

**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ**  
**ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ**  
**ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ**  
**ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΣΠΟΥΔΩΝ ΕΠΙΛΟΓΗΣ**  
**ΙΑΤΡΙΚΗ ΒΙΟΧΗΜΕΙΑ**

**ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ**

**«ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΤΗΣ ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗΣ ΤΟΥ  
ΑΜΥΛΟΕΙΔΟΥΣ –Α ΤΟΥ ΟΡΟΥ ΩΣ ΔΕΙΚΤΗ ΤΗΣ  
ΑΝΤΙΔΡΑΣΗΣ ΟΞΕΙΑΣ ΦΑΣΗΣ ΣΕ ΣΥΓΚΡΙΣΗ ΜΕ ΤΗΝ  
ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗ ΤΗΣ C-ΑΝΤΙΔΡΩΣΑΣ ΠΡΩΤΕΪΝΗΣ»**



**Επιβλέποντες Καθηγητές**  
**ΓΕΡΜΕΝΗΣ ΑΝΑΣΤΑΣΙΟΣ**  
**ΝΤΑΛΕΚΟΣ ΓΕΩΡΓΙΟΣ**  
**ΣΙΜΟΣ ΓΕΩΡΓΙΟΣ**

**ANNA KYRIAZH**

**ΛΑΡΙΣΑ 2004**

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ  
ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΣΠΟΥΔΩΝ ΕΠΙΛΟΓΗΣ  
ΙΑΤΡΙΚΗΣ ΒΙΟΧΗΜΕΙΑΣ  
Ημερομ. 30.06.2004  
Αρ.θ. Πρωτ. 2663

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ  
ΒΙΒΛΙΟΘΗΚΗ

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ  
ΥΠΗΡΕΣΙΑ ΒΙΒΛΙΟΘΗΚΗΣ & ΠΛΗΡΟΦΟΡΗΣΗΣ  
ΕΙΔΙΚΗ ΣΥΛΛΟΓΗ «ΓΚΡΙΖΑ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ»

Αριθ. Εισ.: 7971/1

Ημερ. Εισ.: 14-01-2010

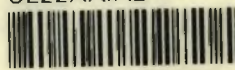
Δωρεά:

Ταξιδιωτικός Κωδικός: ΠΤ-ΠΣΕ-ΙΒ

2004

ΚΥΡ

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ  
ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ



004000083732

## ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

<i>Ευχαριστίες</i>	<i>σελ</i>	<i>3</i>
<i>Περίληψη</i>	<i>σελ</i>	<i>4</i>
<i>Αντίδραση οξείας φάσης</i>	<i>σελ</i>	<i>5</i>
<i>C-αντιδρώσα πρωτεΐνη</i>	<i>σελ</i>	<i>10</i>
<i>Αμιλοειδές Α του ορού</i>	<i>σελ</i>	<i>20</i>
<i>Υλικά - μεθοδολογία</i>	<i>σελ</i>	<i>31</i>
<i>Αποτελέσματα</i>	<i>σελ</i>	<i>33</i>
<i>Συζήτηση</i>	<i>σελ</i>	<i>35</i>
<i>Περίληψη στην αγγλική γλώσσα</i>	<i>σελ</i>	<i>37</i>
<i>Βιβλιογραφία</i>	<i>σελ</i>	<i>38</i>

Για την πολύτιμη βοήθειά τους στην εκπόνηση της πτυχιακής εργασίας

**Ευχαριστώ θερμά τα μέλη της τριμελούς επιτροπής**

**κ . ΓΕΡΜΕΝΗ ΑΝΑΣΤΑΣΙΟ** , Αναπληρωτή Καθηγητή Ανοσολογίας

**κ . ΝΤΑΛΕΚΟ ΓΕΩΡΓΙΟ** , Αναπληρωτή Καθηγητή Παθολογίας

**κ . ΣΙΜΟ ΓΕΩΡΓΙΟ** , Επίκουρο Καθηγητή Βιοχημείας

**ευχαριστώ επίσης ,**

τον **κ. ΝΙΚΟΥΛΗ ΔΗΜΗΤΡΙΟ** , Βιοχημικό του Ανοσολογικού εργαστηρίου του Π.Π.Γ.Ν.Α. και το προσωπικό του ίδιου εργαστηρίου.

## ΠΕΡΙΛΗΨΗ

**ΣΚΟΠΟΣ.** Η μέτρηση και η αξιολόγηση της συγκέντρωσης του αμυλοειδούς A του ορού ως δείκτη της αντίδρασης οξείας φάσης σε σύγκριση με την συγκέντρωση της C-αντιδρώσας πρωτεΐνης.

**ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΣ.** Ο προσδιορισμός της συγκέντρωσης της C-αντιδρώσας πρωτεΐνης και του αμυλοειδούς A του ορού πραγματοποιήθηκε σε 336 τυχαία δείγματα, τα οποία προέρχονταν από ασθενείς του Πανεπιστημιακού Γενικού Νοσοκομείου της Λάρισας. Για την αξιολόγηση των αποτελεσμάτων δεν ελήφθη υπόψη ο χρόνος λήψης του δείγματος από τον κάθε ασθενή. Οι μετρήσεις και των δύο παραμέτρων (CRP & SAA) έγιναν με την μέθοδο της ανοσονεφελομετρίας με την χρήση του νεφελόμετρου BN II της εταιρείας DADE-BEHRING. Όλα τα απαιτούμενα αντιδραστήρια, αντι-οροί, οροί βαθμονόμησης και οροί ελέγχου προμηθεύτηκαν από την ίδια εταιρεία.

**ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ.** Από τα 336 ζεύγη τιμών που μετρήθηκαν βρέθηκαν 55 δείγματα με CRP και SAA άνω των φυσιολογικών ορίων, δηλαδή CRP > 8 mg/L και SAA > 6,4 mg/L. Επίσης βρέθηκαν επιπλέον 49 δείγματα με αυξημένες τιμές του SAA. Τα υπόλοιπα δείγματα κυμαίνονταν σε φυσιολογικά επίπεδα. Στα 55 δείγματα έγινε συσχέτιση (regression analysis), μεταξύ των δυο παραμέτρων, με την βοήθεια του στατιστικού προγράμματος SPSS έκδ.10.0, και αποδείχτηκε ότι δεν υπήρχε στατιστικά σημαντική συσχέτιση μεταξύ τους ( $R^2 = 0,1106$ )

**ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑ.** Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι υπάρχει μικρή συσχέτιση μεταξύ των δύο παραμέτρων και δεν τίθεται θέμα εκλογής της μιας ή της άλλης. Εφόσον πρόκειται για δυο διαφορετικούς δείκτες της αντίδρασης οξείας φάσης θα πρέπει να μετρούνται και να αξιολογούνται και οι δυο έτσι ώστε να παρέχεται μια πιο ολοκληρωμένη εικόνα της οξείας φάσης και της πορείας της.

## **ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ**

## ΑΝΤΙΔΡΑΣΗ ΟΞΕΙΑΣ ΦΑΣΗΣ

### ΠΡΩΤΕΪΝΕΣ ΟΞΕΙΑΣ ΦΑΣΗΣ

Αντίδραση οξείας φάσης χαρακτηρίζεται η ταχεία μη ειδική, γενικευμένη και πολύπλοκη αντίδραση του οργανισμού που αποσκοπεί στη διατήρηση της ομοιόστασης του, όταν αυτή διαταράσσεται από ποικίλου τύπου ιστικές βλάβες. Στις βλάβες που συνοδεύονται από την εμφάνιση οξείας φάσης, περιλαμβάνονται παθήσεις που προκαλούνται από φυσικά ή χημικά αίτια, από λοιμώξεις, από ανοσολογικές αντιδράσεις και γενικότερα από φλεγμονώδεις εξεργασίες. Ειδικότερα, οι διαταραχές της οξείας φάσης χαρακτηρίζουν, κυρίως τις μικροβιακές λοιμώξεις, τα εγκαύματα και τις πολλαπλές κακώσεις και, κατά δεύτερο λόγο, λανθάνουσες λοιμώξεις, ορισμένα αυτοάνοσα νοσήματα και νεοπλάσματα.

Υπεύθυνη για την εκδήλωση των φαινομένων της οξείας φάσης είναι η δράση της IL-1, της IL-6 και του TNF. Οι κυτταροκίνες αυτές παράγονται στον τόπο της φλεγμονής κυρίως από τα μονοπύρρηνα φαγοκύτταρα που διεγείρονται από τους LPS (λιποπολυσακχαρίτες) αλλά και από άλλους χημικούς και ανοσολογικούς παράγοντες. Οι περισσότερες κυτταροκίνες έχουν πολλαπλές πηγές, πολλαπλούς στόχους και πολλαπλές λειτουργίες. Οι κυτταροκίνες λειτουργούν και ως καταρράκτης και ως δίκτυο στην υποκίνηση της παραγωγής πρωτεϊνών οξείας φάσης. Πολλές κυτταροκίνες μπορούν να ρυθμίσουν την παραγωγή άλλων κυτταροκινών και υποδοχέων κυτταροκίνης. Για παράδειγμα ο TNF-α είναι ο κύριος διεγέρτης της παραγωγής ιντερλευκίνης-1 στους ασθενείς με ρευματοειδή αρθρίτιδα, η ιντερλευκίνη-1β μπορεί να αυξάνει ή να μειώνει την έκφραση των υποδοχέων της, η ανταπόκριση της ιντερλευκίνης-6 στην έκχυση τερεβινθίνης στα ποντίκια απαιτεί ιντερλευκίνη-1β, και η ιντερλευκίνη-6 εμποδίζει την έκφραση του TNF-α. Επιπλέον, οι κυτταροκίνες είναι τμήματα ενός μεγάλου, σύνθετου σηματοδοτικού δικτύου. Πιθανότατα τα κύτταρα εκτίθενται σπάνια σε μια και μόνο κυτταροκίνη. Αντί αυτού, οι συνδυασμοί μεσολαβητών μεταβιβάζουν τη σχετική βιολογική πληροφορία. Οι συνδυασμοί κυτταροκινών έχει βρεθεί ότι έχουν πρόσθετα, ανασταλτικά ή επαγωγικά αποτελέσματα. Έτσι, η επαγωγή της C-αντιδρώσας πρωτεΐνης (CRP) και του αμυλοειδούς A του ορού (SAA) σε ορισμένα πρότυπα απαιτεί και ιντερλευκίνη-6 ή TNF-α και η επαγωγή του ινωδογόνου από την ιντερλευκίνη-6 εμποδίζεται από την ιντερλευκίνη-1, τον παράγοντα TNF-α και από το μετασηματισμένο παράγοντα

αύξησης β. Η ιντερλευκίνη-6 ενισχύει το αποτέλεσμα της ιντερλευκίνης-16 στη μείωση της έκφρασης του ανταγωνιστή-υποδοχέα ιντερλευκίνης-1 και η ιντερλευκίνη-4 εμποδίζει την επαγωγή ορισμένων πρωτεϊνών οξείας-φάσης από άλλες κυτταροκίνες. Οι διαλυτοί υποδοχείς της ιντερλευκίνης-6 αυξάνουν το αποτέλεσμα του συμπλόκου, ενώ άλλοι διαλυτοί υποδοχείς, όπως αυτοί του TNF-α και της ιντερλευκίνης -1 δρουν ανασταλτικά. Τα γλυκοκορτικοειδή γενικά ενισχύουν τα διεγερτικά αποτελέσματα των κυτταροκινών στην παραγωγή πρωτεϊνών οξείας φάσης, ενώ η ινσουλίνη μειώνει τα αποτελέσματά τους στην παραγωγή ορισμένων πρωτεϊνών οξείας-φάσης.

Η έκφραση των γονιδίων των πρωτεϊνών οξείας-φάσης ρυθμίζεται κυρίως στο μεταγραφικό επίπεδο, αλλά συμμετέχουν επίσης και οι μετά-μεταγραφικοί μηχανισμοί. Οι μετά-μεταγραφικές αλλαγές στη γλυκοζυλίωση των πρωτεϊνών του πλάσματος κατά τη διάρκεια καταστάσεων φλεγμονής περιλαμβάνουν μεταβολές στη διακλάδωση ολιγοσακχαριτών, αυξημένη σιαλίωση των οροβλεννοειδών και μειωμένη γαλακτοζυλίωση της IgG. Οι αλλαγές στη διακλάδωση ολιγοσακχαρίτη προκαλούνται από κυτταροκίνες που σχετίζονται με τη φλεγμονή, ανεξάρτητα από τα αποτελέσματά τους στην παραγωγή πρωτεϊνών οξείας-φάσης.

Οι κυτταροκίνες που παράγονται κατά την διάρκεια και συμμετέχουν στις φλεγμονώδεις διαδικασίες είναι οι κύριοι διεγέρτες της παραγωγής των «πρωτεϊνών οξείας φάσης».

Οι πρωτεΐνες οξείας φάσης (Π.Ο.Φ.) είναι μια δομικά και λειτουργικά ετερογενής ομάδα πρωτεϊνών του ορού, η συγκέντρωση των οποίων μεταβάλλεται κατά την αντίδραση οξείας φάσης.

Οι Π.Ο.Φ. επιτελούν ποικίλες λειτουργίες :

A) συμμετέχουν στην αναγνώριση και απομάκρυνση των παθογόνων μικροοργανισμών

B) περιορίζουν την βλάβη των ιστών με πρωτεολυτικά ένζυμα και μεταβολίτες του οξυγόνου, που παράγονται κατά τις οξείες φλεγμονώδεις αντιδράσεις

Γ) συμμετέχουν στην αποκατάσταση της φυσιολογικής δομής των ιστών, που υπέστησαν βλάβη.

Οι πρωτεΐνες οξείας φάσης δεν έχουν ειδικότητα. Αυτό σημαίνει ότι η αύξησή τους μπορεί να προκληθεί από ποικίλους παράγοντες. Η αύξηση της συγκέντρωσής τους γίνεται πολύ γρήγορα, πολλές φορές πριν ακόμα ολοκληρωθεί η κλινική και εργαστηριακή εικόνα της παθολογικής κατάστασης που την προκάλεσε. Ένα άλλο



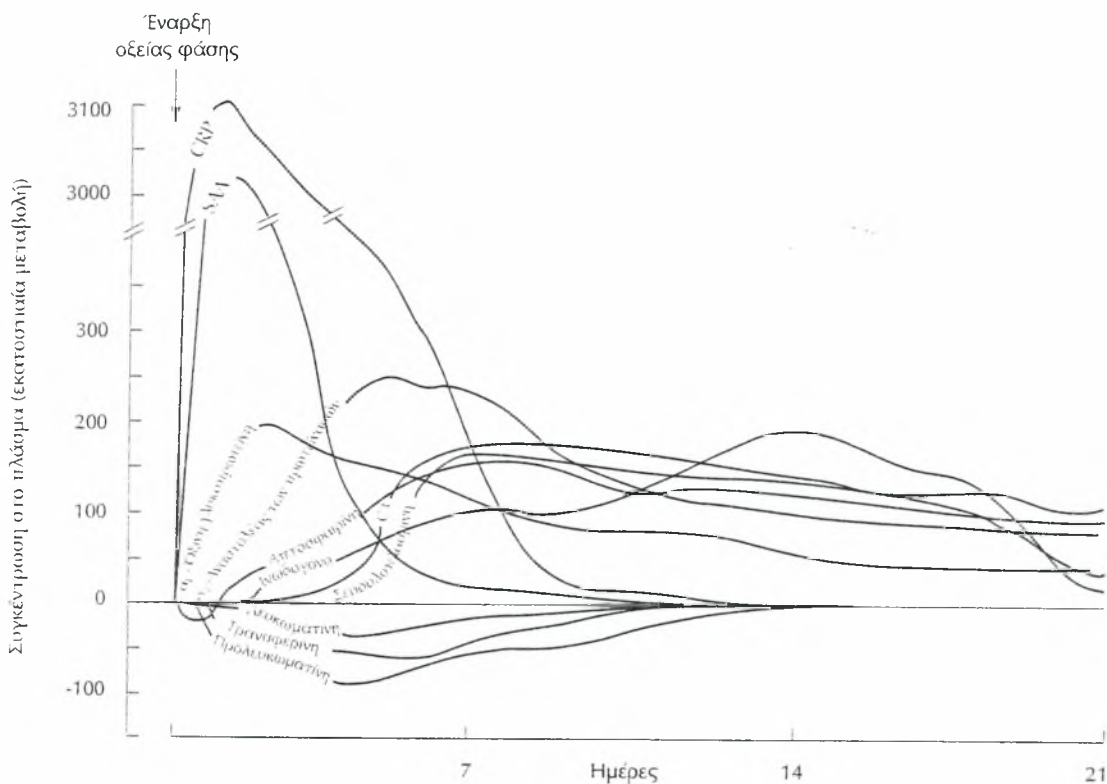
προτέρημα είναι ότι επανέρχονται στα φυσιολογικά τους επίπεδα αμέσως μετά την άρση του αιτίου παραγωγής τους, γι αυτό και αποτελούν ένα πολύ καλό δείκτη της πορείας της παθολογικής κατάστασης.

Η σύνθεση των πρωτεϊνών οξείας φάσης γίνεται κυρίως στο ήπαρ, αλλά μερικές από αυτές π.χ. η α<sub>1</sub>-οξυγλυκοπρωτεΐνη (AAG) συντίθεται και σε άλλα κύτταρα, όπως στα λευκά αιμοσφαίρια και στα κύτταρα του μονοκυτταρικού φαγοκυτταρικού συστήματος.

**Πίνακας 1.**

<b>Π Ρ Ω Τ Ε Ϊ Ν Ε Σ   Ο Ξ Ε Ι Α Σ   Φ Α Σ Η Σ</b>	
<b>A. Πρωτεΐνες που αυξάνουν την συγκέντρωσή τους στο πλάσμα</b>	
Πρωτεΐνες του συμπληρώματος	C1s, C2, C3, C4, C5, C9 Παράγοντας B Αναστολέας του C1 Πρωτεΐνη συνδεδεμένη με C4b Λεκτίνη συνδεδεμένη με μαννόζη
Πρωτεΐνες πήξης	Ινωδογόνο Πλασμινογόνο Ουροκινάση Πρωτεΐνη S Υαλονεκτίνη Παράγοντας VIII
Αναστολείς πρωτεασών	Αναστολέας της α <sub>1</sub> -πρωτεάσης α <sub>1</sub> -αντιχυμοθρυψίνη Αναστολέας της παγκρεατικής θρυψίνης
Μεταφορικές πρωτεΐνες	Σερουλοπλασμίνη Απτοσφαιρίνη Αιμοπηξίνη
Άλλες πρωτεΐνες	C-αντιδρώσα πρωτεΐνη (CRP) Αμυλοειδές A του ορού (SAA) α <sub>1</sub> -οξυ γλυκοπρωτεΐνη Ινωδονεκτίνη Φερριτίνη Αγγειοστενινογόνο Φωσφολιπάση A <sub>2</sub> Ανταγωνιστής του υποδοχέα της IL-1
<b>B. Πρωτεΐνες που μειώνουν την συγκέντρωσή τους στο πλάσμα</b>	
Αλβουμίνη Τρανσφερίνη α <sub>2</sub> -HS γλυκοπρωτεΐνη α-εμβρυϊκή πρωτεΐνη Παράγοντας XII Insulin-like growth factor I	

Από τις διάφορες πρωτεΐνες οξείας φάσης ενδιαφέρουν κυρίως οι λεγόμενες «μείζονες» (major acute phase reactants), η συγκέντρωση των οποίων στον ορό αυξάνεται 100 ή περισσότερες φορές άνω του φυσιολογικού, ενώ οι πρωτεΐνες οξείας φάσης οι οποίες αυξάνουν λίγο (modest acute phase proteins) π.χ. 2-4 φορές, έχουν περιορισμένο κλινικό ενδιαφέρον.



**Εικόνα 1. Μεταβολή της συγκέντρωσης των πρωτεϊνών οξείας φάσης**

Βέβαια, εκτός από την συγκέντρωσή τους στον ορό, άλλα κριτήρια για να θεωρηθεί μια πρωτεΐνη οξείας φάσης σαν δείκτης της αντίδρασης οξείας φάσης είναι:

A) ο χρόνος αύξησης μετά την έναρξη της φλεγμονής ή της ιστικής βλάβης (π.χ. η CRP αυξάνει τις πρώτες 6-10 ώρες)

B) ο χρόνος ελάττωσης μετά την αποδρομή της αντίδρασης οξείας φάσης

Γ) η ύπαρξη συχνών ανεπαρκειών (π.χ. απτοσφαιρίνη) η οποία είναι δυσμενές κριτήριο για τον χαρακτηρισμό της πρωτεΐνης οξείας φάσης σαν κατάλληλο δείκτη.

Οι σπουδαιότερες μείζονες πρωτεΐνες οξείας φάσης είναι :

η C-αντιδρώσα πρωτεΐνη ( CRP ) και

η πρωτεΐνη του αμυλοειδούς A του ορού ( SAA )

## C-ΑΝΤΙΔΡΩΣΑ ΠΡΩΤΕΪΝΗ (CRP)

### Γενικά

Η CRP είναι μέλος της φυλογενετικά αρχαίας και ιδιαίτερα συντηρημένης "pentraxin" οικογένειας πρωτεϊνών, η οποία περιλαμβάνει επίσης το αμυλοειδές του ορού (SAP), ένα συστατικό όλων των αμυλοειδών αποθεμάτων.

Στον άνθρωπο και σε άλλα ζωικά είδη, η CRP είναι μια σημαντική οξείας φάσης πρωτεΐνη του πλάσματος, που επιδεικνύει την γρήγορη και έντονη άνοδο της συγκέντρωσής της, σε απάντηση στη μόλυνση ή τον τραυματισμό ιστού. Η CRP έχει ασβέστιο( $Ca^{2+}$ )-εξαρτώμενη δεσμευτική εξειδίκευση για την φωσφοχολίνη (Pch), ένα συστατικό πολλών βακτηριακών και μυκητιακών πολυσακχαριτών και των περισσότερων κυτταρικών μεμβρανών. Πράγματι, η C-αντιδρώσα πρωτεΐνη ανακαλύφθηκε και ονομάστηκε λόγω της ικανότητας της άμεσης αντίδρασης με τα υπολείμματα της φωσφοχολίνης του C-πολυσακχαρίτη (PnC), στο τειχοϊκό οξύ του στρεπτόκοκκου της πνευμονίας (*streptococcus pneumoniae*).

Η CRP δεσμεύει επίσης ορισμένα πυρηνικά συστατικά, τα οποία δεν περιέχουν φωσφοχολίνη, όπως τα μικρά μόρια ριβονουκλεοπρωτεϊνών. Συμπλοκοποιημένη CRP αναγνωρίζεται από C1q και ενεργοποιεί αποτελεσματικά την κλασσική οδό του ανθρώπινου συμπληρώματος. Επίσης μπορεί να προκαλέσει τις απαντήσεις από τα φαγοκύτταρα μέσω της δέσμευσης στους FcγRI και FcγRIIa υποδοχείς. Η δυνατότητά της να αναγνωρίζει τα παθογόνα και να μεσολαβεί στην αποβολή τους με την στρατολόγηση του συστήματος του συμπληρώματος και των φαγοκυττάρων κάνει την CRP ένα σημαντικό συστατικό της πρώτης γραμμής άμυνας.

Επιπλέον, η πρωτεΐνη εμφανίζεται να διαδραματίζει ένα ρόλο στην εκκαθάριση των αποπτωτικών και νεκρωτικών κυττάρων ξενιστών, συμβάλλοντας κατά συνέπεια στην αποκατάσταση της κανονικής δομής και λειτουργίας των τραυματισμένων ιστών.

### Ρύθμιση της έκφρασης

Η γρήγορη άνοδος της συγκέντρωσης της CRP κατά την διάρκεια της οξείας φάσης, το μέγεθος της απάντησης που προσεγγίζει τις 100 φορές αυξάνει μέσα σε 24-48 ώρες, και η εξίσου γρήγορη επιστροφή στην πολύ χαμηλή κανονική συγκέντρωση είναι τα εντυπωσιακότερα βιολογικά χαρακτηριστικά της. Η έκφρασή της ρυθμίζεται

κυρίως στο μεταγραφικό επίπεδο, αλλά οι μετα-μεταγραφικοί μηχανισμοί παίζουν επίσης ένα σημαντικό ρόλο.

Το γονίδιο της C-αντιδρώσας πρωτεΐνης έχει χαρτογραφηθεί στο ανθρώπινο χρωμόσωμα 1 μεταξύ 1q21 & 1q23. Περιέχει 2263 νουκλεοτίδια και έχει ένα μόνο ιντρόνιο. Το CRP μετάγραφο χαρακτηρίζεται από την παρουσία μιας μακράς 1,2 kb 3'-μη μεταφραζόμενης περιοχής, η οποία ίσως μεσολαβεί στη γρήγορη αποδόμιση της πρωτεΐνης που ακολουθείται από την αποκατάσταση της δομής και λειτουργίας του ιστού.

Η σύνθεση στο ήπαρ είναι υπεύθυνη για την CRP στο αίμα, αλλά έχει επίσης τεκμηριωθεί και η εξωηπατική έκφραση (Dong and Wright, 1996).

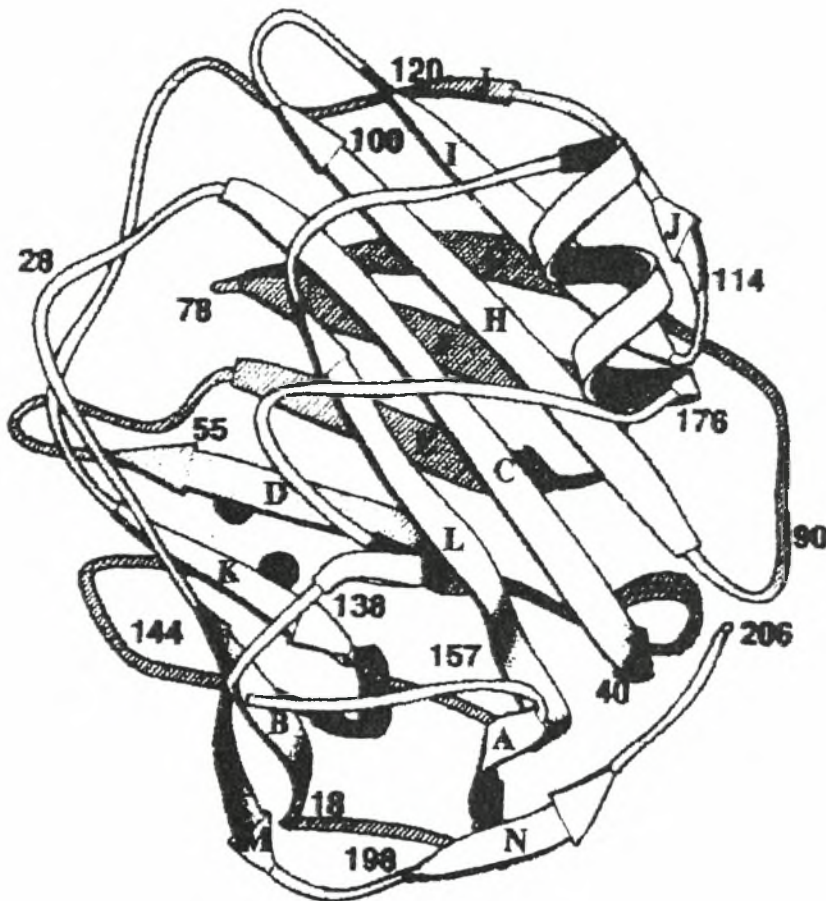
Η μεταγραφική ρύθμιση της CRP έχει μελετηθεί εκτενώς και *in vitro* & *in vivo*. Τα συνδυασμένα αποτελέσματα έχουν καθορίσει ότι η ιντερλευκίνη-6 είναι ο κύριος επαγωγέας του γονιδίου της CRP, ενώ η ιντερλευκίνη-1, τα γλυκοκορτικοειδή και ορισμένοι άλλοι παράγοντες, συμπεριλαμβανομένων των ενεργοποιημένων προϊόντων του συμπληρώματος, δρουν συνεργικά με την ιντερλευκίνη-6 για να ενισχύσουν την επίδρασή της.

Οι μετά-μεταγραφικοί μηχανισμοί συμβάλλουν επίσης στη ρύθμιση της γονιδιακής έκφρασης της CRP. Συγκεκριμένα, έχει αποδειχθεί ότι το ποσοστό έκκρισης της πρωτεΐνης επιταχύνεται κατά πολύ κατά την διάρκεια της οξείας φάσης. Υπό φυσιολογικές συνθήκες η CRP συντίθεται σε χαμηλά ποσοστά με την μορφή πενταμερούς και το πενταμερές αυτό συγκεντρώνεται μέσα στο ενδοπλασματικό δίκτυο και συγκρατείται κατά ένα μεγάλο μέρος εκεί από δύο τοπικές καρβοξυλεστεράσες. Κατά την διάρκεια της οξείας φάσης η ημιπερίοδος για την έξοδο της CRP από το ενδοπλασματικό δίκτυο μειώνεται από 18 ώρες σε 15 λεπτά. Η έντονη επιτάχυνση της έκκρισης οφείλεται προφανώς στη μειωμένη συγγένεια για την CRP από μια από τις εστεράσες, γεγονός που έχει αποδοθεί σε μια αλλαγή διαμόρφωσης.

### Δομή -Ιδιότητες

Η δομή της CRP έχει καθοριστεί από κρυσταλλογραφία με ακτίνες -X σε ανάλυση 3 Å. Αποτελείται από πέντε μη-ομοιοπολικά συνδεόμενα πρωτομερή που είναι τοποθετημένα συμμετρικά γύρω από ένα κεντρικό πόρο. Οι γενικές διαστάσεις του CRP πενταμερούς είναι περίπου 120 Å η εξωτερική διάμετρος με μια διάμετρο του

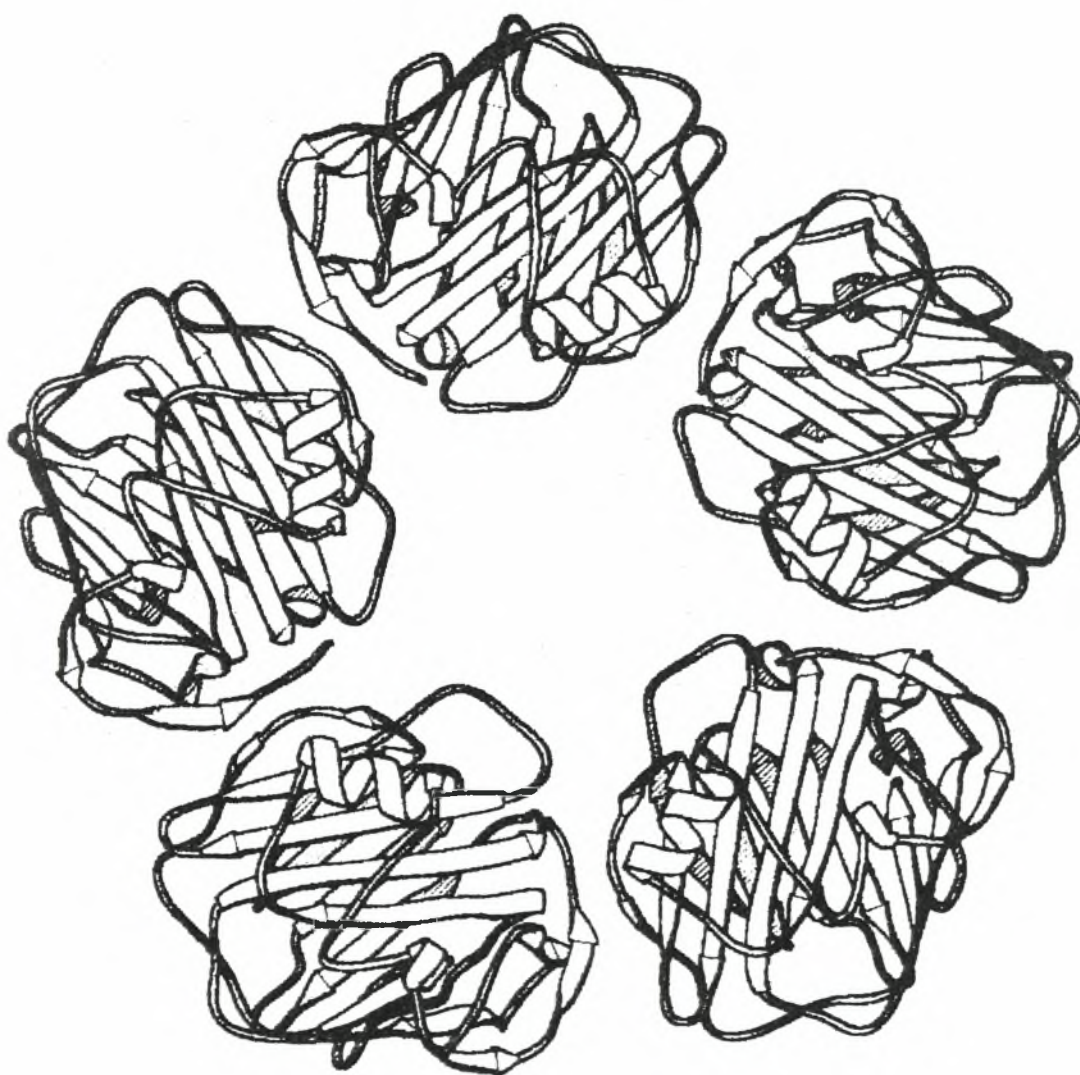
κεντρικού πόρου 30 Å και μια διάμετρο πρωτομερούς των 36 Å. Το πρωτομερές αποτελείται από 206 αμινοξέα που διπλώνονται σε δυο αντιπαράλληλα β ελάσματα.



**Εικόνα 2.** Δομή του CRP πρωτομερούς. Επισημαίνονται οι β-αλυσίδες A-N και οι θέσεις των κατάλοιπων αμινοξέων. Τα δυο ιόντα ασβεστίου φαίνονται σαν σφαίρες.

Μια μακριά α-έλικα βρίσκεται διπλωμένη απέναντι σε ένα από τα δυο β-ελάσματα. Η καρβοξυτελική άκρη της έλικας μαζί με ένα βρόγχο στα 177-182 αμινοξέα σχηματίζουν μια από τις δυο πλευρές μιας ασυνήθιστης σχισμής (ρωγμής) που εκτείνεται περίπου από το κέντρο του πρωτομερούς μέχρι την άκρη του, στον κεντρικό πόρο του πενταμερούς. Η άλλη πλευρά της σχισμής σχηματίζεται από μέρη των καρβοξυτελικών άκρων του πενταμερούς. Η C1q-δεσμευτική περιοχή και ίσως επίσης η FcR-δεσμευτική περιοχή συνδέονται με την σχισμή. Στην αντίθετη πλευρά του πρωτομερούς, δυο ιόντα ασβεστίου επιδέονται στις πλευρικές αλυσίδες και στις κύριες καρβοξυτελικές αλυσίδες της πολυπεπτιδικής αλυσίδας σε μια απόσταση 4 Å

από το ένα στο άλλο. Και τα δυο ιόντα ασβεστίου συμμετέχουν στο σύμπλοκο δέσμευσης. Στοιχεία από το ηλεκτρονικό μικροσκόπιο και την κρυσταλλογραφία δείχνουν ότι στο συγκεντρωμένο CRP πενταμερές όλα τα πρωτομερή έχουν τον ίδιο προσανατολισμό. Κατά συνέπεια, το μόριο έχει δυο πρόσωπα, ένα πρόσωπο «αναγνώρισης» που εκθέτει τις πέντε Pch-δεσμευτικές περιοχές και ένα «ενεργητικό» πρόσωπο που περιέχει τις C1q και πιθανώς επίσης τις FcR- δεσμευτικές περιοχές.



Εικόνα 3. Η πενταμερής δομή της CRP.

Ανιχνεύεται σε όλα τα άτομα σε φυσιολογικές τιμές ως 8mg/L για τους ενήλικες, 40% χαμηλότερη σε παιδιά σχολικής ηλικίας και ακόμη χαμηλότερη στα νεογνά.

Δεν διέρχεται τον εμβρυοπλακουντιακό φραγμό και δεν ανιχνεύεται στο μητρικό γάλα. Η παραγωγή της δεν επηρεάζεται από τη λήψη αντιφλεγμονωδών ή ανοσοκατασταλτικών φαρμάκων. Ο χρόνος ημίσειας ζωής της υπολογίζεται σε 4-6 ώρες.

### Λειτουργία –Βιοχημικές ιδιότητες

Η κύρια βιολογική λειτουργία της CRP καθορίζεται από την ικανότητά της να αναγνωρίζει παθογόνα και κατεστραμμένα κύτταρα του ξενιστή και να μεσολαβεί στην αποβολή τους στρατολογώντας το σύστημα του συμπληρώματος και τα φαγοκύτταρα.

Η Pch , το κυριότερο CRP πρόσδεμα είναι ευρέως διανεμημένη στα τειχοεικά οξέα, στους θυλακοειδείς υδατάνθρακες και στους λιποπολυσακχαρίτες βακτηρίων και άλλων μικροοργανισμών. Η παρουσία της έχει αναφερθεί στα: *S.pneumonia*, *Haemophilus influenzae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Neisseria meningitides* και *Neisseria gonorrhoea*, *Proteus morgani* και *Aspergillus fumigatus*.

Η Pch είναι επίσης παρούσα στην εξωτερική πλευρά των περισσότερων βιολογικών μεμβρανών ως πολική κεφαλή της λεκιθίνης και της σφυγγομυελίνης. Τα αρχικά στοιχεία για την δέσμευση της CRP στις κυτταρικές μεμβράνες παρήχθησαν από πειράματα που καταδείκνυαν ότι στις περιοχές της φλεγμονής και της νέκρωσης του ιστού, η CRP συνδέεται με τις μεμβράνες κατεστραμμένων και νεκρωτικών , αλλά όχι φυσιολογικών κυττάρων.

Στη συνέχεια αποδείχθηκε ότι η CRP θα μπορούσε να αντιδράσει με γαλακτώματα της φωσφοχολίνης που περιέχουν φωσφολιπίδια λεκιθίνης και σφυγγομυελίνης. Χρησιμοποιώντας λιποσώματα λεκιθίνης, οι Volanakis και Wirtz κατέδειξαν ότι η δέσμευση της CRP στην Pch- πολική κεφαλή της λεκιθίνης σε αμφότερα τα λιπιδικά επίπεδα απαιτήσε την προσθήκη των υπομυκηλιακών συγκεντρώσεων της λυσολεκιθίνης, μια εύρεση σύμφωνη με την προηγουμένως καθιερωμένη απαίτηση για την ζήμια του κυττάρου, για την δέσμευση της πρωτεΐνης από τις κυτταρικές μεμβράνες στις περιοχές της φλεγμονής. Οι παρατηρήσεις αυτές επιβεβαιώθηκαν χρησιμοποιώντας ερυθρά κύτταρα: η δέσμευση της CRP παρατηρήθηκε μόνο μετά την προσθήκη των υπολυτικών συγκεντρώσεων

λυσολεκθίνης ή την καλλιέργεια των κυττάρων με φωσφολιπάση A<sub>2</sub> (PLA<sub>2</sub>) από *Naja naja*. Η PLA<sub>2</sub> υδρολύει το δεσμό εστέρα λιπαρού οξέος στη θέση 2 της λεκθίνης και άλλων sn-3- φωσφογλυκεριδίων. Έτσι παράγει λυσοφωσφολιπίδια χωρίς να προκαλεί λύση των ερυθρών κυττάρων.

Η καταστροφή των κυττάρων προκαλεί μια ανταλλαγή των φωσφολιπιδίων μεταξύ των εξωτερικών και των εσωτερικών μονοστιβάδων της μεμβράνης, με συνέπεια τον εμπλουτισμό της εξωτερικής μονοστιβάδας με φωσφατιδυλο-αιθανολαμίνη και φωσφατιδυλο-σερίνη, που κανονικά είναι παρούσες στην εσωτερική μονοστιβάδα. Σαν συνέπεια της ανακατανομής τους, τα φωσφολιπίδια γίνονται ευαίσθητα στην υδρόλυση από sPLA<sub>2</sub> και παράγονται λυσοφωσφολιπίδια, συμπεριλαμβανομένης της λυσολεκθίνης. Στη συνέχεια, η παρουσία της λυσολεκθίνης μέσα στην εξωτερική μονοστιβάδα επιτρέπει την δέσμευση της CRP στην Pch-πολική κεφαλή στην επιφάνεια του κυττάρου. Εγκάρσια διάχυση μεμβρανών εμφανίζεται επίσης στα κύτταρα που υποβάλλονται στην απόπτωση και γίνονται στόχοι για την sPLA<sub>2</sub> και CRP. Πειραματικά στοιχεία για την σύνδεση της CRP στα αποπτωτικά κύτταρα παραδόθηκαν πρόσφατα. Η κινητική ανάλυση έδειξε ότι η δέσμευση της CRP στα κύτταρα που υποβάλλονται στην απόπτωση εμφανίστηκε αργότερα από αυτήν της ανεξίνης-V, που δεσμεύεται στη φωσφατιδυλο-σερίνη. Κατά συνέπεια, η μετάπτωση των φωσφολιπιδίων της εσωτερικής μονοστιβάδας και πιθανώς επίσης η παραγωγή της λυσολεκθίνης από την δράση της sPLA<sub>2</sub> προηγείται της δέσμευσης της CRP.

Εκτός από τη μεμβράνη των τραυματισμένων κυττάρων η CRP δεσμεύεται επίσης στις μεμβράνες και τα πυρηνικά συστατικά των νεκρωτικών κυττάρων. Διάφορα πυρηνικά συστατικά, συμπεριλαμβανομένων των ιστονών, των μικρών πυρηνικών ριβο-νουκλεο-πρωτεϊνών και των ριβονουκλεοπρωτεϊνικών σωματιών έχουν παρουσιαστεί να δεσμεύουν την CRP με έναν ασβέστιο-εξαρτώμενο, Pch-ανασταλτικό τρόπο και έχει παρατηρηθεί η απόθεση της CRP στους πυρήνες των νεκρωτικών κυττάρων επί των περιοχών της φλεγμονής.

Η CRP που δεσμεύεται σε ένα πολυσθενές σύμπλοκο υποκαταστατών αναγνωρίζεται από τη C1q και μπορεί αποτελεσματικά να αρχίσει το σχηματισμό μιας C3 κονβερτάσης μέσω της κλασσικής οδού. Τα στοιχεία όσον αφορά στην κατανάλωση τμημάτων του συμπληρώματος και στη λύση των κυττάρων έχουν δείξει ότι η CRP αρχόμενη ενεργοποίηση του συμπληρώματος είναι περιορισμένη στο σχηματισμό της C3 κονβερτάσης. Ο σχηματισμός της εναλλακτικής οδού ενίσχυσης



κονβερτάσης και C5 κονβερτασών εμποδίζεται από τον παράγοντα Η, ο οποίος δεσμεύεται άμεσα στην CRP. Τα συνδυασμένα αποτελέσματα δείχνουν ότι η ενεργοποίηση του συμπληρώματος που αρχίζει από την CRP οδηγεί αποτελεσματικά στην στρατολόγηση της οψονικής λειτουργίας του συστήματος, αλλά όχι στα προφλεγμονώδη και καταστρεπτικά αποτελέσματα μεμβρανών, που απαιτούν την διάσπαση του C5.

Οι λειτουργικές δραστηριότητες της CRP που αποδίδονται στις άμεσες αντιδράσεις με φαγοκυτταρικά κύτταρα ήταν γνωστές για πολλά έτη, αλλά ο προσδιορισμός των υποδοχέων της CRP έγινε πρόσφατα. Εργασία που πραγματοποιήθηκε στο εργαστήριο του Du Clos<sup>3</sup>, έδωσε ισχυρά στοιχεία ότι οι Fc υποδοχείς για την IgG είναι επίσης υποδοχείς για την CRP.

Η αλληλεπίδραση του κυττάρου ή μορίου συνδεδεμένου με CRP, με φαγοκυτταρικά κύτταρα οδηγεί στη φαγοκυττάρωση του κυττάρου ή του μορίου. Οι οψονικές ιδιότητες της CRP έχουν καταδειχθεί και για τα μακροφάγα και για τα ουδετερόφιλα. Επίσης στα βακτηρίδια, η CRP έχει παρουσιαστεί να ενισχύει τη φαγοκύτωση των αποπτωτικών κυττάρων. Η επίδραση εξαρτάται από τη συνεργική δράση της CRP και του συμπληρώματος και μπορεί να είναι σημαντική στην παρεμπόδιση αυτοάνοσων απαντήσεων από τα πυρηνικά συστατικά των αποπτωτικών κυστών.

Επιπλέον στη φαγοκύτωση, η αλληλεπίδραση της CRP με μονοκύτταρα/ μακροφάγα έχει αναφερθεί ότι προκαλεί νεοπλασματική δραστηριότητα, αναπνευστική έκρηξη, παραγωγή υπεροξειδίου του υδρογόνου και έκκριση της ιντερλευκίνης-1 και του παράγοντα νέκρωσης όγκων. Σε αντίθεση με τα αποτελέσματά της στα μονοκύτταρα / μακροφάγα, η CRP εμφανίζεται ότι υπορυθμίζει την ενεργοποίηση των ουδετερόφιλων. Κατά συνέπεια, η CRP έχει αναφερθεί ότι εμποδίζει την PMA-προκληθείσα ουδετερόφιλη παραγωγή υπεροξειδίου και την έκκριση κόκκων. Τα αποτελέσματα αυτά σχετίζονται με την σημαντική μείωση της φωσφορυλίωσης των ενδοκυττάρων πρωτεϊνών. Οι IL-8, FMLP & C5a-προκληθείσες χημειοστατικές απαντήσεις των ουδετερόφιλων εμποδίζονται επίσης από την CRP. Ακόμη η CRP έχει αναφερθεί ότι προκαλεί τη διάλυση και το σκόρπισμα της L-σελεκτίνης από την επιφάνεια των ουδετερόφιλων με αποτέλεσμα τη μειωμένη προσκόλληση στα επιθηλιακά κύτταρα και κατά συνέπεια τη μειωμένη μετανάστευση στους ιστούς. Τέλος η CRP μεσολαβεί στη διάλυση του δεσμού της μεμβράνης του υποδοχέα της ιντερλευκίνης από

ουδετερόφιλα, μια επίδραση που θα μπορούσε να οδηγήσει στη διαμόρφωση της δραστηριότητας της ιντερλευκίνης-6.

### Κλινική σημασία

Η CRP σαν μη ειδικός δείκτης αυξάνεται σε ένα μεγάλο αριθμό νοσολογικών οντοτήτων.

Η διαγνωστική της σημασία εκτείνεται σε πολλά πεδία. Μπορεί να χρησιμοποιηθεί σαν πρώτος δείκτης σε μια πληθυσμιακή μελέτη για οργανική νόσο στην οποία αυξάνεται, αποκλείοντας έτσι τα άτομα με αρνητική CRP.

Για τα φλεγμονώδη νοσήματα είναι ένας πολύ καλός δείκτης, τόσο για τη διάγνωση, όσο και για την παρακολούθηση του «ενεργού» της νόσου και την αποτελεσματικότητα της θεραπείας.

Υπάρχουν όμως και νοσήματα στα οποία η CRP, αντίθετα από ό,τι αναμένεται, δεν αυξάνεται καθόλου ή αυξάνεται πολύ λίγο. Έχοντας υπόψη τα νοσήματα αυτά, αποκτούμε τη δυνατότητα να κάνουμε διαφορική διάγνωση σε καταστάσεις όπου τα λοιπά κλινικά και εργαστηριακά δεδομένα δεν επαρκούν, π.χ. να διαχωρίσουμε τον Συστηματικό Ερυθρηματώδη Λύκο (ΣΕΛ) από την ρευματοειδή αρθρίτιδα, την ελκώδη κολίτιδα από την νόσο του Crohn.

Η αξία της στη διαγνωστική των λοιμώξεων είναι πολύ σημαντική, γιατί τη βρίσκουμε πολύ υψηλή στις λοιμώξεις από μικρόβια και χαμηλή στις λοιμώξεις από ιούς. Έτσι μπορούμε να ξεχωρίσουμε αν μια ωτίτιδα είναι ιογενής ή μικροβιακή αν πρόκειται για λαρυγγίτιδα ιογενή ή επιγλωττίτιδα από αιμόφιλο, αν μια φαρυγγίτιδα είναι ιογενής ή από στρεπτόκοκκο, αν μια αρθρίτιδα είναι ιογενής ή σηπτική και να παρακολουθήσουμε την πορεία της και αν μια πνευμονία οφείλεται σε ιό ή σε μικρόβιο.

Στην οξεία σκωληκοειδίτιδα αυξάνεται νωρίτερα από τα λευκά αιμοσφαίρια και από την Ταχύτητα Καθίζησης Ερυθρών αιμοσφαιρίων (ΤΚΕ). Η αντικατάσταση της ΤΚΕ με την μέτρηση της CRP έχει γίνει πλέον αποδεκτή, σε βαθμό μάλιστα που να προτείνεται επίσημα, ήδη από το 1988, από την Διεθνή Επιτροπή Προτυποποίησης στην Αιματολογία, τουλάχιστον όσο αφορά τις οξείες καταστάσεις.

**Πίνακας 2. Νοσήματα με υψηλή και χαμηλή CRP**

<b>Υψηλή CRP</b>	<b>Χαμηλή CRP</b>
Φλεγμονώδη νοσήματα	Συστηματικός ερυθηματώδης λύκος
Αγγειίτιδες	Πρωτοπαθές σύνδρομο Sjogren
Ρευματοειδής αρθρίτιδα	Δερματομυοσίτιδα
Αγκυλοποιητική σπονδυλοαρθρίτιδα	Ελκώδης κολίτιδα
Ψωριασική αρθρίτιδα	Σκληρόδερμα
Ρευματικός πυρετός	Λευχαιμία
Νόσος του Crohn	
Σύνδρομο Reiter	
Οικογενής μεσογειακός πυρετός	
Κακοήθεις νεοπλασίες	
Εμφραγμα μυοκαρδίου	
Οξεία παγκρεατίτιδα	
Εγκαύματα	
Καταγματα	
Απόρριψη αλλομοσχεύματος	
Λεπροσωμικό οζώδες ερύθημα	

Μεγάλη εφαρμογή βρίσκει ο προσδιορισμός της CRP στον ορό και στο εγκεφαλονωτιαίο υγρό (ENY) σε περιπτώσεις μηνιγγίτιδας. Αύξηση της CRP παρατηρείται στις μικροβιακές μηνιγγίτιδες και όχι στις ιογενείς. Αυτό είναι ένα πολύτιμο διαγνωστικό στοιχείο, κυρίως στις περιπτώσεις όπου τα άλλα εργαστηριακά ευρήματα από το ENY δεν δίνουν σαφή εικόνα όπως ο τύπος των κυττάρων και η συγκέντρωση της γλυκόζης και του λευκώματος. Σημαντική βοήθεια προσφέρει ο έλεγχος της τιμής της CRP στον ορό στην παρακολούθηση της πορείας της μηνιγγίτιδας. Αν δεν επανέλθει στα φυσιολογικά επίπεδα σε 7-10 ημέρες, υποδηλώνει κάποια επιπλοκή όπως δημιουργία αποστήματος στον εγκέφαλο ή τον υποσκληρίδιο χώρο.

Ομοίως μεγάλη είναι η αξία της στη διαγνωστική των νεογνικών μικροβιακών λοιμώξεων, των οποίων πολλές φορές η κλινική εικόνα δεν είναι σαφής και ειδική.

Ιδιαίτερη είναι η συμβολή της στην αξιολόγηση του *Staphylococcus epidermidis* σαν αίτιο σηψαιμίας στα νεογνά.

Σε μελέτες που πραγματοποιήθηκαν στον ελληνικό χώρο βρέθηκε θετική στις νεογνικές λοιμώξεις που οφείλονται σε Gram αρνητικά βακτηρίδια σε ποσοστό 95%, στις λοιμώξεις που οφείλονται σε Gram θετικούς κόκκους σε ποσοστό 53% και σε αυτές που οφείλονται σε μύκητες (*Candida*) σε 100%. Επίσης τα επίπεδα της CRP βρέθηκαν αυξημένα και στη νεκρωτική εντεροκολίτιδα, νόσο που θέτει σε κίνδυνο τη ζωή των νεογνών.

Σε μια πρώιμη ρήξη του θυλακίου απαιτείται επαγρύπνηση για την έγκαιρη διάγνωση της λοίμωξης. Η αύξηση της CRP δίνει τη δυνατότητα διάγνωσης της ενδομήτριας λοίμωξης ενωρίτερα από ότι άλλα εργαστηριακά ευρήματα.

Σημαντική είναι η συμβολή της στην αξιολόγηση του *S. epidermidis* σαν αιτίου ενδοκαρδίτιδας, στο διαχωρισμό πυελονεφρίτιδας (αυξάνεται) από κυστίτιδα (παραμένει φυσιολογική), στην έγκαιρη διάγνωση μικροβιακής λοίμωξης σε ασθενείς που έχουν υποβληθεί σε μεταμόσχευση και σε πάσχοντες από λευχαιμία.

Στις παθήσεις του Κεντρικού Νευρικού Συστήματος, εκτός από τη μηνιγγίτιδα, τη βρίσκουμε αυξημένη σε επιμόλυνση του συστήματος τεχνητής παροχέτευσης του ΕΝΥ, σε κρανιοεγκεφαλικές κακώσεις και σε νεοπλάσματα.

Στην Οφθαλμολογία έχουν μελετηθεί τα επίπεδά της σε διάφορες παθήσεις και έχουν βρεθεί αυξημένα στη φλεβική θρόμβωση του αμφιβληστροειδούς, στη δυστροφία κερατοειδούς, στο σύνδρομο Behcet και φυσιολογικά ή ελαφρώς αυξημένα στο σύνδρομο Sjogren.

Σε κακώσεις ιστών από μια χειρουργική επέμβαση, τα ανώτερα επίπεδα μετρούνται τη δεύτερη μετεγχειρητική ημέρα. Ακολούθως παρατηρείται προοδευτική ελάττωση μέχρι την επάνοδο στα φυσιολογικά περίπου την έβδομη ως δέκατη ημέρα. Αν παραμείνει υψηλή ή αν αυξηθεί εκ νέου, υποδηλώνεται μετεγχειρητική επιπλοκή π.χ. λοίμωξη ή θρομβοεμβολικό επεισόδιο.

Στην ισχαιμική νέκρωση του μυοκαρδίου η μέτρηση της CRP συντελεί στην παρακολούθηση της πορείας της βλάβης γιατί παρατηρείται αύξηση σε όλους τους ασθενείς 50-60 ώρες μετά την έναρξη του πόνου και όταν το ισοένζυμο της κρεατινικής φωσφοκινάσης έχει επανέλθει στη φυσιολογική του τιμή. Η CRP αυξάνεται περισσότερο αν το έμφραγμα είναι διατοίχωματικό και επανέρχεται στα φυσιολογικά της επίπεδα κατά το στάδιο της ανάρρωσης.

## ΑΜΥΛΟΕΙΔΕΣ –Α ΤΟΥ ΟΡΟΥ (SAA)

### Γενικά

Το ενδιαφέρον για το αμυλοειδές –Α του ορού (SAA), μιας σημαντικής πρωτεΐνης οξείας φάσης, άρχισε σχεδόν τέσσερις δεκαετίες πριν με την απομόνωση και το χαρακτηρισμό μιας μοναδικής πρωτεΐνης που βρέθηκε στους ιστούς ασθενών με δευτερεύουσα αμυλοείδωση σε χρόνιες φλεγμονώδεις παθήσεις (τώρα αποκαλείται αμυλοειδές –Α ή AA). Χρησιμοποιώντας αντισώματα για την AA πρωτεΐνη, ανακαλύφθηκε μια αντιγονικά σχετική πρωτεΐνη στον ανθρώπινο ορό. Το μέγεθός της είχε καθοριστεί στα 200 KD. Το αμυλοειδές –Α του ορού καθορίστηκε αργότερα ως η πρόδρομη πρωτεΐνη στην AA αμυλοείδωση και σαν μια από το ήπαρ προερχόμενη, υψηλής πυκνότητας λιποπρωτεΐνη (HDL)-συνδεόμενη απολιποπρωτεΐνη, της οποίας τα επίπεδα στο αίμα ανυψώνονται μέχρι και 1000 φορές σε απάντηση σε διάφορους τραυματισμούς, μολύνσεις, φλεγμονές και νεοπλασίες. Επιπλέον, μελέτες αποκάλυψαν ότι το SAA αντιπροσωπεύει διάφορες πρωτεΐνες που κωδικοποιούνται από μια πολυγονιδιακή οικογένεια, που εξελικτικά συντηρείται για πάνω από 400 εκατομμύρια έτη. Τα ευρήματα αυτά πρότειναν την σημαντική βιολογική λειτουργία της πρωτεΐνης αυτής.

### Η γονιδιακή οικογένεια του SAA

Πολλαπλά SAA γονίδια και πρωτεΐνες έχουν περιγραφεί για τα διάφορα είδη συμπεριλαμβανομένου του ανθρώπου, του ποντικιού, του χάμστερ, του κουνελιού, του σκύλου, της αγελάδας, του προβάτου και του αλόγου. Ο υψηλός βαθμός συντήρησης των SAA γονιδίων και πρωτεϊνών, που έχει διατηρηθεί μέσω της εξέλιξης των ενδόθερμων θηλαστικών εκτείνεται και σε άλλα σπονδυλωτά, συμπεριλαμβανομένου του ψαριού και των μαρσιποφόρων παρέχοντας με αυτό τον τρόπο περισσότερα στοιχεία για τις σημαντικές βιολογικές λειτουργίες τους.

Η ανθρώπινη SAA πολυγονιδιακή οικογένεια περιλαμβάνει τέσσερις ιδιαίτερους τόπους που περιέχουν δυο ομόλογα γονίδια, *SAA1* και *SAA2*, και δυο ακόμα απομακρυσμένα συσχετιζόμενα γονίδια *SAA3* και *SAA4*, και βρίσκονται όλα στον κοντό βραχίονα του χρωμοσώματος 11(11p15.1). Τα *SAA1* και *SAA2* είναι οι κυρίαρχες κυκλοφορούσες πρωτεΐνες κατά την διάρκεια της απάντησης οξείας φάσης. Το γονίδιο *SAA3* θεωρείται ως μη εκφραζόμενο γονίδιο, ενώ το γονίδιο *SAA4*

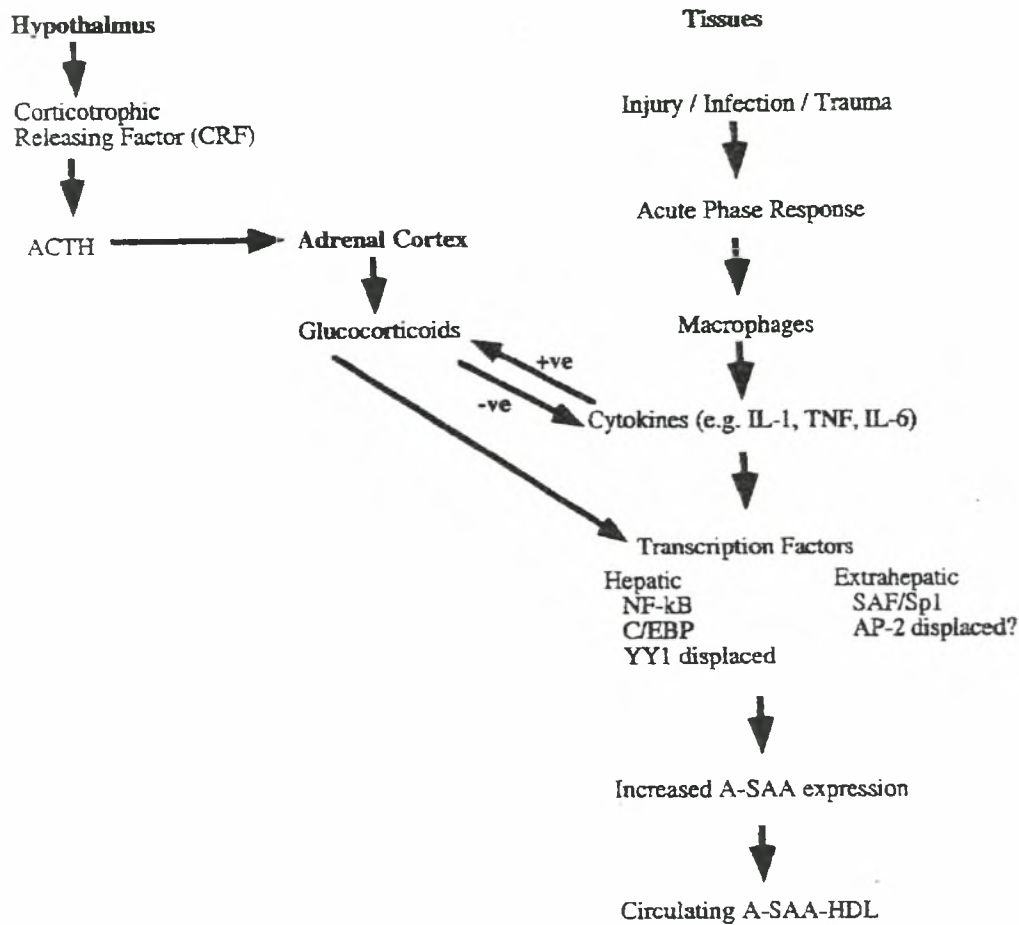
εκφράζεται και το πρωτεϊνικό προϊόν είναι ένα συστατικό της κανονικής, μη οξειάς φάσης HDL. Τα γονίδια *SAA1* και *SAA2* (που καλούνται επίσης “γονίδια οξειάς φάσης” ή *A-SAA*) κωδικοποιούν πρωτεΐνες που αποτελούνται από 104 αμινοξέα, ενώ το γονίδιο *SAA4* (που καλείται “συστατικό γονίδιο” ή *C-SAA*) κωδικοποιεί μια πρωτεΐνη 112 αμινοξέων. Η έκφραση των γονιδίων *SAA1*, *SAA2* και *SAA4* βρίσκεται κατά την διάρκεια της απάντησης της οξειάς φάσης του ήπατος, στα ανθρώπινα καλλιεργημένα ομαλά κύτταρα μυών, στις ανθρώπινες μονοκυτταρικές σειρές μακροφάγων κυττάρων και σε ιστολογικά φυσιολογικούς ανθρώπινους ιστούς.

### Έκφραση-επαγωγή και ρύθμιση του SAA

Η κύρια περιοχή σύνθεσης της A-SAA, όπως και για τις περισσότερες πρωτεΐνες οξειάς φάσης, είναι το ήπαρ. Το A-SAA mRNA μπορεί να παραχθεί από ένα φλεγμονώδες ερέθισμα και μπορεί να γίνει ένα από τα πιο άφθονα ηπατικά mRNA.

Η A-SAA καταβολίζεται επίσης στο ήπαρ, έχει ένα πολύ μικρότερο από μια ημέρα χρόνο ημίσειας ζωής και καθαρίζεται από το πλάσμα πιο γρήγορα από τις άλλες HDL αποπρωτεΐνες, όπως η απολιποπρωτεΐνη A-1 (ApoA-1) η οποία έχει χρόνο ημίσειας ζωής 4 ημέρες. Κατά την διάρκεια μιας απάντησης οξειάς φάσης ή μιας χρόνιας φλεγμονής, η ικανότητα του ήπατος να υποβιβάζει την A-SAA μειώνεται, κατά 14% και 31% αντίστοιχα, συμβάλλοντας έτσι στα αυξημένα επίπεδα κυκλοφορούντος A-SAA που παρατηρήθηκε κάτω από αυτές τις συνθήκες.

Τα A-SAA mRNA και η σύνθεση των πρωτεϊνών προκαλούνται *in vivo* κατά την διάρκεια της φλεγμονώδους απάντησης, στις προκλήσεις όπως κάκωση ιστού, μόλυνση και τραυματισμός σε όλα τα σπονδυλωτά είδη. Οι προκλήσεις αυτές, που μπορούν να αναπαραχθούν πειραματικά χρησιμοποιώντας παράγοντες όπως βακτηριακό πολυσακχαρίτη (LPS), καζεΐνη, τυρεβυνθίνη, AgNO<sub>3</sub>, χειρουργική επέμβαση, προκαλούν την προ-φλεγμονώδη κλιμακωτή αντίδραση των κυτταροκινών. Οι αρχικές κυτταροκίνες που εμπλέκονται στην επαγωγή της A-SAA είναι οι IL-1, TNF-α και IL-6. Άλλες κυτταροκίνες που μπορεί να σχετίζονται άμεσα ή έμμεσα με την A-SAA επαγωγή είναι η IL-2, η ιντερφερόνη-γ (IFN-γ) και ο βλεφαριδικός ουδετερότροπος παράγοντας. Τα γλυκοκορτικοειδή που ελευθερώνονται επίσης κατά την διάρκεια της φλεγμονής, έχει αποδειχθεί ότι ενισχύουν την έκφραση των A-SAA που προκαλούνται από τις κυτταροκίνες.



**Εικόνα 4.** Επαγωγή των A-SAA κατά την οξεία φάση. Το διάγραμμα ροής παρουσιάζει την επαγωγή της απάντησης οξείας φάσης στους ιστούς εξ αιτίας ενός φλεγμονώδους ερεθίσματος που οδηγεί στη στρατολόγηση των μακροφάγων και την παραγωγή των κυτταροκινών.

Αν και το ήπαρ είναι η κύρια περιοχή της σύνθεσης των APP, έχει τεκμηριωθεί και η εξωηπατική ιστο/κυτταρική έκφραση μιας ευρείας σειράς των APPs. Στα περισσότερα μαστοφόρα είδη, το SAA1 και SAA2 συνθέτονται κυρίως στο ήπαρ, ενώ το SAA3 είναι το κύριο ισόμορφο που εκφράζεται στις έξω-ηπατικές περιοχές. Στον άνθρωπο, και το A-SAA (SAA1 και SAA2) και το C-SAA (SAA4) mRNAs εκφράζονται σε σειρές μονοκύτταρων/μακροφάγων κυττάρων, που περιλαμβάνουν τα THP-1 κύτταρα. Τα SAA1/2 και SAA4 mRNAs βρέθηκαν επίσης σε μια ευρεία σειρά έξω-ηπατικών κυττάρων χρησιμοποιώντας την ανάλυση κατά Northern-blot. Μια μελέτη η οποία χρησιμοποίησε μη-ραδιενεργό *in situ* υβριδοποίηση και ανοσο-ιστοχημική χρώση επιβεβαίωσε τον έντερο-εντοπισμό της έξω-ηπατικής έκφρασης

του SAA mRNA και την παραγωγή πρωτεϊνών σε μια σειρά φυσιολογικών ανθρώπινων ιστών. Αυτό ήταν κυρίως εμφανές στο επιθήλιο των ιστών και σε μικρότερο βαθμό στα διασκορπισμένα λεμφοκύτταρα καθώς επίσης και στα ενδοθηλιακά κύτταρα που επενδύουν τα αιμοφόρα αγγεία. Πιο συγκεκριμένα, PCR-αντίστροφης μεταγραφής του μαστού, του παχέος εντέρου, του οισοφάγου των νεφρών και του σπλήνα έδειξε ότι εκφράζονται τα *SAA1*, *SAA2* και το *SAA4* γονίδια αλλά όχι και το *SAA3*. Τα ευρήματα αυτά προτείνουν ένα πιθανό ρόλο για την συστατικά εκφρασμένη A-SAA σαν ένα ανοσολογικό αμυντικό μόριο σε τοπικές περιοχές, παρέχοντας με αυτό τον τρόπο μια άμεση τοπική υπεράσπιση ενάντια στους φλεγμονώδεις παράγοντες, κατά την διάρκεια της συστηματικής απάντησης που έχουμε αυξανόμενη ηπατική σύνθεση.

Ένας αριθμός από μελέτες για τους προαγωγείς του ανθρώπινου *SAA2* γονιδίου, του *Saa3* του ποντικιού, του *SAA1* του αρουραίου και του *SAA2* του κουνελιού, πραγματοποιήθηκαν για να προσδιορίσουν τις *cis*- ενεργές ακολουθίες και τους *trans*-ενεργούς μεταγραφικούς παράγοντες που περιλαμβάνονται στην ογκώδη μεταγραφική αυτορύθμιση των A-SAAs μετά από ένα ερέθισμα. Στους προαγωγείς του A-SAA και των τεσσάρων ειδών, έχουν βρεθεί και χαρακτηριστεί οι NF-κB και C/EBP ακολουθίες αναγνώρισης του μεταγραφικού παράγοντα. Η συν-λειτουργία μεταξύ των μελών των οικογενειών των δύο παραγόντων μεταγραφής, που συνδέονται ο ένας με τον άλλο μέσω των bZIP και Rel περιοχών αντίστοιχα, εμφανίζεται να είναι σημαντική για την επαγωγή της A-SAA γονιδιακής μεταγραφής.

### Δομή των SAA πρωτεϊνών

Σχετικά πρόσφατες μελέτες θεωρούν ότι η A-SAA πιθανόν περιέχει δύο περιοχές με δομή α-έλικας και περιοχές με δομή β-ελάσματος, που είναι κοινές για όλες τις αμυλοειδείς πρωτεΐνες, συμπεριλαμβανομένης της αμυλοειδούς A πρωτεΐνης.

Άλλες δομικές μελέτες αποκάλυψαν μια περιοχή σημαντική για την δέσμευση της HDL και τον σχηματισμό των αμυλοειδών νηματίων, που περιλαμβάνει τα N-τελικά αμινοξέα 1-11. Πρόσφατα αναγνωρίστηκαν πρόσθετες περιοχές δέσμευσης για την λαμινίνη, που εντοπίζονται σε ένα τμήμα που αντιστοιχεί στα υπολείμματα 24-76 και για την ηπαρίνη/θειική ηπαρίνη στα C-τελικά υπολείμματα 78-104, που και οι δύο εμπλέκονται στην παθογένεση της AA αμυλοείδωσης.



Η περιοχή μεταξύ των υπολειμμάτων 29 και 42 στην ανθρώπινη A-SAA περιέχει δυο στοιχεία, YIGSD και RGN, τα οποία είναι όμοια με τις ευδιάκριτες περιοχές δέσμευσης δυο εξωκυττάρων προσφυτικών γλυκοπρωτεϊνών, της λαμινίνης (YIGSR) και της ινοσυνδετινής (RGD) αντίστοιχα. Πράγματι, SAA που προήλθε από το πεπτιδίο “29 –42” εμπόδισε την προσκόλληση των T- λεμφοκυττάρων και των αιμοπεταλίων στις επιφάνειες του SAA που ήταν καλυμμένες με ινοσυνδετινή και λαμινίνη. Συνεχίζεται η έρευνα για την πρωτογενή και δευτερογενή δομή του SAA και σίγουρα θα δώσει περισσότερες πληροφορίες για την λειτουργία του.

### Λειτουργικός ρόλος του SAA – Βιοχημικές ιδιότητες

Οι A-SAA πρωτεΐνες έχουν διατηρηθεί ιδιαίτερα κατά την εξέλιξη και αυτό μαζί με την εντυπωσιακή επαγωγή της έκφρασης κατά την εμφάνιση απειλητικών προκλήσεων, σημαίνει ένα σημαντικό ρόλο στην απάντηση οξείας φάσης.

Υπάρχουν δυο αναφερόμενες ανοσο-σχετικές λειτουργίες του SAA. Το SAA επάγει τα ένζυμα που αποδομούνται από ECM, όπως η κολλαγενάση, η στρωμαλυσίνη και οι μεταλλοπρωτεϊνάσες 2 και 3, που είναι σημαντικές για την αποκατάσταση ενός καταστρεμμένου ιστού. Παρ' όλα αυτά, η παρατεταμένη έκφραση του SAA και η επακόλουθη διαρκής παραγωγή αυτών των ενζύμων, μπορεί να διαδραματίζει ένα ρόλο στις εκφυλιστικές ασθένειες, όπως στη ρευματοειδή αρθρίτιδα. Μελέτες *in vitro* έδειξαν ότι το SAA δρα σαν χημειοελκτικό για κύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος, όπως τα μονοκύτταρα, τα πολυμορφοπύρρηνα λευκοκύτταρα, τα σιτευτικά κύτταρα (ιστιοκύτταρα) και τα T-λεμφοκύτταρα. Αν το SAA είχε αυτή την ιδιότητα και *in vivo* τότε η τοπική παραγωγή του θα οδηγούσε στην ενεργή στρατολόγηση αυτών των τύπων κυττάρων στις περιοχές της φλεγμονής και στην αύξηση της τοπικής φλεγμονής.

Εκτός από την ικανότητα του SAA να επάγει τα ένζυμα που αποδομούνται από ECM, δυο πρόσφατες μελέτες ανέφεραν επαγωγή προ-φλεγμονωδών κυτταροκινών από το SAA. Στην πρώτη, το ghSAA1.1 επάγει τα μονοκύτταρα THP-1 να συνθέσουν IL-1 $\beta$ , IL-1 $\alpha$  και διαλυτό TNFR-II mRNA και πρωτεΐνη αλλά δεν έχει κανένα αποτέλεσμα στη σύνθεση διαλυτού TNFR-I, IL -6 και TNF - $\alpha$ , ενώ στη δεύτερη, συμπλέγματα από SAA-ECM προκάλεσαν την έκκριση του TNF- $\alpha$  από τα ανθρώπινα T- λεμφοκύτταρα. Από τα παραπάνω προκύπτει ότι ίσως οι πρωτεΐνες A-SAA έχουν ιδιότητες όμοιες με τις κυτταροκίνες, γεγονός που θα απαιτούσε κυτταρικούς υποδοχείς ή περιοχές δέσμευσης. Το SAA3 του κουνελιού μπορεί να

δεσμευτεί και συγκεκριμένα και κεκορεσμένα στους αρθρικούς ινωδοβλάστες, με μια συγγένεια περίπου ~20 nM και 800.000 περιοχές δέσμευσης ανά κύτταρο, το οποίο είναι συμβατό με την ύπαρξη κυτταρικών υποδοχέων για το SAA3 σε αυτά τα κύτταρα.

Τα χημειοελκτικά, όπως η N-φορμυλο-μεθειονυλο-λευκοσυλο-φαινυλαλανίνη (fMetLeuPhe) και οι χημειοκίνες, δρουν δεσμεύοντας υποδοχείς G πρωτεϊνών. Πράγματι πρόσφατες αναφορές παρουσίασαν στοιχεία για την δέσμευση του SAA σε τέτοιους υποδοχείς. Η απόδειξη των αλληλεπιδράσεων των fMetLeuPhe και των χημειοκινών με τους υποδοχείς τους στα μονοκύτταρα μέσω μονοπατιών των G-πρωτεϊνών είναι η κινητοποίηση του  $Ca^{2+}$  και η ενεργοποίηση της πρωτεϊνικής κινάσης C. Πρόσφατα πειράματα διασταυρούμενης απευαισθητοποίησης απέδειξαν ότι ο αγωνιστής fMetLeuPhe μπορεί να δεσμευτεί στον ίδιο υποδοχέα με το A-SAA. Αν και η rhA-SAA δεν απευαισθητοποιεί την κινητοποίηση  $Ca^{2+}$  που επάγεται από τις χημειοκίνες ή την fMetLeuPhe, η fMetLeuPhe μπορεί να επηρεάσει την rhA-SAA-επαγόμενη κινητοποίηση  $Ca^{2+}$  και αυτό σημαίνει ότι το SAA δρα μέσω ενός χαμηλής συγγένειας fMetLeuPhe υποδοχέα. Υπάρχουν δυο επτα-διαμεμβρανικοί υποδοχείς G-πρωτεϊνών, ο FPR και ο FPRL 1 (ή υποδοχέας λιποξίνης  $A_4$ ) στους οποίους η fMetLeuPhe μπορεί να δεσμεύεται με υψηλή και χαμηλή συγγένεια, αντίστοιχα, για να επηρεάσει την κινητοποίηση του  $Ca^{2+}$ . Ο τελευταίος έχει επίσης αναφερθεί, ότι είναι ένας υψηλής συγγένειας υποδοχέας για τον εικοσανοειδή μεταβολίτη λιπιδίων, την λιποξίνη  $A_4$  και εκφράζεται στα μονοκύτταρα, στα ουδετερόφιλα και στα ηπατοκύτταρα.

Όταν το SAA ελευθερώνεται στην κυκλοφορία ενσωματώνεται στην HDL, την τάξη των λιποπρωτεϊνικών μορίων, που διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην αποφυγή της αρτηριοσκλήρωσης, μεσολαβώντας στην αντίστροφη μεταφορά χοληστερόλης και παρεμποδίζοντας την οξείδωση των λιπιδίων (LDL) που προωθεί τον σχηματισμό αφρωδών κυττάρων. Συνεπώς, η σύνδεση του SAA με την HDL κατά την διάρκεια οξείας φλεγμονής μπορεί να αλλάξει τον μεταβολισμό της HDL και την μεταφορά της χοληστερόλης. Υπάρχουν δυο κύριες υποθέσεις για τον ρόλο που το SAA διαδραματίζει στη μεταφορά της χοληστερόλης κατά την διάρκεια της φλεγμονής. Η μια είναι ότι το SAA αλλάζει αντίστροφα την μεταφορά χοληστερόλης για να επιτραπεί η παράδοση λιπιδίων, ιδιαίτερα της χοληστερόλης, μέσω της HDL στα περιφερικά κύτταρα που μπορεί να έχουν μια αυξημένη απαίτηση για χοληστερόλη για να διευκολυνθεί η αναγέννηση του ιστού στις περιοχές της

φλεγμονής. Η άλλη είναι ότι το SAA διευκολύνει την απομάκρυνση των μεγάλων ποσοτήτων χοληστερόλης που ελευθερώθηκε στον τόπο καταστροφής του ιστού κατά την φλεγμονή. Επιπλέον, διάφορα ένζυμα που εμπλέκονται στο μεταβολισμό της χοληστερόλης και περιλαμβάνουν την λεκιθινο-χοληστερική ακυλοτρανσφεράση, την ομάδα -IIA μη παγκρεατικής φωσφολιπάσης  $A_2$  (sPLA<sub>2</sub>) και την ουδέτερη χοληστερολική εστερική υδρολάση, επηρεάζονται από την επαγωγή του SAA κατά την διάρκεια της απάντησης οξείας φάσης.

Κάτω από φυσιολογικές συνθήκες, η ApoA-I είναι η κύρια απολιποπρωτεΐνη της HDL. Κατά την διάρκεια όμως της οξείας φάσης, το SAA γίνεται η κύρια συνδεμένη με HDL απολιποπρωτεΐνη και το μόριο περιέχει λιγότερη ApoA-I. Καθώς η HDL είναι η περιοχή εστεροποίησης της χοληστερόλης, η οποία γίνεται μέσω της δράσης της λεκιθινο-χοληστερολικής ακυλοτρανσφεράσης, η οποία, στη συνέχεια απαιτεί ApoA-I ως συμπράγοντα, η σχετική έλλειψη της ApoA-I στο σύμπλεγμα SAA-HDL κατά τη διάρκεια της φλεγμονής, μπορεί να αποτελεί το θετικό συσχετισμό που παρατηρήθηκε μεταξύ του SAA του πλάσματος και της μη εστεροποιημένης χοληστερόλης και τον αρνητικό συσχετισμό με την δραστηριότητα του ενζύμου.

Η sPLA<sub>2</sub> που παράγεται από αγγειακά λεία μυϊκά κύτταρα ανιχνεύεται και στις ανθρώπινες αρτηριοσκληρωτικές αλλοιώσεις. Αρχικά προτάθηκε ότι η sPLA<sub>2</sub> θα δρούσε στο μόριο της HDL όπως η ηπατική λιπάση, υδρολύοντας HDL φωσφολιπίδια και ανακατανέμοντας την χοληστερόλη από τον πυρήνα στην επιφάνεια, διευκολύνοντας με αυτό τον τρόπο τη μεταφορά στις πλασματικές μεμβράνες του κυττάρου. Μια πρόσφατη μελέτη έδειξε ότι η ανθρώπινη SAA-HDL είναι δυο ως τρεις φορές πιο ευαίσθητη στην υδρόλυση από sPLA<sub>2</sub> από την κανονική HDL. Επίσης η A-SAA, αλλά όχι η C-SAA, ενισχύει την δραστηριότητα της sPLA<sub>2</sub>, και η υπέρ-έκφραση της sPLA<sub>2</sub> στα διαγονιδιακά ποντίκια μπορεί να μειώσει τα επίπεδα της HDL κατά 30%. Συνεπώς, στην ενισχυμένη υδρόλυση της HDL από την sPLA<sub>2</sub> στην οξεία φάση φαίνεται να μεσολαβεί η ίδια η A-SAA.

Ένα άλλο προϊόν της υδρόλυσης από sPLA<sub>2</sub> είναι το αραχιδονικό οξύ, το οποίο είναι ο πρόδρομος των προ-φλεγμονωδών εικοσανοειδών. Το ανθρώπινο SAA 1, αλλά όχι η ApoA-I, μπορεί να ενισχύσει την βιοσύνθεση των εικοσανοειδών, της θρομβοξάνης  $A_2$  και των προσταγλανδινών E<sub>2</sub> και F<sub>2a</sub> στα ασβέστιο-διεγερμένα μονοκύτταρα. Καθώς η αθηρογένεση μπορεί να προαχθεί από την συσσωμάτωση των ελευθερών προϊόντων του αραχιδονικού οξέος π.χ. την λυσοφωσφατιδυλοχολίνη που

προκαλεί βλάβη της μεμβράνης και τοξικά οξυγονωμένα λιπαρά οξέα, το SAA και η sPLA<sub>2</sub> είναι πιθανόν να εμπλέκονται στην παθογένεια αυτής της ασθένειας.

### Ο αντιφλεγμονώδης ρόλος του SAA

Μόλις πριν από δύο δεκαετίες περίπου, το SAA αναμείχθηκε στην καταστολή των *in vitro* ανοσολογικών απαντήσεων στα αντιγόνα επηρεάζοντας τις αλληλεπιδράσεις των T-μακροφάγων και την λειτουργία των βοηθητικών T-λεμφοκυττάρων. Το ανθρώπινο SAA είναι ένας ισχυρός ανασταλτικός παράγοντας των λεμφοκυττάρων και της λειτουργίας των κυττάρων HeLa και MRC5. Προτάθηκε επίσης μια πιθανή σχέση ανατροφοδότησης μεταξύ SAA και ανοσορυθμιστικών κυτταροκινών βασισμένη στην παρατήρηση ότι το SAA αναστέλλει τον πυρετό που προκλήθηκε από την IL-1 και τον TNF. Η IL-1 και ο TNF προκαλούν πυρετό υποκινώντας την σύνθεση προσταγλανδίνης E<sub>2</sub> στον υποθάλαμο και ως γνωστόν η παραγωγή της προσταγλανδίνης E<sub>2</sub> σχετίζεται άμεσα με το μέγεθος του πυρετού.

Αναφέρθηκε επίσης ότι η συναθροίση των αιμοπεταλίων εμποδίζεται από το SAA και ότι το SAA υποκινεί την προσταγλανδίνη I<sub>2</sub>, η οποία είναι ένας αντί-συναθροιστικός παράγοντας. Επειδή και τα αιμοπετάλια και τα ενδιάμεσα προϊόντα που ελευθερώνονται από αυτά κατά την ενεργοποίηση, εμπλέκονται στις φλεγμονώδεις και στις θρομβωτικές διαδικασίες, προτείνεται ότι το SAA δρα για να υπό-ρυθμίζει τέτοια προ-φλεγμονώδη γεγονότα κατά τη διάρκεια της οξείας φάσης.

Το SAA δεσμεύεται στα ουδετερόφιλα και όπως και άλλες απολιποπρωτεΐνες σαν την ApoA-I, εμποδίζει την οξειδωτική έκρηξη. Αυτό σημαίνει ότι ίσως προάγει την οξειδωτική βλάβη του ιστού κατά τη διάρκεια της φλεγμονής.

### Κλινική σημασία του SAA -Σύνδεση με ασθένειες

#### -SAA και AA-Αμυλοείδωση

Ο ρόλος του SAA στην παθογένεση της AA –αμυλοείδωσης έγινε σαφής το 1975, μετά την απομόνωσή του και το χαρακτηρισμό του. Η κυρίαρχη A-αμυλοειδής πρωτεΐνη που βρέθηκε στους αμυλοειδικούς ιστούς αντιστοιχεί στα N-τελικά δυο τρίτα της SAA πρωτεΐνης. Τα 11 υπολείμματα αμινοξέων στα N-τελικά άκρα της SAA πρωτεΐνης και οι περιοχές δέσμευσης για την λαμινίνη και την ηπαρίνη/θειϊκή ηπαρίνη παίρνουν μέρος στη διαμόρφωση μιας αμυλοειδογενετικής χωροδιάταξης για το SAA, διευκολύνοντας τη διαδικασία πυρήνωσης που οδηγεί στην ινιδιογένεση και στην AA-αμυλοείδωση. Πολλαπλές πρωτεολυτικές πέψεις μπορεί να εμπλέκονται

στην επεξεργασία του SAA, καθώς φαίνεται ότι αρχικά μεταπίπτει σε ένα ενδιάμεσο προϊόν ίδιου μεγέθους και αντιγονικών ιδιοτήτων με το SAA και στη συνέχεια επεξεργάζεται περαιτέρω. Κατά αυτόν τον τρόπο η αμυλοειδής Α –αμυλοειδωση μπορεί να είναι το αποτέλεσμα από την ελλιπή πέψη και την επακόλουθη συσσώρευση των αμυλοειδογενετικών ενδιάμεσων πεπτιδίων του SAA.

Ένας μεγάλος αριθμός κύτταρο-συνδεδεμένων πρωτεασών του ορού εμπλέκεται στην αποδόμιση του SAA. Το SAA αποδομείται πιθανόν μετά την αποσύνδεσή του από την HDL, αν και ολόκληρα SAA βρέθηκαν σε αμυλοειδή ινίδια. Ακόμη, το ελεύθερο από λιπίδια SAA μπορεί να αποδομηθεί *in vitro* και να σχηματίσει ινίδια.

<b>Πίνακας 3. Πρωτεάσες που αποδομούν το SAA</b>
Πρωτεάσες σερίνης του ορού (θρομβίνη, καλικρεΐνη, πλασμίνη)
Ελαστάση, κολλαγενάση και στρομελυσίνη
Καθεψίνη Β
Πρωτεάσες του ασπαρτικού και καθεψίνη D
Καθεψίνη G

#### -Νεοπλασίες και SAA

Στον ορό ασθενών με διάχυτο καρκίνο εμφανίζονται υψηλά επίπεδα SAA, που απεικονίζουν την έκταση της κακοήθους ασθένειας, και συσχετίζονται αντίστροφα με την επιβίωση του ασθενούς. Διάφορες προτεινόμενες λειτουργίες για το SAA είναι συμβατές με τον μηχανισμό εισβολής καρκινικών κυττάρων και τις μεταστάσεις τους. Αυτές περιλαμβάνουν την παρεμπόδιση της σύνδεσης κακοηθών κυττάρων στις ECM πρωτεΐνες, την επαγωγή της έκφρασης των ενζύμων που αποδομούν τις ECM και επαγωγή της προσκόλλησης, της μετανάστευσης και της διήθησης του ιστού από κύτταρα. Επιπλέον, όπως ήδη αναφέρθηκε, το SAA περιέχει το λειτουργικό αργινίνη-γλυκίνη-ασπαρτικό οξύ (RGD) και τυροσίνη-ισολευκίνη-γλυκίνη-σερίνη-αργινίνη(YIGSR) μοτίβο προσκόλλησης, και πεπτιδία που περιέχουν το μοτίβο αυτό εμποδίζουν την εισβολή καρκινικών κυττάρων, την μετάσταση και την αγγειογένεση. Τα ευρήματα αυτά, μαζί με την παρατήρηση στην έκφραση του SAA στους ανθρώπινους ιστούς με όγκο, δείχνουν ότι το SAA διαδραματίζει ένα ρόλο σε ένα ή περισσότερα βήματα στην εξέλιξη ή την υποχώρηση των όγκων.

### -Ρευματοειδής αρθρίτιδα

Το SAA βρέθηκε σε υψηλές συγκεντρώσεις στο αρθρικό υγρό ασθενών με ρευματοειδή αρθρίτιδα. Ακόμη, το αρθρικό υγρό περιείχε ιντερλευκίνη-1 και ιντερλευκίνη-6, παράγοντες που υποκινούν την σύνθεση του SAA. Μια υπόθεση προτείνει ότι το SAA συντίθεται τοπικά σε αρθρικούς ιστούς και κύτταρα και δρα σαν ένας αυτοκρινής επαγωγός της κολλαγενάσης και άλλων μεταλλοπρωτεϊνών.

### -Σαρκοείδωση

Σε μελέτες που έγιναν τα αποτελέσματα έδειξαν μια σημαντική αύξηση των επιπέδων του SAA στους ασθενείς με σαρκοείδωση. Επίσης παρατηρήθηκε μια αρνητική συσχέτιση μεταξύ των επιπέδων SAA και των επιπέδων HDL-χοληστερόλης και απολιποπρωτεΐνης A-1 σε ασθενείς με ενεργό σαρκοείδωση. Αυτό σημαίνει ότι το SAA επηρεάζει το μεταβολισμό της χοληστερόλης κατά τη διάρκεια της πορείας της φλεγμονής και συμφωνεί με τον προτεινόμενο μηχανισμό της μετατόπισης απολιποπρωτεΐνης A-1 από το SAA, που πιθανόν έχει σαν αποτέλεσμα την αύξηση του καταβολισμού SAA που περιέχει HDL μόρια.

## **ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ**

## ΥΛΙΚΑ - ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ

Στην παρούσα έρευνα περιλήφθησαν 336 τυχαία δείγματα ασθενών, που παραπέμφθηκαν στο Ανοσολογικό εργαστήριο του Πανεπιστημιακού Γενικού Νοσοκομείου Λάρισας για προσδιορισμό της C-αντιδρώσας πρωτεΐνης. Στα ίδια δείγματα προσδιορίστηκε επίσης το αμυλοειδές A του ορού.

Για τον ποσοτικό προσδιορισμό της CRP και του SAA ακολουθήθηκε η ανοσονεφελομετρική μέθοδος με την χρήση του συστήματος BN II της DADE BEHRING. Τα απαιτούμενα αντιδραστήρια προμηθεύτηκαν επίσης από την ίδια εταιρεία

### Βασική αρχή της μεθόδου

#### A) CRP

Σωματίδια πολυστυρενίου επιστρωμένα με μονοκλωνικά αντισώματα ειδικά για την ανθρώπινη CRP συσσωματώνονται όταν αναμιγνύονται με δείγματα που περιέχουν ανθρώπινη CRP. Τα συσσωματώματα αυτά σκεδάζουν μια δέσμη φωτός που διέρχεται μέσα από το δείγμα. Η ένταση του σκεδαζομένου φωτός είναι ανάλογη προς τη συγκέντρωση της σχετικής πρωτεΐνης στο δείγμα. Το αποτέλεσμα αξιολογείται μέσω σύγκρισης με ένα πρότυπο γνωστής συγκέντρωσης

#### B) SAA

Σωματίδια πολυστυρενίου καλυμμένα με αντισώματα στο ανθρώπινο SAA συσσωματώνονται όταν αναμιγνύονται με δείγματα που περιέχουν ανθρώπινο SAA. Τα συσσωματώματα αυτά σκεδάζουν μια δέσμη φωτός που διέρχεται μέσα από το μείγμα. Η ένταση του σκεδαζομένου φωτός είναι ανάλογη προς τη συγκέντρωση της σχετικής πρωτεΐνης στο δείγμα και το αποτέλεσμα αξιολογείται από τη σύγκριση με ένα πρότυπο γνωστής συγκέντρωσης.

### Αντιδραστήρια

Για τον προσδιορισμό της C-αντιδρώσας πρωτεΐνης χρησιμοποιήθηκαν τα εξής αντιδραστήρια:

-N αντιδραστήριο CRP υψηλής ευαισθησίας που αποτελείται από ένα εναιώρημα σωματιδίων πολυστυρενίου επιστρωμένων με μονοκλωνικά αντισώματα ποντικού στην CRP.

-N πρότυπος ορός βαθμονόμησης ρευματολογίας SL.

-N/T πρότυποι οροί ελέγχου ρευματολογίας SL/1 και SL/2.



-Πρότυπος ορός ελέγχου απολιποπρωτεϊνών CHD.

-N συμπληρωματικό αντιδραστήριο.

-N αραιωτικό .

Κατάλληλα δείγματα για την συγκεκριμένη μέθοδο είναι ο ανθρώπινος ορός καθώς και ηπαρινισμένο πλάσμα και πλάσμα με EDTA, είτε όσο το δυνατόν πιο φρέσκα (διάρκεια φύλαξης όχι μεγαλύτερη από 8 ημέρες στους +2 έως +8 °C) είτε αποθηκευμένα στην κατάψυξη. Τα δείγματα του ορού πρέπει να έχουν πήξει εντελώς και , μετά την φυγοκέντρηση, δεν πρέπει να περιέχουν καθόλου σωματίδια ή ίχνη ινώδους. Λιπαιμικά δείγματα ή κατεψυγμένα δείγματα που εμφανίζουν θολερότητα μετά την απόψυξη, πρέπει να διαυγάζονται με φυγοκέντρηση πριν την εξέταση.

Για τον προσδιορισμό του αμυλοειδούς A του ορού (SAA) χρησιμοποιήθηκαν τα παρακάτω αντιδραστήρια:

-N αντιδραστήριο SAA που αποτελείται από λυοφιλοποιημένα σωματίδια πολυστυρένιου επιστρωμένα με αντισώματα προβάτου στο ανθρώπινο SAA.

-N πρότυπος ορός βαθμονόμησης SAA SY (ανθρώπινος) που παράγεται από ανθρώπινο ορό με αυξημένα επίπεδα SAA.

-N πρότυπος ορός ελέγχου SAA SY (ανθρώπινος) που παράγεται από ανθρώπινο ορό με αυξημένα επίπεδα SAA. Οι συγκεντρώσεις του N πρότυπου ορού βαθμονόμησης και του N πρότυπου ορού ελέγχου βαθμονομούνται λαμβάνοντας ως αναφορά το 1<sup>ο</sup> διεθνές πρότυπο του 1977 για την πρωτεΐνη του αμυλοειδούς A του ορού.

-N συμπληρωματικό αντιδραστήριο που αποτελείται από ένα ρυθμιστικό διάλυμα γλυκίνης NaCl , το οποίο περιέχει ως πρόσθετα πυρρολιδόνη και απορρυπαντικό.

Για τα δείγματα και την καταλληλότητά τους στον προσδιορισμό του αμυλοειδούς A του ορού ισχύει ότι αναφέρθηκε για τα δείγματα της C-αντιδρώσας πρωτεΐνης

Όσον αφορά την ειδικότητα των μεθόδων δεν είναι γνωστή διασταυρούμενη αντιδραστικότητα των χρησιμοποιηθέντων αντισωμάτων.

Οι φυσιολογικές τιμές για την συγκεκριμένη μέθοδο είναι οι ακόλουθες:

Για την CRP <8 mg/L και

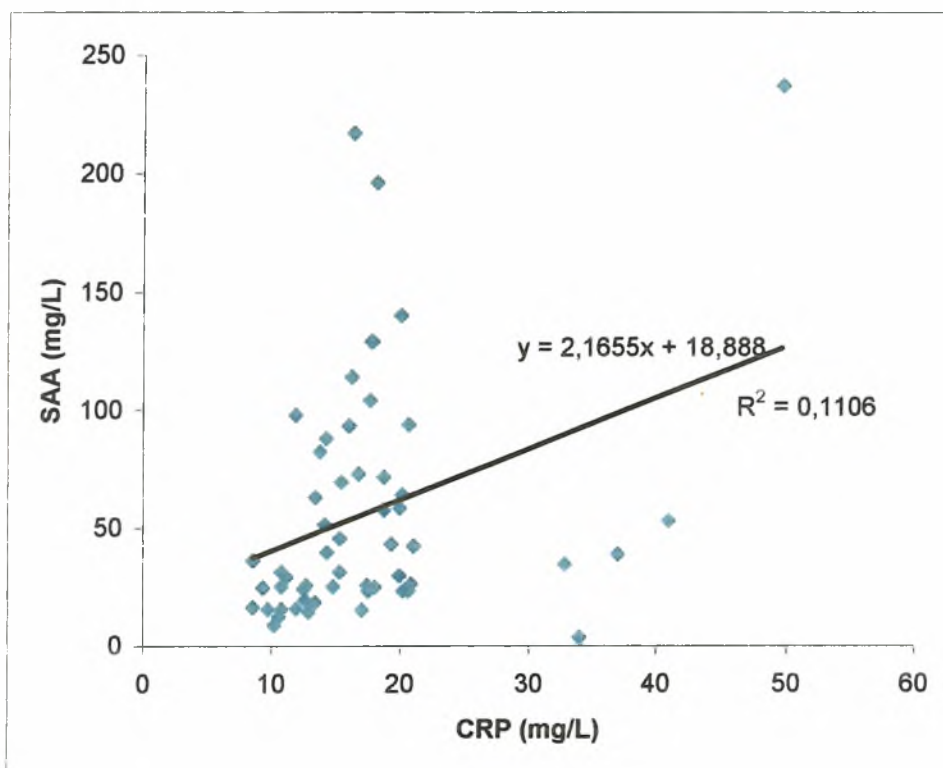
Για το SAA <6,4 mg/L.

### ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Μετά τον ανοσοφελομετρικό ποσοτικό προσδιορισμό στα 336 δείγματα βρέθηκαν 55 δείγματα με τιμές CRP και SAA άνω των φυσιολογικών ορίων, δηλαδή CRP > 8 mg/L και SAA > 6,4 mg/L (πίνακας 4). Επιπλέον, 49 δείγματα με φυσιολογικές τιμές CRP, CRP < 8 mg/L, είχαν SAA > 6,4mg/L. Οι τιμές των υπόλοιπων δειγμάτων κυμαίνονταν σε φυσιολογικά επίπεδα.

ΠΙΝΑΚΑΣ 4					
A/A	CRP	SAA	A/A	CRP	SAA
1	49,6	237,0	29	16,0	93,4
2	40,9	53,1	30	15,4	69,5
3	37,0	38,9	31	15,3	45,7
4	34,0	3,8	32	15,3	31,3
5	32,8	34,5	33	14,8	25,2
6	21,0	42,3	34	14,3	39,7
7	20,8	26,2	35	14,2	88,0
8	20,6	94,0	36	14,1	51,5
9	20,6	23,4	37	13,7	82,4
10	20,2	23,4	38	13,4	63,0
11	20,1	64,1	39	13,4	18,4
12	20,0	140,0	40	12,9	14,5
13	19,9	58,6	41	12,7	25,7
14	19,9	29,7	42	12,6	19,6
15	19,3	43,1	43	12,5	24,2
16	18,7	71,5	44	11,9	15,9
17	18,7	57,8	45	11,8	98,0
18	18,1	196,0	46	11,1	29,3
19	18,0	25,0	47	10,7	31,5
20	17,8	129,0	48	10,7	25,3
21	17,7	129,0	49	10,7	15,6
22	17,6	104,0	50	10,5	12,4
23	17,5	23,4	51	10,2	8,8
24	17,4	25,8	52	9,7	15,5
25	17,0	15,4	53	9,3	24,7
26	16,7	73,0	54	8,5	36,3
27	16,3	217,0	55	8,5	16,3
28	16,2	114,0			

Στα 55 δείγματα που αναφέρονται παραπάνω, έγινε συσχέτιση (regression analysis), με την βοήθεια του στατιστικού προγράμματος SPSS, έκδ.10.0, και βρέθηκε ότι δεν υπάρχει στατιστικά σημαντική συσχέτιση ( $R^2 = 0,1106$ )



**Εικόνα 5.**

Γραφική παράσταση των αυξημένων τιμών CRP και SAA.

Πρόκειται λοιπόν για δύο πρωτεΐνες της αντίδρασης οξείας φάσης οι οποίες αυξάνονται δραματικά κατά την διάρκεια της αντίδρασης, αλλά χωρίς να συσχετίζονται ιδιαίτερα μεταξύ τους.

## ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Η απάντηση οξείας φάσης είναι ένα σημαντικό παθοφυσιολογικό φαινόμενο, μια σύνθετη και ιδιαίτερα πολύπλοκη διαδικασία, στην οποία περιλαμβάνονται πολλοί τύποι κυττάρων και μόρια, μερικά από τα οποία αρχίζουν, ενισχύουν ή στηρίζουν την διαδικασία και μερικά την μειώνουν.

Οι πρωτεΐνες που παράγονται κατά την φάση αυτή και ονομάζονται πρωτεΐνες οξείας φάσης, έχουν μεγάλη διαγνωστική σημασία.

Ο προσδιορισμός της συγκέντρωσης των πρωτεϊνών οξείας φάσης και κυρίως αυτών που μεταβολίζονται πολύ γρήγορα, όπως η CRP και το SAA, είναι δυνατόν να επιβεβαιώσει ή να αποκλείσει την φλεγμονή ή την ιστική νέκρωση στην επείγουσα διαφοροδιαγνωστική. Τυπικό παράδειγμα αποτελεί η συμβολή του προσδιορισμού της CRP στη διαφορική διάγνωση ενός άτυπου κοιλιακού πόνου. Αν δηλαδή πρόκειται για συγκαλυμμένη διάτρηση δωδεκαδακτυλικού έλκους ή για κατώτερο έμφραγμα του μυοκαρδίου, η τιμή της CRP θα είναι λίγο ή καθόλου επηρεασμένη, ενώ, αντίθετα, θα είναι πολύ αυξημένη, αν ο πόνος προέρχεται από φλεγμονή των χοληφόρων οδών. Με τον ίδιο τρόπο, η αύξηση της CRP στην περίπτωση γυναίκας που εμφανίζεται με οξύ υπογαστρικό πόνο, θα οδηγήσει σε μια πιθανή διάγνωση εξαρτηματίτιδας.

Επίσης σε χρόνιες καταστάσεις η αύξηση της συγκέντρωσης των πρωτεϊνών οξείας φάσης είναι δυνατόν να αποτελεί την ένδειξη για μια υποκείμενη λοίμωξη. Για παράδειγμα ένα εμπύρετο επεισόδιο σε ασθενή με συστηματικό ερπηματώδη λύκο μπορεί να αποδοθεί σε μια μικροβιακή λοίμωξη και όχι στην ίδια τη νόσο, αν υπάρχει αύξηση των πρωτεϊνών οξείας φάσης και παράλληλα ο ασθενής λαμβάνει κορτικοειδή, τα οποία συγκαλύπτουν την πλήρη εκδήλωση της λοίμωξης.

Ποσοτικοί προσδιορισμοί διαδοχικών δειγμάτων χρησιμεύουν στη διάγνωση, τον καθορισμό της βαρύτητας και την παρακολούθηση της εξέλιξης νοσημάτων που χαρακτηρίζονται από φλεγμονή ή ιστική νέκρωση. Παράλληλα, αν λάβουμε υπόψη την ταχεία άνοδο και πτώση της CRP και του SAA, έχει σημασία και ο χρόνος της λήψης του δείγματος για την αξιολόγηση του αποτελέσματος.

Σκοπός αυτής της έρευνας ήταν να μελετηθούν τα αποτελέσματα και να αξιολογηθεί η συγκέντρωση του αμυλοειδούς-A του ορού έναντι της C-αντιδρώσας πρωτεΐνης, ως δείκτη της αντίδρασης οξείας φάσης.

Η στατιστική ανάλυση έδειξε τελικά μη σημαντική συσχέτιση μεταξύ αυτών των δυο παραμέτρων. Αυτό προφανώς σημαίνει ότι πρόκειται για δύο διαφορετικούς διαγνωστικούς δείκτες. Άρα η μέτρηση του ενός δεν πρέπει να αποκλείει την μέτρηση του άλλου, αντίθετα μάλιστα θα πρέπει να μετρούνται και τα δυο έτσι ώστε να παρέχεται μια πιο ολοκληρωμένη εικόνα για την πορεία της οξείας φάσης .

Ο προσδιορισμός λοιπόν και των δυο δεικτών θεωρείται απαραίτητος διότι:

- πιθανόν το αμυλοειδές A του ορού να παρουσιάζει μεγαλύτερη ευαισθησία κατά την έναρξη της οξείας φάσης (αυξημένος αριθμός δειγμάτων με τιμές SAA άνω των φυσιολογικών ορίων έναντι της CRP )

-η στατιστική επεξεργασία απέδειξε ότι υπάρχει μικρή συσχέτιση μεταξύ τους και ότι οι αυξήσεις των τιμών γίνονται ανεξάρτητα της μιας από την άλλη παράμετρο.

## ABSTRACT

### The appreciation of serum amyloid A concentration as gauge of the acute phase reaction in comparison with the C-reactive protein concentration

*Graduate Thesis*

*by*

Ann kyriazi

**OBJECTIVE** To measure and appreciate the serum amyloid A concentration as gauge of the acute phase reaction comparison with the C-reactive protein concentration

**MATERIAL-METHOD** The specification of CRP and SAA concentration was accomplished in 336 accidental samples which were be taken from patients of the University General Hospital in Larissa. For the appreciation of the results we did not take into account the receiving time from each patient. The measurements both of parameters (CRP, SAA) was performed by immunonephelometry with the use of nephelometer BN II of DADE-BEHRINGER company. All the requisite reagents, antiserum, calibrators and control samples were provided by the manufacturer.

**RESULTS** From the 336 pairs of values which were measured, were found 55 samples with CRP and SAA above from the normal values, that is  $CRP < 8\text{mg/L}$  and  $SAA < 6,4\text{mg/L}$ . Also were found furthermore 49 samples with increased values of SAA. The rest samples were ranged to normal values. These samples were correlated between the two parameters (regression analysis) using the SPSS program, ed 10.0 and it was proved that there was not statistically important correlation between them ( $R^2=0,1106$ )

**CONCLUSION** The results suggested that there is a low correlation between the two parameters and there is not matter of election the one or the other. When it's about for two different gauges of acute phase reaction, must be measured and appreciated both of them, so that be offered a more complete image of the acute phase and her progress.

## ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- ΓΕΡΜΕΝΗΣ ΑΝΑΣΤΑΣΙΟΣ. Ιατρική Ανοσολογία, Εκδόσεις Παπαζήσης, Αθήνα 2000.  
Κεφ.7, σελ.129-134
- ΓΙΑΝΝΑΚΗ-ΨΙΝΑΚΗ Μ. C-αντιδρώσα πρωτεΐνη, Εφαρμοσμένη Κλινική Μικροβιολογία και Εργαστηριακή Διαγνωστική, τόμος 5, τεύχος 5, σελ.211-217, 1990
- ΠΑΛΕΡΜΟΣ ΙΩΑΝΝΗΣ. C-αντιδρώσα πρωτεΐνη, Εφαρμοσμένη Κλινική Μικροβιολογία και Εργαστηριακή Διαγνωστική, Τόμος 5, Τεύχος 5, σελ.107-112, 1990
- ΠΑΥΛΑΤΟΥ Μ. Ανοσολογία, Γ' Έκδοση, σελ. 62-63
- ΤΑΠΡΑΝΤΖΗ Π, ΚΟΥΚΟΥΛΟΜΑΤΗ-ΦΡΑΓΚΟΥ Ε, ΚΟΥΡΑΚΗΣ Γ. Η C-αντιδρώσα πρωτεΐνη στη διάγνωση των λοιμώξεων, Παιδιατρική 52. 222-230, 1989
- AGRAWAL A., XU Y., ANSARDI D., MACON K., VOLANAKIS J., 1992. Probing the phosphocholine-binding site of human C-reactive protein by site-directed mutagenesis. J. Biol. Chem. 267, 25352-25358
- BARNA B., JAMES K., DEODHAR S., 1987. Activation of human monocyte tumoricidal activity by C- reactive protein. Cancer Res. 47, 3959-3963.
- BEACH C., DEBEER M., SIPE J., LOOSE L., 1992 Human serum amyloid A protein: complete amino acid sequence of a new variant. Biochem. J. 282, 615-620.
- BENSON M., & ALDO-BENSON M., 1979. Effect of purified protein SAA on immune response *in vitro* : mechanisms of suppression. J. Immunol. 122 , 2077-2082.
- BERMAN S., GEWURZ H., MOLD C., 1986. Binding of C-reactive protein to nucleated cells leads to complement activation without cytolysis. J. Immunol. 136, 1354-1359.
- BUCHTA R., GENNARO R., PONTET M., 1988. C-reactive protein decreases protein phosphorylation in stimulated human neutrophils. FEBS lett. 237 , 173-177.
- CILIBERTO G., ARCONI R., WAGNER E., 1987. Inducible and tissue-specific expression of human C-reactive protein in transgenic mice. EMBO J. 6, 4017-4022.
- COLTEN H., (1992) Tissue-specific regulation of inflammation. J. Appl. Physiol. 72,1-7.
- CLYNE BRIAN AND OLSHAKER JONATHAN. The C-reactive protein. The journal of Emergency Medicine . vol. 17, no 6 , pp 1019-1025, 1999.
- DOBRINICH R., SPAGNUOLO P., 1991. Binding of C-reactive protein to human neutrophils. Inhibition of respiratory burst activity. Arthritis rheum. 34,1031-1038.
- DU CLOS T.W. 1989. C-reactive protein reacts with the U1 small nuclear ribonucleoprotein. J.Immunol. 156 , 4815-4820.
- EMSLEY J., WHITE H., O'HARA B., OLIVA G., 1994. Structure of pentameric human serum amyloid P component. Nature 367 , 338-345.
- GABAY CEM. AND KUSHNER IRVING. Acute-phase proteins and other systemic responses to inflammation. The new England Journal of Medicine . volume 340, n. 6, 448-454.
- GALVE-DE ROCHEMONTEIX B., KUSHNER I., DAYER J., 1993. C-reactive protein increases production of IL-1 alpha, IL-1 beta, and TNF-alpha, and expression of mRNA by human alveolar macrophages. J. Leucoc. Biol. 53,439-445.
- GERSHOV D., KIM S., BROTH N., ELKON K., 2000. C-reactive protein binds to apoptotic cells, protects the cells from assembly of the terminal complement

components, and sustains an anti-inflammatory innate immune response : implications for systemic autoimmunity. *J. Exp. Med.* 192, 1353-1363.

GITLIN J.D., GITLIN J. I., 1977. Localization of C-reactive protein in synovium of patients with rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* 20, 1491-1499.

GRISELLI M., HERBERT J., 1999. C-reactive protein and complement are important mediators of tissue damage in acute myocardial infarction. *J. exp. Med.* 190, 1733-1739.

HACK E., WOLBINK G., 1977. A role for secretory phospholipase A<sub>2</sub> and C-reactive protein in the removal of injured cells. *Immunol. Today* 18, 11-115.

JANEWAY C. *Immunobiology.* 1994, 9:18.

JONES S., NOVICK D., 1999, C-reactive protein : a physiological activator of interleukin 6 receptor shedding. *J. Exp. Med.* 189, 599-604.

KINOSHITA C., SIEGEL J., 1989. Elucidation of a protease-sensitive site involved in the binding of calcium to C-reactive protein. *Biochemistry* 28 , 9840-9848.

KUSHNER I., 1963. Studies of acute-phase protein Localization of C-reactive protein in heart in induced myocardial infarction in rabbits. *J. Clin. Invest.* 42, 286-292.

LI S., GOLDMAN N., 1990. cis-Acting elements responsible for interleukin-6 inducible C-reactive protein gene expression *J. Biol. Chem.* 265 , 4136-4142.

LIEPNIECKS J., 1995. Characterization of amyloid A protein in human secondary amyloidosis: the predominant depositin of serum amyloid A1. *Biochim. Biophys. Acta.* 1270, 81-86.

LOWELL C., MORROW J., 1986. Transcriptional regulation of serum amyloid A gene expression. *J. Biol. chem.* 261, 8453-8461.

MACINTYRE S., SAMOLS D., 1994. Two carboxylesterases bind C-reactive protein within the endoplasmic reticulum and regulate its secretion during the acute-phase response. *J. Biol. Chem.* 269, 24496-24503.

MALLE E., HERZ R., 1998. Mapping of antigenic determinants of purified , lipid-free human serum amyloid A proteins. *Scand. J. immunol.* 48, 557-561.

MERIKA M., THANOS D., 2001. Enhanceosomes . *Curr. Op. gen. Dev.* 11, 205-208.

MOLD C., 1999. Regulation of complement activation by C-reactive protein. *Immunopharmacology* 42, 23-30.

MURPHY C., BECKERS J., 1995. Regulation of the human C-reactive protein gene in transgenic mice *J. Biol. Chem.* 270, 704-708.

PEPYS M., BOOTH S., 1994. Binding of pentraxins to different nuclear structures: C-reactive protein binds to small nuclear ribonucleoprotein particles, serum amyloid A component binds to chromatin and nucleoli. *Clin. Exp. Immunol.* 97, 152-157.

PEPYS MB. The acute-phase response and C-reactive protein. *The Oxford Textbook of Medicine.* 1996.ed.3, vol 2, pp 1527-1533.

RIDKER P., 2000. C-reactive protein and other markers of inflammation in the prediction of cardiovascular disease in women. *N. Engl. J. med.* 342, 836-843.

SALAZAR A. *European Journal of Clinical Investigation.* 2001. 31, 1070-1077.

SELDON M., Erythrocyte Sedimentation Rate HAPS Newsletter September 1995.

SELLAR G., JORDAN S., 1994. The human serum amyloid A protein superfamily gene cluster: mapping to chromosome 11p15.1 by physical and genetic linkage analysis. *Genomics* 19, 221-227.

SIEGEL J., OSMAND A., 1975. Interactions of C-reactive protein with the complement system II. CRP-mediated consumptions of complement by poly-L-lysine polymers and other polycations. *J. exp. Med.* 142, 709-721.



- SIMCHA URIELI, RENHOLD LINKE. Expression and function of serum amyloid A, a major acute-phase protein, in normal and disease states. *Current Opinion in Hematology* 2000, 7:64-69.
- SLETTEN K., 1989. The primary structure of equine serum amyloid A protein. *J. Immunol.* 30, 117-122.
- SYVERSEN P., HUSBY G., 1994. The primary structure of serum amyloid protein in sheep: comparison with serum amyloid A in other species. *J. Immunol.* 39, 88-94.
- SZALAI A., VOLANAKIS J. 2000. Complement-dependent acute-phase expression of C-reactive protein and serum amyloid P-component. *J. immunol.* 165, 1030-1035.
- THOMPSON D., WOOD S. 1999. The physiological structure of human C-reactive protein and its complex with phosphocholine. *Structure* 7, 169-177.
- TOMMASI S., MARIOTTI M. 1999. C-reactive protein as a marker for cardiac ischemic events in the year after a first uncomplicated myocardial infarction. *Am. J. cardiol.* 83, 1595-1599.
- TONIATTI C. ARNONE R. 1990. Regulation of the human C-reactive protein gene, a major marker of inflammation and cancer. *Mol. Biol. Med.* 7, 199-212.
- UHLAR CLARISSA AND WHITEHEAD ALEXANDER. Serum amyloid A, the major vertebrate acute-phase reactant. *Eur. J. biochem.* 265, 501-523 (1999).
- VOLANAKIS J. Human C-reactive protein: expression, structure and function. *Molecular Immunology* 38(2001) 189-197.
- YAMADA T., 1996. Both acute-phase and constitutive serum amyloid A are present in atherosclerotic lesions. *Pathol. Int.* 46, 797-800.