

K mechanismu snížení vazby kobaltu na albumin při srdeční ischemii

V posledních letech je v klinických laboratořích testován nový marker k průkazu ischemie myokardu [1–3] – ischemicky modifikovaný albumin (IMA), jehož detekce v séru je prováděna metodou ACB (The albumin cobalt binding test). Test spočívá v určení vazebné kapacity albuminu pro kobaltnaté ionty. Albumin zdravých jedinců HSA (human serum albumin) váže více kobaltu než ischemický albumin IMA. Při vlastním stanovení se k vyšetřovanému séru přidají kobaltnaté ionty v molárním množství srovnatelném s počtem molů albuminu. Část iontů kobaltu se naváže na albumin, část zůstává volných v roztoku. Je-li ve zkoumaném séru HSA, naváže se relativně hodně kobaltu; je-li přítomen IMA, pak se naváže kobaltu méně. Takže v případě HSA zbývá v roztoku méně volných kobaltnatých iontů, při IMA je jejich koncentrace vyšší. Volné kobaltnaté ionty jsou stanoveny spektrofotometricky přidáním dithioerythrolu, který vytváří s ionty kobaltu barevný komplex.

Vedle diskuse o použitelnosti testu ACB v klinické praxi je v literatuře věnována pozornost mechanismu vazby kobaltu na HSA a IMA. Při HSA se předpokládá [3], že vazebným místem je jeho N-konec, kde je pro vazbu kobaltu příznivé uskupení aminokyselinových zbytků v tetrapeptidu DAHK (N-Asp-Ala-His-Lys). N-konec tedy obsahuje komplexotvornou skupinu ^-COOH dikarboxylové aminokyseliny asparagové, imidazolovou skupinu histidinu a aminoskupinu diaminokyseliny lysinu. Vzhledem k tomu, že v reakční směsi je koncentrace kobaltu volena tak, že na jednu molekulu albuminu připadá jeden kobalt, nemohou se uplatnit další desítky komplexotvorných skupin (karboxylových 98, aminoskupin 59, imidazolů 16) obsažených v HSA, jehož molekulová hmotnost je 66 428 kDa.

Pokud jde o IMA, může být podle Bar-Or et al. snížená vazba exogenního kobaltu způsobena ztrátou N-koncových aminokyselin DAHK. O tom, že je taková ztráta možná, svědčí práce Chana et al., kteří našli při studiu stability komerčního sérumalbuminu, určeném pro transfuzní účely, autodegradaci dvou aminokyselin (Asp-Ala) na N-konci HSA. Tento pochod může probíhat i za fyziologických podmínek jako počátek degradace celé molekuly. Albumin v séru má biologický poločas života kolem 20 dnů. IMA by se tedy měla lišit od HSA v primární struktuře na jeho konci. Proti této hypotéze o ztrátě koncových aminokyselin však svědčí experimentální práce Bhavagana et al. [5]. V ní autoři uvádějí, že izolovali elektroforeticky čistý albumin z ischemických sér, které před tím charakterizovali metodou ACB. Izolované ischemické albuminy pak sekvenovali standardním postupem užívaným pro aminokyselinovou analýzu proteinů. Z osmi zkoumaných preparátů u sedmi našli koncové 11členné peptidy složení DAHKSEVVAHRF, jak je uváděno v tabulkách pro HSA. Buď se tedy na vzniku IMA účinkem ischemie nepodílí N-konec, nebo je nut-

no hledat jiný mechanismus. Je totiž možné, že v důsledku konformačních změn není tetrapeptid DAHK volný (vystrčený) na konci molekuly IMA, ale je ponořen (pohřben) do nitra molekuly. Důsledkem toho je méně přístupný pro vazbu iontů kobaltu. U izolovaného IMA by bylo třeba stanovit nejen primární strukturu, ale i sekundární a terciární strukturu. Tím se otevírá otázka, jaké jsou konformační změny a jakým pochodem k nim dochází. Jako nejpravděpodobnější se nabízí působení volných kyslíkových radikálů, jejichž koncentrace se při ischemických stavech podle měření elektronovou paramagnetickou rezonancí (EPR) zvyšuje.

Pokud jde o proteiny, dochází podle Floyd [6] k oxidativnímu poškození (oxidative damage), které se projevuje prokřížováním jednotlivých řetězců (cross-linking), vzniku fragmentů a specifickému poškození proteinové struktury. Vedle aromatických aminokyselin napadají radikály disulfidické můstky a tím způsobují zhroucení sekundární a především terciární struktury.

O albuminu je známo, že je scavengerem (vyčítavačem, lapačem) volných radikálů, jak ukázali Marx a Chevion [7] průkazem tvorby volných radikálů při inkubaci albuminu měďnatými ionty s askorbátem. Při ischemických pochodech dochází ke zvýšení hladiny radikálů, proto se předpokládalo, že s dobou jejich působení bude klesat vazba kobaltu na albumin vzhledem ke vzniku IMA. Experimentálně se touto tematikou zabývali Roy et al. [8], kteří na komerční normální sérum působili chemicky generovanými radikály. Sérum bylo testováno metodou albumin kobalt binding test (ACB). Bylo experimentálně potvrzeno, že účinkem radikálů se snižuje vazebná schopnost séra pro kobalt. OH^{\cdot} radikály podle těchto autorů modifikují přítomný HSA specifickým blíže neurčeným způsobem, spíše než by docházelo k degradaci molekuly. Přiklánějí se tedy k názoru, že účinek radikálů je zaměřen na N-koncový tetrapeptid. Práce Roy et al. je přínosem pro experimentální důkaz radikálů při modifikaci albuminu při ischemických stavech měřený metodou ACB, nicméně jsou zapotřebí další analýzy k objasnění tohoto problému.

Literatura

1. Dušek, J., Tichý, M., Štasek, J., Bis, J., Gregor, J., Pudil, R., Vojáček, J. Ischemií modifikovaný albumin: nový marker ischemie myokardu. *Čas. Lék. čes.*, 2005, 144, 5, p. 295–297.
2. Stejskal, D., Lačňák, B., Juráková, R., Adamovská, S., Prošková, J., Ochmanová, R., Ožanová, G. První zkušenosti se stanovením vazebné kapacity pro kobalt (ACB) v diagnostice akutního koronárního syndromu (pilotní studie). *Vnitř. Lék.*, 2004, 50, 10, p. 734–739.
3. Bar-Or, D., Lau, E., Winkler, J. V. A novel for cobalt-albumin binding and its potential as a marker for myocardial ischemia – a preliminary report. *J. Emerg. Med.*, 2000, 19, 4, p. 311–315.

4. **Chan, B., Dodsworth, N., Woodrow, J., Tucker, A., Harris, R.** Site-specific N-terminal auto-degradation of human serum albumin. *Eur. J. Biochem.*, 1995, 227, p. 524–528.
5. **Bhagavan, N. V., Lai, E. M., Rios, P. A. et al.** Evaluation of human serum albumin cobalt binding assay for the assessment of myocardial ischemia and myocardial infarction. *Clin. Chem.*, 2003, 49, 4, p. 581–585.
6. **Floyd, R. A.** Role of oxygen free radicals in carcinogenesis and brain ischemia.
7. **Marx, J., Chevion, M.** Site-specific modification of albumin by free radicals. *Biochem. J.*, 1986, 236, p. 397–400.
8. **Roy, D., Quiles, J., Collinson, P., Kaski, J. C., Baxter, G. F.** Role of reactive oxygen species on the formation of the novel diagnostic marker ischemia modified albumin. *Heart*, 2006, 92, p. 113–114.

Vítěz Kalous

Profesor RNDr. Vítěz Kalous, DrSc., (nar. 1926) je vědecký pracovník v oboru polarografie a biofyziky. Přednášel řadu let na Přírodovědecké fakultě UK Praha, jejímž byl proděkanem, působil v několika zemích jako pedagog UNESCO. Je nositelem pamětní medaile Jaroslava Heyrovského a dalších ocenění. Z jeho publikací zmiňujeme pozoruhodnou knihu *Základy fyzikálně chemických metod*.

06/2007

ZDRAVOTNICTVÍ A PRÁVO

PRÁVNÍ A DAŇOVÝ PRŮVODCE PRO ZDRAVOTNICTVÍ

Z OBSAHU:

K VYHLÁŠCE O ZDRAVOTNICKÉ DOKUMENTACI

**EKONOMICKÉ ASPEKTY
V ŘÍDÍCÍ PRÁCI ZDRAVOTNÍKA**


**NOVELA ZÁKONA O PÉČI O ZDRAVÍ LIDU
A SOCIÁLNĚ PRÁVNÍ OCHRANA DĚTÍ**

NUCENÁ PÉČE VE ZDRAVOTNICTVÍ

ČESKÝ POJIŠTĚNĚC V ZEMÍCH EU


Praktický rádce lékařů, lékárníků a zdravotnických zařízení přináší aktuální informace o systémových, finančních, právních, daňových a dalších otázkách zdravotnictví. Důraz je kladen na vývoj legislativy v této oblasti, řada problémů je řešena prakticky formou otázek a odpovědí. Měsíčník se zabývá i vztahy a vzájemným postavením poskytovatelů zdravotní péče, zdravotních pojišťoven, farmaceutických firem, státních institucí a pacientů. Rozšíření časopisu od roku 2006 spočívá v zařazení sbírky rozhodnutí českých soudů ve věcech zdravotnických.

Určeno privátním lékařům, lékárníkům a stomatologům, managementu zdravotnických zařízení, zdravotním pojišťovnám, státní správě a samosprávě.



LexisNexis CZ s. r. o.

www.lexisnexus.cz



LexisNexis CZ s. r. o.
 Limuzská 2110/8, 100 00 Praha 10
 tel.: 274 013 268, fax: 274 013 256
 e-mail: obchod@lexisnexus.cz
www.lexisnexus.cz