferasu, která esterifikuje cholesterol na nepolární cholesterolestery.

C. Jsou vychytávány cílovými buňkami endocytosou řízenou specifickými receptory.

D. Jejich zvýšené množství v cirkulaci podněcuje endogenní tvorbu cholesterolu v endotelu cévních kapilár.

Odpověď:

A. Správně. Menší rozměr LDL částic dovoluje, aby pronikly póry cévní stěny kapilár a dostaly se tak mimo cirkulaci. U VLDL a chylomiker to není možné.

B. Nesprávně. LDL neobsahují enzym LCAT; tento mají částice HDL.

C. Správně. Specifickými receptory řízená endocytosa respektive defekt v syntéze těchto receptorů má za následek hyper-LDL-lipoproteinémií, což je příčinou tzv. familiární hypercholesterolemie.

D. Správně. Zvýšení LDL v cirkulaci snižuje syntézu specifického LDL-receptoru a tím snižuje možnost endocytózy LDL částic. Toto vede k stimulaci endogenní tvorby cholesterolu v buňkách.

10. Proč u alkoholiků bývají zvýšeny VLDL částice ?

Odpověď: Oxidace alkoholu v játrech posouvá poměr NAD⁺/NADH ve prospěch NADH. Zvýšené množství NADH inhibuje oxidaci mastných kyselin, které se v játrech reesterifikují na triacylglyceroly a jsou inkorporovány do VLDL částic. a secernovány do cirkulace

11. Které lipoproteinové částice jsou zvýšeny při chybění lipoproteinové lipasy ?

Odpověď: Chylomikrony a VLDL. Lipoproteinová lipasa zakotvená na membráně endotelu cév hydrolyzuje triacylglyceroly z chylomikronů a VLDL, které se pak mění na tzv. "remnants" ev. další částice. Při deficienci LPL nebo jejího kofaktoru (Apo CII) odštěpování triacylglycerolů je deficitní a chylomikrony a VLDL se v cirkulaci hromadí.

Příklady pacientů

Pacientka s hypertenzí a ischemickou chorobou srdeční

Žena, 52 roků, hypertenzí (ale kontrolovanou medikamentózně) ischemickou chorobou srdeční byla vyšetřena na lipidový profil. Nález ukázal zvýšení LD-cholesterolu (4,62 mmol/l), snížení HDL-cholesterolu (0,90 mmol/l) a zvýšení triacylglycerolů (2,85 mmol/l). Její bratr měl mírnou hypercholesterolemii, ale značné snížení HDL-cholesterolu a normotriacylglycerolemii, sestra výraznou triacylglycerolemii

Otázky

1. O jakou hyperlipoproteinemii se jedná ?

Odpověď: Familiární kombinovaná hyperlipoproteinemii

2. Jaký je patobiochemický podklad tohoto onemocnění ?

Odpověď: Předpokládá se geneticky podmíněný vzestup produkce Apo B100. Dochází přitom k hromadění VLDL. Při dobré účinnosti lipoproteinové lipasy mohou být VLDL normální, ale jsou zvýšeny LDL; jindy jsou zvýšeny LDL i VLDL Fenotypová exprese může být u různých členů rodiny různá. Bývá i obezita. Frkvence výskytu v populaci asi 1%

3. Jaké léčení je doporučováno u familiární kombinované hyperlipoproteinemie ?

Odpověď: Nejprve omezení tuků v potravě a redukce energetického přísunu při nadváze. Nedojde-li ke zlepšení lipidového profilu, pak hypolipidemika: Niacin snižuje lipolýzu v tukové tkáni a inhibuje esterifikaci t)na triacylglyceroly v játrech. Nesnáší-li se pak kupř. pravastatin (inhibice HMG-CoA-reduktasy ⇒ ↓ syntézy cholesterolu)..

Pacient s diabetem a hyperlipoproteinemii

Muž, 45 let, léčený na diabetes mellitus typ 1, měl dle ošetřujícího lékaře řadu rizikových faktorů pro výskyt předčasného rozvoje aterosklerózy. Nedodržoval diatu jeho hmotnost stoupla z 92 kg na 98 kg, glykemie na lačno byla 12,1 mmol/l, cholesterol 8,0 mmol/l a triacyll glyceroly 3,2 mmol/l.

Otázky:

1. Které jsou hlavní rizikové faktory pro výskyt ischemické choroby srdeční?

Odpověď: Věk nad 45 r.,v anamnéze ICHS v rodině, kouření cigaret (nad 15 denně) hypertenze, obezita, málo pohybu, diabetes mellitus, hyperlipoproteinemie

2. Jaký nepříznivý vliv může mít špatně léčený diabetu na metabolismus lipoproteinů ?

Odpověď: 3patně léčený diabetes s trvalejšími atakami hyperglykemie vede ke glykaci proteinů a také proteinu LDL-receptoru i Apo B100. Takto pozměnné proteiny nejsou normálně metabolizovány, dochází k hromadění LDL-částic v cirkulaci.

3. Co navodí oxidované LDL-částice ?

Endotelie stěny arterií mohou být různě poškozeny (mechanicky, cytotoxicky, též oxidovanými Ldl-částicemi). Poškozená oblast přitahuje monocyty, které se mění na makrofágy. Tyto zachycují oxidované LDL a mění se na pěnové buňky. Poškozené endotelie začnou produkovat thromboxan A2, který navodí agregaci krevních destiček

Pacient po akutním infarktu myokardu

Muž, 53 roků, který prodělal akutní infarkt myokardu byl sledová ošetřujícím lékařem. Hlajna triacylglycerolů: 1,6 mmol/l, HDL.cholesterol: 0,89 mmol/l, cholesterol: 9,5 mmol/l, vypočtený LDL-cholesterol rovněž výrazně zvýšený. V rodinné anamnéze byl zaznamenán "vysoký cholesterol" u jeho mladšího bratra.

1. Jaká je nejpravděpodobnější forma hyperlipoproteinemie u tohoto pacienta ?

Odpověď: Familiární hypercholesterolemie (Typ Iia dle Fredricksona)

Jde o defekt genu kódujícího LDL-receptor.

2. Jaký je mechanismus léčebného účinku cholestyraminu (sekvestrant žlučových kyselin) a statinů ?

Odpověď: Preparát typu cholestyraminu (kupř. Colestipol) váží ve střevě žlučové kyseliny a brání tak jejich zpětnému vstřebání (blokuje entero-hepatální oběh).. Dochází tak ke zvýšené metabolizaci cholesterolu v játrech na žlučové kyseliny.

Statiny jsou inhibitory klíčového enzymu biosyntézy cholesterolu v buňkách – hydroxymethyl-glutaryl CoA reduktasy.

Pacient s hyperlipidemií

U muže, 65 roků, byla při běžné prohlídce objevena hyperlipidemie: cholesterol – 8,8 mmol/l, triacylglyceroly – 2,4 mmol/l

Pacient měl periorbitální edémy, suchou kůži a vlasy, V rodinné anamnéze nebyly kardiovaskulární choroby.

(1) Jaké mohou být příčiny kombinované hyperlipoproteinemie ?

Odpověď: Primární: Familiární kombinovaná hyperlipoproteinemie (Typ Iib dle Fredricksona), familiární dysbetalipoproteinemie (Typ II), neklasifikované

Sekundární: diabetes mellitus typ 2, hypothyreoidismus, nefropatie, imunoglobulinopatie,cholestáza, hepatopatie, systémový lupus erythematoses

(2) Jaká další vyšetření doporučujete pro diferenciální diagnostiku ?

Odpověď: Testy pro vyšetření štítné žlázy, jater, ledvin, elektroforéza proteinů.

Další průběh: Laboratorní testy u pacienta ukázaly aminotransferasy normální, GMT normální, bilirubin ani ALP nezvýšeny, chemické vyšetření moče a močového sedimentu v mezích normy, TSH – 43 U/l (N: pod 5,5), thyroxin – 12 nmol/l N: 60–160)

(3) Jaká je nyní diagnóza ?

Odpověď: Hypothyreoidismus, sekundární hyperlipoproteinemie

Poznámka: Nutno promárně léčit poruchu štítné žlázy, hyperlipoproteinemie se obvykle upraví)

Pacientka s xanthomy a hypercholesterolemii

Žena 55 roků, obezní, přišla k praktickému lékaři s uzly asi 2 cm v průměru na předloktí.

Na dlaních měla nažloutlé pruhy (palmární strie).

Laboratorní vyšetření:

S-cholesterol: 11,9 mmol/l
 S-triacylglyceroly: 8,7 mmol/l
 ELFO lipoproteinů: široká β -frakce

Otázka:

O jaký typ hyperlipoproteinemie jde.

Odpověď:

Jde o familiární dysbetalipoproteinemii (typ III dle Fredricksona). Provází ji fenotyp apoproteinu 2/2. Je způsobena nedostatečným odbouráváním VLDL, které se hromadí v cirkulaci (defekt v ligandě VLDL-zbytků pro apoE/apoB-receptor v játrech).

Manažér, 46-letý, na preventivní prohlídce

v anamnéze u otce akutní infarkt myokardu v 57 letech, ale žil do 79 roků. Pacient je obézní (104 kg, 175 cm), krevní tlak 170/100 mmHg.

Laboratorní vyšetření:

S-cholesterol: 6,5 mmol/l
 S-triacylglyceroly: 2,9 mmol/l
 HDL-cholesterol: 0,84 mmol/l

Otázka:

1. Jaké jsou zdravotní rizika u tohoto pacienta.

Odpověď:

Onemocnění ischemickou chorobou srdeční: hypertenze, mírná hypercholesterolemie triacylglycerolemie, snížený HDL-cholesterol, obezita, nedostatek pohybu, stresové zaměstnání

METABOLISMUS EIKOSANOIDŮ A JEHO PORUCHY

1. Úvod

Eikosanoidy, tj. prostaglandiny (PG), thromboxany (TX), leukotrieny (LT), patří mezi velmi účinné regulátory buněčných funkcí a jsou produkovány prakticky všemi buňkami. Působí jako "lokální hormony" tj. přímo na buňku svého vzniku (autokrinní účinek) nebo na buňky sousední (parakrinní účinek) event. na buňky nesousedící (endokrinní účinek).

- Metabolity arachidonové kyseliny (prostaglandiny a leukotrieny)

Tyto metabolity se účastní řady pochodů v organismu; zasahují do zánětlivé reakce, srážení krve, dále do funkce ledvin, kardiovaskulárního nebo respiračního systému.

Arachidonová kyselina je polynenasycená mastná kyselina přítomná ve velkém množství ve fosfolipidech buněčných membrán. Při zánětlivé reakci je uvolňována působením aktivované buněčné fosfolipasy (účinkem kupř. C5a). Přeměna arachidonové kyseliny se děje 2 cestami:

A. Cyklooxygenasová dráha

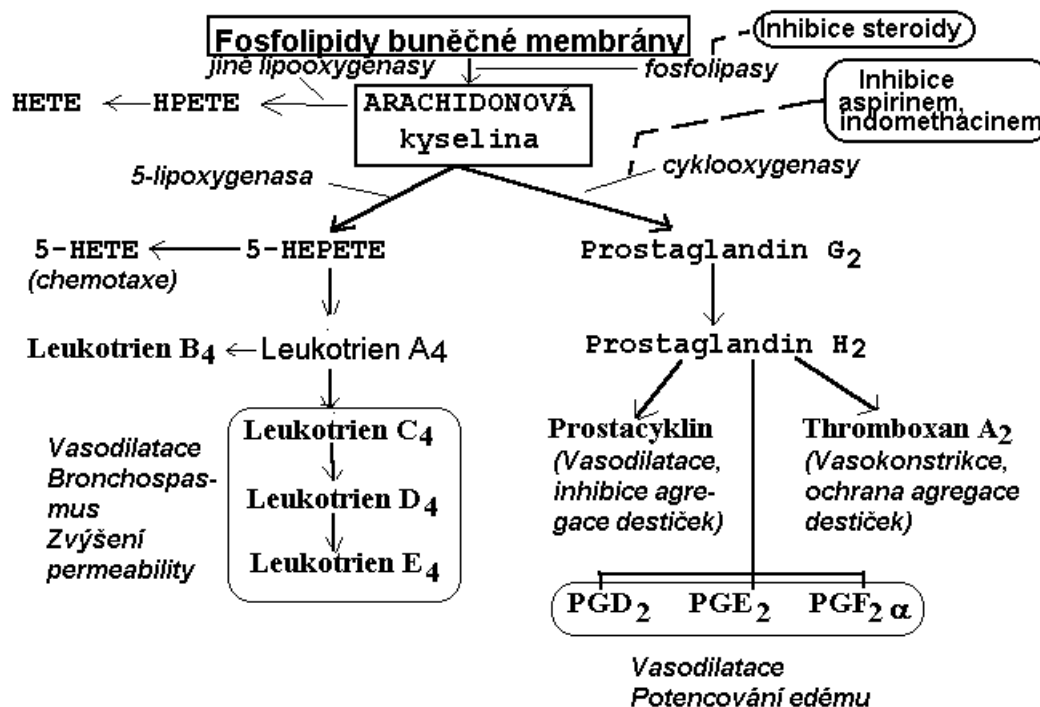
B. Lipoxygenasová dráha.

V cyklooxygenasové dráze se nejprve vytváří cyklický endoperoxid - prostaglandin G₂ (PGG₂), který je pomocí peroxidasy přeměňován na velmi nestabilní prekurzor prostaglandin H₂ (PGH₂); z něho vznikají biologicky aktivní produkty cyklooxygenasové dráhy: PGE₂, PGD₂, PGF₂α a dále prostacyklin (PGI₂) a thromboxan (TXA₂), a to působením specifických enzymů, jejichž distribuce v tkáních je rozdílná. Krevní destičky obsahují thromboxan-synthasu, a proto hlavním produktem v těchto buňkách je thromboxan. Jde o velmi potentní agens agregující destičky a o vazokonstriktor. Naproti tomu cévní endotel nemá thromboxan-synthasu, ale prostacyklin-synthasu, která produkuje prostacyklin. Prostacyklin je naopak vazodilatátor a látka inhibující agregaci destiček. Tato protichůdná aktivita TXA₂ a PGI₂ hraje důležitou úlohu v hemostáze.

Inhibici syntézy prostaglandinů umožňuje aplikace aspirinu nebo nesteroidních protizánětlivých léků, které blokují aktivitu cyklooxygenasy.

V lipoxygenasové dráze nejprve se přidává hydroperoxy-skupina na C5, C12 nebo C15 arachidonové kyseliny. Hlavním metabolitem je 5-hydroperoxyderivát - 5-HPETE, který je nestabilní a mění se na 5-HETE. Tento metabolit má chemotaktický účinek na neutrofile; je dále metabolizován na tzv. leukotrieny (=LT). LTB₄ je potentním chemotaktickým agens a způsobuje agregaci neutrofilů. LTC₄, LTD₄ a LTE₄ mají účinek vazokonstrikční, bronchospastický a zvyšují cévní permeabilitu. Neutrofile vytvářejí také trihydroxyderiváty arachidonové kyseliny tzv. lipoxiny, které mají význačný protizánětlivý účinek.

Obr.: Metabolismus arachidonové kyseliny



2. Význam eikosanoidů

Znalosti o metabolismu arachidonové kyseliny a o účinku prostaglandinů a leukotrienů pomáhají také vysvětlit terapeutické účinky protizánětlivých léků. Aspirin a indomethacin blokují aktivitu cyklooxygenasy, a tedy tím tvorbu prostaglandinů; steroidy účinkují až ve fázi fosfolipasy A2, takže brání vzniku arachidonové kyseliny. Účinek aspirinu je ireverzibilní, protože přenáší acetylovou skupinu na enzym, indomethacin je reverzibilním inhibitorem cyklooxygenasy.

Rovněž antithrombotický účinek rybího tuku v dietě je možno vysvětlit přítomností nenasycených mastných kyselin typu ω 3 (omega 3), které nejsou vhodným substrátem pro cyklooxygenasu, a tedy pro vznik biologicky aktivních metabolitů, které potencují agregaci trombocytů jako je thromboxan A2, ale dávají vznik thromboxanu A3 (TXA3), který je v tomto smyslu mnohem méně účinný. Naopak adekvátním substrátem pro takové metabolity je živočišný tuk, ale i tuk rostlinný.

Tab.: Některé funkce prostaglandinů

Prostaglandin	Zvyšuje	Snižuje
PGI ₂ , PGE ₂ , PGD ₂	vazodilataci, cAMP	agregaci destiček a leukocytů IL-1a, IL-2 proliferaci T-buněk migraci lymfocytů
PGF ₂ □	vazokonstrikci bronchodilataci kontrakci hladkých svalů	

Leukotrieny byly nazvány takto proto, že jsou tvořeny v leukocytech a že mají typickou trienovou strukturu tj. 3 dvojnásobné vazby v pozici 7, 9, 11.

Tab.: Některé funkce leukotrienů

Leukotrien	Zvyšuje
LTB ₄	vaskulární permeabilitu proliferaci T-buněk agregaci leukocytů tvorbu INF□, IL-1, IL-2
LTC ₄ , LTD ₄	bronchokonstrikci permeabilitu cév tvorbu INF□

3. Mechanismus účinku eikosanoidů

Různé funkce eikosanoidů jsou realizovány prostřednictvím specifického receptoru na plasmatické membráně cílových buněk. Vazba na tento receptor aktivuje systém adenylátcyklasa–cAMP–proteinkinasa nebo způsobuje zvýšení hladiny Ca²⁺ v cytosolu.

Eikosanoidy též modulují stupeň aktivace adenylátcyklasy v odpovědi i na jiné podněty. V tomto případě se eikosanoidy vážou na regulační podjednotku GPT-vázajících proteinů (G–proteiny), a tak amplifikují výsledný účinek, naopak, když se navážou na inhibiční podjednotku G–proteinů, odpověď buňky na stimulus je potlačena.

V přítomnosti aspirinu je cyklooxygenasa ireverzibilně inhibována acetylací; nové molekuly cyklooxygenasy nejsou syntetizovány, protože trombocyty nemají jádro, a tedy nemohou tvořit novou mRNA. Proto inhibice trvá po dobu života trombocytů tj 7–10 dní. Denní dávky aspirinu 80–320 mg stačí k potlačení tvorby trombů, vyšší dávky jsou nejen zbytečné, ale mohou mít i vedlejší účinek.

Léky, které jsou analogy prostaglandinů PGE1 a PGE2 potlačují sekreci kyseliny chlorovodíkové v žaludeční sliznici, protože blokují histaminové receptory typu 2 (tzv. H2–blokátory).. Tím usnadňují léčení vředové choroby..

Stimulační účinek PGE2 a PGE2 na svalovinu dělohy se používá k indukci porodu a k ovlivnění eventuálního poporodního krvácení.

Otázky

(1) Jaký je rozdíl v účinku aspirinu a nesteroidních antiflogistik typu indomethacinu na aktivitu cyklooxygenasy ?

Odpověď: Aspirin blokuje aktivitu cyklooxygenasy ireverzibilně acetylací molekuly enzymu. Tento účinek pomine až se zánikem trombocytů tj. za 7–10 dní Indomethacin blokuje pouze přechodně receptory pro prostaglandiny (série PGE, PGD a PGI)

(2) U některých astmatiků dojde k exacerbaci symptomů. když užívají nesteroidní antiflogistika. Jak je to možno vysvětlit z biochemického hlediska ?

Odpověď: Nesteroidní antiflogistika inhibují cyklooxygenasu ale ne lipoxygenasu. Metabolismus arachidonové kyseliny nemůže pokračovat za přítomnosti nesteroidních antiflogistik cyklooxygenasovou dráhou. Proto je více substrátu pro dráhu lipoxygenasovou. Vzniká tak více leukotrienů, které navozují bronchokonstrikci. Bronchokonstrikční účinek převažuje nad bronchodilatačním účinkem prostaglandinů a thromboxanu.

(3) Která z dvojic má opačný účinek ?

- (A) Cholová a lithocholová kyselina
- (B) 5-HPETE a leukotrien D4
- (C) Laktosylceramid a galaktocerebrosid
- (D) Thromboxan A2 a prostacyklin (PGI2)
- (E) Aceton a 3-hydroxybutyrát

Odpověď:

- Správně je D. Thromboxan vytvořený v krevních destičkách, způsobuje kontrakci arterií a navozuje agregaci destiček. Přesně opačný účinek má prostacyklin.

Příklady pacientů

Pacientka s astmatem

Žena, 46 roků, byla léčena ambulantně na astmoidní bronchitidu inhalací triamcinolon acetonidu. Před přijetím k hospitalizaci prodělala infekci horních cest dýchacích a její dechové obtíže se výrazně zhoršily až přešly do akutního astmatického záchvatu s výrazným bronchospasmem. Byly nasazeny glukokortikoidy iv.

Jakým mechanismem působí glukokortikoidy při léčení astmatu ?

Odpověď:

- Glukokortikoidy potlačují některé projevy zánětlivé reakce, která navozuje bronchospasmus a vede tak k akutnímu astmatickému záchvatu. Inhibují vputování leukocytů a monocytů/makrofágů do zánětem postižených oblastí a tak snižují produkci některých chemotaktických i jiných látek, zvláště pak eikosanoidů, které zprostředkovávají nežádoucí reakci. Glukokortikoidy podporují syntézu kupř. lipokortinů a makrokortinů, které inhibují aktivitu fosfolipasy A2. Důsledkem je to, že tvorba prozánětlivých prostaglandinů a leukotrienů je potlačena.

Pacient s kardiovaskulárním onemocněním

Muž s ischemickou chorobou srdeční zívá preventivně malé dávky aspirinu.

Jaký je patobiochemický mechanismus příznivého účinku aspirinu na výskyt akutního infarktu myokardu ?

Odpověď:

- Aspirin (acetylosalicylová kyselina) inaktivuje ireversibilně cyklooxygenasu, tím že ji acetyluje. Tím je blokována tvorba thromboxanu A2 z arachidonové kyseliny. Thromboxan je mocným vazokonstriktorem a stimulantem agregace trombocytů (tedy mechanismů, které mohou výrazně zúžit až ucpat některou koronární tepnu → akutní infarkt myokardu). Inaktivace cyklooxygenasy je ireversibilní a protože zralé destičky nemohou tvořit nové proteiny, inaktivace trvá 7–10 dní, kdy se vytvoří generace nových trombocytů.

Jaký nepříznivý účinek může mít podávání acetylosalicylové kyseliny u některých pacientů ?

Odpověď:

- Dlouhodobé podávání aspirinu může vést u některých pacientů ke vzniku akutního žaludečního vředu. Snížením tvorby prostaglandinů se totiž odstraní tlumivý vliv na sekreci kyselé žaludeční šťávy navozené gastrinem.

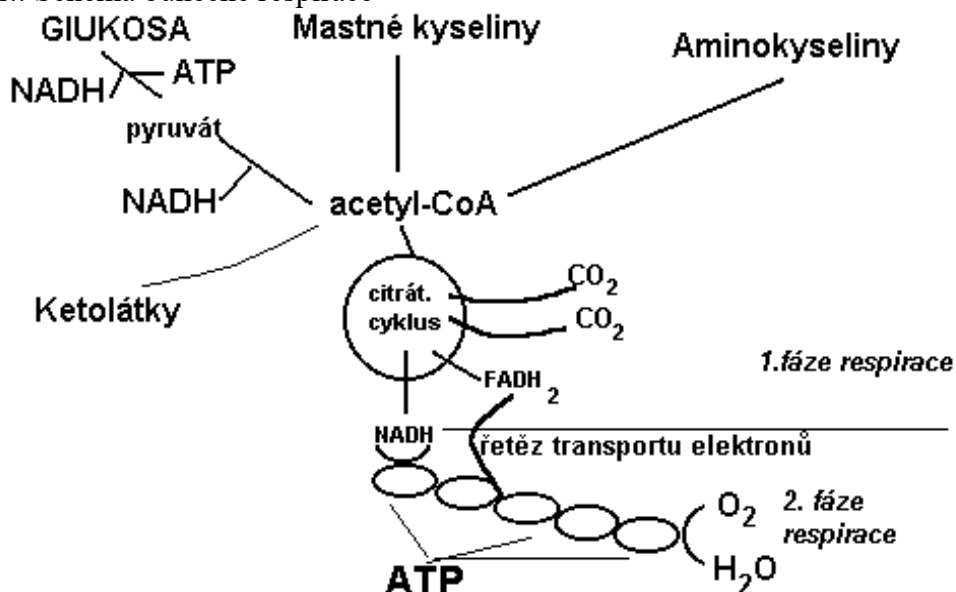
ENERGETICKÝ METABOLISMUS A JEHO PORUCHY

!. Úvod

Všechny procesy v živých buňkách probíhají za transformace energie. Energie chemické vazby mezi uhlíkem a uhlíkem (–C–C–) a mezi uhlíkem a vodíkem (–C–H–) je přeměňována ne jiné formy.. Energetickou transformaci v buňkách z živin přijímaných z okolí můžeme rozdělit do 3 fází: (1) získávání energie oxidací živin, (2) konverze této energie do biologicky využitelné formy vysoceenergetických fosfátových vazeb ATP, (3) utilizace energie fosfátových vazeb ATP pro pochody vyžadující energii

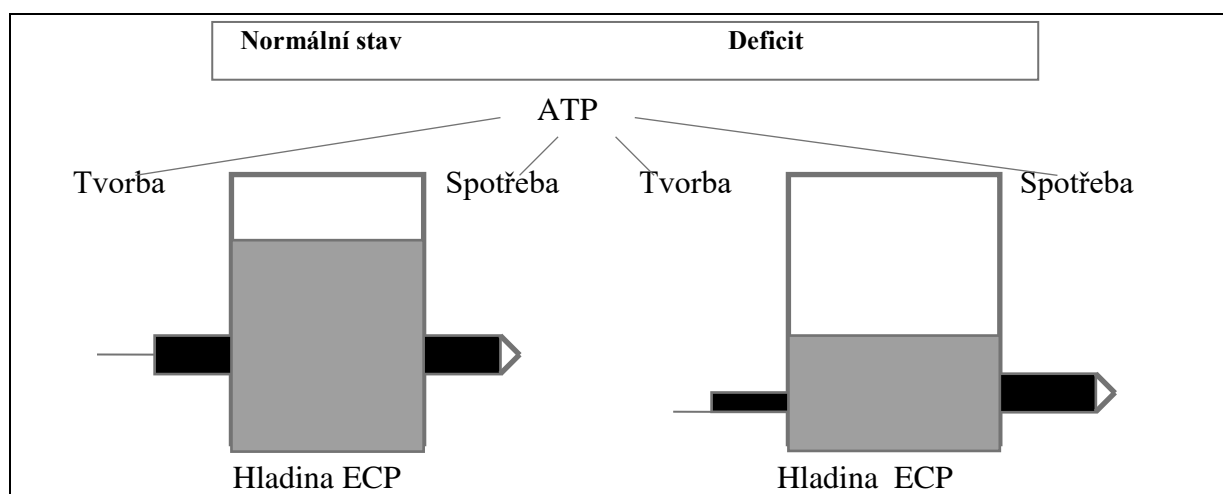
První 2 fáze transformace energie jsou součástí tzv. buněčné respirace.

Obr.: Schéma buněčné respirace



2. Vztah mezi tvorbou a spotřebou ATP

Buňka získává energii hlavně oxidační fosforylací, která se odehrává v respiračním řetězci v mitochondriích. Méně účinná, ale stejně důležitá je produkce energie v průběhu anaerobní glykolýzy. Mají-li být životní pochody v organismu zachovány, musí být tvorba adenosintrifosfátu (ATP), který je hlavním bezprostředním dodavatelem energie, vyvážena s jeho potřebou; není-li tomu tak, vzniká energetický deficit (Obr. 1)



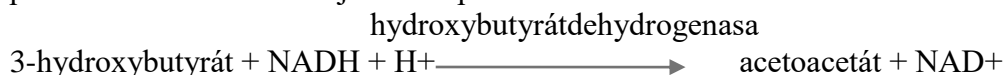
Množství buněčné energie lze vyjádřit podle Atkinsona jako hladinu energetického potenciálu (ECP):

$$\text{ECP} = \frac{[\text{ATP} + 0,5 \text{ADP}]}{[\text{ATP} + \text{ADP} + \text{AMP}]}$$

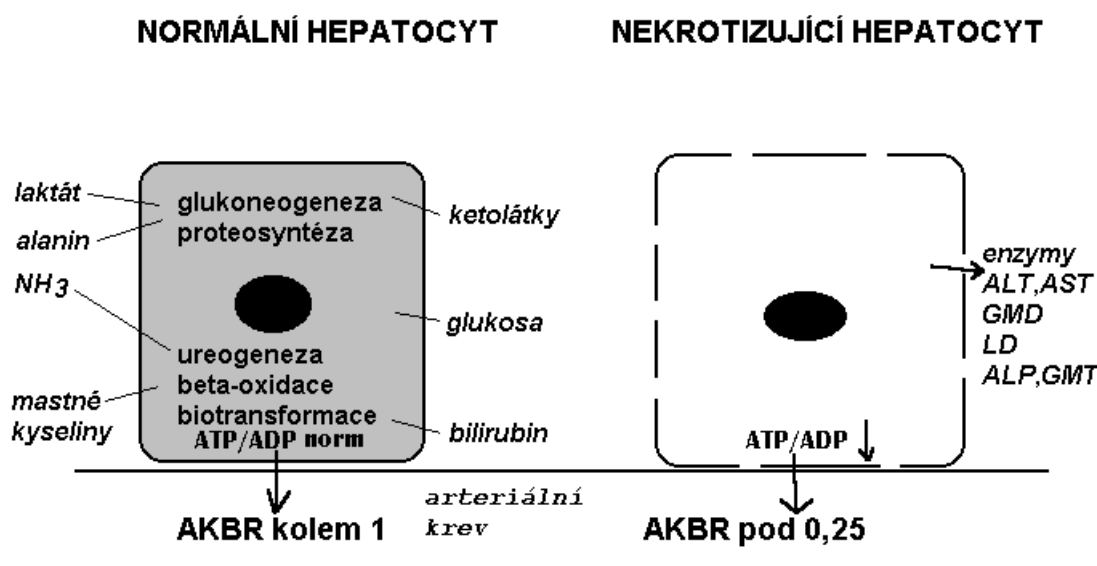
Energetická homeostáza je určována regenerací ATP z ADP, a tedy především oxidací NADH (nikotinamidadenindinukleotidu), který je kofaktorem oxidoreduktas v mitochondriích i v cytoplasmě, na NAD⁺.

3. Vyšetření energetického potenciálu (jaterní) buňky

Měření poměru NAD^+/NADH (redox-potenciál) přímo v buňkách (mitochondriích) není možné. Ozawa (1983) přišel na způsob nepřímého měření intramitochondriálního redox-potenciálu na základě vzájemného poměru oxido-redukční reakce:

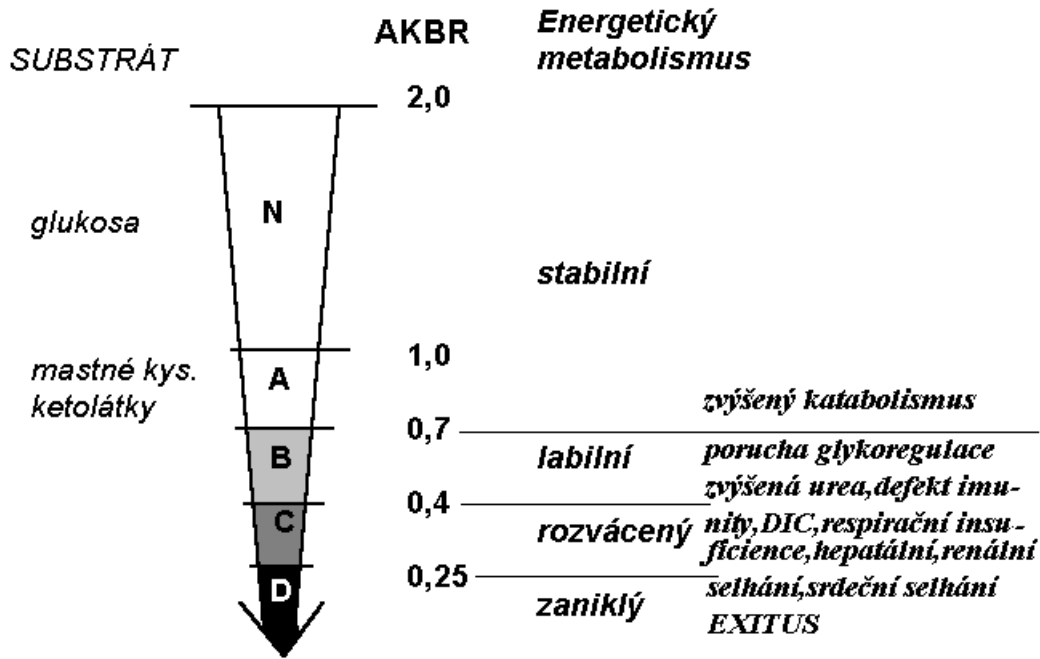


Podmínkou je měřit tento poměr v arteriální krvi a dále v nepřítomnosti stavů, kdy dochází k nadprodukci ketolátek (ketóza). Ozawa (1992) nazval toto vyšetření jako stanovení poměru ketolátek v arteriální krvi (=AKBR=Arterial Ketone Body Ratio) a prokázal, že reflektuje intramitochondriální poměr NAD^+/NADH a tím i ATP/ADP především v hepatocytech. Poškození jaterních buněk (nekróza) se všemi důsledky (deficit buněčné energie) a projevy poruch metabolických funkcí hepatocytu znázorňuje další obrázek (Obr. 2).

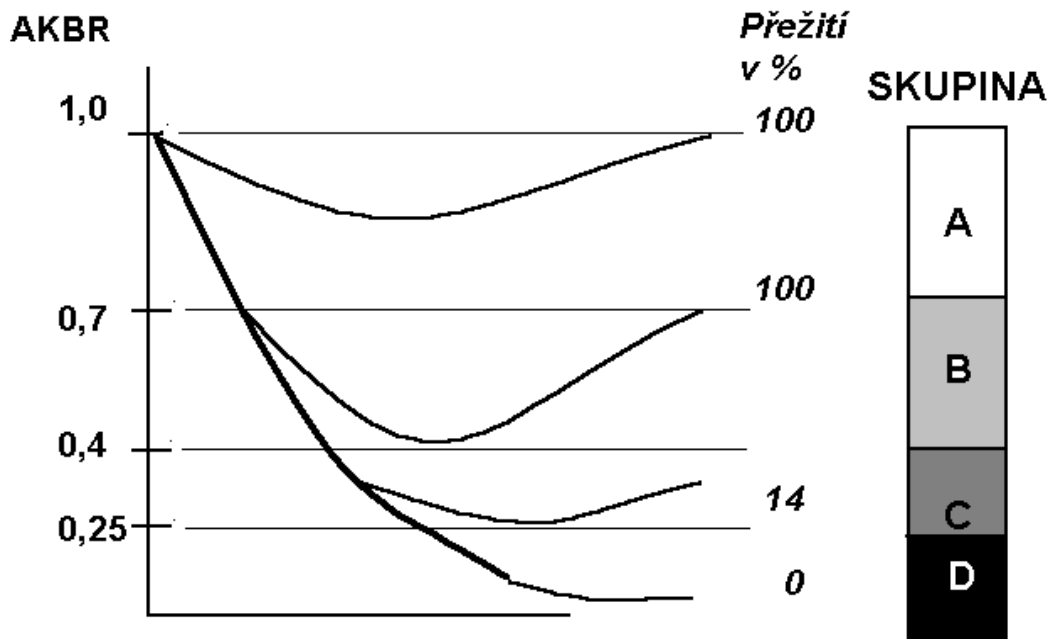


Při energetické vyrovnanosti hodnota AKBR je $> 1,0$ a nejvýše může být $2,0$. Docílí se u zdravých jedinců podáním 75 g glukosy per os nebo aplikací 15 g intravenózně. Ozawa nazval tuto hodnotu jako oxidační maximum (Oxi-Max).

Získává-li organismus energii převážně oxidací mastných kyselin, AKBR se snižuje k hodnotě $0,7$. Další pokles pod tuto hodnotu odráží postupný energetický deficit. Kritickou, ale ještě reverzibilní situací je pokles až k hodnotě $0,4$; snížení pod $0,25$ je už s životem neslučitelné (Obr. 3).



Sledování trendu AKBR může být objektivním prognostickým ukazatelem klinického stavu kriticky nemocných. (Obr. 4).



Při poklesu AKBR pod 0,4 dochází ke kompletní inhibici glukoneogeneze, k výraznému vzestupu laktátu, ke snížení poměru cytoplasmatického $NAD^+/NADH$, začíná pokles i mitochondriálního $NAD^+/NADH \Rightarrow \Rightarrow \Rightarrow$ mnohočetná orgánová dysfunkce.

V laboratorním vyšetření nalézáme projevy intolerance glukosy (hyperglykémii při exogenním podání) nereagující ani na současnou aplikaci insulinu, sníženou hladinu větvených aminokyselin, patologický Fisherův index, zvýšený katabolický index, negativní bilanci dusíku, patologickou diferencí mezi vypočtenou a naměřenou hodnotou osmolality, hyperbilirubinemií, zvýšení AST, ALT, LD, hyperamonemii, zvýšení kreatininu, pozitivní testy pro přítomnost diseminované intravaskulární koagulopatie (antithrombin III, Quickův

test, aPTT, faktor II, V, VII, IX, X, antiplasmin), pozitivní testy svědčící pro poruchu imunity, snížení proteosyntézy (nízký prealbumin, albumin, transferin).

Hodnota AKBR je velmi užitečná též pro správné vedení nutriční terapie u kriticky nemocných. Informuje totiž o tom, který substrát je především využíván buňkami pro krytí potřebné energie (Obr. 5)

AKBR	SKUPINA	SUBSTRÁT	Nutriční terapie
1,0 0,7 0,4 0,25	N	glukosa	běžná intenzivní výživa
	A		
	B	mastné kyseliny	metabolická podpora jater
	C		
	D		

Aplikace

stanovení AKBR

Nejdůležitější klinické situace, při nichž je vhodné vyšetřovat hodnotu AKBR:

- * včasné rozpoznání hrozící multiorgánové dysfunkce
- * monitorování těžkých zákroků na játrech (resekce, transplantace)
- * sledování kriticky nemocných (hemoragický šok, abdominální sepse, polytraumata)
- * monitorování adekvátnosti umělé výživy

4. Energetická bilance

Příjem a výdej energie v organismu musí být vyvážený, aby nedošlo k přírůstku nebo úbytku na tělesné hmotnosti. Energetický obsah složek potravy je následující:

Složka	kcal/g
Sacharidy	4
Proteiny	4
Tuky	9
Alkohol	7

Energetické zásoby u dospělého člověka (70 kg) tvoří:

Tuk..... 85% (15 kg)
 Jaterní glykogen 0,2% (0,08 kg)
 Svalový glykogen 0,4 % (0,15 kg)
 Proteiny (nejsou pravou zásobou) 14,5% (6 kg)

Bazální metabolický obrat (BMR) je míra energie potřebná k udržení základních životních funkcí v klidu na lůžku. V průměru to je 24 kcal/den/kg tělesné hmotnosti (kupř. 24x70 = 1680)

Podrobnější výpočet:

Harris–Benedictův vzorec:

BMR–ženy = 655 + (9,6 x hmotnost v kg) + (1,8 x výška v cm) - (4,7 x věk v rocích)

BMR–muži = 66 + (+ 13,7 x hmotnost) + (5 x výška) - (6,8 x věk)

Owenův vzorec:

BMR–ženy = 795 + (7,18 x hmotnost)

BMR–muži = 879 + (10,2 x hmotnost)

Při zvýšení fyzické aktivity je nutno tuto bazální potřebu (výdej) energie násobit faktorem aktivity:

	Stupeň aktivity	faktor aktivity/hodina (v kcal=kJ)
Klid	spánek, klid na lůžku	1,0 (1680 =)
Velmi mírná	aktivita vsedě a vestoje, řízení auta, administrativní práce, vaření, hraní v karty, muzicírování	1,5 (2520=)
Mírná	chůze s výkonem 4–4,8 km/h, práce v garáži, v restauraci, úklid domu, golf, stolní tenis	2,5 (4200=)
Střední	chůze s výkonem 5,6–6,4 km/h, nošení nákladů, jízda na kole, lyžování, tenis, tanec	5,0 (8400=)
Těžká	chůze do kopce s nákladem, kácení stromů, horolezectví, těžká manuální práce, košíková, fotbal, hokej	7,0 (11 760=)

5. Poruchy energetického metabolismu

Příčiny poruch energetického metabolismu můžeme rozdělit do 3 velkých skupin:

- (1) Poruchy způsobené nevyvážeností přívodu a výdeje energie (dlouhodobé hladovění, anorexie nervosa, malnutrice, marasmus, malabsorpce, přejídání)
- (2) Poruchy v intermediárním metabolismu (endokrinopatie jako hypertyreóza, esenciální obezita, nádorová kachexie, mnohočetná orgánová dysfunkce)
- (3) Poruchy v buněčné respiraci (tkáňová hypoxie, látky způsobující rozpojení oxidace od fosforylace, otrava kyanidem nebo CO)
- (4) Příčiny kombinované

Poruchy z nedostatku kyslíku

Při nedostatku kyslíku v mitochondriích je znemožněna regenerace ATP z ADP oxidativní fosforylací jako hlavní zdroj energie pro aerobní organismy; anaerobní glykolýza, která se snaží pokrýt nejnmutnější požadavky buněčné energie, vystačí jen velmi krátkou dobu (za normálních okolností několik málo desítek sekund až několik minut). Nahromadění konečného metabolitu anaerobní glykolýzy - mléčné kyseliny - zvýší natolik koncentraci protonů (H⁺), po vyčerpání všech regulačních mechanismů, že dojde k zablokování buněčného metabolismu, končícího buněčnou smrtí (ne všechny tkáně jsou postiženy stejně rychle). Porozumění základním mechanismům, kterými se řídí stav kyslíku v organismu je velmi důležité pro správnou diagnózu a tím i adekvátní léčbu) zejména pacientů v kritickém stavu s nedostatečným přísunem kyslíku pro buněčný energetický metabolismus. Kritický přísun kyslíku (critical oxygen delivery) závisí dle Siggaard-Andersena na příčině nízkého přísunu. Kupř. je-li přísun kyslíku poloviční a je to způsobeno snížením minutového srdečního objemu na polovinu, pak parciální tlak kyslíku (pO₂) ve smíšené venózní krvi klesne asi na hodnotu 3, 5 kPa. Je-li to však způsobeno polovičním snížením koncentrace celkového kyslíku v arteriální krvi, pak pO₂ ve smíšené venózní krvi klesne asi na 2, 2 kPa. Tenze kyslíku ve smíšené venózní krvi velmi úzce souvisí s průměrnou tenzí O₂ na konci kapilárního řečiště, která předurčuje difúzní gradient pro O₂ z erytrocytů do mitochondrií. Z tohoto důvodu má údaj o kritické hodnotě pO₂ ve smíšené venózní krvi větší výpovědní hodnotu než kritický přívod kyslíku.

1. Patobiochemie metabolismu O₂

Oxidační metabolismus u člověka je ovlivňován třemi základními faktory:

(a) Konvekčním transportem O₂ z okolního vzduchu do krevních kapilár příslušných tkání za pomoci hemoglobinu a erytrocytů jako vehikula.

(b) Difúzí O₂ z erytrocytů v kapilárách do mitochondrií buněk

(c) Redukcí kyslíku v mitochondriích prostřednictvím transportů elektronů z reduktantů, tj. sacharidů, tuků nebo proteinů (transportní řetěz elektronů sestávající z cytochromů, flavoproteinů a nikotinamidnukleotidů).

1.1. Charakteristika jednotlivých veličin

- Vedení kyslíku (oxygen convection)

Látková změna (substance rate) vedení kyslíku krevním proudem, tj. přívod kyslíku (n_{O_2} flow) je produkt minutového srdečního objemu (V. B flow) a koncentrace celkového kyslíku v arteriální krvi (ct O₂ a)

$$n_{O_2} \text{ flow} = V. B \text{ flow} \cdot ct_{O_2} a$$

Látková změna extrakce kyslíku z krve (n. O₂ extr) je produkt srdečního minutového objemu a arteriovenózního rozdílu koncentrace celkového kyslíku:

$$n. O_2 \text{ extr} = V. B \text{ flow} \cdot D_{ct_{O_2} a}$$

- Difúze kyslíku

Látková změna difúze kyslíku z hemoglobinu na cytochromoxidasu, tj. cytochrom aa₃ (n. O₂ diff) může být vypočtena jako produkt difúzního koeficientu (DO₂), koeficientu rozpustnosti O₂ (alfa O₂), celkové difúzní plochy endotelu kapilár (A) a gradientu tenze kyslíku (dpO₂/dl):

$$n. O_2 \text{ diff} = DO_2 \cdot \text{alfa } O_2 \cdot A \cdot dp_{O_2}/dl$$

Produkt difúzního koeficientu a koeficientu rozpustnosti je koeficient permeability (kappa O₂). Poměr mezi plochou difúze a difúzní drahou narůstá ve svalu při aktivitě (práci) vzrůstem počtu průtočných kapilár. A tento poměr klesá, dojde-li k edematóznímu prosáknutí tkáně nebo při mikroembolizaci.

Gradient tenze kyslíku je rozdíl středních tenzí kyslíku (pO₂ cap - pO₂ cell) dělený střední vzdáleností mezi erytrocyty a mitochondriemi. Limitujícím faktorem difúze kyslíku je tenze O₂ na konci kapilárního řečiště.

Tenze kyslíku smíšené venózní krve se většinou rovná tenzi O₂ na konci kapiláry; je třeba však přitom brát v úvahu arterio-venózní zkraty. Když kupř. vzrostou arterio-venózní zkraty v kůži nebo jinde o 10 % z celkového srdečního minutového objemu, pak tenze O₂ smíšené venózní krve je asi o 0,3 kPa vyšší než střední tenze O₂ na konci kapilár.

- Redukce kyslíku

Redukce O₂ v mitochondriích probíhá jako reakce nultého řádu, která odvisí spíše na požadavcích energie než na dostupnosti kyslíku. Hyperbazický kyslík, kupříkladu, nezvyšuje spotřebu kyslíku. Jinými slovy velikost difúze kyslíku (n. O₂ diff) a velikost extrakce kyslíku (N. O₂ extr) se vzájemně nastaví tak, aby to odpovídalo velikosti redukce kyslíku (n. O₂ red.). Tato je regulována poměrem ATP/ADP. Více než 90 % redukce kyslíku se děje v mitochondriích, kde při redukcí jedné molekuly O₂ dojde při oxidační fosforylaci k obnově 6ti molekul ATP z ADP. V některých tkáních jako je hnědý tuk u některých savců je redukce

kyslíku sdružena pouze s produkcí tepla bez vzniku ATP. Některá toxická agens nebo léky rozpojují oxidativní fosforylaci a ATP při redukci O₂ nevzniká. Množství energie vznikající při redukci O₂ činí asi 450 kJ/mol; závisí to na povaze metabolizovaného zdroje (sacharidy, tuky nebo proteiny). Užitečná chemická energie při hydrolýze ATP činí asi 50 kJ/mol. Redukce O₂ začne probíhat podle reakční kinetiky prvního řádu podle koncentrace pO₂ v buněčném cytosolu, jakmile jeho hodnota poklesne o 0, 1 kPa pod kritickou hranici. Normální průměrná tenze O₂ v buňce činí 1, 6 kPa s variacemi podle druhu tkáně. Toxická inhibice cytochromů zvyšuje kritickou hodnotu buněčného pO₂. Otrava kyanidem může blokovat redukci kyslíku úplně.

Normální průměrná hodnota pO₂ na konci kapilárního řečiště je asi 5, 0 kPa. Průměrný rozdíl mezi pO₂ v erytrocytech a v mitochondriích je asi 3, 4 kPa. Dýchání vyššího obsahu kyslíku zvyšuje pO₂ na konci kapiláry stejně jako v buňce, takže rozdíl a rychlost difúze zůstávají stejné. Když poklesne pO₂ na konci kapiláry kupř. pro pokles arteriálního pO₂, buněčný pO₂ poklesne o stejnou hodnotu a také difúzní tok zůstávají nezměněny až do okamžiku, kdy hodnota pO₂ na konci kapiláry dosáhne kritické hodnoty t. j. 3, 5 kPa a buněčné pO₂ klesne na hodnotu 0, 1 kPa. Pokračující pokles pO₂ na konci kapiláry způsobí snižování redukce O₂ v mitochondriích. Když kupř. pO₂ na konci kapiláry klesne na 1, 7 kPa, pak buněčné pO₂ poklesne na hodnotu 0, 05 kPa; rychlost difúze O₂ je pak poloviční, což předurčuje rychlost redukce O₂, která je také poloviční.

1.2. Vztah mezi rychlostí redukce kyslíku a pO₂ ve smíšené venózní krvi

- Primární změny v pO₂ smíšené venózní krve

Když venózní pO₂ stoupá, kupř. při inhalaci bohaté na O₂, rychlost spotřeby O₂, zůstává konstantní. Je-li však vzestup venózního pO₂ způsoben zvýšením srdečního minutového objemu, rychlost spotřeby O₂ narůstá pro zvýšenou práci srdce. Když venózní pO₂ klesá, zůstává rychlost spotřeby O₂ většinou nezměněna, dokud není docíleno kritické hodnoty (3, 5 kPa). Další snižování vede k poklesu spotřeby O₂.

Při normálním stavu kyslíku a normální spotřebě O₂, zdvojení srdečního minutového objemu zvýší pO₂ ve smíšené venózní krvi z 5, 0 kPa na 6, 6 kPa; klesne-li srdeční minutový objem na polovinu pO₂ v. klesne na hodnotu kolem 3, 5 kPa. Změna v extrakci kyslíku z arteriální krve způsobuje stejnou změnu v pO₂ smíšené venózní krve, a tedy když rozdíl v arterio-venózní koncentraci O₂ dostane hodnotu 2, 3 mmol/l, pO₂ ve smíšené venózní krvi se prakticky rovná extrakční tenzi arteriálního kyslíku.

- Změny v poměru mezi plochou průměrné difúze kyslíku a difúzní vzdáleností

Kritická hodnota pO₂ smíšené venózní krve a křivka závislosti spotřeby kyslíku odvisí od poměru difúzní plocha/difúzní vzdálenost. Zvýšený poměr způsobený zvýšením počtu průtočných kapilár posunuje křivku spotřeby doleva (viz nomogram) a současně snižuje kritickou hodnotu smíšeného venózního pO₂. Snižování tohoto poměru posunuje křivku doprava a zvyšuje kritickou hodnotu pO₂. Také zvýšení procenta arterio-venózních zkratů posunuje křivku doprava.

Patologické stavy v metabolismu kyslíku

Definice tkáňové hypoxie

Nedostatek kyslíku v tkáních - tkáňová hypoxie - by měl být včas rozpoznán, správně klasifikován a pokud možno kvantifikován.

Tkáňovou hypoxii se rozumí situace, kde tvorba oxidační energie je nedostatečná, kdy nastupuje produkce energie z anaerobní glykolýzy ve zvýšené míře, což způsobuje laktátovou acidózu a tím poruchy v buněčném metabolismu.

Příčiny tkáňové hypoxie

Podle Siggaard-Andersena lze příčiny hypoxie rozdělit do osmi skupin:

- (1) Snížení srdečního minutového objemu (V. B) způsobuje ischemickou hypoxii
- (2) Snížení kyslíkové tenze (px) způsobuje hypoxii z nízké extraktivity
Příčiny nízkého px jsou:
 - nízké arteriální pO₂ (= hypoxemická hypoxie)
 - nízká efektivní koncentrace hemoglobinu (= anemická hypoxie)
 - nízké p50 (=hypoxie z vysoké afinity Hb pro O₂)
- (3) zvýšené arterio-venózní zkratky (fav-) (=zkratová hypoxie)
- (4) Zvýšení střední dráhy difúze kyslíku (l diffus) (=dysperfúzní hypoxie)
- (5) Snížení difúzní plochy v endotelu kapilár pro O₂ (A diffus) (=dysperfúzní hypoxie)
- (6) Inhibice cytochromů toxickými látkami
(cyt. inhib.) (=histotoxická hypoxie)
- (7) Snížený poměr mezi tvorbou ATP a redukce O₂ (=hypoxie z rozpojení oxidativní fosforylace)
- (8) Zvýšení energetického metabolismu (hypermetabolická hypoxie)

Poznámka:

Kvantitativní měření těchto příčin hypoxie je možné pouze u prvních dvou tj. měření minutového srdečního objemu a extrakční tenze kyslíku v arteriální krvi. Ostatní příčiny musí být hodnoceny klinicky.

Třídy tkáňové hypoxie

Na základě účinku výše zmíněných faktorů na hodnotu pO₂ smíšené venózní krve a na rychlost spotřeby kyslíku, je možno oněch 8 příčin hypoxie klasifikovat do 3 tříd.

- Třída A

Primární poruchou je snížení pO₂ ve smíšené venózní krvi beze změn v optimální rychlosti spotřeby kyslíku. Když pO₂ v- klesne pod kritickou hodnotu, klesá též rychlost spotřeby O₂, což vede ke zvýšení anaerobní glykolýzy a tím k laktátové acidóze. Příčinou může být nízký srdeční minutový objem anebo nízká extrakční tenze kyslíku. Nízká hodnota jedné z těchto komponent může být kompenzována příslušnou změnou v druhé složce. Terapeutickým cílem je zvýšit pO₂ nad kritickou hodnotu, aby byla zajištěna optimální rychlost spotřeby kyslíku.

- Třída B

Primární poruchou je navýšení kritické hodnoty pO₂ ve smíšené venózní krvi, aniž by došlo ke změně v optimální spotřebě O₂. Když kritická hodnota smíšeného venózního pO₂ vzroste nad normální hodnotu (tj. 5 kPa), rychlost spotřeby kyslíku klesne a smíšený venózní pO₂ stoupne aniž by vzrostl srdeční minutový objem anebo extrakční tenze kyslíku jako kompenzační mechanismus. Pokles změny spotřeby kyslíku pod optimální hranici vyústí v anaerobní glykolýzu s následnou laktátovou acidózou.

Příčiny hypoxie třídy B je "dysperfúze" způsobená zvýšením arterio-venózních zkratů, intersticiálním edémem s nárůstem difúzní vzdálenosti potřebné pro přenos kyslíku z hemoglobinu do mitochondrií a snížení celkové difúzní plochy endotelu kapilár. Histotoxická hypoxie způsobená inhibicí cytochromů může rovněž způsobit primární zvýšení kritické hodnoty pO₂ ve smíšené venózní krvi, protože se zvyšuje kritické pO₂ buňky. Terapeutickým cílem, kromě kauzální terapie, je zvýšení smíšeného venózního pO₂ na supra-normální hodnotu.

- Třída C

Primární poruchou je zvýšení bazálních požadavků na kyslík se sekundárním vzestupem kritické hodnoty pO₂ ve smíšené venózní krvi. Je-li minutový srdeční objem nezměněn, smíšené venózní pO₂ klesá jako důsledek vzestupu spotřeby kyslíku (n.)2). Příčinou hypoxie

třídy C je zvýšený metabolismus způsobený rozpojením oxidativní fosforylace ATP a zvýšením potřeby ATP.

Terapeutickým cílem je zvýšení smíšeného venózního pO₂ na supra-normální hodnotu, aby byl zajištěn difúzní tok kyslíku souběžně se zvýšenou spotřebou O₂.

Tab. : Klasifikace hypoxií s uvedením patofyziologických změn a příčin

TŘÍDA	ZMĚNA			PŘÍČINA	
	optimální změna spotřeby O ₂	kritické smíšené venózní pO ₂	akt. smíšené venózní pO ₂	Typ hypoxie	Primární porucha
A	normální	normální	snížené	-ischemická -nízká extraktivita -hypoxemická -anemická -z vysoké afinity	↓ VB ↓ px ↓ pO _{2a} ↓ ce Hb ↓ p50
B	normální	zvýšené	zvýšené	-zkratová -dysperfúzní -histotoxická	↑ Fav ↑ I diffus a ↓ A diffus inhibice cytochromů
C	zvýšené	zvýšené	snížené	-rozpojení oxidativní fosforylace - hypermetabolická	↓ n ATP

METABOLISMUS PURINŮ (PYRIMIDINŮ) A MOČOVÉ KYSELINY a jejich poruchy

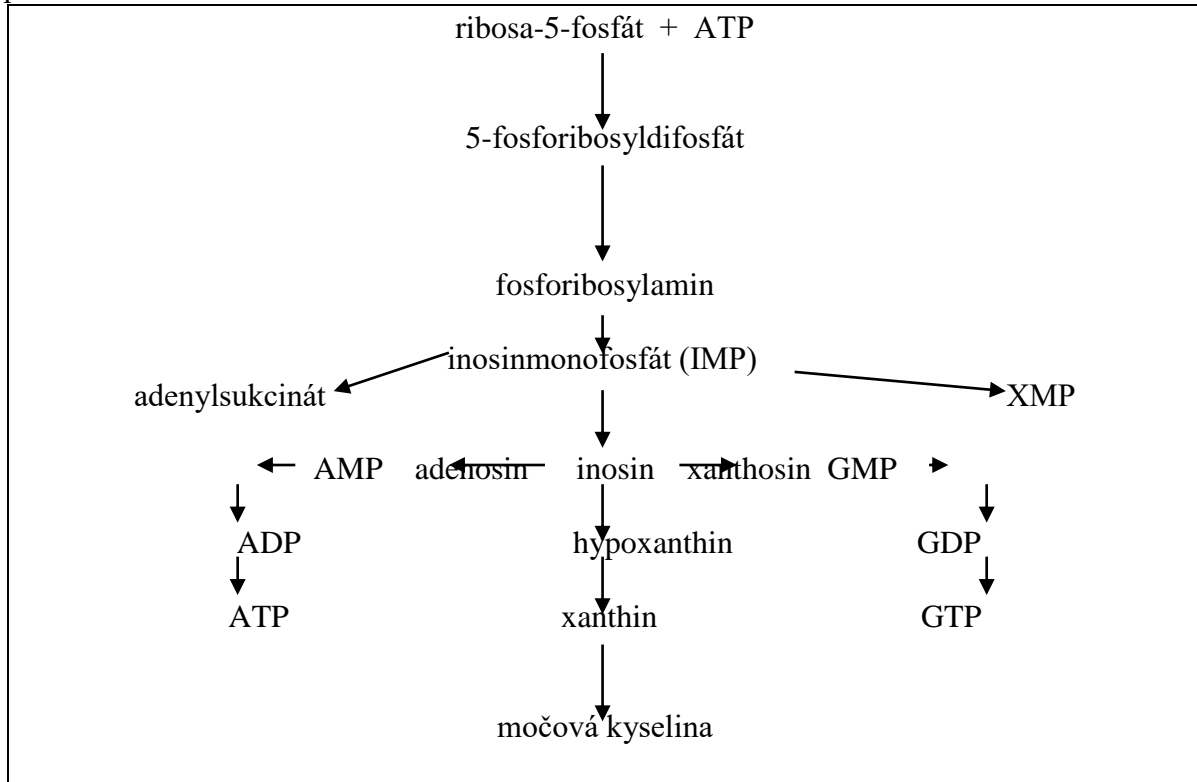
1. Význam močové kyseliny

U člověka, opic, plazů a ptáků je konečným produktem metabolismu DNA a RNA a též volných nukleotidů (ATP, GTP, cAMP, NAD⁺, NADP a FAD). Močová kyselina má antioxidační účinky a chrání buňky proti kyslíkovým radikálům. Rovněž inhibuje oxidaci askorbové kyseliny. Podle jedné teorie (Ames, 1983) jedinci s vyššími hodnotami urikemie mají vyšší inteligenci, mají nižší incidence nádorových onemocnění a dožívají se vyššího věku. Má to však nevýhodu v tom, že močová kyselina je ve vodě velmi málo rozpustná, při pH-7,40 je většina ve formě mononatriumurát, který tvoří nasycený roztok (při 37o C) v plasmě už při koncentraci 420 μmol/l.

2. Metabolismus

Biosyntéza močové kyseliny je spojena s tvorbou purinů. Klíčovým metabolitem je 5-fosforibosyl-1-pyrofosfát (= PRPP), který vzniká z ribosa-5-fosfátu a ATP. (PRPP je také meziproduct při syntéze NAD⁺ a NADP⁺ a pyrimidinnukleotidů). PRPP pak dále reaguje s

glutaminem za vzniku 5-fosforibosyl-1-aminu. Tento dává přes řadu intermediátů postupně základ purinového jádra přibíráním atomů C, N a H z glycinu, N5, N10 -methylentetrahydrofolátu, aspartátu a N10 -formylfolátu; vzniká tak inosinmonofosfát (IMP). Tento "ústřední" metabolit se může nyní přeměnit přes další intermediáty na adenosinmonofosfát (AMP) ev. na guanosinmonofosfát (GMP) nebo může být katabolizován přes inosin.



U savců jsou hlavním místem biosyntézy purinových nukleotidů játra (mozek potřebuje exogenní puriny částečně, erythrocyty a polymorfonukleáry nedovedou tvořit PRPP vůbec, lymfocyty trochu). De novo syntéza IMP potřebuje energii 6 mol ekvivalentu ATP plus glycin, glutamin, methenyl-FH4 a aspartát. Pro organismus je proto výhodné, aby intermediáty katabolismu nukleotidů byly znovu použity k resyntéze nukleotidů a nukleových kyselin ("salvage" pathway = zužitkování odpadu). Tento proces spotřebovává fosforibosylpyrofosfát (PRPP), který reaguje s volnými purinovými bazemi, a za katalýzy hypoxanthin-guanin-fosforibosyltransferasy (HGPRT) a adenin-fosforibosyltransferasy se znovu tvoří molekuly příslušných nukleotidů.

PRPP je jak substrátem tak aktivátorem PRPP-glutamyl-amidottransferasové reakce, která iniciuje syntézu purinových nukleotidů. Nedostatek PRPP způsobuje proto snížení produkce purinových nukleotidů.

Biosyntéza pyrimidinových nukleotidů se děje z podobných prekurzorů; rozdíl je v tom, že ribosa-5-fosfát, který je u purinových bazí na začátku syntézy, u pyrimidinových bazí se dostává do molekuly v pozdějších reakcích. Tvorba pyrimidinového kruhu vychází z karbamoylfosfátu; přes řadu metabolitů jako je orotová kyselina, vzniká orotidinmonofosfát (OMP), uridinmonofosfát (UMP), který dále poskytuje uridindifosfát (UDP) a uridintrifosfát (UTP), ten pak cytidintrifosfát (CTP) a nebo thymidinmonofosfát (TMP).

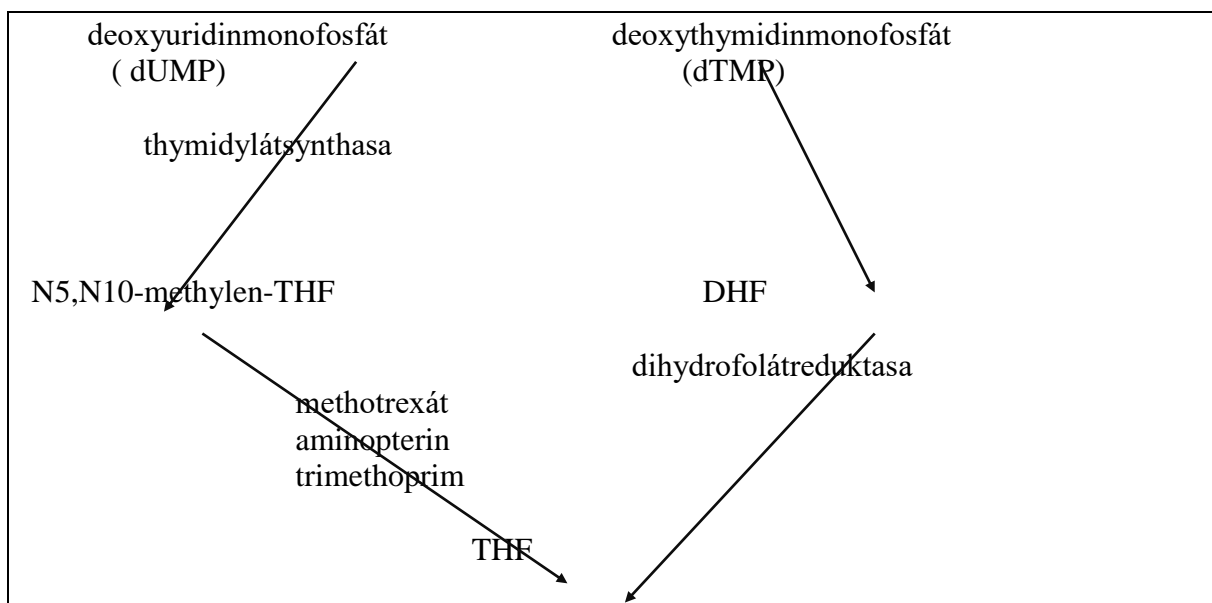
3. Inhibitory syntézy purinů a pyrimidinů

(a) Inhibice tvorby tetrahydrofolátových sloučenin

Pro metabolismus nukleotidů jsou nutné dva ve vodě rozpustné vitaminy: listová kyselina a vitamin B12. Metabolická funkce listové kyseliny spočívá v tom, že může předávat sloučeninám jeduhlíkové jednotky (methyl-, methylen-). K tomu účelu však musí být převedena na tetrahydroderiváty (FH4) (N5-methyl-nebo N5, N10 -methylen- nebo N5-methyliden-tetrahydrofolát). Posledně jmenovaný předává svoji CH₃-skupinu na homocystein za vzniku methioninu. Reakci katalyzuje homocystein-methyltransferasa, která jako kofaktor potřebuje vitamin B12 (=kobalamin). Methionin reakcí s ATP poskytuje aktivní S-adenosylmethionin, který je donorem methylové skupiny.

Účinek "antifolátů" (léků blokujících syntézu tetrahydrofolátů): Bakterie si dovedou listovou kyselinu tvořit sami. Proto podání chemoterapeutik na bázi p-aminobenzoové kyseliny (PABA) jako jsou sulfonamidy (sulfanilamid) vede k inkorporaci sulfonamidu do tvořené molekuly folátu na místo PABA. Vzniklý folátový analog nemá účinky skutečné listové kyseliny a proto dochází k zástavě růstu bakterií. Člověku, který listovou kyselinu přijímá v potravě jako vitamin (nemůže ji syntetizovat z PABA) sulfonamidy neškodí. Naproti tomu methotrexát, který je inhibítozem dihydrofolátreduktasy (mění FH₂ na FH₄), působí na tento enzym jak u bakterií tak u člověka. Proto methotrexát nemůže být využit jako antibiotikum. Používá se však jako kancerostatikum. Jsou jim totiž postiženy nejvíce buňky s výraznou proliferační aktivitou (kdy je maximální syntéza DNA "de novo") tedy především buňky nádorové. Pochopitelně v menší míře jsou postiženy i buňky nenádorové, zvláště ty, které mají rychlý obrat (buňky kostní dřeně). Proto je třeba při agresivní protinádorové terapii kontrolovat hladinu methotrexátu a při jeho přetrvávajících zvýšených hodnotách podat antidotum, kterým je formyltetrahydrofolát = leukovorin) (tedy produkt jehož syntézu methotrexát inhiboval).

Obr.: Biosyntéza pyrimidinových nukleotidů



b) Syntetická analoga purinů a pyrimidinů

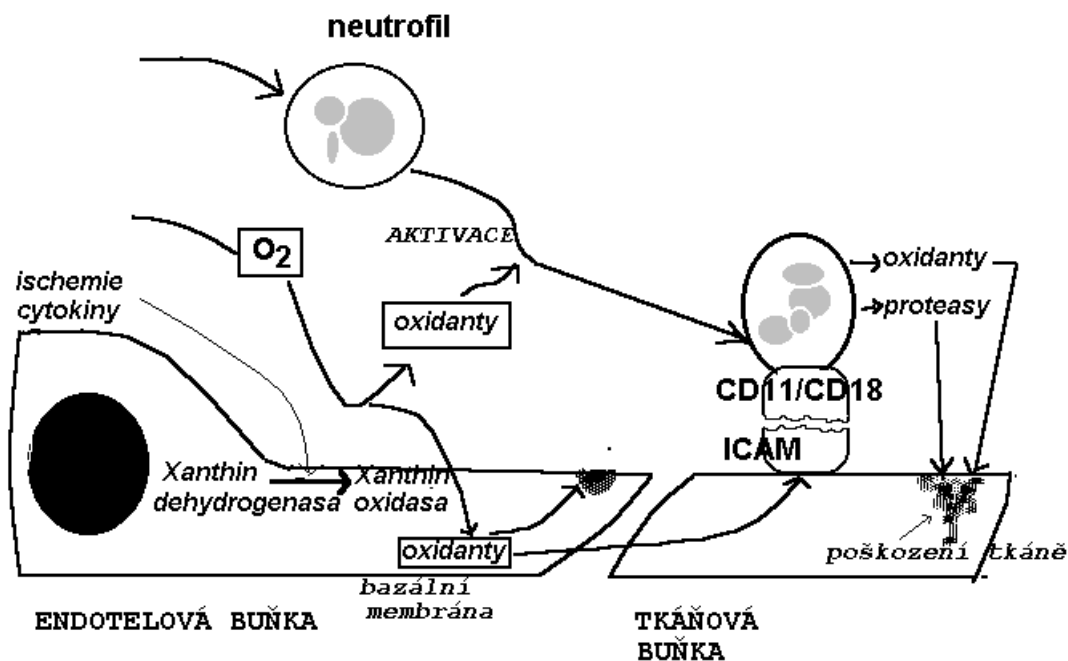
Kupř.: 5-Fluorouracil, 6-thioguanin, 6-merkaptopurin, 5-nebo 6-azauridin nebo azacytidin se používají v protinádorové terapii. Jiná jako azathioprin, který je metabolizován na 6-merkaptopurin, tlumí proliferaci imunokompetentních buněk a používá se pro potlačení rejekce transplantovaných orgánů. Purinový analog 4-hydroxypyrazolopyrimidin =

allopurinol brzdí nejen "de novo" syntézu purinů, ale též aktivitu xanthinoxidasy a tím přeměnu xanthinu na močovou kyselinu (používá se proto při léčení hyperurikemie).

4. Poruchy metabolismu purinů a pyrimidinů

4.1. Hyperurikemie znamená zvýšení urátu v plasmě nad 420 $\mu\text{mol/l}$ (u žen > 380 $\mu\text{mol/l}$). Klinické příznaky spočívají ve vypadávání krystalků mononatriumurátu z roztoku v jejich usazování v tkáních (klouby, ledviny), což může vést k zánětlivé reakci (vcestování fagocytů) jako je dnová artritida nebo v měkkých tkáních urátové usazeniny (tophi). Močová kyselina je konečným metabolitem purinů, nikoliv pyrimidinů; tyto jsou degradovány na deriváty ve vodě relativně dobře rozpustné (jako β -alanin nebo β -aminoisobutyrate, dále na CO_2 , NH_4^+ a vodu)

Obr.: Patobiochemie záchvatu dny



Poznámka: Fagocytóza krystalů mononatriumurátu granulovanými leukocyty vede k intracelulárnímu zvýšení laktátu a k uvolnění lysosomálních enzymů. Proteolytické enzymy navodí též aktivaci kininu (příčina bolesti). Lysosomální enzymy v synoviálních buňkách způsobují destrukci kloubní chrupavky.

V ledvině mohou být poškozeny tubuly a vzniká urátová nefropatie. Častá je tvorba močových konkrementů z krystalků kyseliny močové (uricit) nebo močanu amonného (při pH moče kolem 5 je rozpustnost urátů velmi nízká- 150 mg/l; alkalizací na 7,6 výrazně stoupá: 1500 - 2000 mg/l) (Dospělý člověk vylučuje močí denně 400-600 mg).

Příčiny hyperurikemie mohou být:

/a/ Primární způsobená nadprodukcí i zvýšenou exkrecí močové kyseliny pro poruchy enzymu fosforibosyl-pyrofosfát syntetasy (buď pro zvýšení V_{max} nebo pro resistenci k inhibici zpětnou vazbou nebo při nízké K_m vůči ribosa-5-fosfátu) nebo parciální či totální (Lesch-Nyhanův syndrom) deficit hypoxanthin - guanin - fosforibosyltransferasy (způsobuje to zvýšenou koncentraci intracelulárního PRPP) pro nemožnost ho využít k reutilizaci při "de novo" syntézy nukleotidů. PRPP je pak zvýšeně katabolizován na močovou kyselinu.

Allopurinol (strukturální analog hypoxanthinu) je přeměněn xanthinoxidasou na oxypurinol (=alloxanthin), který se pevně váže na enzym a zabrání tak jeho další katalytické aktivitě. Allopurinol je tedy "sebevražedný" inhibitor xanthinoxidasy, snižuje koncentraci močové kyseliny v krvi a tím i v jiných tekutinách (kupř. synoviální); množství vylučovaných urátů klesá, stoupá vylučování o něco lépe rozpustného hypoxanthinu a xanthinu. Kromě toho konečným metabolitem není jeden produkt ale tři, takže klesá riziko převýšení konstanty rozpustnosti, který by byl v případě jednoho konečného produktu.

/B/ Sekundární hyperurikemie je způsobena zvýšeným odpadem buněk (kupř. při leukémii) nebo poruchou zpětného transportu v ledvinových tubulech (kupř. při laktacidóze kompetuje laktát v renálním tubulu s urátem o zpětnou resorpci).

4.2. Hypourikemie

Může být způsobena deficitem xanthinoxidasy. Je spojena se zvýšeným vylučováním xanthinu močí a výskytem xanthinových močových konkrementů.

4.3. Imunologická nedostatečnost

na základě defektu adenosindeaminasy. Jde o dědičné onemocnění, v jehož klinickém obraze je kombinovaná imunodeficiencie (T i B -buněk) se zvýšeným vylučováním deoxyadenosinu.

4.4. Imunologická nedostatečnost pro dědičný deficit purin-nukleosid-fosforylasy. Je provázena deficiencí T-buněk, inosinurií, deoxyinosinurií, guanosinurií, deoxyguanosinurií a hypourikemií.

4.5. Orotová acidurie

Chybí orotát-fosforibosyltransferasa nebo orotidyldekarboxylasa. Vzniká nedostek produkce pyrimidinů a tím je opožděn normální vývoj. Je spojena i s megaloblastickou anemií. Podávání uridinu obchází metabolický blok; z uridinu vzniká uridinmonofosfát, z kterého se pak tvoří další deriváty (pyrimidinové nukleotidy).

Otázky

1. U člověka je karbamoylfosfát prekurzorem biosyntézy:

- A. uridinmonofosfátu
- B. Inosinmonofosfátu
- C. urey
- D. glutaminu

Odpověď:

- A. Ano. Karbamoylfosfát dává nejprve s aspartátem karbamoylaspartát, který přechází na orotovou kyselinu a ta přes několik intermediátů UMP (biosyntéza pyrimidinových nukleotidů)
- B. Nesprávně. Inosinmonofosfát vzniká z PRPP (biosyntéza purinových nukleotidů)
- C. Ano. Detoxikace NH_4^+ v játrech se děje v cyklu tvorby močoviny na jehož počátku stojí karbamoylfosfát ($\text{CO}_2 + \text{NH}_4^+ + \text{ATP}$).

D. Nesprávně. Glutamin se tvoří z glutamátu, který takto fixuje anorganický NH_4^+ do amidové skupiny (detoxikace NH_4^+ v buňkách)

2. Metabolity vitamínu B12 hrají úlohu v :

- A. Katabolismu mastných kyselin s lichým počtem atomů uhlíku
- B. Při tvorbě acetyl-CoA z pyruvátu
- C. Při přenosu CH_3 -skupiny z tetrahydrofolátového koenzymu na homocystein
- D. Při syntéze palmitátu

Odpověď:

A. Ano. Vzniká nikoliv acetoacetyl-CoA, ale propionyl-CoA, který je přeměněn na sukcinyl-CoA. Reakce potřebuje biotin a vitamin B12.

B. Ne. Oxidativní dekarboxylace pyruvátu na acetyl-CoA potřebuje jiný vitamin: thiamin a pantothenát. C. Ano. Při přeměně homocysteinu na S-adenosylmethioninu je třeba jako kofaktor vitamin B12 .

D. Ne. Palmitová kyselina má sudý počet uhlíků a β -oxidací dává 4- uhlíkový fragment, nikoliv 3-uhlíkový jako mastné kyseliny s lichým počtem C-atomů

3. Všechna níže uvedená tvrzení vztahující se na biosyntézu purinových nukleotidů jsou správná vyjma:

- A. PRPP je substrátem v této metabolické dráze
- B. Z glutaminu se tvoří 2 dusíkové atomy purinového cyklu
- C. Tvorba N-glykosidické vazby až po kompletaci struktury baze
- D. Folátové kofaktory se podílejí na uhlících purinového cyklu
- E. Inosinmonofosfát je prekurzorem jako AMP tak GMP.

Odpovědi:

- A. Špatně
- B. Špatně
- C. Správně
- D. Špatně
- E. Špatně.

4. Dna je způsobena nadměrným zvýšením koncentrace močové kyseliny v krvi. Příčina může být jak nadprodukce tak nedostatečná exkrece. Pro rozpoznání této situace je možno podat ^{15}N -značenou aminokyselinu. Která je pro tento účel nejvhodnější?

Odpověď: Glycin. Jeho celá molekula je při biosyntéze inkorporována do prekurzoru purinových nukleotidů. N glycinu se také objevuje v močové kyselině.

Příklady pacientů

Pacientka léčená na akutní leukemii

3-leté děvčátko přijato s diagnózou akutní lymfatická leukemie. Dostala infúze, allopurinol, 2.den terapie vincristin, prednison, methotrexat atd.

Za 5 dní propuštěna domů. Pokračovala v terapii doma (prednison, allopurinol). Za měsíc přidána opět chemoterapie. Pak dostala soor v ústech, nemohla jíst.

Výsledky laboratorní (postupně během měsíce):

S-urea : 4,0 - 5,0 - 1,3 - 0,7 mmol/l
 S-kreatinin : 62 - 88 - 62 - 62 $\mu\text{mol/l}$
 S-kys.močová : 714 - 547 - 238 - 113 - 137 - 184 $\mu\text{mol/l}$
 bílé krvinky : 56 300 - 3 700 - 2 800 - 3 700

Otázky:

1. Jak vysvětlíte vysokou hladinu kys. močové (1. vyšetření provedeno po 5 dnech hospitalizace, po propuštění)
2. Proč byla kys. močová při příštích vyšetřeních již normální?
3. Proč došlo k hladině urey 0,7 mmol/l?

Jaká jiná vyšetření potvrdí toto zjištění?

Odpovědi:

1. Rozpad bílých krvinek vede ke zvýšenému odbourávání purinových látek. Renální příčina to nebyla, protože urea + kreatinin byly normální.
2. Vlivem chemoterapie poklesl počet bílých krvinek a vlivem allopurinolu klesla kys.močová.
3. Na základě sníženého příjmu bílkovin (pacientka nejedla-soor-i útlum proteosyntézy v játrech).

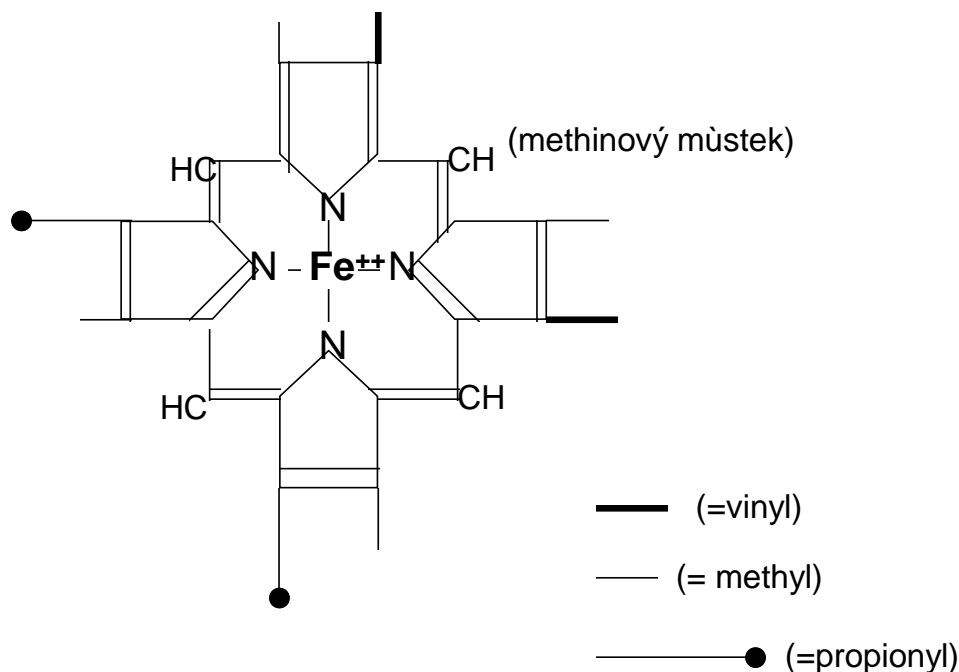
Stanovení celkové bílkoviny a albuminu by mělo přinést nízké hodnoty.

PATOBIOCHEMIE METABOLISMU PORFYRINU a Fe

1. Význam sloučenin hemu

Hem tvoří prostetickou skupinu krevního barviva - hemoglobinu a řady dalších proteinů (hemoproteinů jako jsou cytochromy, katalasa, myoglobin apod.). Hem patří do skupiny barevných sloučenin zvaných porfyriny, což jsou cyklické sloučeniny tvořené 4 pyrolovými jádry a systémem konjugovaných dvojných vazeb.

Obr.: Struktura hemu



2. Syntéza hemu

Syntéza hemu začíná a končí uvnitř mitochondrií; 3 reakční stupně se odehrávají v cytoplasmě. S výjimkou zralých erytrocytů, které nemají mitochondrie, buňky všech tkání dovedou tvořit hem. Játra a kostní dřeň jsou hlavními místy syntézy.

Biosyntézu hemu možno rozdělit do 5 stádií:

2.1. Tvorba monomérní pyrolové jednotky

Z glycinu a sukcinyl-CoA vzniká delta-aminolevulát za katalýzy mitochondriálního enzymu delta-aminolevulát synthasy; produkt opouští mitochondrie pasivní difúzí.

Dvě molekuly delta-aminolevulátu kondenzují v cytoplasmě za vzniku porfobilinogenu

2.2. Kondenzace 4 pyrolových jednotek a vznik cyklického polymeru 4 porfobilinogenové jednotky kondenzují v cytoplasmě na uroporfyrinogen

Pyrolové jednotky uroporfyrinogenu mají 2 různé postranní řetězce (acetyl nebo propionyl). Jsou možné 4 isomery. V organismu jsou však známy jen 2 typy: isomer I a isomer III. Hem je derivát isomeru III. Za patologických okolností se může tvořit též isomer I.

2.3. Modifikace postranních řetězců

Děje se ve 2 stupních:

- v cytoplasmě
- v mitochondriích

Nejprve jsou 4 acetylové postranní řetězce přeměněny na 4 methylové skupiny za katalýzy uroporfyrinogendekarboxylasy. Vzniká tak koproporfyrinogen III.

Tento za účasti koproporfyrinogenoxidasy mění své propionylové skupiny na skupiny vinylové a vzniká (v mitochondriích)

protoporfyrinogen IX

(teoreticky totiž je možných 14 isomerů)

2.4. Oxidace kruhů za vzniku konjugovaných dvojných vazeb

Děje se tak za účasti protoporfyrinogenoxidasy a vzniku protoporfyrinu IX

Oxidovat mohou jak uroporfyrinogeny a protoporfyrinogeny typu I a III. Za normálních okolností se tyto intermediární produkty nehromadí.

Nakupení konjugovaných dvojných vazeb způsobuje absorpci světelné energie (především vlnové délky 400 nm), což způsobuje uvolnění volných radikálů a poškozování tkání; takto se vysvětluje fotosenzitivita pacientů s určitými formami porfyrie.

2.5. Inkorporace Fe do molekuly

Syntéza hemu je zakončena vsazením Fe^{2+} do porfyrinového kruhu. Reakce je katalyzována ferrohelasou. Chybí-li tento enzym protoporfyrin IX spontánně tvoří chelát se Zn.

Syntéza hemu je regulována svojí vlastní syntézou, a to účinkem na první enzym biosyntetické dráhy – δ -aminolevulát synthasa, který je inhibován nadbytkem hemu.

3. Poruchy tvorby porfyrinů

Je-li syntéza hemu narušena, může to mít vážné následky ze dvou příčin:

/a/ nedostatečná produkce hemu vede k anemii

/b/ nahromadění intermediárních nebo vedlejších produktů působí toxicky

Poruchy biosyntézy hemů se odrážejí v chorobných stavech zvaných porfyrie; mohou být jak dědičné tak získané.

Všechny porfyrie jsou charakterizovány nahromaděním intermediátorů nad enzymovým blokem. Specifický enzymový defekt určuje, zda klinické projevy budou z oblasti nervového systému nebo to budou kožní příznaky nebo obojí. Je-li postižena časná fáze biosyntézy, jsou v popředí neurologické symptomy, u pozdní fáze dermatologické.

Podáním některých léků (kupř. barbituráty, anestetika, také alkohol) může indukovat syntéza (až 50 krát) jaterní delta-aminolevulátsynthasy (ALA), která je klíčovým enzymem biosyntézy porfyrinů, což vede k zvýšené tvorbě porfyrinů a tím exacerbaci příznaků u pacientů s porfyriemi. Glukosa dovede indukci ALA synthasy inhibovat. Ještě účinnější je podání derivátů hemu jako hem-albumin nebo hem-arginát nebo hematin. Naopak Fe v chelátové vazbě působí synergicky na indukci ALA-synthasy.

Toxický efekt akumulace ALA a PBG vedoucí k bolestem v břiše nebo neuropsychiatrickým příznakům je způsoben inhibicí ATPasy v nervové tkáni. Může dojít i k projevům paralýzy vedení v nervovém systému.

Porfyrie jsou klasifikovány na základě orgánů nebo buněk, které jsou nejvíce postiženy:

- játra (hepatální porfyrie)
- kostní dřeň (erytropoetická porfyrie)
- smíšené (erytrohepatální porfyrie).

Následující tabulka shrnuje charakteristiky 6 ti typů porfyrií kongenitálních.

Tab.: Sumarizace nálezů u porfyrií

Typ porfyrie	Postižený enzym	Hlavní příznaky	Laboratorní nález
Akutní intermitentní (hepatální)	uroporfyrinogen I kosynthetasa	abdominální bolest neuropsychiatr. příz. není fotosenzitivita	U-PBG ↑ U-uroporfyrin ↑
Kongenitální erytropoetická	uroporfyrinogen III kosynthetasa	fotosenzitivita	U-uroporfyrin ↑ U-PBG ↓
Porphyria cutanea tarda (hepatální)	uroporfyrinogen dekarboxylasa	fotosenzitivita	U-uroporfyrin ↑
Porphyria variegata (hepatální)	protoporfyrinogenoxidasa	fotosenzitivita abdominální bolest neuropsychiatr. př.	U-PBG ↑ F-protoporfyrin ↑
Protoporhyria (erytrohepatální)	ferrochelataasa	fotosenzitivita	F-protoporfyrin ↑ Ery-protoporfyrin ↑
Hereditární koproporfyrie (hepatální)	koproporfyrinogenoxidasa	fotosenzitivita abdominální bolest neuropsychiatr.př.	U-PBG ↑ U-uroporfyrin ↑ F-koproporfyrin

4. Metabolismus železa a jeho poruchy

Obsah Fe v těle činí u mužů 50 mg/kg, u žen 35 mg/kg. Nižší hodnoty u žen jsou způsobeny ztrátami krve při menses. Největší podíl Fe je v hemoglobinu (67%), asi 30% připadá na skladovou formu (především ferritin), 3 – 4% na myoglobin a pouze 0,1 % na enzymy jako katalasa, peroxidasa, cytochrom c apo.)- V plasmě (ve vazbě na transferin) je 0,10–0,20 %.

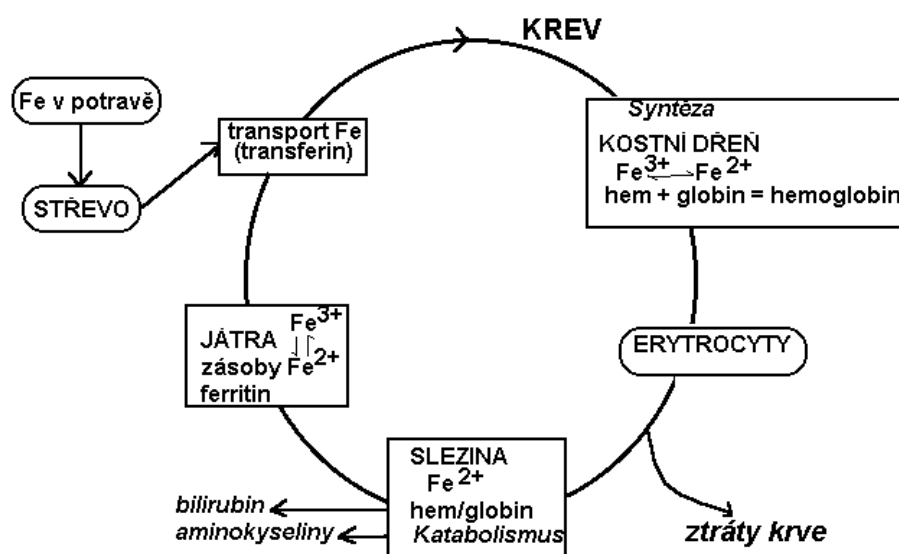
Absorpce Fe se děje v duodenu a v horní části jejunu a to dvěma způsoby:

(1) Jako porfyrin–vázané Fe ve formě stabilního lipofilního komplexu

(2) Jako Fe^{2+} –cheláty, rozpustné ve vodě; nepatrná část je formě ionizované

V buňkách sliznice střevní je Fe jako trojmocné, váže se zde na tzv., slizniční transferin.

Absorpce Fe je velmi přísně regulována, protože volné Fe je pro organismus toxické. Odvisí především od rychlosti erythropoezy a od velikosti zásob. Část Fe ze “slizničního” transferinu je předána do cirkulující plasma jako Fe–transferin, druhá část zůstává v buňce jako zásoba ve formě ferritinu, Při deskvamaci odumřelých slizničních buněk, odchází nezužitkované Fe stolicí spolu s Fe nevstřebaným. Transferin (s Fe^{3+}) dodává Fe buňkám syntetizujícím hemoglobin (a jiné deriváty hemu) prostřednictvím receptoru pro transferin



Poznámka: V dietě bývá průměrně 10–50 mg Fe, ale pouze 10–15 % je vstřebáváno. Fe ve sloučeninách hemu (maso) se absorbuje lépe; non-hemové Fe v rostlinné stravě mnohem hůře. Kromě toho rostliny obsahují oxaláty, fytáty, taniny a jiné fenolové sloučeniny, které tvoří s Fe nerozpustné nebo chelátové komplexy, těžko vstřebatelné. Askorbová kyselina na druhé straně absorpci Fe zlepšuje.

Otázky

1. Vzplanutí klinických příznaků (bolesti v břiše, neuropsychiatrické příznaky) po podání některých léků (barbituráty, anestetika) jsou způsobeny: (vyber všechny)

/A/ Inhibicí ferrochelatasy a tím tvorbou chelátu protoporfyrinu IX se Zn

/B/ Indukcí zvýšené tvorby delta-aminolevulátsynthasy v játrech

/C/ Nedostatkem sukcinyl-CoA, který je nutný pro tvorbu počátečního metabolitu, tj. delta-aminolevulátu

/D/ Akumulací delta-aminolevulátu a porfobilinogenu, které inhibují ATP-asu v nervové tkáni.

Odpovědi:

/A/ Špatně. Defekt ferrochelatasy způsobuje nemožnost inkorporace Fe^{2+} do porfyrinového kruhu. Tato porucha může být způsobena sekundárně otravou olovem.

/B/ Správně. Některé léky a také alkohol zvýší syntézu delta-aminolevulátu v játrech až 50 krát a tím se výrazně zvýší intermediární produkty biosyntézy porfyrinů, což vede k exacerbaci klinických příznaků.

/C/ Špatně. Nedostatek sukcinyl-CoA není příčinou exacerbace klinických příznaků porfyrie.

/D/ Správně. Nadměrné množství delta-aminolevulátu a porfobilinogenu způsobená indukcí syntézy delta-aminolevulátsynthasy vede k inhibici ATP-asy a v nervové tkáni, což vede k poruše vedení nervového vzruchu. Paralýza dýchacích svalů může končit fatálně.

2. Fotosenzitivita u některých forem porfyrií je způsobena:

/A/ Nahromaděním porfyrinů, jejichž konjugované dvojně vazby porfyrinového jádra absorbují světlo o vlnové délce 400 nm, což vede k nakupení volných radikálů.

/B/ Nahromaděné porfyriny inhibují enzymy potřebné k tvorbě kožních pigmentů - melaninů.

/C/ Inhibicí glutathion-reduktasy, která je potřebná k odstranění peroxidu vodíku.

/D/ Nahromaděním porfobilinogenu a delta-aminolevulové kyseliny, které způsobují větší vnímavost pokožky k UV-záření.

Odpovědi:

/A/ Správně. Konjugované dvojně vazby porfyrinového kruhu vedou k zvýšené absorpci světelné energie o vlnové délce kolem 400 nm. Tím dochází k uvolnění volných radikálů, které poškozují okolní tkáň. Přítomnost Fe^{2+} v molekule hemoglobinu tomuto efektu zabraňuje.

/B/ Špatně. Zvýšené množství porfyrinů neovlivňuje tvorbu melaninů v melanocytech v kůži.

/C/ Špatně. Porfyriny neovlivňují aktivitu glutathionreduktasy.

/D/ Špatně. Porfobilinogen ani delta-aminolevulová kyselina neznají nahromaděni konjugovaných dvojných vazeb, jako je tomu u porfyrinového cyklu.

3. Jaký je patobiochemický podklad exacerbace porfyria variegata požitím fenobarbitalu ?

Odpověď: Fenobarbital při biotransformaci v játrech indukuje syntézu systému obsahujícího cytochrom P450; větší potřeba hemu pro syntézu cytochromu P450 snížila jeho koncentraci v hepatocytu, což zvýší tvorbu δ -aminolevulát-synthasy a tím zvýšení produkce prekurzoru porfyrinů δ -aminolevulátu s dalšími toxickými účinky na nervový systém.

4. Jaké důsledky má nedostek Fe na krevní obraz ?

Odpověď: Vzniká mikrocytová hypochromní anemie

Projevuje se nízkou hladinou hemoglobinu, nízkou koncentrací Fe v plasmě, zvýšeným transferinem s nízkou saturací Fe, nízkým ferritinem hlavně zvýšenou koncentrací solubilního receptoru pro transferin v plasmě

5. Proč nedostek pyridoxinu (vitamin B6) je často spojen s mikrocytovou hypochromní anemií ?

Odpověď: Syntéza hemu vyžaduje přítomnost pyridoxalfosfátu (derivát pyridoxinu). Pyridoxalfosfát je kofaktorem δ -aminolevulát-synthasy, která katalyzuje reakci sukcinyl-CoA s glycinem za vzniku δ -aminolevulátu (prekurzor porfyrinů a tedy hemu).

6. Jaký je účinek otravy olovem na metabolismus porfyrinů ?

ALA-dehydratasa, obsahující Zn, a ferrochelataasa jsou inhibovány Pb. Tím se nemetabolizuje δ -aminolevulát stejně jako protoporfyrin IX. Jejich nahromadění snižuje produkci hemu. Výsledkem je snížení tvorby hemoglobinu (\rightarrow anemie) a nedostatek cytochromů (\rightarrow porucha transportu elektronů v mitochondriích \rightarrow nedostatek ATP)).

Příklady pacientů

Pacientka s bolestmi v břiše

Mladá ošetřovatelka z Jižní Afriky emočně rozčilená s hysterií několik dní po laparotomii pro "intestinální obtíže". Týden před operací brala barbituráty na spaní. Pak měla těžké břišní a svalové bolesti, celkovou slabost, šlachové reflexy nebyly přítomny, zvracela. Moč tmavá, dávala brilantově růžovou fluorescenci v UV světle. Během 24 h došlo k paralýze a za 2 dny k smrti.

Otázky:

1. Jaká byla diagnóza?
2. Mohou mít její příbuzní podobné onemocnění?
3. O jaký enzymatický defekt jde?
4. Jaké provést konfirmační testy?

Odpovědi:

1. Porfýria variegata (akutní ataka po barbiturátech týden před operací).(barbituráty indukují syntézu porfyrinových prekurzorů, které mají toxický účinek na nervovou tkáň)
2. ANO, autosomálně - dominantní typ.
3. Chybí protoporfyrinogenoxidasa.
4. Ve stolici kopro- a protoporfyriny, hledat kožní fotosenzibilitu v anamnéze.

Pacientka s anemií a průjmem

Pacientka, 72 roků, trpěla intermitentním průjmem, ubývala na váze, neměla chuť k jídlu a byla bledá. Játra 9 cm pod oblouk.

Laboratorní testy:

B-Hemoglobin: 66 g/l

S-Fe: 4,5 μ mol/l

Vazebná kapacita pro Fe: 88 μ mol/l (N: 45–72)

S-ferritin: 6 μ g/l (N: 10–200)

Bilirubin: 22 μ mol/l

ALP: 19,5 μ kat/l, ALT: 17,9 μ kat/l, proteinemie: 66 g/l

Krevní obraz: mikrocytová hypochromní anemie

(1) Jaké mohou být příčiny anemie z nedostatku Fe ?

Odpověď: Nedostatek Fe v potravě, zvýšené požadavky (růst, rekonvalescence, těhotenství, laktace; chronická závažná onemocnění: malignity, těžké infekce, kolagenózy, renální selhání; krevní ztráty (zažívací trakt, krvácení po traumatech, metrorhagie)

(2) Jaký je nejlepší laboratorní test pro rozlišení anemie z nedostatku Fe od anemie u chronických chorob ?

Odpověď: Stanovení solubilního receptoru pro transferin v plasmě. U anemie z nedostatku Fe jsou hodnoty zvýšeny. Ještě lepší výpovědní hodnotu má index ferritin/receptor pro transferin

Další průběh onemocnění pacientky: Okultní krvácení ve stolici opakovaně pozitivní. Na RTG zjištěn prorůstající nádor v sigmoideu.

Diagnóza: karcinom tlustého střeva (anemie u malignity, zvýšená ALP a ALT bez odpovídajícího zvýšení bilirubinu budí podezření na metastázy do jater.

Pacient, alkoholik, s vyrážkou na rukou a obličeji

Muž, 48 roků, který se rád a vydatně napil, přišel na ambulanci s vyrážkou na rukou a v obličeji.

Laboratorní vyšetření:

S-bilirubin: 16 $\mu\text{mol/l}$

S-ALT: 3,8 $\mu\text{kat/l}$

S-GMT: 5,0 $\mu\text{kat/l}$

S-ALP: 2,1 $\mu\text{kat/l}$

U-porfobilinogen: 11 $\mu\text{mol/l}$

U-uroporfyrin: 2650 $\mu\text{mol/l}$

U-koproporfyrin: 545 $\mu\text{mol/l}$

Otázky:

1. Jaká diagnóza je nejpravděpodobnější a proč.

2. Jaký je pravděpodobný enzymový defekt

Odpověď

1. Vysoká hladina porfyrinů v moči svědčí pro některou formu porfyrie. Pozitivní "jaterní testy" ukazují na hepatopatii a jsou v souladu s chronickým abusem alkoholu. (především zvýšená GMT bez odpovídajícího zvýšení ALP). Kožní projevy na pokožce vystavené slunečnímu záření a jejich výskyt po větší dávce alkoholu (indukce syntézy porfyrinových prekurzorů) je kompatibilní s kožní formou porfyrie (porphyria cutanea tarda). Tu prokazuje značné zvýšení uroporfyrinu a koproporfyrinu v moči a nikoliv porfobilinogenu (počáteční prekurzor, který nemá ještě porfinový cyklus a proto nemá konjugované dvojně vazby, které vedou k fotosenzitivitě kůže).

2. U porphyria cutanea tarda je deficientní uroporfyrinogen-dekarboxylasa.

DEGRADACE HEMOGLOBINU, TVORBA a VYLUČOVÁNÍ ŽLUČOVÝCH BARVIV

a jejich poruchy

1. Katabolismus hemu

Za normálních okolností je u dospělého člověka v průběhu 24 h odbouráno 2,4–4,8.10⁹ erytrocytů. To představuje obrát 6 g hemoglobinu denně. Proteinová část - globin - se reutilizuje přímo nebo prostřednictvím aminokyselin, kterého ho tvoří. Železo z hemu se ukládá do pohotovostní zásoby (pool) a je použito při biosyntéze hemoglobinu. Porfyrinový zbytek hemu je však kompletně degradován v retikuloendotelu sleziny, jater a kostní dřeně.

Katabolismus hemu ze všech hemoproteinů (kromě hemoglobinu též cytochromy, katalasa apod.) se děje v mikrosomální frakci retikuloendotelových buněk za katalýzy enzymového systému zvaného hemoxygenasa. Fe²⁺ v hemu se oxiduje na Fe³⁺ a vzniká hemin, který je navázán na albumin za vzniku methemalbuminu. Systém hemoxygenasy je substrát-inducibilní (= jeho množství se zvyšuje zvyšováním nabídky substrátu). Je lokalizován v

těsné blízkosti mikrosomálního systému přenášejícího elektrony. V další reakci je hemin redukován pomocí NADPH; s další molekulou NADPH a působením O₂ vzniká hydroxyl na α -methenylovém můstku (mezi pyrolovým jádrem I a II) a Fe²⁺ se mění na Fe³⁺; další molekula O₂ rozštěpí v tomto místě tetrapyrolový kruh; uvolní se Fe³⁺, CO (karbonmonoxid) a vzniká biliverdin IX- α . Tento působením NADPH se mění na bilirubin IX- α .

1 g hemoglobinu poskytuje 35 mg bilirubinu, takže denně se tvoří 250 - 350 mg bilirubinu.

Vyjádřeno v látkovém množství: 1 g Hb poskytuje 60 μ mol bilirubinu; denní produkce bilirubinu činí asi 430 μ mol (z Hb + jiné hemoproteiny = 10 - 20%).

2. Vylučování bilirubinu

Bilirubin není rozpustný ve vodě (pouze 7 nmol/l plasmy) (velmi dobře ve fosfolipidech) a proto má-li být dopraven krevním oběhem do jater, respektive k hepatocytům, kde se děje jeho vylučování do žluči, musí být solubilizován vazbou na albumin; pouze 0,6 - 1,6 μ mol/l bilirubinu není vázáno na albumin.

Bilirubin-albuminový komplex je aktivně vychytáván hepatocyty receptory na membráně hepatocytu. Albumin zůstává v plasmě a bilirubin je přenesen přes membránu (usnadněný transport) a v cytoplasmě navázán na přenosový protein (ligandin), který jej dopraví do hladkého plasmatického retikula. Zde dochází ke konjugaci s glukuronovou kyselinou za účasti uridindifosfoglukuronyltransferasy. Tento proces zvyšuje rozpustnost bilirubinu ve vodě. Z bilirubinu a UDP-glukuronové kyseliny vzniká nejprve bilirubin-monoglukuronid (u patologického zvýšení bilirubinu je to převažující forma); s další molekulou UDP-glukuronové kyseliny a katalýzy téhož enzymu dává bilirubin-diglukuronid (toto se děje v kanalikulární oblasti hepatocytu). Dvě molekuly bilirubin-monoglukuronidu mohou dávat za účasti enzymu dismutasy 1 molekulu bilirubin-diglukuronidu a "volný" bilirubin. UDP-glukuronyltransferasa má nízkou aktivitu u novorozenců hned po narození. Je to však enzym inducibilní a zvýšené množství substrátu vede k její aktivaci. Stejný aktivační účinek mají i některé léky, kupř. fenobarbital, protože i ty se v játrech konjugují s glukuronovou kyselinou. Inducibilní účinek fenobarbitalu se využívá při léčení novorozenecké žloutenky. Sekrece konjugovaného bilirubinu z hepatocytů do primárních žlučovodů je rovněž aktivní proces. Za normálních okolností 97% bilirubinu vylučovaného žlučí je konjugováno. Fototerapie však dovede navodit též sekreci nekonjugovaného bilirubinu do žluče.

3. Metabolismus konjugovaného bilirubinu ve střevě-

Konjugovaný bilirubin se dostává žlučí ze žlučových cest a žlučníku do duodena a odtud do terminálního ilea a tlustého střeva, kde je bakteriální β -glukuronidasou hydrolyzován na volný bilirubin a dále hned redukován na bezbarvý pigment urobilinogen (=sterkobilinogen). Malé množství je reabsorbováno a dostává se do jater (intrahepatální urobilinogenový cyklus). Při zvýšené tvorbě bilirubinu (kupř. hemolytické anémie) dochází k interferenci s tímto intrahepatálním urobilinogenovým cyklem a vzniká zvýšená urobilinogenurie.

Další osud urobilinogenu ve střevě je jeho oxidace fekální flórou na hnědý urobilin (=sterkobilin), který dává barvu normální stolici. Denně se vyloučí stolicí 70-470 μ mol sterkobilinogenu (sterkobilinu).

4. Žloutenka (ikterus)

Když bilirubinemie přesahuje 17 μ mol/l mluvíme o hyperbilirubinemii. Bilirubin z krve difunduje mimo cévy do tkání zvláště do těch, které mají zvýšený obsah fosfolipidů, kde se rozpouští a dává jim žluté zbarvení, které v podkoží a pod sliznicemi vytváří nažloutlý až

žlutý vzhled tzv. žloutenku = ikterus. Klinický ikterus se nejprve projevuje na očních sklerách od koncentrace 25-30 $\mu\text{mol/l}$.

Pouze nekonjugovaný bilirubin může prostoupit hematoencefalickou bariérou a jen konjugovaný bilirubin se může objevit v moči. Podle příčiny můžeme hyperbilirubinemii (ikterus) dělit do 3 skupin:

- prehepatální: zvýšení pouze nekonjugovaného bilirubinu (je způsobena nadprodukcí bilirubinu kupř. pro zvýšený rozpad erytrocytů nebo pro neefektivní haemopoezu). Nekonjugovaná hyperbilirubinemie nepřekročí hodnotu 70 $\mu\text{mol/l}$, nejsou-li játra poškozena nebo není-li defektní enzymový glukuronyltransferasový systém.

- hepatální: zvýšení nekonjugovaného i konjugovaného bilirubinu (je způsobena) defektem v hepatální clearanci cirkulujícího bilirubinu, defektem v konjugaci = nekonjugované hyperbilirubinemie, nebo defektem v sekreci konjugovaného bilirubinu přes "žlučový pól" hepatocytu do žlučových kapilár = konjugované hyperbilirubinemie (příkladem může být poškození hepatocytu infekcí nebo toxickými látkami nebo defektem v enzymovém systému umožňujícím konjugaci s glukuronovou kyselinou nebo v neschopnosti secernovat konjugovaný bilirubin)

- posthepatální: zvýšení primárně konjugovaného bilirubinu (je způsobena funkčním nebo mechanickým uzávěrem odtoku žluči (cholestatický ikterus) (Příkladem je atrezie žlučových cest, uzávěr žlučových cest kamenem nebo nádorem hlavy pankreatu = tzv. obstrukční ikterus).

Rozlišení forem žloutenky je možno provést též na základě vyšetření urobilinogenu v moči a ve stolici a bilirubinu v moči. U hemolytické žloutenky je zvýšená urobilinogenurie, ale chybí bilirubinurie; současně zvýšené množství urobilinogenu ve stolici. U kompletního uzávěru žlučových cest je výrazná bilirubinemie, ale chybí urobilinogen v moči a též ve stolici (acholická stolice)

Otázky

1. Která forma bilirubinu je příčinou toxického účinku na bazální ganglia

/A/ Konjugovaný bilirubin

/B/ Nekonjugovaný bilirubin vázaný na albumin van der Waalsovými silami

/C/ Bilirubin vázaný na albumin kovalentně

/D/ Bilirubin "volný" (nevázaný na albumin)

Odpovědi /A/ Špatně. Konjugovaný bilirubin je ve vodě rozpustný a proto se vylučuje žlučí. Pouze nekonjugovaný bilirubin může prostupovat hematoencefalickou bariérou.

/B/ Špatně. Nekonjugovaný bilirubin vázaný na albumin neprochází hematoencefalickou bariérou (komplex má velkou molekulu) a proto není nebezpečný pro bazální ganglia.

/C/ Špatně. Bilirubin vázaný na albumin kovalentně neprochází hematoencefalickou bariérou.

/D/ Správně. "Volný" bilirubin, který není vázaný na albumin, prochází snadno hematoencefalickou bariérou a rozpouští se v lipoidních substancích (fosfolipidech) bazálních ganglií, které tímto poškozují.

2. Ligandin je malý protein, který umožňuje

/A/ Vazbu bilirubinu na glukuronovou kyselinu za vzniku mono- a diglukuronidu /B/ Přenos bilirubinu uvnitř hepatocytu do hladkého plasmatického retikula.

/C/ Přenos konjugovaného bilirubinu přes "žlučový pól" do primárních žlučových kapilár.

/D/ Kovalentní vazbu bilirubinu s albuminem.

Odpovědi:

/A/ Špatně. Vazbu bilirubinu na glukuronovou kyselinu umožňuje uridindifosfátglukosa za přítomnosti uridindifosfoglukuronyl transferasy.

/B/ Správně. Bilirubin-albuminový komplex zachycený na membráně hepatocytu se disociuje. "Volný" bilirubin projde membránou; v cytoplasmě se naváže na přenosový protein, kterým je ligandin. V této formě je dopraven do hladkého plasmatického retikula, kde dochází ke "glukuronidaci".

/C/ Špatně. Konjugovaný bilirubin je ve vodě rozpustný, nepotřebuje vazebný protein.

/D/ Špatně. Kovalentní vazba bilirubinu s albuminem se děje bez účasti jakéhokoliv malého proteinu.

Příklady pacientů

Pacient s ikterem

42-letý pacient s těžkým ikterem, bolestí v pravém horním kvadrantu břicha, bledý, má horečku a třesavku.

Laboratorní výsledky:

ALP = 8,4 μ kat/l

cholesterol = 7,9 mmol/l (5-nukleotidasa-zvýšená aktivita)

AST = 0,64 μ kat/l

celk.bilirubin = 421 μ mol/l

konjug.bilirubin = 325 μ mol/l

prothrombinový čas: prodloužený, po inj. vitaminu K se upravil

Otázka: Co je nejpravděpodobnější příčinou žloutenky u pacienta?

Odpověď: Extrahepatální obstrukce (kámen ve žlučovém vývodu, karcinom hlavy pankreatu nebo možná pooperační striktura, zaklíněný parazit).

Otázka: Proč je prothrombinový čas u pacienta prodloužen?

Odpověď: Chybí vitamin K, který je rozpustný v tucích, u nemocného dochází k poruše resorpce ve střevě. Vitamin K je nutný pro syntézu prothrombinu v játrech.

Pacient s nauzeou a žloutenkou

Přijat pacient s menší ztrátou váhy v poslední době, s nauzeou, zvracením, u kterého se později objevila žloutenka a zvětšená játra.

Laboratorní výsledky:

celk. bilirubin = 342 μ mol/l

konjug.bilirubin = 171 μ mol/l

ALP = 2,2 μ kat/l

AST = 12,4 μ kat/l

ALT = 11,2 μ kat/l

albumin = 22 g/l

gama-globuliny = 23,8 g/l (34% z celkové bílkoviny)

Otázka: Jaká je příčina nemoci pacienta, která vyšetření doplnit?

Odpověď: Půjde zřejmě o hepatocelulární poškození buď pro virovou hepatitis, nebo pro alkoholtoxickou hepatitis nebo pro poškození pro toxickou noxu (kupř. trichlorethylen, Toluén, apod.). Diagnózu může osvětlit vyšetřením antigenů a protilátek proti virovým hepatitidám; při trvajících nejasnostech jaterní biopsie.

ACIDOBAZICKÁ ROVNOVÁHA (ABR) a její poruchy

1. Úvod

Koncentrace vodíkových iontů (H^+) v tělních tekutinách je oproti koncentraci elektrolytů milionkrát menší (pohybuje se v nanomolech), ale udržování v relativně úzkých konstantních mezích je pro organismus velmi důležité.

V průběhu metabolismu, především energetického při uvolňování energie z chemických vazeb, dochází k uvolňování velkého množství protonů (H^+), které se přenesou na konečný akceptor, kterým je kyslík respektive kyslíkový radikál a vzniká voda (H_2O). Část protonů však zůstává vázána na anionty kyselin, které musejí být z organismu odstraněny, aby nenastalo jejich nahromadění. Jde především o uhlíčitou kyselinu, vznikající hydratací CO_2 , který je konečným produktem metabolismu sloučenin s uhlíkovým skeletem. Jeho produkce za 24 hod činí 24 000 mmol. Toto množství je snadno vydýcháno plícemi.

(Poznámka: Toto množství uhlíčné kyseliny, kdyby byla plně disociována, by představovalo takřka 2,5 kg koncentrované kyseliny sírové).

V organismu se však tvoří anionty kyselin "neprchavých": z organicky vázané S a P v proteinech a fosfolipidech se tvoří SO_4^{2-} (asi 25 mmol) a HPO_4^{2-} a další kyseliny (asi 40 mmol). Tyto musí být vyloučeny ledvinami (70 mmol/d tj. asi 1 mmol/kg hmotnosti).

Extracelulární tekutina obsahuje 350 mmol hydrogenkarbonátového pufru

Obr. : Bilance H^+ za 24 hodin

PRODUKCE	H^+ z tkáňové respirace	20 000 mmol
	H_2CO_3 H^+ z neprchavých kyselin	30 - 80 mmol
PUFRY	Celotělové pufrové systémy	2 400 mmol
VYLUČOVÁNÍ	Plíce (CO_2)	20 000 mmol
	Ledviny neprchavé kyseliny	30 - 80 mmol

Parametry, kterými je charakterizována acido-bazická rovnováha, vycházejí z Henderson-Hasselbalchovy rovnice:

$$\text{pH} = \text{pK}' + \log \frac{[\text{HCO}_3^-]}{[\text{H} \cdot \text{HCO}_3]}$$

(pK' = exponent zdánlivé disociační konstanty

uhličitě kyseliny = 6,103)

$\text{H} \cdot \text{HCO}_3 = \text{pCO}_2 \cdot 0,225$ (rozpust. koeficient)

nebo zjednodušeně

$$\text{pH} \sim \frac{[\text{HCO}_3]}{[\text{pCO}_2]} \sim \frac{\text{Metabolická složka } 24}{\text{Respirační složka } 5,3 \cdot 0,225} = \frac{24}{1,2} = 20 \text{ či-li } \frac{20}{1}$$

Z tohoto vyplývá, že když zůstane poměr 20/1 mezi metabolickou komponentou ([HCO₃]⁻)

a respirační komponentou ([H · HCO₃]) zachován, zůstává pH nezměněno.

[HCO₃⁻] - komponenta metabolická (M)

[pCO₂] - komponenta respirační (R)

Znamená to, že acidobazický stav je definován třemi základními parametry:

- pH
- [HCO₃⁻] (aktuální hydrogenuhličitan) (mmol/l)
- pCO₂ (parciální tlak oxidu uhličitého) (kPa)

2. Terminologie

2. 1. Změny v hodnotách ABR naměřené v krvi

pH	< 7,37	acidemie
	>7,43	alkalemie
pCO ₂	<4,8 kPa	hypokapnie
	>5,9 kPa	hyperkapnie
HCO ₃	<22,0 mmol/l	hypobazemie
	>26,0 mmol/l	hyperbazemie

Poznámka: Hodnotu HCO_3^- lze vyjadřovat jako "aktuální hydrogencarbonát", tj. při daném pH a pCO_2 a dané saturaci HbO_2 , nebo jako "standardní hydrogencarbonát" tj. vztaheném na $\text{pH} = 7,40$, $\text{pCO}_2 = 5,3$ kPa a plné saturaci HbO_2 ; tato hodnota odráží čistou metabolickou složku ABR. Jiná možnost je vyjadřovat hodnotu bazí jako tzv. "base excess" (=BE), který je dán rozdílem naměřených pufrových prací (BB) od normálních pufrových bazí (NBB = 48 mmol/l).

$$\text{BE} = \text{NBB} - \text{BB}$$

BE kolísá mezi hodnotou -2,5 až +2,5

Pufrové baze séra (BB) jsou dány součtem hodnot hydrogencarbonátu a proteinátového aniontu.

$$\text{BBs} = [\text{HCO}_3^-] + [\text{Proteinát}^-] = 42 \text{ mmol/l}$$

Lze je také možno odvodit ze vztahu: $\text{BBs} = [\text{Na}^+ + \text{K}^+] - \text{Cl}^-$

"Anion gap" (= AG = aniontové okénko) je další vypočtený údaj (z hodnot elektrolytů v plasmě), který pomáhá při rozpoznání zejména metabolické acidózy ve smíšené poruše; je-li hodnota vyšší než 18 mmol/l, jsou zmnoženy anionty organických (kupř. laktát, acetoacetát, 3-hydroxybutyrát, glyoxalát, urát, apod.) nebo anorganických (SO_4^{2-} , HPO_4^{2-}) kyselin.

$$\text{AG} = [\text{Na}^+ + \text{K}^+] - [\text{Cl}^- + \text{HCO}_3^-] = 15,2 \pm 1,6 \text{ mmol/l}$$

Poznámka: Hodnota AG může však být ovlivněna výraznými změnami v hladině plasmatických proteinů

Residuální anionty (RA) - vyjadřují přesněji hodnotu běžně nestanovovaných aniontů

$$\begin{aligned} \text{RA} &= [\text{Na}^+ + \text{K}^+ + \text{Ca-ioniz.} + \text{Mg. ioniz.}] - [\text{Cl}^- + \text{HCO}_3^- + \text{proteinát}^-] = \\ &= 7,08 \pm 2,41 \text{ (3,2 - 10,9)} \end{aligned}$$

Pozn. : proteinátový anion = $(\text{pH} - 5,08) \cdot 0,104 \cdot [\text{S-Protein}]$ (v g/l)

Delta bazí - je nověji zavedený vypočtený parametr

(Jabor, 1990), který možno považovat za analogon - BE. Má význam kontrolní.

delta bazí = $0,805 \cdot \text{BB} - 0,852 \cdot \text{RA} - 0,204 \cdot [\text{S-protein}] - 15,8$ Má-li výpočet delta bazí větší rozdíl než hodnota BE, jde buď o analytickou chybu, různorodý materiál, časový rozdíl mezi vyšetřeními.

2. 2. Změny v acidobazickém stavu

Jde o patofyziologické procesy, které se odehrávají v organismu, když v něm narůstají kyseliny nebo ubývají baze nebo obráceně. Hovoříme pak, že je to:

ACIDÓZA nebo ALKALÓZA

které dále rozdělujeme podle jejich příčiny na:

m e t a b o l i c k é nebo r e s p i r a č n í

- Máme tedy 4 základní poruchy

- * metabolická acidóza (MAC)
- * metabolická alkalóza (MAL)
- * respirační acidóza (RAC)
- * respirační alkalóza (RAL)

3. Regulace pH

se snaží dít těmito mechanismy:

- diluce lokální změny v celkovém objemu tělových tekutin (ustaví se do 10-12 min; velmi malá kapacita)
- tlumení změn nárazníky jako je hydrogenkarbonátový, proteinátový, hemoglobinový, fosfátový (ustaví se do 10-12) min; kapacita nestačí vyrovnat větší změny
- exkrece (retence) CO₂ plicemi; má značnou kapacitu (24 mol CO₂ za den) (rovnováha se ustaví rychle během minut až do 12 hod)
- sekrece H⁺ a reabsorpce HCO₃⁻ v ledvinách: Proximální tubulus reabsorbuje 85% profiltrovaného hydrogenkarbonátu (3800 mmol) denně; tlusté raménko vzestupné části Henleovy kličky 10% (450 mmol). Ve sběrném kanálku sekrece protonů (H⁺) titruje zbývající lumenální množství hydrogenkarbonátu a je pufována non-hydrogenkarbonátovými pufrů jako jsou fosfáty a amoniak. Množství amonných iontů (normálně 0,5 mmol/kg) ve sběrném kanálku stoupá, jakmile močové pH je kyselé. Produkce NH₄⁺ se zvyšuje při metabolické acidóze, depleci K⁺, po glukokortikoidech, při zániku funkčních nefronů a je naopak potlačována hyperkalemií. Renální kortikální segment sběrného kanálku má rozdíl potenciálu - 30 až -60 mV, vzniklý především z reabsorpce hydrogenkarbonátu, což je velmi důležitá hnací síla pro sekreci H⁺. Tento mechanismus pracuje proti koncentračnímu spádu s rozdílem 3 řádů (tisíckrát) (pH-plasmy=7,4; pH nejkyselější moče 4,5). Regulační mechanismus ledviny pracuje proto pomaleji a rovnováha se ustavuje asi za 2 až 5 dnů.

4. Poruchy acidobazické rovnováhy

4. 1. Jednoduché poruchy

Metabolická acidóza = MAC

Jde o patofyziologický proces, při kterém dochází v organismu k hromadění neprchavých kyselin (adiční acidóza) nebo úbytku bazí (subtrakční acidóza) nebo k přesunu vody a elektrolytů (distribuční acidóza) nebo k retenci kyselin (retenční acidóza).

Pro rozlišení typu MAC je důležité stanovení elektrolytů a výpočet anion-gap (AG).

MAC možno pak rozdělit na:

- (a) hyperchloridemická (hodnoty S-Cl- vyšší než 108 mmol/l)
- (b) se zvýšeným AG (více než 18 mmol/l)

Jednotlivé formy MAC (dle příčiny):

-Adiční MAC:

- * nadměrná produkce ketokyselin (diabetická ketoacidóza, ketoacidóza z hladovění respektive při nedostatku sacharidů v dietě)
- * laktátová acidóza (při hypoxii)

* organická acidóza při intoxikaci

- ethanol → ketoacidóza (hlavně 3-hydroxymáselná kyselina) a laktátacidóza;
- methanol → mravenčí kyselina;
- ethylenglykol → oxalová kyselina, též glykolová, mléčná
- salicyláty (různé organické kyseliny)

* iatrogenní acidóza (nadměrný přívod kyselin v infúzi nebo per os (argininhydrochlorid, NH_4Cl)

* acidóza při renálním selhání z hromadění organických i anorganických kyselých valencí (pro snížení GFR pod 0,33 ml/s)

- Subtrakční acidóza

* akutní průjem (ztráty HCO_3^- a K^+)

* časná uremická acidóza (kupř. u dřeňové choroby ledvin nebo obstrukční uropatie) (pokles B-HCO_3^-)

- Distribuční acidóza

* diluční acidóza (rychlá hydratace tekutinami bez přívodu HCO_3^- nebo odpovídajícího aniontu - kupř. ředění ECT fyziolog. roztokem)

* hyperkalemická acidóza (nadbytečný přívod KCl)

- Retenční acidóza

* tubulární renální acidóza (v širším slova smyslu)

* globální renální acidóza (terminální renální insuficience, akutní renální selhání)

V klinickém obraze MAC je obvykle hyperventilace (snaha po kompenzaci snížením pCO_2). Acidotické Kussmaulovo dýchání (hyperventilace s apnoickými pauzami) je snášeno pacienty lépe než kardiální dyspnoe nebo dechové obtíže u plicního edému. Srdeční sval je ovlivněn přímo intracelulární acidózou, která způsobuje snížení kontraktibility a nepřímo uvolněním katecholaminů. Účinek na krevní oběh je přitom zřejmý: arteriální krevní řečiště je rozšířené, venózní řečiště je stažené a průtok krve mozkem je zvýšen. U případů náhlého zhoršení ledvinových funkcí u laktátové nebo diabetické ketoacidózy se rozvíjí kóma. Z hlediska diferenciativně diagnostického je třeba rozlišit pseudouremické acidotické kóma s renální nedostatečností od komatu navozeného zhoršením renálních funkcí. Zde předcházejí změny v mentálním chování, bolesti hlavy, zhoršený visus, ztráta orientace, somnolence až komatózní stav.

Tyto změny jsou způsobeny poklesem pH v mozkomíšním moku a jsou výraznější u RAC. Gastrointestinální symptomatologie zahrnuje nauzeu, zvracení a průjem u urémie a diabetické ketoacidózy.

Další laboratorní nález je pokles pH doprovázený hyperkalemií. Posun disociační křivky hemoglobinu doprava zlepšuje uvolňování O_2 z HO_2 v tkáních. Kalcium vázané na bílkovinu se snižuje a stoupá Ca-ionizované.

Častou příčinou MAC v kritických stavech je hypoxie. Pro určení této diagnózy stačí jedna z následujících informací: snížení pO_2 v arteriální nebo centrální venózní krvi, nízký Hb, mírně snížený cirkulující objem krve, snížená spotřeba O_2 a nebo zvýšený B-laktát.

Terapie MAC:

(a) Eliminace příčiny MAC

(b) Alkalizace jen tehdy, když není možno základní příčinu určit nebo řešit (obvykle jen do cílového pH = 7,15–7,20). Je-li pH vyšší než 7,15–7,20 alkalizace se musí dít velmi opatrně.

(c) U akutní MAC se při alkalizaci používá jen NaHCO₃ (Na-laktát nebo acetát potřebuje delší čas než je metabolizován na HCO₃⁻).

Metabolická alkalóza = MAL

Je způsobena zvýšením bazí nebo ztrátou kyselin

Dochází k ní:

a/ Zvýšeným příjmem hydrogenuhličitanu (léčení MAC, antacida - "milk - alkali syndrom"; citrát při krevních transfúzích)

b/ Ztrátami kyselin gastrointestinálním traktem (zvracení kyselých žaludečních šťáv)

c/ Únikem kyselých ekvivalentů močí (zvýšení tubulárního transportu Na⁺ při terapii diuretiky, zvýšení aktivity mineralokortikoidů včetně stavů s hyperreninemií jako je kontrakce ECT, deficit Mg²⁺ a Bartterův syndrom, primární hyperaldosteronismus, Cushingův syndrom, adrenogenitální syndrom, vzestup "negativity" tubulárního lumen pro neresorbovatelné anionty jako fosfáty nebo penicilin, posthyperkapnické stavy, při hyperparatyreóze a při hyperkalemii)

d/ Výrazná hypoproteinemie s poklesem residuálních aniontů (rozšíří se prostor HCO₃⁻)

e/ Kontrakční alkalóza vedoucí ke ztrátám Na⁺ i Cl⁻ při zachování HCO₃⁻ (kupř. u mukoviscidózy).

Pro rozlišení různých forem MAL je třeba znát:

(a) stav hydratace pacienta (kontrakční MAL)

(b) Koncentraci S-Cl⁻, případně U-Cl⁻

(normochloridemická MAC x hyperchloridemická MAL)

(c) S-K⁺ (hypokalemická x normokalemická)

(d) AG (↑N ↓)

Je tedy důležité znát nejen příčiny MAL, ale také faktory, které ji udržují. Jinými slovy, MAL může přetrvávat, i když primární příčina byla odstraněna, kupř. proto, že ledvina není schopna vyloučit nadbytek HCO₃⁻; příčina může spočívat v nedostatku Cl⁻, který doprovází snížení objemu ECT, stejně jako deficit K⁺ nebo hypermineralokorticismus.

Časté dehydratace mohou způsobit takřka kompletní zpětnou resorpci Na⁺ stejně jako HCO₃⁻. Protože je k dispozici jen málo iontů Cl⁻, zbytek Na⁺ je resorbován výměnou za K⁺ a H⁺. V moči je relativně vysoké K⁺ a paradoxně je moč kyselá (pro současné vylučování H⁺).

Léčení MAL spočívá:

a/ V odstranění faktorů způsobujících MAL (úprava diuretické terapie, zabránění zvracení, řízené dýchání při hyperkapnii)

b/ Úprava bilance Cl⁻: MAL obvykle odpovídá na léčení chloridy (zvláště stavy s U-Cl < 10 mmol/l). Někdy je třeba ještě dodat K⁺

c/ Zřídka je MAL rezistentní na léčení NaCl (obvykle U-Cl >20 mmol/l). Příčinou může být zvýšená aktivita nadledvinek. Z roztoků se podává: NaCl, NH₄Cl, lysin. HCl, arginin. HCl nebo i ředěná HCl.

Respirační acidóza = RAC

Vzniká při nepoměru mezi produkcí CO₂ a jeho vylučováním plicemi ve smyslu převahy retence CO₂.

Příčiny:

- a/ deprese dýchacího centra (narkotika, barbiturát)
- b/ poškození CNS (tumory, degenerativní choroby)
- c/ cerebrovaskulární komplikace
- d/ obstrukce dýchacích cest
- e/ poranění hrudníkem a bránice
- f/ šok ("šoková plíce")
- g/ chronické obstruktivní plicní onemocnění
- h/ pneumonie
- ch/ plicní emfyzém nebo embolie plicnice
- i/ nervosvalové postižení dýchacích svalů
- j/ nevhodná umělá ventilace

U RAL stoupá pCO₂ nad 7,5 kPa. Kóma se objevuje při hodnotách 9–14 kPa; u chronické RAC je vysoký pCO₂ snášen lépe. Renální kompenzační mechanismus se snaží vyměnit H⁺ za Na⁺ a moč má nízké pH a více Cl⁻. Při náhlé úpravě hyperkapnie může vzniknout MAL (přetrvávání kompenzačních mechanismů). Léčení RAC: spočívá v odstranění příčiny a při pCO₂ > 8 kPa je nutná umělá ventilace.

Při hypoxii se podává O₂; nestoupne-li pO₂ nad 8 kPa je nutné řízené dýchání.

Respirační alkalóza = RAL

Dochází při ní k většímu k odvětrávání CO₂ plicemi než je jeho produkce v organismu.

Příčiny:

- a/ poruchy CNS a hypoxie mozkového kmene (hyperventilace navozené úzkostí, hysterií, infekce CNS, encefalopatie metabolické; gram-negativní sepse, otrava salicyláty; těhotenství v 3. trimestru)
- b/ systémová hypoxie pro plicní zkraty nebo nevyvážený poměr mezi ventilací a perfuzí, hypotenze nebo defekty difúze v plicích
- c/ umělá ventilace

Skutečnost, že RAL způsobuje vazokonstrikci mozkových cév, je užívána k prevenci mozkového edému. V těchto případech se pCO₂ udržuje na hodnotách 3,3 - 4,0 kPa. V kombinaci s osmoterapií je účinek rychlý. Velká hypokapnie je však škodlivá; venózní krev v mozku obsahuje více laktátu než arteriální krev.

Léčení RAL:

a/ Je-li $\text{pH} > 7,55$ nutno odstranit příčiny RAL

b/ U symptomatických pacientů lze retenci CO_2 navodit dýcháním přes papírový pytlík nebo masku

c/ U těžké alkalemie se srdeční arytmií a mentálními poruchami, snižujeme HCO_3^- podáním acetazolamidu (má význam pokud není hypobazemie); je-li léčení neúčinné, je vhodné podat HCl

d/ V extrémních případech se použije umělé ventilace (zvláště při kombinaci RAL + MAL).

4. 2. Smíšené poruchy

Primárně podmíněné jednoduché poruchy tj. obraz jen jedné základní poruchy ABR jsou mnohem méně časté než poruchy kombinované, kdy máme současně 2, 3 i více primárních poruch. Správná terapie vyžaduje nutně správnou interpretaci těchto poruch. Zde nevystačíme pouze s laboratorním vyšetřením, ale v každém případě musíme vycházet nebo konfrontovat výsledky s klinickou situací, tj. hledáme klinické příčiny změn v ABR. V každém případě je nutné současné vyšetření elektrolytů, osmolality, proteinemie ev. laktátu a dalších substrátů.

Nejčastější kombinace:

1. MAC + RAC - vede k výrazné acidemii ($\text{pH} \sim 7,00$)

Příčiny: srdeční zástava; chronická obstrukční plicní choroba + septický šok; těžké renální a plicní selhání; edém plic a léčení inhibitory karbonátlyasy + β -blokátory.

Léčení: Řízené dýchání, je-li nutné alkalizace k $\text{pH} = 7,15-7,20$

2. MAL + RAL - vede k výrazné alkalemii

Příčiny: chronické jaterní onemocnění + zvracení kyselých šťáv; městnavá srdeční vada + diuretická terapie; stimulace dýchacího centra + diuretická terapie; úspěšné léčení kompenzované MAC + intenzivní alkalizace. Léčení: Acidifikace, ev. pomocí HCl a řízené dýchání.

3. MAL + RAC - pH většinou normální;

Příčiny: chronické obstrukční plicní onemocnění + diuretika ev. zvracení; je nutné rozlišit primární RAC od sekundární kompenzace (kupř. inhalace 100% O_2 vede u primární RAC k dalšímu vzestupu pCO_2)

Léčení: řízené dýchání + ev. acidifikace (NaCl)

4. MAC + RAL - vede k mírnému poklesu pH Příčiny: septický šok; hepatorenální syndrom; renální selhání + sepse; otrava salicyláty a městnavá srdeční vada a renální selhání.

Léčení: Monitorování situace a zásah dle aktuální situace

5. MAC + MAL - pH je posunuto na stranu převládající poruchy, ale často normální

Příčiny: intoxikace alkoholem + zvracení; uremie + zvracení nebo diuretika; ketoacidóza + zvracení nebo diuretika; laktacidóza + zvracení; těžká hypoproteinemie ($\uparrow \text{HCO}_3^-$) + různé příčiny MAC.

Diagnóza: přispívá výpočet BBs a AG ($\uparrow \text{BBs}$ u MAL a $\uparrow \text{AG}$ u MAC).

Léčení: nutno léčit obě poruchy současně.

6. MAC + MAL + RAL - pH lehce alkalické.

Příčiny: hypoxie (systémová nebo v oblasti dýchacího centra) → hyperventilace a další příčiny jako sub MAC+MAL.

7. MAC + MAL + RAC - pH většinou normální až lehce nižší Příčiny jako sub MAC+MAL (5) a k tomu příčiny RAC

8. Chronická RAC s náhlou změnou pCO₂

(↓pCO₂ → ↑↑ pH pro přetrvávající kompenzační hyperbazemii)

9. MAC (hyperchloridemická) + MAC (AG)

Příčiny: průjem + laktacidóza nebo ketoacidóza; renální tubulární acidóza + uremická acidóza.

Otázky

1. Koncentrace vodíkových iontů (cH⁺) v tělních tekutinách se řádově pohybuje v oblasti:

- A. Mikromol/l
- B. Nanomol/l
- C. Milimol/l
- D. Picomol/l

Odpověď:

- A. Špatně
- B. Správně. Hodnota pH 7, 40 odpovídá cH⁺ 40 nmol/l
- C. Špatně.
- D. Špatně.

2. Exkrece H⁺ močí za 24 hod u dospělého člověka se v průměru pohybuje kolem hodnoty

- A. 200 mmol/d
- B. 40 μmol/d
- C. 70 mmol/d
- D. 7 mmol/d

Odpověď:

- A. Špatně
- B. Špatně
- C. Správně
- D. Špatně

3. Pufrové báze séra jsou dány hodnotami

- A. [HCO₃⁻] + [proteinát⁻]
- B. [Cl⁻] + [HCO₃⁻] + [HPO₄⁻] + [laktát⁻]
- C. [HCO₃⁻] + [CO₃²⁻]

D. [H. HCO₃⁻]

[H. HCO₃⁻

Odpověď:

A. Správně. Pufrové baze séra (BB) jsou dány součtem hodnot hydrogenkarbonátu (24 mmol/l) a proteinátového aniontu (18 mmol/l) a činí tedy normálně 42 mmol/l

B. - D. Špatně.

4. Rozpoznání metabolické acidózy (MAC) ve smíšené poruše ABR umožňuje

A. Nález zvýšených hodnot "anion gap"

B. Snížení pO₂ v arteriální nebo centrální venózní krvi

C. Nízký hemoglobin v krvi

D. Zvýšený laktát v krvi

Odpověď:

Všechny vyjmenované varianty (A - D)

5. Výrazná hypoproteinemie s poklesem residuálních aniontů vede k:

A. MAL

B. MAC

C. RAL + MAC

D. MAC + RAC

Odpověď:

A. Správně. Snížení bílkovin spolu se snížením residuálních aniontů vede k rozšíření "prostoru hydrogenkarbonátu" a tím k metabolické alkalóze

B. Špatně. Dojde-li však k hypoproteinemii při normálních Cl⁻ i RA, pak je to známkou přidružené MAC ve smíšené poruše.

C. Špatně.

D. Špatně.

Příklady pacientů

Pacient se skoliózou a srdeční vadou

17-letý muž přijat do nemocnice s městnavou srdeční vadou a skoliosou. Při přijetí vyšetřena laboratoř a o 24 h později opět.

V moči: bílk. - 1; pH - 6; 3 – 6 hyalinních válců, ostatní nález normální

Lab. výsledky:

pH

přijetí:

za 24 h:

pCO₂

7,20

7,46

5,3 kPa

14,0 kPa

HCO₃⁻

40 mmol/l

29 mmol/l

BE

+5,0 mmol/l

+5,0 mmol/l

pO ₂		17,6 kPa
17,6 kPa		
	(terapie kyslíkem)	
saturace O ₂ (%)	97,9	99,0
Na ⁺		146 mmol/l
139 mmol/l		
K ⁺		5,0 mmol/l
3,3 mmol/l		
Cl ⁻		94 mmol/l
96 mmol/l		
glykemie	6,9 mmol/l	4,8 mmol/l
urea	6,0 mmol/l	1,7 mmol/l
kreatinin	45 μmol/l	75 μmol/l
CK	3,6 μkat/l	2,4 μkat/l
LD	4,1 μkat/l	3,8 μkat/l
Hb	189 g/l	165 g/l
hematokrit (%)	58,8	50,7

Otázky:

1. Jaká byla porucha ABR při přijetí?
2. Jaká byla porucha ABR po 24 h?
3. Co bylo příčinou poklesu K⁺ v séru za 24 h?
4. Odpovídá klinický stav laboratorním nálezům?

Odpovědi:

1. RAC částečně kompenzovaná (vzestup HCO₃⁻ a BE)
2. MAL, zřejmě chlorid - rezponzivní po hyperkapnii.
3. Protože pH přímo ovlivňuje pohyb K⁺, změna pH vede ke změně K⁺ v ECT, pokud se K⁺ terapeuticky nepřivádí. Vzestup pH o 0,1 vede k poklesu K⁺ asi o 0,6 mmol/l, tedy vzestup pH o 0,26 → pokles K⁺, o 2,6 · 0,6 = 1,56, v našem případě pokles K⁺ o 1,70 mmol/l.
4. K podobné situaci dochází u více syndromů. Skoliosa ztěžuje hluboké dýchání, snížení minutového objemu zřejmě spolupůsobilo. Následný pokles HCO₃⁻ je možno vysvětlit městnavou srdeční vadou (hypoxická laktátová acidóza). Retence CO₂ však byla pravděpodobně jiného původu (ztížené dýchání).

Pacient v akutní respirační tísní

51-letý muž přijat do nemocnice s respiračním distress syndromem. Pacient kouří 3 balíčky cigaret denně. Krátce po přijetí měl tyto laboratorní výsledky:

pH = 7,41	venózní saturace = 02 54 (54%)
pCO ₂ = 5,4 kPa	P50 = 4,33 kPa
HCO ₃ ⁻ = 26,0 mmol/l	2,3 -bisfosflycerát = 5,3 j. (normál 3,5-5,3)
pO ₂ = 6,8 kPa	
saturace = 0,76 (76 %)	Hb = 201 g/l
% karbonyl -Hb = 11,5 %	

Otázky:

1. Jak hodnotíte ABR v době příjmu pacienta?
2. Je posunuta disociační křivka oxyhemoglobinu?
3. Jaká je významnost ostatních výsledků?

Odpovědi:

1. ABR je normální.

2. Ano, křivka je posunuta doprava. Normálně je P50 3,4 - 3,6 kPa; P50 je tedy vyšší při prakticky žádném zvýšení 2,3-bisfosfoglycerátu. Afinita Hb ke kyslíku je tedy výrazně snížena.

3. Hemoglobin je zvýšený, tato sekundární polycytemie není obvyklá u chronických respiračních onemocnění. Ačkoliv není vysoká saturace arteriální krve (asi vlivem poškození plic), které neumožňují kvalitní výměnu, tkáně dostávají vzhledem k arterio-venóznímu rozdílu poměrně dost kyslíku.

Pacient v diabetickém komatu

15-letá dívka je přivezena v komatu na ARO. Je 7 let diabetička, brala insulin. Měla už několik záchvatů hypoglykemie a ketoacidózy. V poslední době měla ve škole hodně učení a snad i zanedbala nějaké injekce insulinu.

Při vyšetření měla tyto hodnoty:

Sérum:

urea 5,8 mmol/l
kreatinin 122 μmol/l
Na+ 148 mmol/l
kPa
K+ 5,8 mmol/l
Cl- 87 mmol/l
mmol/l

Krev:

pH 7,110
pCO₂ 2,7 kPa
pO₂ 12,7
glykemie 58,3 mmol/l
HCO₃⁻ 8

laktát 5 mmol/l
osmolal. 385 mol/kg
vypoč. osm. 346 mmol/l
A. G. 58,3 mmol/l

Moč:
ketonurie 3
glykosurie 3

Otázky:

1. Jaká je diagnóza?
2. Vypočtete anion gap (AG), co je příčinou vysokého AG?
3. Jaký je význam zvýšené osmolality?
4. Proč jsou chloridy a HCO₃⁻ snižené, jaký je význam "normálního" Na⁺ a zvýšeného K⁺?

Odpovědi:

1. Diabetická ketoacidóza (hyperglykemie, acidosa, ketonurie, glykosurie)
2. $AG = Na^+ + K^+ - HCO_3^- - Cl^- = 58,8 \text{ mmol/l}$
(Příčinou je ketoacidóza, jinými příčinami bývají laktátová acidosa, uremie, intoxikace aj.)
3. Zvýšená osmolalita séra je ze ztráty vody osmotickou diurézou a z hyperglykemie. U ketoacidózy je to běžné.
4. Diabetická ketoacidóza je formou MAC, která vede ke snížení HCO₃⁻. Pacienti dýchají rychle, aby kompenzovali acidosu a to vede ke snížení pCO₂ (pO₂ bývá normální). Hypochloridemie nastane vlivem osmotické diurézy. Vysoké Na⁺ je relativní vlivem ztrát vody. Pacient má žízeň, ale obvykle pije tekutiny bez dostatku Na⁺ a dalších elektrolytů. Hladinu K⁺ v plasmě je nutno hodnotit opatrně. Z celkového tělesného K⁺ je v ECT jen asi 2 - 3 %. Hyperkalemie je zde způsobena těžkou acidózou a částečně též osmotickou diurézou. (Zásoby K⁺ v tělu u diabetického komatu jsou vždy velmi sníženy a pro úpravu stavu je nutné podávat K⁺.)

Pacient s plicní insuficiencí a hypokalemii

Pacient 55 let, s chronickou plicní obstrukční chorobou, který byl léčen delší dobu thiazidovými preparáty (jako diuretikum).

Laboratorní vyšetření:

pH = 7,42
 pCO₂ = 11,6 kPa
 HCO₃⁻ = 55 mmol/l
 pO₂ = 8,4 kPa
 S-K⁺ = 2,6 mmol/l

1. Otázka: O jakou poruchu v ABR se jedná?

Odpověď: Chronické plicní onemocnění vede ke snížení výměny plynů: retence CO₂ → respirační acidóza, nedostatek O₂ → hypoxie → hypoxická laktátová acidóza.

Dlouhodobé užívání thiazidových preparátů vede ke ztrátám K⁺ močí → hypokalemická metabolická alkalóza.

METABOLISMUS VODY A ELEKTROLYTŮ a jeho poruchy

1. Úvod

V živých organismech všechny biochemické pochody jsou vázány na vodní prostředí, které možno rozdělit při velkém zjednodušení na několik souhrnných oddílů (kompartmentů): Intracelulární prostor (ICT), extracelulární prostor (ECT), který se dělí na dva pododdíly: intersticiální prostor (IST) a intravazální prostor (IVT). Jednotlivé prostory jsou od sebe odděleny buněčnými membránami, které vykazují různou propustnost pro různé substance, což způsobuje rozdílné složení jednotlivých prostorů:

Schema vzájemného poměru tělových kompartmentů vyjádřených jako prostor vody (dospělý člověk)

Kompartment	H ₂ O v litrech	% H ₂ O na tělesné hmotnosti	%H ₂ O celk. tělesné vody
ICT	28	40	67
ECT	14	20	33
-IST	11	15,7	26
-plasma (IVT)	3	4,3	7
Celkem	42	60	100

Poznámka: Transcelulární prostor asi 2%

U dětí je tato distribuce jiná, zejména v prvním roce života. V tomto období jsou děti mnohem více ohroženy ztrátami tekutin. U novorozenců ECT převažuje nad ICT, takže k velmi závažné dehydrataci může dojít už za několik hodin. Možnost přesunu vody z buněk do ECT z osmotických důvodů odpadá v těch případech, kde došlo ke ztrátám tekutiny, jejíž osmolalita je totožná s osmolalitou ECT.

Rozdělení tělových prostorů u novorozenců a kojenců ve srovnání s dospělými (% vody na celkové tělesné hmotnosti)

Věk	Celková voda	ICT	IST	Plasma (IVT)	Výměna za 24 hodin
Novorozenci	79	35	44	4,6	
Kojenci 3-6	70	40	30	5,4	14-16 %

měs.					
7-12 měs	60	35	25	5,5	12-15 %
Muži	60	44	16	4,1	2-4 %
Ženy	51	35	16	4,1	2-4 %

Hlavním kationtem ICT je Na⁺, hlavním kationtem ECT je K⁺; hlavním aniontem ECT je Cl⁻, hlavním aniontem ICT je HPO₄⁻. Složení ICT se však liší v různých tkáních. Rozdílné koncentrace iontů mezi plasmou a intersticiem jsou podmíněny tzv. Gibbsovým-Donnanovým efektem, což je způsobeno rozdílným množstvím multivalentních aniontů (především proteinu) mezi oběma prostory.

2. Voda

Metabolismus vody je v organismu velmi úzce spřažen s metabolismem Na⁺. Schopnost organismu skladovat vodu a rozdělit ji do příslušných kompartmentů je dána množstvím částic, v ní rozpuštěných tedy tzv. osmolalitou. Následující tabulka ukazuje rozdělení vody v jednotlivých prostorech.

Tab. :

Prostor	H ₂ O v litrech	H ₂ O v % těles. hmotnosti	H ₂ O v % celkové vody
ICT	28	40	65
ECT	14	20	35
- IST	11	15	25
- plasma	3	5	10
celkem	42	60	100

U dětí je obsah vody v organismu vyšší (70-80%) rovněž podíl ICT a ECT je odlišný (u novorozence je objem ECT dokonce vyšší než ICT).

Poruchy v metabolismu vody jsou poruchami v osmoregulaci. Normální osmolalita plasmy se pohybuje v rozmezí 275 - 295 mmol/kg. Při vzestupu nad hodnotu 278 začne sekrece antidiuretického hormonu (ADH); k dalšímu postupnému zvyšování sekrece ADH dochází tak, jak se zvyšuje osmolalita v plasmě - maxima je dosaženo při hodnotě 298. Další patologické zvýšení osmolality už nevede k dalšímu zvýšení sekrece ADH.

Jiným stimulem sekrece ADH je pokles cirkulujícího objemu od 10 - 20% nebo pokles krevního tlaku o 5%. Podobný efekt může mít úzkost, bolest, některé drogy (opiáty, barbituráty; též chlorpropamid, acetaminofen).

Ztráta nebo nadbytek vody v organismu způsobuje patologické stavy, které se nazývají dehydratace nebo hyperhydratace. Příčiny shrnuje tabulka:

Dehydratace

Hyperhydratace

- | | |
|--|---|
| <p>1. Snížený přívod</p> <ul style="list-style-type: none"> - nedostatek vody - omezení příjmu - nemožnost přijímat tekutiny
(koma, poruchy polykání, - obstrukce močových cest
nedostatek péče o postižené) <p>2. Zvýšené ztráty</p> <ul style="list-style-type: none"> - Kůží: pocení, horečka - plícemi: hyperventilace - ledvinami: diabetes insipidus
osmotická diuréza
nedostatečná koncentrační schopnost
hypokalemie
hyperkalcemie - gastrointestinálním traktem:
průjem zvracení | <p>1. Primární renální poruchy</p> <ul style="list-style-type: none"> - akutní selhání ledvin - terminální insuficience
ledvin - extracelulární deficit objemu - oběhový kolaps <p>2. Zvýšená aktivita ADH</p> <ul style="list-style-type: none"> - srdeční nedostatečnost - insuficience jater - pooperační stavy - hypotyreóza - poškození mozku - karcinom |
|--|---|

3. Nedostatek ADH Příčiny hyperosmolality zahrnují ztrátu tělové vody, akutní katabolismus (kupř. v šoku dochází k nahromadění intermediárních netabolitů v buňce, které nemohou být z organismu odstraněny - to má za následek hyperosmolalitu ICT oproti ECT co má dále za následek přesun vody do ICT. Snížení objemu ECT pak ještě zhoršuje primární stav tj. umocňuje poruchu cirkulace). K hyperosmolalitě může též dojít iatrogeně při infúzní terapii a parenterální výživě (podávání hypertonických roztoků, příkládání glycerolových obkladů nebo transkutánní absorpce propylenglykolu při léčení popálenin). Tyto malé molekuly po vstřebání zvyšují osmolalitu. Poznává se to z rozdílu mezi výpočtem osmolality a hodnotou jejího stanovení osmometrem (tzv. "osmolární gap").

Výpočet S-osmolality = $2 \cdot \text{Na}^+ + \text{glukosa} + \text{urea}$ (vše v mmol/l),

tedy kupř.: $2 \cdot 140 + 5 + 5 = 290$ mmol/l

Příčiny hypoosmolality zahrnují metabolickou odpověď na trauma, nadměrný přívod vody, náhradu ztráty vody a solí pouze vodou resp. roztoky bez elektrolytů, chronický katabolismus, spolykání vody při tonutí, nepřiměřená sekrece ADH.

Při poškození mozku a míchy může dojít k těžkým poruchám osmoregulace, a to buď k vývoji diabetes insipidus pro chybějící sekreci ADH, což je provázeno polyurií, zvyšující se osmolalitou v plasmě (až 330 mmol/kg), a nízkou osmolalitou v moči, anebo k rozvoji nepřiměřené sekrece ADH, která vede k hyponatremii a k hypoosmolalitě; osmolalita moče je vyšší než osmolalita v séru; pacientům hrozí mozkový edém.

Úprava výrazných změn v osmolalitě se nemá dít rychleji než 2 - 4 mmol/kg/hod a změna za 24 h nemá převýšit 20 - 30 mmol/kg.

Tab. : Rozlišení stavů polyurie

Syndrom	Hodnoty po žíznění	Vzestup U-osm po podání
---------	--------------------	-------------------------

		ADH
Diabetes insipidus centralis		
- kompletní	$U_{osm} < P_{osm}$	> 50 %
- parciální	$U_{osm} > P_{osm}$	~ 10-60 %
Diabetes insipidus renalis	$U_{osm} < P_{osm}$	< 50 %
Psychogenní polydipsie Osmotická diuréza (dekomp. diabetes mellit.)	$U_{osm} \ll P_{osm}$,	< 5 %

3. Kation sodný (Na^+)

Je hlavním kationem ECT. Celkové množství tělového sodíku tvoří u dospělého jedince asi 60 mmol/kg hmotnosti, z toho vyměnitelné Na^+ je asi 42 mmol/kg. Na^+ v ECT činí 59 mmol/kg, směnitelné 41, nesměnitelné (hlavně v kostech) 18; v ICT je asi 1 mmol, směnitelné v ICT také 1 mmol/kg.

Hlavní úloha Na^+ spočívá v udržování osmolality. Existuje proto velmi úzké propojení regulace objemu ECT a hospodaření H_2O . Při neporušené osmoregulaci způsobuje každá odchylka od normálního stavu Na^+ v organismu odpovídající odchylku v objemu ECT. Koncentrace Na^+ je naproti tomu mírou pro účinnost osmoregulace. Znamená to, že při normální osmoregulaci zvýšený přísun Na^+ způsobuje hyperhydrataci, tedy možnost tvorby edémů a zvýšení tělesné hmotnosti. Naproti tomu nedostatek Na^+ způsobuje zvýšené ztráty vody (exikóza, snížení tělesné hmotnosti). Koncentrace Na^+ není mírou stavu Na^+ v organismu. Tak kupř. při srdeční insuficienci můžeme velmi často nalézt hyponatremii, i když celkový obsah Na v organismu je zvýšen. Tento stav vyžaduje nikoliv přívod Na^+ , ale odvodnění organismu.

Souhrnně řečeno:

- (a) Obsah Na^+ v organismu předurčuje velikost ECT
- (b) Sérová koncentrace Na^+ není měřítkem obsahu Na^+ v organismu
- (c) Abnormální koncentrace Na^+ v séru znamená také poruchu hospodaření s vodou, tedy poruchu osmoregulace

Na regulaci Na^+ se podílí renální protiproudý mechanismus spolu s osmoreceptory v hypothalamu, které kontrolují sekreci ADH a udržují tak obsah vody v organismu, jenž je velmi úzce spjat s koncentrací Na^+ v ECT, takže natremie se udržuje v rozmezí 138–142 mmol/l i přesto, že příjem vody může značně kolísat. Defekt v diluční kapacitě ledvin, je-li spojen s nepřiměřeným příjmem vody, vede k hyponatremii, a naopak defekt v koncentrační schopnosti vyúsťuje v hypernatremii. Osmolalita séra tedy souvisí s koncentrací Na^+ . Hypernatremie vždy znamená hyperosmolalitu, naproti tomu normální natremie nebo hyponatremie nemusí vždy znamenat euosmolalitu resp. hypoosmolalitu. Existují klinické situace (přítomnost vyššího obsahu jiných osmoticky aktivních látek jako je hyperglykemie nebo produkty zvýšeného buněčného katabolismu, kdy přímá úměra mezi S- Na^+ a osmolalitou neplatí. Záleží však na povaze solutů zda přispějí nebo nepřispějí ke zvýšení efektivní osmolality. Ty, které jsou pro membránu permeabilní jako je urea, ethanol, methanol, ethylenglykol mohou způsobit hypertonicitu bez dehydratace. Glukose při nedostatku insulinu se nedostává do buněk a její přítomnost v ECT způsobuje přesun vody z ICT do ECT, což má

za následek intracelulární dehydrataci a hyponatremii. Tyto hyponatremii můžeme označit jako přesunovou (translokační). Sérové Na^+ se snižuje o 1,6 mmol/l na každých 5,6 mmol/l nárůstu glukosy. Podobně působí i manitol podávaný v infuzi.

Při posuzování obsahu Na^+ v organismu a při rozhodování úpravy za patologických stavů je třeba mít jak informace laboratorní (S- Na^+ , dU- Na^+ , S- a U-osmolalita, S-glukosa), tak klinické (stav hydratace, edémy, exikóza, zvracení, průjem, diuréza, pocení, ventilace apod.)

Typy poruch

Normohdratace s hypo - nebo hypernatremií. U akutních případů příčina spočívá ve větších nebo menších ztrátách isotonické tekutiny, která byla hrazena pouze vodou nebo tekutinou s neelektrolyty (glukosa). Dochází sice k poklesu Na^+ v ECT, ale objem ECT zůstává normální. Vyvíjí se však osmotický gradient mezi ECT a ICT s přesunem vody do ICT. Klinické příznaky hyposomolality u akutních stavů vznikají klesne-li S- Na^+ pod 127 mmol/l. Léčení spočívá v doplnění zásob Na^+ podáním isotonického NaCl. U těžších případů též hypertonický NaCl.

Výpočet dávky Na^+ (v mmol) = [cílové S- Na^+ - naměřené S- Na^+] F . kg

cílové S- Na^+ = obvykle 137 mmol/l

F = podíl celkové vody v organismu; u dospělých 0,6 - 0,55; u dětí 0,65-0,75)

U chronických stavů etiologie zahrnuje katabolické situace s poklesem osmolality v ICT s přesunem vody ECT a s následnou dilucí ECT. Pacient má hyponatremii, ale nedokáže ji normalizovat; stoupá vylučování Na^+ močí. Symptomy hyponatremie se u chronických případů objevují až při poklesu S- Na^+ na 120-140 mmol/l.

- Normohdratace s hypernatremií. V etiologii je obvykle iatrogenní příčina podávání koncentrovaných roztoků solí. ECT je vůči ICT hyperosmolární, nastává přesun vody z ICT do ECT a dochází k expansi ECT. Je nebezpečí plicního edému. Úprava spočívá v odhadu nadbytku Na^+ v organismu a ve výpočtu deficitu vody

Na^+ nadbytek = F . kg . [naměřené S- Na^+ - 137]

H_2O deficit = F x kg x [$\frac{\text{naměřené S-}\text{Na}^+}{137} - 1$]

"Kličková" diuretika navodí diurézu s vyšším vylučováním vody než elektrolytů; hyperosmolalita se upraví podáním 5% glukosy, v těžkých případech hemodialýzou.

- Dehydratace s normo-hypo-nebo hypernatremií Nejlépe se rozpozná stupeň dehydratace z rozdílu tělesné hmotnosti. Větší než 5% úbytek hmotnosti už se považuje za závažný projev dehydratace.

- a/ Dehydratace s normonatremií Příčinou je úměrná ztráta vody a elektrolytů jako kupř. gastrointestinálním traktem nebo ledvinami. Mohou být též ztráty do tzv. "třetího" prostoru (peritoneum apod.). S- Na^+ i S-osmolalita jsou normální, není přesun vody z ICT do ECT nebo obráceně.

Vzniká oligurie, ale Na^+ v moči je velmi nízké, ale osmolalita moči stoupá (\uparrow U-urea). Dochází k prerenální uremii.

- b/ Dehydratace s hyponatremií

Je způsobena renálními nebo extrarenálními ztrátami NaCl vody, které jsou hrazeny nedostatečně, ale více vodou (neelektrolyty) než NaCl. Extrarenální ztráty způsobené kupř. průjmy, popáleninou kůže nebo přesunem do třetího prostoru navodí hypovolemii, ta podnítl regulační systém renin-angiotensin a zvyšuje se sekrece aldosteronu a ADH s následnými změnami v renální hemodynamice. Množství moče je malé, U-Na⁺ a U-Cl je pod 20 mmol/l. Naproti tomu renální ztráty navozené předávkováním diuretik primární nedostatečností nadledvinek nebo nefropatií mají U-Na⁺ a U-Cl- zvýšené (nad 20 mmol/l).

Léčení spočívá v doplnění cirkulujícího objemu i hyponatremie isotonickými roztoky.

- c/ Dehydratace s hypernatremií a fyziologickou dodávkou Na⁺

Je způsobena ztrátou (převažující) prosté vody jak za horečnatých stavů, v horkém prostředí, při hyperventilaci. Osmolalita ECT stoupá; vzniklý osmotický gradient vede k přesunu vody z ICT do ECT.

Léčení spočívá v náhradě deficitu vody

137

deficit vody = kg . F . [1- $\frac{\text{naměřené S-Na}^+}{\text{normální S-Na}^+}$]

- d/ Dehydratace s hypernatremií se sníženou dodávkou NaCl. Vzniká při ztrátách hypotonické šťávy, gastroenteritidách, pro osmotickou diurézu (manitol, urea), pro zvýšenou perspiraci, při peritoneální dialýze. Léčení má dvě fáze: (1) podání roztoků glukosy nebo hypotonických elektrolytů, (2) doplnění NaCl isotonickým roztokem NaCl.

- e/ Dehydratace s hypernatremií se zvýšenou dodávkou NaCl Obvykle z iatrogenních příčin: podávání Na-solí (hypertonické roztoky, sodné soli antibiotik apod.)

Léčení: 5% glukosa

- f/ Hyperhydratace s normonatremií

Zvýšený příjem vody i solí kupř. nadbytečné infúze při snížených schopnostech vylučování vody a elektrolytů. Není osmotický gradient mezi ECT a ICT. Zvyšuje se cirkulující objem, dochází k edémům.

Léčení: diuretika, kardiotonika, hypertonické roztoky NaCl.

g/ Hyperhydratace s hyponatremií

U akutních stavů jde kupř. o intoxikaci vodou (léčení hypovolemie jen 5% glukosou). Riziko stoupá po podání léků s antidiuretickým efektem (barbituráty, opiáty), též při porodu (antidiuretický účinek oxytocinu), u stavů s chronickou poruchou vylučování vody, u schizofrenie (uvolnění ADH). Nebezpečný je rychlý pokles S-Na⁺ (> 1-2 mmol/l/kg).

Nebezpečí zvýšení nitrolebního tlaku.

Korekce roztoky NaCl musí být pomalá.

Chronické situace zahrnují edémy způsobené srdeční nedostatečností, nefrotoxickým 0syndromem, jaterní cirhózou. Hyponatremie je asymptomatická pokud S-Na⁺ nepoklesne pod 120 mmol/l. V léčení je nutno omezit přísun vody (méně než 1 l/24 h). Příjem NaCl nutno bilancovat.

Obdobná situace může vzniknout u akutního renálního selhání při nepřiměřené dodávce vody a Na⁺. Akutní hypoosmolalita se léčí hypertonickým NaCl s následnou hemodialýzou.

- ch/ Hyperhydratace s hypernatremií

Příčinou je iatrogenní podání koncentrovaných solných roztoků. ECT je hyperosmolární vzhledem k ICT a voda opouští buňky. Dochází k expanzi ECT. Vzniká nebezpečí plicního edému. Fungují-li ledviny, je nutné rychlé podání diuretik.

Pseudohyponatremie

Tento stav vzniká při zvýšení obsahu solutů v plasmě (hyperproteinemie, hyperlipidemie). Za normálních okolností obsah solutů v plasmě činí 7%, zvýší-li kupř. na 14% dochází při neměnní se koncentraci Na^+ ve vodě plasmy k poklesu koncentrace Na^+ v celé plasmě, což způsobuje mylnou informaci o stavu Na^+ v ECT. Dodání solných roztoků může navodit nebezpečnou hypernatremii.

Skutečná koncentrace S-Na^+ se pozná vyšetřením na přístrojích s iontově selektivní elektrodou.

4. Kation draselný (K^+)

K^+ je hlavní intracelulární kation. V těle je obsaženo asi 3500 mmol K^+ , přitom z 98% v ICT a jen 2% v ECT (60 mmol). Koncentrační gradient mezi ECT (normálně 3,8 - 5,4 mmol/l) a ICT (cca 110 - 140 mmol/l) je udržován Na^+/K^+ - ATPasovou "pumpou" v buněčné membráně. Průměrný přísun K^+ za 24 h činí asi 80 mmol; močí se vyloučí 75 mmol, stolicí 5 mmol.

Bilance K^+ je regulována v distálním tubulu a ve sběrných kanálcích ledvin.

Řídí se přitom:

- množstvím přiváděného K^+ v potravě
- množstvím Na^+ a rychlostí toku v distálním tubulu
- aktuálním stavem ABR
- aktivitou mineralokortikoidů
- odpovědí distálního tubulu na mineralokortikoidy
- druhem a směnitelností aniontů

Předpokládá se, že při náhlém zatížení organismu K^+ dochází k

vzestupu K^+ v ECT ----> zvýšení sekrece glukagonu ---->

hyperglykemie ----> zvýšení sekrece insulinu ----> zvýšená

utilizace glukosy buňkami a tím k přenosu glukosy do buňky spolu s K^+ .

Udržování S-K^+ ve fyziologických mezích je velmi důležité, protože patologická hypokalemie i hyperkalemie vedou k poruše funkce myokardu (též kosterního svalstva). Je však třeba si uvědomit, že adekvátní hodnota S-K^+ odvisí od aktuálního pH-krve. (Při acidemii se přiměřená hodnota S-K^+ zvyšuje, při alkalemii snižuje, a to velmi přibližně o 0,6 mmol/l při změně pH o 0,1 jednotky.

Hypokalemie

Příčiny:

- a/ Ztráty zažívacím traktem
- akutní a chronické průjmy

- abusus laxantií
- zvracení
- b/ Renální ztráty
 - léčení diuretiky
 - polyurická fáze akutního renálního selhání
 - renální tubulární acidóza
 - hyperaldosteronismus
 - Cushingův syndrom nebo terapie steroidy
- c/ Alkalóza
- d/ Infúzní terapie bez K^+
- e/ Jednostranná dieta (chudá na K^+)

Patobiochemický mechanismus deficitu K^+ při ztrátách tekutin gastrointestinálním traktem: Při zvracení kyselá žaludeční šťáva (která je relativně chudá na K^+) dochází k nahromadění HCO_3^- v krvi. To má za následek výstup H^+ z ICT do ECT, ke vstupu Na^+ a K^+ z ECT do ICT, což vede ke kontrakci cirkulujícího objemu a tím ke zvýšené sekreci aldosteronu. V distálním tubulu je zvýšená nabídka Na^+ a K^+ pro deficit Cl^- v Henleově kličce, který způsobuje snížení zpětné resorpce Na^+ a K^+ . Deficit K^+ vzniká pro zvýšenou výměnu kationtů v distálním tubulu a ztrátami K^+ močí společně s HCO_3^- .

U Bartterova syndromu (hyperplazie juxtamedulárního aparátu, nízký krevní tlak, zvýšená odpověď cév na katecholaminy a angiotensin), zvýšená permeabilita buněk pro Na^+ , zvýšená syntéza prostaglandinu a prostacyklinu ----> zvýšení reninu ----> zvýšení aldosteronu ----> zvýšená sekrece K^+ močí.

U ztrát K^+ střevem (těžké a protrahované průjemy) dochází též k acidóze. U- K^+ je nízké (stejně jako Na^+ a Cl^-).

Hyperkalemie

Příčiny:

- a/ Renální (snížené vylučování)
 - oligurie a anurie při akutním renálním selhání
 - terminální stadium chronického renálního selhání
 - renální tubulární acidóza typ H
 - insuficience nadledvinek
 - diuretika šetřící K^+
- b/ Přesun z ICT do ECT
 - acidóza (akutní)
 - zvýšený buněčný katabolismus nebo nekróza buněk
- c/ Zvýšený přívod
- d/ Nedostatek mineralokortikoidů

Pseudohyperkalemie

Zvýšení K^+ v séru (nikoliv plasmě!) při výrazné trombocytóze (při srážení krve ve zkumavce dochází k uvolnění K^+ ze zmnožených trombocytů).

4. Účinek hormonu na metabolismus vody a elektrolytů

4. 1. Aldosteron - podílí se na homeostáze objemu ECT a metabolismu K^+ tím, že podporuje zpětnou resorpci Na^+ v renálních tubulech (v distálním tubulu a ve sběrných kanálcích) výměnou za K^+ a H^+ ; s tokem Na jde též pasivní zpětná resorpce H_2O a tím je uchována pro ECT aldosteron, takto působí hlavně na tubulární buňky v ledvinách, v menší míře však i na epitel slinných i potních žláz a gastrointestinálního traktu

* Hyperaldosteronismus $\uparrow S-Na^+$; $\downarrow S-K^+$;
 $\downarrow U-Na^+$; $\uparrow U-K^+$
 $\uparrow TK$, \uparrow cirkul. objem

* Hypoaldosteronismus $\downarrow S-Na^+$; $\uparrow S-K^+$
 $\downarrow TK$

4. 2. Antidiuretický hormon (ADH)

Primárním fyziologickým stimulem pro sekreci ADH je vzestup osmolality plasmy (stačí 1-2%). Děje se tak prostřednictvím osmoreceptorů a baroreceptorů. Hemodiluce má opačný efekt. Dalším stimulem je emoční nebo fyzikální zátěž (stres). Hlavním místem účinku je epitel renálního distálního tubulu a sběrných kanálek, které procházejí především ledvinou dřeví, kde je osmolalita vůči plasmě čtyřnásobná. Tyto buňky jsou relativně nepropustné pro vodu, takže nepřítomnost ADH, způsobuje, že moč se dostatečně nezahušťuje (objem moči přesahuje 2 l/den). ADH zvyšuje permeabilitu těchto buněk pro vodu a umožňuje osmolární vyrovnání mezi sběrnými kanálky a hypertonickým intersticiem, takže objem vyloučené moči může být od 0, 5 - 1 l/den. Na epitelu těchto buněk jsou receptory pro ADH, které jsou napojeny na adenylátcyklový systém buňky. Takže fyziologickou funkcí ADH je antidiuretický účinek. Cyklický AMP a inhibitory fosfodiesterasy (jako kofein) napodobují tento účinek. Hyperkalcemie, tlumící účinek adenylátcyklasy zvyšuje výrazně diurézu.

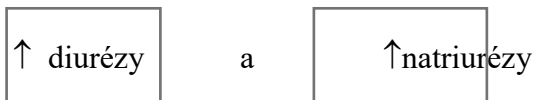
4. 3. Atriální natriuretický peptid (ANP)

ANP je secernován v srdeční síni ve formě prepropeptidu. Z myocytů síní je uvolňován aktivní hormon jako α -ANP ($M_r = 3000$) do krevní cirkulace (normální hladina 3 - 25 pmol/l). Podnětem pro sekreci je rozšíření intravaskulárního objemu; též akutní fyzická zátěž.

Mechanismus účinku: ANP působí prostřednictvím specifických receptorů aktivací guanosinocyklového systému:

- zvyšuje glomerulární filtraci
- zvyšuje průtok krve ledvinami
- ovlivňuje transport Na^+ v distálním tubulu a ve sběrných kanálcích
- inhibuje stimulační účinek angiotensinu II na zpětnou resorpci vody v proximálním tubulu
- inhibuje diuretinem podporovanou zpětnou resorpci vody ve sběrných kanálcích
- snižuje hladinu aldosteronu v plasmě
- zvyšuje hladinu insulinu v plasmě
- snižuje krevní tlak

- snižuje tonus sympatik
to vede přímo i nepřímo k



Otázky

1. Jaký je podíl (v % hmotnosti celého těla) intracelulární tekutiny (= ICT) v průměru u zdravého dospělého jedince:

- A. 60
- B. 40
- C. 25
- D. 15

Odpovědi

- A. Špatně.
- B. Správně. U dospělého člověka připadá z celkové tělesné hmotnosti 60% na celkovou tělovou vodu t. j. 40% na ICT a 20% na ECT.
- C. Špatně.
- D. Špatně.

2. Fyziologické rozmezí osmolality krevní plasmy se pohybuje v rozmezí 275-295 mmol/kg. Při jaké hodnotě osmolality se začne secernovat antidiuretický hormon (ADH):

- A. 295 mmol/kg
- B. 300 mmol/kg
- C. 278 mmol/kg
- D. 270 mmol/kg

Odpovědi

- A. Špatně.
- B. Špatně.
- C. Správně. Při vzestupu osmolality na 278 mmol/kg začne sekrece ADH, která se zvyšuje pokud osmolalita stoupá až do hodnoty 298 mmol/kg. Další zvýšení osmolality už dále nezvyšuje sekreci ADH.
- D. Špatně.

3. Které výroky jsou nesprávné:

- A. Ne. Koncentrace Na^+ v plasmě není mírou obsahu Na^+ v organismu.
- B. Ano. Hladina plasmatického Na^+ odráží stav (obsah) Na^+ v celém organismu.

C. Ne. Koncentrace Na^+ v plasmě je mírou pro činnost osmoregulačních mechanismů.

D. Ano. U pacienta s diabetes insipidus centralis completus nedochází po podání ADH ke zvýšení poměru U osmolalita/P osmolalita nad 50%.

Odpovědi:

A. Ne.

B. Ano.

C. Ne.

D. Ano.

4. Jaké jsou příčiny deficitu K^+ v organismu při zvracení žaludeční šťávy.

A. Etrarenální ztráta K^+ , které je obsaženo v relativně vysoké koncentraci v kyselé žaludeční šťávě.

B. Dehydratací způsobený přesun K^+ z ECT do ICT.

C. Snížení cirkulujícího objemu s následným zvýšením sekrece aldosteronu a renálními ztrátami K^+ močí.

D. Vzniklá alkalemie je provázena úměrnou hypokalemií.

Odpovědi:

A. Špatně. Žaludeční šťáva obsahuje jen malé množství K^+ , takže při zvracení přímou ztrátou žaludečním obsahem nemůže vzniknout deficit.

B. Špatně. Při zvracení může dojít k dehydrataci, ale deficit K^+ v organismu není způsoben přesunem K^+ z ECT do ICT.

C. Správně. Zvracením (ztrátou tekutin) navozená dehydratace znamená hypovolemii. Ta vede ke zvýšení sekrece aldosteronu. V distálním tubulu je zvýšená nabídka Na^+ a K^+ . Deficit K^+ vzniká tedy zvýšenými ztrátami K^+ společně s HCO_3 močí.

D. Špatně. Alkalemie při ztrátě kyselé žaludeční šťávy sice vzniká a je provázena snížením hodnoty plasmatického K^+ , ale tento mechanismus není příčinou deficitu K^+ v celém organismu.

Případy pacientů

Pacient v diabetickém komatu

15-letá dívka je přivezena v komatu na ARO. Je 7 let diabetička, brala insulin. Měla už několik záchvatů hypoglykemie a ketoacidózy. V poslední době měla ve škole hodně učení a snad i zanedbala nějaké injekce insulinu.

Při vyšetření měla tyto hodnoty:

Sérum:

urea 5,8 mmol/l

kreatinin 122 $\mu\text{mol/l}$

Na^+ 148 mmol/l

kPa

K^+ 5,8 mmol/l

Krev:

pH 7,110

pCO₂ 2,7 kPa

pO₂ 12,7

glykemie 58,3 mmol/l

Cl- mmol/l	87 mmol/l	HCO ₃ ⁻	8
laktát	5 mmol/l	Moč:	
osmolal.	385 mol/kg	ketonurie	3
vypoč. osm.	346 mmol/l	glykosurie	3
A.G.	58,3 mmol/l		

Otázky:

1. Jaká je diagnóza?
2. Vypočtete anion gap (AG), co je příčinou vysokého AG?
3. Jaký je význam zvýšené osmolality?
4. Proč jsou chloridy a HCO₃⁻ snižené, jaký je význam "normálního" Na⁺ a zvýšeného K⁺?

Odpovědi:

1. Diabetická ketoacidóza (hyperglykemie, acidosa, ketonurie, glykosurie)
2. $AG = Na^+ + K^+ - HCO_3^- - Cl^- = 58,8 \text{ mmol/l}$
(Příčinou je ketoacidóza, jinými příčinami bývají laktátová acidosa, uremie, intoxikace aj.)
3. Zvýšená osmolalita séra je ze ztráty vody osmotickou diurézou a z hyperglykemie. U ketoacidózy je to běžné.
4. Diabetická ketoacidóza je formou MAC, která vede ke snížení HCO₃⁻. Pacienti dýchají rychle, aby kompenzovali acidosu a to vede ke snížení pCO₂ (pO₂ bývá normální). Hypochloridemie nastane vlivem osmotické diurézy. Vysoké Na⁺ je relativní vlivem ztrát vody. Pacient má žízeň, ale obvykle pije tekutiny bez dostatku Na⁺ a dalších elektrolytů. Hladina K⁺ je rovněž relativní. Z celkového tělesného K⁺ je v ECT jen asi 2 - 3 %. Hyperkalemie je zásluhou těžké acidosis a částečně též z osmotické diurézy. (Mnozí pacienti s diabetes mellitus mají ovšem snížené zásoby K⁺). Po úpravě stavu je nutné podat K⁺ k prevenci hypokalemie.

Pacient v obluzeném stavu a značné dehydrataci

Žena, 86 roků, která pro horečnatý stav spojený s infekcí močového ústrojí a nechutí k jídlu nejedla a nepřijímala tekutiny po 10 dní. (Později proto, že pro slabost neopouštěla lůžko a proto, že žila sama). Sousedy povolány lékař ji našel v obluzeném stavu a značné dehydrataci (suchý jazyk a sliznice, chabý kožní turgor, měla velkou žízeň a zrychleně dýchala).

Laboratorní vyšetření:

S-Na⁺: 157 mmol/l,
S-K⁺: 3,6 mmol/l
S-Cl: 121 mmol/l
S-hydrogenkarbonát: 26 mmol/l
S-urea: 19,5 mmol/l
S-kreatinin: 135 μmol/l

Otázky:

1. O jakou poruchu vnitřního prostředí jde.
2. Jak je to s redistribucí vody v organismu u této pacientky.

Odpovědi:

1. Jde o hypernatremickou (hyperosmolární) dehydrataci. Při nepřijímání tekutin dochází postupně k vyšší ztrátě vody než elektrolytů (vodní pára ve vydechovaném vzduchu a voda v perspiratio insensibile), která se zvyšovala při hyperventilaci a horečce). Výrazně vyšší hodnoty než kreatininu svědčí pro snížení cirkulujícího krevního objemu pro dehydrataci a centralizaci oběhu. Je snížen krevní tlak Pacient musí být zavodněn, aby nedošlo k tzv. šokové ledvině.

2. Při depleci vody převažující nad ztrátami elektrolytů, hned na počátku dochází k přesunu vody z ICT do ECT a tedy vzniká rychle i dehydratace intracelulární. Proto při léčebné rehydrataci a remineralizaci je nutno postupovat opatrně, aby nenastal velmi rychlý návrat vody do buněk, zvláště CNS, a nedošlo k rychlé intracelulární expanzi.

Pacient s karcinomem plic

Muž, 57 roků. s karcinomem plic (malobuněčný karcinom) byl vyšetřen při kontrole.

Laboratorní výsledky:

S-Na⁺: 122 mmol/l

S-K⁺: 2,8 mmol/l

S-Cl: 89 mmol/l

P-hydrogenkarbonát: 19 mmol/l

S-osmolalita: 255 mmol/kg

U-osmolalita: 260 mmol/kg

S-urea: 3,5 mmol/l

S-kreatinin: 76 μmol/l

Otázka:

1. Jak vysvětlíte výsledky elektrolytů a osmolality.

Odpověď:

1. Jde o diluční hyponatremii a hypoosmolalitu. Vzhledem k tomu, že zde nejde o vnější příčinu (nadměrný přívod vody bez elektrolytů), pacient nemá edém a není dehydratovaný (normální urea), glomerulární filtrace není omezena (normální kreatinin) osmolalita moče není výrazně snížena (dokonce je o něco vyšší než v séru), musí jít o zadržování vody renálními tubuly, tedy nepřiměřená sekrece antidiuretického hormonu. Ta bývá u ektopické tvorby ADH (nebo ADH-podobným substancí), které se mohou vyskytovat u některých nádorových onemocnění. Karcinom plic z oviskových buněk je toho příkladem.

Pacientka, 32 roků

se necítila dobře asi 3 týdny před hospitalizací. Asi týden před přijetím opakovaně zvracela. Při přijetí byla dehydratovaná. V moči nebyla prokázána hyperglukosurie ani ketonurie.

Laboratorní vyšetření:

S-Na⁺: 120 mmol/l

S-K⁺: 5,9 mmol/l

S-Cl: 92 mmol/l

S-hydrogenkarbonát: 16 mmol/l

S-urea: 8,4 mmol/l

S-kreatinin: 145 μmol/l

Otázka:

1. Vysvětlíte možnou příčinu patologických hodnot

Odpověď:

Při opakovaném zvracení by bylo možno spíše očekávat metabolickou alkalózu a hypokalemii pro sekundární hyperaldosteronismus. Zde je však hyperkalemie a metabolická acidóza (snížený hydrogenkarbonát. Jedná se tedy o situaci opačnou: hypoaldosteronismus. Velmi nízké S-Na⁺ a k tomu zvýšená S-urea bývá součástí Addisonovy choroby (insuficience kůry nadledvinek a nedostatek mineralokortikoidů)-

Pacient se srdeční vadou, léčený thiazidovými diuretiky

Muž, 74 roků, s městnavou srdeční vadou byl léčen thiazidovými diuretiky a podáváním draselných solí. Při poslední kontrole v ambulanci udával, že se cítí slabý a nejistý při chůzi.

Laboratorní vyšetření:

S-Na⁺: 135 mmol/l

S-K⁺: 2,6 mmol/l

S-Cl: 92 mmol/l

P-hydrogenkarbonát: 28 mmol/l

S-urea: 8,4 mmol/l

S-kreatinin: 127 mmol/l

Otázka:

Jak hodnotíte tyto výsledky.

Odpověď:

Hypokalemie u pacientů s městnavou srdeční vadou léčených thiazidovými diuretiky, i přes suplementaci KCl, zvláště u starších jedinců bývá častá. Jde o zvýšenou exkreci K⁺ močí. Bývá i mírná hyponatremie navozená hypovolemií pro nonosmotickou sekreci vasopresinu, která způsobuje retenci vody (diluční hyponatremie). Deplece objemu způsobuje též sekundární hyperaldosteronismus, který je dalším důvodem pro zvýšené vylučování K⁺ a H⁺. Vzniká tak i metabolická alkalóza. Hodnoty kreatininu a urey mohou být výrazem snížené glomerulární filtrace, která je u seniorů běžná.

METABOLISMUS VÁPŇÍKU, FOSFÁTŮ A MAGNESIA A JEHO PORUCHY

VÁPŇÍK

1. Fyziologie

Více než 98% kalcia v těle je obsaženo v kostech, z toho 1% je volně směnitelné. V extracelulární tekutině je kalcium ve třech odlišných formách: Biologicky aktivní je kalcium ionizované ²⁺(filtrabilní část) (asi 50%), 40% je vázáno na bílkoviny a 10% je v komplexu s jinými anionty jako je hydrogenkarbonát, citrát, sulfát, fosfát a laktát (nefiltrabilní část). Na každých 10 g/l albuminu se váže 0,2 mmol/l Ca. Vazba kalcia na albumin je ovlivněna hodnotou pH. Acidemie snižuje proteinovou vazbu a zvyšuje hladinu ionizovaného Ca (0,1 jedn. pH zvyšuje Ca²⁺ o 0,05 mmol/l). V buňkách je koncentrace Ca o čtyři řády nižší než v ECT (1/10 000), změny koncentrace Ca²⁺ v cytoplasmě a organelách jsou velmi důležitým mechanismem v metabolismu buňky.

Vápník v lumen střeva pochází z diety a částečně i ze sekretů. Asi polovina je absorbována, hlavně v horní části tenkého střeva aktivním transportem za účasti hormonu 1,25-dihydroxycholecalciferolu.

2. Význam

Abnormality v koncentraci vápníku v séru mají značný vliv na neurologické, gastrointestinální a renální funkce. Udržování hladiny kalcia ve fyziologických mezích je výsledkem přísně regulovaného transportu Ca²⁺ zprostředkovaného ledvinou, sliznicí

tenkého střeva a kostní tkáně za účasti kalcitropních hormonů – parathyrinu, 1,25-dihydroxyvitaminu D3 a kalcitoninu. Důležitou úlohu při tom hraje hladina Ca^{2+} a kalciové receptory.

3. Patologie

3.1. Hyperkalcemie

Hyperkalcemie nastává, převažuje-li přívod Ca do krevní cirkulace ze sliznice střevní a kostí před vylučováním močí. Příznaky hyperkalcemie obecně se manifestují a prohlubují s vyšší hladiny Ca^{2+} . Mírná hyperkalcemie je asymptomatická. Nad 2,85 mmol/l mohou začít neurologické (celková slabost, později deprese, letargie, stupor až koma), gastrointestinální (zácpa, nauzea, zvracení, anorexie, vředová choroba) a renální příznaky (hyperkalciurie navozuje nefrogenní diabetes insipidus, často značná polyurie → deplece cirkulujícího objemu → snížení GFR → ještě vyšší hyperkalcemie). Hyperkalcemie často vede k nefrolitiáze, nefrokalcinóze; potencuje toxicitu digitalisových preparátů.

Příčiny hyperkalcemie

* Primární hyperparathyreoidismus

Představuje až 50% hyperkalcemií, často u starších žen s benigním adenomem příštítných tělísek, vzácně s karcinomem parathyreoidy, Nadbytek secernovaného parathyrinu vede přímo ke zvýšené reabsorpci Ca v renálních tubulech. Současně se zvyšuje sérový 1,25-dihydroxy-D3 a i zvýšená absorpce Ca sliznicí střevní. Zvyšuje se dále kostní obrát, v němž resorpce kosti převažuje nad její novotvorbou. Diagnóza primárního hyperparathyreoidismu je stanovena na základě nálezu nepřiměřeně zvýšeného intaktního parathyrinu v plasmě, při mírné (zpočátku) hyperkalcemii a normálních renálních funkcích. Asi 6% pacientů má močové konkrementy.

* Maligní nádorové onemocnění

Nejčastěji jsou to pacienti s karcinomem plic z dlaždicových buněk nebo s metastázami karcinomu mléčné žlázy, dále pacienti s myelomem, Grawitzovým nádorem ledvin, nádory z T-buněk apod. Často tyto nádory produkují parathyrinu podobné peptidy (PTH-rP). Tyto se váží na receptor pro parathyrin a nejsou běžným testem na PTH stanovitelné. Existuje však specifická diagnostická souprava.

* Thiazidová diuretika

Zvyšují reabsorpci Ca v ledvině

* Imobilizace

zvláště u mladších jedinců vede ke zvýšené kostní resorpci → hyperkalcemii.

* Granulomatózní choroby (sarkoidóza, TBC, lepra)

navozují zvýšenou přeměnu 25-(OH)D3 na 1,25-(OH)D3 granulomatózními buňkami, a tím zvýšenou absorpci Ca ve střevě.

* Familiární hypokalciurická hyperkalcemie

je autosomálně dominantní porucha s mírnou hyperkalcemií, hypofosfatemii a sníženou renální exkrecí. Pacienti mají mutaci genu pro kalciový receptor. Hladina PTH je normální.

* Hyperthyreóza

stimuluje osteoklastickou resorpci kosti a tím vede k hyperkalcemii.

* Intoxikace vitamínem D (též vitamínem A) způsobuje zvýšení Ca v plasmě.

* “Milk-alkali syndrom”

Jde o stav navozený nadměrným a dlouhodobým užíváním Ca -obsahujících neresorbovatelných antacid. Vzniká přitom hyperkalcemie, alkalemie, nefrokalcinóza a renální insuficience.

Léčení hyperkalcemie

Hladina v séru nad 3,375 mmol/l představuje hrozící stav vyžadující rychlý zásah tj kombinace prostředků podporujících hydrataci a exkreci Ca ledvinou (fyziologický roztok a kličková diuretika), snížení resorpce kosti (bisfosfonáty – které se vážou pevně na kostní minerál a brání tak hydrolytickému účinku enzymů z osteoklastů). Pacienti s vysokým PTH potřebují parathyreoidektomii.

U žen v časně postmenopauze nedostatek estrogenů může hrát úlohu ve vzniku primární hyperparathyreózy a upravuje se substituční terapií estrogenu.

U pacientů s mírným stupněm primární hyperparathyreózy jsou kličková diuretika kontraindikována. Zvyšují sice exkreci Ca močí, ale současně snižují objem ECT a tím zvyšují reabsorpci Ca v tubulech, což zhoršuje hyperkalcemii.

3.2. Hypokalcemie

Vzniká při zvýšeném odsunu Ca z ECT renální exkrecí oproti jeho přívodu ze sliznice tenkého střeva a z resorpce kostního minerálu. Falešně nízkou hladinu Ca může způsobit hypoalbuminemie (hladina ionizovaného Ca se nemění)

Příčiny hypokalcemie

* Hypoparathyreoidismus (idiopatický nebo postoperativní)

Nedostatek PTH vede ke zvýšené renální exkreci a snížené absorpci Ca ve střevě., a později sekundárně ke snížené produkci 1,25-dihydroxy D3.

* Pseudohypoparathyreoidismus

Jde o vzácnou dědičnou chorobu, při níž cílová buňka neodpovídá na parathyrin: hladina PTH je vysoká, ale cílová buňka na jeho podnět nezvyšuje koncentraci cAMP.

* Maligní nádorová onemocnění

Často vedou k hypoalbuminemii a tím snížení celkového Ca (nikoliv ionizovaného). Karcinomy prostaty nebo mléčné žlázy zvyšují aktivitu osteoblastů, a tím novotvorbu kosti → hypokalcemii. Tumorolýza způsobuje vyplavení fosfátu z nádorových buněk, což způsobuje komplexaci s Ca²⁺, a tím snížení ionizovaného Ca.

* Rhabdomyolýza (kupř. po svalovém traumatu) vede rovněž podobným mechanismem (vyplavení fosfátu) k hypokalcemii.

* Renální selhání

Snížení funkce ledvin způsobuje hyperfosfatemii (při nezměněné intestinální absorpci). Zvýšená koncentrace fosfátu snižuje aktivitu 1 α -hydroxylasy (“down-regulace”) a tím konverzi

1 α -(OH)D3 na 1.25-dihydroxy-D3 v ledvině → snížená intestinální absorpce Ca.

* Parathyreoidektomie

Odstranění nadbytečné žlázy (pro sekundární nebo terciární hyperparathyreoidismus) vede často k hluboké hypokalcemii pro výraznou remineralizaci kosti. Tento tzv. syndrom hladové kosti vyžaduje prodloužené a vydatné doplňování Ca.

* Akutní pankreatitis

Uvolněná pankreatická lipasa hydrolyzuje tuk omenta; uvolněné mastné kyseliny vážou Ca²⁺ v ECT ve formě nerozpustných vápenatých mýdel, a tak snižují jeho koncentraci Ca.

* Endotoxický šok

Způsobuje hypokalcemii neznámým mechanismem.

* Nedostatek vitamínu D (v potravě nebo při tukové malabsorpci)

Způsobuje nedostatek substrátu pro tvorbu hormonu 1,25-dihydroxy-vitamínu D3 nutného pro intestinální absorpci.

Léčení hypokalcemie

Pacienti s klinickými příznaky (zvýšená nervosvalová dráždivost, Chvostekův a Trousseauův fenomén, tetanické křeče, laryngospasmus) s hladinou pod 1,875 mmol/l potřebují

parenterální přívod. Chronická hypokalcemie vyžaduje perorální suplementaci, často i s podáváním vitamínu D.

HOŘČÍK

1. Fyziologie

Hořčík je čtvrtý nejpočetněji zastoupený kation v lidském těle (celkem 1000 mmol). Z toho je 50–60% v kostech. Extracelulárně je pouze 1%. Normální hladina v plasmě kolísá mezi 0,75 – 0,95 mmol/l.

Magnesium je nezbytné pro funkci důležitých enzymů jako jsou enzymy přenášející fosfátovou skupinu, tedy všechny reakce vyžadující ATP (energetický metabolismus) a dále reakce potřebné pro metabolismus nukleových kyselin (replikace a transkripce DNA, translace mRNA). Hraje důležitou úlohu ve stabilizaci buněčných membrán, vedení nervového vzruchu, transportu iontů a aktivitě kalciových kanálků. Nedostatek Mg má za následek různé metabolické poruchy s klinickými důsledky.

2. Homeostáza Mg

Distribuce Mg^{2+} je realizována tokem mezi jeho zásobami v kostech nebo svalstvu a ECT. Celkový obsah Mg v těle odvisí hlavně na gastrointestinální absorpci a renální exkrecí. Denní přívod činí v průměru 300–350 mg. Absorpce ve střevě se děje saturevatelným transportním systémem i pasivní difuzí. Ledvinou se vylučuje denně asi 100 mg Mg. Tubulární zpětná resorpce je poněkud odlišná od jiných iontů: Proximální tubulus má podřadnější úlohu a 60–70% se vstřebává v tlustém vzestupném raménku Henleovy kličky. Distální tubulus, který je místem, kde se reabsorbuje pouze 10% Mg, hraje hlavní úlohu v regulaci Mg., hormonální (parathyrin, kalcitonin, glukagon, vasopresin) i nehormonální (koncentrace Mg^{2+} , změny v ABR, deplece K). Hlavním regulátorem reabsorpce samotná hladina Mg^{2+} : Hypermagnesemie inhibuje transport, zatímco hypomagnesemie transport stimuluje. Bez ohledu nato, zda je Mg-deplece nebo nikoliv. Úlohu zde hraje pravděpodobně $Ca^{2+}Mg^{2+}$ -senzitivní receptor, lokalizovaný na kapilární straně tlustého vzestupného raménka Henleovy kličky. Hyperkalcemie nebo reabsorpce Cl^- má nato rovněž vliv.

V případě negativní Mg-bilance, počáteční ztráty se týkají především ECT, což má za následek náhlý pokles koncentrace Mg v plasmě. Toto vede k redukci Mg v moči, bez ohledu z jakého důvodu došlo ke ztrátám Mg. Vyrovnaní se zásobami v kostech trvá obvykle několik týdnů.

3. Patologické změny

3.1. Hypomagnesemie

Hypomagnesemie se objevuje především u hospitalizovaných pacientů, a to hlavně (65%) na intenzivní péči.

* Ztráty trávicím ústrojím

Vznikají při akutním i chronickém průjmu, malabsorpční steatorey nebo po velké resekcii tlustého střeva. Existuje i vzácný dědičný defekt (primární intestinální hypomagnesemie). Do této skupiny patří též hypomagnesemie u akutní pankreatitidy.

* Ztráty močí

Jde buď o porušenou reabsorpci Na^+ , kterou provází pasivní transport Mg^{2+} nebo jde o primární defekt tubulární zpětné resorpce Mg^{2+}

Thiazidy a kličková diuretika inhibují reabsorpci Mg^{2+} , ale v tomto případě je hypomagnesemie mírná, protože se zvyšuje reabsorpce Mg^{2+} v proximálním tubulu pro depleci cirkulujícího objemu (antidiuréza). Renální reabsorpce Mg odvisí od toku moče

ledvinou, takže při dlouhodobé parenterální aplikaci tekutin a expanzi plasmatického volumu může dojít k Mg-depleci. Hyperkalcemie a hyperkalciurie snižují renální reabsorpci Mg (kupř. u hyperparathyreózy nebo malignity). U dekompenzovaného diabetu je hypomagnesemie způsobena glykosurií a osmotickou diurézou.

* Léky

Především thiazidy a jiná kličková diuretika při dlouhodobém užívání vedou k depleci Mg. Rovněž některá antibiotika, cyklosporin A, cisplatina a další léky mohou způsobit hypomagnesemii.

* Alkohol patří mezi nejčastější (až 30%) příčiny hypomagnesemie u ambulantních pacientů
Příznaky deplece magnesia

Neuromuskulární (Trousseauovo Chvostekovo znamení, karpopedální spasmus, křeče, závratě, svalová slabost, deprese, psychózy), metabolické (intolerance sacharidů, hyperinsulinismus, ateroskleróza,) kardiovaskulární (rozšíření komplexu QRS, prodloužení intervalu PR, inverze T-vlny, U-vlna, komorové arytmie, přecitlivělost na srdeční glykosidy), kostní (osteoporóza a osteomalacie).

3.2. Hypermagnesemie

Zvýšení S-Mg nad 1 mmol/l je relativně vzácné (pokud se nejedná o chybu), a bývá obvykle iatrogenní kupř. po infuzi nebo podávání Mg-preparátů (antacida). Rizikový jsou starší pacienti nebo s chorobami tlustého střeva nebo ledvinovým selháním.

Byl popsán nový syndrom hypokalemické metabolické alkalózy s hypomagnesiurickou hypermagnesemií.

Příznaky hypermagnesemie

Zahrnují hypotenzi, bradykardii, EKG změny, deprese.

FOSFÁT

1. Fyziologie

Celkový obsah fosforu u dospělého jedince činí 700 g. Asi 85% je obsaženo ve skeletu, zbývajících 15% je v ECT a měkkých tkáních. Potravou přijímáme 800–1400 mg fosforu, 60–80% je absorbováno ve střevě pasivně; existuje však i aktivní transport stimulovaný 1,25-dihydroxyvitaminem D₃. Normální hladina anorganického fosfátu v plasmě je u dospělých jedinců 0,89–1,44 mmol/l, v době růstu (kojenci, před pubertou a v pubertě jsou hodnoty vyšší).

Fosfát je volně filtrován v glomerulu, v proximálním tubulu je reabsorbováno více než 80%, menší množství v distálním tubulu. Proximální reabsorpce probíhá jako pasivní kotransport s Na⁺. Byly prokázány 2 různé N-P transportéry. Kotransport je regulován především příjmem P a dále parathyrinem. Akutní adaptace na nízký nebo vysoký přísun P je provázena zmnožením nebo naopak úbytkem molekul Na-P transportního proteinu v kartáčovém lemu renálních tubulů. Chronická adaptace na nízký příjem zahrnuje zvýšenou syntézu transportéru v buňce. Parathyrin navozuje hyperfosfaturii inhibicí Na-P kotransportu, hlavně v proximálním tubulu. Hormon se váže na specifický receptor v bazolaterální membráně, což vede k aktivaci dvou nitrobuněčných mechanismů: (1) adenylátcyklasa/cAMP/proteinkinasa A a fosfolipasa/Ca/proteinkinasa C systém. Jeden z velmi zajímavých renálních účinků fosfátové deficiencie je rezistence na fosfaturický účinek parathyrinu.

2. Patologie

2.1. Hypofosfatemie

Jde o stav s koncentrací fosfátu v plasmě < 0,97 mmol/l (u dospělých)

Příčiny zahrnují (a) redistribuci fosfátu intra- a extracelulární, (b) zvýšenou exkreci ledvinami, (c) sníženou absorpci ve střevě nebo (d) kombinaci předcházejících příčin

Klinické projevy: Objeví se obvykle, když plasmatický fosfát klesne pod 0,32 mmol/l, současně s fosfátovou deplecí. Rizikovými faktory nebo příčinami jsou chronický alkoholismus nebo náhlá abstinence a dále diabetická ketoacidóza.

2.2. Hyperfosfatemie

Objevuje se jako důsledek zvýšeného exogenního přívodu nebo endogenního přesunu (kupř. tumorolýza), zvýšené absorpce ve střevě, snížené exkrece ledvinami nebo jako pseudohyperfosfatemie (analytické příčiny).

Klinické projevy: Zvýšený anorganický fosfát v plasmě vede k hypokalcemii a dále k tetanii. Zvýšený produkt $Ca \times P$ v plasmě navozuje precipitaci vápenatých solí v měkkých tkáních, dochází k hypokalcemii (anorganický fosfát též inhibuje 1α -hydroxylaci a tím snižuje tvorbu 1,25-dihydroxyvitaminu D₃ → snížené vstřebávání ve střevě). Ektopická kalcifikace je častou komplikací pacientů s chronickým renálním selháním dostávajících suplementaci vitamínu D, když korekce hyperfosfatemie není přiměřená.

OTÁZKY

Případy pacientů

Pacient s hyperkalcemií

Muž 58 roků byl na preventivní prohlídce. Biochemické vyšetření přineslo následující výsledky:

S-Na ⁺	142 mmol/l
S-K ⁺	3,6 mmol/l
S-Cl ⁻	110 mmol/l
P-HCO ₃ ⁻	29 mmol/l
P-Ca	2,95 mmol/l
S-fosfát	0,76 mmol/l
S-ALP	1,8 μ kat/l
S-albumin	42 g/l
dU-Ca	7,1 mmol/l

RTG - vyšetření neprokázalo abnormality

1. Otázka:

Jaké jsou nejčastější příčiny hyperkalcemií?

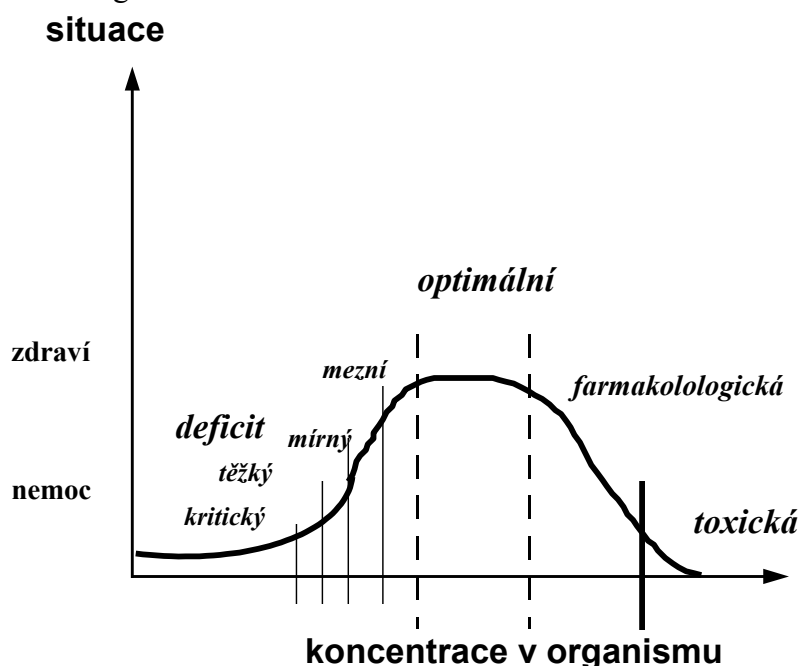
Odpověď:

- (a) Maligní nádorová onemocnění (40%)
- (b) Primární hyperthyreoidismus (20%)
- (c) Ostatní: zvýšený příjem a absorpce ze střeva (nadbytek vitamínu D, sarkoidóza), zvýšená resorpce z kostí (imobilizace, thyreotoxikóza), zvýšená zpětná resorpce v renálních tubulech (thiazidová diuretika, familiární hyperkalciurická hyperkalcemie), Addisonova choroba, akromegalie, myxedém, idiopatická hyperkalcemie u kojenců).

Úvod

Kromě majoritních prvků (tzv. biogenních: C, H, O, N, P, S) se v živých organismech vyskytují i ostatní prvky, nalézající se v přírodě, ale v koncentracích podstatně nižších (minoritní). V hodnotách řádově kolem mmol/l (v tělních tekutinách) jsou tzv. minerální prvky (Na, K, Ca, Mg), v hodnotách $\mu\text{mol/l}$ jsou to pak tzv. stopové prvky. Biologicky aktivní je pouze část; lépe řečeno o některých se to s jistotou neví, takže dělení na esenciální (nezbytné) a neesenciální respektive toxické je problematické. Je zřejmé, že i prvky prokázaně naprosto nezbytné, jsou ve vyšších koncentracích toxické. Obecně se vztah mezi koncentrací a jejich nezbytností (projevující se jako deficit) a toxicitou, dá vyjádřit následující křivkou

Obr.: Účinek prvku v organismu v závislosti na koncentraci



Jako esenciální prvky se uvádějí: Fe, Cu, Zn, Se, Mn, Ni, Mo, Cr, F, Co, I; jako toxické: Pb, Cd, Hg, Th, As, Al.

Zinek (Zn)

Obsah v těle (dospělý jedinec): 20–35 mmol (1,4–2,3 g), denní přísun: 150–230 μmol (10–15 mg); z toho asi 80 μmol (5 mg) se vstřebává.

Zinek je stopový prvek nutný pro růst a reprodukci. Tvoří strukturální i funkční složku biologických membrán, stabilizuje struktury RNA, DNA a ribosomů. Zn je součástí proteinů vázajících transkripční faktory k DNA. Zn je nutný pro buněčnou proliferaci, buněčné imunitní reakce, stabilizaci komplexu hormon-receptor. Bylo identifikováno více než 200 Zn-metaloproteinů.

V potravě se nalézá v mořských měkkýších, ale také v hovězím mase (vůbec v tzv. červeném mase). Vstřebává se především v duodenu a jejunu, a to regulovaným procesem. Zn není na rozdíl od Cu a Fe skladován v játrech. Asi 10 % je vylučováno močí, ostatní část se dostává prostřednictvím pankreatického sekretu do žluče.

Patologie:

Nedostatek Zn může být podmíněn geneticky nebo získán primárně (tj. nevhodnou dietou) nebo sekundárně (tj. podmíněn určitou chorobou vedoucí kupř. k nedostatečnému vstřebávání).

Deficience Zn je charakterizovaná poruchou růstu, špatným hojením ran, zarudnutím pokožky, defekty v imunitě (zvláště zprostředkované buňkami), a tím zvýšenou náchylností k infekcím, vypadáváním vlasů, šeroslepotou, poruchami gastrointestinálního a nervového systému a patologií metabolismu sacharidů.

– Acrodermatis enteropathica (Danboltova choroba) je geneticky podmíněná porucha absorpce Zn, pravděpodobně pro defekt ligandu, který normálně usnadňuje absorpci Zn ve střevě. Vyvíjí se po narození, krátce po přechodu na umělou výživu. Klinickými projevy jsou progresivní bulózně-pustulózní dermatitida ve spojení s paronychií a generalizovanou alopecií; často jsou přítomny i oční příznaky (blefaritida, fotofobie a rohovkový zákal). Gastrointestinální příznaky zahrnují chronický průjem, malabsorpci, steatoreu, intoleranci laktosy. Dále jsou příznaky neuropsychické, opožděný růst, hypogonadismus a zvýšená náchylnost k infekci.

Biochemický nálezný vykazují sníženou resorpci Zn ve střevě, ale normální vylučování ve faeces, moči a potu. V plazmě je výrazné snížení Zn. Terapeuticky je účinné podávání dihydroxychinolinu, který se Zn tvoří dobře vstřebatelný komplex.

– Hypogonádové trpaslictví. Projevuje se malým vzrůstem, opožděným sexuálním vývojem, anemií z nedostatku železa, hepatosplenomegalii. V plazmě je nízká koncentrace Zn, stejně tak i v erytrocytech a ve vlasech; rovněž je sníženo vylučování stolicí, močí a potem. Deficit Zn je pravděpodobně způsoben velkým množstvím fytanátu v potravě, který tvoří se Zn těžko vstřebatelný komplex.

– Získaná deficience Zn se vyskytuje u jedinců v proteinové a energetické malnutrici nebo při neadekvátní parenterální výživě. Objevuje se šupinatý kožní erytém, superinfekce *Candida albicans*. Nedostatek Zn může být způsoben těžkými popáleninami, při léčení protikřečnými léky, penicilaminem u Wilsonovy choroby a z jiných příčin, kdy dochází k velkým ztrátám Zn močí.

Fyziologické rozmezí S-Zn:

Věk	μmol/l
4 měsíce	9,9–21,4
4–6 měsíců	9,9–19,9
7–12 měsíců	9,9–19,9
1–5 let	10,3–18,1
6–9 let	11,8–16,4
10–19 let	9,8–18,0

Toxicita Zn

Akutní otrava Zn způsobuje průjem, zvracení, nevolnost, svalové bolesti a horečku. Může být způsobena iatrogenně (infúze, kontaminace během hemodialýzy). Perorální podávání Zn může vést ke gastrointestinálním obtížím, ulceracím žaludeční sliznice. Vysoké dávky Zn mohou způsobit deficenci Cu, protože při absorpci ve střevě Zn kompetuje s Cu. To může vést k anemii z nedostatku Cu.

Měď (Cu)

Obsah v těle: 1,2–1,9 mmol (80–120 mg); denní přísun asi 40 μmol (2,5 mg).

Měď je integrální součástí enzymů účastnících se metabolismu katecholaminů, transportu Fe a syntézy pojivové tkáně. Mezi Cu-metaloenzymy patří ceruloplasmin neboli ferroxidasa I, enzym, který oxiduje Fe^{2+} na Fe^{3+} ; dále je to dopamin- β -hydroxylasa, monoaminoxidasa, diaminoxidasa, lisyloxidasa, cytochromoxidasa, superoxiddismutasa a tyrosinasa. Měď v potravě se vstřebává v tenkém střevě, odkud se dostává do jater; váže se při tom na aminokyseliny (histidin), albumin, transkuprein a na glykoprotein bohatý na histidin. V hepatocytu je Cu inkorporována do ceruloplasminu (respektive apoceruloplasminu) a uvolňována v této formě do cirkulace. Ceruloplasmin se váže v cílových buňkách na specifický receptor. Cu je vylučována žlučí do střeva. Proto se excesivní akumulace Cu může objevit u cholestázy.

Deficience Cu

Menkesova choroba (trichopoliodystrophia, “kinky-hair” syndrom) je dědičně založené onemocnění vázané na chromosom X, které je způsobeno mutací genu kódujícího Cu^{2+} -transportující

ATPasu. To vede k neschopnosti buněk střevní sliznice přenášet Cu přes serózní membránu do krevní cirkulace. Projeví se u kojenců mužského pohlaví už v prvních několika týdnech; postižení umírají většinou do tří let po narození. Onemocnění je charakterizováno těžce opožděným mentálním vývojem a růstem, zvláštním vzhledem vlasů (drobné kudrlinky na krátkém jemném šedavém vlasu – “kinky” nebo “steely hair”), skorbutickými změnami na kostech, mozkovou gliózou s cystickou degenerací, teplotní instabilitou a arteriální tortuozitou. Klinické příznaky jsou následkem snížené aktivity enzymů obsahujících Cu, jako je ceruloplasmin, cytochrom c oxidasa, superoxiddismutasa, lisyloxidasa, dopamin- β -hydroxylasa (DBH). V biochemickém nálezu je výrazné snížení hladiny mědi v plasmě, snížení S-ceruloplasminu, snížení obsahu Cu ve tkáních i ve vlasech, výjimkou je duodenální sliznice, která obsahuje abnormálně zvýšené množství Cu. Vzniká anemie, obvykle hypochromní a normocytová, je neutropenie; dále osteoporóza a fraktury kostí, nepravidelnosti v tvorbě metafýzy. V patogenetickém mechanismu choroby hraje pravděpodobně hlavní úlohu snížená aktivita Cu-metaloenzymů: lisyloxidasy (porušená biosyntéza kolagenu a elastinu vede ke změnám na kostech a cévní stěně), a dále cytochrom c-oxidasy, dopamin- β -hydroxylasy a superoxiddismutasy, což vede k degeneraci neuronů a demyelinizaci mozkové tkáně. Parenterální podání Cu (hned po narození) může zabránit těžkým změnám. Snížení aktivity DBH způsobuje též rozdílnou koncentraci katecholaminů v plasmě a mozkomíšním moku: vysoká hladina DOPA, DOPAC a dopaminu, nízká hodnota dihydroxyfenylglykolu (DHPG). Zvýšený index DOPA/DHPG a DOPAC/DHPG je vhodným diagnostickým markerem Menkesovy choroby.

Získaný deficit mědi

Nutriční nedostatek Cu byl nalezen jak u kojenců, tak u dospělých. Projevuje se změnami na kostech, anemií, neutropenií.

Fyziologické rozmezí S-Cu:

Věk	$\mu\text{mol/l}$
0–4 měsíce	1,4–7,2
4–6 měsíců	3,9–17,3
7–12 měsíců	7,9–0,5
1–9 let	12,6–23,6
10–13 let	12,6–19,0
14–19 let	
muži	10,1–18,4
ženy	11,3–25,2

Fyziologické rozmezí S-ceruloplasminu:

Věk	mg/l
0–5 dnů	50–260
6 dnů–3 měsíce	50–300
4 měsíce–3 roky	240–460
4–9 let	240–420
10–13 let:	
muži	220–360
ženy	230–430
14–19 let:	
muži	140–340
ženy	200–450

Toxicita z Cu

* Wilsonova choroba (hepatolentikulární degenerace)

Jde o dědičné onemocnění s autosomálně recesivním přenosem způsobené mutací genu lokalizovaného v oblasti 13q14.3, který kóduje P-typ ATPasy transportního proteinu pro Cu. Tento gen má určitou homologii s genem Menkesovy choroby při Xq13.3. Bylo objeveno už 25 různých mutací.

Akumulace Cu v buňkách (hepatocyty, mozkové buňky, renální tubuly) vede k jejich poškození. Onemocnění se klinicky obvykle projevuje do 5 let po narození, a to hepatopatií, neurologickým onemocněním. Hlavními symptomy jsou ikterus, anorexie, nauzea, úbytek na váze, zadržování tekutin, podlitiny, krvácení; neurologická symptomatologie zahrnuje dysartrii, tremor, rigitu, ataxii, dystonii, bradykinezi, poruchy chování. Objevuje se Kayser-Fleischerův proužek na rohovce. S-Cu a S-ceruloplasmin jsou nízké. Stoupá non-ceruloplasminová měď. Exkrece Cu močí je zvýšena a stoupá ještě více po léčení penicilaminem.

Selen (Se)

Obsah v těle: 5 $\mu\text{mol/kg}$ vlhké tkáně; denní přívod: 0,6–2,5 μmol (47–197 μg)

Enzymy obsahující Se jsou velmi důležitými antioxidanty (glutathionperoxidasa, fosfolipidohydrogenperoxid-glutathionperoxidasa), účinkují při metabolismu hormonů štítné žlázy (jodothyronin -5'-dejodasa typ I měnící thyroxin na trijodthyronin).

Selen je absorbován v tenkém střevě, a to nezávisle na jeho obsahu v organismu. Je vylučován především ledvinami. Není ukládán v játrech; jeho hladina v séru velmi rychle klesá, když jeho přísun je nedostatečný.

Deficience selenu:

Těžká prolongovaná deficience Se vede k poruchám srdečního a kosterního svalstva. Kardiomyopatie z nedostatku Se byla poprvé definována v Číně jako “keshanská choroba”. Jde o mnohožiskovou kardiomyopatii postihující hlavně malé děti v oblastech s nedostatkem Se v půdě a pitné vodě. Kromě svalové ztuhlosti, slabosti a bolesti, dochází k depigmentaci vlasů, kůže a nehtů, k zeslabení těchto tkání. Dlouhodobá parenterální výživa bez Se může vést k fatální kardiomyopatii. Hladina Se bývá velice snížena už dlouho před klinickými příznaky.

Fyziologické rozmezí S-Se

Věk	rozmezí (v $\mu\text{mol/l}$)
0–4 měsíce	0,72–1,21

1–5 let	1,22–1,82
6–19 let	1,32–2,35

Toxicita Se

* Chronická selenóza

Projevuje se vypadáváním vlasů a nehtů, kožními puchýřky, poškozením dentice.

Akutní otrava se projevuje česnekovým zápachem z úst a potu pro přítomnost dimethylselenidu.

Chrom (Cr)

Obsah v těle: 100 μmol (5,2 mg), denní přívod: 1–6 μmol .

Trojmocný chrom se ukázal být důležitým faktorem zlepšujícím toleranci vůči glukose. Podání glukosy zvyšuje hladinu Cr v plasmě; nikoli však u diabetiků. Rovněž diabetogenní projevy těhotných jsou přičítány nedostatku Cr v potravě.

Fyziologické rozmezí:

S-Cr ($\mu\text{g/l}$): < 5,

U-Cr ($\square\text{g/l}$): 0,6–2,9.

Mangan (Mn)

Obsah v těle: 0,2–0,36 mmol; přívod: 70–140 μmol

Mangan je rovněž nezbytným stopovým prvkem v potravě. V organismu je pak součástí pyruvátcarboxylasy. Nedostatek vede k hypocholesterolemii, ztrátě na hmotnosti, dermatitidě a k trávicím poruchám.

Fyziologické rozmezí:

S-Mn ($\mu\text{g/l}$): 0,4–1,2,

U-Mn ($\mu\text{g/l}$): 0,2–1,0.

Tab.: Hlavní zdroje stopových prvků v potravě a projevy jejich nedostatku

Prvek	Obsah v těle	Zdroj	Projevy nedostatku
Fe	4–5 g	Maso, vejce, zelenina, fortifikované obiloviny	Nízká zásoba Fe, deficitní tvorba erytrocytů, anemie z nedostatku Fe
Zn	1,2 – 3 g	maso, játra, vejce, mořské potraviny (ústřice)	Ztráta chuti, opožděný růst, hypogonadismus, trpaslictví
Jod	10–20 mg	Mořské potraviny nebo pěstované u moře, jodidovaná sůl	Kretenismus, struma
Se	10–15 mg	Mořská strava, játra	Svalová slabost, kardiomyopatie
Cu	80–150 mg	Játra, mořská strava, ořechy	Anemie, neutropenie, demineralizace kostí
Mn	1 g	Celozrné obiloviny. čaj	Špatná reprodukční činnost, opožděný růst, kongenitální malformace, abnormality v tvorbě kostí a chrupavky, snížená tolerance glukosy
Fluor	2–3 g	Čaj, kosti mořských ryb,	Zubní kaz

		fluorovaná voda	
Cr	2 mg	Pivní kvasnice, telecí játra, americký sýr, obilné klíčky	Porušená tolerance glukosy
Mo		Mléko, boby, chléb, cereálie	Intolerance aminokyselin, iritabilita, snížené vylučování urátů a sulfátů

Ta.: Příčiny nedostatku stopových prvků v organismu

Hlavní příčina	Důvod	Postižený prvek
Nízký obsah v potravě	nízká koncentrace v půdě, nesprávné složení potravin, špatné návyky	Zn, Fe, Cr, Se, Cu, I, F
Nízká dostupnost (biodispozibilita)	vysoký obsah látek snižujících vstřebávání (vláknina, fytáty)	Zn, Fe
Nízká absorpce ve střevě	onemocnění GIT, resekce v GIT, interference vstřebávání	Zn, Fe, Co, Cu
Vysoké vylučování (ztráty)	nefropatie, sport a zvýšená tělesná námaha	všechny stopové prvky
Zvýšená spotřeba	vývoj plodu, laktace, rychlý růst, puberta, rekonvalescence po těžkých úrazech, popáleninách, dlouhodobých chorobách, zvýšená tělesná námaha	všechny
Zásahy při léčbě	chelátory, léčiva, umělá výživa	všechny
Genetické příčiny	abnormální metabolismus (kupř. acrodermatitis enteropathica, Menkeho choroba, deficiencie xanthinoxidasy	Zn, Cu, Mo

Toxické prvky

Dřívější absolutní rozdělení na esenciální a toxické prvky podle působení prvku na organismus dostává trhliny. V experimentálních dietách pro zvířata se ukazuje, že v některých vývojových fázích se ukazují být nezbytnými (v určitých velmi nízkých koncentracích) i tak chronicky známé toxické prvky jako je Sn, Pb, As nebo Cd. Samozřejmě překročení určitého limitu má za následek nepříznivé účinky. Zvýšená expozice vůči některým prvkům, které postupující energetickou a průmyslovou výrobou zamořují vnější prostředí, musí být kontrolována.

Kadmium (Cd)

Je považováno za velmi závažný toxický prvek, jehož nebezpečná koncentrace ve vnějším prostředí se zvyšuje. Kadmium působí jako enzymový jed, zvláště na SH-skupiny proteinu. Jeho chemická příbuznost se Zn může vést k náhradě tohoto prvku kupř. karbonátdehydrogenase. V krvi je Cd vázáno jako metalothionin. V popředí chronických

otrav je poškození renálních tubulů. Z laboratorních příznaků to je pak proteinurie, respektive mikroproteinurie.

Olovo (Pb)

Olovo se dostává do organismu podobně jako kadmium z vnějšího prostředí. Chronická otrava patří stále k nejzávažnějším a nejrozšířenějším otravám těžkými kovy. Postižení jsou hlavně pracovníci v hutích, kde se pracuje s rudou obsahující olovo, v akumulátorech, při výrobě olovnatých barviv, ve sklárnách, při spalování olovnatého benzínu (tetraethylolovo) apod. Normálně je příjem 0,2–0,4 mg za den vyvážen stejným vyloučením stolicí a močí. Dávky se však mohou kumulovat a dochází k inhibici enzymů při biosyntéze porfyrinů a krevního barviva (ferrochelataza, δ -aminolevulát-dehydrataza, koproporfyrogen-III-oxidasa). Asi 90% Pb se usazuje ve skeletu. Pb má afinitu k buněčným membránám a k mitochondriím. Kde ovlivňuje oxidační fosforylaci a K/Na a Ca-ATPasu. Jednou z laboratorních známek je vzestup erytrocytového protoporfyrinu a v moči ke zvýšenému vylučování δ -aminolevulátu a koproporfyrinu III. Klinická symptomatologie se objevuje, když hladina B-Pb přesahuje 3,9 $\mu\text{mol/l}$: bolesti v břiše, bolesti hlavy, podrážděnost, artralgie, únava, anemie, neuropatie periferního motorického neuronu, porucha krátkodobé paměti a schopnost koncentrace.

Tab.: Biochemické hodnoty při normální a zvýšené expozici na olovo

Parametr	Normální expozice	Zvýšená expozice (horní norma)	Kritická hranice
B-Pb ($\mu\text{g/l}$)	39 \pm 13	350	350
U-Pb ($\mu\text{g/l}$)	17 \pm 6,5	50	100
dU-koproporfyrin ($\mu\text{g/d}$)	15–75	80	160
dU- δ -aminolevulát ($\mu\text{g/d}$)	0,4–5,0	6 mg/g kreatininu	

Rtuť (Hg)

Hromadí se ve vodě žijících organismech znečišťováním vodních toků. Sloučeniny rtuti se vstřebávají gastrointestinálním traktem, také kůží některé (plynné methyl-deriváty, výpary kovové Hg) též plicemi. V tucích rozpustné alkoxyalkyl-sloučeniny rtuti působí neurotoxicky. Pronikají hematolymphatickou bariérou a usazují se v mozkové tkáni. Denně pitnou vodou dostává organismus v průměru 5–20 μg Hg. Také houby a různé rostliny (podobně jako Cd) mohou rtuť akumulovat z půdy. V krvi se naváží sloučeniny Hg na albumin a α -globuliny ev. na erythrocyty a dostávají se tak k ledvinám, játrům, pankreatu a do vlasů, kde se hromadí. Vylučování se děje především ledvinami, a to zpočátku velmi rychle., později s poločasem asi 12 dní.

Arsen (As)

Jde o toxický a kancerogenní prvek. Primárně působí sloučeniny arsenu na krevní kapiláry a jako mitosový jed. Do organismu se dostávají potravinovým řetězcem, kupř. prostřednictvím mořských živočichů, které ho akumulují. Dalším zdrojem jsou pesticidy používané při ošetřování vinné révy. Chronickou expozicí jsou též ohroženi pracující se slitinami, kde tvoří nečistoty. Do atmosféry se dostává též z aktivních vulkánů. Resorbované sloučeniny As (trojmocného) blokují sulfhydrylové skupiny enzymů, u pětímocného As je substituce fosforu v energeticky bohatých fosfátech a dochází k poruše metabolismu. Při chronické expozici sloučeniny arsenu vedou nejprve k melanóze, hyperkeratóze a nakonec k rakovině kůže.

Thalium (Tl)

Jde o vzácný toxický element. Do potravinového řetězce se může dostat unikem emisí z cementáren. V organismu se podobá v jistém smyslu K^+ (iontový rádius, valence), má

vysokou afinitu ke K/Na-ATPase. Inkorporuje se velmi rychle do kardiomyocytů. Thalium používané jako jed na potkany způsobuje hlavně akutní otravy. U chronické otravy je jedním z prvních příznaků vypadávání vlasů, později subfebrilie, hypertenze, polyneuritida, bolesti v zádech, amauróza a kachexie.

Otázky

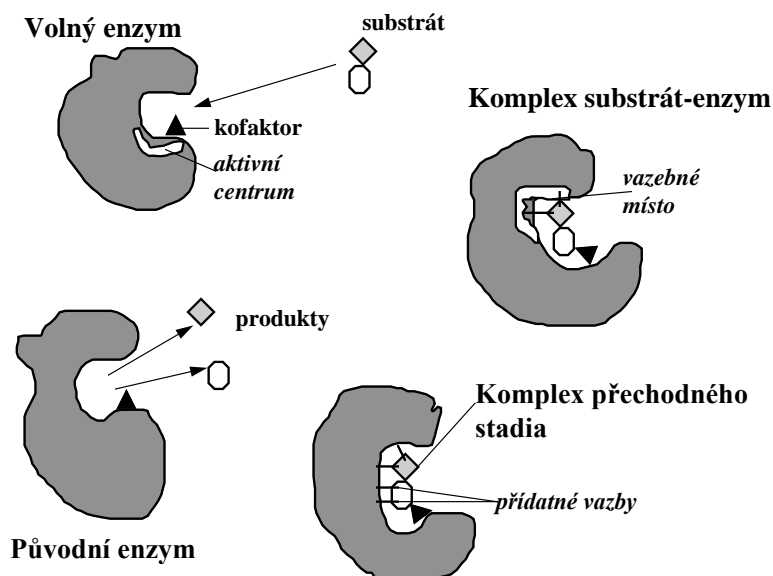
Příklady pacientů

PATOBIOCHEMIE REGULACÍ

A. REGULACE ENZYMOVÉ AKTIVITY

1. Úvod

Enzymy jsou bílkoviny, které urychlují (katalyzují) biochemické reakce (Katalytická účinnost se pohybuje v rozmezí 106 – 1014 tj. 1 molekula přeměněná v nekatalyzované reakci na 106 až 1014 molekul přeměněných při katalyzované reakci). Mechanismus účinku enzymů spočívá ve snížení aktivační energie pro příslušnou reakci. Enzymy tak umožňují průběh metabolických pochodů při relativně nízkých teplotách (37°C) a při pH 6,5-7,5 ve vodném prostředí. V živočišné buňce je 1000 až 4000 různých enzymů. Látky, které do reakce vstupují, jsou substráty, látky, které při reakcích vznikají jsou produkty. Při reakci se substrát váže na specifické vazebné místo, které je vytvořeno zvláštním prostorovým uspořádáním na molekule enzymu a které rozpoznává substrát(y). Toto vazebné místo je vklíněno do prohlubně vytvářející na molekule enzymu tzv. aktivní centrum. Jeho součástí je další oblast, která katalyzuje příslušnou reakci (když byl substrát navázán) Na funkční skupiny aminokyselinových zbytků této oblasti enzymu jsou napojeny sloučeniny, zvané koenzymy, ev. atomy kovu, které se pak účastní katalyzované reakce. Funkční skupiny aktivují substrát a snižují energii, která je potřebná pro vytvoření vysokoenergetického intermediárního stadia reakce, zvaného přechodný stav.



Vazba substrát(ů) na enzym se děje prostřednictvím nekovalentní iontové vazby nebo pomocí vodíkových a hydrofobních můstků ev. pomocí van der Waalsových interakcí.

Účinek čtených léků nebo i toxinů spočívá ve schopnosti inhibovat enzym. Nejsilnější inhibitory vytvářejí kovalentní vazby s funkčními skupinami aktivního místa nebo jako analogy substrátové molekuly tvoří s enzymem intermediární komplex.

Rychlost enzymové reakce může být ovlivněna koncentrací substrátu, produktu, koncentrací aktivátorů nebo inhibitorů. Pro čtené enzymy je vztah mezi rychlostí enzymové reakce a koncentrací substrátu dán rovnicí podle Michaelise a Mentenové. Produkty a jiné reverzibilní fyziologické inhibitory mohou soutěžit se substrátem o vazbu v aktivním centru enzymu, a tak zpomalovat rychlost reakce. Fyziologická regulace metabolických drah odvisí od schopnosti měnit rychlost průběhu metabolických reakcí v dané metabolické dráze pomocí aktivace enzymů, které katalyzují její nejpomalejší článek Tyto enzymy mají často tzv. alosterické aktivátory nebo inhibitory tj sloučeniny, které se váží na jiné místo v molekule enzymu než je aktivní centrum a ovlivňují tak konformaci molekuly enzymu. Enzymová aktivita může být také regulována fosforylací nebo modulatorovými proteiny. Některé enzymy jsou syntetizovány jako inaktivní prekurzory (zymogeny) a jsou aktivovány proteolytickým štěpením

Mechanismy enzymové katalýzy

- * přiblížení a orientace molekul substrátů
- * stabilizace přechodného stadia
- * acido-bazická katalýza
- * nukleofilní katalýza
- * elektrofilní katalýza
- * kovalentní katalýza

Kofaktory katalýzy

Enzymy zvyšují svůj repertoár funkčních skupin vazbou kofaktorů, neproteinových sloučenin, které se účastní katalytického pochodu. Kofaktory představují ionty kovů jako Fe^{2+} , Mg^{2+} , Zn^{2+}), organické koenzymy jako nikotinamidadeninukleotid (NADH) nebo thiamin-pyrofosfát, dále metalokoenzymy jako Fe^{2+} -hem. Kofaktor kovalentně vázaný na enzym se nazývá též prostetická skupina. Enzym obsahující všechny kofaktory je holoenzym, bezkofaktorová část apoenzym nebo apoprotein.

Enzymy, které mají odlišný sled aminokyselin v peptidovém řetězci, ale katalyzují přesně tutéž reakci, se nazývají isoenzymy.

2. Mechanismy regulace enzymové aktivity

Reverzibilní inhibice aktivního centra

Enzymový inhibitor je sloučenina, která snižuje rychlost reakce vazbou na enzym. Reverzibilní inhibitory nemají tuto vazbu pevnou (kovalentní), ale mohou se od enzymu odpoutat. Produkty enzymové reakce jsou reverzibilními inhibitory své vlastní reakce.

- * Kompetitivní inhibice

Reverzibilní inhibitor může soutěžit o vazbu v aktivním centru se substrátem a vytvářet s enzymem komplex, který může disociovat na volný enzym a inhibitor.. Je obvykle

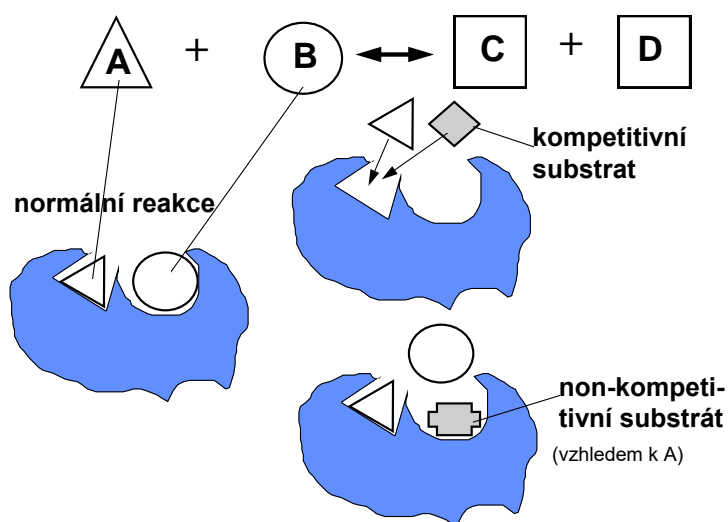
strukturálně příbuzným analogem substrátu. Zvýšení koncentrace substrátu může převážit účinek kompetujícího inhibitoru tzn. je-li koncentrace substrátu dostatečně vysoká a jsou tak obsazena všechna vazebná místa, nemohou se molekuly inhibitoru navázat a reakce není zpomalena. Kompetitivní inhibitor zvyšuje K_m enzymu, nikoliv V_{max} .

* Non-kompetitivní inhibice

Tento inhibitor nesoutěží o vazebné místo, ale jeho vazba na enzym snižuje koncentraci aktivního enzymu, tj. snižuje vždy V_{max} a může měnit $K_{m,app}$ různou vazební afinitou k různým formám enzymu.

Při kompetitivní inhibici o vazebné místo pro substrát A soutěží strukturálně velmi podobný jiný substrát. Při non-kompetitivní inhibici substrát A se dostane na své vazebné místo, ale pozici na vazebném místě jeho partnera tj. substrátu B zaujímá non-kompetitivní inhibitor (vzhledem k substrátu A), který je ale kompetitivní vzhledem k B. U nekompetitivní inhibice se inhibitor váže na komplex substrát-enzym

Obr.: Schéma kompetitivní a non-kompetitivní inhibice



* Nekompetitivní inhibice

Na rozdíl od non-kompetitivní inhibice nekompetitivní inhibitor se váže pouze na komplex enzym-substrát. Tato forma inhibice se vyskytuje, když enzym váže substráty regulované: první molekula substrátu navodí změny v konformaci molekuly enzymu, takže se otevře vazebné místo buď pro kosubstrát nebo pro inhibitor. Nekompetitivní inhibitor snižuje jak K_m , tak V_{max} .

Irreverzibilní kompetitivní inhibice

Inhibitory (molekuly strukturálně podobné substrátu) se vážou kovalentně nebo tak pevně v aktivním centru, že z této vazby nemohou být vytěsněny. Tento způsob je častým mechanismem účinku léků nebo antimetabolitů

Inhibitor	Enzym	Účinek, použití
aspirin	cyklooxygenasa	protizánětlivý efekt
allopurinol	xanthinoxidasa	léčení dny
5-fluorouracil	thymidylátsynthasa	kancerostatikum

penicilin	transpeptidasa	antibiotikum
sarin	cholinesterasa	bojový plyn
β -aminopropionitril	lysoxidasa	abnormální sesíťování kolagenu (lathyrismus)

Mechanismy účinku irreverzibilních inhibitorů

* změna afinity vazebného místa

Substrátový analog má velmi reaktivní skupina, která není v přirozeném substrátu. a která trvale blokuje aktivní centrum pro substrát (kovalentní vazba s aminokyselinovým zbytkem)

* sebevražedné inhibitory

Substrátový analog je v průběhu reakce přeměněn na produkt s vysoce rektivní skupinou, která se kovalentně naváže na aminokyselinový zbytek aktivního centra a tak inaktivuje enzym

* analogon přechodného stavu enzymového komplexu

Substrátový analog se podobá struktuře komplexu přechodného stadia. Neváže se sice kovalentně, ale pozmění konformaci komplexu, který zůstává pevně vázán na aktivní centrum a tím je inaktivuje (příkladem je účinek penicilinu)

Poznámka:

Rezistence na antibiotika: Nadměrné a dlouhodobé užívání antibiotik stejně jako používání antibiotik v zemědělství, učinilo některé kmeny bakterií jako Pseudomonas, Streptococci, Staphylococci ale též Mycobacterium tuberculosis rezistentní na některá antibiotika. Mechanismus této existence může být způsoben indukci syntézy enzymů, které molekulu antibiotika pozmění tak, že se stane kupř. analogem přechodného stadia.

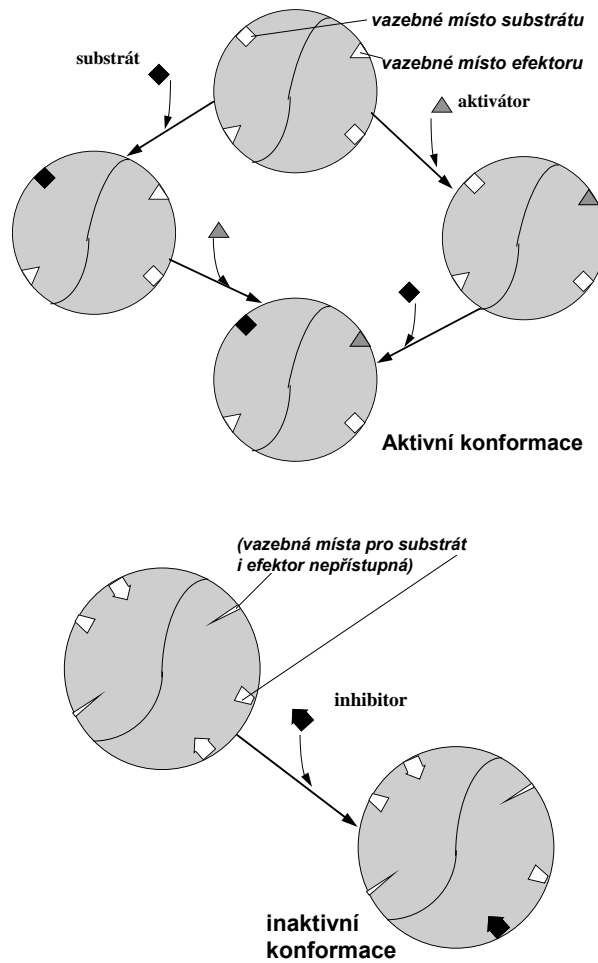
Indukcí β -laktamasy jsou takto pozměněna tzv. β -laktamová antibiotika (peniciliny, cefalosporiny, karbapenemy). Obdobný účinek může mít indukce acetyltransferasy, fosfotransferasy nebo nukleotidyltransferasy na aminoglykosidy nebo acetyltransferasa na chloramfenikol.

Abzomy: Jde o protilátky s katalytickou aktivitou. Vytvářejí se jako protilátky proti analogům komplexu přechodného stadia . Mají uspořádání zbytků postranních aminokyselinových řetězců podobné aktivnímu centru enzymu v přechodném stadiu a mohou tedy působit jako arteficiální enzym. Uvažuje se, že abzomy by mohly nalézt terapeutické použití při úpravě enzymových deficiencí.

Alosterická regulace

Alosterický efektor se reversibilně váže na místo jiné než je aktivní místo enzymu. Tato vazba navodí konformační změnu aktivního místa, a to tak, že buď dojde k aktivaci enzymu nebo k jeho inhibici.

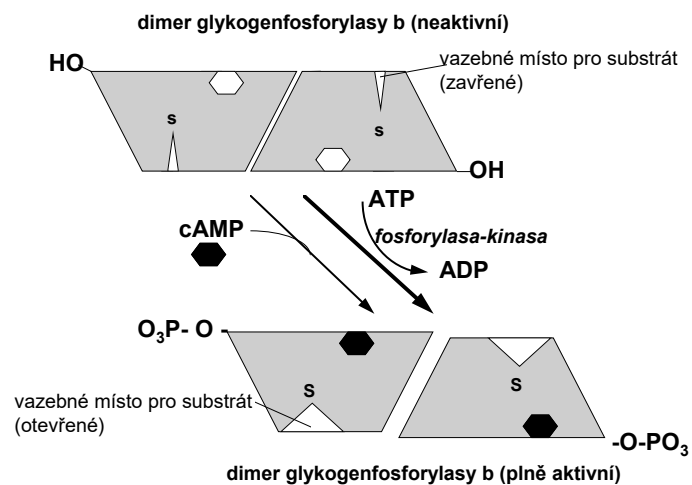
Obr.: Schéma alosterické aktivace a inhibice



Kovalentní modifikace

Děje se obvykle fosforylací hydroxylové skupiny fosforylasakinasou. Fosforylace enzymu aktivuje aktivní místo enzymu (aktivní konformace). Defosforylace způsobuje inaktivaci.

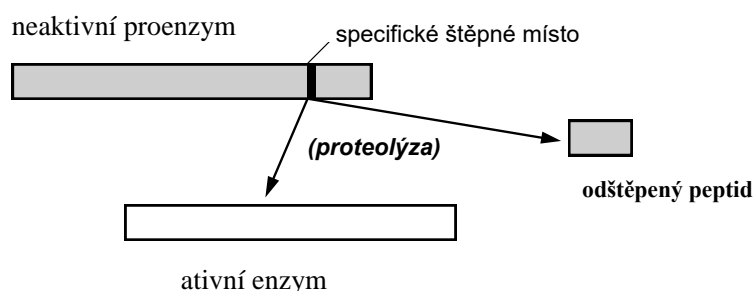
Obr.: Schéma aktivace glykogenfosforylasy (b → a)



Limitovaná proteolýza

Aktivace je navozena odštěpením krátkého peptidu z polypeptidového řetězce tzv. proenzymu nebo enzymogenu (prekursorová inaktivní molekula). To vede ke konformaci aktivního místa, které může v této formě navázat substrát. Příkladem může být chymotrypsinogen \rightarrow chymotrypsin nebo. prothrombin \rightarrow thrombin. Proteolytické pankreatické enzymy, které se tvoří ve slinivce jako prekurzory, se aktivují v lumen střeva. Jinak by natrávily vlastní tkáň pankreatu.. Konverze proenzymu (neaktivního koagulačního faktoru) v koagulační kaskádě umožňuje postupnou aktivaci systému, vyžaduje jen nepatrné množství aktivátoru při spuštění reakce při značně velkém konečném výsledku (amplifikační účinek každého kroku)

Obr.: Aktivace odštěpením části peptidové molekuly z proenzymu (enzymogenu) ve specifickém místě



Indukce syntézy enzymu

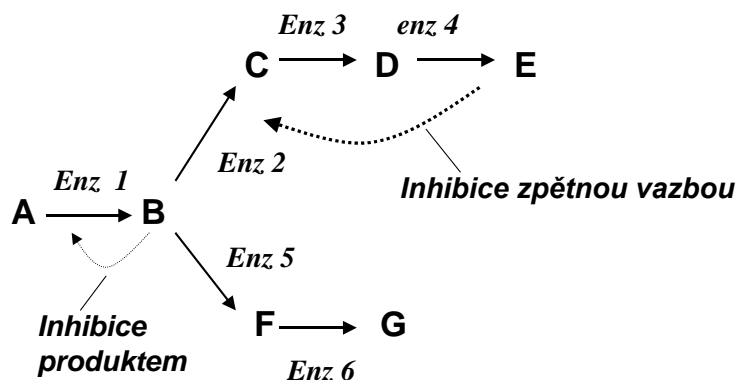
Množství enzymu v buňce může být regulováno podporou jeho syntézy nebo naopak zvýšením jeho degradace.

Regulace tímto způsobem trvá několik hodin až dní, zatímco předcházející způsoby regulace aktivity jsou minutové záležitosti. Tímto mechanismem (potlačení syntézy) působí kupř. omeprazol na syntézu proteinu tzv. protonové pumpy v žaludeční sliznici a brání tak produkci HCl. Používá se proto pro snížení acidity žaludečního sekretu a tím omezení jeho agresivního účinku (léčení vředové choroby)

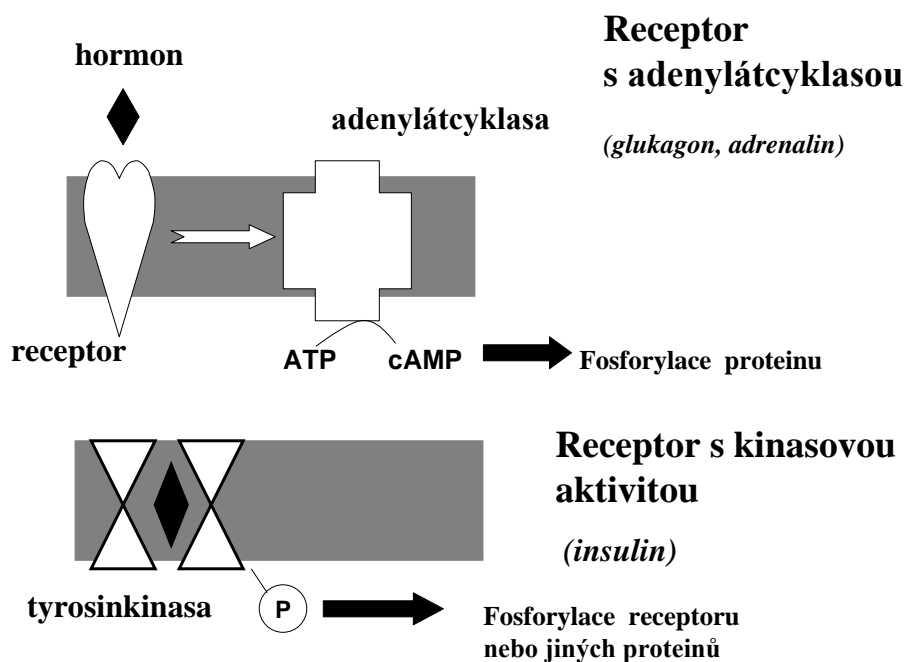
Zpětnovazebná regulace

Inhibice zpětnou vazbou znamená, že konečný produkt reguluje rychlost své vlastní syntézy.. Bývá to produkt prvního kroku reakce nebo produkt časně fáze metabolické cesty, ale produkt metabolického rozcestí. U zpětnovazebné inhibice konečný produkt může metabolickou dráhu inhibovat nebo příbuzný metabolit může aktivovat regulační (klíčový) enzym. Zpětnovazebná regulace často využívá allosterických enzymů, protože allosterický inhibitor nebo aktivátor nemusí být podobný substrátu a nemusí se vázat v aktivním centru. Kromě toho i malé změny v koncentraci inhibitoru nebo aktivátoru mohou výrazně ovlivnit rychlost enzymové reakce.

Obr.: Schéma mechanismu regulace enzymových reakcí zpětnou vazbou



Konečný produkt může regulovat svoji vlastní syntézu též působením na gen pro transkripci klíčového enzymu metabolické dráhy. Tento způsob regulace je mnohem pomalejší než regulace allosterickým mechanismem.



3. Genetický polymorfismus enzymů a změny v účinku léků

Genetická podstata polymorfismu enzymů, které se účastní metabolismu léků, spočívá v mutaci genu kódujícího příslušný enzym. Toto vede k expresi enzymových variant s různou metabolickou aktivitou. Tak je možno rozlišit varianty s normální aktivitou (extenzivní metabolizátoři), s pomalou aktivitou (pomalí metabolizátoři) a s velmi rychlou aktivitou (ultrentenzivní metabolizátoři).

Biotransformace léku v organismu (v játrech) probíhá ve dvou fázích:

V 1. fázi (obvykle oxidace, redukce kupř. enzymovým komplexem cytochromu P 450 nebo necytochromovými dehydrogenasami, také hydrolýza nebo esterolýza) může dojít k inaktivaci léku, ale i k jeho aktivaci (přeměna na účinný metabolit, kupř. allopurinol →

oxypurinol, cyklofosfamid → 4-hydroxycyklofosfamid, diazepam → desmethyl diazepam). 1. fáze má především zvýšit polaritu léku a připravit jej tak na 2. fázi.

V 2. fázi se metabolit léku konjuguje s glukuronovou kyselinou, s glutathionem nebo se sulfáty pomocí glukuronyltransferasy, glutathion-S-transferasy, sulfotransferasy; dále se může methylovat (methyltransferasy) nebo acetylovat (N-acetyltransferasy). Stává se tak většinou inaktivní (ale někdy naopak aktivní, kupř. z prokainamidu aktivní N-acetylprokainamid) a především snázeji vylučitelný z organismu (močí).

Hlavní skupinou enzymů, které se podílejí na biotransformaci 1. fáze jsou enzymy cytochromového komplexu P450. Člověk disponuje asi 60ti geny, které kódují enzymy cytochromu P450. Pro tuto „rodinu“ se používá zkratka CYP; další rozlišení (podskupiny a isoformy) se označují písmeny abecedy a číslicemi. Přehled nejdůležitějších molekulových forem CYP450 a metabolizovaných léků uvádí tabulka:

Tab.: Isoenzymy CYP450 a jejich substráty (léky)

Isoenzym	Lék
CYP1A2	fenacetin, theofylin, klozapin, paracetamol nikotin, kofein, kotinin, cyklobenzaprin, imipramin, klopramin, warfarin, propranolol
CYP2A6	kotinin, kumarin, nikotin
CYP2C8	tolbutamid
CYP2C9	hexobarbital, warfarin, fenytoin, diclofenak, ibuprofen, naproxen, mefenamová kyselina, piroxikam, tolbutamid, lornoxikam
CYP2C19	amitriptilin, diazepam, hexobarbital, chloroxazon, mefobarbital, omeprazol, mefenytoin, klomipramin, imipramin, propranolol, proquanyl
CYP2E1	paracetamol, halotan, ethanol, chloroxazon
CYP2D6	amitriptilin, desipramin, imipramin, nortriptilin, klomipramin, amiodaron, ekainid, flekanid, mexiletin propafenon, haloperidol, klozapin, perfenazin, thioridazin, bufarolol metoprolol, propranolol, timolol, kodein dextrometorfan, debrisočin, fenformin, indoramin, spartein
CYP3A4	ethinylestradiol, erythromycin, chinidin, chinin, terfenadin cyklosporin, diltiazem, felodipidin, nifedipin, verapamil, rimfapicin, midazolam, trazolam, diazepam, alprazolam, lovastatin, lidokain, dapson, taxol, tamoxifen, omeprazol,

loratidin, fentanyl, klaritromycin,, diclofenak, warfarin
--

Otázky

1. Alosterický modulátor potlačuje aktivitu enzymu (vyber správné):

- A. Tímže soutěží o katalytické místo se substrátem
- B. Tímže se váže v místě molekuly enzymu, které není aktivním centrem
- C. Tímže pozměňuje strukturu produktu enzymové reakce
- D. Tímže se váže kovalentně na enzym

Odpověď:

Správně je B. Výraz „alosterický“ znamená „na jiném místě“. Jsou dvě hlavní skupiny allosterických modulátorů: Homotropním modulátorem může být samotný substrát, kdežto heterotropní modulátor je malá molekula, jiná než substrát, často konečný produkt multienzymové reakce.

2. Ethanol je po požití metabolizován na acetaldehyd aldehyd-dehydrogenasou. Ethylenglykol (součást nemrznoucích směsí) způsobuje po požití těžkou otravu, protože je oxidován tímže enzymem, ale na podstatně toxičtější aldehyd. Ethanol se podává jako antidotum. Vysvětlete pathobiochemický podklad. (Vyber správné).

- A. Michaelisova konstanta (K_m) aldehyd-dehydrogenasy vůči ethanolu má mnohem nižší hodnotu (tj. větší afinitu) než vůči ethylenglykolu.
- B. Ethanol je allosterický modulátor aldehyd-dehydrogenasy, je-li přidán jako substrát.
- C. Ethanol se kombinuje s toxickým produktem oxidace ethylenglykolu a činí jej tak méně škodlivým.
- D. Acetaldehyd vytvořený z ethanolu má léčebný účinek.
- E. Ethanol navodí indukční syntézu jiného enzymu, který metabolizuje ethylenglykol na méně toxické produkty.

Odpověď:

Správně je A. Aldehyd-dehydrogenasa má širokou substrátovou specifitu vůči oxidaci různých alkoholů., ale pro ethanol má mnohem větší afinitu (nižší K_m) než pro ethylenglykol. Saturace aldehyd-dehydrogenasy ethanollem brání tvorbě toxického aldehydu tj. ethylenglykolu.

B. PŮSOBENÍ HORMONŮ

1. Úvod

Mnohobuněčné organismy, které mají různě specializované tkáně v rámci integrace celého organismu potřebují nutně komunikaci mezi buňkami. Tato je realizována čtyřmi systémy:

* Nervový systém (centrální a periferní) pracuje cestou komplexních elektrických přenosových (neurotransmitery) signálů a reflexních oblouků

* Endokrinní systém využívá různé žlázy, které tvoří a vylučují do krevní cirkulace působky (hormony), ovlivňující činnost cílových buněk vzdálenějších orgánů (tkání).

* Parakrinní a autokrinní systém syntetizuje a secernuje působky do mezibuněčného prostoru, které ovlivňují funkce buňky, aniž by vstoupily do krevní cirkulace. Je to ovlivnění buněk sousedních nebo sousedících (parakrinní efekt) nebo buněk vlastních (autokrinní efekt).

* Imunitní systém monitoruje a zprostředkovává odpověď na různé zevní (infekční agens, cizorodé proteiny) i vnitřní (nádorové buňky) škodliviny

Tyto systémy nepracují odděleně, ale jsou vzájemně propojeny

Účinek hormonů na buněčné úrovni začíná spojením hormonu se svým specifickým receptorem. Podle lokalizace receptoru (na povrchu membrány nebo uvnitř buňky) a podle povahy signálu nebo "druhé posílčka" (second messenger) mohou být hormony klasifikovány:

I. Hormony s intracelulárním receptorem

Estrogeny	Kalcitriol
Glukokortikoidy	Androgeny
Mineralokortikoidy	Hormony štítné žlázy (T3,T4)
Progestiny	

II. Hormony s receptorem na povrchu membrány buňky

A. Druhý posílček je cAMP

ACTH	MSH	Katecholaminy (α_2, β_2)
angiotensin II	TSH	kortikotropin-uvolňující hormon (CRH)
adiuretin	Parathyrin	Kalcitonin
FSH	Opioidy	Somatostatin
hCG	Acetylcholin	
lipotropin	Glukagon	
LH		

B. Druhý posílček je cGMP

Atriální natriuretický peptid (ANP)

C. Druhý posílček je Ca^{2+} nebo fosfatidylinositidy (nebo obojí)

Katecholaminy	Acetylcholin (muskarinový)
cholecystokinin	oxytocin
gastrin	GnRH
substance P	angiotensin II
TRH	
vasopresin	

D. Neznámý intracelulární messenger

choriový somatomotropin	nervový růstový faktor (NGF)
růstový hormon	epidermální růstový faktor (EGF)

insulin	fibroblastový růstový faktor
růstové faktory podobné insulinu (IGF-I, IGF-II)	(FGF)
prolaktin	růstový faktor z destiček

Tab.: Charakteristika jednotlivých skupin hormonů

	Skupina I (intracel. recep.)	Skupina II (membr.recep.)
Typ	steroidy, iodothyroniny	polypeptidy, proteiny, glyko- proteiny, katecholaminy
Rozpustnost	lipofilní	hydrofilní
Transport pomocí proteinu	ano	ne
Poločas	dlouhý, (hodiny, dny)	krátký (minuty)
Receptor	intracelulární	na povrchu membrány
Mediator	komplex receptor-hormon	cAMP, Ca ²⁺ , metabolity komplexu s inositolfosfatidy

Tab.: Přehled hlavních hormonů (podle chemické struktury)

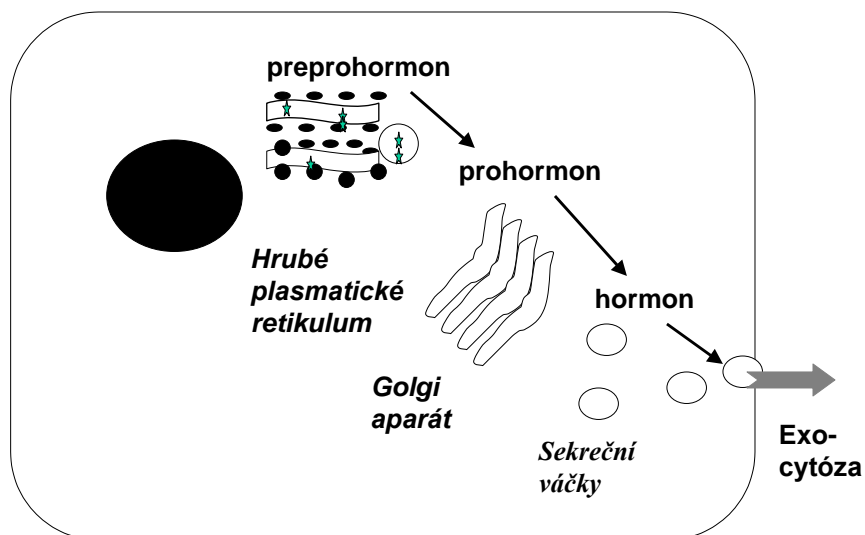
Polypeptidy	Glykoproteiny	Steroidy	Aminy
Adrenokortikotropin (ACTH)	Folikuly stimulující hormon (FSH)	Aldosteron	Adrenalin (epinefrin)
Angiotensin I a II	Lidský choriový gonadotropin (hCG)	Kortisol	Noradrenalin (norepinefrin)
Kalcitonin	Luteinizační hormon (LH)	1,25-dihydroxy- cholecalciferol	Thyroxin (T4)
Cholecystokinin	Thyreoideu stimulu- jící hormon (TSH)	Estradiol	Trijodthyronin (T3)
Gastrin		Progesteron	
Glukagon		Retinová kyselina	
Růstový hormon		Testosteron	
Insulin			
Insulinu podobné růstové faktory (IGF) (somatomediny)			
Melanocyty stimulující hormon (MSH)			
Oxytocin			

Parathyrin (PTH)			
Prolaktin			
Vasopresin (Anti-diuretický hormon) (ADH)			

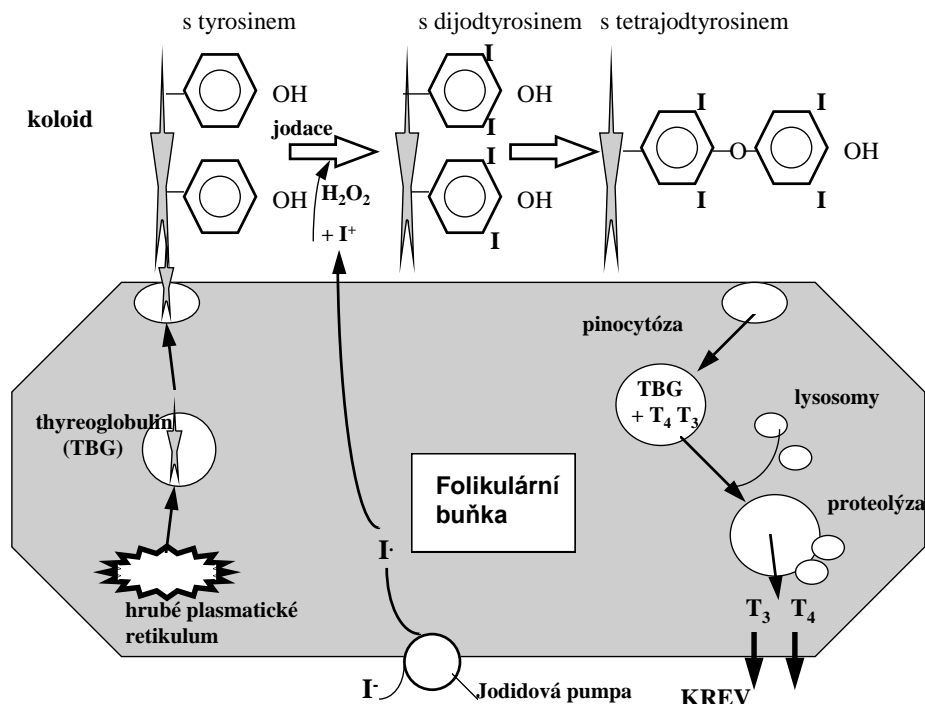
2. Biosyntéza hormonů

Tvorba hormonu se liší podle toho, jakou má chemickou strukturu. Polypeptidové hormony se tvoří v hrubém plasmatickém retikulu, a to jako větší polypeptid (preprohormon), z něhož se odštěpuje signální peptid, který nasměruje molekulu do Golgiho aparátu (prohormon). Tam se odštěpuje další část peptidové molekuly a vzniká hotový hormon, který se dostává do sekrečních vezikul a je exocytózou vylučován do krevní cirkulace.

Obr.: Schéma syntézy parathyrinu



Obr.: Schéma syntézy thyreoidálních hormonů (thyroxin a trijodthyronin)



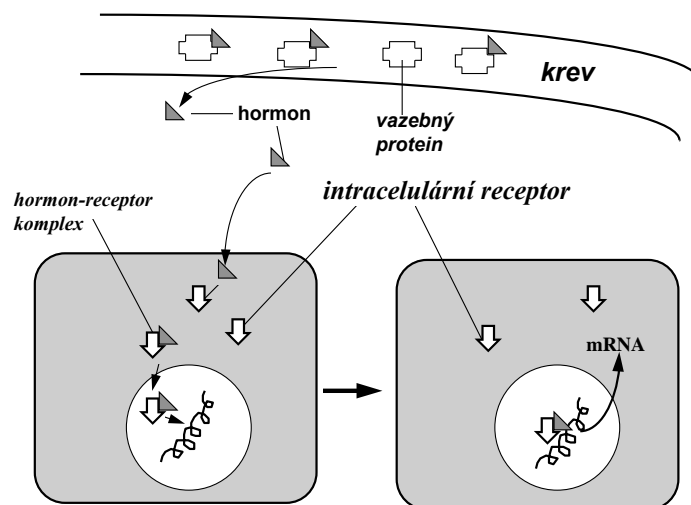
3. Mechanismus účinku

Každý hormon má jednu nebo více specifických účinků na cílové tkáni. Tyto pak mají schopnost zachytit příslušný hormon z krevní cirkulace, kde se nalézá v nano- nebo i picomolárních koncentracích prostřednictvím specifických receptorů (intracelulárních nebo membránových). Afinita receptoru vůči hormonu musí být proto vysoká. Vazbou hormonu na receptor vzniká signál, který musí být v buňce převeden (postreceptorový chemický signál) na buněčný systém, který realizuje příslušnou specifickou akci (kupř. aktivaci enzymu nebo syntézu proteinu ovlivňujícího buněčný růst nebo diferenciaci).

3. 1. Mechanismus účinku prostřednictvím intracelulárního receptoru

- (a) Steroidní nebo thyreoidální hormony se váží na intracelulární receptor; to způsobí konformační změny v molekule receptoru, která se tak může navázat na hormonresponzivní element specifické oblasti DNA v jádře. Následkem této interakce dojde k aktivaci nebo inaktivaci omezeného počtu genů. Umožní se tím transkripce genetické informace na mRNA a dále přenos (translace) na ribosomální proteosyntetický systém, který dá vznik specifickému proteinu; ten spustí příslušnou metabolickou reakci.

Obr.: Mechanismus účinku prostřednictvím intracelulárního receptoru



3. 2. Mechanismus účinku prostřednictvím membránového receptoru a nitrobuněčného "druhého posílčka"

Hormony ve vodě rozpustné (proteinové povahy, též katecholaminy) nejsou transportovány vazbou na plasmatický protein (mají proto krátký poločas) a zahajují svůj účinek vazbou na specifický membránový receptor. Tato vazba řídí syntézu "druhého posílčeka", kterým je cyklický adenosinmonofosfát (cAMP): Signál z komplexu hormon-receptor se přenáší na dva GTP-dependentní regulační proteiny: Gs má stimulační účinek, Gi inhibiční účinek na adenylátcyklasu. Tento enzym uvolňuje z ATP druhého posílčeka – cAMP. Existence dvou paralelních systémů, stimulačního a inhibičního, dovoluje vysvětlit, proč různé peptidové hormony mohou mít buď stimulační nebo tlumivý efekt na adenylátcyklasu a tím produkci cAMP.

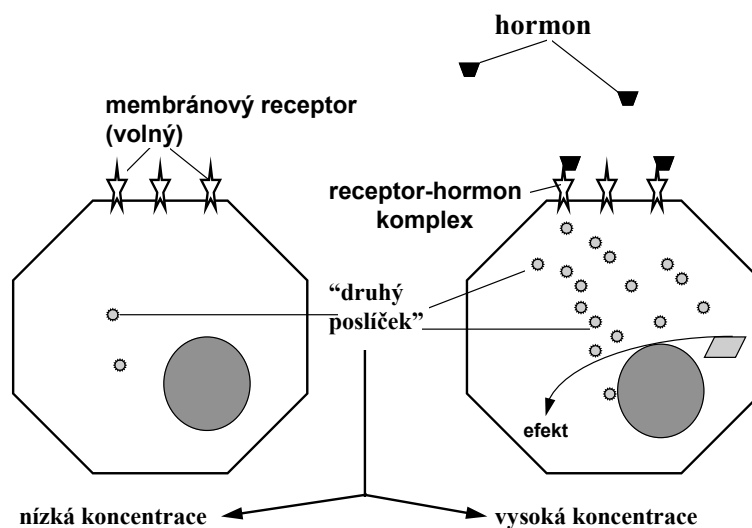
Vzniklý cAMP pak dále aktivuje proteinovou kinasu, která katalyzuje fosforylaci efektorového proteinu, jenž je odpovědný za určitý fyziologický efekt.

Množství receptorů na buněčném povrchu může být různé: od 100 do několika milionů. Strukturálně možno v membránovém receptoru rozlišit 3 části:

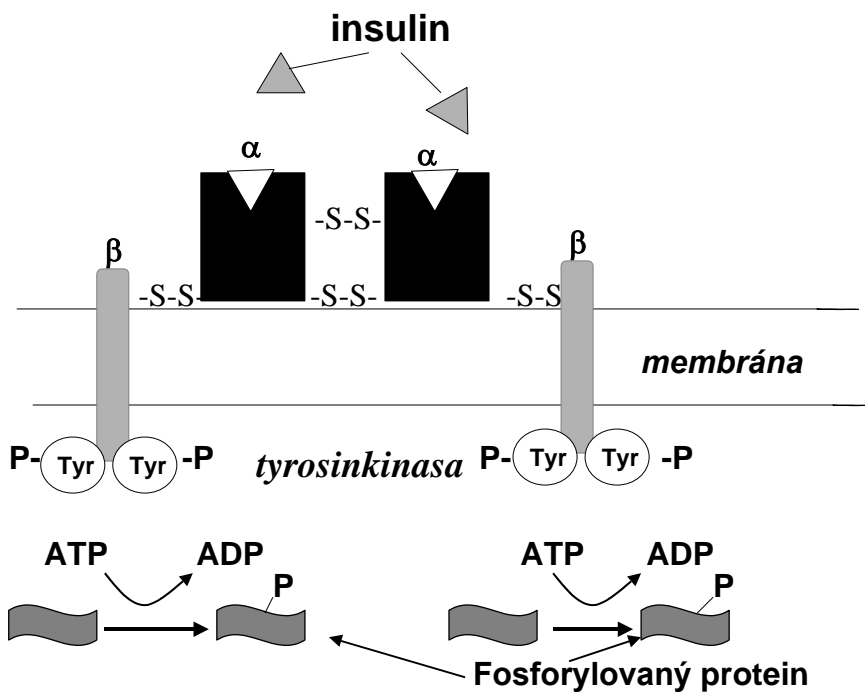
- (b) membránová doména, obsahující ligand, většinou se sacharidovým řetězcem
- (c) transmembránové domény (1 – 7 separátních hydrofobních shluků aminokyselinových zbytků v α -helikální formě)

intracelulární (cytoplasmatická) doména, která je pokračováním poslední transcelulární domény; může mít někdy katalytickou funkci (aktivita tyrosinkinasy)

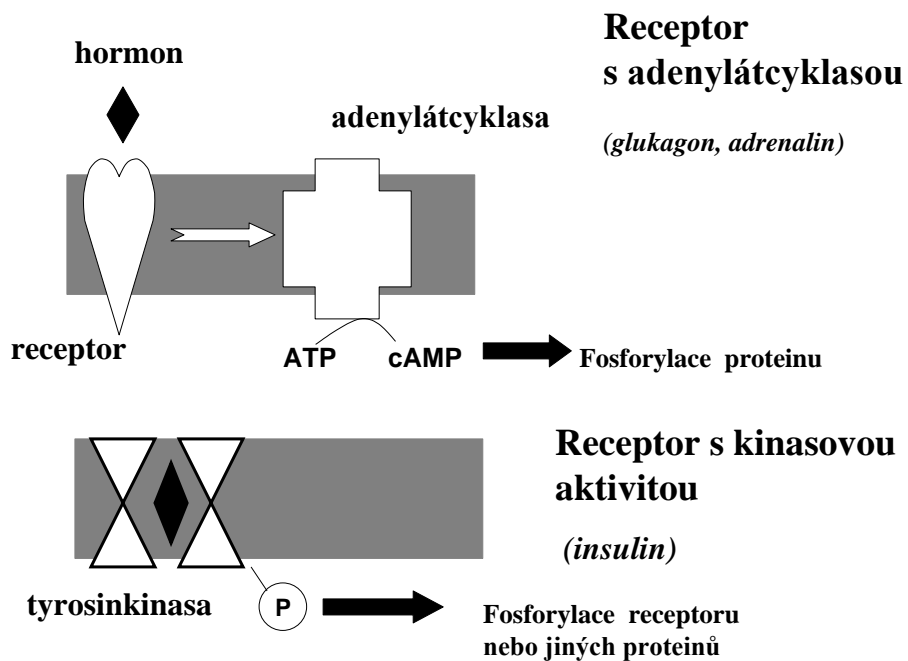
Obr.: Schéma mechanismu působení membránového receptoru



Obr.: Mechanismus působení insulinového receptoru



Obr.: Mechanismus účinku membránového receptoru s adenylátcyklasovou nebo tyrosinkinásovou aktivitou



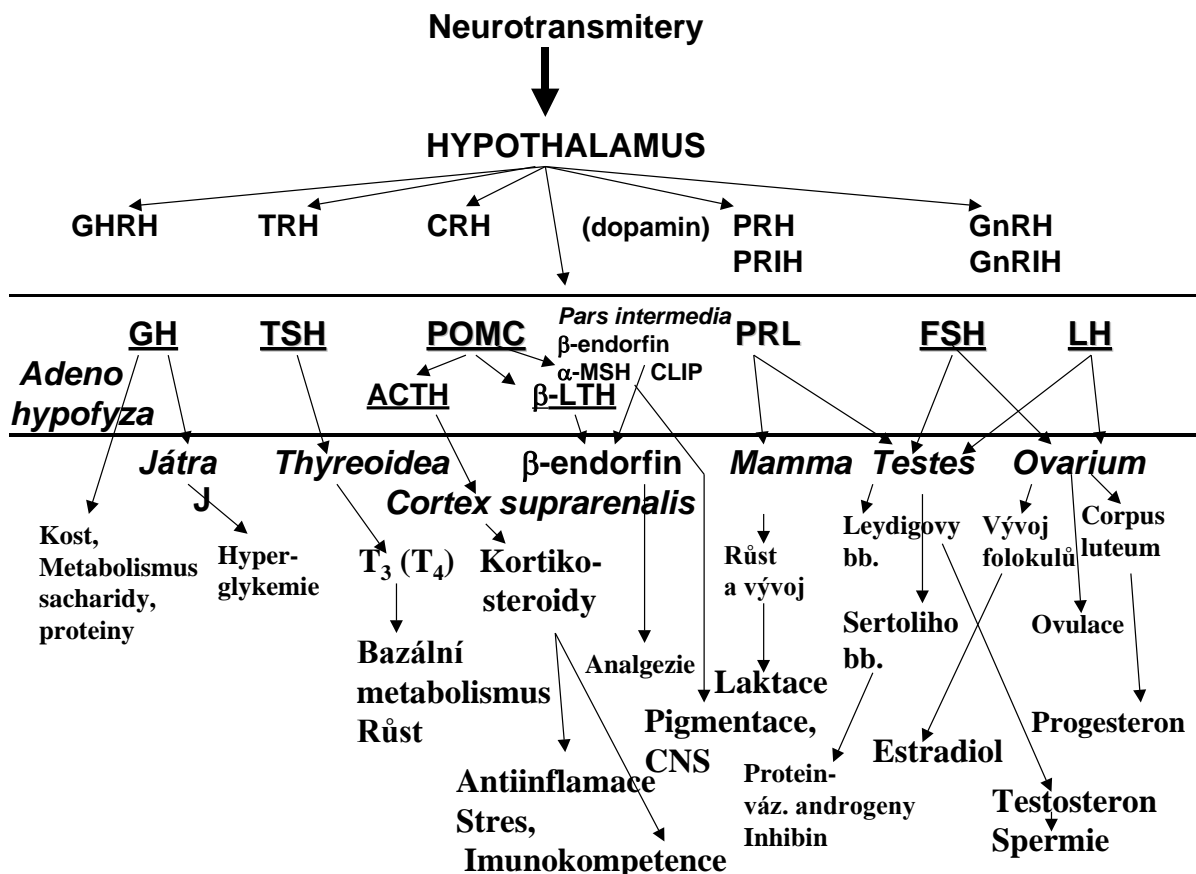
4. Vlastnosti a účinek jednotlivých endokrinních systémů

4.1. Centrální a periferní endokrinní systém

Hypothalamo–hypofyzární systém je centrální a řídicí část endokrinního systému. Adenohypofýza tvoří pod vlivem hypothalamových uvolňovacích hormonů (liberinů) šest hlavních tropinových hormonů, kterými je řízen periferní endokrinní systém. Glandotropní hormony (TSH, ACTH, LH, FSH) řídí funkci štítné žlázy, nadledvin a gonád, neglandotropní hormony (GH, PRL) regulují tělesný růst a sekreci mléka, tímže působí na cílové tkáně přímo.

V regulaci tvorby a sekrece hormonů hraje důležitou úlohu zpětnovazebný mechanismus. Hormony produkované periferními endokrinními žlázami regulují sekreci liberinů z hypothalamu, a tak zvyšují nebo snižují produkci tropinů v adenohypofýze, které bezprostředně ovlivňují tvorbu periferních hormonů. Do mechanismu zpětnovazebné regulace je zařazena též cílová tkáň, stejně jako centrální nervový systém zachycující vnější i vnitřní signály. Do tohoto regulačního systému je též zapojen imunitní systém, který prostřednictvím cytokinů (interleukin 1 α a 1 β , interleukin 2, TNF α) může ovlivnit sekreci hormonů, a na druhé straně psychoendokrinní systém moduluje imunitní odpověď.

Mechanismus vzájemného propojení osy CNS–hypothalamus–hypofýza–periferní endokrinní žlázy shrnuje schéma:

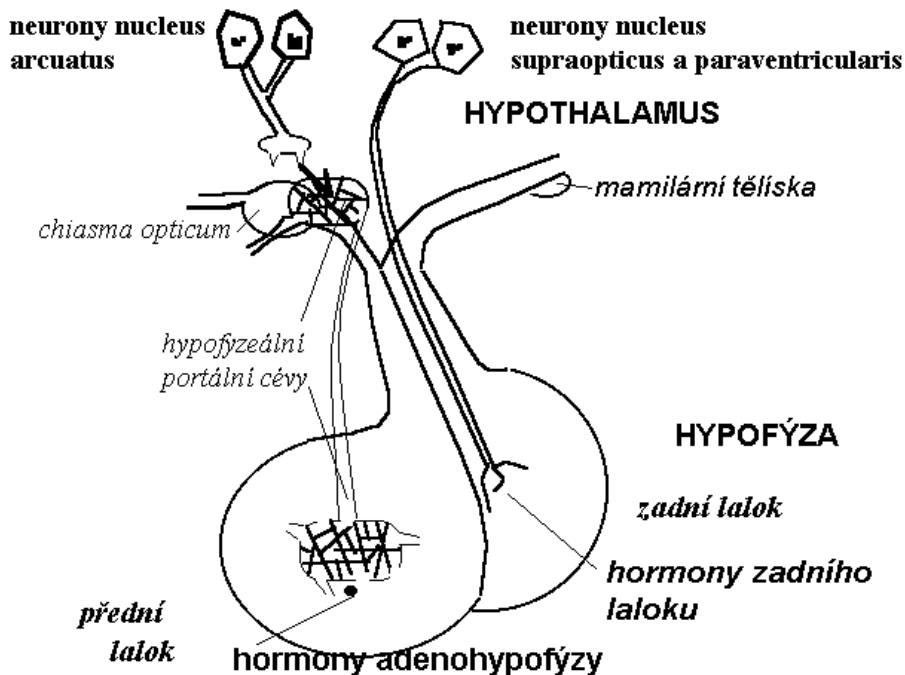


4.1.1. Hormony hypothalamu a hypofýzy

Buňky těla neuronů v hypothalamu (nucleus paraventricularis a nucleus supraopticus), oblasti mozku těsně nad hypofýzou, produkují peptidy a peptidové hormony. Některé tyto hormony jsou skladovány v zadním laloku hypofýzy (neurohypofýza), odkud se dostávají přímo do

krevního oběhu, kdežto jiné hypothalamové hormony se uvolňují do hypothalamo–hypofyzárních portálních cév, odkud se dostávají do předního laloku hypofýzy (adenohypofýza), kde stimulují anebo inhibují sekreci hormonů předního laloku hypofýzy. Neurohypofýza je vlastně výchlípkou diencefala, kdežto adenohypofýza se vyvinula z Rathkeho výchlípkou ektodermu. Intermediární lalok (pars intermedia) je u dospělého člověka rudimentární. Má svoji úlohu ve fetálním období a během těhotenství.

Obr.: Schéma anatomických vztahů mezi hypothalamem a oběma laloky hypofýzy



4.1.2. Hormony neurohypofýzy

Vasopresin neboli antidiuretický hormon (adiuretin) a oxytocin jsou tvořeny v buňkách hypothalamu a odtud jsou po axonech neuronů transportovány do neurohypofýzy., kde jsou uloženy a čekají na stimuly, které je uvolňují do krevní cirkulace. Oba hormony jsou kódovány genem, který také kóduje polypeptid neurofysin, který působí jako specifický transportní protein pro oba hormony, při jejich dopravě podél axonu do zadního laloku hypofýzy.

Vasopresin obsahuje 9 aminokyselinových zbytků, mezi jinými též arginin (v pozici 8), kterým se liší člověk od jiných savců, a proto se tento nazývá arginin-vasopresin.

Účinek vasopresinu (adiuretinu) spočívá ve vasokonstrikci většiny cévního řečiště, a to prostřednictvím specifických receptorů (V1) na hladké svalovině cévy.

Dalším účinkem je podpora reabsorpce vody přes lumenální membránu epithelových buněk korových i dřevných segmentů ledvinových sběrných kanálků, vazbou na V2–receptory. Přenos signálu se děje prostřednictvím adenylát-cyklasového systému a výsledným efektem je vznik aquaporinových kanálků na lumenální straně membrány, který ji tak činí více propustnou pro vodu. Stimulem pro sekreci jsou změny v osmolalitě plasmy, zachycované osmoreceptory v hypothalamu a změny tlaku v srdci a jiných úsecích cévního systému zachycované baroreceptory v srdečních síních nebo sinus caroticus.

Diabetes insipidus, onemocnění vedoucí k nadměrnému vylučování moče (polyurie), je způsobeno nepřiměřenou sekrecí nebo neadekvátním účinkem antidiuretického hormonu

Oxytocin je rovněž nonapeptid a je také syntetizován v supraoptických a paraventriculárních jádrech hypothalamu, ale v jiných neuronech než vasopresin.

Hlavní účinek oxytocinu se realizuje na ženském reprodukčním systému. Stimuluje frekvenci i amplitudu kontrakce hladké svaloviny dělohy. Tento účinek je závislý na výši hladiny estrogenu (To vysvětluje osm- až devětkrát vyšší citlivost na oxytocin mezi 20. – 39. týdnem těhotenství a navození porodu).

Oxytocin dále hraje důležitou úlohu při laktaci. Způsobuje kontrakce myoepithelových buněk mléčných žlázek, a tím podporuje vylučování mléka. Stimulem je sání bradavky při kojení, vedoucích nervovou cestou do hypothalamu. Současně dochází k uvolňování prolaktinu z adenohipofýzy, který pak podporuje tvorbu mléčných proteinů.

4.1.3. Hormony hypothalamu ovlivňující funkci adenohipofýzy

Hypothalamus působí jako klíčový mediátor mezi centrálním nervovým systémem a hypofýzou, tímže produkuje a vylučuje neuropeptidy, které buď podněcují (hypothalamic releasing hormones) nebo potlačují (hypothalamic inhibiting hormones) sekreci hormonů adenohipofýzy.

Tab.: Hormony hypothalamu ovlivňující uvolňování (stimulace, inhibice) hormonů adenohipofýzy

Hypothalamový hormon	Hormon adenohipofýzy
Kortikotropin-uvolňující hormon (CRH) (Kortikoliberin)	Adrenokortikotropin (ACTH) a jiné hormony POMC genu (propiomelanokortin)
Thyreotropin-uvolňující hormon (TRH) Thyreoliberin	Thyreoidu stimulující hormon (thyreotropin = TSH)
Gonadotropiny-uvolňující hormon (GnRH) (Luliberin) (Folliberin)	Luteotropin (LH) Folikulotropin (FSH)
Gonadotropiny-inhibující hormon (GnIH)	LH, FSH (potlačení sekrece)
Somatokrinin (GHRH) (Somatoliberin)	Růstový hormon (GH)
Somatostatin (GHRH)	GH (potlačení sekrece)
Prolaktin-uvolňující hormon (PRH) (?)	Prolaktin (PRL)
Prolaktin-inhibující hormon (PRIH) (Dopamin)	PRL (potlačení sekrece)
Melanoliberin (MRH)	
Melanostatin (MRIH)	

Poznámka:

Autonomní hormon–produktivní nádory mohou jak na úrovni podřízených endokrinních žláz, tak na úrovni hypofýzy (vzácně i hypothalamu) ovlivnit regulační systém, tím že produkují

nekontrované množství příslušného hormonu, který se dostává krevním oběhem k receptorům endokrinních buněk i cílových tkání. Nadprodukce hormonů z nádorových buněk odvozených od periferních endokrinních žláz potlačují sekreci hypofyzárních tropinů nebo hypothalamových liberinů, a tím snižují aktivitu příslušné normální periferní endokrinní žlázy. Pochází-li tumor z hormon–produktivních buněk hypofýzy (nebo vzácně hypothalamu), dochází k ke zvýšené aktivitě periferních endokrinních žláz nebo stimulaci cílových tkání bez zpětnovazebního efektu. Hormon–produktivní nádorová tkáň může být lokalizována jinde než v endokrinních žlázách. Mluvíme pak o ektopické tvorbě. Příkladem jsou některé bronchogenní karcinomy produkující ACTH. Do regulačního systému může zasáhnou též exogenní (terapeutický) přívod hormonálních preparátů (kupř. podávání kortikoidů).

4.2. Hormony regulující energetický metabolismus

Tyto hormony mohou ovlivňovat chuť k jídlu stejně jako vstřebávání ve střevě, transport a oxidaci živin. Patří mezi ně:

Insulin – hlavní anabolický hormon, který podporuje ukládání živin (glykogen v játrech a ve svalech, triacylglyceroly v tukové tkáni), stimuluje syntézu mastných kyselin, brání mobilizaci skladovaných energetických zdrojů, podporuje tvorbu více 50ti proteinů podporujících růst (Často nelze rozlišit účinek insulínu a růstových faktorů podobných insulínu. IGF 1 a 2). Insulin má též parakrinní účinek: Jeho sekrece β -buňkami Langerhansových ostrůvků potlačuje sekreci glukagonu α -buňkami.

Kontraregulační hormony (působí proti účinku insulínu)

Glukagon

Tvoří se v α -buňkách pankreatu nebo v L-buňkách střeva jako proglukagon, z kterého se proteolýzou odštěpuje peptid podobný glicentinu, glukagon, glukagonu podobný peptid 1 a 2. Poločas glukagonu v plasmě je 3–6 minut. Glukagon podporuje mobilizaci energetických rezerv kupř. glykogenolýzu nebo glukoneogenezi, ketogenezi stimulací tvorby cAMP v cílových buňkách. Umožňuje v době lačnění udržování hladiny glukosy v krvi, která je nutná jako základní energetický zdroj pro řadu tkání.

Somatostatin

Tvoří se jako preprosomatostatin (116 aminokyselinových zbytků) v hypothalamu a δ -buňkách pankreatických ostrůvků. Vlastní somatostatin je peptid o 14ti aminokyselinách. Potlačuje sekreci růstového hormonu a TSH z adenohipofýzy, sekreci insulínu a glukagonu z pankreatu.

Kromě toho potlačuje vyprazdňování žaludku, a tím podporuje vstřebávání ve střevě, tlumí sekreci kyseliny a gastrinu v žaludku. Snižuje sekreci exokrinního pankreatu. Váže se na inhibiční část G–proteinu adenylátcyklasy v cílových buňkách.

Katecholaminy (adrenalin, noradrenalin)

Jsou produktem dřene nadledvin (adrenalin) a částečně též CNS (noradrenalin) jako reakce na akutní a chronickou zátěž (stres) jako je bolest, krvácení, hypoglykemie, fyzická zátěž, hypoxie. Uvolnění je zprostředkováno impulsy z hypothalamu, kam přicházejí nervové signály ze stresovaných oblastí těla. Hypothalamové impulsy stimulují uvolnění acetylcholinu z pregangliových neuronů inervujících dřenu nadledvin. Účinek se realizuje na cílových buňkách pomocí 2 hlavních membránových receptorů: α -adrenergní a β -adrenergní. Mobilizují zdroje energie ze zásob v játrech (glykogenolýza, glukoneogeneze), tukové tkáni (lipolýza), svalstvu (glykogenolýza). Potlačují sekreci insulínu.

Glukokortikoidy (kortisol)

Tvorba a sekrece kortisolu je regulována kaskádou nervových a endokrinních signálů zprostředkovaných osou CNS–hypothalamus–adenohypofýza–kůra nadledvin. Impulesem jsou stresové situace. Účinky glukokortikoidů jsou zdánlivě kontradikční; ale jejich společným jmenovatelem je podpora přežití stresových situací. V mnohých tkáních inhibují syntézu DNA, RNA a proteinů a stimuluji odbourávání makromolekul. V odpovědi na chronický stres chrání glukokortikoidy energetické zdroje, aby byly k dispozici při akutním stresu, kdy uvolnění katecholaminů nutí buď k boji nebo útěku.

Nemetabolické účinky glukokortikoidů

- Elektrolyty a voda
Retence Na⁺ a vody (3000krát méně než aldosteron)

Zvýšení GFR

- Kardiovaskulární systém
Udržování objemu mikrocirkulace pro tkáň (srdeční minutový volem)

Udržování normální vasokonstrikční odpovědi na vasokonstrikční agens

- Kosterní svalstvo

Udržování mikrocirkulace ve svalstvu

Podpora katabolismu proteinů, inhibice proteosyntézy

- CNS

Ovlivnění nálady a chování

Potlačení sekrece CRH, ACTH a ADH

Ovlivnění citlivosti na speciální smyslové podněty

- Krevní buňky
Zvýšení erytrocytové masy a proliferace granulocytů

Snížení proliferace lymfocytů, monocytů a basofilů

- Protizánětlivý účinek
- Imunosupresivní účinek

Růstový hormon (GH)

Primárně je syntetizován v laterální oblasti adenohipofýzy. Je zde nejvíce zastoupeným hormonem (5 mg na 1 g žlázy). Poločas katabolismu v plasmě: 20–50 min.

Regulace jeho sekrece je složitá: Je stimulována především GHRH z hypothalamu, který je k tomu podněcován hypoglykemií, zvýšením hladiny některých aminokyselin (arginin), spánkovým rytmem, stresem a tělesnou námahou prostřednictvím podnětů na CNS. IGF-1 (z jater) rovněž podporuje sekreci GH. Naopak tlumivě působí somatostatin a vlastní zvýšená hladina v krvi.

Jeho účinek na různé tkáň je také komplexní. V játrech zvyšuje glukoneogenezi, tvorbu glykogenu, IGF-1. V tukové tkáni zvyšuje citlivost na lipolytickou aktivitu katecholaminů a naopak snižuje citlivost na lipogenní aktivitu insulinu, což vede k uvolnění mastných kyselin a glycerolu do cirkulace a jejich metabolizaci v játrech. V kosterním svalstvu podporuje lipolýzu a tím zvyšuje nabídku mastných kyselin jako místní zdroj energie. Podpora transportu aminokyselin do svalu zvyšuje svalovou proteosyntézu. Podpora růstu dlouhých kostí se děje nepřímo stimulací syntézy IGF-1 v játrech.

Thyroxin (T4) a trijodthyronin (T3)

Vznikají ve štítné žláze biosyntézou z tyrosinu. Poločas v plasmě se u T4 pohybuje kolem 7 dnů, u T3 1–1,5 dnů. Tento relativně dlouhý poločas je způsoben vazbou na proteiny (globulin vázající thyreoidální hormony = TBG, transthyretin = prealbumin a albumin). Volná frakce, která je jediné biologicky účinná tvoří pouze 0,03% celkového T4 a 0,3% celkového T3.. Hormony se tvoří ve štítné žláze jako vysokomolekulový thyreoglobulin, který obsahuje T3 a T4 v peptidové vazbě. Thyreoglobulin (Tg) . je uložen jako koloid extracelulárně. Tvorba i sekrece je TSH–dependentní. Zvýšená hladina TSH vede ke stimulaci endocytózy Tg do acinárních buněk. Lysosomální enzymy pak uvolňují thyroxin a trijodthyronin do krevní cirkulace.

Účinek na játra: Hormony štítné žlázy zvyšují glykolýzu a syntézu cholesterolu, ale též konverzi cholesterolu na žlučové kyseliny, podporují též glykogenolytický a lipolytický účinek adrenalinu.

Účinek na tukovou tkáň: Trijodthyronin má amplifikující efekt na lipolýzu navozenou adrenalinem. Zvyšuje ale dostupnost glukosy pro adipocyty. rozhodujícím regulátorem lipogeneze není T3 ale množství glukosy a insulinu dostupných pro syntézu triacylglycerolů v tukových buňkách.

Účinek na kosterní svalstvo: Zvyšuje vychytávání glukosy myocyty, podporuje glykogenolýzu a glykolýzu.

Kalorigenní účinek: Oxidací živin se u člověka převádí asi 25% potenciální energie do ATP. To znamená, že velká část energie je transformována v energii tepelnou (produkce tepla).

Hormony štítné žlázy se účastní na odpovědi akutní zátěže navozené působení chladu. T3 potencuje sekreci noradrenalinu sympatikem, který tak odpojuje protein thermogenin v hnědé tukové tkáni, což vede ke zvýšené produkci tepla rozpojením oxidační fosforylace. (energie oxidace se nevyužívá na tvorbu ATP). Noradrenalin též zvyšuje permeabilitu hnědé tukové tkáně a kosterního svalstva pro Na⁺. Protože zvýšená koncentrace Na⁺ uvnitř buněk je škodlivá, dochází ke stimulaci aktivity Na⁺/K⁺–ATPasy a k vypuzování intracelulárního Na⁺ za K⁺.. To vede ke zvýšené oxidaci živin, produkci ATP a tepla.

Leptin

Leptin je proteohormon o Mr= 16 000 patřící do rodiny hematopoetických cytokinů, který je produktem OB–genu na chromosomu 7q31.3, a který hraje klíčovou úlohu v regulaci tělesné hmotnosti. Je produkován diferencovanými adipocyty. Hlavním faktorem určujícím hladinu cirkulujícího leptinu je množství tukové tkáně. Koncentrace stoupá s indexem tělesné hmotnosti BMI = [hmotnost(v kg)]/[výška(v m)]² nebo s podílem tělesného tuku. I malé variace v množství tělesného tuku mají za následek výrazné rozdíly v hladině leptinu – od 0,03 µg/l u anorektických pacientů až po hodnoty > 100 µg/l u extrémně obézních jedinců. Hladina leptinu vykazuje závislost na věku (až do 20ti let).

Biologický účinek leptinu je zprostředkován leptinovým receptorem (OB–R), který patří do rodiny receptorů cytokinů třídy I. Leptin působí snížení příjmu potravy (u pokusných zvířat) a zvýšený výdej energie, včetně thermogeneze. Kromě toho leptin ovlivňuje řadu endokrinních systémů. Tento účinek je zprostředkován působením na hypothalamus, a to na produkci neuropeptidu Y (NPY) – leptin potlačuje expresi a sekreci NPY, který je stimulatorem příjmu potravy a reguluje řadu hypofyzárních hormonů. Velmi zjednodušeně řečeno, leptin představuje signál z tukové tkáně, kterým je informován organismus o zásobě energie uskladněné v tukových depot. (Blum, 1997).

4.3. Hormony regulující hladinu Na⁺ a Ca⁺⁺

Normální funkce buněk vyžaduje, aby objem buňky a osmolalita byla zachována v určitých poměrně velmi úzkých mezích. Přijímání tekutin a solí může značně vychýlit cirkulující objem i osmolalitu ECT. Proto musí být hlídána komplexním mechanismem. Na regulaci se

podílí antidiuretický hormon, dále systém renin–angiotensin–aldosteron a atriový natriuretický peptid.

Adiuretin (ADH)

Je tvořen jako prohormon v hypothalamových neuronech spolu s jeho transportním proteinem neurofysinem II, který jej dopravuje do zadního laloku hypofýzy.

ADH je uvolňován ze skladových vezikul neurohypofýzy stimulací osmoreceptorů. Hodnota normální osmolality v plasmě je nastavena na 282 mmol/kg s hranicemi $\pm 1,8\%$. Při zvýšení nad 287 mmol/kg dochází k rychlé sekreci ADH. To vede ke zvýšení zpětné resorpce „volné“ vody z vylučované moči v distální části renálních tubulů do renálních buněk. ADH se váže na specifické V2–receptory na bazolaterální membráně, kde dojde k aktivaci adenylát cyklosového systému, aktivaci proteinkinasy a, která fosforyluje protein navozující expresi genu pro aquaporin-2. Ten v lumenální membráně vytvoří kanálky (póry) volně přístupné pro difúzi vody do tubulární buňky a odtud do intersticia a krevní cirkulace. Dochází tak k zvýšení krevního volumu a úpravě osmolality.

Systém renin–angiotensin–aldosteron

Tento systém je určujícím pro udržení stálosti cirkulujícího objemu a osmolality (expanze a kontrakce kompartmentů Na^+ a vody, stejně jako pro zachování lumenálního průměru cévního řečiště a průtoku krve tkáněmi. Při ztrátě cirkulujícího volumu (děletrvajícím zvracením, průjem bez náhrady ztráty tekutin) dochází k akutní kontrakci ECT \rightarrow snížení průtoku aferentními arterioly ledvinových glomerulů \rightarrow stimulace tahových receptorů iuxtaglomerulárního aparátu \rightarrow sekrece reninu do ledvinových kapilár \rightarrow proteolýze angiotensinogenu (produkovaný játry) \rightarrow angiotensin I (v ledvině). Ten působením enzymu konvertujícího angiotensin (v plicích) se mění na angiotensin II, který je vlastním účinným faktorem. Jeden z jeho účinků je zvýšení tvorby a sekrece aldosteronu v zóně glomerulosa kůry nadledvin. (Angiotensin II se může dále přeměnit na angiotensin III, který má podobný účinek). Aldosteron způsobuje reabsorpci Na^+ a vody v distálních tubulech (stejně jako v tlustém střevě nebo slinných žlázách) a tím upravuje objem ECT. Angiotensin II však může přímo navodit reabsorpci Na^+ a vody v renálních tubulech. Angiotensin II (nikoliv angiotensin III) je potentním vasokonstriktorem. Výsledkem je normalizace tlaku a objemu v krevním řečišti.

Atriální natriuretický peptid (atriopeptin I) (ANP)

Je syntetizován a skladován jako preprohormon (126 aminokyselin) v kardiomyocytech levé předsíně. Je secernován jako inaktivní dimer do krevní plasmy, kde je aktivován na monomer odštěpením aminokyselin z obou konců. Vzniká tak aktivní atriopeptin II (20 aminokyselin). Zvýšený krevní objem a zvýšený centrální venózní tlak jsou hlavními stimulatory sekrece, dále pak zvýšený krevní tlak, osmolalita plasmy, katecholaminy, srdeční frekvence a též glukokortikoidy.

ANP inhibuje sekreci reninu, ADH i aldosteronu, snižuje tonus hladké svaloviny cév a zvyšuje tak vylučování Na^+ a vody močí. V buňce působí prostřednictvím guanylátcyklosového mechanismu.

Hormony kalciového metabolismu

V regulaci hladiny ionizovaného vápníku se uplatňují tři vzájemně se doplňující i přesahující systémy: parathyrin, kalcitonin a kalcitriol.

Parathyrin (PTH, dříve parathormon)

Je syntetizován v hlavních buňkách příštítných tělísek jako preprohormon, který je proteolyticky štěpen na fragmenty, skladované v sekrečních váčcích. Fragmentace i uvolňování do krevního oběhu je regulováno hladinou ionizovaného kalcia (Ca^{++}). Fragmenty obsahující 34 aminokyselin od N-terminálního konce mají plnou biologickou aktivitu. Stimulem pro sekreci PTH je hypokalcemie. PTH pak navozuje uvolnění Ca^{++} z kostního minerálu (stimulací osteoklastů), zvyšuje reabsorpci Ca^{++} v ledvinách a podporuje

hydroxylaci

25-hydroxykalciferolu v ledvinách na účinný hormon – 1,25-dihydroxycholecalciferol (kalcitriol), který pak podporuje vstřebávání Ca^{++} v sliznici střevní. účinek PTH na cílových buňkách se děje prostřednictvím adenylátcyklového systému.

Protein příbuzný parathyrinu (Parathyroid Hormon–Related Protein) (PTHrP)

Obsahuje 139–173 aminokyselinových zbytků, z nichž prvních osm na N-konci je homologních s parathyrinem. To vysvětluje nonmetastatickou hyperkalcemii u některých nádorů, které produkují PTHrP simulující ektopickou produkci PTH.

Kalcitonin

Je produkován parafolikulárními neboli C–buňkami štítné žlázy. Sekreci kalcitoninu stimuluje zvýšená hladina Ca^{++} , snížená ji potlačuje. Hormon tlumí osteolytickou aktivitu osteoklastů. Důsledkem je snížené vyplavování Ca a P z kostí a pokles jejich hladiny v plasmě. Kalcitonin dále usměrňuje přísun P do jater a jiných buněk.

Kalcitriol (1,25-dihydroxycholecalciferol)

Cholecalciferol (vitamin D3) se tvoří ze 7-dehydrocholesterolu za účinku UV-záření v kůži. V játrech pak dochází k hydroxylaci na pozici 25 (kalcidiol) a v ledvinách na pozici 1 (kalcitriol). Tento je vlastním hormonem., který ve střevě, kostech a v ledvině se váže na specifický receptor, v jehož komplexu vstupuje do buněčného jádra, kde aktivuje geny kódující proteiny se specifickým buněčným účinkem. V sliznici střevní je to kalcium–transportní protein, který reguluje vstřebávání Ca^{++} a anorganického fosfátu. V kostech podporuje zvýšení počtu osteoklastů, a tím uvolňování Ca^{++} , v renálních tubulech zvyšuje reabsorpci Ca^{++} .

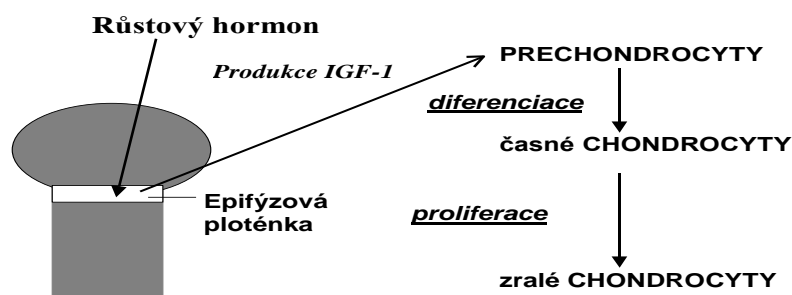
4.4. Hormony působící na růst, diferenciaci a reprodukci

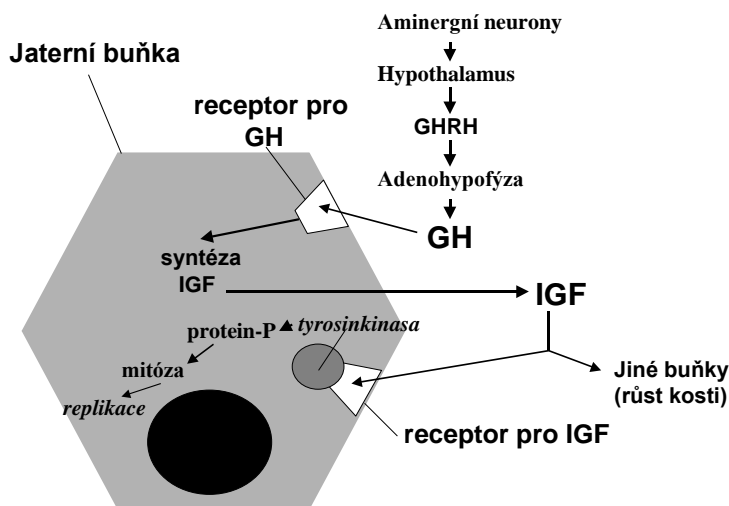
Hlavním hormonem regulujícím růst a diferenciaci buněk je růstový hormon a částečně růstové faktory podobné insulinu (somatomediny). Na diferenciaci se podílí retinová kyselina a na reprodukci pak především testosteron (u mužů) a estrogeny a progestiny (u žen). Jejich produkce je řízena gonadotropiny.

Růstový hormon (GH)= somatotropin

Patří do rodiny hormonů společně s prolaktinem a choriovým somatomamotropinem, má 191 aminokyselin a $\text{Mr}=22\ 000$. Tvoří se v adenohipofýze jako prehormon ($\text{Mr}=28\ 000$).

Jeho účinek na růst buněk je přímý i nepřímý. Přímý účinek spočívá v navození buněčné diferenciace, nepřímý se děje prostřednictvím somatomedinu (stimulace syntézy) a podporou růstu prekurzorových buněk.





Růstové faktory podobné insulinu (somatomediny) (IGF)

U člověka byly popsány dva somatomediny strukturně homologní s proinsulinem: IGF-I (somatomedin C) a IGF-II (somatomedin A). Účinek spočívá ve zvýšeném vychytávání thymidinu a stimulaci proliferace buněk (podobný účinek má insulin, ale v nepoměrně vyšší koncentraci). Účinek začíná vazbou na specifický membránový receptor, jehož intra-membránová součást je tyrosinkinasa (nikoliv u IGF-II). Tím je zahájena fosforylace proteinů navozujících mitózu (replikace buněk) a růst. Následně je aktivován řetěz kinas, včetně produktů proto-onkogenů. Účinek spočívá ve zvýšeném vychytávání thymidinu a stimulaci proliferace buněk (podobný účinek má insulin, ale v nepoměrně vyšší koncentraci). Účinek začíná vazbou na specifický membránový receptor, jehož intra-membránová součást je tyrosinkinasa (nikoliv u IGF-II). Tím je zahájena fosforylace proteinů navozujících mitózu (replikace buněk) a růst. Následně je aktivován řetěz kinas, včetně produktů proto-onkogenů.

Retinová kyselina

Odvozuje se od vitamínu (retinol); působí podobně jako steroidní hormony: Podporuje normální růst a diferenciaci epitelových buněk, optimální růst kostí a optimální vývoj embrya.

Pohlavní steroidní hormony

Androgeny

Jsou odpovědné za normální pohlavní vývoj u muže. V cirkulující krvi 95% androgenů tvoří testosteron, který je prekurzorem dihydrotestosteronu, který slouží jako intracelulární mediátor androgenního účinku. Největší část se tvoří ve varlatech (u muže) nebo ve vaječnících (u žen); zbytek v kůře nadledvin. Velmi malá část (0,2%) testosteronu je metabolizována na estrogény. Účinný je volný enzym (2% celkového). Fyziologický efekt androgenů se liší podle fáze vývoje. U embrya navozuje virilizaci mužského urogenitálního ústrojí, u novorozence ovlivňuje organizaci a vývoj mozkových funkcí, V prepubertě i minimální množství androgenů potlačuje vylučování gonadotropinů, jejichž zvýšená sekrece nastoupí na počátku puberty (snížení citlivosti adenohypofýzy na zpětnovazebnou inhibici). Tato snížená citlivost umožňuje cyklické vylučování LH a FSH. LH stimuluje produkci testosteronu v Leydigových buňkách, FSH podporuje vyzrávání spermatogonií.

Další účinek androgenů spočívá v nasazení růstu dlouhých kostí a rozvoje kosterního svalstva v pubertě a ve vývoji druhotných pohlavních znaků.

Estrogény

Nejúčinnějším estrogenem u člověka je 17β -estradiol, pak estron a nakonec estriol. Je tvořen hlavně ve vaječnicích v buňkách granulózy pod vlivem FSH a nepřímo GnRH z hypothalamu. Uvolňování FSH potlačuje také inhibin.

Estrogeny navozují syntézu 50–100 různých proteinů realizujících estrogení účinek:

- navození proliferace (růstu) labií, pochvy, dělohy a tkáně prsů
- diferenciací mléčné žlázy a nahromadění tuku v prsech
- ovlivnění tvaru ženské postavy a působení na růstovou ploténku v diafýze kostí
- regulace transkripce genu pro progestinový receptor (zvýšení jeho citlivosti na progestin uvolňovaný v průběhu menstruačního cyklu)
- příprava buněk děložního endometria (spolu s progesteronem) na implantaci oplozeného vajíčka
- senzibilizace děložního svalstva na kontraktilní účinek oxytocinu při porodu (spolu s prostaglandinem $F2\alpha$).
- Participace na psychických a emočních alteracích ženy v před menstruací (působení na syntézu neurotransmiterů a jejich receptorů)
- Podpora tvorby $NO\bullet$, a tím udržování tonu hladké svaloviny cév a průtoku krve
- Snížení motility střeva
- Podpora jaterní syntézy specifických transportních proteinů (jako TBG, SHBG)
- Podpora srážlivosti krve (podpora syntézy koagulačních faktorů II, VII, IX, X a snížení antithrombinu III)
- Zvýšení koncentrace HDL a triacylglycerolů v plasmě, snížení LDL

Progestiny

Jsou produkovány ve vaječnicích, varlatech, kůře nadledvin a v těhotenství v placentě. U ženy je secernován progesteron ve žlutém tělísku v průběhu luteální fáze menstruačního cyklu pod vlivem LH.

Primární účinek progesteronu je zaměřen na reprodukční funkci. Podporuje přípravu endometria (spolu s estrogeny) na implantaci oplozeného vajíčka. Kontroluje též pohyb vajíčka vejcovodem. Reguluje kontrakce dělohy inhibicí uvolňování oxytocinu. Je odpovědný za zvýšení tělesné teploty hned po ovulaci.

Soutěží též s aldosteronem o receptor pro mineralokortikoidy v renálních tubulech a mírně zvyšuje vylučování Na^+ a vody močí. Podporuje ventilaci navozenou zvýšením pCO_2 v druhé fázi menstruačního cyklu a v průběhu těhotenství. Má též hypnotický účinek na mozek, který se podílí na emočních změnách u tzv. premenstruačního syndromu.

Otázky

1. Hydrofilní hormony jsou nejlépe charakterizovány takto (vyber z možností)
 - A. Patří mezi ně steroidní hormony a hormony štítné žlázy
 - B. Váží se na receptor na povrchu, který přenáší signál do nitra buňky
 - C. Vstupují do buňky a váží se na intracelulární receptor, v jehož komplexu ovlivňují expresi genu
 - D. Váží se ireverzibilně na své receptory
 - E. Váží se na G–protein

Odpověď:

Správně je B. Hydrofilní hormony nepronikají do nitra buněk, ale váží se reverzibilně na specifický receptor. Jak hladina hormonu klesá, klesá i účinek hormonu a hormon disociuje z vazby na receptor. Některé receptory jsou spojeny s G–proteinem, který pak navozuje další přenos signálu, ale hydrofilní hormony se nespojují s G–proteinem přímo. Hormony steroidní a hormony thyreoidey jsou lipofilní

2. Který z následujících hormonů má nejdéle trvající účinek?

- A. Thyroxin
- B. Insulin
- C. Glukagon
- D. Adrenalin
- E. Epidermální růstový faktor

Odpověď:

Správně je A. Hormony, které se váží na intracelulární receptor a navozují expresi genu, mají delší trvání účinku než hydrofilní hormony.

1. Jaký je mechanismus účinku insulínu na cílovou buňku?

- A. Insulin se váže na cytoplasmatický receptor, v jehož komplexu je přenesen do jádra, kde ovlivňuje genovou expresi.
- B. Insulin se váže na receptor na povrchu buněčné membrány, vytvoří komplex, který aktivuje adenylátcyklasy prostřednictvím Gs–proteinu.
- C. Insulin se váže na transmembránový receptor, přičemž aktivuje tyrosinkinasu, která je cytosolovou doménou receptoru.
- D. Insulin vstupuje do buňky a uvolňuje Ca^{++} z buněčných zásob.

Odpověď:

Správně je C. Insulin se váže na transmembránový receptor na jeho vnější doménu. Tato vazba je signálem aktivujícím tyrosinkinasu (fosforyluje sama sebe), která je součástí receptoru.

Příklady pacientů

Pacient s hypertrofií prostaty

Muž, 68 roků, si stěžoval na nutnost častějšího močení (zvláště přes noc – každé 4 hodiny). Digitální rektální vyšetření ukázalo difúzní (bez nálezu uzlíků) zvětšení obou laloků prostaty.

Jaký je patobiochemický mechanismus benigního zvětšení prostaty ?

Odpověď:

- V patogeneze zaujímá zřejmě jednu z hlavních úloh testosteron., produkovaný Leydigovými buňkami varlat. Prostata je jeden z jeho cílových orgánů. Z krevní cirkulace se dostává do buněk stromatu prostaty. Na jaderné membráně je enzym – 5α -reduktasa, která redukuje testosteron na velmi účinný dihydrotestosteron. Ten navozuje transkripci mRNA pro geny cytokinů podporujících růst jako je transformující růstový faktor β

(TGF β) a bazický fibroblastový růstový faktor (BFGF). Tyto cytokiny nejen podporují proliferaci stromálních buněk prostaty autokrinním mechanismem, ale též epitelových buněk parakrinním účinkem. Zvýšený poměr estrogen/androgen u muže po 50–60ti letech zvyšuje počet receptorů pro dihydrotestosteron v buněčném jádře stromálních buněk prostaty, a to podpurným účinkem estrogenů.

Jak je možno přibrzdit proliferující účinek testosteronu?

Odpověď: Inhibující účinek na testosteron může být jednak přímý (blokování 5 α -reduktasy nesteroidními antiandrogeny jako je finasterid snižující tvorbu aktivního dihydrotestosteronu nebo kompetice o specifické receptory jako je flutamid), jednak nepřímý, kterým se ovlivňuje sekrece gonadotropinů zpětnovazebním účinkem syntetickými steroidními antiandrogeny jako je cyprosteron nebo tlumením sekrece a tvorby gonadoliberinů (GnRH) jejich analogem jako je buserelin („chemická kastrace“).

Děvčátko malého vzrůstu

Matka přivedla k pediatrovi 4–letou dcerku, protože se domnívala, že je na svůj věk příliš malá, ačkoliv její psychomotorický vývoj byl normální. Pediatr našel antropometrickým vyšetřením, že velikost děvčátka je pod 60ti percentilami věkové normy (odpovídá asi 18ti měsíčnímu dítěti). V anamnéze udávala matka, že holčička utrpěla úraz hlavy (fraktura lící kosti a nosu). Vyšetření lebky zobrazovacími technikami prokázalo frakturu v oblasti sella turcica, svědčící pro deficienci sekrece růstového hormonu

1. Jaká je diagnóza a jaký je patobiochemický mechanismus a vývoj této poruchy?

Odpověď:

- Jde o hypofyzární trpaslictví způsobené nedostatečnou sekrecí růstového hormonu pro postižení adenohipofýzy. Příčinou kromě traumatu hlavy může být autoimunitní poškození somatotrofů (buněk produkujících GH), dále radiační terapie nádorových ložisek v blízkosti hypofýzy. U těchto jedinců dochází k poruše růstu brzo. Jejich výška v dospělosti nepřesahuje 4 stopy.. Když jsou schopni tvořit a secernovat gonadotropiny, není jejich sexuální vývoj narušen a mohou mít i děti..

2. Které laboratorní testy mohou potvrdit diagnózu hypofyzárního trpaslictví?

Odpověď:

- Hladina plasmatického GH může být i u normálních dětí takřka nedetekovatelná, vyjma dvou až pěti sekrečních vln v průběhu 24 hodin. (Nejvyšší hodnoty bývají kolem půlnoci). Z toho důvodu se provádějí stimulační testy, které ověřují přítomnost zásoby GH v sekrečních granulích adenohipofýzy. Insulinový stimulační test navozuje hypoglykemii, která vede k podnícení sekrece GH. Argininový infuzní test stimuluje sekreci GH přímo. Oba testy byly u děvčátka negativní tzn. že následný vzestup GH v plasmě nepřevýšil hodnotu 7 $\mu\text{g/l.}$ Tedy diagnóza byla upřesněna (alespoň parciální deficit GH). Léčení spočívalo v aplikaci série rekombinantního GH.

3. Jaký je patobiochemický mechanismus chondrodystrofického trpaslictví ?

Odpověď:

- Tato forma trpaslictví se liší od hypofyzárního tím, že hladina GH je zde vysoká. Obě formy mají nízkou hladinu IGF-1, ale u chondrodystrofického trpaslictví jsou postiženy GH-receptory. Podání IGF-1 stimuluje růst.

Pacient po neurochirurgické operaci

Muži, 27 roků, byl extirpován na nonsekreční tumor v horní části adenohipofýzy cestou transsfenoidálního sinu. Neurochirurg musel při výkonu poněkud zatlačit na stopku hypothalamo–hypofyzární, aby se dostal k nádoru. Po operaci byla funkce předního laloku neporušena, ale vyvinula se výrazná pooperační polyurie.

1. O deficienci kterého hormonu se jedná ?

Odpověď:

- Trauma pituitárního stonku vede k dočasné poruše hypothalamo–hypofyzární osy při produkci a sekreci adiuretinu (ADH). Důsledkem je neschopnost distálního segmentu renálních tubulů vstřebávat zpět vodu z intraluminární moče. Polyurie u pacienta trvala 5 dní. Po tuto dobu bylo nutno mu podávat iv. příslušný objem tekutin. Po této době došlo k spontánní úpravě.

2. Jaký je mechanismus účinku ADH na distální segment renálních tubulů ?

Odpověď:

- ADH se váže na svůj specifický V2-receptor na bazolaterální straně tubulární buňky distálního segmentu. Navozuje tím aktivaci adenylátcyklasy a tím tvorbu cAMP, který aktivuje proteinkinazu a. Ta fosforyluje protein, který stimuluje expresi genu pro tvorbu aquaporinu-2, člena rodiny podobných proteinů, které vytvářejí vodní kanálek v lumenální membráně tubulární epitelie, kterým proudí volně voda z nitra buňky do intersticia a vrací se zpět do krevního řečiště.

Pacientka s únavou, neobvyklou obezitou a s hyperglykemií

Žena, 26 roků, si stěžovala na únavnost, svalovou ochablost. V tváři měla zarudlou pokožku, na břicho načervenalé strie. měla buclaté tváře („obličej jako měsíc v úplňku“) a tuk na břicho a zádech (centrální obezita), zatímco končetiny měla relativně hubené. Pokožku měla ztenčelou, některé svalové skupiny až atrofické. Měla hyperglykémii a zvýšenou hladinu kortisolu.

1. Jaká je pravděpodobná diagnóza ?

Odpověď: Hyperkortisolismus – zvýšená produkce kortisolu pro nadměrnou sekreci ACTH (Cushingova choroba) nebo zvýšená produkce kortisolu pro tumor kůry nadledvin (Cushingův syndrom).

Pacientka měla zvýšený nejen kortisol, ale též ACTH. Diagnóza Cushingovy choroby potvrzena nálezem mikroadenomu v adenohipofýze.

2. Jaký je rozdíl (z patobiochemického hlediska) mezi Cushingovou chorobou a Cushingovým syndromem ?

Odpověď:

- U Cushingova syndromu, kde se jedná o primárně zvýšenou produkci kortisolu pro tumor kůry nadledvin secernující trvale kortisol (ektopická tvorba), je zpětnovazebním mechanismem omezeno vylučování kortikoliberinu z hypothalamu a tím značně snížena tvorba a sekrece ACTH v adenohipofýze. U Cushingovy choroby je primárně postižena buď adenohipofýza (kupř. bazofilní mikroadenom), která produkuje (nezávisle na zpětnovazebním mechanismus) ACTH, nebo je ACTH tvořen „ektopicky“ (extrapituitárně) buňkami nádoru kupř. v plicích. V prvním případě (tumor nadledvin) je zvýšena v plasmě jen hladina kortisolu a hladina ACTH zůstává nízká, v druhém případě (mikroadenom hypofýzy nebo extrapituitární ACTH–produkující nádor) je zvýšen jak kortisol tak ACTH.

3. Jaký je patobiochemický výklad některých klinických příznaků hyperkortisolismu (hyperglykemie, úbytek svalové hmoty a únava, zarudnutí pokožky) ?

Odpověď:

- Kortisol je kontrainsulární hormon; navozuje hyperglykémii stimulací glukoneogeneze tj zvýšením katabolismu svalových proteinů. Aminokyseliny pak putují ze svalů do jater, kde jsou zdroj uhlíkového skeletu novotvořené glukosy. Odbourávání svalových bílkovin je součástí příčiny svalové slabosti. Antianabolický efekt glukokortikoidů omezuje tvorbu elastinu ve stěně cévní, což zvyšuje fragilitu kapilár za vzniku petechií (strie); nedostatečná tvorba elastinu v kůži ji ztenčuje.

Pacient se strumou

Pacient s mírnými projevy hypothyreoidismu (hmatná difúzní struma) měl však neobvyklý laboratorní nález: Plasmatická hladina TSH a celkového T3 i T4 byla zvýšena.

1. Jaké je možné vysvětlení této situace

Odpověď:

- Jde pravděpodobně o částečnou rezistenci cílových buněk vůči účinku thyreoidálních hormonů. U Refetoffova syndromu existuje mutace genu pro ligand β -podjednotky receptoru pro thyreoidální hormony, což vede k tomu, že thyreotrofy v předním laloku hypofýzy nezachytí zpětnovazebný signál zvýšené hladiny T3 a T4. Produkuje stále zvýšené množství TSH, což jednak zvyšuje produkci thyreoidálních hormonů štítnou žlázou, jednak vede k jejímu zvětšení (struma). Zvýšení T3 i T4 buď stačí nebo nestačí kompenzovat částečnou rezistenci cílových buněk. Když nestačí, dojde k projevům hypothyreoidismu.

VÝŽIVA A JEJÍ PORUCHY

1. Význam a základní složky potravy

Přiměřený přísun potravin a tekutin je naprosto nezbytný pro uchování zdraví, stejně jako je důležitou složkou při léčení patologických stavů. Zatímco získávání energie pro životní pochody musí být plynulé, příjem potravy je přerušovaný. Tak kupř. mozek vyžaduje trvalý přísun 5 g glukosy v průběhu 1 hodiny, jak v době jídla, tak při lačnění, jinak dojde k jeho poškození. Toto je umožněno metabolickými pochody, které skladují nebo uvolňují chemickou energii pod vlivem hormonální regulace.

Nedostatečná výživa ve smyslu kvantitativním i kvalitativním navozuje poruchy zdraví. Byla potvrzena souvislost mezi dietou a výskytem některých závažných chronických chorob jako jsou onemocnění srdce a cév, nádory, osteoporóza, vysoký krevní tlak apod. Zvýšená hladina LDL–cholesterolu, která patří mezi hlavní rizikové faktory předčasného výskytu ischemické choroby srdeční nebo arteriosklerózy končetinových tepen, značně koreluje s dietou bohatou na nasycené tuky a o něco méně pak na přísunu cholesterolu. Obě ingredience jsou přítomny především v potravě živočišného původu jako je maso, vejce. Ovšem i některé produkty umělé jako jsou margariny vyráběné hydrogenací rostlinných tuků jsou neméně aterogenní., kupř. pro zvýšený obsah trans-isoformů mastných kyselin. Naopak příjem většího množství rozpustné formy vlákniny v ovoci, luštěninách nebo zelenině snižuje LDL–cholesterol, stejně jako dostatečné množství antioxidantů jako C a E a β -karoten v potravě brání oxidaci malých LDL–částic, které jsou nejvíce aterogenní. Epidemiologické studie naznačují, že konzumace ryb s vyšším obsahem n-3 vícenenasycených mastných kyselin snižuje riziko ICHS. Mírná hyperhomocysteinemie, která je dalším nezávislým rizikovým faktorem, může být snížena přísunem listové kyseliny (v zelenině, luštěninách) a snížením příjmu masa pro obsah methioninu, který je prekurzorem homocysteinu. V potravě se může vyskytovat různé množství karcinogenů a zase naopak antikarcinogenů jako jsou „zametači“ reaktivních forem kyslíku a dusíku. Nedostatečný přísun vápníku, ale také vitamínu D a hořčíku může vést k osteoporóze, podobně jako nedostatek Fe vede k anemii z nedostatku železa nebo nedostatek jodu k poruše funkce štítné žlázy. S potravou nebo vodou se však mohou dostávat do organismu látky zdraví škodlivé (těžké kovy, pesticidy, mykotoxiny, nitráty, rostlinné steroidy a další látky spojené s průmyslovou výrobou), které se dostanou do potravinového řetězce.

Hlavním problémem neadekvátní výživy není tedy jen klasický syndrom nedostatečné výživy, ale vliv nesprávné výživy na vznik závažných chronických chorob. Na mikronutrienty (vitaminy, minerály, stopové prvky) se nedíváme jen jako na kofaktory metabolických reakcí, ale také jako na regulátory genů a mezibuněčných komunikací; mají též antioxidační a farmakologický účinek a jejich deficit může být specifický, zaměřený na určitou funkci nebo orgán. Rovněž specifický účinek mohou mít některé základní složky živin jako jsou určité aminokyseliny nebo mastné kyseliny. Nesmíme dále zapomenout, že s potravou se do organismu dostává řada non-nutritivních komponent, žádoucích i nežádoucích, které mohou značně ovlivnit metabolické funkce.

2. Základní složky potravy

Mezi základní složky výživy patří sacharidy, tuky a proteiny. Jejich množství a vzájemný poměr i složení a způsob přípravy má značný vliv na organismus.

Sacharidy v potravě tvoří především škroby, sacharosa, laktosa, fruktosa a glukosa. Po převedení na glukosu jsou hlavním energetickým zdrojem.

Proteiny respektive jejich stavební kameny esenciální a neesenciální aminokyseliny jsou nezbytné pro výstavbu vlastních buněčných (tkáňových) proteinů, stejně jako řady biologicky aktivních dusíkatých látek. V případě nedostatku jiných zdrojů může být jejich uhlíkový skelet využit také jako zdroj energie. Proteiny v potravě však mají různou biologickou hodnotu podle obsahu esenciálních aminokyselin, která umožňuje zdárný rozvoj všech funkcí organismu. Zejména značně kolísá obsah tryptofanu. Proteiny v mléce a mléčných výrobcích, v mase a ve vejcích mají vysokou biologickou hodnotu, zatímco bílkoviny rostlinného původu mají nízkou. Kromě toho dieta zaměřená pouze na rostlinné zdroje (vegetariánská) může pro vysoký obsah fytátů bránit vstřebávání dostatečného množství vápníku a hořčíku.

Tuky přiváděné především ve formě triacylglycerolů mají nejvyšší obsah energie. Mastné kyseliny z nich odštěpované jsou jednak zdrojem energie (v průběhu β -oxidace), jednak slouží pro syntézu lipidových složek buněčných membrán nebo jsou základem jiných biologicky aktivních sloučenin.

3. Mikronutrienty

Mikronutrienty představují velmi široké spektrum složek potravy nezbytných pro udržení zdraví. Jejich fyziologická funkce je různá: Některé jsou potřebné pro funkci enzymů, buď jako koenzymy nebo jako prostetická skupina, jiné jako biochemické substráty nebo jako hormony, u jiných je funkce zatím neobjasněna. Jsou potřeba v určitém optimálním množství, tzn. že zdraví nebezpečný je jak nedostatek, tak nadbytek. Mezi mikronutrienty se řadí vitaminy a stopové prvky.

3.1. Vitaminy

Vitaminy jsou organické sloučeniny, které sice neslouží jako zdroj energie, ale jsou nezbytné pro metabolizaci hlavních živin. Jsou už dlouho děleny na dvě skupiny, což má i fyziologické (funkční) opodstatnění:

- (a) Vitaminy rozpustné v tucích (A, D, E, K), které se absorbují ve střevě ve vazbě na tuky v potravě (micelární forma) a jsou skladovány v poměrně velkém množství v játrech nebo v tukové tkáni (Může tak dojít k nadbytku a potenciální toxicitě). Vitamin D se také syntetizuje v kůži ze 7-dehydrocholesterolu účinkem UV-záření a vitamin K tvoří bakterie střevního traktu. Vitaminy rozpustné v tucích neslouží nikdy jako koenzymy; stavy vedoucí k malabsorpci tuků jsou spojeny s jejich selektivním deficitem.
- (b) Vitaminy rozpustné ve vodě (vitaminy B-komplexu a vitamin C), které se absorbují přímo z vodného prostředí, vyjma vitaminu B12, který musí být předtím navázán na

specifický glykoprotein žaludeční sliznice (intrinsic factor), fungují jako koenzymy a nejsou vstřebávány prostřednictvím lipofilní fáze ve střevě.

Tab.: Přehled vitaminů a jejich charakteristika

Vitamin	Zdroj	Funkce	Príznaky nadbytku	Príznaky deficitu
A (retinol)	Vejce, játra, tmavozelená zelenina, pomeranče, mrkev	Tvorba zrakových pigmentů, růst a reparace epitelu, reprodukce, antioxidant	Demineralizace kostí a zubů, bolesti kloubů, amenorhea, krvácivost, suchá kůže a vlasy, nauzea, zvracení, hepatosplenomegalie	Zaražený růst, bolesti kloubů, anemie, šeroslepost, suchá kůže a vlasy, degenerace rohovky, hyperkeratóza, průjem, imunosuprese
D (cholecalciferol)	UV-záření na kůži, játra, ryby	Homeostáza Ca	Hyperkalcemie, hyperfosfatemie, renální kameny, kalcifikace	Křivice, osteomalacie, hypokalcemie, hypofosfatemie
E (α -tokoferol)	Rostlinné oleje, celá obilná zrna, játra, žloutek, ořechy	Antioxidans, stabilizace membrán	Porucha hojení, hypertenze, gastrointestinální obtíže, závrať, bolesti hlavy, únava, poruchy vidění	Hemolytická anemie (zřídka)
K	Bakteriální syntéza v GIT, játra, mléko, zelenina	Syntéza koagulačních faktorů	Žádné	Tendence ke krvácení
Thiamin (B1)	Vepřové, játra, celá zrna, ořechy, luštěniny	Koenzymy v energetickém metabolismu	Žádné	Tachykardie, edém, dilatace srdce, dysrytmie, srdeční selhání, svalová slabost, konfuze, beri-beri
Riboflavin (B2)	Maso, listová zelenina	Koenzymy v energetickém metabolismu	Žádné	Glositida, cheilitida, fotofobie, zánět rohovky, kožní vyrážka
Niacin (B3, nikotinová kyselina)	Mléko, vejce, maso, drůbež, ryby, celá zrna	Koenzym v energetickém metabolismu, inhibuje syntézu cholesterolu	Nauzea, zvracení, glositis, kožní vyrážka, pocení, závrať hypotenze, Abnormální	Průjem, anorexie, slabost, konfuze, kožní vyrážka, fotosenzitivita, pelagra

			játerní funkce	
B6 (pyridoxin)	Listová zelenina, maso, ryby, drůbež, ovoce, luštěniny, celá zrna	Koenzym v metabolismu aminokyselin a mastných kyselin glykogenolýzy, syntézy hemoglobinu a imunoglobulinů	Plynatost, deprese, únava, podrážděnost, bolesti hlavy, brnění a necitlivost, snížené reflexy, Poruchy chůze	Mikrocytová anemie, glositis, cheilitis, abnormální EKG, křeče, svalové záškuby, dermatitis, urolitiáza
Folát (listová kyselina)	Listová zelenina, luštěniny, játra, klíčky	Koenzym v syntéze aminokyselin, DNA a Hb	Žádné	Makrocytová anemie, atrofie střevních klků, Zácpa, průjem, glositis, defekty neurální trubice
B12 (cyano-kobalamin)	Maso, ryby, drůbež, mléko, sýry, vejce	Koenzym v syntéze DNA a aminokyselin, tvorba buněk GIT, CNS, kostní dřeň	Žádné	Makrocytová anemie, glositis, únava, degenerace periferních nervů, kožní vyrážka
Biotin	Játra, žloutek, luštěniny, ořechy, tvorba bakteriemi GIT	Koenzym energetického metabolismu, syntézy mastných kyselin, glykogenezi, aminokyselin	Žádné	Anorexie, nauzea, deprese, bolesti svalů, slabost, únava, suchá kůže, hypercholesterolemie
Pantothénová kyselina	Játra, žloutek, luštěniny, ořechy, bakteriální syntéza ve střevě	Součást CoA	Průjem, edém	Zvracení, nespavost, únava
Vitamin C (askorbová kys.)	Citrusové plody, zelenina, meloun, rajčata, jahody	Syntéza kolagenu a thyroxinu, anti-oxidans, imunní funkce, absorpce Fe, metabolismus aminokyselin	Hemolýza, nauzea, průjem, bolesti hlavy, únava, návaly horka, vyrážka, zvýšená urinace, demineralizace kostí, urolitiáza	Mikrocytová anemie, ateroskleróza, sklon ke krvácení, imunosuprese, gingivitis,

Vitamin B1 (thiamindifosfát)

Je kofaktorem enzymového komplexu pyruvátdehydrogenasy, který katalyzuje oxidační dekarboxylaci pyruvátu na acetyl-CoA a obdobného komplexu, který metabolizuje 2-oxoglutarát na sukcinyl-CoA. Dále působí jako koenzym transketolasy v pentosovém cyklu, kde přenáší 2-uhlíkovou jednotku z xylulosa-5-fosfátu na ribosa-5-fosfát za vzniku sedoheptulosa-7-fosfátu. Jeho zásoba v těle není příliš vysoká, i když tvoří 30-ti-násobek denní potřeby. Při nedostatku ve výživě nebo při zvýšené spotřebě (chronický abusus alkoholu) dochází k nedostatku thiamindifosfátu, který se klinicky projevuje periferní

neuropatií (parestézie, necitlivost nohou, poruchy chůze), Wernickeho encefalopatií (nystagmus, poruchy paměti), svalovou únavností, nemocí beri-beri (kardiomyopatie). Jednoduchý test spočívá v aplikaci glukosy a ve stanovení pyruvátu v krvi. Výrazné zvýšení dokumentuje deficit tohoto vitamínu pro nemožnost oxidační dekarboxylace pyruvátu z glykolýzy a vzniku acetyl-CoA. Přesnější test je stanovení aktivity transketolasy v hemolysátu před a po přidání thiamindifosfátu. Zvýšení nad 20% dokumentuje deficit.

Nikotinová kyselina

Je prekurzorem nikotinamidu, který tvoří složku nikotinamidadenin dinukleotidu (NAD⁺) a nikotinamidadenin dinukleotidfosfátu (NADP⁺), nezbytného koenzymu pro řadu oxidoreduktas kupř. v průběhu glykolýsy nebo oxidační fosforylace. Část nikotinové kyseliny vzniká endogenně z tryptofanu. Nedostatek vitamínu, projevující se jako pelagra, může vzniknout jak nedostatečným přívodem v potravě tak poklesem endogenní tvorby jako kupř. u karcinoidu, kdy značná část esenciální aminokyseliny tryptofanu se mění na hydroxyindoly a tedy se snižuje dostupnost pro syntézu nikotinové kyseliny. Také vzácná dědičná porucha metabolismu neutrálních aminokyselin – Hartnupova choroba, při níž porušen transport těchto aminokyselin přes epitel a dochází k poklesu intestinální absorpce.

Listová kyselina

Její deriváty jsou nutné pro syntézu purinů a pyrimidinů (tedy nukleových kyselin). Deficience je relativně častá. Nejčastěji se projevuje makrocytovou anémií. Může být kupř. jednou z prvních příznaků celiakálního syndromu, kdy pro atrofii sliznice tenkého střeva dochází k poruše absorpce z potravy.

Vitamin B12

Je součástí kobalaminu, který je nezbytný pro syntézu nukleových kyselin (kofaktor dihydrofolát reduktasy). Deficience způsobuje megakoblastickou anémi a v těžkých případech subakutní kombinovanou degeneraci míchy. Dietní nedostatek je vzácný s výjimkou striktních vegetariánů. Může však vzniknout u autoimunitní choroby s nálezem protilátek proti intrinsic faktoru, který je nutný pro jeho vstřebávání ze střeva.

Vitamin C (askorbová kyselina)

Je esenciální pro hydroxylaci prolinu v molekule kolagenu. Udržuje atom železa v molekule hydroxylasy v dvojmocné formě působí jako antioxidant. Usnadňuje dále intestinální absorpci nehemového železa, tímže je převádí do formy Fe²⁺. Subklinická deficience je relativně často přítomná u seniorů, kteří se odbývají při stravování.

Vitamin A

Je složkou sítnicového pigmentu – rhodopsinu, dále je nezbytný pro normální tvorbu mukopolysacharidů a vývoj epitelových tkání. Deficience způsobuje šeroslepost a v těžkých případech degenerativní změny na oku, které mohou vést k úplné ztrátě zraku. Nedostatečnost je vzácná v průmyslově vyvinutých zemích, nikoliv však v rozvojových. Vitamin A (retinol) je také tvořen ze svého prekurzoru – β -karotenu. V plasmě transportován ve vazbě na prealbumin a specifický protein – retinol-vázající globulin. Při nedostatku těchto transportních proteinů může dojít k projevům nedostatku, i když zásoba v játrech je dostatečná.

Vitamin D

Endogenní syntéza probíhá v kůži ze 7-dehydrocholesterolu účinkem UV-záření; vzniká cholekalciferol (vitamin D3). V potravě (především ryby a obohacené margariny) se nalézají ergokalciferol (vitamin D2). Obě formy vitamínu podléhají hydroxylaci (postupně v játrech

a ledvině) na 1,25-dihydroxycholecalciferol (kalcitriol), který je vlastním účinným agens (hormonem), podílejícím se na metabolismu Ca a fosfátu. Je přenášen specifickým transportním proteinem. Mateřské mléko obsahuje málo vitamínu D. Proto kojené děti, zvláště nedonošené, jsou náchylné k deficienci, Zásoba pro první měsíce porodu přechází z matky transplacentárně až v posledních týdnech normálního těhotenství. Deficience způsobuje u dětí křivici (defektní mineralizaci chrupavky a kostí), u dospělých osteomalacii (defektní mineralizace kostí).

3.2. Stopové prvky a oligoelementy

Bylo zjištěno, že 15 prvků vyskytujících se pouze ve stopovém množství (řádově μmol) jsou esenciální pro zdraví u živočichů.: Fe, Zn, Cu, Cr, Se, I, F, Mn, Mo, Co, Ni, Sn, Si, V, As. Z těchto prvních 10 bylo identifikováno, že jsou nezbytné i pro člověka. Kobalt je pravděpodobně esenciální pouze jako součást vitamínu B12, izolovaný deficit nikdy nebyl popsán. Příznaky nedostatku nebyly u řady dlouho známy, až byly popsány u dlouhodobé umělé výživy (totální parenterální výživa).

Mezi oligoelementy se řadí vápník a hořčík.

4. Vyšetření stavu výživy

Queteletův index BMI=body mass index) = hmotnost v kg / (výška v cm)²

Hmotnost bez tuku = $7,138 + 0,02908x$ (dU-kreatinin v mg)

Index kreatinin/výška = dU-kreatinin(v mg) / výška (v cm)

Prognostický nutriční index (PNI) = $158\% - 1,66$ (Albumin v g/l) $\cdot 0,02$ (Transferin v mg/l) - $0,78$ (kožní řasa nad tricepsem v mm) - $5,8$ (DH)

Poznámka: DH = kožní reakce oddálené přecitlivělosti 24 h po aplikaci antigenu

Žádná reakce = 0, reakce do 5 mm = 1, nad 5 mm = 2

Výdej energie v klidu (REE) (v kcal/den) (výpočet dle Harrisových a Benedictových rovnic)

Pro ženy = $655 + 9,6$ (hmotnost v kg) + $1,7$ (výška v cm) - $4,7$ (věk v rocích)

Pro muže = $66 + 13,7$ (hmotnost v kg) + $5,0$ (výška v cm) - $6,8$ (věk v rocích)

Poznámka: Hodnotu REE nutno navýšit, jsou-li přítomny faktory ovlivňující klidový výdej energie ní-li pacient v klidu

Faktory ovlivňující klidový výdej energie

Stresové faktory

- hladovění : 0,85
- chirurgický zákrok: 1,0–1,2
- sepse: 1,4-1,8
- horečka: $1,0+0,13$ na každý 1°C
- peritonitida: 1,2 – 1,5
- nádorové onemocnění: 1,1–1,45

Faktory fyzické aktivity

- pacient celodenně na lůžku – 1,15
- pacient ležící, který si dojde na WC – 1,20
- pacient chodící po pokoji – 1,25
- pacient chodící po oddělení – 1,30

Výpočet celkového výdeje energie = REE x stres x aktivita

Tab.:Výdej a potřeba energie u novorozenců a malých dětí

Tělesná hmotnost (v kg)	Výdej (potřeba energie) v kcal/kg/den
Do 10	100 kcal/kg
10–20	1000 kcal + 50 kcal/na každý 1 kg nad 10 kg hmotnosti
Více než 20	1500 kcal + 20 kcal/na každý 1 kg nad 20 kg hmotnosti

Energetický výdej (potřeba) u dětí se liší dle věku a dle určitých podmínek. Průměrný výdej energie u dítěte 6–12 roků starého tvoří z 50% bazální metabolismus, z 12% potřeby růstu, z 25% fyzická aktivita, z 13 různé ztráty (kupř. neabsorbovaný tuk). Tzv. tepelný efekt potravy způsobují především přijaté proteiny (30% nad bazální výdej), zatímco tuk a sacharidy 4%.

Energetický přívod nejvíce odpovídá velikosti tělesného povrchu. Je však možno počítat asi 80–120 kcal/kg hmotnosti pro 1. Rok života a pak snižovat každé 3 roky o 10 kcal/kg. Období rychlého růstu a vývoje kolem puberty vyžaduje úměrně vyšší příjem.

Každý 1 g přijatých proteinů nebo sacharidů poskytuje 4 kcal, 1 g mastných kyselin s krátkým řetězcem 5,3 kcal, se středně dlouhým řetězcem 8,3 a s dlouhým řetězcem 9 kcal.

4.1. Testy na vyšetření stavu výživy

4.1.1 Anthropometrické testy

Ztráta hmotnosti týká se celkové tělesné hmotnosti

Měření kožní řasy nad:

- tricipsem
- lopatkou
- pánevní křivkou týká hodnocení celkového tuku

Měření obvodu kolem střední části paže Týká se tělesné hmotnosti bez tuku

4.1.2. Laboratorní testy

Biochemické

- albumin (< 35 g/l)
- prealbumin (< 0,10 g/l)
- transferin (< 1,7 g/l)
- IGF vazebný protein 3
- fibronectin
- S-Fe, Cu, Zn
- S-urea, dU-urea
- B-glukosa

Hematologické

- B-hemoglobin, hematokrit, počet erytrocytů, počet leukocytů, rozpočet leukocytů, počet lymfocytů, počet trombocytů

Imunologické

- humorální imunita (IgG, IgA, IgM)
- buněčná imunita (kožní testy oddálené přecitlivělosti)

4.1.3. Kalorimetrie

Nejobektivnější stanovení energetického výdeje je vyšetření pomocí nepřímé kalorimetrie. Nejde však o techniku běžně užívanou. Daleko více se využívá odhadu energetického výdeje pomocí výpočtu na základě empirických rovnic (viz výše).

Přístroj umožňuje neinvazivní monitorování výměny dýchacích plynů s průběžným vyjádřením hodnoty spotřebovaného kyslíku a produkovaného oxidu uhličitého v časových úsecích po 1 minutě.

4.1.4. 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 močoviny vyloučené za 24 hodin močí:

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

Proteinová rovnováha = příjem proteinů – ztráty proteinů (= /dU-urea v g + 4/ x 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)
Břišní operace	10–18	62,5–112,5
Resekce žaludku	15–20	93,75–125,0
Cholecystektomie	do 15	do 93,75
Resekce plic	do 22	do 137,5
Abdominální hysterektomie	6–15	37,5–93,75
Totální exenterace	až 32	až 200

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

Proteinová rovnováha = příjem proteinů – ztráty proteinů (= /dU-urea v g + 4/ x 6,25)

5. Poruchy výživy

5.1. 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
 - špatná dentice
 - výrazný třes rukou
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.

5.2. Poruchy v přijímání potravy

- Anorexia nervosa

Jde o chronické onemocnění charakterizované z hlediska chování navozením podváhy vlastním přičiněním, z psychologického hlediska představou, že hubenost je ideálem krásy, z biologického hlediska řadou poruch (kupř. amenorheou) způsobených nedostatečným příjmem potravy.

Z metabolických poruch je možno jmenovat ztrátu podkožního tuku, sníženou teplotu tělesného jádra, snížení TK i pulsu. Diskolorace kůže (žluté zbarvení) je způsobeno buď hyperkarotinemii z přebytečného přísunu β -karotenu v jednostranné potravě nebo i poruchou degradace a utilizace karotenoidů. Ženy s amenorheou mají snížený FSH i LH a periodický výdej LH v průběhu dne neodpovídá na sekreční podnět prostřednictvím LH-RF (luliberin). Hladina T3 má tendenci ke snížení zatímco jeho neaktivní isomer reverzní T3 (rT3) stoupá. Při malnutrici a stresu játra preferují deiodidaci T4 na rT3. T4 a odpověď TSH na TRH jsou normální. Hladina kortisolu v plasmě je normální nebo lehce snížena, snížené je vylučování 17-hydroxykortikoidů močí. Odpověď na stimulaci ACTH bývá zvýšena, na metyrapon normální. Hladina růstového hormonu je normální nebo lehce zvýšena, naproti tomu hladina somatomedinu je snížena. V hematologickém nálezu bývá leukopenie, trombocytopenie, anemie, ale rezistence vůči infekci je dobrá.

- Bulimia nervosa

Jde o poruchu chování charakterizovanou epizodami nadměrného přejídání, provázené pocity znovu se "vyčistit" navozeným zvracením, průjmy (laxativa) nebo zvýšenou diurezou (diuretika). Na rozdíl od anorektiků bulimici mají normální tělesnou hmotnost. Na rozvoji se podílejí neurotransmitery jako serotonin, dopamin, noradrenalin, opioidy a dále cholecystokinin, které modulují pocity hladu a sytosti.

Pro úporné zvracení bývá nález hypokalemické hypochloridemické alkalózy.

5.3. Obezita

Obezita a nadváha jsou způsobeny nahromaděním tělesného tuku. Jednoduchým měřítkem je Queteletův „body mass index“ (BMI), což je poměr: hmotnost (v kg)/ výška² (v m).

Tab.: Klasifikace obezity

BMI		Stupeň obezity
< 20	Podváha	
20 – 24,99	Normální hmotnost	
25 – 29,99	Nadváha	I
30 – 30,99	Obezita	II
> 40	Morbidní obezita	III

BMI neodpovídá v nízkém nebo naopak ve vysokém věku a také u jedinců s výrazně vyvinutou muskulaturou.

Adipozita sama o sobě není takovým rizikem, ale lokalizace nahromaděného tuku je důležitá.. Tuk v abdominální krajině, zvláště pak tuk kolem břišních orgánů (centrální obezita) je považován za nejrizikovější z hlediska výskytu metabolických poruch. Abdominální adipozitu lze nepřímo měřit pomocí indexu míry kolem pasu a kolem boků (pás/boky). Viscerální tuk je aktivní metabolickou tkání uvolňující mastné kyseliny. Zvýšený přísun mastných kyselin do jater a periferních tkání navozuje insulinovou rezistenci a společně s alterací poměru aktivity lipoproteinové lipasy a jaterní triacylglycerolové lipasy je to příčina dyslipidemie u obezity.

Tuková buňka (adipocyt) tvoří rezervoár tělesné energie tím, že se expanduje nebo kontrahuje podle stavu energetické rovnováhy. Vzniká z prekursoru – preadipocytu, aby se přizpůsobila pokračujícímu zvýšenému příjmu energie ve výživě. Adipocyty při nadměrném příjmu postupně mění svoji velikost až do určité hranice, kterou je 1 µg hmotnosti. Po té dojde ke stimulaci diferenciaci preadipocytů a dochází k produkci nových tukových buněk, kterých může přibývat neomezeně, takže jejich celkový počet v tukové tkáni stoupá. Jakmile však adipocyt vznikl je jeho dediferenciaci velmi obtížná. Při snížení energetického příjmu jejich počet neklesá, snižuje se pouze jejich velikost.

5.3.1. Genetické faktory

Až dosud bylo identifikováno 23 genů, které jsou sdruženy s obezitou. Mechanismus jejich účinku není dosud plně objasněn. Předpokládá se, že více než 40% případů primární obezity je podmíněno geneticky. V poslední době byla zaměřena pozornost na tzv. ob-gen, který odpovídá za syntézu leptinu (λεπτοσ = tenký, hubený)

Leptin

Leptin je proteohormon o Mr= 16 000 patřící do rodiny hematopoetických cytokinů, který je produktem OB-genu na chromosomu 7q31.3, a který hraje klíčovou úlohu v regulaci tělesné hmotnosti. Je produkován diferencovanými adipocyty. Hlavním faktorem určujícím hladinu cirkulujícího leptinu je množství tukové tkáně. Koncentrace stoupá s indexem tělesné hmotnosti BMI = [hmotnost(v kg)]/[výška(v m)]² nebo s podílem tělesného tuku. I malé variace v množství tělesného tuku mají za následek výrazné rozdíly v hladině leptinu – od 0,03 µg/l u anorektických pacientů až po hodnoty > 100 µg/l u extrémně obézních jedinců. Hladina leptinu vykazuje závislost na věku (až do 20ti let).

Biologický účinek leptinu je zprostředkován leptinovým receptorem (OB-R), který patří do rodiny receptorů cytokinů třídy I. Leptin působí snížení příjmu potravy (u pokusných zvířat) a zvýšený výdej energie, včetně termogeneze. Kromě toho leptin ovlivňuje řadu endokrinních systémů. Tento účinek je zprostředkován působením na hypothalamus, a to na produkci neuropeptidu Y (NPY) – leptin potlačuje expresi a sekreci NPY, který je stimulatorem příjmu potravy a reguluje řadu hypofyzárních hormonů. Velmi zjednodušeně řečeno, leptin představuje signál z tukové tkáně, kterým je informován organismus o zásobě energie uskladněné v tukových depot.

5.3.2 Životaspráva

Genetické faktory, které jsou podkladem obezity, samy o sobě nestačí. Životní styl a faktory zevního prostředí umožňují, aby se tyto vlohly projevíly. Největší roli hraje přívod energeticky bohatých živin (hyperfagie = přejídání) v nepoměru s tělesnou aktivitou.

5.3.3 Endokrinní příčiny

Některé endokrinní poruchy jsou spojeny s nahromaděním tukové tkáně a obezitou. Patří sem hypothyreóza, akromegalie, Cushingův syndrom, hyperprolaktinemie (Ta bývá přičítána obezitě po porodu). Deficience růstového hormonu a hypogonadismus bývá spojen s adipozitou, ale nikoliv nutně s obezitou. Diabetes mellitus typu 2, který je také často sdružen s obezitou mají pravděpodobně stejné genetické predispoziční faktory. Zvýšená rezistence na insulin a abdominální forma obezity jsou součástí tzv. Reavenova metabolického syndromu (syndrom X).

5.3.4. Mnohočetný metabolický syndrom podle Reavena (= "syndrom X")

Jde o asociaci několika rizikových faktorů, jejímž podkladem je zřejmě insulinová rezistence sdružená s obezitou, hypertenzí, hypertriacylglycerolemií, hyperglykemií, ke kterým přibýly další jako hyperurikemie, hirsutismus, dále poruchy krevního srážení a fibrinolyzy, mikroalbuminurie a vznik tzv. malých LDL částic; důležité je, že všechny tyto známky se spojují s vývojem předčasné aterosklerózy. Metabolický syndrom a jeho příčiny však nelze chápat jako projev opotřebení nebo stárnutí, ale je založen na geneticky disponovaném terénu

Insulinová reistence je spíše důsledkem alterace v uvolňování insulinu z β -buněk, než že by se měnil práh pro stimulaci glukosou. Zvětšená tuková buňka je méně citlivá na antilipolytický a lipogenní účinek insulinu. Ačkoliv snížený počet insulinových receptorů se také podílí na vývoji insulinové rezistence, její výsledek je mnohem větší, než to odpovídá poklesu počtu receptorů. Tedy musí existovat i postreceptorový defekt. Ten se vyskytuje též v jiných insulinsenzitivních tkáních, zvláště ve svalstvu. Tak jak se rezistence na insulin prohlubuje, tak se snižuje vylučování glukosy periferními tkáněmi a roste výdej glukosy játry.

6. Léčebná výživa

Obecné principy podávání parenterální výživy

- Přednost má vždy výživa běžným způsobem (perorální), event. sondou gastro–enterální. Může však být doplněna vhodnými infuzemi při zátěžových situacích (chirurgický zákrok, agresivní chemoterapie).
- Parenterální výživu je nutné použít při nemožnosti živit pacienta perorálně nebo sondou.
- Je-li výživa sondou nedostatečná, je třeba zahájit parenterální výživu doplňkovou.
- Kompletní parenterální výživu je možné v případě potřeby aplikovat neomezenou dobu.
- Při postižení některých orgánů (ledviny, játra) je nutné použít výživné roztoky se speciálním vhodným složením.

- Pro parenterální výživu je třeba použít plnohodnotný aminokyselinový roztok (může být posílen nebo naopak u některých nádorových onemocnění ochuzen o určité aminokyseliny)
- Roztoky aminokyselin je třeba podávat současně s energetickým substrátem (sacharidy, tuky) a elektrolyty (Výjimkou je doplňkové podávání aminokyselin při nedostatečném přívodu bílkovin).

Do periferní žíly je možno podávat roztoky nepřesahující osmolalitu 830 mmol/kg. Tento způsob je vhodný zejména pro krátkodobou výživu u nemocných, kteří nejsou v kritickém stavu. Jinak je nutné používat centrální katetr za příslušných aseptických opatření.

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)

Přídavek	Metabolický význam	Účinek
Glutamin	Je energetickým zdrojem pro enterocyty a imunitní buňky. Potřebný pro hepatální glutathion	Parenterální podání snižuje infekciozitu a délku hospitalizace pacientů po transplantaci dřeně
Arginin	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
Větvené aminokyseliny	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
Sírné aminokyseliny	Glutathion je hlavním "zametačem" volných radikálů v krvi. Taurin tvoří konjugáty se solemi žlučových kyselin. Karnitin umožňuje transport mastných kyselin do mitochondrií pro β -oxidaci. S-adenosylmethionin je donorem CH_3 -skupiny pro cholin a kreatin	Transulfurační metabolity bývají vyčerpány u pacientů na dlouhodobé parenterální výživě. S-adenosylmethionin snižuje nebezpečí cholestázy

Tab.: Doporučený přívod živin v dětském věku

(in: Bachmann et al., Paediatric in Praxis und Klinik, vol.I., G.Thieme Verlag, Stuttgart, 1978)

Věk	Potřeba energie kcal/kg/den	Bílkoviny (g/kg/den)	Tuky (% celkové energet.)
-----	--------------------------------	-------------------------	------------------------------

	(kJ/kg/den)				Potřeby)
0–6 měs	120–110 (504–462)		2,5		35–50
7–12 měs	110–100 (462–420)		2,2		35–50
1–3 roky	90–80 (378–336)		2,2		35–40
4–6 roků	80 (336)		2,0		35–40
7–9 roků	70 (294)		1,8		
	muži	ženy	muži	ženy	
10–12 roků	60 (252)	50 (210)	1,5	1,4	
13–14 roků	50 (210)	45 (189)	1,5	1,4	
15–18 roků	50 (210)	45 (189)	1,2	1,0	

Tab.: Potřeba aminokyselin u kojenců

Aminokyselina	mg/100 kcal	mg/kg/den
Cystin	23	
Histidin	26	16–34
Isoleucin	66	102–119
Leucin	132	70–229
Lysin	101	88–102
Methionin	24	33–45
Fenylalanin	57	47–90
Threonin	59	45–87
Tryptofan	16	15–22
Valin	83	85–105

Voda

Obsah celkové tělesné vody u kojenců je relativně vysoký (75–80% hmotnosti) proti dospělým jedincům (55–60%). Hlavní přívod tekutin je z potravy, malá část tzv. metabolická voda je získávána v průběhu energetického metabolismu (cca 12 ml H₂O/ 100 kcal). Kojenec potřebuje daleko více vody než dospělý jedinec; jeho denní potřeba je v průměru 10–15% tělesné hmotnosti, zatímco dospělý člověk potřebuje 2–4% své hmotnosti.

Denní potřeba vody (v klidu): 1800 ml/m²

Elektrolyty

Příklad potřeby (pro dospělého jedince):

NaCl: 60–140 mmol/den

KCl : 60–140 mmol/den

Mg: 10–20 mmol/den

Ca : 18 mmol/den

Fosfát: 0,2–0,6 mmol/kg/den (dle energetického příjmu)

Poznámka: Roztoky glukosy s insulinem vedou k hypokalemii a ke snížení fosfátu v ECT. Dostatečný přívod K⁺ je předpokladem utilizace aminokyselin pro tvorbu proteinů. Mg²⁺ jsou nezbytné pro funkci Na⁺/K⁺-ATPasové pumpy. Při jeho depleci se nemůže upravit deplece K⁺ v buňkách.. Mg⁺ jsou nutné pro správnou funkci ATPasové pumpy bránící vstupu Ca²⁺ do buněk. Při depleci dochází k influxu Ca²⁺ do myocytů a nastává aktivace aktinu a myosinu.

Monitorování

Průběh parenterální výživy je nutno pečlivě monitorovat. Je třeba hlídat zvýšení teploty (možnoast infekce při centrálním katetru), hemodynamické údaje, příjem a výdej tekutin, kontrola hmotnosti (zvýšení hmotnosti o 0,25 kg/24 h znamená zvýšení objemu ECT a retenci

tekutin). Laboratorní kontrola zahrnuje kompletní krevní obraz, Na⁺, K⁺, Cl⁻, glukosa, kreatinin, urea, ALT, AST, ALP, bilirubin, dále Ca, fosfát, albumin, při podávání tukových emulzí triacylglyceroly, při zvýšených ztrátách GIT nebo poruchách absorpce též Mg, Zn, Cu, při zvýšených renálních ztrátách Mg.

Otázky

1. Dívka, 17 let, měří 170 cm a váží 45 kg. Její průměrný denní příjem energetických živin je 100 g sacharidů, 20 g proteinů a 15 g tuků.

Otázka: Jaký je její denní energetický příjem (v kcal, kJ) ?

Odpověď: Dívka konzumuje $100 \times 4 = 400$ kcal sacharidů. $20 \times 4 = 80$ kcal proteinů a $15 \times 9 = 135$ kcal tuků, celkem 615 kcal/den což je $615 \times 4,18 \text{ kJ} = 2570,7 \text{ kJ}$.

Otázka: Jaká je hodnota jejího bazálního metabolismu (Použij hrubý odhad tj. BMR = $24 \times \text{kg}$ hmotnosti)

Odpověď: $24 \times 45 = 2\,880 \text{ kcal/d} = 2\,880 \times 4,18 \text{ kJ} = 12\,038,4 \text{ kJ}$

2. Kwashiorkor se projevuje (zaškrtni správné odpovědi)
 - A. Zpomalením růstu
 - B. Ztrátou podkožního tuku
 - C. Hypoalbuminemií
 - D. Edémy

Odpověď: A, C, D (B–nesprávně: podkožní tuk zůstává zachován na rozdíl od marasmu)

3. Které vitaminy se vstřebávají ve střevě přímo (zaškrtni správné)
 - A. Listová kyselina
 - B. Biotin
 - C. B12
 - D. E
 - E. Panthotenová kyselina

Odpověď: A, B, E (nesprávně C: B12 se před tím navázat na "intrinsic factor" a D: vitamin E je vstřebáván spolu stuky v micelární formě)

Případy pacientů

Žena, 78 roků, žila už 2 roky v domově důchodců, v posledních měsících měla potíže s chozením, měla parestézie a necitlivost nohou. Neurolog diagnostikoval periferní neuropatii. Měl podezření na neadekvátní výživu, zejména co se týče přívodu vitaminů. Dal vyšetřit koncentraci transketolasy v erytrocytech.

Otázky:

1. Co způsobuje deficienci transketolázy ?

Odpověď: Jde o nedostatek vitamínu B1, (thiamindifosfát), který je kofaktorem enzymů při přeměně pyruvátu a 2-oxoglutarátu na acetyl-CoA (pyruvátdehydrogenasa) resp. sukcinyl-CoA (2-oxoglutarátdehydrogenasa) a dále v pentosovém cyklu, kde je koenzymem transketolasy (katalyzuje přenos 2-uhlíkové jednotky z xylulosa-5-fosfátu na ribosa-5-fosfát za vzniku sedoheptulosa-7-fosfátu.

2. Jaké projevy má deficience thiaminpyrofosfátu ?

Odpověď: Organismus obsahuje pouze 30ti-násobné množství denní potřeby. Při chronické podvýživě (nebo jednostranné výživě nebo při zvýšené potřebě jako u chronického abuzu alkoholu) dochází k periferní neuropatii, svalové slabosti, dále i demenci a srdečnímu selhání. Také to může být Wernickova encefalopatie (ztráta paměti, nystagmus) nebo berberi. Podáním B1 se situace velmi rychle lepší.

Jedním z laboratorních testů je porovnání utilizace glukosy před a po aplikaci thiamindifosfátu. Nejcitlivější metodou je stanovení katalytické koncentrace transketolasy v hemolyzátu. Zvýšení o 20% po aplikaci B1 je známkou deficience.

Muž, 68 roků, byl na parenterální výživě pro zjištěnou malnutrici. Byla u něho prokázána perniciózní anemie. Ošetřující lékař nařídil odebrat vzorek krve na stanovení hladiny B12.

Otázky:

1. Bylo toto vyšetření u pacienta nutné (jde o relativně nákladné vyšetření) ?

Odpověď: Nebylo. V tomto případě stačí sledovat krevní obraz a takto monitorovat suplementaci vitamínu B12. Je třeba však podrobněji vyšetřit žaludek pro možný výskyt karcinomu, který je u atrofické gastritidy provázené perniciózní anemií velmi suspektní, zvláště u seniorů ubývajících na hmotnosti.

GENOVÉ EXPRESE A METABOLICKÉ DŮSLEDKY JEJICH PORUCH

1. Význam nukleových kyselin

Hlavní význam nukleových kyselin z medicínského pohledu spočívá v tom, že jejich biochemická struktura je nositelem genů, avšak definice genu zůstává stále relativně vágním pojmem, gen = funkční transkripční jednotka. Od roku 1920 se postupně rozšiřuje pojem genom jako označení pro veškerou DNA daného organismu. Současné znalosti genomů nejsou rozsáhlé: lidská mitochondriální DNA - 1981, první bakteriální genom - 1995, první eukaryontní genom - 1996, první genom mnohobuněčného organismu - 1998, lidský genom - 6,5 % (1999). Jedná se o poznání v užším smyslu slova - především o poznání pouhé sekvence nukleotidů a případně rozlišení sekvencí kódujících mRNA. Mezi nejdůležitější organismy, jejichž genom byl kompletně sekvenován, patří *Escherichia coli*, *Helicobacter pylori*, *Bacillus subtilis*, *Mycoplasma genitalium*, *Saccharomyces cerevisiae*, HIV-1, HBV, HGV, Variola virus, *Treponema pallidum*, *Methanococcus jannaschii*, *Borrelia burgdorferi*, *Archeoglobus fulgidus*, *Haemophilus influenzae*, *Trypanosoma brucei*, *Plasmodium falciparum*, *Caenorhabditis elegans*.

Následující údaje, které se týkají lidského organismu, vystihují kvantitativní rozsah zkoumaného tématu: počet buněk $3,5 \cdot 10^{13}$, počet molekul bílkovin v 1 buňce 5.109, počet párů bazí v DNA = lidský genom = 3.109 bp, odhadovaný počet aktivních genů 100000 = 10 % genomu, počet cDNA v knihovnách - 30000, počet lokalizovaných genů - 15000, počet bílkovin - 10000. Mutace byly zjištěny u 750 genů se vztahem k patologii lidského organismu. Celkový počet dosud známých mutací v těchto genech je přibližně 15000.

Nukleové kyseliny tvoří skupinu různorodých molekul ve smyslu kvantitativním (počet nukleotidů), tak kvalitativním (odlišná biochemická struktura). Hlavní nukleové kyseliny, jejichž změny mohou vést k patologii, jsou: jaderná DNA (v somatických buňkách 46 molekul), mtDNA (heteroplasmie, několik desítek v jedné mitochondrii, několik tisíc v jedné buňce), pre-mRNA, mRNA, tRNA, rRNA, gRNA (guide RNA), rDNA (extrachromosomální ribosomální kruhová DNA, ERC).

2. Principy poruch genové exprese

Některé změny sekvence nukleotidů mohou vést ke změně sekvence aminokyselin v proteinu (někdy v důsledku takové změny protein nevzniká vůbec). Některé změny sekvence aminokyselin v proteinu mohou vést k tomu, že protein je částečně nebo zcela nefunkční (někdy může být důsledkem zvýšená aktivita proteinu, prodloužený nebo zkrácený biologický poločas). Některé změny v sekvenci nukleotidů mohou vést k nadměrné tvorbě plně funkčního proteinu (porucha regulace genové exprese nebo translace), jiné změny mohou vést k chybné modifikaci DNA methylací (např. imprinting a X-inaktivace) nebo k chybné potranslační modifikaci proteinů (např. acetylace histonů, fosforylace, N-glykosylace, O-glykosylace, karboxylace, methylace, hydroxylace). Poruchy na úrovni proteinů jsou tedy jak kvalitativního, tak kvantitativního rázu. Stejně kritérium je možno použít pro popis změn v sekvenci nukleotidů, které se mohou týkat somatických buněk, mohou vznikat de novo v zárodečných buňkách nebo buňkách somatických, nebo jsou děděny maternálně nebo paternálně. Změny v sekvenci nukleotidů, které mohou vést k onemocnění, se nazývají mutace a týkají se jaderné i mitochondriální DNA. Některé mutace DNA se netýkají genů pro bílkoviny, ale oblastí, které kódují např. transferové RNA (takto vzniká např. mitochondriální typ diabetu mellitu). Některé mutace mohou vést k poruchám opravných mechanismů nebo k poruchám sestřihového procesu. Mnoho změn sekvence nukleotidů je jen projevem variability, pak se nazývají polymorfismy. Tato variabilita se v lidském genomu vyskytuje s četností 1: 300 až 1:1000 nukleotidů. Projevem variability je také četný výskyt alternativních promotorů (např. dystrofin), alternativní polyadenylace (gen pro kalcitonin) a alternativního sestřihu (např. IgM, CD8). Genová exprese některých lidských genů je přednostně kontrolována na úrovni translace (např. receptor pro transferin, ferritin). Také na této úrovni mohou vznikat závažné poruchy.

Mutace je možno setřídít do několika skupin:

- a) bodové mutace. V případě substituce jednoho páru bazí jiným párem v rozhodujícím místě kodonového tripletu dochází k záměně aminokyseliny v proteinu.
- b) delece a inserce. V případě delece nebo inserce násobku tří párů bazí dochází k chybění nebo přidání příslušného počtu aminokyselin (dále je již sekvence aminokyselin normální). V případě, že počet chybějících nebo přidaných párů bazí není dělitelný třemi, dochází k posuvu čtecího rámce a za místem mutace ke vzniku sekvence aminokyselin, která nemá nic společného s normální verzí proteinu.
- c) substituce, bodová delece nebo bodová inserce v exonu mohou vést ke vzniku nového nebo k zániku stávajícího stop kodónu. Takovéto mutace v regulační oblasti jako je

sestřihové místo na pomezí exonů a intronů může vést k témuž, přičemž výsledkem jsou významné změny ve struktuře nebo v množství proteinu.

- d) nestabilní expanze opakovaných trinukleotidů.
- e) translokace sekvencí nukleotidů z jedné molekuly DNA na jinou.

3. Příklady metabolických důsledků mutací a polymorfismů

- a) různé mutace v jednom genu mohou způsobit odlišná onemocnění nebo různé klinické syndromy (gen CFTR: cystická fibróza a bilaterální absence vas deferens; gen receptoru pro androgen: syndrom testikulární feminizace, spinobulbární muskulární atrofie, karcinom prostaty)
- b) různé mutace v jednom genu mohou způsobit odlišný fenotyp téhož onemocnění (gen pro steroidní 21-hydroxylasu: solná porucha, virilizační forma bez solné poruchy a pozdní forma kongenitální adrenální hyperplazie)
- c) mutace v několika různých genech mohou způsobit vznik stejného onemocnění, stejného syndromu nebo stejného fenotypu (dědičná hluchota, kongenitální hypothyreosa, diabetes mellitus 2. typu)
- d) jedno onemocnění nebo stejný fenotyp mohou být způsobeny současným výskytem jedné nebo několika různých mutací v několika různých genech (ischemická choroba srdeční)
- e) znalost mutace nemusí jednoznačně predikovat, kterými symptomy bude pacient trpět, protože genetická onemocnění jsou často variabilní i v rámci jedné rodiny (neurofibromatosa typu 1)

3.1. Geny, jejichž mutace mohou způsobit kongenitální hypothyreosu

Centrální hypothyreosa

Isolovaná deficiencie TSH (gen TSH β)

PIT1 abnormality (gen pro transkripční faktor PIT1)

PROP1 defekt (gen pro transkripční faktor PROP1)

TRHR defekt (gen pro membránový receptor TRHR)

Primární hypothyreosa

Defekt transportu iodidu (gen pro NIS - sodíko-iodidový symporter)

Resistance na TSH (gen pro membránový receptor TSHR)

Thyreoglobulinový defekt (gen pro substrát thyreoglobulin)

Defekt thyreoidální peroxidasy (gen TPO pro enzym)

Pseudohypoparathyreosa typ 1a (gen pro transduktor GNAS1- guanine nucleotide-binding protein, α -stimulating polypeptide)

Periferní hypothyreosa

Rezistence na thyreoidální hormony (gen pro jaderný receptor TR β)

3.2. Geny a jejich mutace nebo polymorfismy, které se podílejí na vzniku ischemické choroby srdeční

Lipidový metabolismus

- apolipoprotein B thr71ile, arg3500gln
- apolipoprotein CIII T(-625)del, C(-482)T, T(-455)C, C1100T, T3206G
- apolipoprotein E E2/E3/E4 (polymorfismy v kodonech 112 a 158)
- protein pro transfer cholesterol esteru (CETP) ile405val, asp442gly
- lipoproteinová lipasa T(-93)G, T(-39)C, asp9asn, asn291ser, ser447term

- paraoxonasa gln192arg

Hypertenze (renin-angiotensin systém)

- angiotensin konvertující enzym Alu element inserce/delece v intronu 16
- angiotensin II receptor typ 1 A1166C
- angiotensinogen met235thr

Metabolismus homocysteinu

- cystathionin beta-synthasa ile278thr, gly307ser, ala114val, arg125gln, glu131asp, 68-bp inserce v exonu 8
- methyltetrahydrofolat reduktasa C6777T (ala/val), C692T

Thrombóza

- faktor V arg506gln (Leidenská mutace)
- fibrinogen β řetězec G(-455)A
- glykoprotein IIIa leu33pro

Leukocytární adheze

- ELAM G98T, ser128arg, leu554phe

3.3. Geny, jejichž mutace vedou ke vzniku onemocnění diabetes mellitus 2. typu

MODY-1, gen pro transkripční faktor HNF-4alfa (jaterní jaderný faktor 4)

MODY-2, gen pro glukokinasu

MODY-3, gen pro transkripční faktor HNF-1alfa

MODY-4, gen pro transkripční faktor IPF-1 (inzulínový promotorový faktor)

MODY-5, gen pro transkripční faktor HNF-1beta

DM - 2. typu, gen pro inzulínový receptor

MIDD, mitochondriální gen pro tRNA (mutace A3243G v mtDNA)

Příklady pacientů

Novorozenec s fokálními křečemi

Pacientka, stáří 4 dny, byla ponechána na novorozeneckém oddělení pro výskyt fokálních křečí. Biochemické vyšetření bylo opakovaně v normě. Při EEG byla zachycena epileptická aktivita. Dětský neurolog nález hodnotil jako benigní fokální novorozeneckou epilepsii. Rozsáhlou rodinnou anamnézou byl zjištěn v rodině častý výskyt epilepsie. U pacientky byla prokázána mutace 283insGT v KCNQ2.

Otázky:

1. Která biochemická vyšetření se míní?
2. Co je biochemickou podstatou hereditární epilepsie?
3. Co znamená zkratka 283insGT a k čemu taková mutace vede?

Odpovědi:

1. S-Ca, S-K, S-Na, P-glukosa, S-Mg, P-laktát, S-bilirubin, krevní plyny, pH krve, moč na ketolátky.
2. "Depolarizační válka" mezi draslíkovými a sodíkovými kanály, způsobená např. mutacemi v genech pro alfa podjednotku draslíkových kanálů, např. KCNQ2 (20q13.3), KCNQ1, KCNQ3, HERG (Ikr), KCNA1.

3. Inzerce dvou párů nukleotidů do tripletu (kodonu) 283, která vede k posuvu čtecího rámce (vznik polypeptidu s nesmyslnou sekvencí aminokyselin od místa mutace dále a vznik předčasného nebo pozdního stop kodonu).

Pacient s hypotenzí a v metabolickém rozvratu

Pacient, stáří 4 roky, byl přijat na dětské oddělení, protože ztratil vědomí. Při vyšetření byla zjištěna hypotenze, S-K 2,6 mmol/l, pH 7,8 a HCO₃ 52. Nordinův index byl 1,4. Byla zjištěna mutace P124L v CLC-Kb.

Otázky:

1. O jaké onemocnění by se mohlo jednat? A jaké by byly další laboratorní nálezy pro potvrzení diagnózy?
2. Co je to Nordinův index?
3. Co je příčinou tohoto syndromu?
4. Co je to CLC-Kb a co znamená zkratka P124L?

Odpovědi:

1. Bartterův syndrom. Opakovaně hypokalemická alkalosa, zvýšené solné ztráty močí, hyperreninémie a hyperaldosteronismus, hyperkalciurie, hyperprostaglandinurie, normomagnesemie.
2. Poměr U-kalcium/U-kreatinin (mmol/mmol).
3. Mutace v genech bílkovin pro transport chloridů nebo draslíku ve vnější nebo vnitřní membráně buněk ledvinných kanálků (např. v tlusté části vzestupného raménka Henleovy kličky): CLC-Kb, ROMK (ATP sensitive inwardly rectifying K⁺ channel), NKCC2 (bumetanid-sensitive Na-K-2Cl cotransporter).
4. Chloridový kanál CLC-Kb patří do rodiny asi 10 chloridových kanálů CLC (voltage-gated chloride channels). K jinému typu chloridových kanálů patří ELG (extracellular ligand-gated) a CFTR. Zkratka P124L znamená záměnu prolinu za leucin na 124. místě polypeptidového řetězce.

Pacientka s kolorektálním karcinomem

Pacientka, stáří 52 let, byla vyšetřena ambulantně pro únavu, subfebrilie, gastrointestinální potíže a opakovaný nález příměsí čerstvé krve a někdy hlenu ve stolici. Při rektoskopii byla provedena ze suspektního ložiska tumoru biopsie. Bioptický vzorek byl vyšetřen histologicky (adenokarcinom) a molekulárně geneticky na přítomnost mutací v K-ras genu (substituce v pozici 2 kodonu 12, GGT→GCT).

Otázky:

1. Která další laboratorní vyšetření by byla vhodná pro monitorování pacientky?
2. Co je to gen K-ras a jaký je jeho význam?
3. Jaký důsledek má uvedená bodová mutace?

Odpovědi:

1. Např. CEA, FW (sedimentace erytrocytů), proteiny akutní fáze.
2. Bodové mutace v K-ras genu jsou sdruženy s mnohastupňovým procesem rozvoje kolorektálního karcinomu. Genová exprese K-ras vede k syntéze p21ras proteinu, který je nezbytnou součástí buněčných signálních kaskád. Funkčně souvisí s cytoplazmatickými receptory. Bodové mutace v exonu 1 (kodony 12 a 13) a exonu 2 (kodon 61) K-ras genu inhibují GTPasovou aktivitu p21ras proteinu a tím přispívají k nekontrolované proliferaci a maligní transformaci střevních buněk.
3. Jedná se o bodovou substituci, která vede k záměně jedné aminokyseliny za jinou, v tomto případě Gly12Ala. Tato substituce aminokyselin vede ke snížení GTPasové aktivity RAS

proteinu (výsledkem je pomalá inaktivace signálu GTP-RAS, která vede k nadměrné buněčné odpovědi na receptorový signál).

Pacientka s jaterní cirhózou

Pacientka, stáří 55 let, navštívila svého rodinného lékaře pro trvalý pocit slabosti, letargii, ztrátu libida a bolesti kloubů. Před půl rokem u ní byl diagnostikován diabetes mellitus. Při fyzikálním vyšetření byla zjištěna hepatomegalie a hyperpigmentace kůže. Na EKG byly známky kardiomyopatie. Byla provedena biochemická vyšetření a biopsie jater. DNA byla izolována z periferních leukocytů a vyšetřena na přítomnost mutace C282Y v genu HLA-H (HFE).

Otázky:

1. Jaké biochemické testy by bylo vhodné vyšetřit? Jaké histologické vyšetření bylo provedeno na bioptickém preparátu?
2. O jaké onemocnění se jedná a jak se léčí?
3. Co je příčinou tohoto onemocnění?
4. Co znamená zkratka C282Y?

Odpovědi:

1. Sérum: AST 1,1 ukat/l, ALT 0,9 ukat/l, Fe 60 umol/l, ferritin 630 ug/l, transferin 2,57 g/l. Barvení preparátu na přítomnost železa.
2. Hereditární hemochromatóza. Léčí se řízenou venepunkcí a Desferalem.
3. Nadměrné ukládání iontů Fe do tkání. Příčinou jsou mutace v genu HFE dříve označovaného jako HLA-H. Proteinový produkt tohoto genu vykazuje homologii k proteinům HLA I. třídy, včetně vazby k β 2-mikroglobulinu. Za fyziologických podmínek obsazuje HFE protein receptory pro transferin na povrchu buněk a tím reguluje přechod komplexu iontů železa a transferinu do buňky. Mutace HFE genu C282Y v homozygotním uspořádání byla nalezena v 85% případů dědičné hemochromatózy. Druhý protein, jehož chybná nadprodukce je zřejmě spojena s projevy hemochromatózy, je produktem genu SFT (stimulator of Fe transport).
4. Záměna cysteinu za tyrosin v místě 282. kodonu příslušného polypeptidu.

Otázky

- 1) Při translaci mRNA o velikosti 2200 bp vznikl produkt o velikosti:
 - A. 1100 bp
 - B. 494 zbytků aminokyselin
 - C. 196 kDa
 - D. 985 zbytků aminokyselin

Odpověď:

- A. Špatně. Při translaci vzniká polypeptid.
 - B. Správně. Jedna aminokyselina je kódována tripletem. Část mRNA je tvořena regiony, které nepodléhají translaci (5'UTS průměrně 100 bp, 3'UTS průměrně 600 bp).
 - C. Špatně. Jedna aminokyselina se podílí přibližně 100 Da. Je nepravděpodobné, že by např. se sacharidy podílely na molekulové hmotnosti 75 %.
 - D. Špatně. Maximální počet aminokyselin v polypeptidu je teoreticky $2200:3 = 733$.
- 2) Tkáňově specifické editování mRNA je zajištěno převážně pomocí:

- A. mitochondriálně specifických tRNA
- B. eRNA
- C. gRNA
- D. ribosomální RNA (rRNA)

Odpověď:

- A. Špatně. Mitochondriální tRNA nemají vliv na editování.
- B. Špatně. Žádné eRNA nejsou.
- C. Správně. Specifické gRNA se podílejí na editování rozpoznávací, ukotvovací a polyU sekvencemi.
- D. Špatně. Ribosomální RNA mají jinou funkci při proteosyntéze.

3) Posuv čtecího rámce nemůže obvykle vést k této změně:

- A. ke vzniku nové čepičky - umístění čepičky na novém místě
- B. k prodloužení proteinu
- C. ke změně biologického poločasu proteinu
- D. ke vzniku nového stop kodonu

Odpověď:

- A. Správně. Posuv čtecího rámce vzniká až za signálním místem pro čepičku, obvykle nejdříve v prvním exonu.
- B. Špatně.
- C. Špatně.
- D. Špatně.

4) Která odpověď je nesprávná? Jaderná genová exprese je regulována:

- A. pomocí Tf
- B. v promotorové oblasti
- C. pomocí jaderných receptorů
- D. zpětnou vazbou podle množství mRNA v mitochondriích

Odpověď:

- A. Špatně. Transkripční faktory se běžně na regulaci genové exprese podílejí.
- B. Špatně. Naopak tato oblast je typická pro regulaci genové exprese.
- C. Špatně. Genová exprese je někdy regulována např. pomocí jaderných hormonálních receptorů.
- D. Správně. Množství mitochondriální mRNA nemá žádný vliv na regulaci jaderné genové exprese.