

# **FETOPROTEIN**

**Moje první láska (vědecká)**

**Jaroslav Masopust**

***Ústav klinické biochemie a patobiochemie,  
2. lékařská fakulta, Univerzita Karlova v Praze***

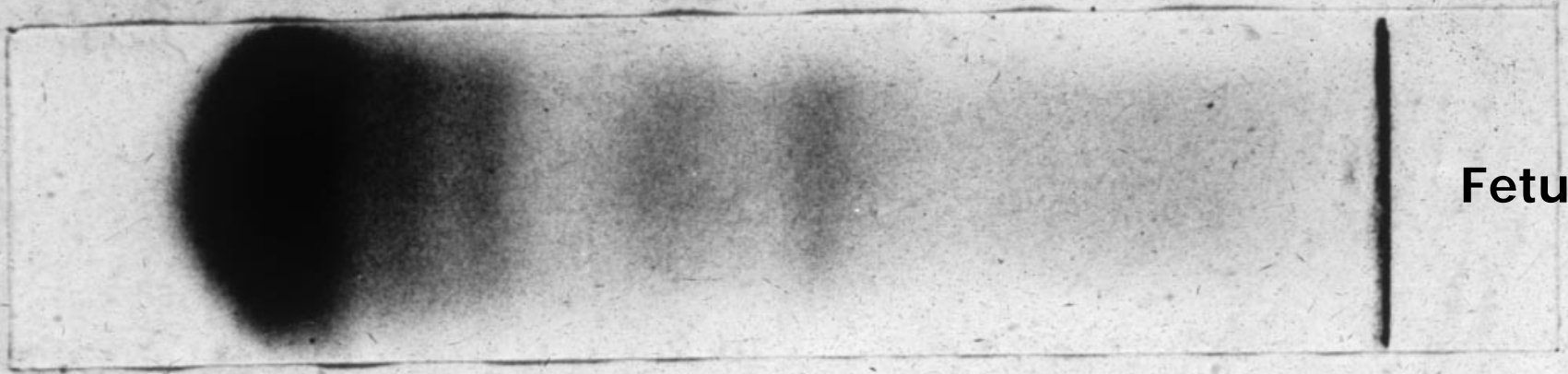
Substance X

Alb. x  $\alpha_1$

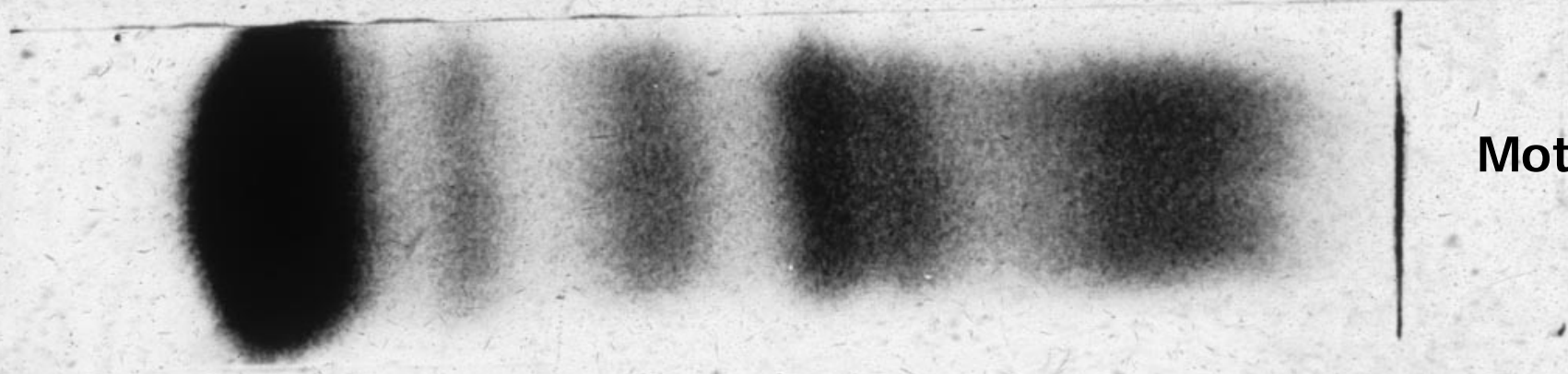
$\alpha_2$

$\beta$

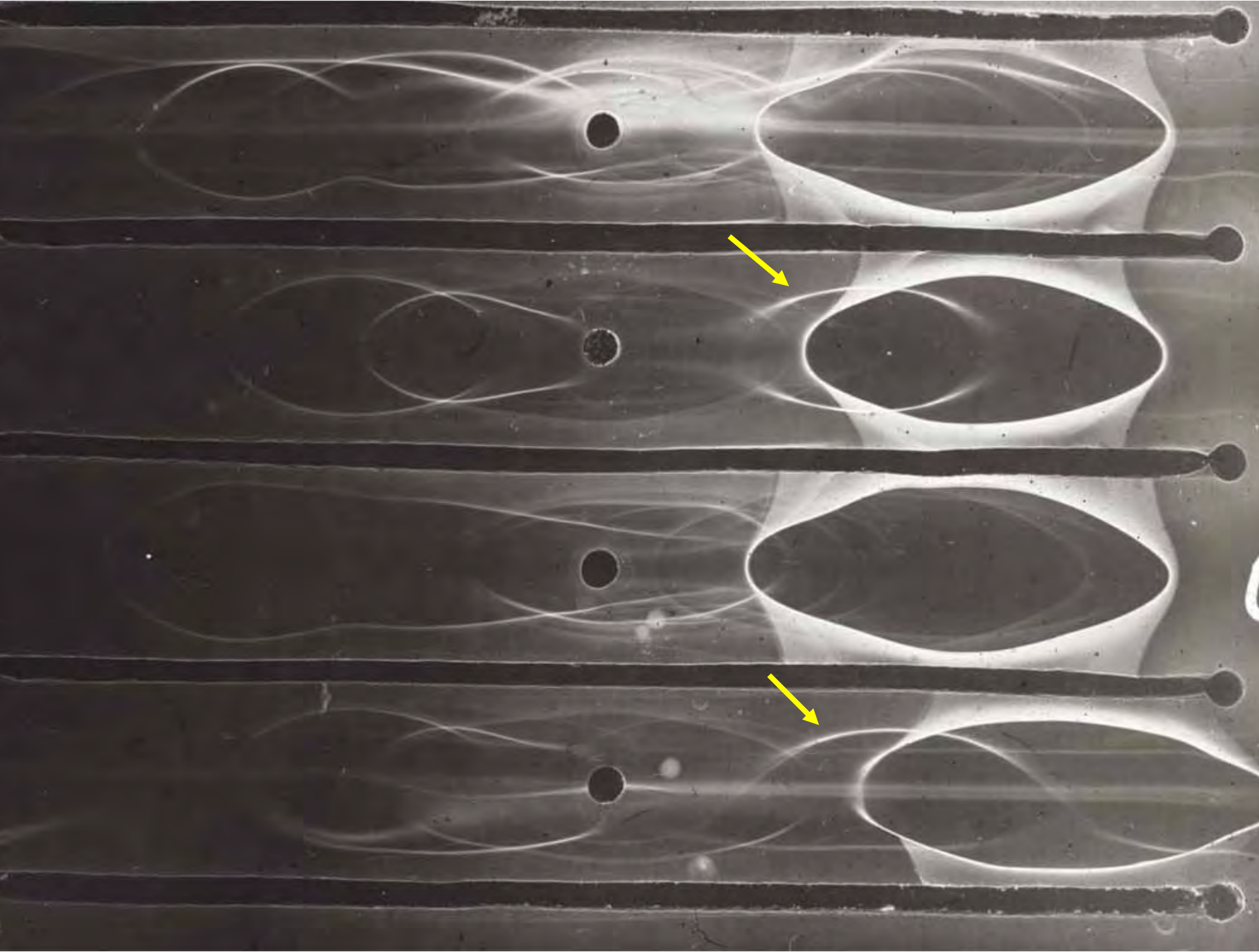
$\gamma$



Fetus



Mother



**1956** Bergstrand, C.G., Czar, B

**Substance X**

**1962** Masopust, J.

**Fetoprotein**

**1963** Abelev, G.I.

**Embryo-specific**  
 **$\alpha$ -1-globulin**  
(mice hepatoma)

**1964** Tatarinov, Y.S.

**Embryo-specific**  
 **$\alpha$ -1-globulin**  
(human hepatoma)

**1965** Masopust, J. et al.

**Fetoprotein**  
(human hepatoma,  
teratocarcinoma,  
infant's hepatitis)

**1966** Gitlin, D., Boesman, M.

**$\alpha$ -1-fetoprotein**  
**(AFP)**

**WHO-IARC (1969) definoval AFP**  
**jako ontogeneticky první  $\alpha$ -globulin,**  
**který je dominantním sérovým**  
**proteinem v embryonálním období**  
**a který vymizí krátce po porodu.**  
**Může se však objevit znovu u pacientů**  
**s hepatocelulárním karcinomem**

ALBUMIN

$\alpha_1$

$\alpha_2$

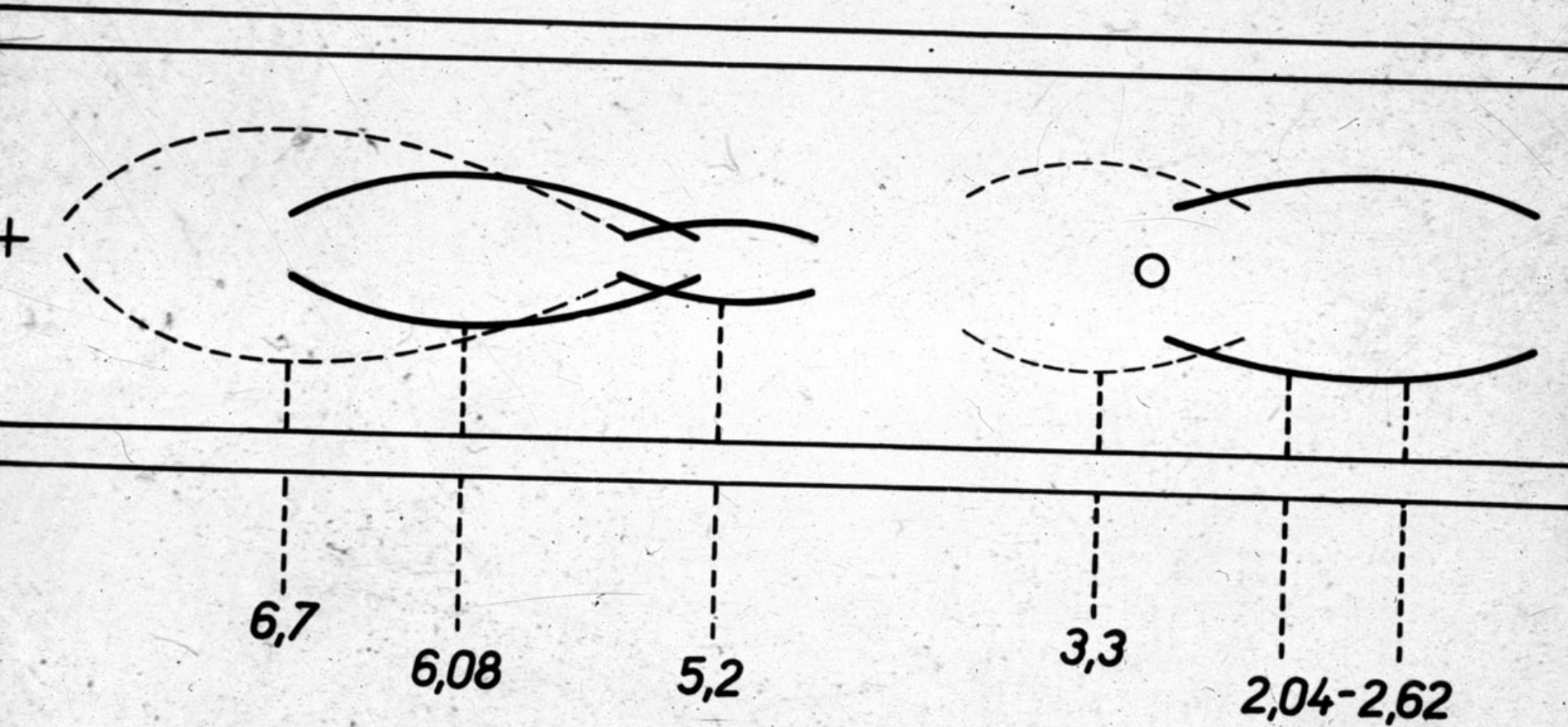
TRANSFERRIN

$\beta$

AFP

$\alpha_2$ -ferroprotein

$\beta_5$ -fetoprotein



# Fyzikálně-chemické charakteristiky

**Alfa1-fetoprotein je glykoprotein,**  
tvořený jedním polypeptidovým řetězcem;  
**molekulová hmotnost  $M_r = 64\,600$**  (jako peptid)  
resp. **69 000-73 000** (jako glykoprotein),  
**sedimentační konstanta  $S_{20w} = 4.5\text{ S}$ ,**  
**isoelektrický bod  $pI = 4,75$  (5.2)**  
elektroforetická pohyblivost v agarosovém gelu  
(barbitalový nárazník - pH 8.6) =  $-6.08 \times 10^{-5} \cdot \text{cm}^2 \cdot \text{V}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ )  
**Obsahuje 4.3 % sacharidů** (hexosa -2.2 %, hexosamin – 1,2% a sialová kyselina – 0.9% )

---

(Nishi, S., 1970; Masopust, J., 1970; Ruoslahti, E., 1971)

# Mikroheterogenita AFP

AFP se vyskytuje v různých molekulových variantách,  
lišících se v glykosylaci (*sacharidové isoformy*),  
v isoelektrickém bodu (*isoformy pH-heterogenity*);  
tyto varianty mají odlišné fyzikálně-chemické vlastnosti  
ale podobné složení aminokyselin peptidového řetězce.

Existují ještě *genetické varianty* na základě vzniku různých  
mRNA<sub>AFP</sub>-*transcriptů*, lišících se různou délkou kilobází  
(2,2 – 1,35 kb), které kódují syntézu proteinových molekul  
o velikosti 72 kDa to 37 kDa

*Dále existují molekuly AFP vázané* (intracelulární -  
nesecernované formy) a secernované *volné formy*  
Jsou také *fetální* a *tumorové-AFP varianty*.

# Syntéza AFP

Začíná už v časně fázi embryogeneze, a to ve **viscerálním endodermu žloutkového váčku**,

o něco později v základech **jater** a v **primitivním střevě**.

AFP je detekovatelný ve viscerálním endodermu žloutkového váčku **blastocysty myši 6. - 7. dne**

V tomto stádiu je AFP dominantním proteinem v extracelulární tekutině. Ve 12. týdnu gestace degeneruje a hlavním místem syntézy AFP se stávají játra.

U člověka začíná syntéza AFP 26. dne po ovulaci (detekována mRNA<sub>AFP</sub>) ve **viscerálním endodermu embrya**, o něco později v **základech jater**

---

(Gitlin, D., 1967; Nahon, J.L., 1988; Tyner, A.L. et al., 1990; Kwon, G.S. et al., 2006; Dziadek, M. et Adamson, E., 1978; see Gillespie, J. R. et al., 2000)

## Gen kódující syntézu AFP

je členem „*nadrodiny albuminoidního genu*“, kam patří geny pro albumin, vitamin D-binding protein (Gc-globulin) a alfa-albumin (afamin).

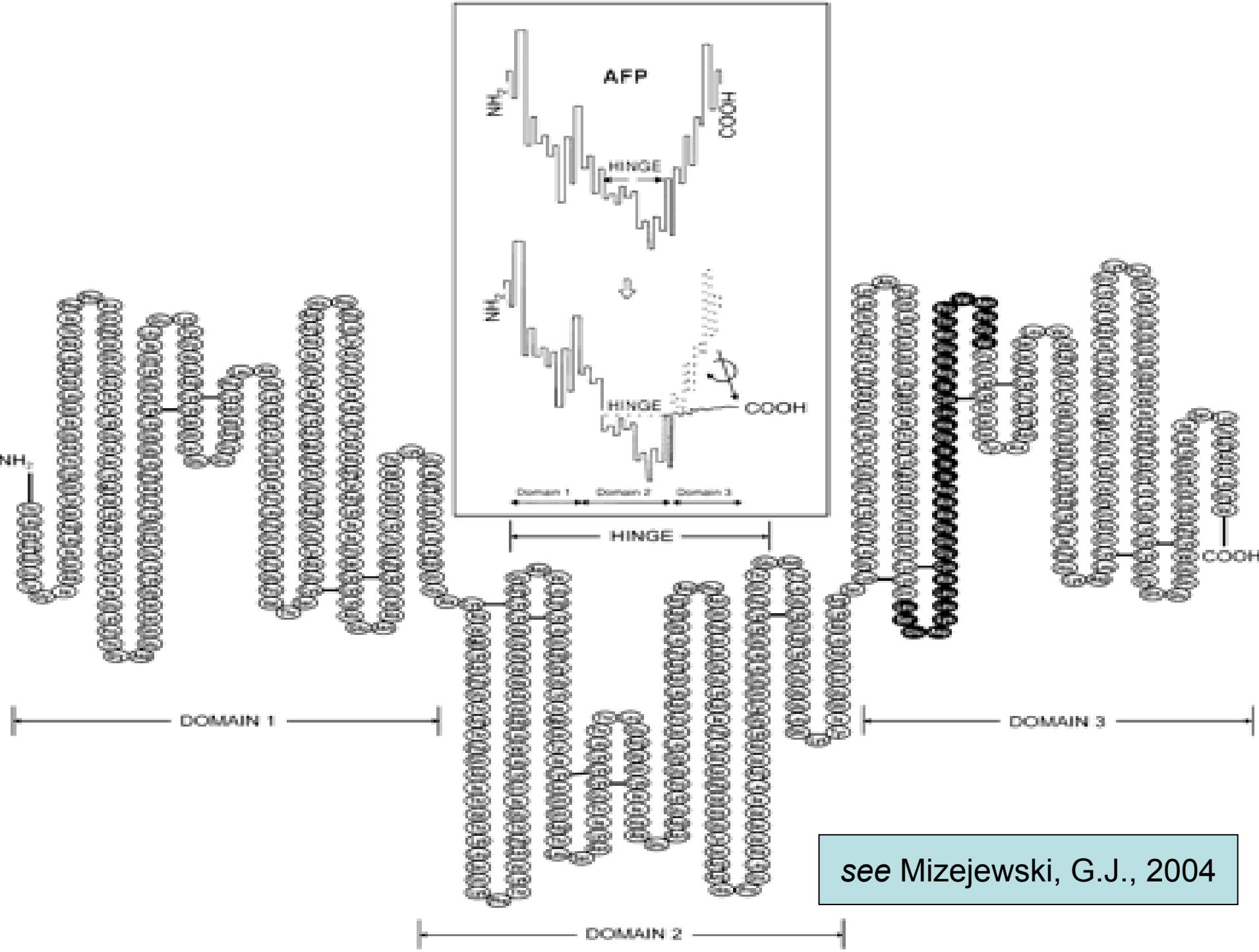
U člověka jsou albuminoidní geny lokalizovány v tandému na **chromosomu 4 v oblasti 4q11-q22**, zahrnující 15 exonů a 14 intronů.

*Struktura proteinů této nadrodiny je charakterizována cysteinovými zbytky, které vytvářejí řadu kliček, diktovaných disulfidovými můstky.*

Molekulu tvoří **tripletové domény**, vytvářející tvar písmene **U**

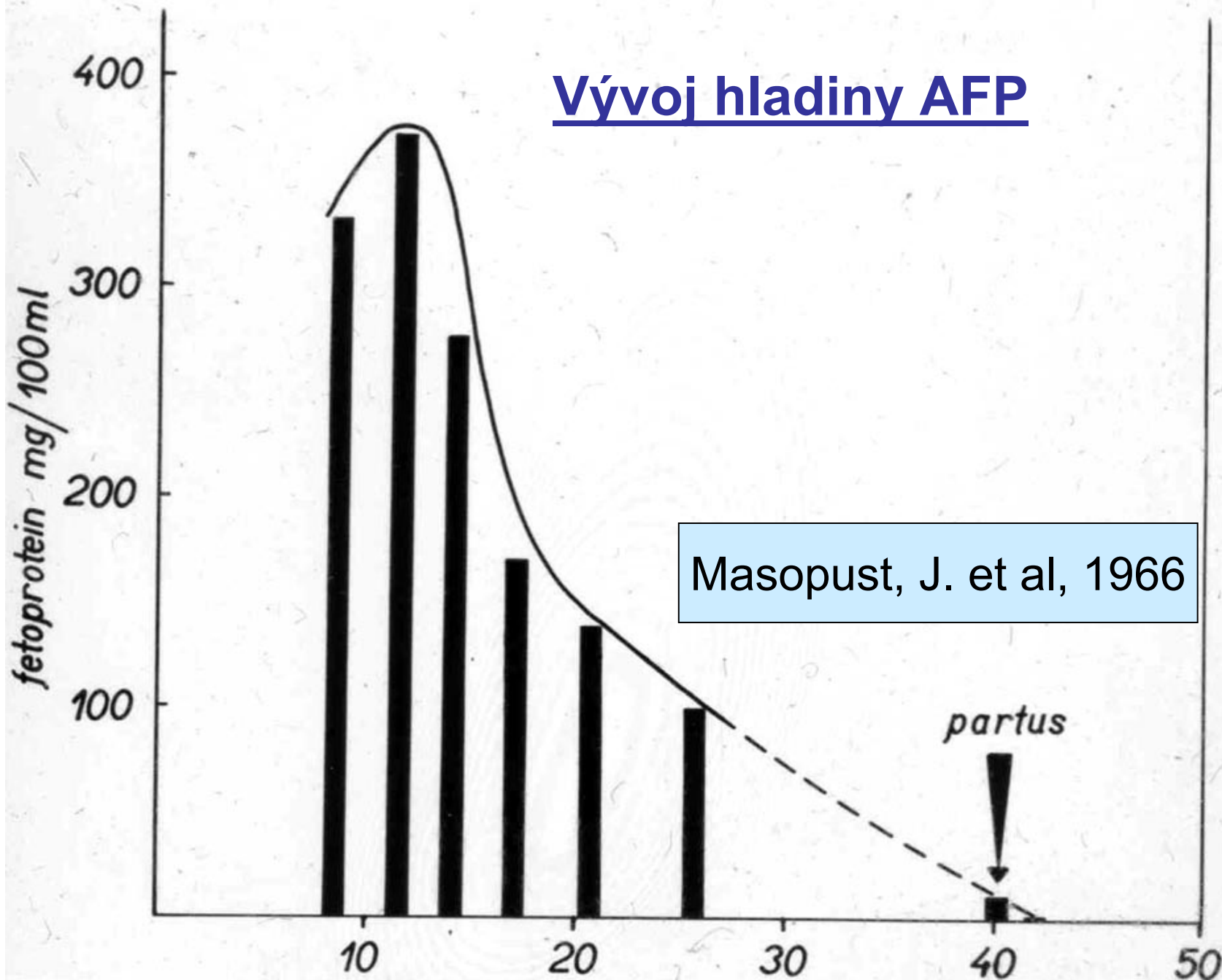
---

(see Mizejewski, G.J., 2001).



see Mizejewski, G.J., 2004

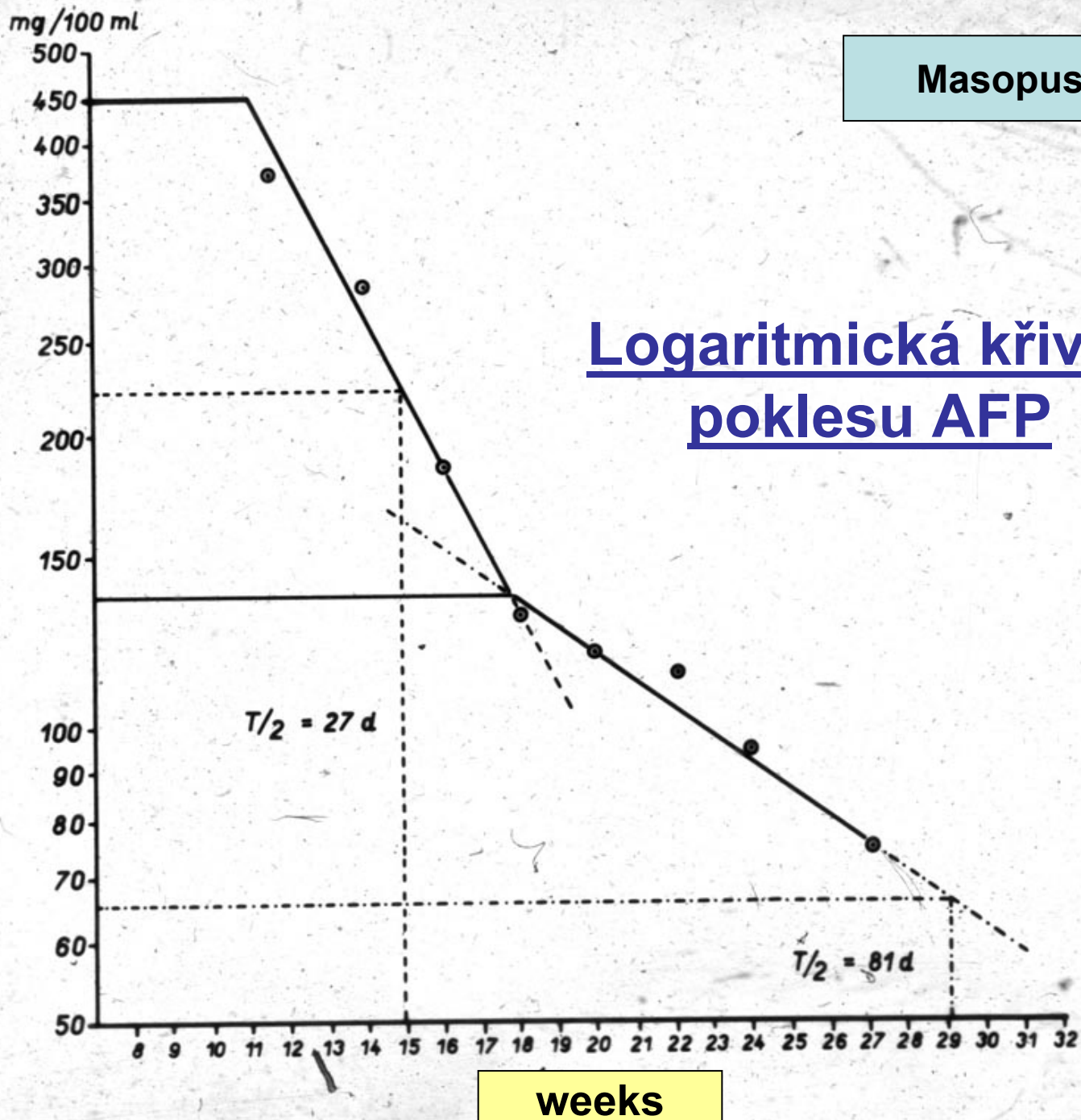
## Vývoj hladiny AFP



Masopust, J. et al, 1966

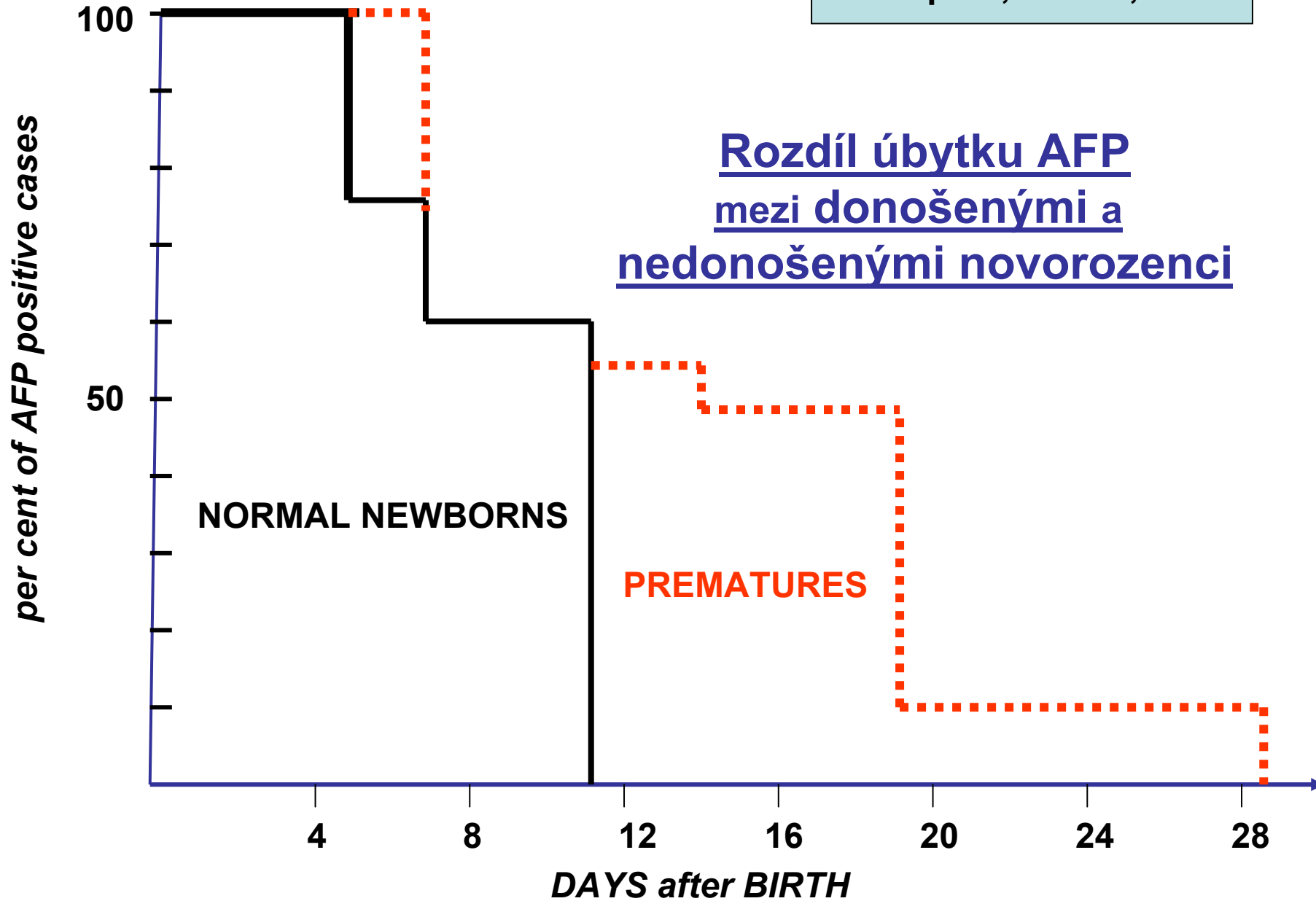
Masopust, J., 1972

## Logaritmická křivka poklesu AFP



weeks

Masopust, J. et al., 1971



# Věková skupina

# AFP

Novorozenci (pupečnickové serum) **20 – 200 mg/l**

Kojenci (měsíce):

**2**

**93,3 ± 32,1 μg/l**

**3 – 4**

**27,9 ± 21,2 μg/l**

**5 – 7**

**14,9 ± 11,3 μg/l**

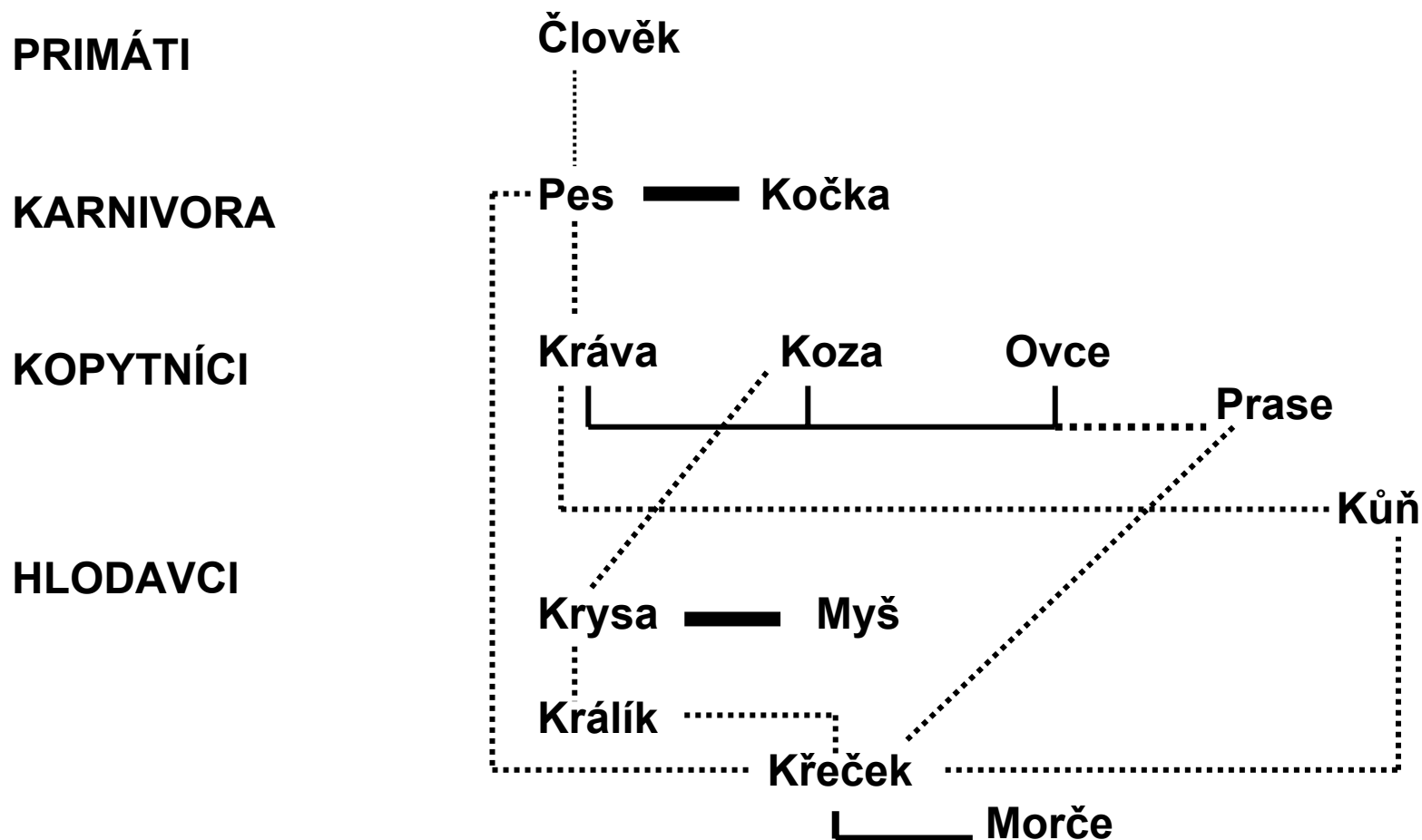
**8 – 12**

**13,1 ± 10,0 μg/l**

**Dospělí**

**4 – 15 μg/l**

# Imunologická příbuznost AFP mezi živočišnými druhy



Reakce identity  
**—————** těsná  
**=====** částečná  
 ..... vzdálená

# Biologické funkce AFP

## a) Funkce podobné albuminu:

- Hlavní podíl na **onkotickám** a **osmotickém tlaku tělových tekutin**.
- **Rezervní zdroj aminokyselin**
- **Vazbaí/transfer** pro některé látky (  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{3+}$ , mastné kyseliny, steroidy, bilirubin, hematin etc.).

## b) Přenos vícenenasycených mastných kyselin do mozku embrya pinocytózou

## c) Blokující funkce (vysoká afinita) vůči **excesu mateřského estradiolu-17beta**

## d) Vliv na imunokompetentní buňky

- **Imunosupresivní efekt na imunologickou odpověď matky na přítomnost embrya** → „fetal graft“ tolerance),
- AFP má vazebnou **kapacitu pro membránové receptory** fetálních a imunokompetentních buněk (**blokuje rozpoznání cizích antigenů podporuje supresorové buňky**),

## e) Při vzniku placenty se podílí na transportu IgG z cirkulace matky do cirkulace plodu.

# Biologické funkce AFP (pokrač.)

- (f) **AFP jako duální regulátor růstu** (u embrya i u tumorů)  
Reguluje růst podporováním anebo inhibicí apoptózy
- (g) **Efekt s vlastnostmi homeodoménových faktorů**  
tj. řízení a kontrola *specifického lokalizace buněk*, formovaných do orgánů v průběhu ontogeneze (developmentální fázově specifický faktor, efektor „developmentálních hodin“)  
(Existuje podobnost *složení aminokyselin ve fragmentech AFP s úseky homeodoménových faktorů*)
- (h) **Modifikátor biologické odpovědi**: regulace/podpora vstupu *mastných kyselin do buněk; regulace cytochrom C zprostředkovaná aktivací kaspáz a formací apoptosomového komplexu; účinek na fertilizaci u žen (deficit AFP způsobuje androgenizaci)*
- (i) **Potenciální anti-oxidační a anti –teratogenní efekt** v časně fázi ontogeneze (AFP obsahuje 2 volné SH-skupiny)
- (j) **„Adhesní“ peptidové sekvence AFP** může ovlivňovat adhezní signalizaci a tvorbu intersticia vyvíjejícího se embrya

# Patologie AFP

Patologická re-syntéza AFP v postnatálním období byla (už počátečních studiích)

u **3 typů malignit:**

- **primární karcinom jater (hepatoblastom a hepatocelulární karcinom)**

- **embryonální karcinomy (teratokarcinomy)**

(vzácně u pacientů s:)

- **karcinomy pankreatu, žaludku a střeva (event. jiné)**  
(„ektopická“ syntéza AFP)

# HEPATOCELULÁRNÍ KARCINOM

- „čistý“ *hepatocelulární karcinom (HCC)*
  - *kombinace HCC s cholangiokarcinomem*
  - *intrahepatální cholangiokarcinom (ICC)*
  - *fibrolamelární varianta HCC*
- 

*Fokální nodulární hyperplazie jaterních buněk (sdružená s HCC)*

Nepovažuje se za pre-neoplastické stadium HCC (AFP není obvykle zvýšen; onemocnění je způsobeno kongenitální cévní anomálií)

**AFP**

**hCG**

**Germ Cell Tumors**

- Intratubular germ cell neoplasia, unclassified
- Other types

**Tumors of One Histologic Type (Pure Forms)**

- Seminoma
- Seminoma with syncytiotrophoblastic cells
- Spermatocytic seminoma
- Embryonal carcinoma
- Yolk sac tumor
- Trophoblastic tumors
- Choriocarcinoma
- Trophoblastic neoplasms other than choriocarcinoma
- Monophasic choriocarcinoma
- Placental site trophoblastic tumor
- Teratoma
- Dermoid cyst
- Monodermal teratoma
- Teratoma with somatic type malignancies

negative  
negative

negative  
(positive)

positive  
positive  
negative  
negative

positive  
positive  
positive  
positive

negative

(positive)

**Tumors of More Than One Histologic Type (Mixed Forms)**

- Mixed embryonal carcinoma and teratoma
- Mixed teratoma and seminoma
- Choriocarcinoma and teratoma/embryonal carcinoma
- Others

} positive

?

# AFP pozitivita u jiných malignit

**Specifická klinická jednotka: HEPATOIDNÍ KARCINOM**

Minimální histologická kritéria: Průkaz AFP produkce  
a abundantní eosinofilní cytoplasma

- ***hepatoidní adenokarcinom žaludku***
- \* ***hepatoidní karcinom tlustého střeva***
- ***hepatoidní karcinom pankreatu***
- ***hepatoidní karcinom děložního čípku***
- \* ***hepatoidní karcinom ovaria***
- \* ***maligní smíšené nádory ductus Mülleri***

# AFP pozitivita u jiných tumorů

- \* **pankreatoblastom** nebo **pankreatický karcinom u kojenců**
  - \* **duktální karcinom ledvin** (produkuje AFP)
  - **karcinom renální pánvičky z přechodných buněk** (produkuje AFP)
  - **sialoblastom** (produkuje AFP)
- 
- \* **mesenchymální hamartom jater** (s vysokým AFP)
  - \* **hemangioendoteliom jater** (s vysokým AFP)
  - **endobronchiální metastázy HCC**
  - **čistý „yolk sac tumor“ v oblasti žaludeční kardie**

# AFP zvýšení u nenádorových onemocnění

- *hepatopatie u novorozenců a kojenců*
- *hereditární tyrosinosis Typ 1*
- *ataxia teleangiectasia*
- *cirhóza indických dětí*
- *cystická fibróza*
- *cirhóza jater a chronická hepatitida*
- *regenerační aktivita jaterní tkáně*

# TUMOROVÉ MARKERY pro DIAGNÓZU a PROGNÓZU HEPATOCELULÁRNÍHO KARCINOMU

**AFP;** (mRNA-AFP); (msAFP)

**AFP-L3**

**Glypican 3;** (mRNA-GPC3)

**Alpha-L-fucosidasa (AFU)**

**PIVKA II (DCP) (des-gamma-carboxyprothrombin)**

---

**AFP, AFP-L3, DCP, GPC3**

**AFP+AFU+VEGF**

**bilirubin, albumin, AFP-L3, AFP, DCP (BALAD)**

**$\gamma$ -glutamyl-transferasa II,  $\alpha$ -L-fucosidasa, transformující**

**růstový faktor- $\beta$ 1 (TGF  $\beta$ 1), TNF $\alpha$ ,**

**VEGF, interleukin-8**

# „Molekulárně biologické“ markery diagnózu HCC (rekurenci, prognózu) v krvi a tkáni

**AFP-mRNA**

**GGT-mRNA**

**MAGE-1-mRNA (Melanoma antigen gene)**

**GPC3-mRNA**

**hTERT-mRNA (Human telomerase reverse transcriptase)**

**HCCR (Human cervical cell oncogene)**

**protein p53, protilátky vůči proteinu p53**

**VEGF (growth factor for vascular endothelium)**

**Interleukin-8**

**TGF $\beta$ -1 (Transforming growth factor beta 1)**

**TSGF (Tumor specific growth factor)**

**IGF-II (Insulin -like growth factor- II)**

**GEP (Granulin-epithelin precursor)**

# Kongenitalní AFP-patie

- kongenitální AFP deficit
- kongenitální AFP perzistence
  - heterozygótní **G→A** substituce v pozici -116 „5'-flanking“ regionu AFP genu
  - mutace v pozici -119 **G→A** „affecting HNF-1 binding region“ pro promoter AFP-genu
  - mutace v pozici - 55 **C→A** a 65 **C→T** v proximální vazebné oblasti promotoru AFP-genu

# **Počet publikací obsahující termín “fetoprotein”**

**v bibliografické databázi *PubMed* – *NHL*  
možno přesahuje do 1. 9. 2008 číslo 15 720,  
pouze v roce to je 2008 366 publikací.**

# Topics for future investigation

- \* Standardization of *AFP evaluation*
- Selection of the *best criteria* for screening, differential diagnosis, prognosis and monitoring of HCC therapy
- Utilization of AFP and its derivatives *in anti-tumor therapy*
- Study of AFP as a *signal molecule* in the mechanism of cellular activities
- Improvement of the understanding of *unexpectedly increased AFP* concentrations
- Elucidation of some other *biological AFP functions* during *ontogenesis* and *cancerogenesis*

**Děkuji za pozornost**

([jaromasopust@seznam.cz](mailto:jaromasopust@seznam.cz))