

Vas, porfirin és hemoglobin metabolizmus, automatizált immunkémiai vizsgálatok

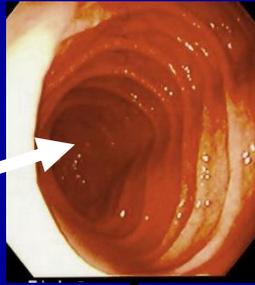
Kőszegi Tamás

**PTE KK Laboratóriumi Medicina
Intézet**

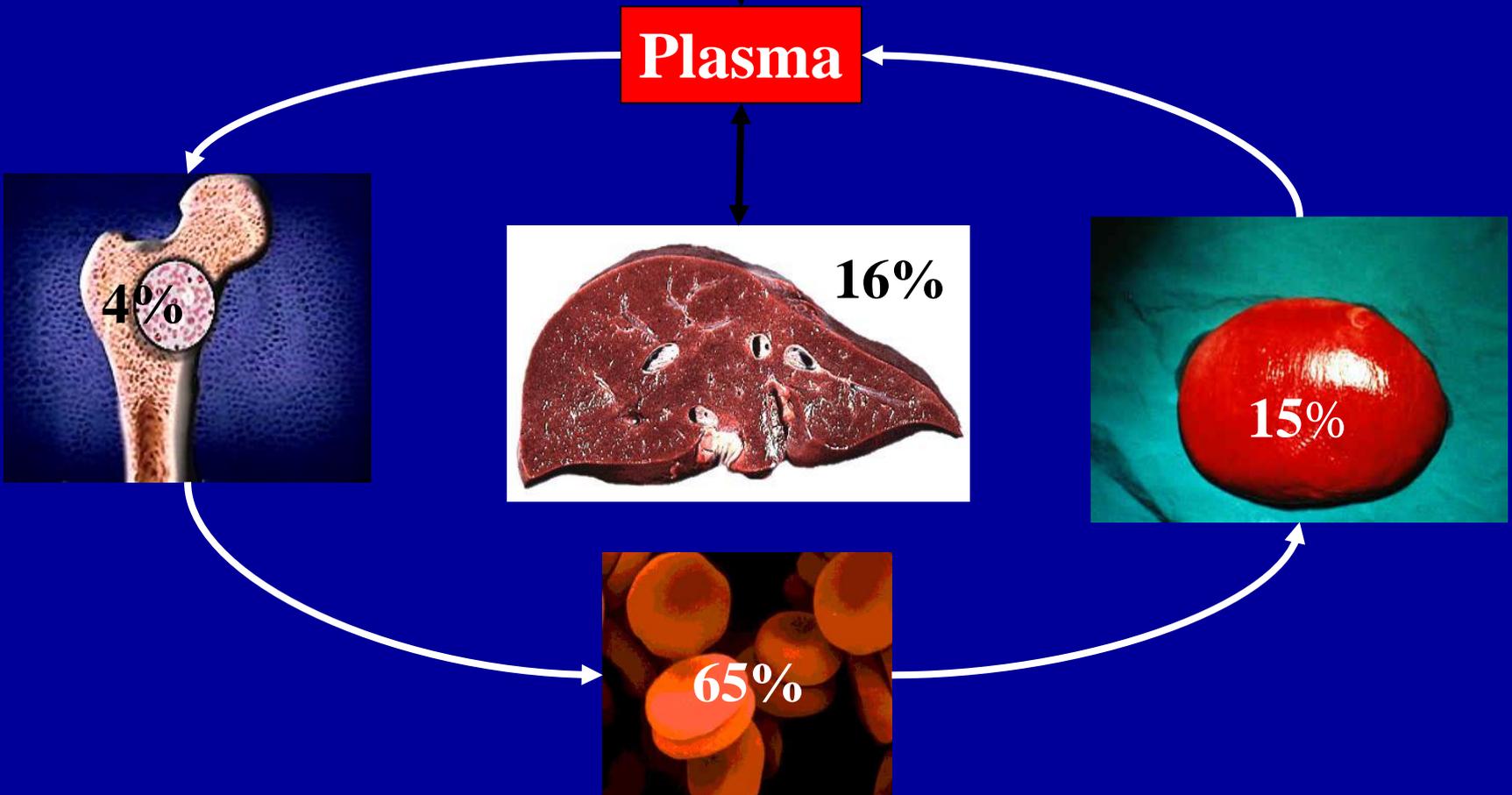
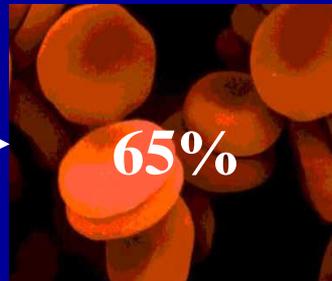
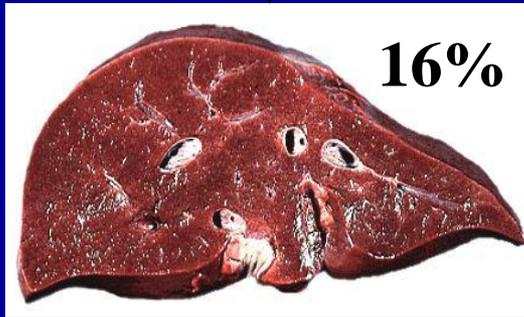
A szervezet vas anyagcseréjének jellegzetességei

- 4g összes vas, >99% intracellulárisan
- Fehérjéhez kötött!
- 65% vörösvértest hemoglobin
- 34% hem protein (oxidatív foszforiláció, raktárak, enzim kofaktor)
- Mikroorganizmusok (normál flóra)
- Napi bevétel 20mg, szükséglet 1-2mg
- Nem ürül ki!

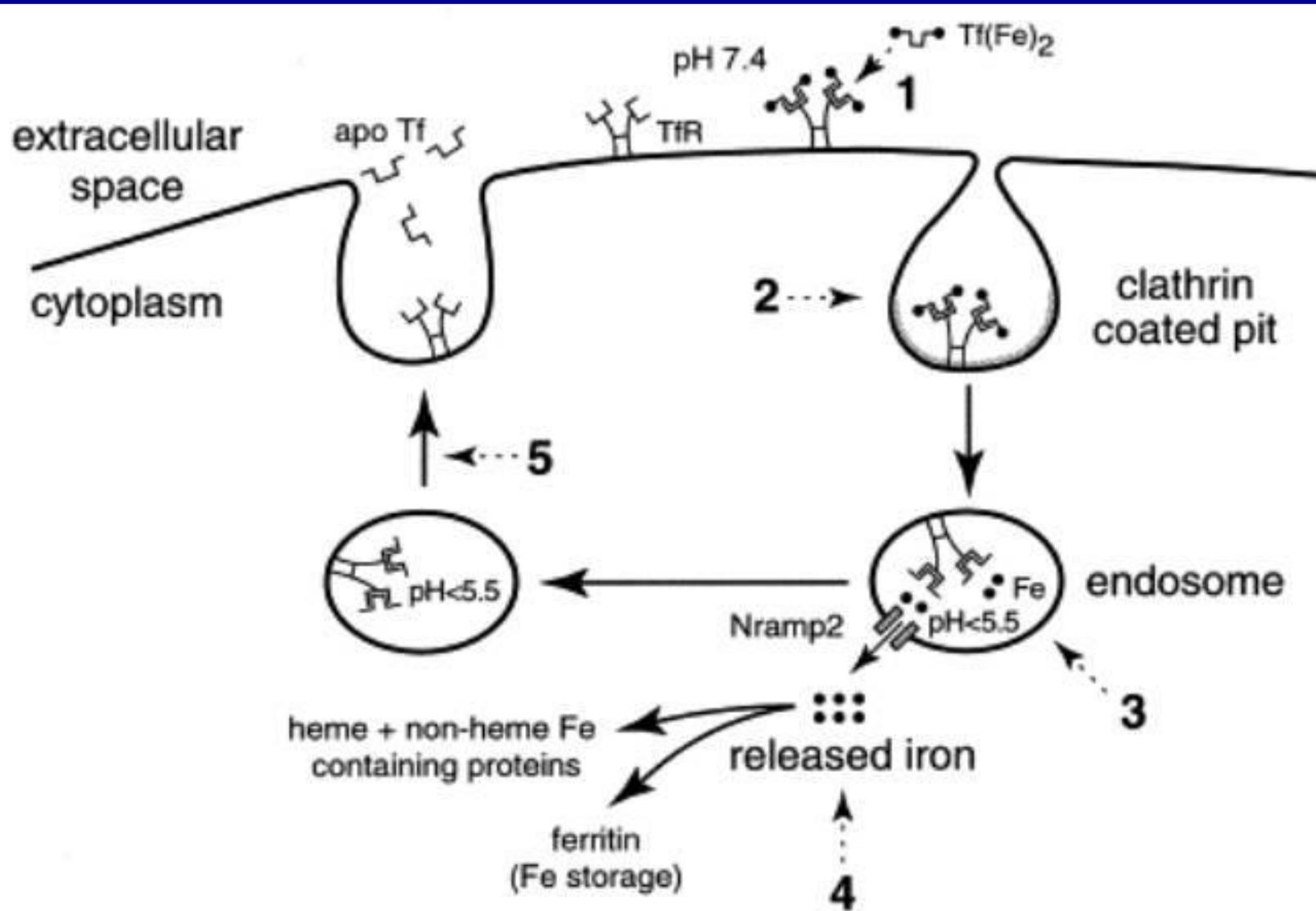
Fe



Plasma

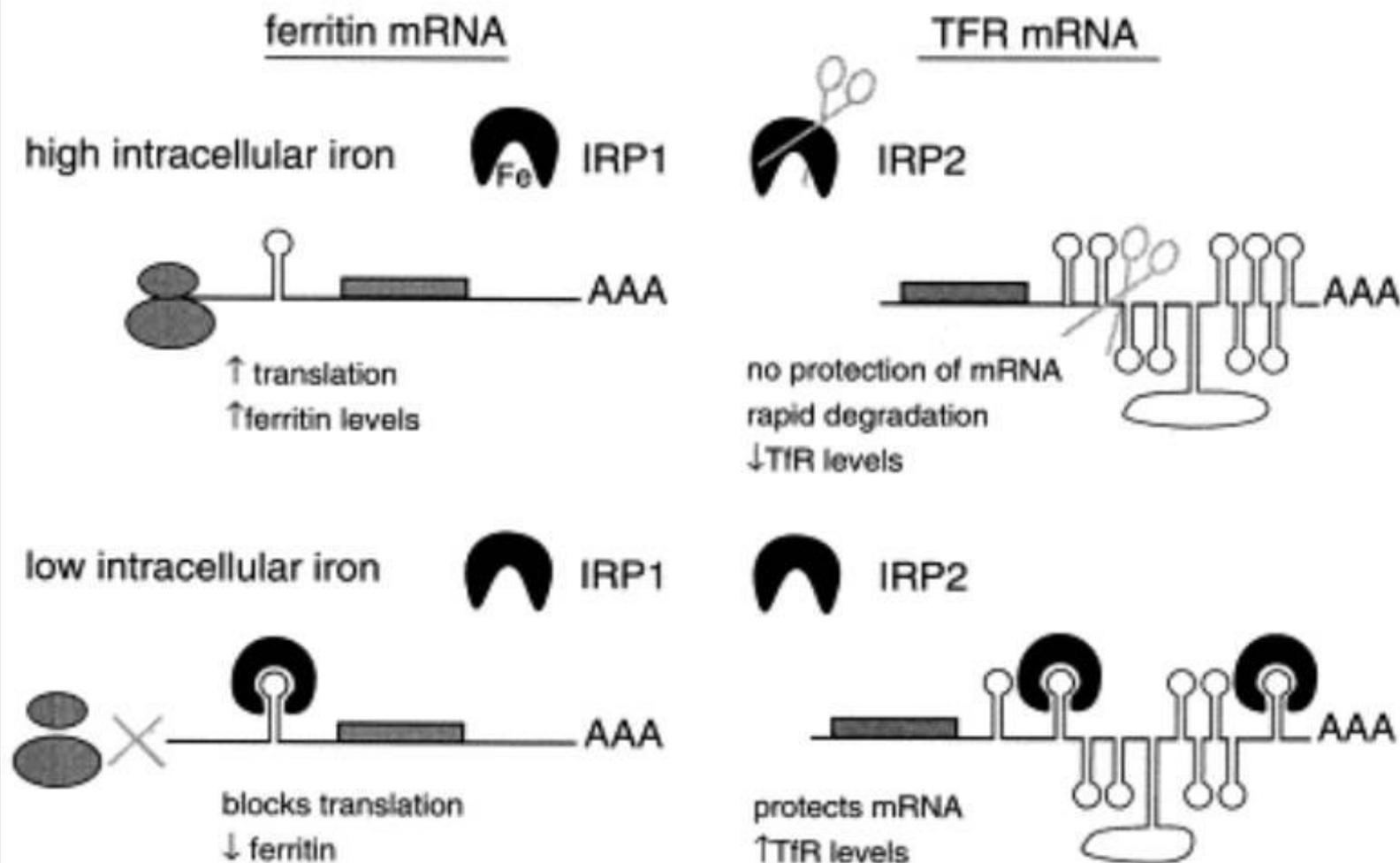


Vas felszívódás

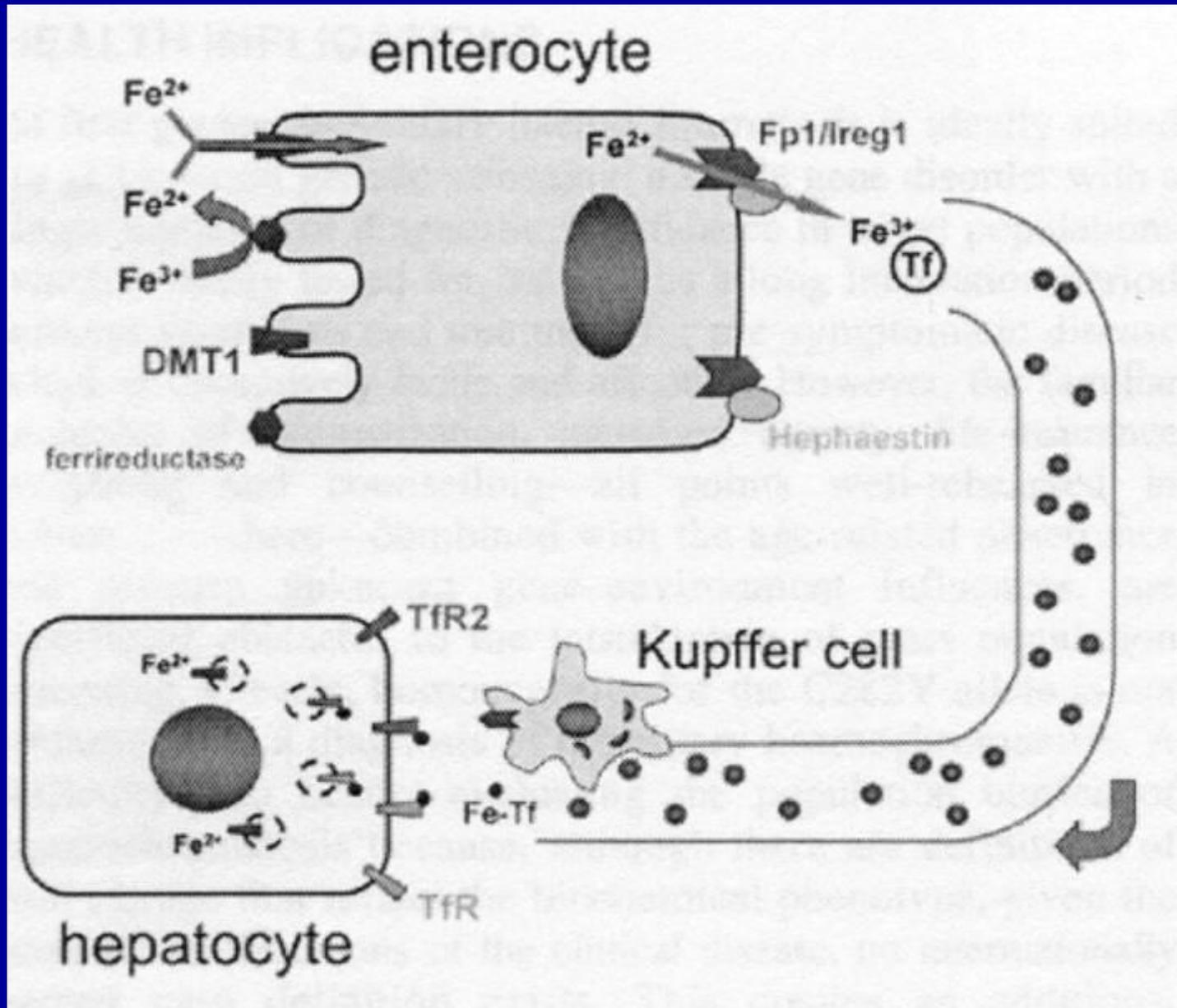


Vas felszívódás szabályozása

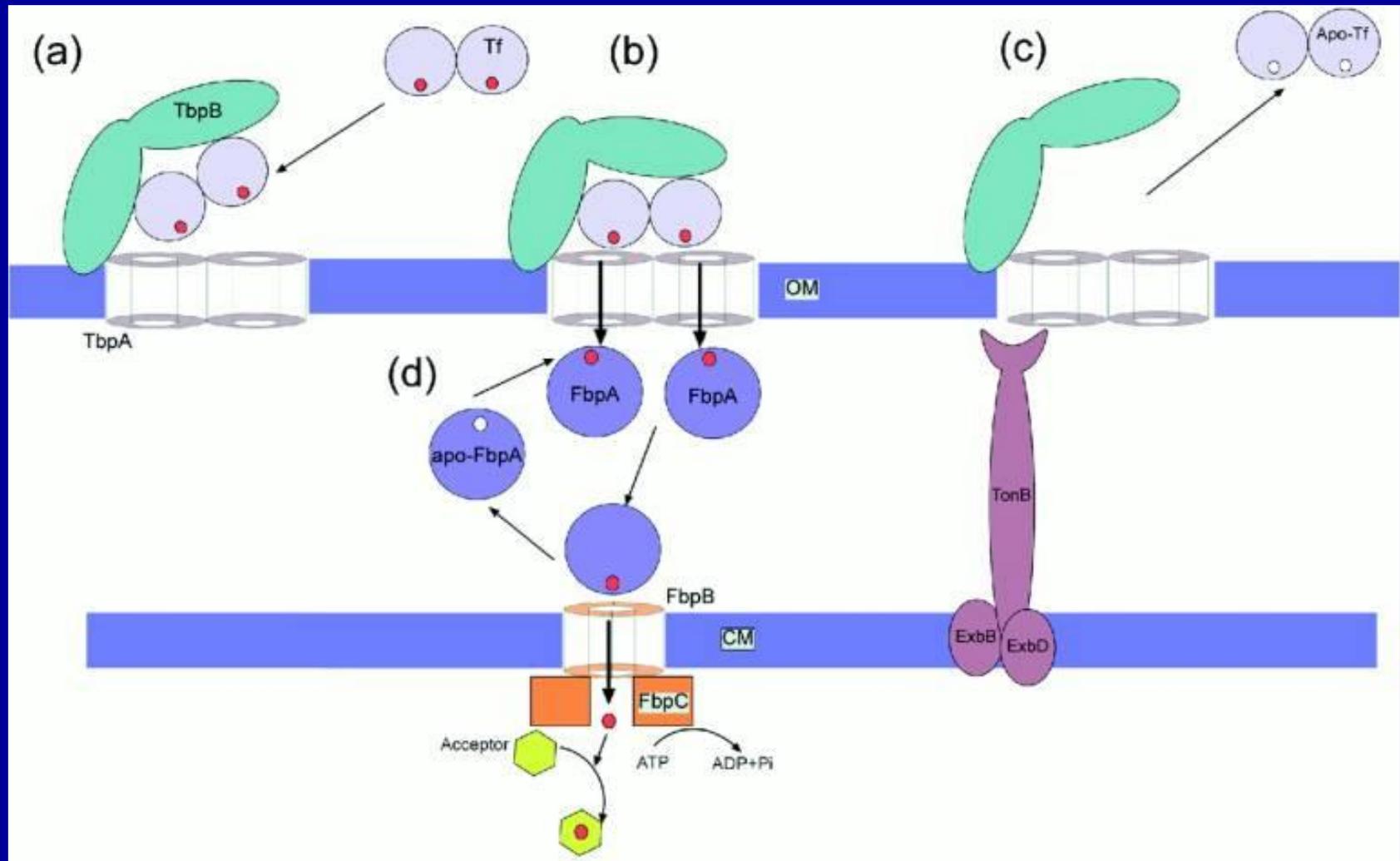
Iron Control of Translation and mRNA Stability



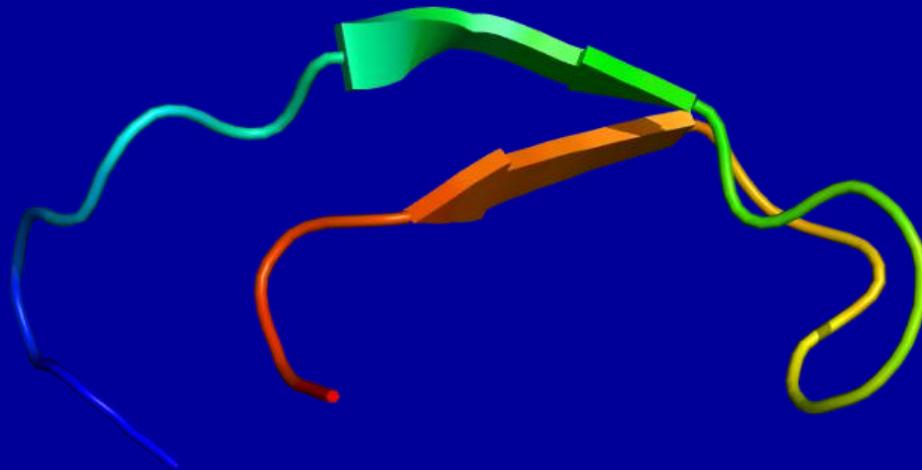
Vas transport



Gram-negatív baktérium vasfelvétele

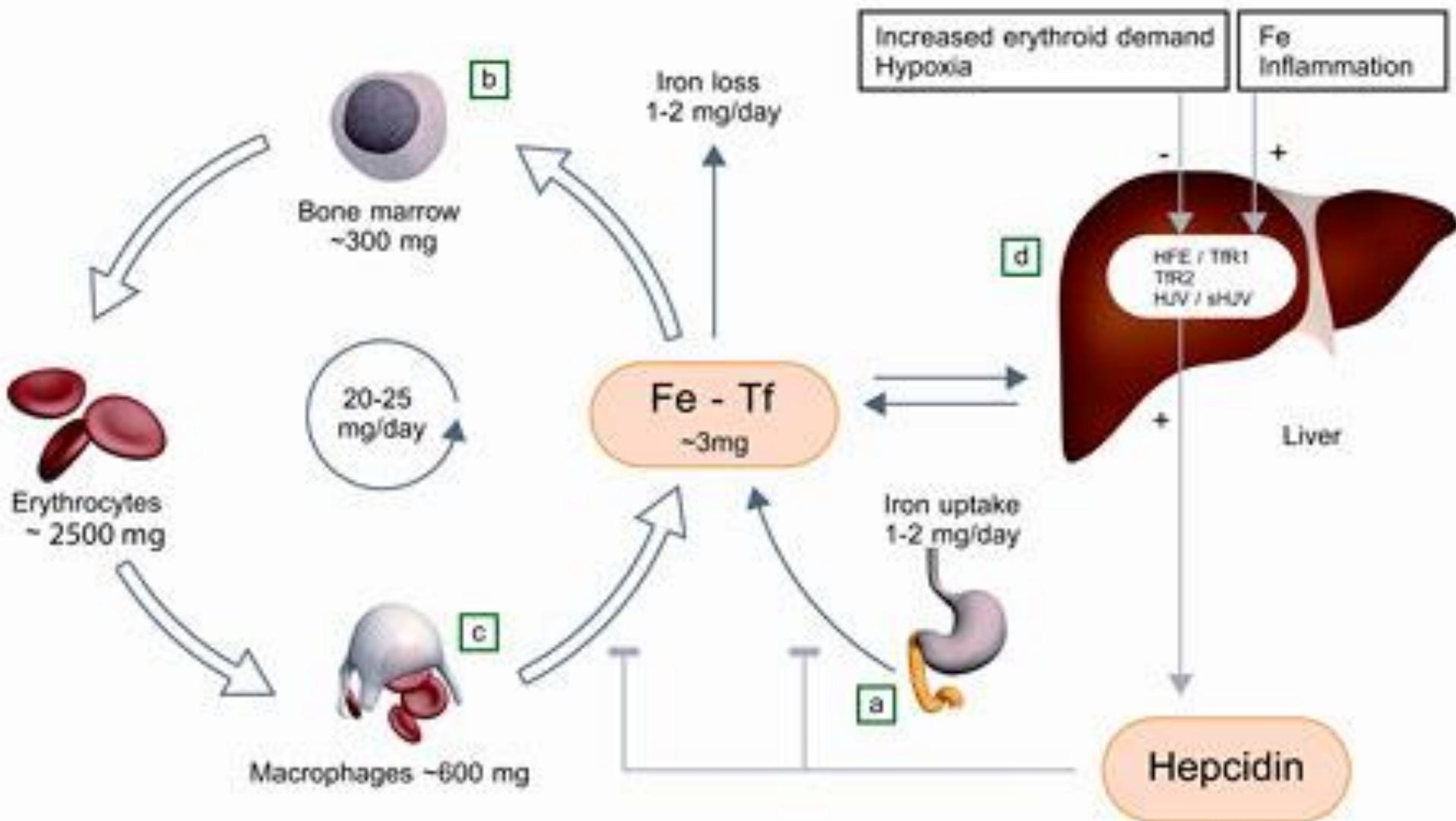


Hepcidin antimicrobial peptide

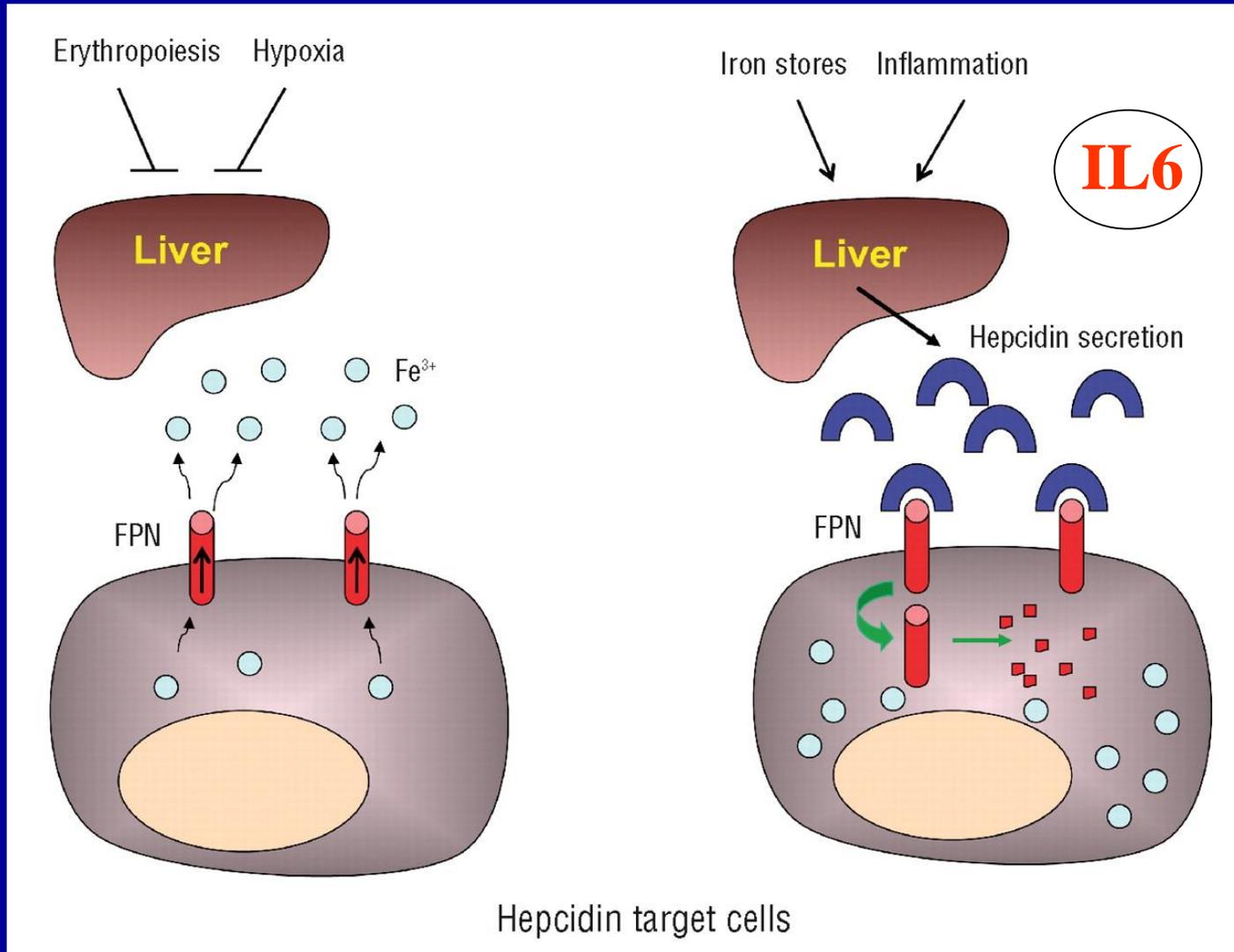


- 25 amino acids
- Produced by liver
- Inhibits Fe absorption by binding to gut enterocytes' ferroportin
- Increases in Fe overload and in inflammation

Vas anyagcsere - hepcidin



A hepcidin – ferroportin játék

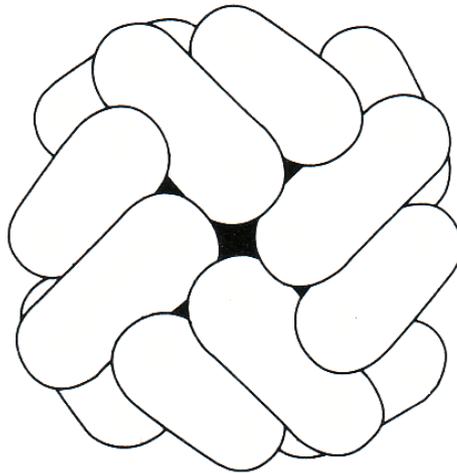


Ferritin szerkezete

Chemistry-251

March 19, 2004

Ferritin



- **Hollow-spheres**
- **24 Peptide subunits**
- **3- and 4-fold channels**
- **Iron stored as**
 $[\text{FeO}(\text{OH})]_8[\text{FeO}(\text{H}_2\text{PO}_4)]$
(‘a particle of rust’)
- **Iron goes in and out as Fe(II)**
- stored as insoluble Fe(III)

A vas két arca

Hemoglobin szintézis

Enzim kofaktor

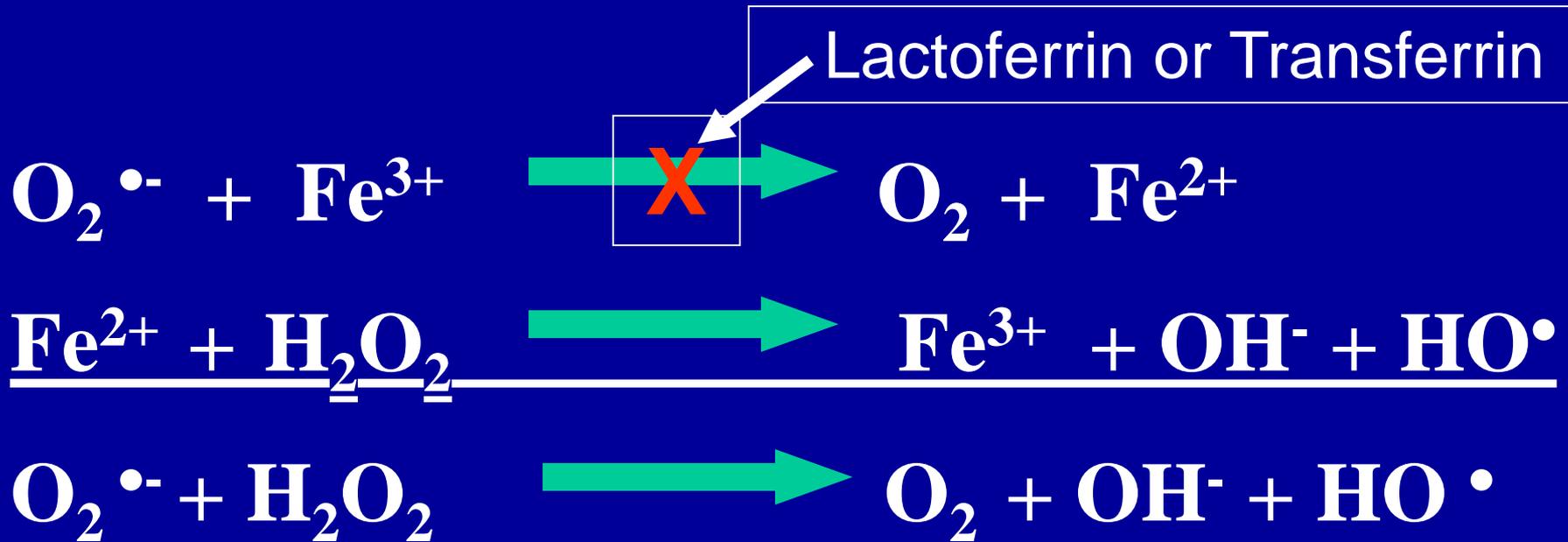


Oxidatív stressz

A vas két arca

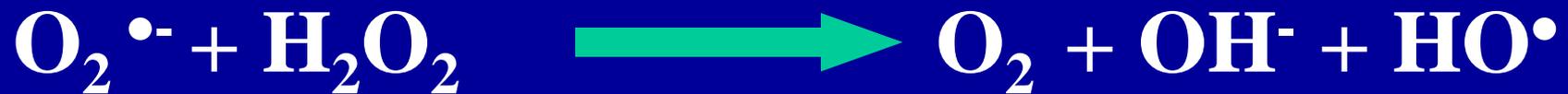
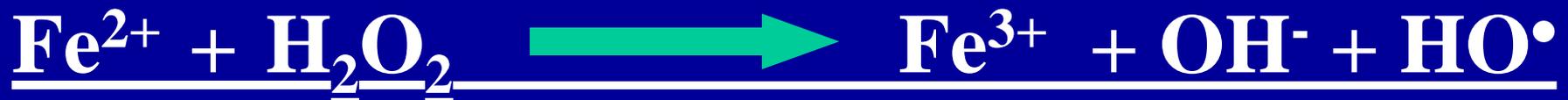
Kötött vas nem károsít

A Haber-Weiss reakció

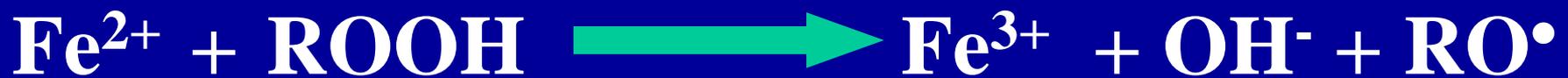


A vas, mint oxidatív tényező

A Haber-Weiss reakció



Reakció lipid hidroperoxidokkal



Vas anyagcsere

Mérhető paraméterek

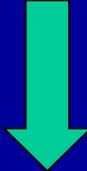
Szérum vas:	10-30umol/l
Transzferrin:	2,0-4,0g/l
(negatív akut fázis fehérje!)	
Transzferrin szaturáció:	15-30%
Ferritin:	17-300ug/l
Szolubilis transzferrin receptor:	2-5mg/l

Hematológiai paraméterek

Vas hiány

- **Látszólagos: terhesség, akut bakteriális infekció!**
- **Valódi: mikrocitás anémia**
- **Szérum vas, transferrin szaturáció** ↓
- **Ferritin normál: akut folyamat**
- **Ferritin** ↓ : **krónikus folyamat**
- **Szolubilis transferrin receptor** ↑

Vas többlet

- **Örökletes: hemochromatosis**
transzferrin/hemosziderin
- **Szerzett: ismételt transfúziók**
túlzott vas bevitel
- **Szérum vas, transzferrin szaturáció** 
- **Ferritin normál: akut folyamat**
- **Ferritin**  **: krónikus folyamat**
- **Szolubilis transzferrin receptor** 

Vas többlet kezelése - régen



GEORGE TIEMANN & CO.'S SURGICAL INSTRUMENTS. 115

PHLEBOTOMY.

FIG. 1643.—Spear-pointed Thumb Lancet.

FIG. 1645.—Broad-pointed Thumb Lancet.

FIG. 1647.—Tiemann & Co.'s Spring Lancet.

CUPPING.

FIG. 1648.—Button Trigger Spring Lancet.

FIG. 1649.—Tiemann & Co.'s Patent Scarificator.

FIG. 1650.—Plain Spring Lancet.

FIG. 1651.—Ten-Bladed Scarificator.

FIG. 1652.—Twelve-Bladed Scarificator.

FIG. 1653.—Tiemann & Co.'s Soft Rubber Cupping Cup.

FIG. 1654.—Glass and Rubber Cup.

FIG. 1655.—Cupping Pump, Stop-cock and Cup.

No. 1 Cupping Set. \$23.

No. 2 Cupping Set. \$15.

Contains:

- 1 Brass Cupping Pump.
- 3 Stop-cocks.
- 3 Glass Cups.
- 1 Ten-bladed Scarificator.
- 1 Mahogany or Black-walnut Case, lined with velvet.

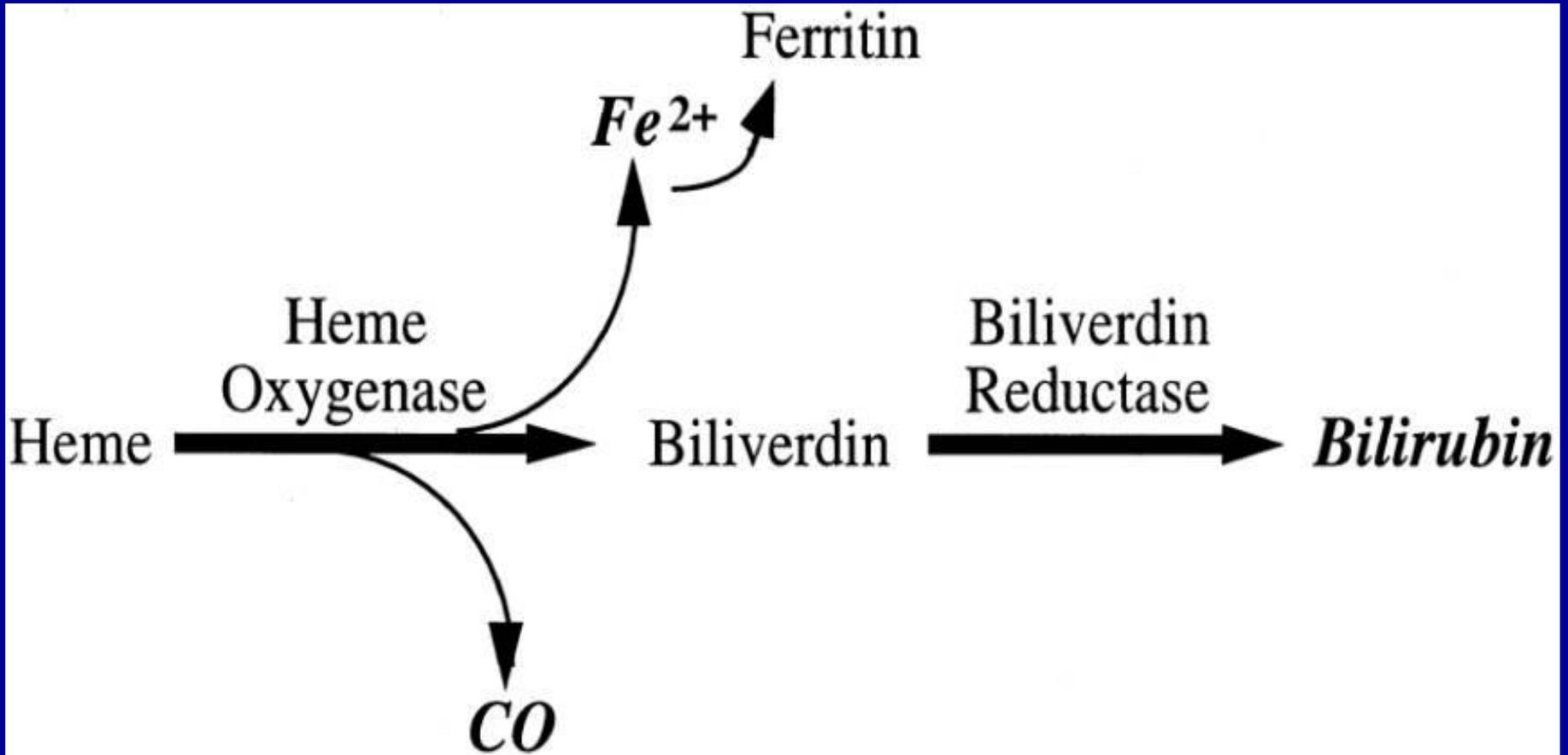
No. 1. Without Scarificator... \$30.00

Also, Breast Pumps.

- 1 Brass Cupping Pump.
- 3 Stop-cocks.
- 6 Glass Cups.
- 1 Twelve-bladed Scarificator.
- 1 Mahogany or Black-walnut Case, lined with velvet.

No. 2. Without Scarificator... \$40.00

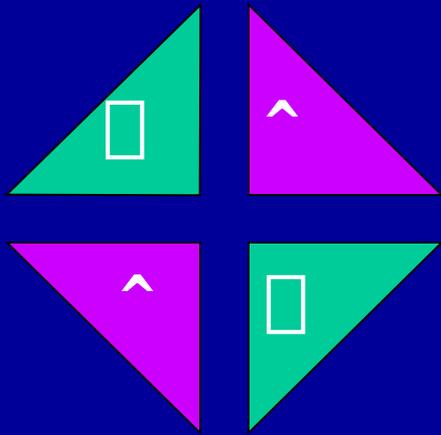
A vas sorsa a sejten belül



Hemoglobin rendellenességek

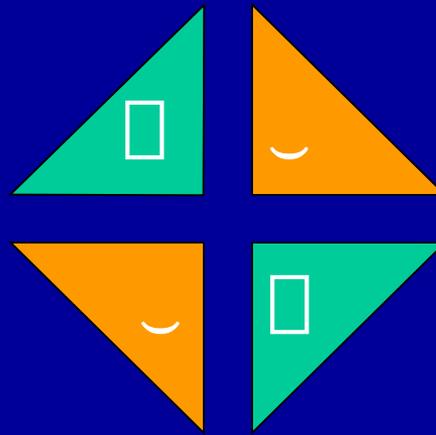
- **A globin fehérje mutációi:
hemoglobin variánsok (pl. sarlósejtes
anémia)**
- **A globin lánc örökletes változásai:
láncchiányok (thalassemia-k)**
- **A hem ligandjainak változása:
CO-Hgb, Szulf-Hgb, Met-Hgb**

Normál felnőtt hemoglobinok



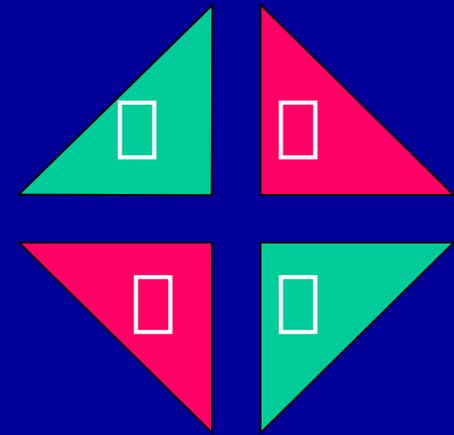
HbA

98%



HbF

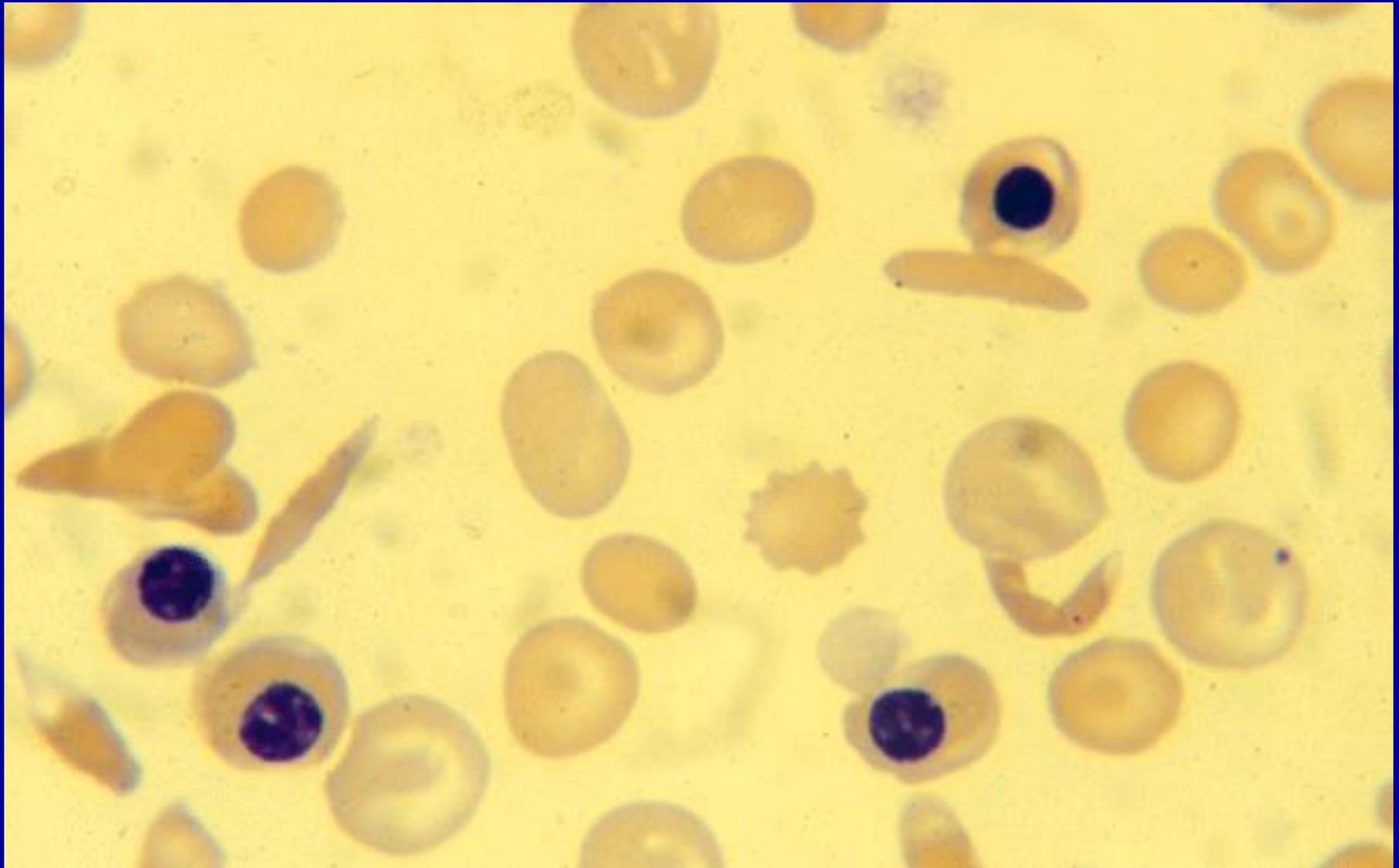
~1%



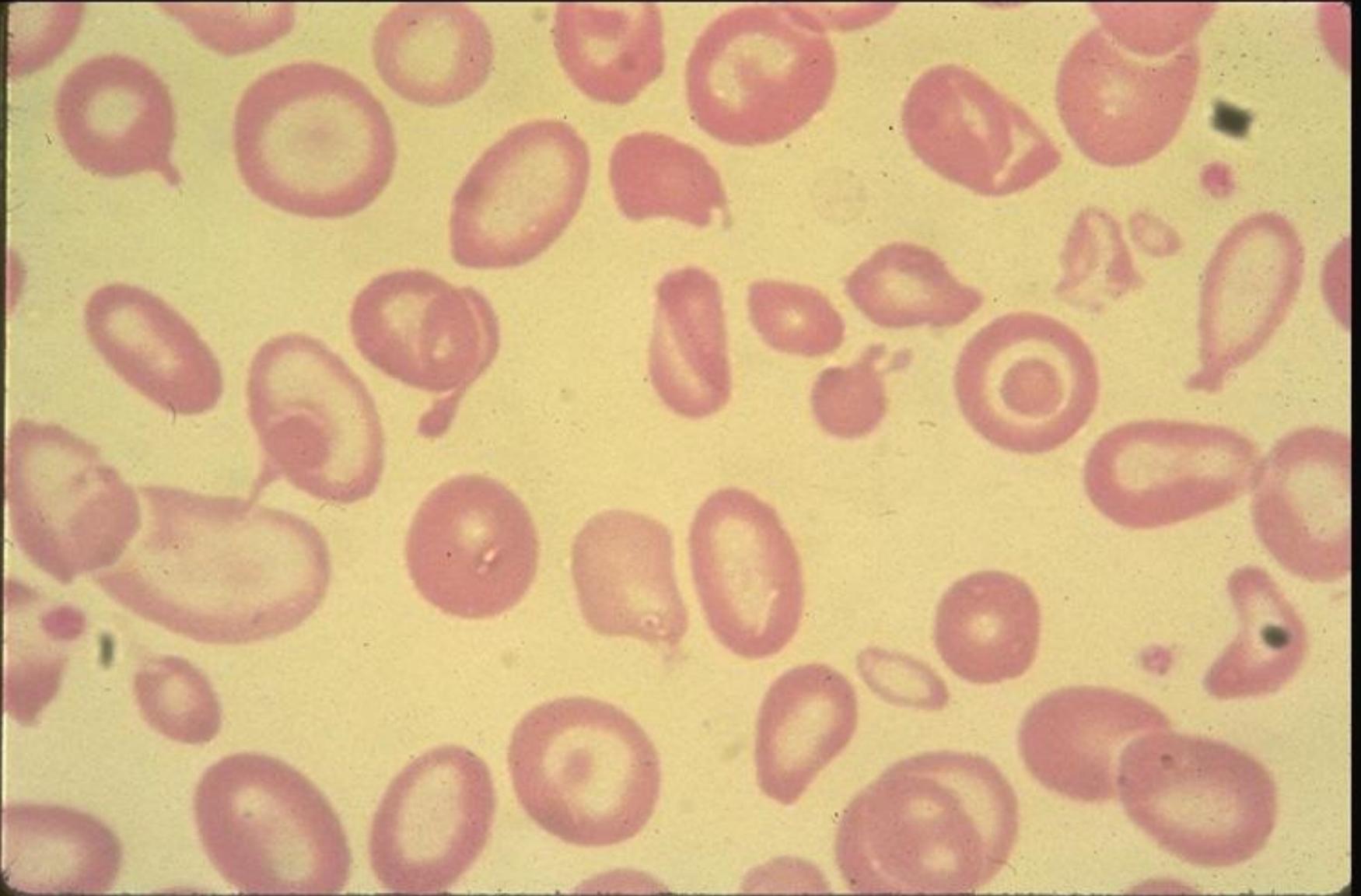
HbA₂

<3.5%

Sarlósejtes anémia

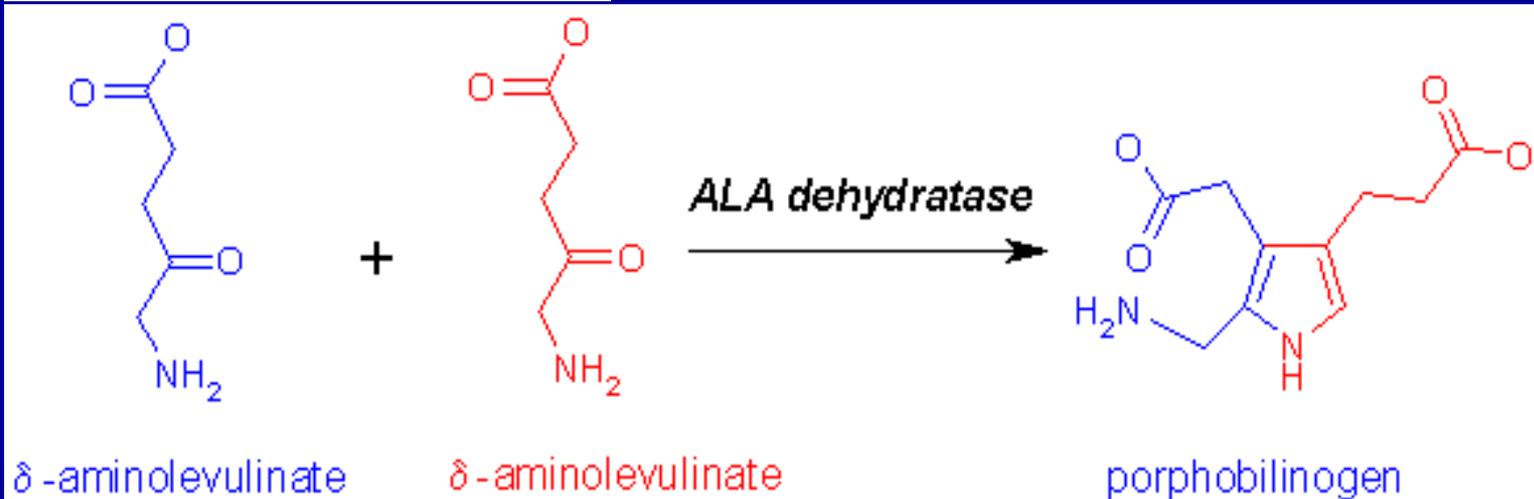
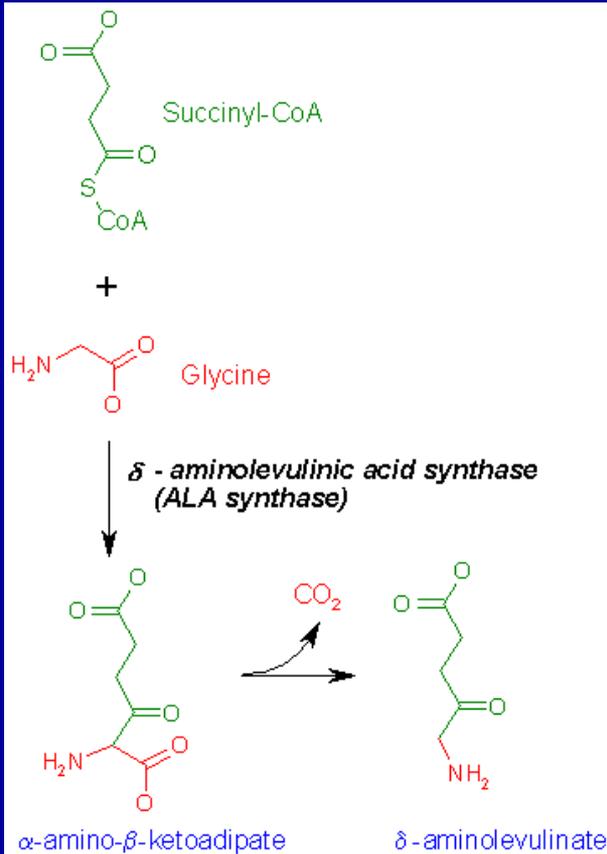


Beta thalassemia major



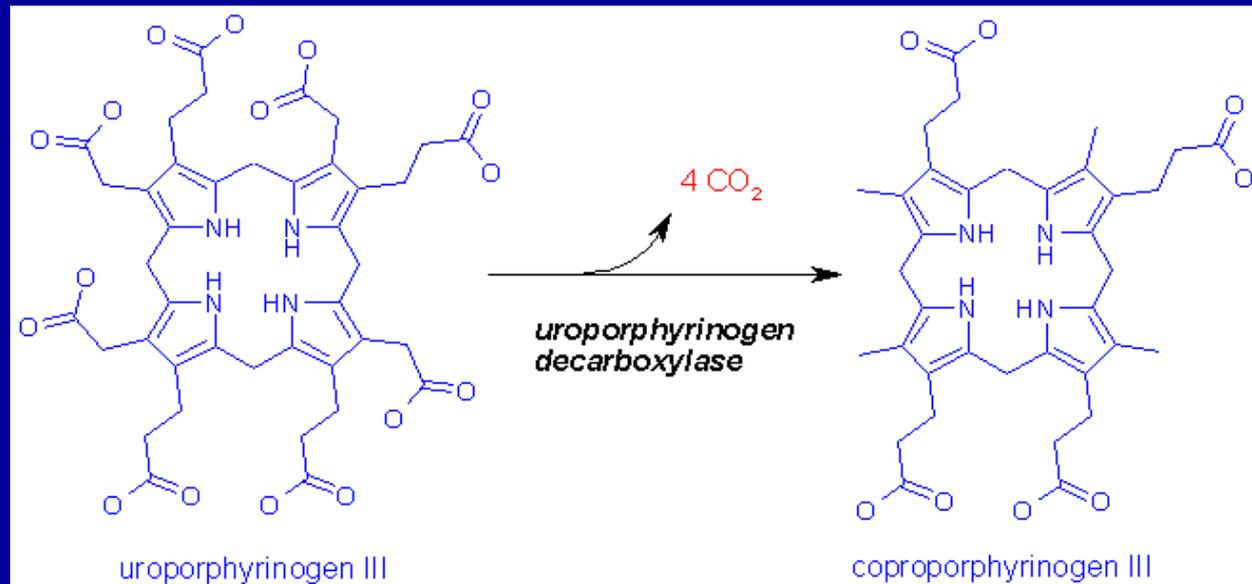
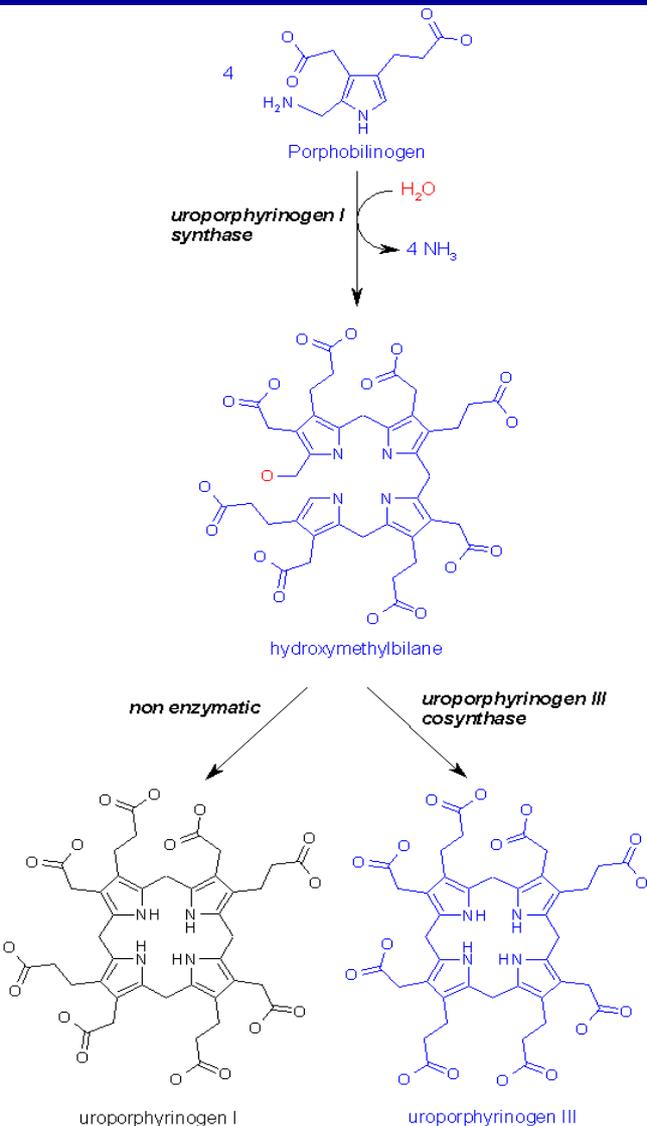
Hem szintézis

Vízoldékony
molekulák:
vizelet

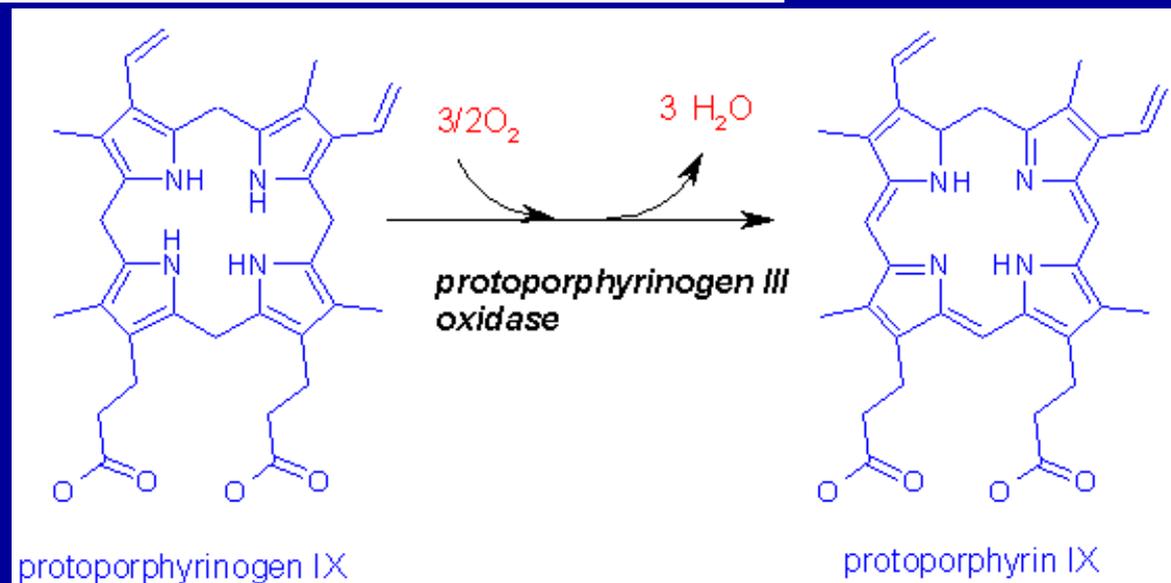
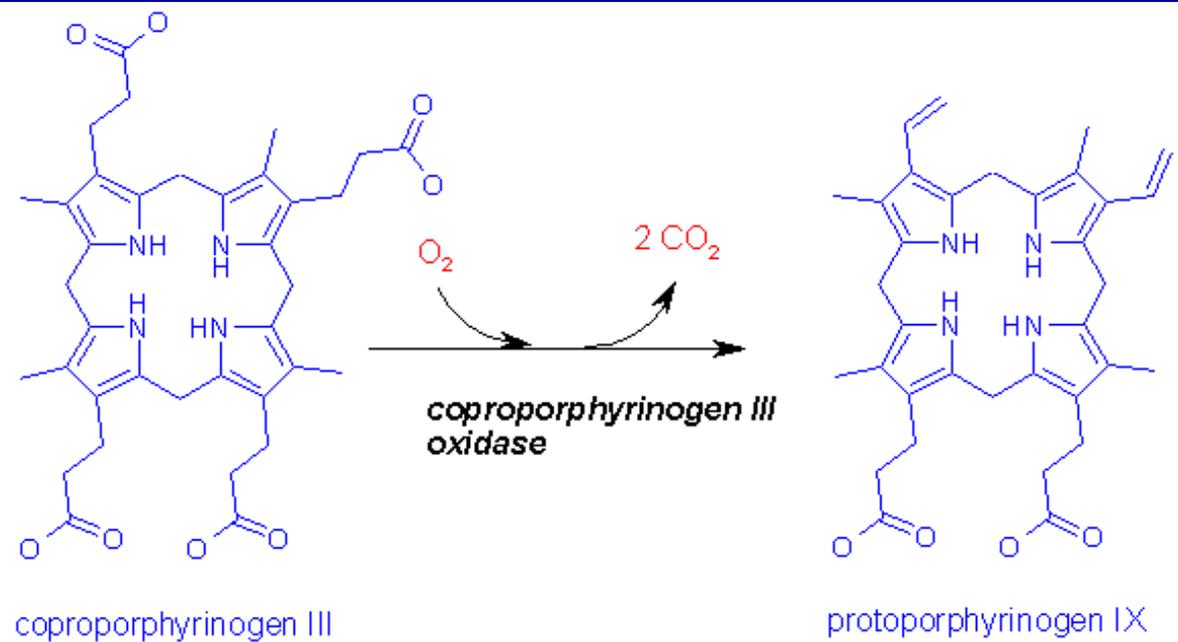


Hem szintézis

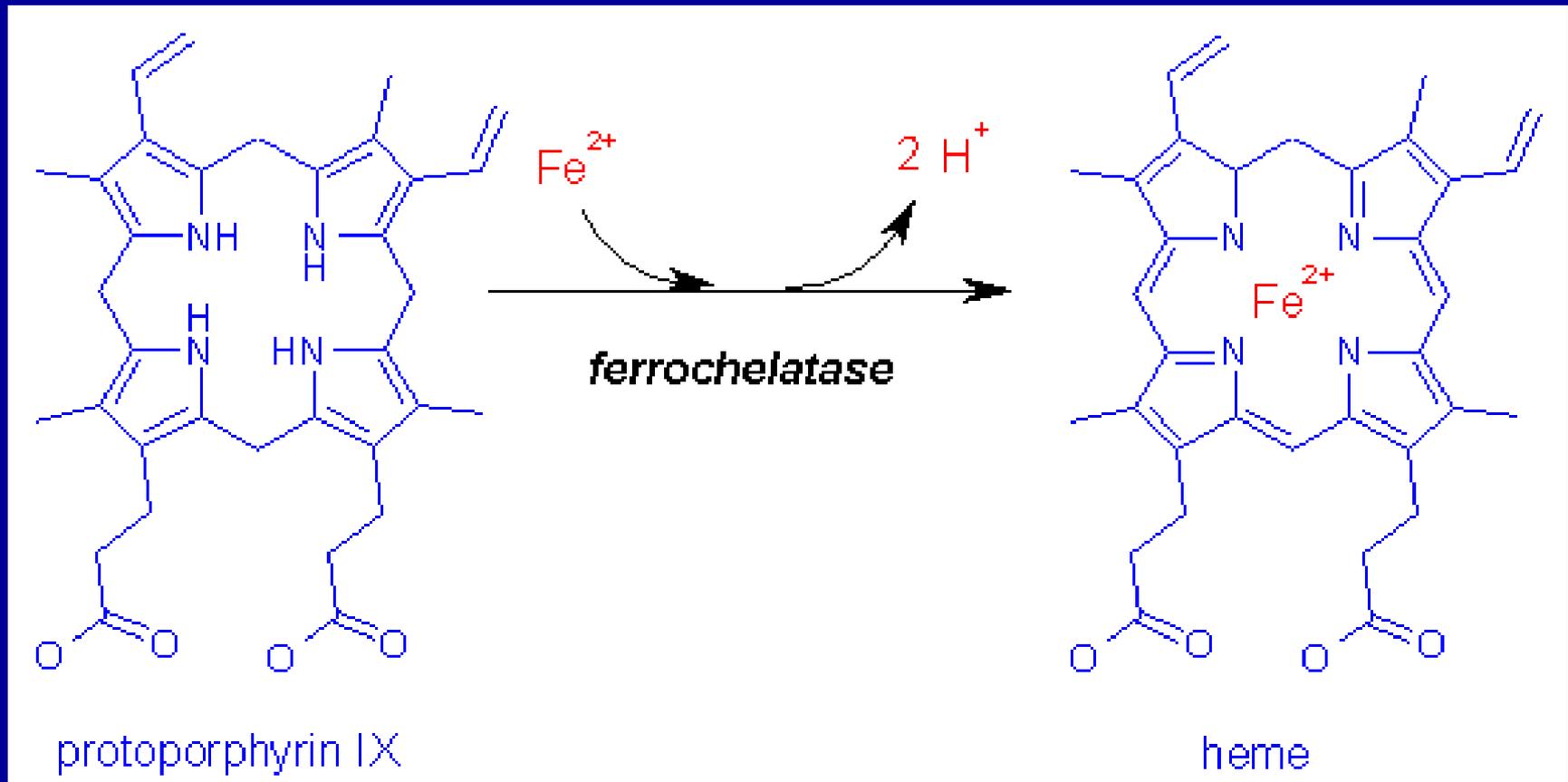
Zsírdékony molekulák: szövetek



Hem szintézis



Hem szintézis



Porfiriák

- **Örökletes: enzim blokk**
előanyagok - idegrendszeri, hasi tünetek
gyűrűs előanyagok - bőrtünetek
- **Mindig kell kiváltó tényező!**
- **Szerzett: nehézfém mérgezés**
enzim blokk

Neuro-visceral

Succinyl CoA + glycine

δ -aminolevulinic acid synthase

δ -Aminolevulinic acid (δ -ALA)

δ -aminolevulinic acid dehydratase

 Porphobilinogen

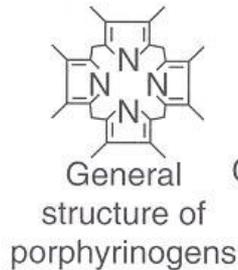
porphobilinogen deaminase

Hydroxymethylbilane

uroporphyrinogen III cosynthase

Uroporphyrinogen III

uroporphyrinogen decarboxylase



Coproporphyrinogen III

coproporphyrinogen oxidase

Protoporphyrinogen IX

protoporphyrinogen oxidase

Protoporphyrin IX

Fe^{2+} ferrochelatase

Heme

Porphyrias

δ -ALA dehydratase porphyria

Acute intermittent porphyria

Congenital erythropoietic porphyria

Porphyria cutanea tarda

Hereditary coproporphyria

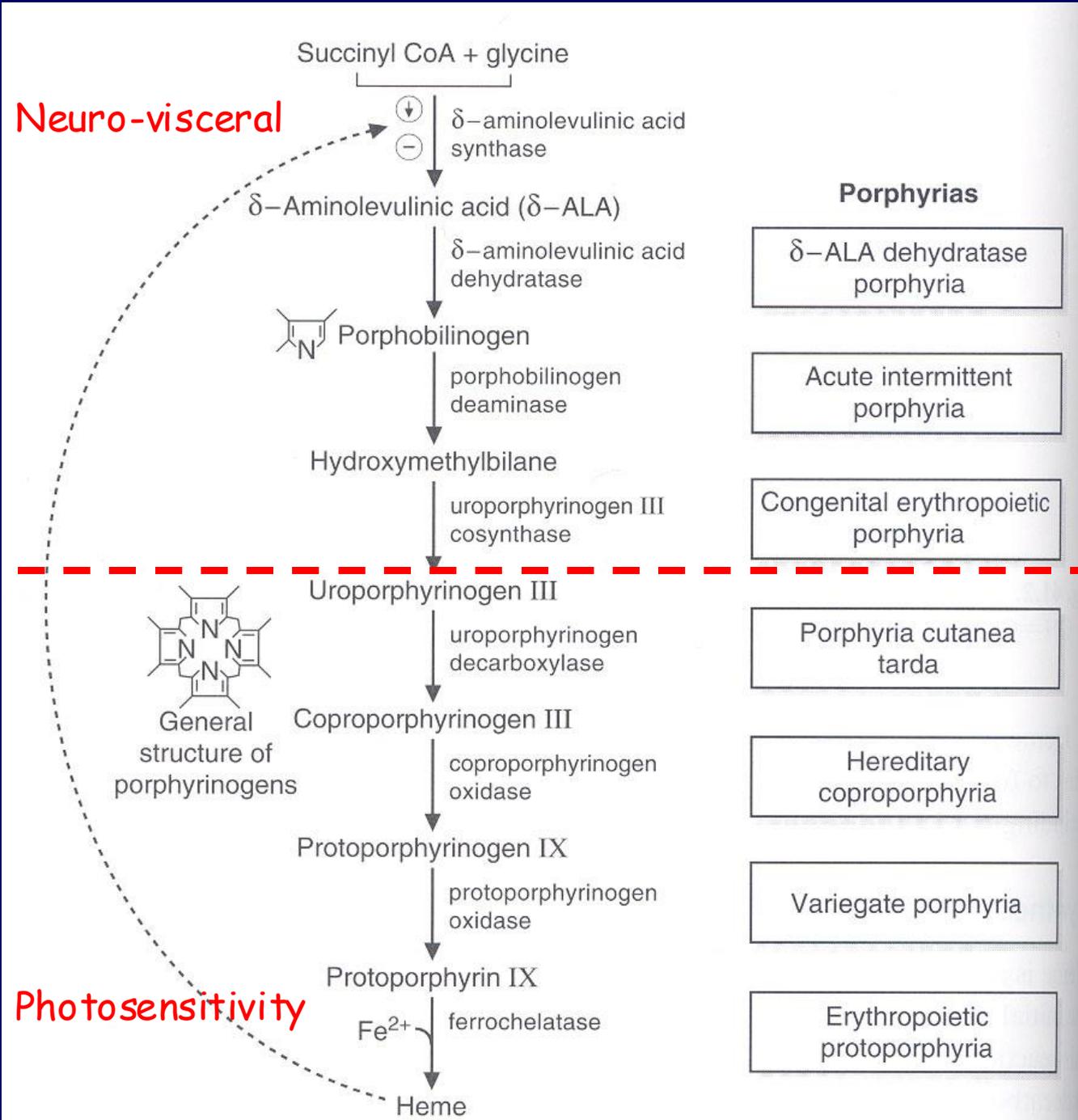
Variegate porphyria

Erythropoietic protoporphyria

Erythropoietic

Erythropoietic

Photosensitivity

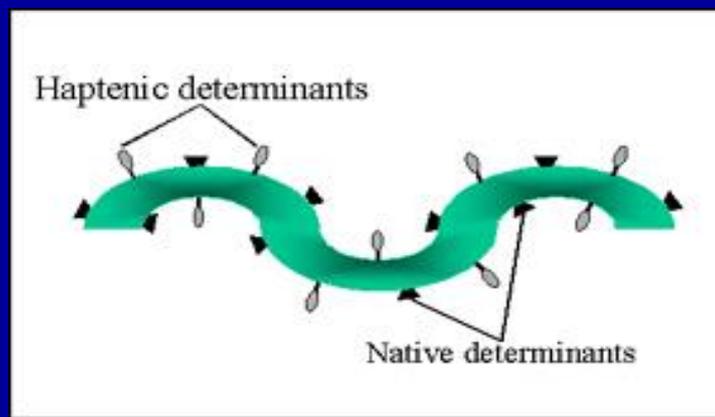
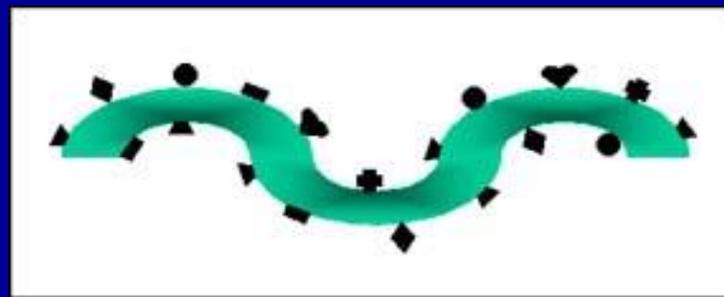


Immunkémiai mérések alapjai

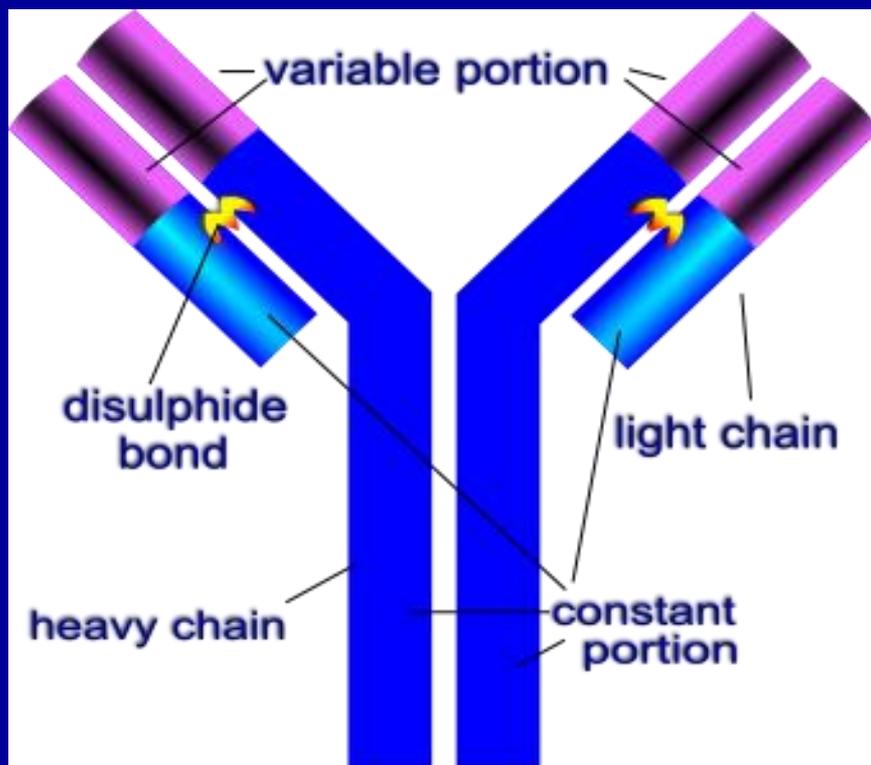
- **Antitest: monovalens - polivalens**
poliklonális - monoklonális
- **Immunreakció: szilárd fázisú**
homogén
telítési
kompetitív
- **Jelölők: RIA, EIA, FIA, FPIA, LIA,**

Alapfogalmak - antigén

- **Komplett** – képes immunválaszt kiváltani (fehérjék, poliszaharidok, nukleinsavak)
- **Haptén** – kis molekula, nem immunogén csak hordozó molekulával együtt



Alapfogalmak - antitest



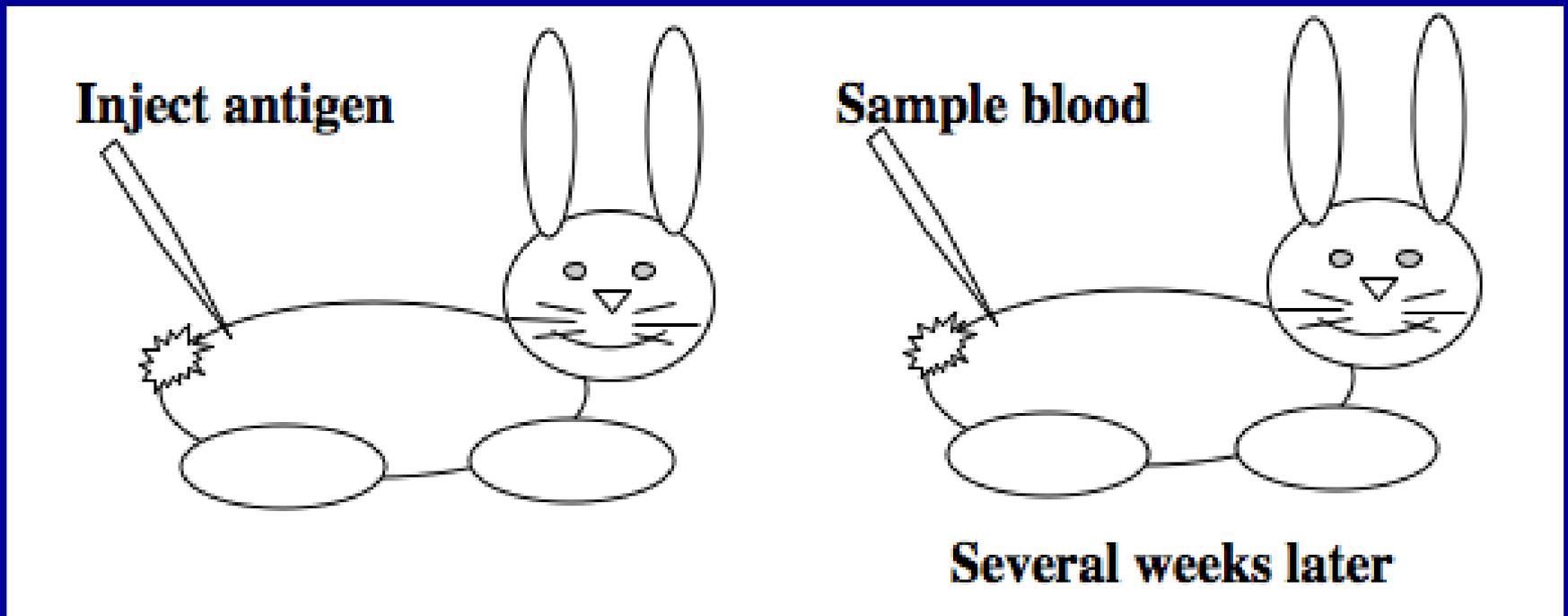
Antigén kötő hely

Könnyű lánc

Nehéz lánc

Alapfogalmak - antitest

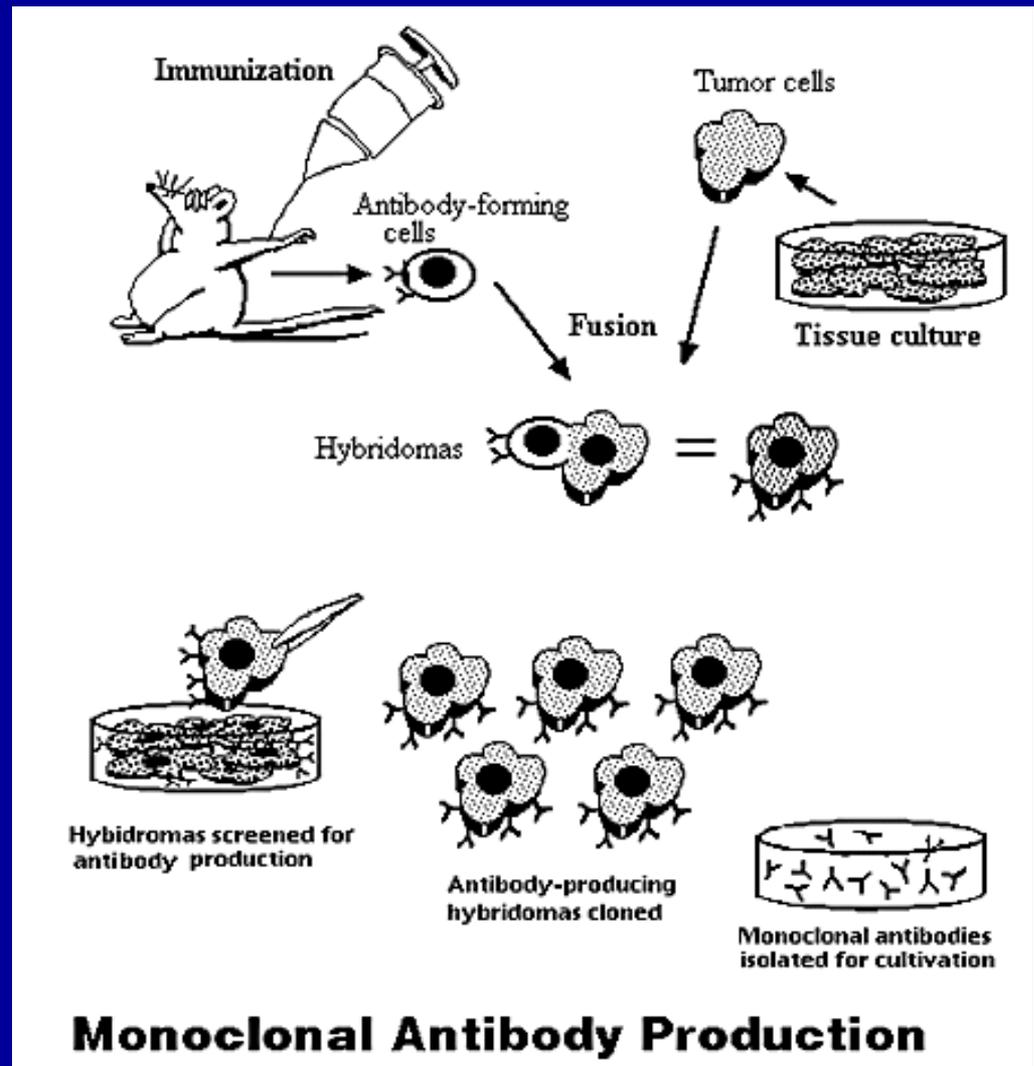
- Poliklonális,
monovalens antitest



Alapfogalmak - antitest

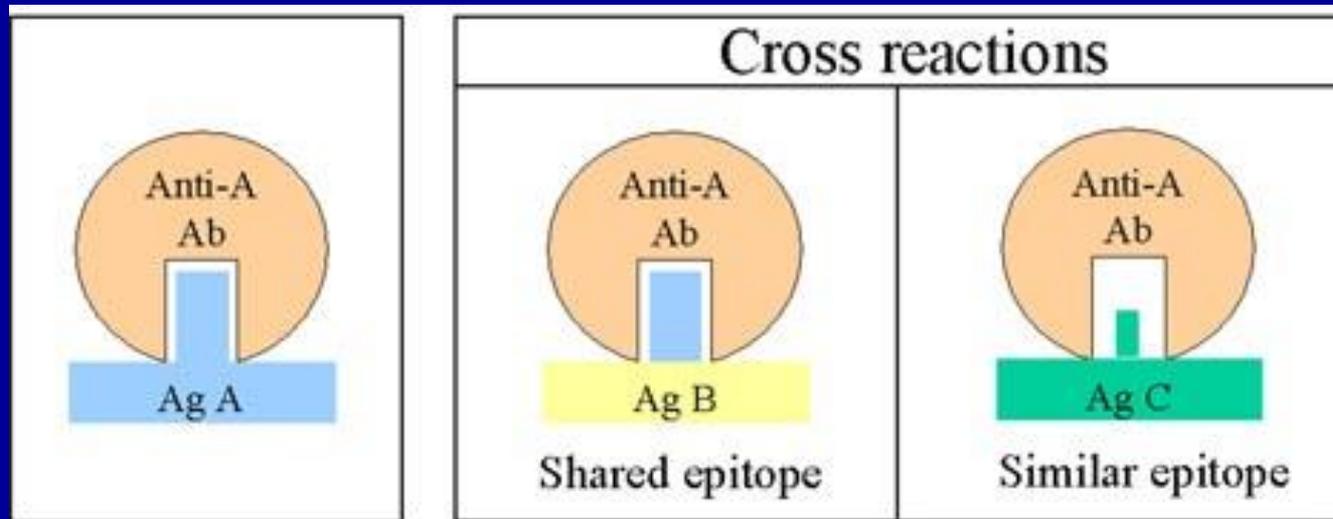
- **Monoklonális, monovalens antitest**

Niels K. Jerne, Georges J.F. Köhler és César Milstein, 1984



Antigén – antitest reakció

- **Specificitás:** egyetlen epitóp felismerése (monoklonális antitestek) vagy egyetlen molekulán több epitóp felismerése (poliklonális antitestek)
- **Keresztreakció:**



Az immunoassay fogalma

- Antigén – antitest reakción alapuló érzékeny és specifikus módszer, mellyel nagyon kis koncentrációban jelenlévő, antigén sajáttságot mutató molekulák mennyisége meghatározható. A mérés során jelölő anyagot alkalmazunk, a módszer elnevezése a jelölés természetén alapul (RIA 1959, FIA, EIA, LIA, ECLIA, FPIA, stb.)

A szekvenciális elv

- Elsődleges (primer) antitest alkalmazása
pl. egér monoklonális
- A primer antitest ellen termelt másodlagos (szekunder) antitest jelölővel



A kezdet

**RIA módszer
felfedezése 1960**

**Rosalyn Yalow és
Soloman Berson**

**Kizárólag manuális
módszerek**

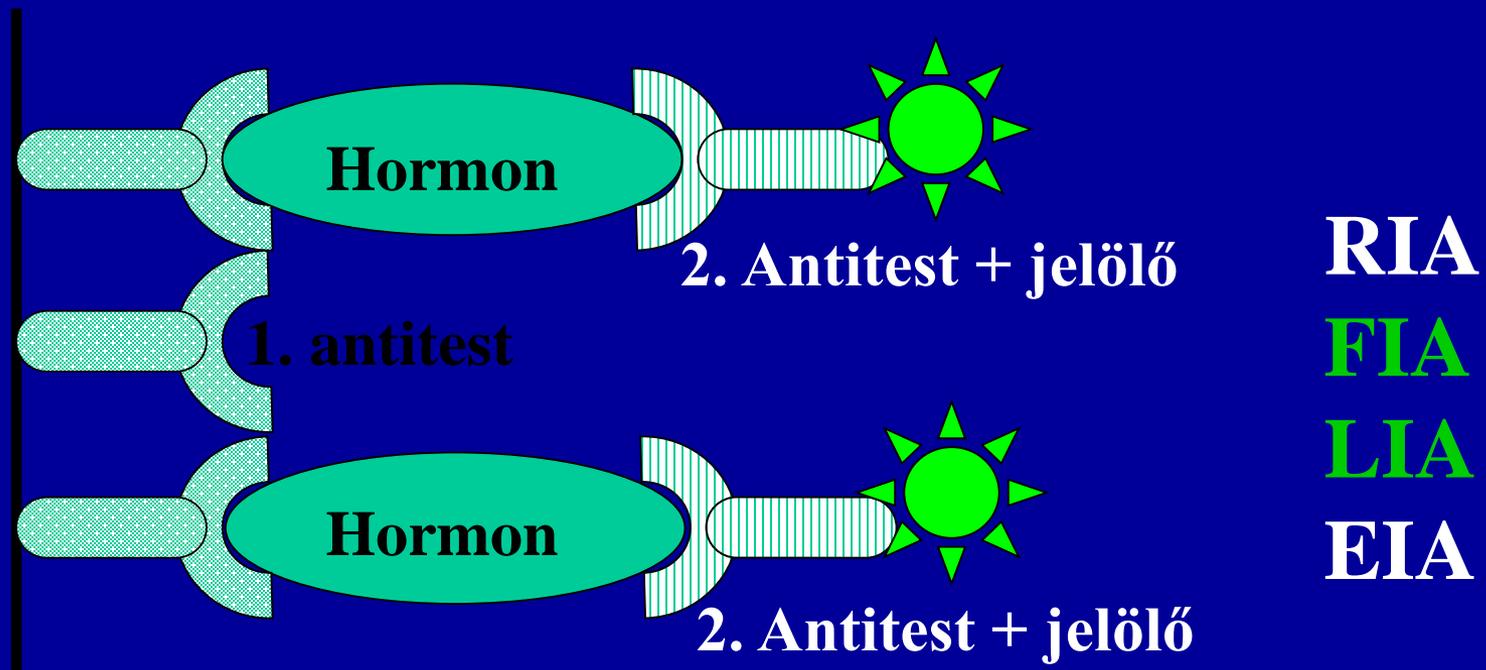


Immunoesszék alapjai

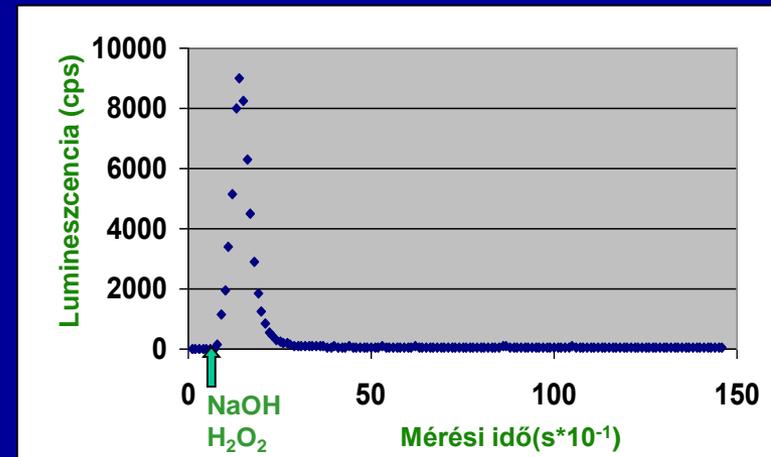
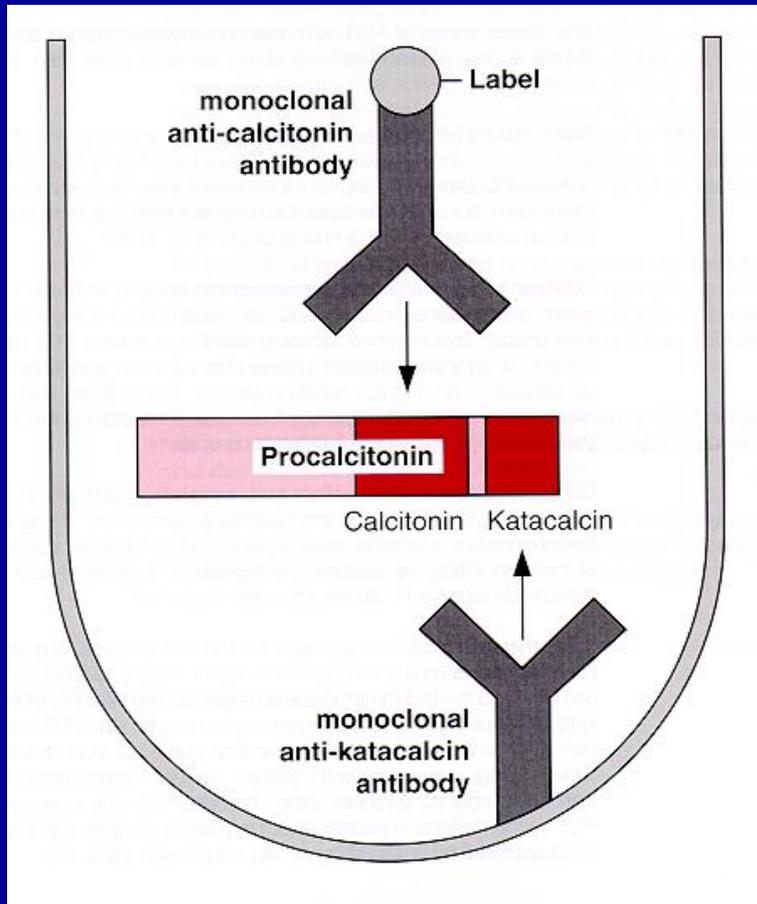
- Szilárd fázisú – heterogén esszék
szükséges elválasztani a kötött
antigént a szabadtól (mosás)
- Homogén esszék
nem szükséges az elválasztás (mosás)
- **Mindkettő lehet: telítési vagy kompetitív**

Heterogén telítési esszé

Hormon meghatározás szilárd fázisú immunoesszével (szendvics)

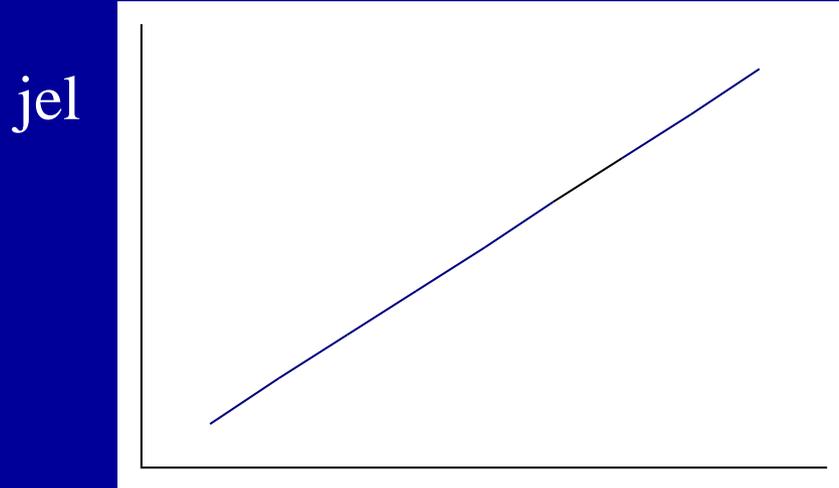


Antigén-antitest reakció követése akridinium észter jelöléssel



Szilárd fázisú immunoesszé
akridinium észter jelölővel

Telítési immunoasszé kalibrációs görbéje

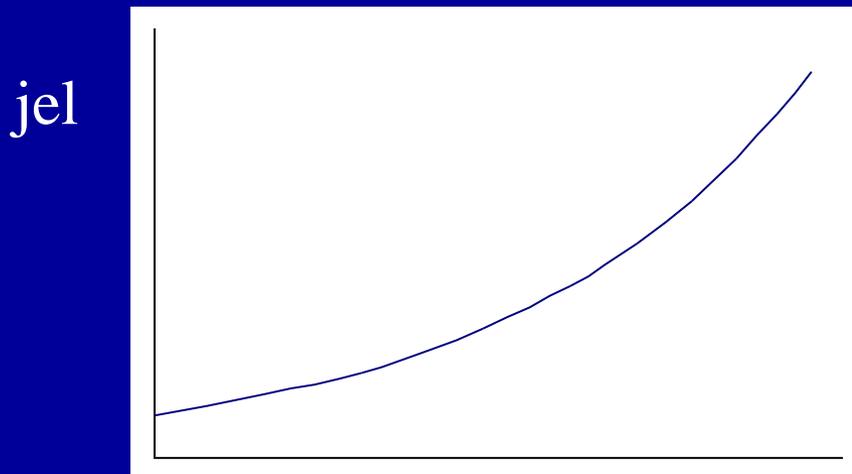


Kalibráció:

6 pontos

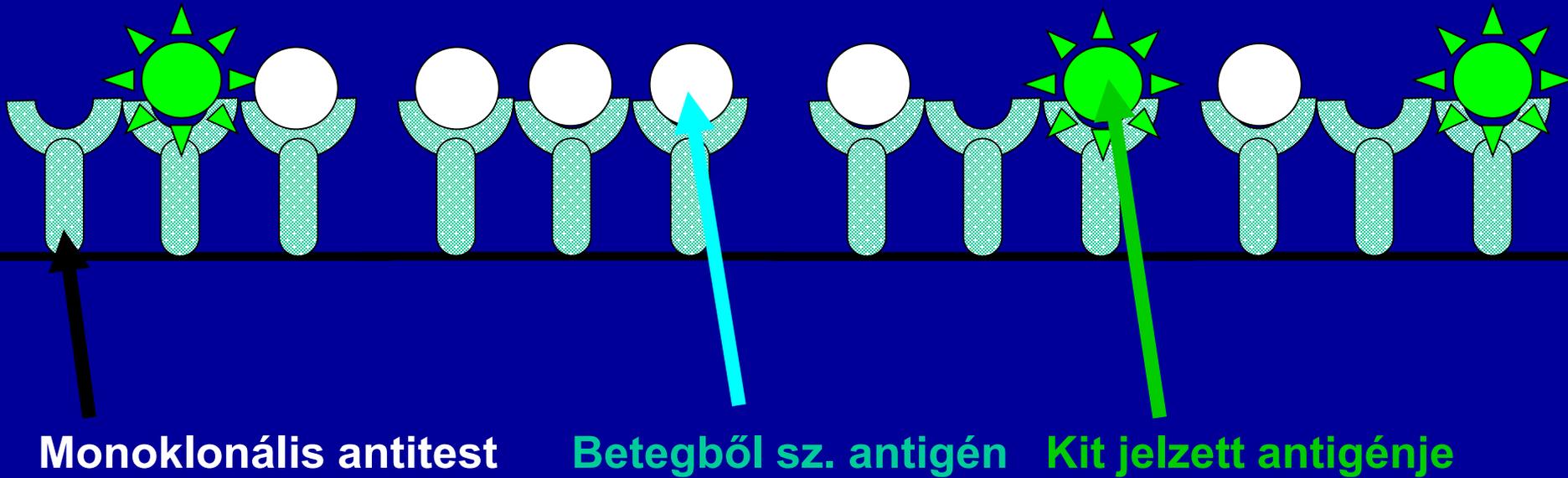
**vagy 2 pontos
(mester)**

lehet

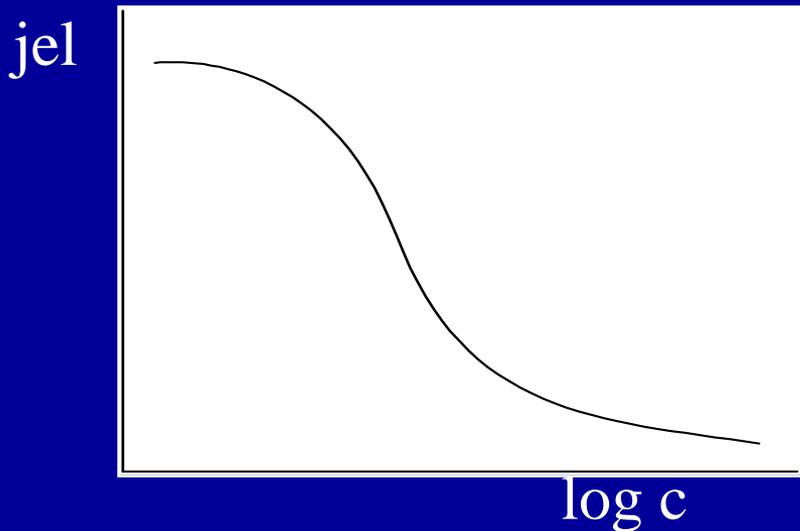
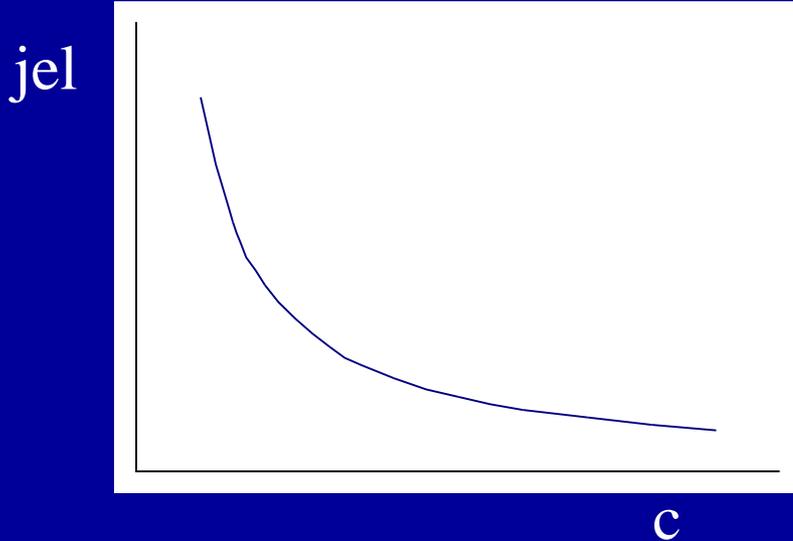


log c

Kompetitív heterogén immunoesszé



Kompetitív immunoesszé kalibrációs görbéje



Kalibráció:

6 pontos

**vagy 2 pontos
(mester)**

lehet

Intraoperative Monitoring of PTH

