

A HEM, MET-HEM ÉS HEMOGLOBIN TRANSZPORT FOLYAMATAINAK VIZSGÁLATA VÉRSZÉRUMBAN IONKROMATOGRÁFIÁS ÉS ATOMABSORPCIÓS SPEKTROMETRIÁS MÓDSZERREL

Posta Niké¹, Jenei Viktória¹, Balla József¹, Posta József²

¹*Debreceni Egyetem, Orvos- és Egészségtudományi Centrum, I. sz Belklinika, Nephrológiai Tanszék, H-4032 Debrecen, Nagyerdei körút 98.*

²*Debreceni Egyetem, Szervetlen és Analitikai Kémia Tanszék, H-4032 Debrecen, Egyetem tér 1.*

Az érbetegségek, többek között az érlemezés és vaszkuláris kalcifikációk, kórlefolyásában a hem-stressznek meghatározó szerepe van. A vörösvértestek nagy mennyiségben tartalmaznak hemet, azonban a hemoglobinnal felszabadulva károsító hatást fejt ki az érfalra. A plazma több hemoglobin- és hem-kötő fehérjét tartalmaz, melyek a károsító hatásokkal szemben védelmet biztosítanak az erek rezidens sejtjei számára. A haptoglobin hemoglobint képes kötni és neutralizálni, a hemopexin a felszabaduló hem megkötését és biztonságos metabolizmusát teszi lehetővé. Célul tűztük ki olyan fehérje keresését a plazmában, ami hasonlóan az előbb említett és ismert kötőfehérjékhez, rendelkezik hemoglobin- és hem-kötő képességgel.

A humán vérszérum minták alkotórészeinek, fehérjefrakcióinak elválasztására ioncserés kromatográfiát alkalmaztunk. A frakcionálásra Trisakryl[®] típusú gyenge anioncserélő gyantát tartalmazó ioncserélő oszlopot állítottunk össze. Az ioncserélő töltet tetejére 2,5 mL térfogatú szérummintát rétegeztünk. Ezután az oszlopon 0,025 M trisz-(hidroximetil)-amino-metán (HO.CH₂)₃C.NH₂) változó pH-jú és nátrium-klorid tartalmú oldatait vezettünk keresztül. Az 5-5 mL-es frakciók fényelnyelését UV spektrofotométeren meghatározva megállapítottuk, hogy a fentebb ismertetett rendszerrel a szérum 4 nagyobb frakciócsoportra bomlik. A gyantát gyártó cég ismertetője szerint az I. csúcs 99,5%-ban immunglobulinG, a II. 70%-ban transzferrin, 20%-ban β-globulin, a III. 78%-ban albumin, 15%-ban α-globulin, a IV. pedig főleg ceruloplazmin. A kidolgozott módszerrel azt vizsgáltuk, hogy a vérszérumhoz különböző koncentrációban adott hem, met-hemoglobin és hemoglobin mely szérumfrakciókhoz kötődik. A frissen vett vérszérumhoz a fenti vegyületeket 0, 1, 2, 3, 4, 5 μM koncentrációban adva, és inkubálva elvégeztük az ionkromatográfiás elválasztást. Ezután meghatároztuk a fentebb ismertetett fehérjefrakciók vastartalmát grafítkemencés atomabszorpciós spektrofotometriás módszerrel.

A vizsgált koncentráció tartományban szignifikáns albumin-kötődést figyeltünk meg. Ezen túlmenően a hem megváltoztatta az albumin ioncserélő képességét. Meglepetésre, az IgG csúcsnak megfelelően vasakkumulációt észleltünk, ami dóziszfüggést mutatott. Módszerünkkel 1 μM koncentrációnál természetes vastartalmat találtunk. Ezzel szemben, ennél nagyobb koncentrációk alkalmazása mellett dózistól függően jelentős mértékű hem-kötődést detektáltunk az IgG csúcs tartományában. Mind az oxidált, mind a redukált hemoglobin a legkisebb hozzáadott koncentrációknál az immunglobulinnal eluálható.

Vizsgálataink szerint az IgG hem-kötő képességgel rendelkezik és hozzájárul a szérum védő mechanizmusaihoz. Az immunglobulin ezen új funkciója jelentőséggel bírhat az érbetegségek etiopathogenezisében