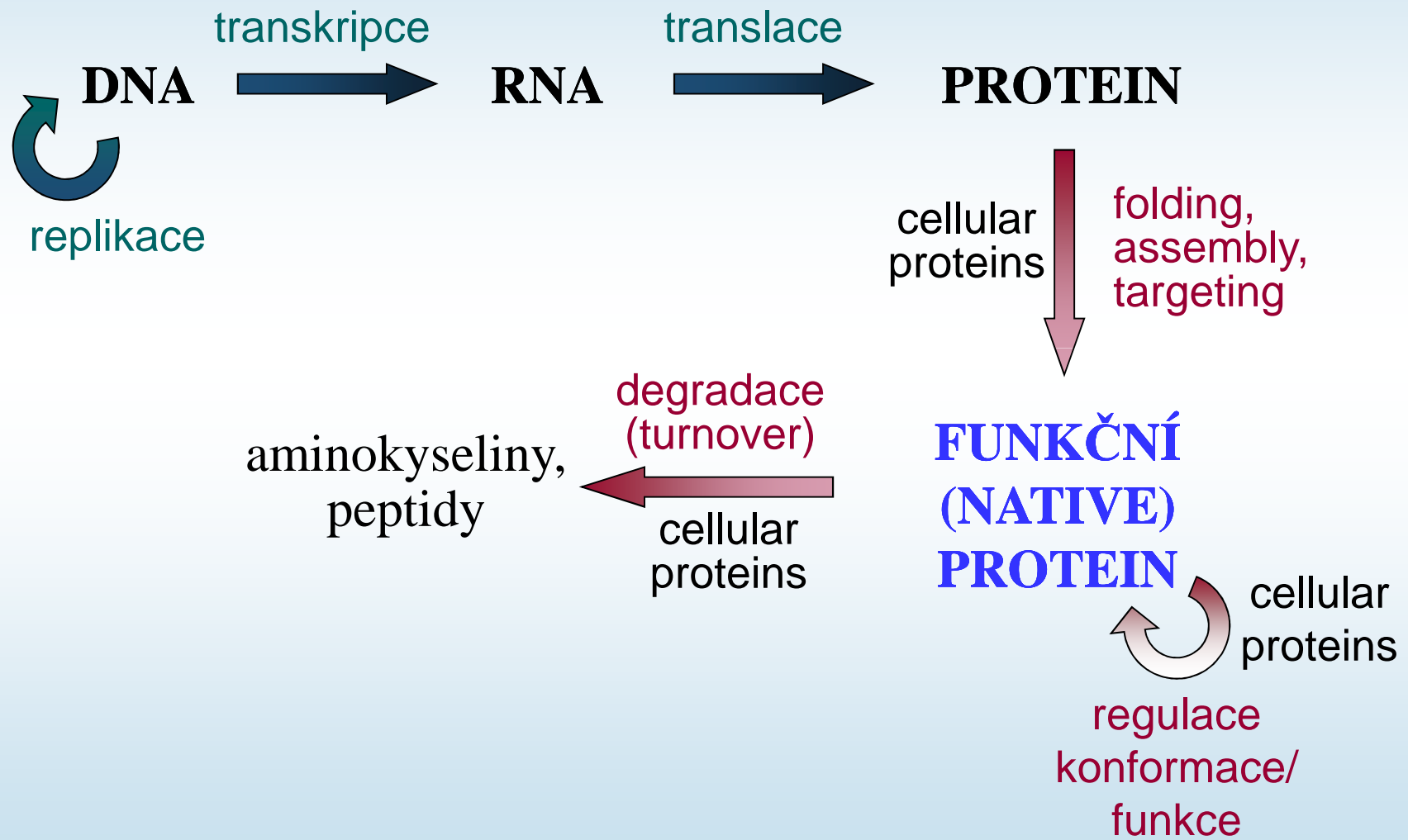


# Má tajemný clusterin u dětí v septickém stavu aktivitu chaperonu?

J. Žurek, P.Košut, M. Fedora

Klinika dětské anesteziologie a resuscitace, Lékařská fakulta MU,  
Fakultní nemocnice Brno



# Spojení biogenese a degradace: 'non-native' protein

## *Non-native protein:*

Protein, který není řádně složen, není ve funkčním stavu

- biogenesis znamená „narození bílkovin“ - přechod mezi „non-native k native states „
    - *skládání, transport k a přes biologické membrány, chemická nebo strukturální modifikace*
  - degradace reprezentuje „smrt“ proteinu, nebo přechod z native k „non-native“ stavu, k základním komponentám
    - *odstraňování proteinů*
- *Oba procesy mají svou „značku kvality“*



Native protein

Buněčný stres  
→

teplo/chlad  
chemikálie  
intracelulární  
změny



non-native protein



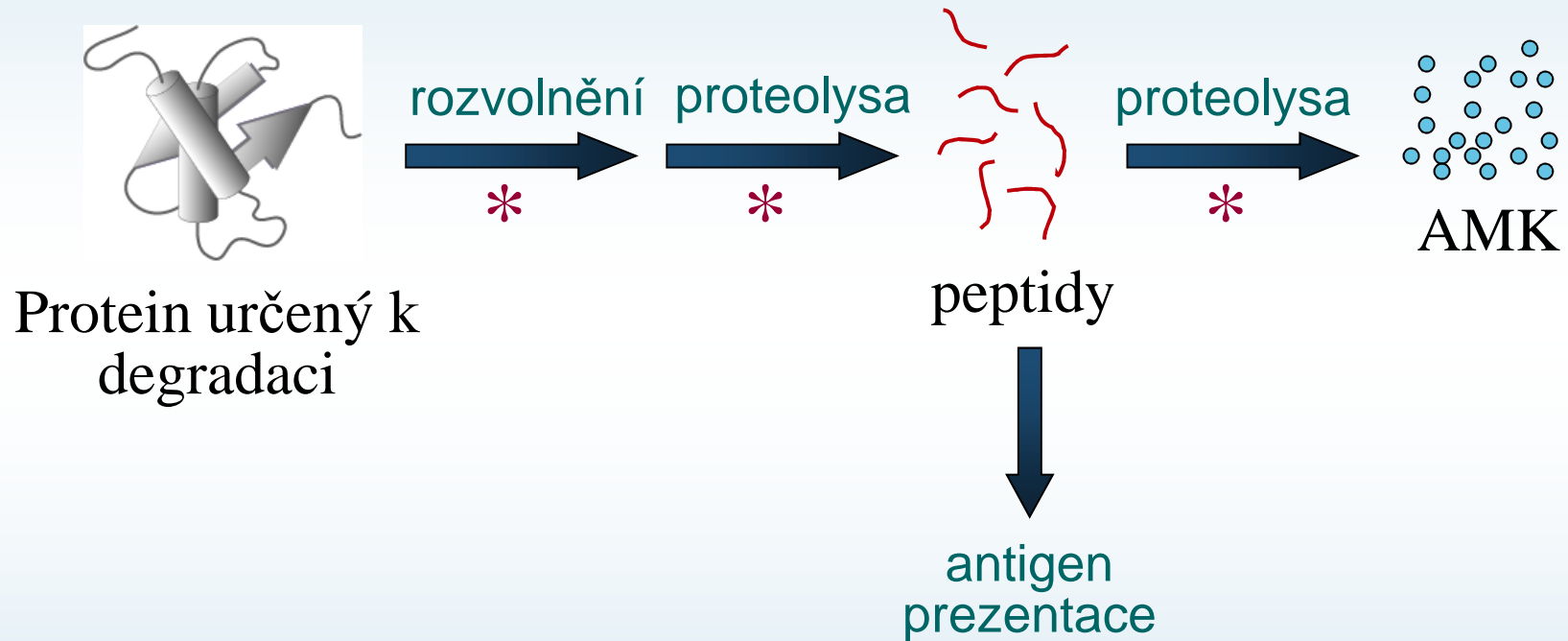
aggregated protein



various cellular  
proteins



# Degradace



Různé buněčné mechanismy

# Chaperone-like activity

teplo, oxidační stres, chemikálie, mutace → labilita proteinů → ztráta „nativní konformace“ → alternativní agregační forma

- váží se na proteiny nově vzniklé nebo s narušenou strukturou (ne na fungující)
- napomáhají vzniku funkční konformace proteinu (stavbě sekundární až kvartérní)
- mohou zabránit nesprávnému uspořádání nebo je i zvrátit

# Chaperone families

Eukaryotes	Archaea	Bacteria
-	-	Trigger Factor
NAC	NAC	-
Hsp70 system	[Hsp70 system]	Hsp70 system
prefoldin	prefoldin	-
chaperonins (group II)	chaperonins (group II)	chaperonins (Group I)
small Hsps	small Hsps	[small Hsps]
Hsp90	-	[Hsp90]
AAA ATPases	AAA ATPases	AAA ATPases
-	-	SecB
-	-	[PapD/FimC]
Hip, Hop, Bag, clusterin, cofactors A-E, calnexin, calreticulin, etc. etc.	-	-

# Molecular chaperones

rodina několika strukturálně odlišných proteinů

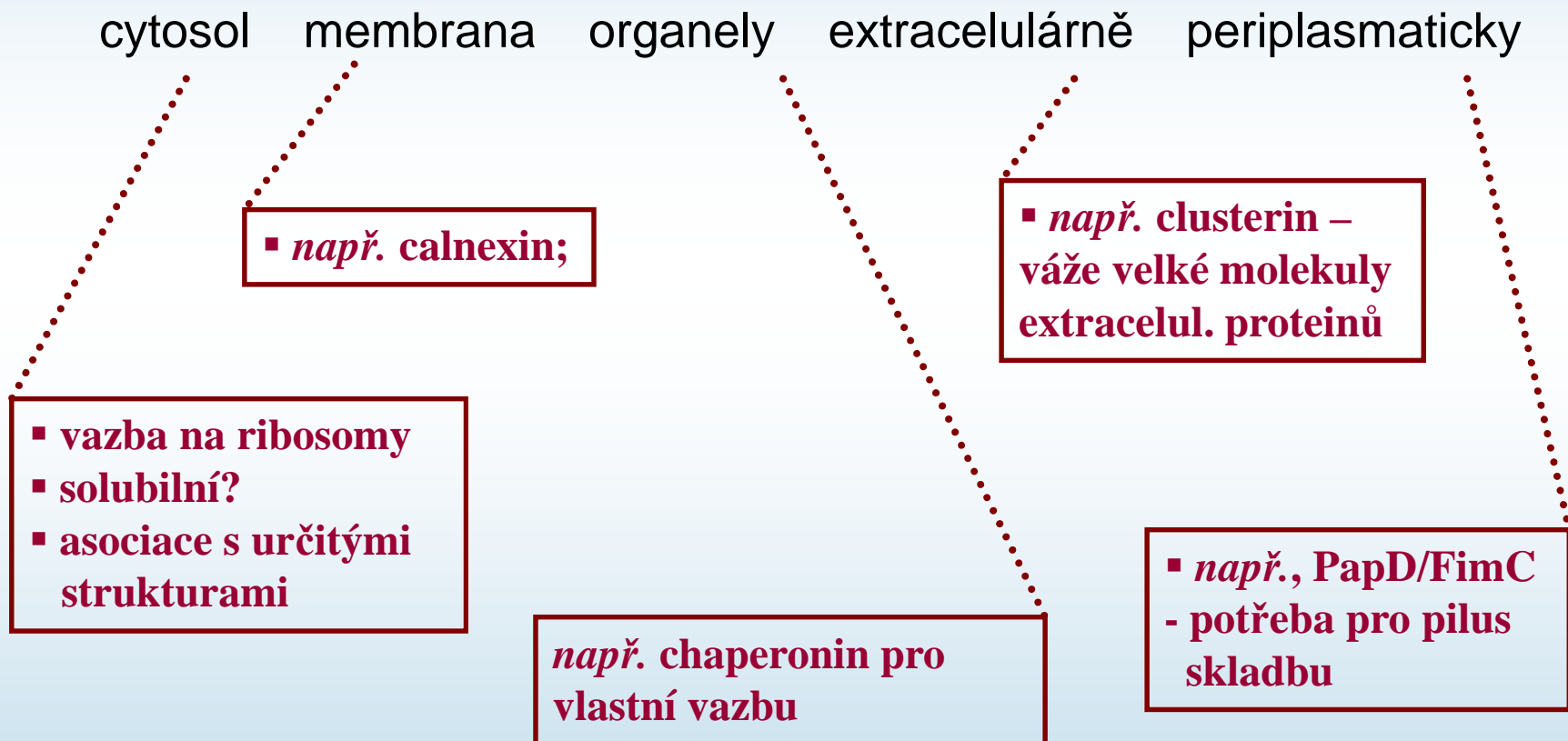
- heat shock proteins (HSPs) - GroEL, DnaK, HSP90, HSPs (15–30 kDa)

**HSP70, GroEL** – umožňují poškozeným proteinům návrat do původního stavu

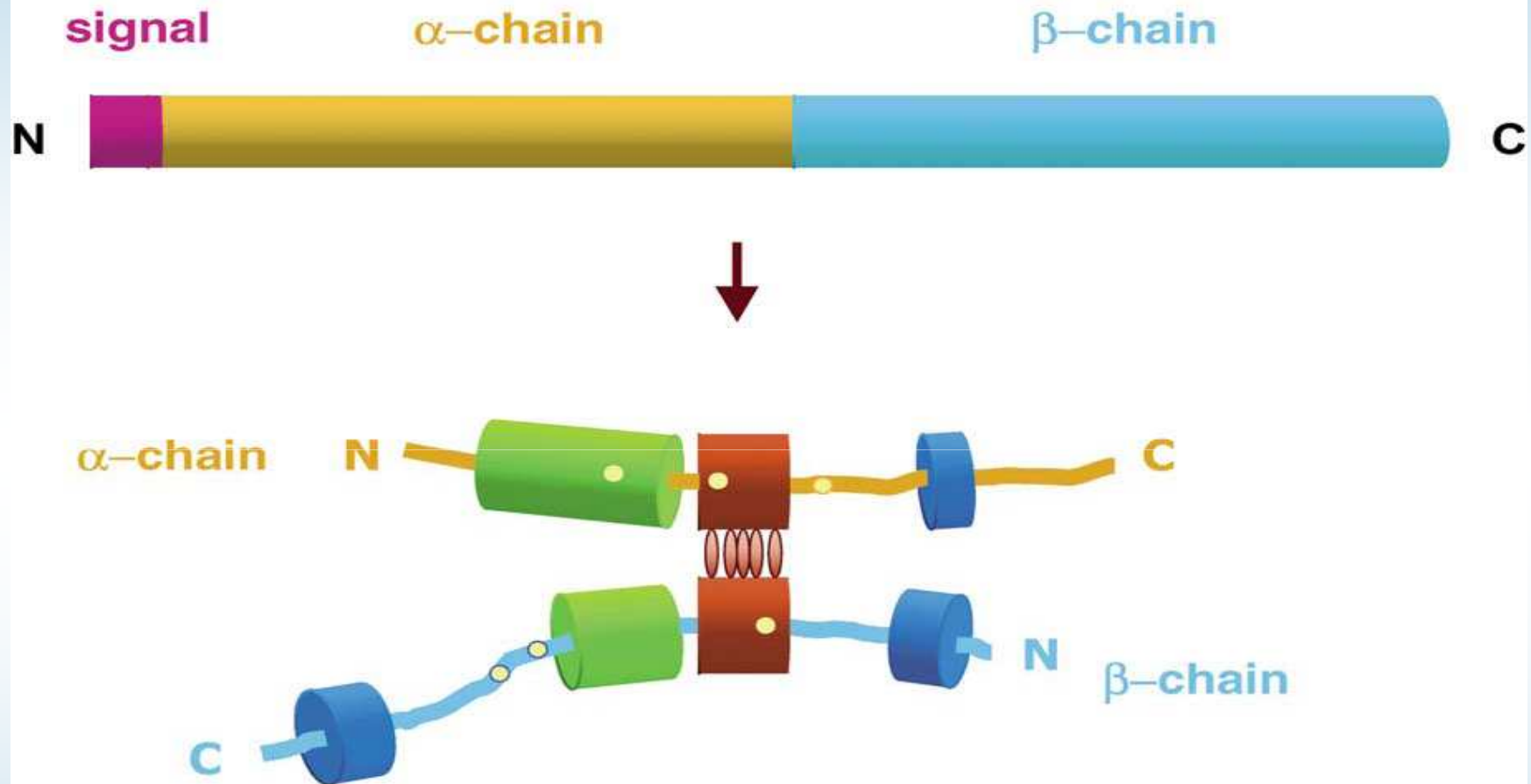
**crystallins, small HSPs** – stabilizují proteiny; neumožňují návrat k původnímu stavu



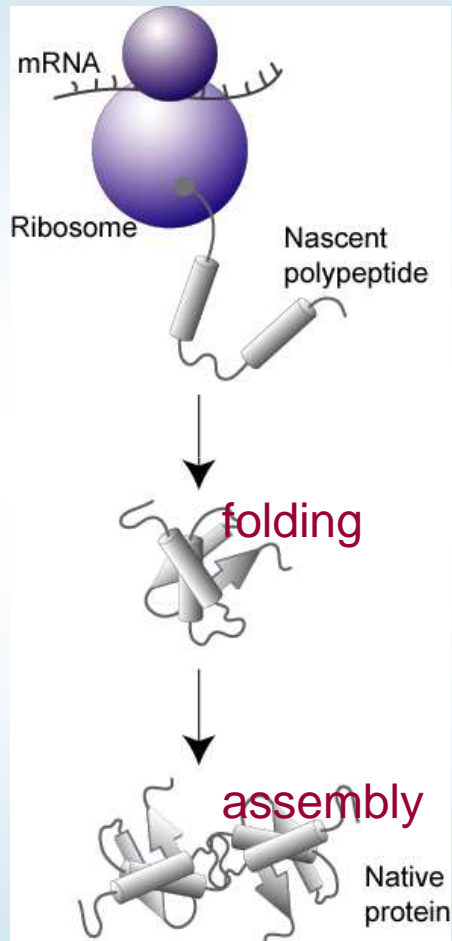
## Místo působení chaperonů je velmi důležité:



## Clusterin structure



The precursor polypeptide chain (top) is cleaved proteolytically to remove the 22-mer secretory signal peptide (magenta) and subsequently between residues 227/228 to generate the (orange)- and (light blue)-chains. These are assembled in anti-parallel to give a heterodimeric molecule (bottom) in which the cysteine-rich centers (red) are linked by five disulfide bridges (red ellipses) and are flanked by two predicted coiled-coil -helices (green) and three predicted amphipathic -helices (dark blue). The six sites of N linked glycosylation are indicated as yellow spots.



- proteiny jsou syntetisovány v ribosomech, musí se složit
  - *proteiny v rozložených polypeptidových řetězcích*
  - *folding - kotranslace*
  - *kompletní polypeptidový řetězec*

# Changes in the Serum Proteome of Patients with Sepsis and Septic Shock

Armin Kalenka, MD\*  
 Robert E. Feldmann, Jr., PhD†  
 Kevin Otero\*

**BACKGROUND:** Sepsis is still the leading cause of death in the intensive care unit. Our goal was to elucidate potential early differences in serum between survivors (SURV) and non-survivors (NON-SURV) on day 28.  
**METHODS:** We applied proteomic technology to serum samples of patients with sepsis and septic shock. Serum samples from 18 patients with sepsis and septic shock were obtained during the first 12 h after diagnosis of septic shock. Patients

Table 2. Differentially Expressed Proteins in Sera from Survivors (SURV) and Non-Survivors (NON-SURV) with Sepsis and Septic Shock

Spot no.	Full protein name	Mascot score	Coverage (%)	No. of mass values searched	No. of mass values matched	NCBI accession no.	Function	EF in 28 days survivors	EF in 28 days non-survivors
308	Chain A, crystal structure analysis of the Bb segment of factor B	91	21	26	10	1RS0_A	Alternative pathway of complement activation	4.7	1.7
320	Complement factor B	138	19	20	13	AAB67977	Alternative pathway of complement activation	3.0	0.4
447	Alpha-a-B-glycoprotein	117	26	36	12	OMHU1B	Unknown	1.5	4.7
641	Haptoglobin	186	42	23	16	AAH70299	Acute phase protein	3.2	1.4
660	Clusterin	168	34	15	11	AAA60567	Multiple	26.5	5.9
662	Clusterin	121	32	13	8	AAA60567	Multiple	14.9	3.1

The respective Mascot scores, number of peptides searched and matched, percentages of sequence coverage, the assumed biological functions, and expression factors (EF) are also presented. EF were established as the ratio of mean normalized spot volumes in relation to the control group.

# Cíl práce

- role clusterinu během SIRS a septických stavů u dětí
- korelace s mortalitou
- dynamika hladin clusterinu

# International pediatric sepsis consensus conference: Definitions for sepsis and organ dysfunction in pediatrics\*

Brahm Goldstein, MD; Brett Giroir, MD; Adrienne Randolph, MD; and the Members of the International Consensus Conference on Pediatric Sepsis

- SIRS
- Sepsis
- Těžká sepsis
- Septický šok
- MODS (Multiple Organ Dysfunc. Sy.)

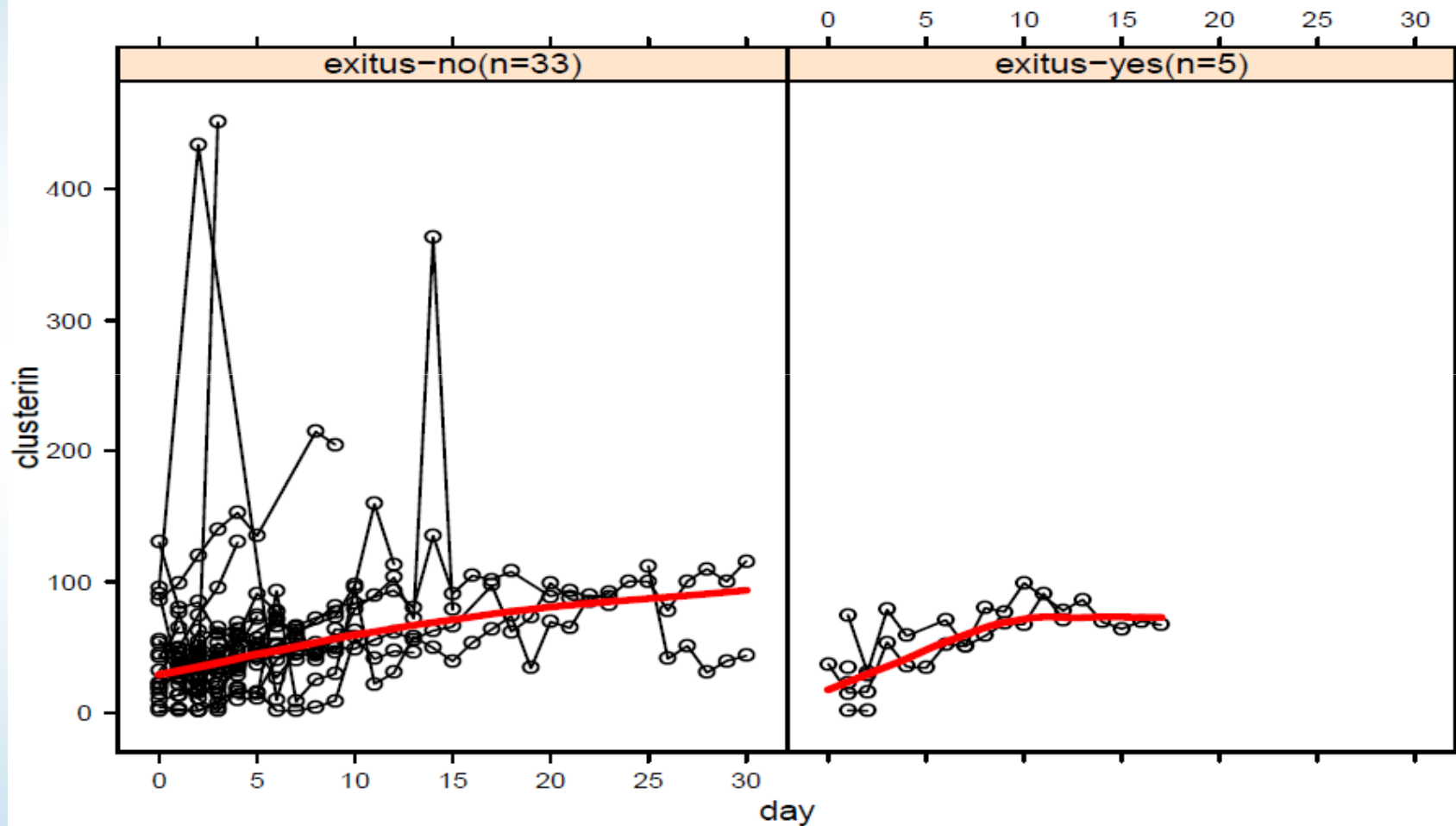
# Demografická data

	n	median	Min	max
Muži/Ženy	22/16			
Věk (měs.)	38	86.61	1	219
Váha (kg)	38	27.70	2,5	84
PELOD score	38	13.24	1	41
Clusterin (ug/ml) vstupní hodnota	38	43,43	1,5	129,92

Clusterin (ug/ml) MUŽI		
Věk	Mean	SD
0-19 let	89,9	16,4

Clusterin (ug/ml) ŽENY		
Věk	Mean	SD
0-19 let	93	23

# Clusterin vs. exitus



Median přeživší 85.04 ug/ml vs. zemřelí 37.36 ug/ml;  $p = 0,05$



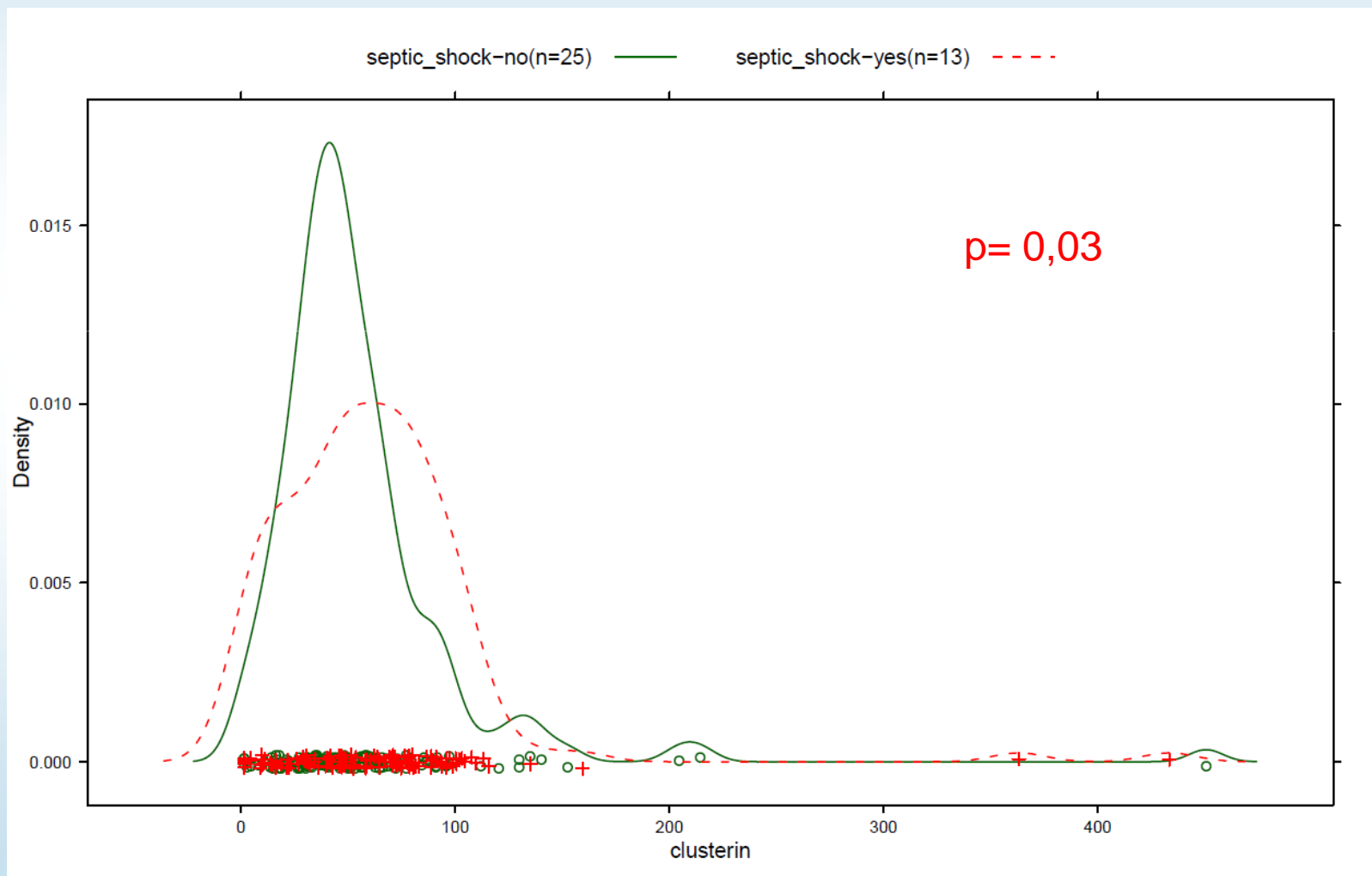
n	Exitus	SIRS	Sepse	Těžká sepsse	Septický šok	MODS
38	5	11	3	11	13	10

## Dynamika Clusterinu (ug/ml) a klinický stav

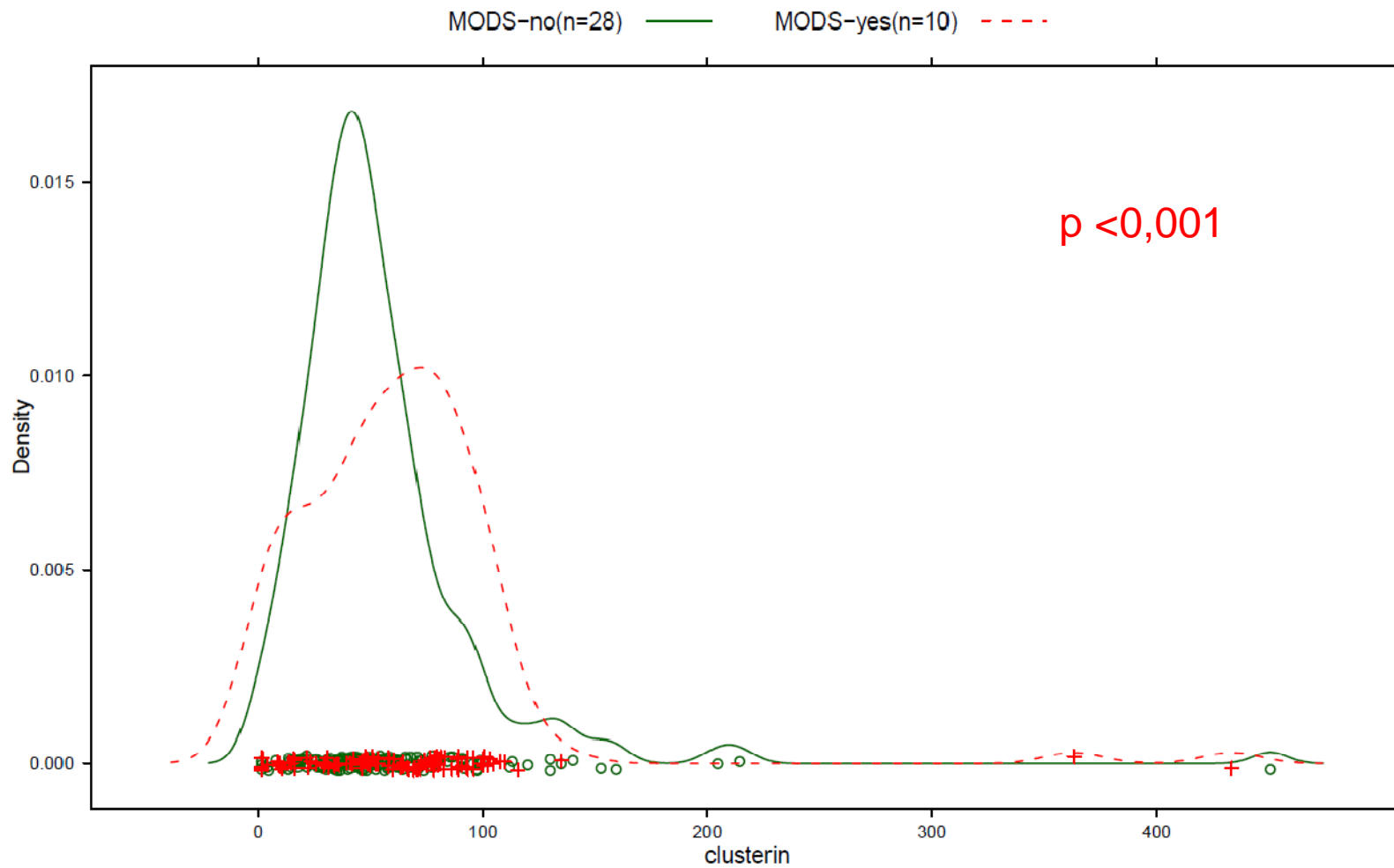
	Exitus	SIRS	Sepsse	Těžká sepsse	Septický šok	MODS
median	37,36	44,3	47,8	40,1	33,2	31
min-max	1,5- 53,5	1,5-75,3	34-79,7	19,7-84,6	1,5-76	1,5-80
p value	<b>0,05</b>	1	1	0,29	<b>0,03</b>	<b>&lt;0,001</b>

p-values;Fisher's Exact Test

# Clusterin a septický šok



# Clusterin a MODS



# Závěr

Prokázali jsme signifikantní pokles hladiny Clusterinu u dětí v korelaci s mortalitou a závažností septického stavu.

# „Klinická budoucnost“ clusterinu

- Kontrola buněčných interakcí
- Regulace apoptosy
- Působí jako „membránový policista“
- Transport lipidů
- Regulace komplementového systému

Děkuji za pozornost