

Nové metody

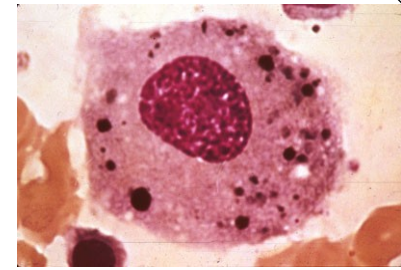
Petr Breinek



Nové metody_2012



Myeloperoxidáza (MPO)



- Hemoprotein uskladněný **v leukocytech**
- Je **součástí obranného systému**
- Uplatňuje se v **oxidaci lipidů** obsažených v částicích LDL
- Katalyzuje vznik oxidačních produktů kyseliny chlorné (HClO) z H_2O_2 a Cl^-
- Tyto produkty způsobují kromě poškození v místech **nestabilitu aterosklerotického plátu**

Myeloperoxidáza (MPO)

- enzym ze skupiny peroxidáz
- podle mezinárodního třídění mu přísluší název:

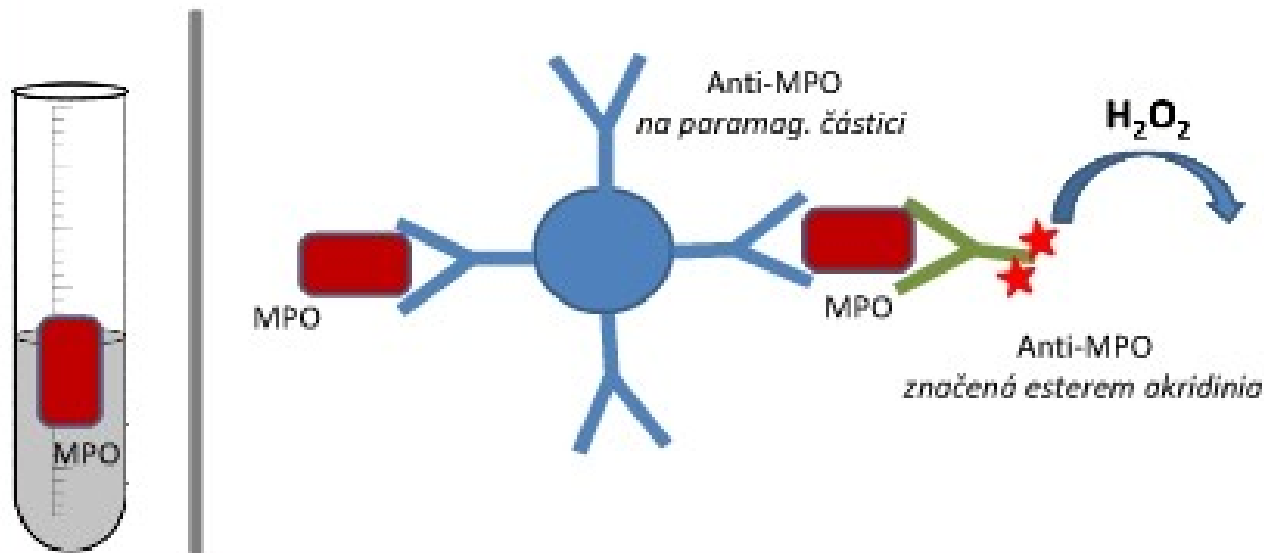
**donor : peroxid vodíku, oxidoreduktasa
EC 1.11.1.7.**

- obsažena v azurofilních granulích neutrofilních granulocytů a v lyzosomech monocytů
- koncentrace v neutrofilních granulocytech je třikrát vyšší než v monocytech
- v neutrofilech tvoří asi 5 % jejich suché hmotnosti, v monocytech 2 %

Myeloperoxidáza

Možnosti stanovení

- Fotometrie (aktivita)
- ELISA
- Abbott Architect MPO



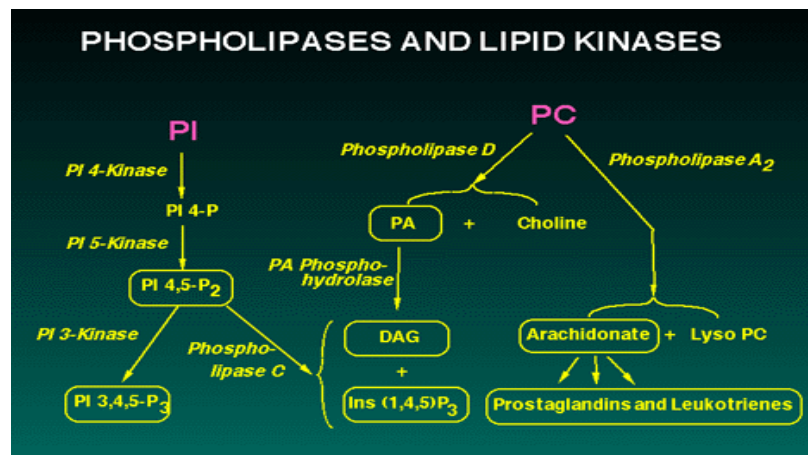
Zvýšená koncentrace MPO v séru

- je **ukazatelem nestabilního plátu**
- ukazuje na **nemocné ohrožené komplikací aterosklerózy**
- slouží jako **špatný prognostický ukazatel**
 - vzhledem k ohrožení cévní příhodou
 - vzhledem k riziku úmrtí

PAPP-A (pregnancy associated plasma protein A)

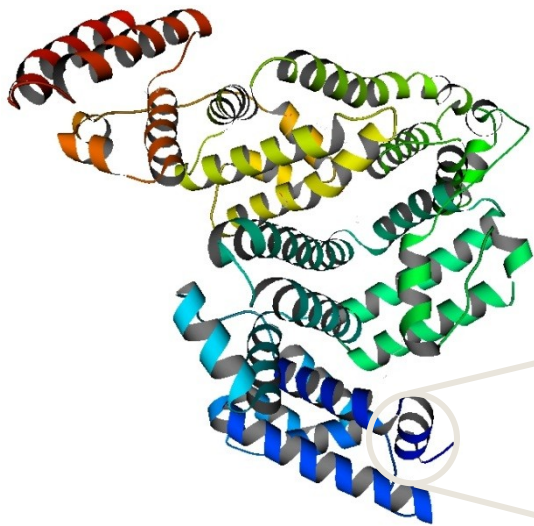
- Patří do skupiny inzulínu podobných růstových faktorů
- Má metaloproteinázovou aktivitu
- Podílí se na destrukci fibrózního krytu aktivovaného plaku

Cholin

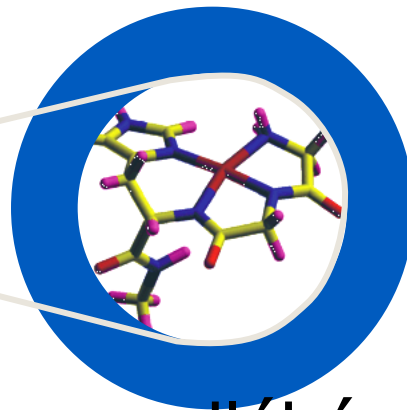


- Vzniká při lipolýze fosfolipidů v aktivovaném aterosklerotickém plaku
- produkt aktivity fosfolipázy D (A2) v ischemické tkáni s hemodynamickou nestabilitou (štěpí membránový fosfatidylcholin na cholin a kyselinu fosfatidovou)
- **Koncentrace cholinu v krvi je úměrná aktivitě fosfolipázy D a aktivaci trombocytů**
- **K vzestupu koncentrace cholinu v séru dochází při srdeční ischemii**

IMA Ischemií Modifikovaný Albumin



Lidský Albumin v séru je protein s vazebným místem pro kovový kation na N-terminálním konci



N-terminální konec podléhá změnám během ischemie, dochází k jeho modifikaci, vzniká **Ischemií Modifikovaný Albumin (IMA)**, který není schopen vázat kovové kationty na N-terminálním konci.

IMA

- K vzestupu dochází již po několika minutách ischemie myokardu (ale i jiných orgánů), pokles k normě během 6 až 12h
- Časně vyloučení ischemie u nemocných se stenokardiemi a nízkou prevalencí AKS
- Analýza musí být dokončena do 2h po odběru krve
- Fotometrická metoda: ACB test

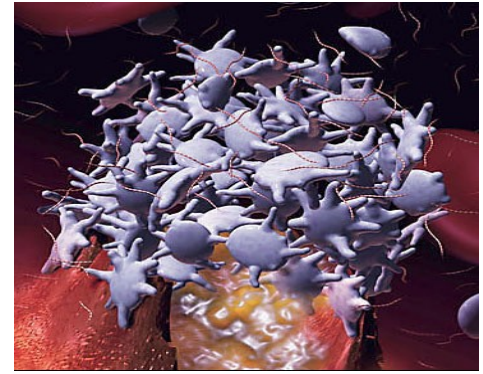
h-FABP

srdeční typ proteinu vázajícího mastné kyseliny

- Cytosolový protein, $M_r=15\text{kDa}$
- **Váže a transportuje mastné kyseliny** (intracelulárně)
- 9 typů FABP
- **Srdeční forma (H-FABP) není orgánově specifická** (také kosterní sval, střevo)
- Diagnostická senzitivita a specifita je podobná jako u myoglobinu

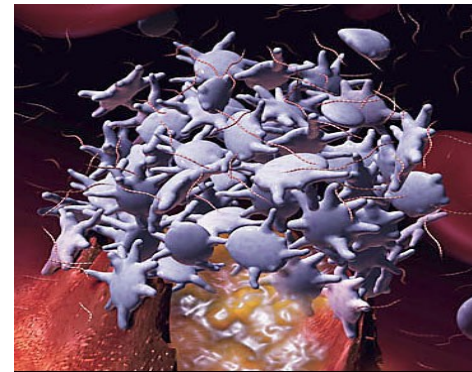
sCD40L

rozpusťný CD40 ligand



- **Protein buněčné membrány trombocytů**
- Při jejich aktivaci v destabilizovaných aterosklerotických placích je uvolňován do krve
- Receptorový ligand je schopen spouštět zánětlivou reakci v cévním endotelu prostřednictvím sekrece cytokinů a chemokinů
- **Marker aktuální trombogenní aktivity**

sCD40L



- Zvýšení sérového sCD40L je asociováno se **zvýšeným rizikem budoucích možných kardiálních komplikací**
- Koncentrace sCD40L může identifikovat pacienty s narůstající **nestabilitou plátu u diagnosy AKS** současně s dalšími markery ischemie myokardu

GP-BB

Glykogenfosforyláza Isoenzym BB

- 3 izoenzymy: MM svalový
LL jaterní
BB mozkový (také v myokardu)
- Vzniká v endoplazmatickém retikulu
- Časný, ale **nespecifický marker nekrózy**
- Při ischemii je intenzivnější glykolýza i glykogenolýza
- Při AIM se uvolňuje z myokardu podobnou rychlostí jako myoglobin

Lp-PLA2

Fosfolipáza asociovaná s lipoproteiny

- Produkována makrofágy a pěnovými buňkami
- 80% na LDL a 20% na HDL
- **Podílí se na kaskádě zánětu**
- PLAC test (diaDexus)

LOCI™

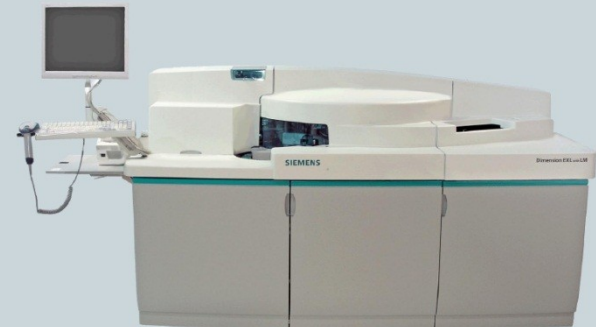
Luminescent Oxygen Channeling Immunoassay

LOCI

Dimension VISTA 1500 a 500 - LOCI®

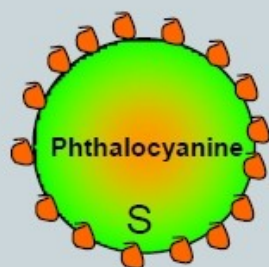


Dimension ExL - LOCI®



LOCI™

Luminescent Oxygen Channeling Immunoassay je založená na technologii chemiluminiscence:



Sensibead

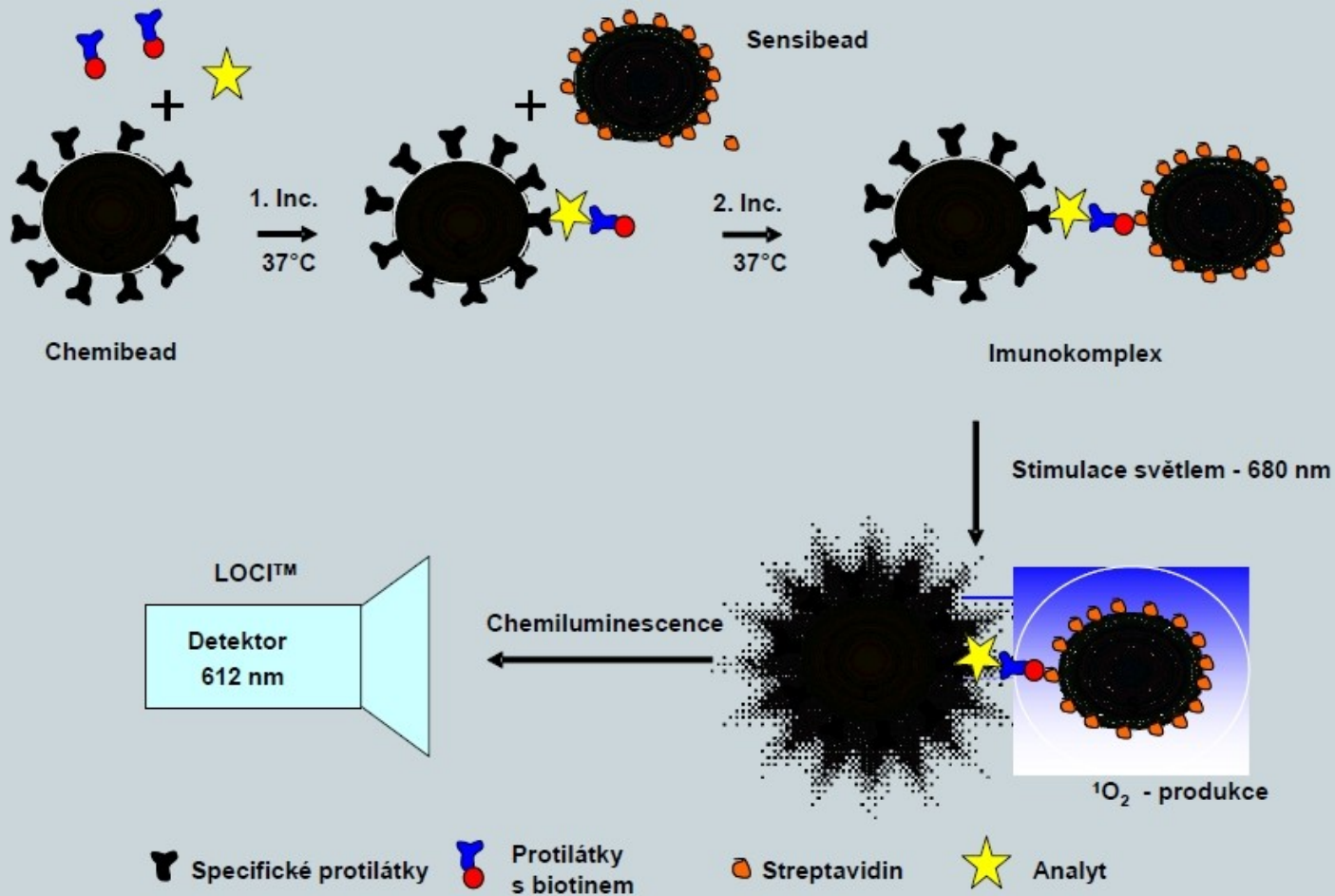
- Částice „sensibead“ – citlivá na světlo
- Na povrchu jsou částice Streptavidin
- Obsahuje Ftalocyanin



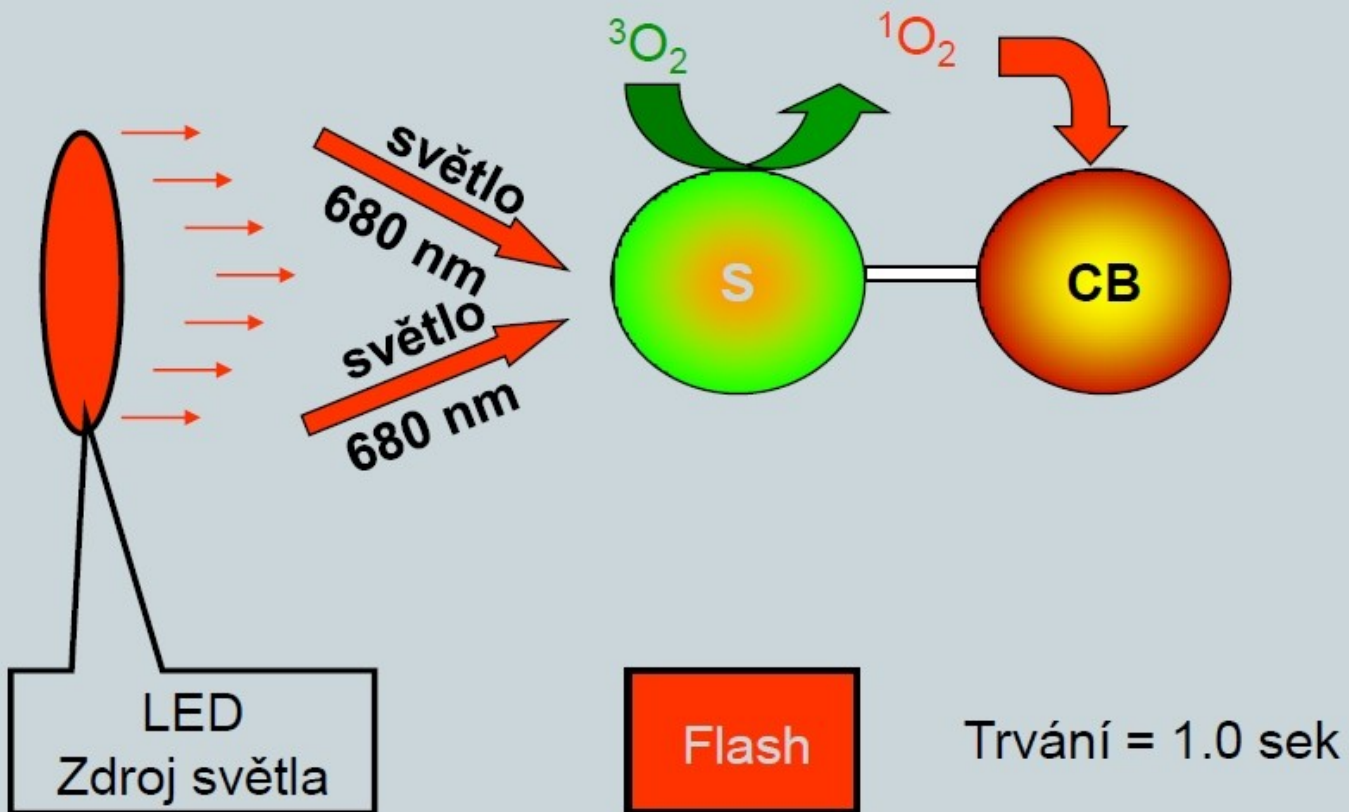
Chemibead

- Částice pro chemiluminiscenci – „chemibead“
- Na povrchu jsou specifické protilátky
- Obsahuje Olefin

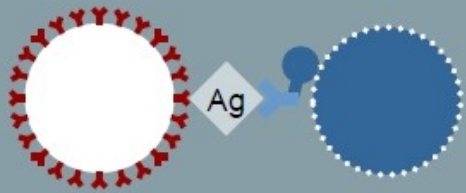
LOCI™



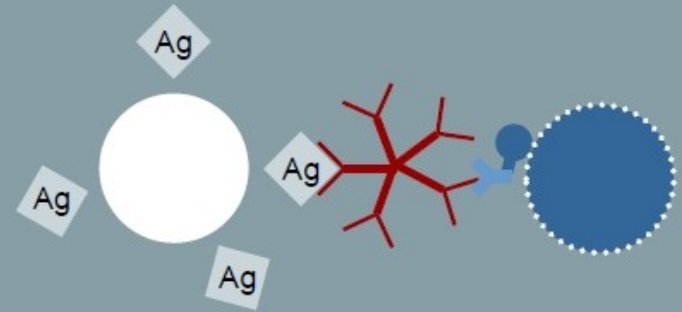
LOCI™



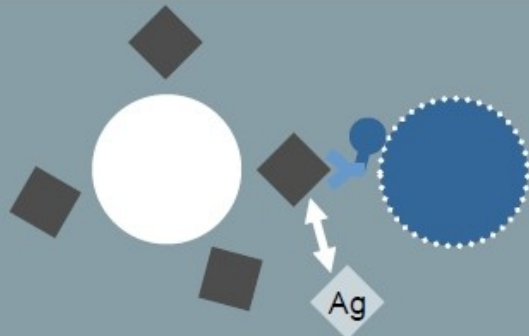
LOCI® - konfigurace immunoassay



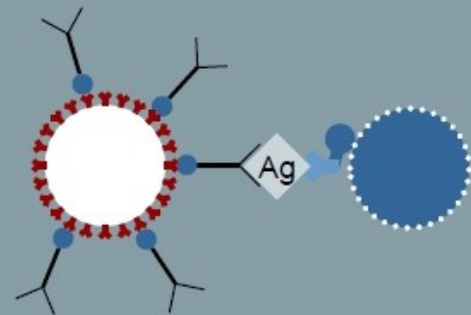
Sandwich format (antigen)



Sandwich format (antibody)



Competitive format



Sandwich with extended linker