

FIBRINOGEN

ROMAN KOTLÍN a JAN E. DYR

Ústav hematologie a krevní transfuze, U nemocnice 1, 128 20 Praha 2

kotlinr@centrum.cz

Došlo 11.10.07, přijato 5.12.07.

Klíčová slova: fibrinogen, fibrin, koagulace krve

Obsah

1. Úvod
2. Struktura fibrinogenu
3. Biosyntéza fibrinogenu
4. Degradace fibrinogenu
5. Úloha fibrinogenu v organismu
6. Závěr

1. Úvod

Jednou z nejdůležitějších molekul účastnících se koagulace krve je fibrinogen. Fibrinogenu je věnována značná pozornost odborné veřejnosti, neboť fibrinogen, fibrin, či jeho degradační produkty hrají důležitou roli v hemostáze, zánětu, agregaci krevních destiček, angiogenezi, obraně proti virovým infekcím, vasodilataci, vasokonstrikci, buněčné proliferaci, migraci buněk či procesu hojení¹. Důležitou roli hraje však i v patologii některých závažných chorob jako např. dysfibrinogenémie, hypofibrinogenémie, kardiovaskulární choroby, porucha ukládání fibrinogenu v hepatocytech (fibrinogen storage disease), trombózy, plicní embolie a jiné.

V roce 1687 M. Malpighi pozoroval strukturní bázi krevního gelu (výraz gel není úplně přesný při popisu struktury fibrinu, nejpřesněji vystihuje strukturu fibrinu výraz klot, který však nemá v češtině ekvivalent) jako bílou fibrilární látku, kterou nazývá fibrea – touto látkou byl fibrin – polymer vytvořený působením α -trombinu na fibrinogen². W. Hewson (1770) a později R. Virchow (1847) předpokládali, že se tento polymer vyskytuje jako rozkouskovaná látka v plasmě před vytvořením gelu. Existenci fibrinogenu, jakožto prekurzoru fibrinu, poprvé předpověděl v roce 1859 Deni de Commercy, který také dal fibrinogenu jeho název². V roce 1876 se podařilo O. Hammarstenovi poprvé izolovat fibrinogen z koňské plasmy³. Izolace lidského fibrinogenu se podařila až v roce 1946 E. J. Cohnovi⁴. Od té doby je fibrinogen předmětem intenziv-

ního studia. V padesátých a následujících letech byl popsán proces aktivace koagulační kaskády, fyzikální a chemické vlastnosti fibrinogenu, struktura fibrinogenu či proces jeho přeměny na fibrin. Mnoho zajímavého však stále zůstává neodkryto. V tomto článku se pokusíme shrnout dosavadní znalosti o molekule fibrinogenu – především lidského, neboť aktualizovaný přehled ohledně této molekuly v české odborné literatuře stále chybí.

2. Struktura fibrinogenu

Fibrinogen je fibrilární glykoprotein cirkulující v krvi o fyziologické koncentraci 2–4,2 g l⁻¹. Základní fyzikálně-chemické charakteristiky fibrinogenu jsou shrnuty v tab. I. Molekula fibrinogenu je protáhlá, 47,5 nm dlouhá⁵ a 5 až 6 nm široká⁵, o hmotnosti 340 kDa. Fibrinogen je sestaven ze tří párů různých polypeptidových řetězců označovaných $\text{A}\alpha$, $\text{B}\beta$ a γ (označovaného také jako γ_A)⁶. Molekula je bohatě posttranslačně modifikována, četné jsou různé polymorfismy v jednotlivých řetězcích a uplatňují se i rozličné alternativní sestřihy mRNA. Lidský fibrinogen se tedy vyskytuje v milionech neidentických molekul⁷. Nejběžnější forma $\text{A}\alpha$ řetězce je tvořena 610 aminokyselinovými zbytky⁸ a má molekulovou hmotnost 66,5 kDa, forma $\text{B}\beta$ řetězce je tvořena 461 aminokyselinovými zbytky⁸ a má molekulovou hmotnost 52 kDa, a γ řetězce je tvořena 411 aminokyselinovými zbytky⁸ a má molekulovou hmotnost 46,5 kDa. Alternativním sestřihem mRNA, nesoucí informaci o primární struktuře $\text{A}\alpha$ řetězce, vzniká $\text{A}\alpha_E$ řetězec, který nese odlišných 14 aminokyselinových zbytků na C-konci řetězce a unikátní C-terminální rozšíření o 236 aminokyselinových zbytků⁹. Je složen z 847 aminokyselinových zbytků a má molekulovou hmotnost 93 kDa. Molekula fibrinogenu sestavená ze dvou molekul isoformy

Tabulka I
Fyzikálně-chemické vlastnosti fibrinogenu

Parametr	Hodnota
Molekulová hmotnost, kDa	340
Molekulární objem, nm ³	$3,7 \cdot 10^3$
Sedimentační koeficient $S_{20,w}$, s	$7,8 \cdot 10^{-13}$
Parciální specifický objem, cm ³ g ⁻¹	0,72
Absorpční koeficient $A_{280, 1\%}$	15,1
Stupeň hydratace, g/g proteinu)	6
Zastoupení α -helixů, %	33
Isoelektrický bod	5,5

α_E má molekulovou hmotnost 420 kDa a jiné vlastnosti než běžná forma fibrinogenu. Tato forma tvoří 1 až 3 % dominantní formy lidského fibrinogenu, vyskytuje se například podkmenem obratlovců, je vysoce konzervativní a nazývá se fibrinogen-420 (cit.¹⁰).

Alternativním sestřihem mRNA nesoucí informaci o primární struktuře γ řetězce vzniká γ' řetězec¹¹, který nese jiné 4 aminokyselinové zbytky na C-konci řetězce a unikátní C-terminální rozšíření o 16 aminokyselinových zbytků. Má tedy celkem 427 aminokyselinových zbytků a molekulovou hmotnost 48,2 kDa (cit.¹²). Molekula fibrinogenu sestavená z isoformy γ a γ' tvoří cca 15 % dominantní formy lidského fibrinogenu¹³. Na isoformu γ' se váže α -trombin a faktor XIII, fibrinová síť má jiné mechanické vlastnosti, je odolnější fibrinolýze a zvýšená koncentrace v krvi je rizikovým faktorem kardiovaskulárních chorob¹⁴.

Jednotlivé řetězce fibrinogenu jsou kódovány geny označovanými *FGA* ($A\alpha$ řetězec), *FGB* ($B\beta$ řetězec) a *FGG* (γ řetězec), které zaujímají přibližně 50 kb regionu chromosomu 4q31.3–4q32.1 (cit.¹⁵). Geny jsou uspořádány v pořadí *FGG*, *FGA* a *FGB*, gen *FGB* v opačné transkripční orientaci¹⁵. Gen *FGA* je sestaven z 6 exonů, gen *FGB* je sestaven z 8 exonů a gen *FGG* je sestaven z 10 exonů¹⁵. Primární struktury jednotlivých řetězců jsou homologní, což předznamenává, že mají stejného předka. Například všechny tři geny mají konzervovány dvě hranice mezi introny a exony, další je stejná pro $B\beta$ a γ řetězec. Předpokládá se, že evoluce tří různých řetězců začala zhruba před miliardou let, kdy se původní gen zduplikoval a vytvořil se $A\alpha$ gen a pre $B\beta$ - γ gen. Před 500 miliony let se pre $B\beta$ - γ gen také zduplikoval a nechal vzniknout genu pro $B\beta$ a genu pro γ řetězec⁶.

V jednotlivých genech se uplatňuje značný polymorfismus, který má za následek, že existují tisíce variant molekuly fibrinogenu lišící se pouze v jednom aminokyselinovém zbytku⁷. Nejznámějšími polymorfismy jsou *FGA* 6534 A/G, kdy alela G je rizikovým faktorem hluboké žilní trombózy¹⁶, *FGB* 455 G/A, kde alela A je opět rizikovým faktorem hluboké žilní trombózy¹⁷ či polymorfismus *FGG* 10034 C/T ovlivňující zastoupení γ' (cit.¹⁸).

Molekula fibrinogenu je bohatě posttranslačně modifikována. Fibrinogen je glykosylován na asparagylu 364 $B\beta$ řetězce¹⁹ a asparagylu 52 γ řetězce²⁰. Sacharidová část je biantennární *N*-acetylglukosaminového typu s proměnlivým zastoupením *N*-acetylneuraminové kyseliny²¹. Nejčastější je sializace jedné z antén. Sacharidová složka hraje důležitou roli v sekreci a rozpustnosti fibrinogenu a vzájemné interakci fibrinových monomerů. Vysoký stupeň sializace, který se objevuje u některých onemocnění, má za následek poruchy v polymeraci fibrinu a vzniku získané dysfibrinogenémie²².

$A\alpha$ řetězec fibrinogenu je fosforylován na serinovém zbytku²³ 3 a serinovém zbytku²⁴ 345. Fetální fibrinogen (fibrinogen novorozenců a malých dětí) je dvakrát více fosforylován na serinovém zbytku 3 než fibrinogen dospělých²⁵. Fosforylace serinového zbytku 3 ovlivňuje interak-

ci mezi α -trombinem a $A\alpha$ řetězcem (zvyšuje vazebné interakce mezi α -trombinem a $A\alpha$ řetězcem)²⁶. Neovlivňuje však rychlost přeměny fibrinogenu na fibrin²⁷. Fosforylace serinového zbytku 345 pravděpodobně ovlivňuje schopnost faktoru XIIIa kovalentně prokřížovat jednotlivé molekuly fibrinu²⁸. Zjistilo se, že po chirurgickém zákroku byla zvýšena fosforylace fibrinogenu, která měla za následek vznik tlustších fibrinových vláken a citlivost na plasmin (enzym štěpící fibrinovou síť *in vivo*) se snížila o 50 % (cit.²⁹).

V γ' řetězci fibrinogenu nalézáme také dva sulfotyrosylové zbytky³⁰, a to na pozicích γ 418 a γ 422. Tyto sulfotyrosyly jsou důležité pro vysokoafinitní vazbu α -trombinu³¹.

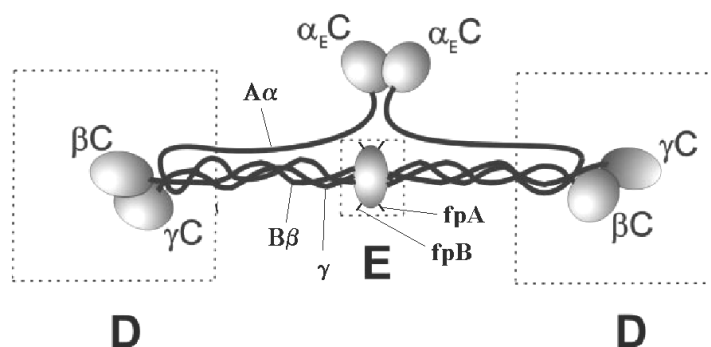
Všech šest řetězců fibrinogenu je pomocí kovalentních a nekovalentních interakcí sestaveno v jednu molekulu. V molekule fibrinogenu nalézáme tři významné globulární domény, které jsou patrné i v elektronovém mikroskopu⁵. V centrální doméně, označované jako E, je soustředěno všech šest *N*-koncových částí jednotlivých řetězců fibrinogenu. Nalézáme zde fibrinopeptidy A (*N*-koncové části $A\alpha$ řetězců, $A\alpha$ 1-16) a fibrinopeptidy B (*N*-koncové části $B\beta$ řetězců, $B\beta$ 1-14). Fibrinopeptidy hrají důležitou roli v procesu přeměny fibrinogenu na fibrin, neboť zabráňují samovolné polymeraci fibrinogenu. Působením serinové proteasy α -trombinu (EC 3.4.21.5) dojde k postupnému uvolnění fibrinopeptidů A a B a odkrytí polymeračního místa.

Ve dvou symetrických koncových (distálních) doménách, označovaných jako D, jsou soustředěny *C*-koncové části vždy tří jednotlivých řetězců fibrinogenu. D domény hrají důležitou roli v polymeraci fibrinu, při kovalentní stabilizaci fibrinu faktorem XIIIa, interakcích s dalšími proteiny, či fibrinolýze. Jsou zde soustředěny γ C (aminokyselinové zbytky γ 151-411) a β C (aminokyselinové zbytky $B\beta$ 207-461) domény, které hrají významnou roli v polymeraci fibrinu a jeho stabilizaci. Centrální doména je s koncovými doménami spojena dvojité vinutou (coiled-coil) oblastí, která je tvořena převážně α helikálními strukturami. Pomocí mikroskopie atomárních sil (AFM) bylo zjištěno, že dvojité vinutá struktura je schopna se částečně reverzibilně rozvinout, což molekule fibrinogenu dodává dobré mechanické vlastnosti³².

C-koncová část $A\alpha$ řetězce (aminokyselinové zbytky $A\alpha$ 221-610) tvoří globulární α C doménu, která je velice pohyblivá a v molekule fibrinogenu je směřována zpět k centrální doméně³³. Doména α C hraje důležitou roli při agregaci protofibril, ve struktuře výsledné fibrinové sítě³⁴, vazbě plasminogenu³⁵, tkáňového aktivátoru plasminogenu (tPA)³⁵ či fibronektinu³⁶. Schematický obrázek molekuly fibrinogenu je na obr. 1.

V molekule fibrinogenu se nachází celkem 29 disulfidových vazeb³⁷, které společně s nekovalentními interakcemi drží molekulu fibrinogenu pohromadě (tab. II).

Fibrinogen má několik vazebných míst. V molekule fibrinogenu nacházíme tři vazebná místa s vysokou afinitou pro vápenaté ionty³⁸. Jedno je lokalizováno na centrální

Obr. 1. Schematické znázornění molekuly fibrinogenu (upraveno z cit.⁸³)

Tabulka II
Mezifetěžcové a vnitrořetězcové disulfidové vazby
v molekule fibrinogenu

Vazba	Počet v molekule
Aα47-Aα47	1
Aα461-Aα491	2
Aα64-γ49	2
Aα180-γ165	2
Aα55-Bβ95	2
Aα68-Bβ106	2
Aα184-Bβ223	2
Bβ231-Bβ316	2
Bβ241-Bβ270	2
Bβ424-Bβ437	2
Bβ110-γ45	2
Bβ227-γ161	2
γ34-γ35	2
γ179-γ208	2
γ352-γ365	2

ní doméně³⁹ a dvě na distálních doménách⁴⁰ (γ311-336). Další 11–20 vazebných míst pro vápenaté ionty má nízkou afinitu (sem patří i sialové kyseliny cukerných částí molekuly)⁴¹. V centrální doméně nalézáme také dvě vazebná místa pro koncové domény jiných dvou molekul fibrin(ogen)u (Aα17-19) (cit.⁴²). Na koncové doméně je vazebné místo pro interakci s centrální doménou⁴³ situováno na řetězci γ374-396. Fibrinogen má dále vazebné místo s nízkou afinitou pro α-trombin⁴⁴ (Aα27-50, Bβ15-42), vazebné místo s vysokou afinitou pro α-trombin⁴⁴ se nalézá na C-konci γ řetězce (γ408-427). V molekule fibrinogenu dále nalézáme vazebné místo pro plasminogen⁴⁵ (Aα 148-160), tkáňový aktivátor plasminogenu⁴⁵ (γ312-324, A α148-160) a krevní destičky⁴⁶ (γ400-411). V molekule fibrinogenu byla také identifikována vazebná místa pro

adhezivní integriny endoteliálních a jiných buněk⁴⁷ (Aα 95-97, Aα572-574, γ400-411 – RGDS sekvence), vazebné místo pro ICAM-1⁴⁸ (γ117-133), VE-cadherin⁴⁹ (Bβ15-42) a další vazebná místa (např. pro integrin α_Mβ₂, fibronektin, inhibitor aktivátoru plasminogenu typ 1, faktor XIIIa či bakterie).

3. Biosyntéza fibrinogenu

Fibrinogen je syntetizován převážně v jaterních parenchymatických buňkách a sekretován do krevního oběhu, kde má poločas 3,36 dnů⁵⁰. V malé míře je syntetizován i v dalších tkáních, převážně během zánětu, infekce, či poranění. Proces syntézy fibrinogenu se dá rozdělit do několika po sobě jdoucích kroků.

Prvním krokem je syntéza mRNA pro jednotlivé řetězce fibrinogenu. Bylo zjištěno, že hladina jednotlivých mRNA je za normálních i zánětlivých podmínek téměř stejná⁵¹. Promotory jednotlivých genů nejsou homologní, avšak mají mnoho společných rysů⁵². Všechny tři geny mají CAAT vazebný motiv a CTGGGAA motiv, které jsou důležité pro regulaci exprese genů pomocí interleukinu 6 (IL6). Promotory Aα a Bβ řetězců mají tkáňově specifický motiv pro jaterní nukleární faktor 1 (HNF-1), který je nezbytný pro genovou expresi v jaterní tkáni. Promotor γ řetězce má tři CTGGGAA sekvence důležité pro regulaci transkripce během akutní odpovědi na zánět. Promotory Aα a Bβ řetězců mají také sekvence odpovědné za regulaci exprese pomocí glukokortikoidů⁵³.

Hladina fibrinogenu v normálním stavu organismu je udržována v rozmezí 2–4,2 g l⁻¹. Doposud není jasné, zda okamžitá koncentrace cirkulujícího fibrinogenu ovlivňuje jeho produkci. Bylo zjištěno, že degradační produkty fibrinu mohou nepřímo ovlivňovat transkripci genů kódujících jednotlivé řetězce stimulací produkce IL6 (cit.⁵³). Jaterní sekrece fibrinogenu je kontrolována především pomocí HNF-1. Během poranění či zánětu dochází vlivem IL6 a glukokortikoidů k zvýšení produkce fibrinogenu játry a produkci fibrinogenu i jinými tkáněmi. Bez zajímavosti není ani fakt, že hladina fibrinogenu se zvyšuje během

těhotenství⁵⁴. Zvýšením exprese jednoho z řetězců fibrinogenu dojde ke zvýšení exprese i dalších dvou a zvýšené produkci fibrinogenu⁵⁵. Jakým způsobem dochází k regulaci zvýšeným množstvím jednoho z řetězců není známo. Je pouze patrné, že regulace exprese všech tří genů je úzce propojena a koordinována. U myši jež nebyly schopny produkovat mRNA pro $\alpha\alpha$ řetězec bylo zjištěno, že exprese ostatních dvou genů nebyla narušena⁵⁶.

Makrofágy a monocyty produkují během zánětlivé reakce interleukin 6 (IL6), který ovlivňuje míru exprese mnoha proteinů včetně fibrinogenu. Jakým způsobem ovlivňuje produkci $\alpha\alpha$ a $\beta\beta$ řetězců, není doposud jasné. Je známo pouze to, že regulace se účastní promotorová sekvence CTGGGAA. Na krysím modelu bylo ukázáno, že regulace exprese γ řetězce pomocí IL6 probíhá přes STAT3 (signální transduktor a aktivátor transkripce 3)⁵⁷. Navázáním IL6 či glukokortikoidů na receptor dojde k fosforylaci STAT3 pomocí Jak (Janus kinasa, EC 2.7.10.2) a Tyk2 (Tyrosin kinasa 2, EC 2.7.10.2) kinas. Fosforylovaný STAT3 dimerizuje a prochází do jádra, kde nasedá na promotor a zesiluje transkripci⁵⁸.

Jednotlivé řetězce fibrinogenu vznikají na hrubém endoplasmatickém retikulu a ihned jsou translokovány do lumen endoplasmatického retikula. Jednotlivé řetězce jsou syntetizovány i se signálními sekvencemi, které jsou během translokace limitovanou proteolýzou odštěpeny. Translokace jednotlivých řetězců fibrinogenu probíhá ko-translačně pomocí membránového translokačního kanálu Sec61 (proteinový transportní protein Sec61). Při tomto způsobu translokace je signální sekvence vznikajícího peptidu na ribosomu rozpoznávána pomocí SRP (částice rozpoznávající signál, komplex šesti různých peptidů a 7SL RNA). SRP je navázána na signální část peptidu a ribosom. Tento komplex se váže na SRP receptor, který je v blízkosti kanálu. Poté se SRP uvolní a ribosom se váže na translokační kanál. Energie potřebná pro translokaci se získává z hydrolýzy GTP během translace⁵⁹. Po průchodu do lumen endoplasmatického retikula se dokončuje sbalování jednotlivých řetězců, čemuž napomáhají molekulární chaperony GRP78 (glukosou regulovaný protein 78) a calnexin⁶⁰.

Sestavení molekuly fibrinogenu je postupný proces. Nejprve se vytvoří meziprodukty $\beta\beta\gamma$ a $\alpha\alpha\gamma$. Vytvoření těchto meziproduktů je umožněno díky hydrofobním interakcím, zprostředkovaným převážně aminokyselinovými zbytky isoleucinu, valinu a leucinu v koncových částech dvojité vinuté oblasti. Meziprodukt $\alpha\alpha\beta\beta$ se netvoří. Následuje asociace s třetím řetězcem a vytvořením „polomolekuly“ fibrinogenu $\alpha\alpha\beta\beta\gamma$ (hlavní linií biosyntézy je připojení $\alpha\alpha$ řetězce k $\beta\beta\gamma$ heterodimeru). Konečným krokem je propojení dvou polomolekul v *N*-koncové oblasti a vytvoření dimerního hexameru⁶¹ ($\alpha\alpha\beta\beta\gamma$)₂. Správnému sestavení molekuly fibrinogenu napomáhají molekulární chaperony GRP78, GRP94 (glukosou regulovaný protein 94) a calnexin⁶². Vytvoření disulfidových vazeb napomáhá protein disulfid-isomerasa (EC 5.3.4.1). Vytvořený dimerní hexamer je následně fosforylován a glykosy-

lován. Sacharidová složka vzniká v dolicholfosfátovém cyklu. Poté je fibrinogen transportován do Golgiho aparátu, kde je dokončena glykosylace sializací a je sekretován do krevního řečiště. Jedna kompletní molekula fibrinogenu je sestavena za necelých 5 minut^{62,63}. Za fyziologických podmínek jsou sekretovány pouze kompletně sestavené molekuly fibrinogenu.

4. Degradace fibrinogenu

Nadbytečné řetězce a heterodimery fibrinogenu, nesprávně sestavené molekuly a část správně sestavených molekul fibrinogenu (např. u HepG2 buněk⁶⁴ cca 33 %) je degradována. K degradaci jsou využívány různé buněčné mechanismy. Poločasy jednotlivých řetězců fibrinogenu v endoplasmatickém retikulu jsou poměrně krátké, $\alpha\alpha$ a $\beta\beta$ řetězce mají poločas 1,5 hodiny, γ řetězce mají poločas více než 3 hodiny⁶⁵. $\beta\beta$ a γ řetězce jsou degradovány v proteasomech, $\alpha\alpha$ řetězce jsou degradovány v proteasomech a lysosomech, $\alpha\alpha\gamma$ heterodimery jsou degradovány v lysosomech⁶⁶.

Jednotlivé nevyužité řetězce $\alpha\alpha$, $\beta\beta$ a γ jsou transportovány za pomoci Sec61p (součást proteinového translokačního kanálu Sec61) z endoplasmatického retikula do cytosolu, kde jsou označeny ubiquitinem a proteolyticky degradovány v proteasomech⁶⁷. Nejpomaleji jsou degradovány γ řetězce, čímž vzniká v hepatocytech nadbytek γ řetězců⁶⁷.

Heterodimery a část $\alpha\alpha$ řetězců jsou transportovány z endoplasmatického retikula a kyselou hydrolýzou degradovány v lysosomech⁶⁶. Proč je část $\alpha\alpha$ řetězců degradována v lysosomech, není jasné.

5. Úloha fibrinogenu v organismu

Fibrinogen, fibrin a jejich degradační produkty mají několik důležitých úloh v organismu. Nejdůležitější a zároveň nejznámější úlohou fibrinogenu je vytvoření fibrinové sítě během zástavy krvácení. Krevní koagulace je sled přísně regulovaných aktivačních reakcí, jejichž výsledkem je tvorba trombinu, který katalyzuje přeměnu fibrinogenu na fibrinový monomer. Fibrinový monomer následně polymeruje a tvoří síť, která zpevňuje primární hemostatickou zátku vytvořenou krevními destičkami.

Fibrinogen hraje důležitou roli při agregaci krevních destiček. Zde vystupuje fibrinogen jako adhezivní protein, který vážou aktivované krevní destičky přes svůj aktivovaný transmembránový receptor glykoprotein IIb/IIIa (GPIIb/IIIa)⁴⁶. Zachycení aktivovaných krevních destiček na imobilizovaném fibrin(ogen)u je důležitým prvkem hemostázy. Vazba fibrinogenu na GPIIb/IIIa spouští také endocytosu plasmatického fibrinogenu do krevních destiček a jeho uložení v α granulích⁶. Snížené množství, nebo nefunkční GPIIb/IIIa, má za následek vznik krvácivého onemocnění – Glanzmannovy trombastenie⁶⁸. Naopak

velice aktivní GPIIb/IIIa dává vzniknout trombům, které mohou mít vážné následky pro organismus.

Angiogeneze je proces, jehož výsledkem je tvorba nových cév. Růstový faktor fibroblastů 2 (FGF-2) zvyšuje proliferaci endotheliálních buněk, stimuluje migraci a podporuje angiogenezi⁶⁹. Je produkován ve velké míře cévní stěnou v blízkosti poranění a váže se specificky a s vysokou aktivitou na fibrinogen a fibrin, který potencuje schopnost FGF-2 stimulovat proliferaci endotheliálních buněk⁷⁰. Na druhou stranu fragment E inhibuje angiogenezi^{71,72}.

Bylo zjištěno, že degradační produkty fibrin(ogen)u mají přímé četné vasoaktivní účinky zahrnující vazokonstrikci, vasodilataci a zvýšenou cévní permeabilitu⁷³. Fibrinogen se může vázat přímo na ICAM-1 (intracelulární adhezivní molekula 1) endothelií cév a spustit tak signalizační kaskádu vedoucí k syntéze vasoaktivních mediátorů⁷⁴. Má tedy nepřímé vasoaktivní účinky.

Mnoho typů buněk je schopno specificky adherovat a migrovat po fibrinové matrix. Mezi tyto buňky patří např. endotheliální buňky, fibroblasty, makrofágy, buňky hladkého svalstva, keratinocyty či nádorové buňky. Vazba endotheliálních buněk^{75,76} a fibroblastů⁷⁷ je uskutečňována přes integriny ($\alpha_v\beta_3$, $\alpha_v\beta_5$, $\alpha_5\beta_1$) – váží se na RGDS sekvenční na molekule fibrinogenu a neintegrinové receptory (VE-Cadherin, ICAM-1, P-selektin, GPIIb)^{78,79}. Během hojení poranění slouží fibrinová síť jako lešení pro buňky migrující do místa poranění, které zajišťují reepitalizaci, vaskularizaci, tvorbu kolagenu a tím obnovu poraněného místa a jeho zahojení⁸⁰. Po infiltraci fibrinové matrix endotheliálními buňkami, začínají indukovat fibrinolýzu a generovat volné radikály. Fibroblasty migrují do poraněného místa po 5 dnech od poranění. Působením fibrinu, PDGF (destičkový růstový faktor), TGF- β (transformující růstový faktor β), fibronektinu proliferují a nahrazují fibrin kolagenem typu I (cit.⁸¹).

Fibrinopeptidy B byly popsány jako chemotaktické látky stimulující migraci neutrofilů a fibroblastů⁸². Tím stimulují zánětlivou odpověď. Účinnost této stimulace je srovnatelná s chemotaktickými účinky leukotrienu E a růstového faktoru odvozeného od destiček (PDGF)⁸². Fragmenty D a E (distální a centrální části molekuly uvolněné fibrinolýzou) stimulují migraci monocytů⁸². Fibrinogen reguluje aktivitu mikrofágů a monocytů a tím hraje významnou roli v udržování rovnováhy mezi zánětem v ráně a opravou tkáně.

Na molekule fibrin(ogen)u se nachází několik sekvenčních schopných vázat se na leukocytární integrin $\alpha_M\beta_2$, který je především na povrchu neutrofilů a monocytů⁸³. To umožňuje adhezi monocytů a neutrofilů, a akumulaci imunitní odpovědi v blízkosti poranění.

Fibrinogen hraje roli i při nádorových onemocněních. Některé studie ukázaly, že fibrin(ogen) podporuje adhezi a přežití nádorových buněk v plicích⁸⁴. Bylo také prokázáno, že plicní epitel je schopen produkovat fibrinogen⁸⁵.

6. Závěr

Fibrinogen má v organismu mnoho funkcí, které jsou nezbytné pro přežití. Jako součást koagulační kaskády se účastní procesu zástavy krvácení. Je důležitým faktorem ovlivňujícím zánětlivou odpověď, hojení ran, angiogenezi či migraci a proliferaci buněk. Může se však stát i faktorem ohrožujícím život. Věda nám o fibrinogenu přinesla mnoho důležitých poznatků, ale mnoho práce nás stále ještě čeká. Doposud nejsou jasné veškeré úlohy a procesy, kterých se fibrinogen v organismu účastní. Poznání všech dějů, jichž se fibrinogen účastní, prospěje nejen biochemii, ale především pacientům, kterým by nové informace mohly pomoci v léčení závažných chorob, a to buď přímo spojených s fibrinogenem (trombózy, krvácivé stavy, kardiovaskulární choroby), nebo chorob, u nichž bychom nějakou roli fibrinogenu ani nepředpokládali.

Tato práce vznikla za finanční podpory grantu GA AV ČR, číslo KAN200670701.

LITERATURA

- Herrick S., Blanc-Brude O., Gray A., Laurent G.: *Int. J. Biochem. Cell Biol.* 31, 741 (1999).
- Blombäck B.: *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 936, 1 (2001).
- Hammersten O.: *Zeitschr. Physiol. Chem.* 28, 98 (1899).
- Cohn E. J., Strong L. E., Hughes W. L., Mulford D. J., Ashworth J. N., Melin M., Taylor H. L.: *J. Am. Chem. Soc.* 68, 459 (1946).
- Hall C. E., Slayter H. S.: *J. Biophys. Biochem. Cytol.* 5, 11 (1959).
- Weisel J. W.: *Adv. Protein Chem.* 70, 247 (2005).
- Henschen-Edman A. H., v knize: *Methods in Protein Structure Analysis*. (Atassi M. Z., Appella E., ed.), s. 435. Plenum Press, New York 1995.
- Henschen A.: *Arkiv Kemi* 22, 397 (1964).
- Fu Y., Weissbach L., Plant P. W., Oddoux C., Cao Y., Liang T. J., Roy S. N., Redman C. M., Grieninger G.: *Biochemistry* 31, 11968 (1992).
- Fu Y., Grieninger G.: *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 91, 2625 (1994).
- Chung D. W., Davie E. W.: *Biochemistry* 23, 4232 (1984).
- Wolfenstein-Todel C., Mosesson M. W.: *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 77, 5069 (1980).
- Siebenlist K. R., Mosesson M. W., Hernandez I., Bush L. A., Di Cera E., Shainoff J. R., Di Orio J. P., Stojanovic L.: *Blood* 106, 2730 (2005).
- Mannila M. N., Lovely R. S., Kazmierczak S. C., Eriksson P., Samnegård A., Farrell D. H., Hamsten A., Silveira A.: *J. Thromb. Haemost.* 5, 776 (2007).
- Kant J. A., Fornace A. J., Saxe D., Simon M. I.,

- McBride O. W., Crabtree G. R.: *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 185, 1 (1985).
16. Carter A. M., Catto A. J., Kohler H. P., Ariëns R. A., Stickland M. H., Grant P. J.: *Blood* 96, 1177 (2000).
 17. Renner W., Cichocki L., Forjanics A., Köppel H., Gasser R., Pilger E.: *Eur. J. Clin. Invest.* 32, 755 (2002).
 18. Grünbacher G., Weger W., Marx-Neuhold E., Pilger E., Köppel H., Wascher T., März W., Renner W.: *Thromb. Res.* 2007, doi: 10.1016/j.thromres.2007.03.007, staženo 5.11.2007.
 19. Iwanaga S., Blombäck B., Gröndahl N. J., Hessel B., Wallén P.: *Biochim. Biophys. Acta* 160, 280 (1968).
 20. Watt K. W., Takagi T., Doolittle R. F.: *Biochemistry* 18, 68 (1979).
 21. Townsend R. R., Hilliker E., Li Y.-T., Laine R. A., Bell W. R., Lee Y. C.: *J. Biol. Chem.* 257, 9704 (1982).
 22. Narvaiza M. J., Fernández J., Cuesta B., Páramo J. A., Rocha E.: *Ric. Clin. Lab.* 16, 563 (1986).
 23. Blombäck B., Blombäck M., Edman P., Hessel B.: *Biochim. Biophys. Acta* 115, 371 (1966).
 24. Seydewitz H. H., Kaiser C., Rothweiler H., Witt I.: *Thromb. Res.* 33, 487 (1984).
 25. Witt I., Müller H.: *Biochim. Biophys. Acta* 221, 402 (1970).
 26. Maurer M. C., Peng J.-L., An S. S., Trosset J.-Y., Henschen-Edman A., Scheraga H. A.: *Biochemistry* 37, 5888 (1998).
 27. Witt I., Hasler K.: *Biochim. Biophys. Acta* 271, 357 (1972).
 28. Seydewitz H. H., Kaiser C., Rothweiler H., Witt I.: *Thromb. Res.* 33, 487 (1984).
 29. Martin S. C., Ekman P., Forsberg P. O., Ersmark H.: *Thromb. Res.* 68, 467 (1992).
 30. Henschen A. A.: *Blood Coag. Fibrinol.* 4, 822 (1993).
 31. Meh D. A., Siebenlist K. R., Brennan S. O., Holyst T., Mosesson M. W.: *Thromb. Haemost.* 85, 470 (2001).
 32. Brown A. E., Litvinov R. I., Discher D. E., Weisel J. W.: *Biophys. J.* 92, L39 (2007).
 33. Veklich Y. I., Gorkun O. V., Medved L. V., Nieuwenhuizen W., Weisel J. W.: *J. Biol. Chem.* 268, 13577 (1993).
 34. Gorkun O. V., Veklich Y. I., Medved L. V., Henschen A. H., Weisel J. W.: *Biochemistry* 33, 6986 (1994).
 35. Tsurupa G., Medved L. V.: *Biochemistry* 40, 801 (2001).
 36. Mokogonenko E., Tsurupa G., Ingham K., Medved L.: *Biochemistry* 41, 7907 (2002).
 37. Henschen A., McDonagh J., v knize: *Blood Coagulation*. (Zwaal R. F. A., Hemker H. C., ed.), s. 171. Elsevier Science, Amsterdam 1986.
 38. Nieuwenhuizen W., Haverkate F.: *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 408, 92 (1983).
 39. Nieuwenhuizen W., Vermond A., Hermans J.: *Thromb. Res.* 31, 81 (1983).
 40. Dang C. V., Ebert R. F., Bell W. R.: *J. Biol. Chem.* 260, 9713 (1985).
 41. Dang C. V., Shin C. K., Bell W. R., Nagaswami C., Weisel J. W.: *J. Biol. Chem.* 264, 15104 (1989).
 42. Olexa S. A., Budzynski A. Z.: *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 77, 1374 (1980).
 43. Pratt K. P., Côté H. C. F., Chung D. W., Stenkamp R. E., Davie E. W.: *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 94, 7176 (1997).
 44. Meh D. A., Siebenlist K. R., Mosesson M. W.: *J. Biol. Chem.* 271, 23121 (1996).
 45. Medved L., Nieuwenhuizen W.: *Thromb. Haemost.* 89, 409 (2003).
 46. Andrieux A., Hudry-Clergeon G., Ryckewaert J.-J., Chapel A., Ginsberg M. H., Plow E. F., Marguerie G.: *J. Biol. Chem.* 264, 9258 (1989).
 47. Smith R. A., Rooney M. M., Lord S. T., Mosesson M. W., Gartner T. K.: *Thromb. Haemost.* 84, 819 (2000).
 48. Altieri D. C., Duperray A., Plescia J., Thornton G. B., Languino L. R.: *J. Biol. Chem.* 270, 696 (1995).
 49. Bach T. L., Barsigian C., Chalupowicz D. G., Busler D., Yaen C. H., Grant D. S., Martinez J.: *Exp. Cell Res.* 238, 324 (1998).
 50. Takeda Y.: *J. Clin. Invest.* 45, 103 (1966).
 51. Crabtree G. R., Kant J. A.: *J. Biol. Chem.* 257, 7277 (1982).
 52. Fowlkes D. M., Mullis N. T., Comeau C. M., Crabtree G. R.: *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 81, 2313 (1984).
 53. Fuller G. M., Zhang Z.: *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 936, 469 (2001).
 54. Hellgren M.: *Semin. Thromb. Hemost.* 29, 125 (2003).
 55. Roy S., Overton O., Redman C.: *J. Biol. Chem.* 269, 691 (1994).
 56. Suh T. T., Holmback K., Jensen N. J., Daugherty C. C., Small K., Simon D. I., Potter S., Degen J. L.: *Genes Dev.* 9, 2020 (1995).
 57. Zhang Z., Fuentes N. L., Fuller G. M.: *J. Biol. Chem.* 270, 24287 (1995).
 58. Horvath C. M.: <http://stke.sciencemag.org/cgi/content/abstract/2004/260/tr9>, staženo 5.10.07.
 59. Osborne A. R., Rapoport T. A., van der Berg B.: *Annu. Rev. Cell. Dev. Biol.* 21, 529 (2005).
 60. Roy S., Sun A., Redman C.: *J. Biol. Chem.* 271, 24544 (1996).
 61. Redman C. M., Xia H.: *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 936, 480 (2001).
 62. Yu S., Sher B., Kudryk B., Redman C. M.: *J. Biol. Chem.* 258, 13407 (1983).
 63. Kudryk B., Okada M., Redman C. M., Blombäck B.: *Eur. J. Biochem.* 125, 673 (1982).
 64. Yu S., Sher B., Kudryk B., Redman C. M.: *J. Biol. Chem.* 259, 10574 (1984).
 65. Xia H., Redman C.: *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 261, 590 (1999).
 66. Roy S., Yu S., Banerjee D., Overton O., Mukhopadhyay G., Oddoux C., Grienering G., Redman C.: *J. Biol. Chem.* 267, 23151 (1992).
 67. Xia H., Redman C. M.: *Arch. Biochem. Biophys.* 390, 137 (2001).

68. Nurden A. T., George J. N., v knize: *Hemostasis and Thrombosis*. (Colman R. W., Marder V. J., Clowes A. W., George J. N., Goldhaber S. Z., ed.), s. 987. Lippincott, Philadelphia 2006.
69. Carmeliet P.: *Nat. Med.* 9, 653 (2003).
70. Laurens N., Koolwijk P., De Maat M. P. M.: *J. Thromb. Haemost.* 4, 932 (2006).
71. Brown N. J., Staton C. A., Rodgers G. R., Corke K. P., Underwood J. C., Lewis C. E.: *Br. J. Cancer* 86, 1813 (2002).
72. Staton C. A., Brown N. J., Rodgers G. R., Corke K. P., Tazzyman S., Underwood J. C., Lewis C. E.: *Blood* 103, 601 (2004).
73. Francis C. W., Bunce L. A., Sporn L. A.: *Blood Cells* 19, 291 (1996).
74. Hicks R. C. J., Golledge J., Mir-Hassaine R., Powell J. T.: *Nature* 379, 818 (1996).
75. Sahni A., Francis C. W.: *Blood* 104, 3635 (2004).
76. Suehiro K., Gailit J., Plow E. F.: *J. Biol. Chem.* 272, 5360 (1997).
77. Farrell D. H., Mondhiry H. A.: *Biochemistry* 36, 1123 (1997).
78. Martinez J., Ferber A., Bach T. L., Yaen C. H.: *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 936, 386 (2001).
79. Ugarova T. P., Yakubenko V. P.: *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 936, 368 (2001).
80. Greiling D., Clark R. A. F.: *J. Cell Sci.* 110, 861 (1997).
81. Clark R. A.: *Am. J. Med. Sci.* 306, 42 (1993).
82. Skogen W. F., Senior R. M., Griffin G. L., Wilner G. N.: *Blood* 71, 1475 (1988).
83. Lishko V. K., Podolnikova N. P., Yakubenko V. P., Yakovlev S., Medved L., Yadav S. P., Ugarova T. P.: *J. Biol. Chem.* 279, 44897 (2004).
84. Palumbo J. S., Kombrinck K. W., Drew A. F., Grimes T. S., Kiser J. H., Degen J. L., Bugge T. H.: *Blood* 96, 3302 (2000).
85. Guadiz G., Sporn L. A., Simpson-Haidaris P. J.: *Blood* 90, 2644 (1997).

R. Kotlín and J. E. Dyr (*Institute of Haematology and Blood Transfusion, Prague*): **Fibrinogen**

Fibrinogen, a protein from blood plasma, plays a crucial role in blood coagulation, inflammation and wound healing platelet aggregation. Attention is paid to fibrinogen because it is involved in many physiological and pathological processes, some of which may be life-threatening. This review summarizes recent findings about the fascinating macromolecules. The reader finds biochemical, physicochemical and physiological data about fibrinogen structure, biosynthesis and degradation and becomes acquainted with the fibrinogen-to-fibrin pathway.

VŠCHT Praha přijme odborného/vědeckého pracovníka/ci pro laboratoř termické analýzy.

Požadavky:

- vysokoškolské vzdělání v oboru přírodních věd, nejlépe zaměření na anorganickou chemii, zájem o další vzdělávání.

Nabízíme:

- příjemné prostředí a zajímavou práci v moderně vybavené laboratoři,
- příležitost k osobnímu rozvoji,
- pracoviště v blízkosti metra,
- zaměstnanecké výhody (šest týdnů dovolené, pružnou pracovní dobu, příspěvek na stravování, rekreaci, penzijní připojištění, návštěvu kulturních zařízení).

Nástup: dle dohody

Kontakt: Ing. Anežka Veselá, tel. 220 443 839, anezka.vesela@vscht.cz