

616.94-08:612.112.3

ÚLOHA PLAZMATICKÉ BÍLKOVINY FIBRONEKTINU PŘI KOMPLEXNÍ TERAPII SEPSE

Kpt. MUDr. Miroslav PRŮCHA, kpt. RNDr. Tomáš VOTRUBA, CSc.
Vojenský ústav hygieny, epidemiologie a mikrobiologie, Praha
(náčelník: plk. MUDr. Vladimír Kotlář, CSc.)

V roce 1973 byl na povrchu normálních fibroblastů z buněčné kultury nalezen vysokomolekulární protein nazvaný fibronectin (1). Imunologicky identická bílkovina byla nalezena v plazmě již v roce 1948 Morrisonem a nazvána Cold insoluble globulin.

Jde o bílkovinu tvořenou dvěma identickými polypeptidickými řetězci spojenými disulfidickou vazbou, lokalizovanou v blízkosti NH_2 – nebo COOH – konce. Celá bílkovina má přibližnou relativní molekulovou hmotnost 450 000, polypeptidické řetězce mají relativní molekulovou hmotnost přibližně 220 000 (2). Mezi plazmatickým fibronectinem a fibronectinem izolovaným z amniotické tekutiny a tkáňových kultur byla prokázána strukturální heterogenita. Fibronectin v plazmě slouží také jako substrát pro plazmatickou transglutaminázu, enzym účastnící se zesíťování fibrinu. Nerozpustná insolubilní forma fibronektinu se nalézá na povrchu různých buněk – fibroblastů, endoteliálních a astroglálních buněk, ale také extracelulární matrix a pojivové tkáně (3, 4).

Fibronectin je základní komponentou kryoprecipitátu společně s faktorem VIII, XIII a fibrinogenem. Důležitou vlastností fibronektinu je vazba jeho domén k různým substrátům. Váže se na kolagen a želatinu, více na první bílkovinu. Protože želatina je vlastně náhodné klubko (random coil) kolagenu, znamená to, že fibronectin má afinitu vůči primárním

strukturám kolagenové struktury. Fibronectin získaný z plazmy má vůči kolagenu vyšší afinitu než materiál izolovaný z fibroblastových kultur (6). Bylo zjištěno, že nejde o interferenci bovinního fibronektinu z fetálního telecího séra přidávaného do buněčných kultur. Spíše se zdá, že důvodem je přítomnost látek kompetujících, jako např. kolagen produkováný fibroblasty. Bylo také zjištěno, že heparin vytváří za chladu precipitující komplex s fibronectinem nebo se směsí fibronectin-fibrinogen, ale nikoli se samotným fibrinogenem. Precipitaci je možno zabránit zvýšením pH, iontové síly nebo koncentrace heparinu (2).

Vazby na želatinu se využívá téměř výhradně k izolaci fibronektinu. Jednostupňovou afinitní chromatografií na imobilizované želatině a elucí chaotropním činidlem se získá poměrně velmi čistý preparát, jen nevýznamně kontaminovaný fibrinogenem a imunoglobulinem.

Stanovení fibronektinu se provádí výhradně imunochemicky, vhodně zvolenou metodikou. Vzhledem ke koncentraci bílkoviny v plazmě lze použít i jednoduchou radiální imunodifúzi. Nejčastěji se používá elektroimunodifúze a zákalové metody ve vodném prostředí (7, 8). Použití EIA a RIA je také popsáno, ale není důvodu pro použití tak citlivých metodik.

Normální koncentrace fibronektinu stanovené v plazmě jsou shrnuty v tabulce.

Autor a rok publikace	Střední hodnota mg/l	Směrodatná odchylka mg/l
Mosesson 1970	300	
Todd-Kulikowski 1981	460	77
Matsuda 1978	269	55
Gomez-Lechon 1985	288	43
van Helden 1985	285 ženy 340 muži	84 55
Ciugniez 1985	341 ženy 401 muži	103 111

Fibronektin je hlavní neimunitní opsonin v krvi, nezávislý na komplementovém systému, působící na makrofágy (3, 4). Má vysokou opsonizační aktivitu pro neutrofilní granulocyty (9). Je nezbytný pro adhezi trombocytů ke kolagenním povrchům a umožňuje na nich jejich uchycení.

Dvojí distribuce fibronektinu (ve tkáních insolubilní, v plazmě solubilní forma) činí z tohoto glykoproteinu důležitou strukturu v místech bezprostředního styku plazmy s tkání – speciálně na místech tkáňového poškození. Ke změnám hladiny plazmatického fibronektinu dochází za různých klinických situací ve smyslu snížení, nebo zvýšení. Je prokázána jeho deficeience u posttraumatických stavů, popálenin, v průběhu systémové sepse (5, 10, 11, 13). Snížení plazmatického fibronektinu, které je akcelerováno u septických nemocných, popálených a pacientů s polytraumaty, se vysvětluje konzumpční utilizací fibronektinu jako opsonizující molekuly, sekvestrací fibronektinu na místech cévního poškození nebo redukcí syntézy fibronektinu.

Přetrvávající deficeience u septických nemocných koreluje s multiorgánovým selháním, zvláště ARDS (adult respiratory distress syndrome) (10, 11, 12). Předpokládá se, že jednou z možných příčin multiorgánového selhání u pacientů v sepsi může být proniknutí mikroskopických částic infekčních agens, denaturovaných proteinů, bakteriálních produktů, fibrinových agregátů a antigen-protilátkových komplexů do cirkulace, kde ucpávají kapilární řečiště v plicích, játrech a dalších orgánech, a tak přispívají k jejich selhání. Za normální situace jsou tyto částice odstraněny RES, při sepsi je tato funkční schopnost RES významně snížena.

Fibronektin se jeví jako důležitý humorální modulator schopnosti fagocytovat nebakteriální partikule, jako fibrin-fibrinogenové komplexy, poškozená kolagenní vlákna, cytoskeletální zbytky, proteinové struktury. Saba aj. ve svých studiích prokázali přímou korelaci mezi hladinou plazmatického fibronektinu a funkcí RES (3). Na tomto podkladě je založeno využití kryoprecipitátu lidské plazmy k ovlivnění deficeience fibronektinu u septických chirurgických nemocných (13, 14, 15). Longitudinální studie prokázaly elevaci opsonizující aktivity, normalizaci periferní

vaskulární odpovědi na ischemické stimuly, stejně jako zlepšení rovnováhy mezi ventilací-perfúzí v plicích po infúzi čerstvého kryoprecipitátu (12). Skutečnost, že deficeience plazmatického fibronektinu zvyšuje stupeň plicního cévního poškození, vedla k názoru, že fibronektin se uplatňuje jako přídatný faktor u vzniku a vývoje ARDS. Práce Sorii aj. spojují těžké formy deficeience fibronektinu s plicním selháním, jiné práce prokazují u popálených po počáteční těžké depleci plazmatického fibronektinu vznik sekundární deplece, která se klinicky váže na přítomnost sepse. Tato sekundární deplece v některých případech předchází vzniku sepse. Práce švédských autorů popisují sníženou hladinu fibronektinu u septických nemocných, která se ale při odpovídající antibiotické léčbě normalizovala do 2 týdnů (16). Neztotožňují se s názorem, že nízká hladina fibronektinu u těchto nemocných je dostatečným důvodem k terapii fibronektinem, nicméně může být prospěšná jako adjuvantní terapie při konvenční antibiotické léčbě.

Přes některé rozporné zprávy o výsledcích podání fibronektinu ve formě kryoprecipitátu kritickým nemocným v sepsi se tento prostředek jeví zajímavým v možnosti ovlivnění imunitního stavu těchto nemocných a zaslouží si podrobnější zkoumání. Purifikovaný lidský fibronektin lze připravit z plazmatického kryoprecipitátu. Prospěšnost podání této formy jako prostředku imunoterapie je v současné době předmětem výzkumu.

Souhrn

Autoři předkládají přehled základních poznatků o fibronektinu, glykoproteinu s mnohostrannou funkcí. Fibronektin je hlavní neimunitní opsonin v krvi s úzkým vztahem k funkční schopnosti RES. Ke snížení koncentrace plazmatického fibronektinu dochází u sepsí, polytraumat, popálenin. Ve formě kryoprecipitátu je fibronektin podáván u těchto nemocných k ovlivnění jejich imunitního stavu. Je jedním z prostředků imunoterapie, které se užívají v léčbě těchto stavů.

Literatura

1. HYNES, R. O.: Alteration of cell-surface proteins by viral transformation and proteolysis. *Proc. Natl. Acad. Sci. (Wash.)*, 1973, 70, s. 3 170–3 174.
2. MOSESSON, M. W.: Structure of human plasma cold-insoluble globulin and the mechanism of its precipitation in the cold with heparin or fibrin-fibrinogen complexes. *Am. N. Y. Acad. Sci.* 1978, s. 11–30.
3. SABA, T. M. – JAFFE, E.: Plasma fibronectin (opsonic glycoprotein): its synthesis by vascular endothelial cells and role in cardiopulmonary integrity after trauma are related to reticuloendothelial function. *Am. J. Med.*, 68, 1980, s. 577–594.
4. YAMADA, K. M. – OLDEN, K.: Fibronectin – adhesive glycoproteins of cell surface and blood. *Nature*, 275, 1978, s. 179–184.

5. MOSHER, D. R. – WILLIAMS, E. M.: Fibronectin concentration is decreased in plasma of severely ill patients with disseminated intravascular coagulation. *J. Lab. Clin. Med.*, 91, 1978, s. 729–735.
6. ENGVALL, E. – RUOSLAHTI, E.: Binding of soluble form of fibroblast surface protein, fibronectin, to collagen. *Int. J. Cancer*, 20, 1977, s. 1–5.
7. AUIGNEZ, P. H. – BIESBROUCK, M. – VAN HOOREN, J.: A simple and rapid nephelometric procedure for fibronectin. *Am. Clin. Biochem.*, 22, 1985, s. 514–518.
8. VAN HELDEN, W. C. H. et al.: Rate-Nephelometric determination of fibronectin in plasma. *Clin. Chem.*, 31, 1985, s. 182–184.
9. JARSTRAND, C. – AHLGREN, T. – BERGHEM, L.: Fibronectin increases motility, phagocytosis and NBT (nitroblue tetrazolium) – reduction of granulocytes. *J. Clin. Lab. Immunol.*, 1982, č. 8, s. 59–63.
10. BRODIN, B. et al.: Fibronectin in the treatment of septicemia – a preliminary report (abstract No 1131): In: Erlangen, E. R., Kiel, J. W., Düsseldorf, M. Z. Seventh World Congress of Anaesthesiologists. International World Congress Series. No 533. Amsterdam: Excerpta Medica, 1980, 504 s.
11. LANSER, M. E. et al.: Opsonic glycoprotein (plasma fibronectin) levels after burn injury. Relationship to extent of burn and development of sepsis. *Ann. Surg.* 192, 1980, s. 776–782.
12. SCOVILL, W. A. et al.: Cardiovascular hemodynamics after opsonic alpha-2-surface binding glycoprotein therapy in injured patients. *Surgery*, 86, 1979, s. 284–293.
13. SCOVILL, W. A. et al.: Opsonic alpha-2-surface binding glycoprotein therapy during sepsis. *Ann. Surg.*, 1978, 188, s. 521–530.
14. STEVENS, L. E. et al.: Fibronectin in severe sepsis. *Surgery, Gynecology, Obstetrics*, 162, 1986, s. 222–228.
15. SABA, T. M. et al.: Reversal of fibronectin and opsonic deficiency in patients. *Ann. Surg.*, 199, 1984, č. 1, s. 87–97.
16. AHLGREN, T.: Role of Fibronectin and Glycoaminoglycans in cellular Host Defense Against Bacterial Infections. [Disertační práce]. Sweden, Karolinska Institut, 1985.

Klíčová slova: Fibronektin; Sepse; Imunoterapie.