

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická

Praktické využití ischemií modifikovaného albumin
Bakalářská práce

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická
Akademický rok: 2019/2020

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE (projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: **Nikol Kopecká**
Osobní číslo: **C17179**
Studijní program: **B3912 Speciální chemicko-biologické obory**
Studijní obor: **Zdravotní laborant**
Téma práce: **Praktické využití ischemií modifikovaného albuminu**
Zadávající katedra: **Katedra biologických a biochemických věd**

Zásady pro vypracování

- 1) Na základě informací z literatury uspořádejte základní informace o významu a praktickém využití ischemií modifikovaného albuminu.
- 2) Blíže se zaměřte na jeho roli ve vzniku a rozvoji endotelové dysfunkce a opět přehledně uspořádejte dostupné informace.
- 3) Věnujte pozornost také metodice stanovení ischemií modifikovaného albuminu v lidském biologickém materiálu, včetně podmínek pro odběr, transport a uchování vzorku.

Rozsah pracovní zprávy: **25 s.**
Rozsah grafických prací: **dle potřeby**
Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná**

Seznam doporučené literatury:

Vedoucí bakalářské práce: **Mgr. Pavla Žáková, Ph.D.**
Katedra biologických a biochemických věd
Datum zadání bakalářské práce: **20. prosince 2019**
Termín odevzdání bakalářské práce: **3. července 2020**

L.S.

prof. Ing. Petr Kalenda, CSc.
děkan

prof. Mgr. Roman Kandár, Ph.D.
vedoucí katedry

V Pardubicích dne 28. února 2020

Prohlašuji:

Tuto práci jsem vypracovala samostatně. Veškeré literární prameny a informace, které jsem v práci využila, jsou uvedeny v seznamu použité literatury.

Byla jsem seznámena s tím, že se na moji práci vztahují práva a povinnosti vyplývající ze zákona č. 121/2000 Sb., o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon), ve znění pozdějších předpisů, zejména se skutečností, že Univerzita Pardubice má právo na uzavření licenční smlouvy o užití této práce jako školního díla podle § 60 odst. 1 autorského zákona, a s tím, že pokud dojde k užití této práce mnou nebo bude poskytnuta licence o užití jinému subjektu, je Univerzita Pardubice oprávněna ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložila, a to podle okolností až do jejich skutečné výše.

Beru na vědomí, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších předpisů, a směrnicí Univerzity Pardubice č. 7/2019, bude práce zveřejněna v Univerzitní knihovně a prostřednictvím Digitální knihovny Univerzity Pardubice.

V Pardubicích dne

Nikol Kopecká

Poděkování

Chtěla bych poděkovat své vedoucí bakalářské práce Mgr. Pavle Žákové, Ph.D., za cenné rady, věcné připomínky a vstřícnost při konzultacích týkajících se vypracování bakalářské práce.

ANOTACE

Tato bakalářská práce se zabývá ischemií modifikovaným albuminem a jeho využitím v detekci kardiovaskulárních onemocnění a jejich rizikových faktorů. V práci popisuji vznik, kinetiku a možnosti stanovení IMA. Dále je v práci popsáno využití IMA týkající se cévních chorob a jejich rizikových faktorů. Nakonec jsem se zaměřila na vztah IMA k endotelové dysfunkci porovnáním s rizikovými faktory a markery, které jsou spojeny s aterosklerózou.

KLÍČOVÁ SLOVA

Ischemií modifikovaný albumin, Albumin Cobalt Binding Test, myokardiální ischemie, endoteliální dysfunkce

TITLE

Practical use of ischemia modified albumin

ANNOTATION

This bachelor thesis deals with ischemia modified albumin and its use in the detection of cardiovascular diseases and their risk factors. In this work I describe the origin, kinetics and possibilities of analysis IMA. Furthermore, the work describes the use of IMA related to vascular diseases and their risk factors. Finally, I focused on the relationship of IMA to endothelial dysfunctions focused on risk factors and markers that are associated with atherosclerosis.

KEYWORDS

Ischemia modified albumin, Albumin Cobalt Binding Test, myocardial ischemia, endothelial dysfunction

OBSAH

ÚVOD	11
1 ISCHEMIÍ MODIFIKOVANÝ ALBUMIN	12
1.1 Příčiny vzniku IMA.....	12
1.1.1 Aktivní formy kyslíku	12
1.1.2 Volné mastné kyseliny	14
1.1.3 Glykovaný albumin	15
1.2 Kinetika IMA	15
2 STANOVENÍ IMA	18
2.1 Bar-Or's Albumin Cobalt Binding Test	18
2.1.1 Odběr, transport, skladování vzorku	18
2.1.2 Referenční hodnoty	19
2.1.3 Vztah mezi albuminem a IMA	19
2.1.4 Nedostatky ACB testu	19
2.2 Albumin Copper Binding Test	20
2.3 Imunosenzor využívající povrchové plasmonové rezonance.....	21
2.4 Rentgenová fluorescenční spektroskopie s kvantovými tečkami.....	23
2.5 Biosensor s tekutými krystaly	24
3 ONEMOCNĚNÍ OBĚHOVÉ SOUSTAVY	26
3.1 Akutní koronární syndromy	26
3.1.1 Infarkt myokardu.....	27
3.1.2 STEMI a NSTEMI	27
3.1.3 Angina pectoris	27
3.1.4 IMA v kombinaci se standartními markery nekrózy k vyloučení ACS	28
3.2 Ischemická cévní mozková příhoda	29
3.3 Plicní embolie.....	30
3.4 Perzistující ductus arteriosus	31
3.5 Preeklampsie	31
3.6 Henochova-Schönleinova purpura	32
3.7 IMA a onemocnění ledvin jako příčina kardiovaskulární poruchy	32

3.8	Diabetes mellitus typu 2 jako příčina kardiovaskulární poruchy	33
3.9	Syndrom spánkové apnoe jako příčina kardiovaskulární poruchy.....	34
4	ENDOTELOVÁ DYSFUNKCE A IMA	35
4.1	Tloušťka komplexu intimy medie na karotických arteriích a IMA.....	35
4.2	Rizikové faktory endotelové dysfunkce a IMA	36
4.2.1	Obezita	36
4.2.2	Hypercholesterolemie	36
4.2.3	Hyperglykemie	37
4.2.4	Asymetrický dimethylarginin.....	38
4.2.5	Sepse	38
5	ZÁVĚR.....	39
6	POUŽITÁ LITERATURA.....	41

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek 1 Mechanismus vzniku ischemií modifikovaného albuminu – upraveno (5).....	13
Obrázek 2 Umístění sedmi hlavních vazebných míst mastných kyselin na lidském sérovém albuminu ve vztahu k hlavním vazebným místům A a B pro kobalt – upraveno (7).	15
Obrázek 3 Kinetika uvolňování albuminu modifikovaného ischemií. Ve spodním panelu změny hladin IMA značeny tečkovanou čarou, srdečního troponinu plnou čarou a natriuretický peptid přerušovanou čarou. Jejich vztah k rozsahu poškození tkáně v čase je znázorněn v horní panelu – upraveno (5).	17
Obrázek 4 Princip ACB testu - upraveno (5).	19
Obrázek 5 Zobrazení křemíkového čipu modifikovaného IMA (vlevo) a komplexem IMA-zlaté nanočástice (vpravo) ve stejné koncentraci (20).	21
Obrázek 6 Princip použití imunosenzoru založeném na povrchové plasmonové resonanci. Při pokusu byla nejprve navázán na anti-IMA samotný IMA a poté byl přidán IMA v komplexu se zlatými nanočásticemi (20).	22
Obrázek 8 Stanovení IMA pomocí rentgenové fluorescenční spektrometrie s použitím kvantových teček jako značky – upraveno (23).	24
Obrázek 9 Tvorba buňky tekutých krystalů (LC), imobilizace protilátky na povrch sklíčka pomocí DMOAP (N, N - dimethyl - N - oktadecyl (3 - aminopropyl) trimethoxysilyl chloridu) a PEI (polyetherimidu) a princip detekce IMA polarizačním mikroskopem – upraveno (24). 25	
Obrázek 10 Začlenění IMA do diagnostického algoritmu při přijetí pacientů s bolestí na hrudi na pohotovostní oddělení – upraveno (29).	29

SEZNAM ZKRATEK

IMA – ischemia modified albumin (ischémií modifikovaný albumin)

FA – fatty acid (mastná kyselina)

ACB test – Albumin Cobalt Binding Test

RFU – relativní jednotka fluorescence

ABSU – jednotky absorbance

HSA – human serum albumin (lidský sérový albumin)

cTn – srdeční troponin

CK-MB – kreatinkináza MB

EKG – elektrokardiogram

STEMI – infarkt myokardu s elevací ST segmentu

NSTEMI – infarkt myokardu bez elevace ST segmentu

CRP – C-reaktivní protein

CIMT – carotid intima media thicknes (tloušťka intimy medie na karotických arteriích)

HDL – high density lipoproteins (lipoproteiny s vysokou hustotou)

LDL – low density lipoproteins (lipoproteiny s nízkou hustotou)

ÚVOD

Albumin je protein tvořící onkotický tlak v cévách a kontrolující pH v krevním řečišti. Jeho dalšími funkcemi je přenos některých kovových iontů, léčiv a lipidů. Hraje dále důležitou roli jako antioxidant. Tyto schopnosti však ztrácí, pokud se setkává s tkání postiženou ischemií. V důsledku toho se jeho ischemií modifikovaná forma jeví jako dobrý marker tohoto patologického stavu. Jeho význam byl spatřován zprvu zejména pro detekci myokardiální ischemie, a tedy časného záchytu akutního koronárního syndromu. Další výzkumy však ukázaly, že IMA není specifický jen pro srdeční onemocnění, ale může se také vyskytovat ve zvýšeném množství při stavech jako je obezita, abdominální ischemie, rakovina, svalová ischemie, sepse, které jsou rovněž spojeny s ischemií tkáně.

Stanovení IMA je spojeno především se sníženou schopností vázat kovové ionty přechodných prvků jako je kobalt. Postupem času byly vyvinuty za účelem jeho stanovení další metody s využitím rentgenové fluorescenční spektroskopie, povrchové plasmonové rezonance nebo tekutých krystalů.

Tato práce se věnuje využití IMA pro detekci onemocnění oběhové soustavy jako je například infarkt myokardu nebo angina pectoris. Jistá část je poté věnována onemocněním, která jsou rizikovými faktory kardiovaskulárních poruch. Dále jsou v této práci popsány možnosti stanovování IMA. Nakonec je popsán vztah IMA k endotelové dysfunkci v jejímž důsledku se rozvíjí ateroskleróza.

1 ISCHEMIÍ MODIFIKOVANÝ ALBUMIN

Albumin je nejvíce zastoupený protein v plazmě. Je tvořen v játrech a cirkuluje v krvi s poločasem 3 týdny, než je degradován nebo eliminován. Má dvě významné funkce. Kromě toho, že přispívá k onkotickému tlaku a tím ovlivňuje distribuci tekutin mezi intracelulárním a extracelulárním prostorem, má také funkci transportního proteinu. Je schopný vázat a přenášet krví např. vápník, bilirubin, léky, volné mastné kyseliny nebo kovy (1). Při kontaktu albuminu s ischemickou tkání dochází ke změně N-terminální části albuminu, která za normálních okolností váže kovy jako např. měď, kobalt a nikl. IMA má v důsledku takto změněné struktury sníženou schopnost tyto kovy vázat (2).

1.1 Příčiny vzniku IMA

Přesný mechanismus vzniku IMA není ještě zcela znám. Původně se předpokládalo, že IMA vzniká pouze změnou na N-terminální části albuminu, který se dostane do kontaktu s ischemickou tkání, a je důsledkem endoteliální nebo extracelulární hypoxie, acidózy a působení aktivních forem kyslíku. Další výzkumy však naznačují, že nemusí vždy jít jen o modifikaci N-konce albuminu (3), (4).

V jedné ze studií byla u 8 pacientů se zvýšenou hladinou IMA sekvenována N-koncová část albuminu štěpením 11 aminokyselin. Normální zbytky byly nalezeny u 6 ze 7 vzorků pacientů a u jednoho neischemického vzorku. Zbývající vzorek pacienta s vysokou hladinou IMA vykazoval dvě chybějící aminokyseliny (3).

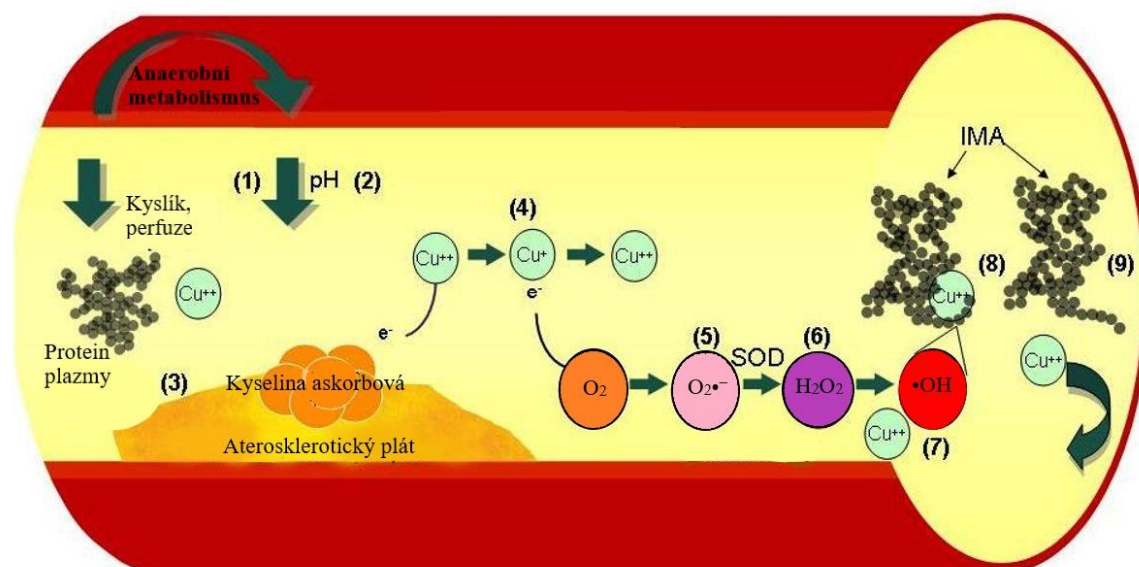
V jedné ze studií prokázali vazbu Ni^{2+} , Cu^{2+} , Co^{2+} , Cd^{2+} a Al^{3+} na hovězí a lidský sérový albumin. Silná vazba byla objevena mezi kovem a právě třemi aminokyselinovými zbytky na NH_2 konci albuminu. Kromě toho je součástí vazebného místa zbytek označovaný Lys4. Ve skutečnosti však existují v lidském sérovém albuminu ještě čtyři další místa, která váží kov s různými specifitami. Je to thiol v Cys34, místo A včetně histidinu v His67 a nelokalizované místo B. Na N-konec albuminu se přednostně váže Cu^{2+} a Ni^{2+} . Cd^{2+} se váže na místo A i B, Zn^{2+} se váže na místo A a Au^+ a Pt^{2+} se váže na Cys34 (5), (6).

1.1.1 Aktivní formy kyslíku

Při delším vystavení tkáni oxidačnímu stresu, dochází k tvorbě reaktivních forem kyslíku, které působí oxidační poškození míst na albuminu vázících různé ligandy za vzniku oxidovaného albuminu. Dochází zejména k oxidaci thiolové skupiny u Cys34 a karbonylaci prolinu, argininu, lysinu, threoninu, tyrosinu a methioninu na molekule albuminu. Bylo však zjištěno, že takové poškození může vést pouze k přechodné změně N-konce albuminu, a tedy

k přechodnému zvýšení IMA u člověka po větší fyzické námaze. Oxidační poškození je také spojeno s chronickými onemocněními jako je diabetes mellitus, nefrotický syndrom, pokročilé onemocnění jater, chronické onemocnění ledvin, kardiovaskulární onemocnění a rakovina (7).

Předpokládá se, že vlivem anaerobního metabolismu dochází k hypoxii tkáně, která je příčinou acidózy. Toto kyselé prostředí podporuje uvolňování Cu^{2+} iontů z vazebných míst některých proteinů jako je ceruloplasmin. Jedna molekula tohoto proteinu je schopna vázat 6 atomů mědi. Ceruloplasmin váže přibližně 70 % celkové mědi v lidské plazmě, dalších 15 % je nesené sérovým albuminem a zbytek nesou makroglobuliny. Působením redukčního činidla (např. kyselina askorbová) se volná dvojmocná měď Cu^{2+} redukuje na jednomocnou Cu^+ . Redukovaná měď může reagovat s volným kyslíkem, oxidovat se zpět na Cu^{2+} a tak vytvářet superoxidové volné radikály ($\text{O}_2^{\bullet-}$). Následně superoxidodismutáza převádí volný superoxidový radikál na peroxid vodíku. H_2O_2 podléhá v přítomnosti volných Cu^{2+} a Fe^+ iontů Fentonově reakci za vzniku hydroxylových radikálů (OH^{\bullet}). Volné měďnaté ionty se pevně váží na NH_2 konec albuminu a tento albumin je pak modifikován volnými hydroxylovými radikály. Změna indukovaná hydroxylovými radikály spočívá v odstranění tří N-koncových aminokyselin albuminu (Asp-Thr-His v hovězím albuminu a Asp-Ala-His v lidském sérovém albuminu) a uvolnění mědi, která se znovu zapojuje do procesu v řetězové reakci. V důsledku modifikace N-konce albuminu hydroxylovými radikály a vazbě mědi dochází ke snížení vazebné kapacity albuminu pro kobalt a k jejímu stanovení se používá Albumin Cobalt Binding Test (ACB test) (2), (5).



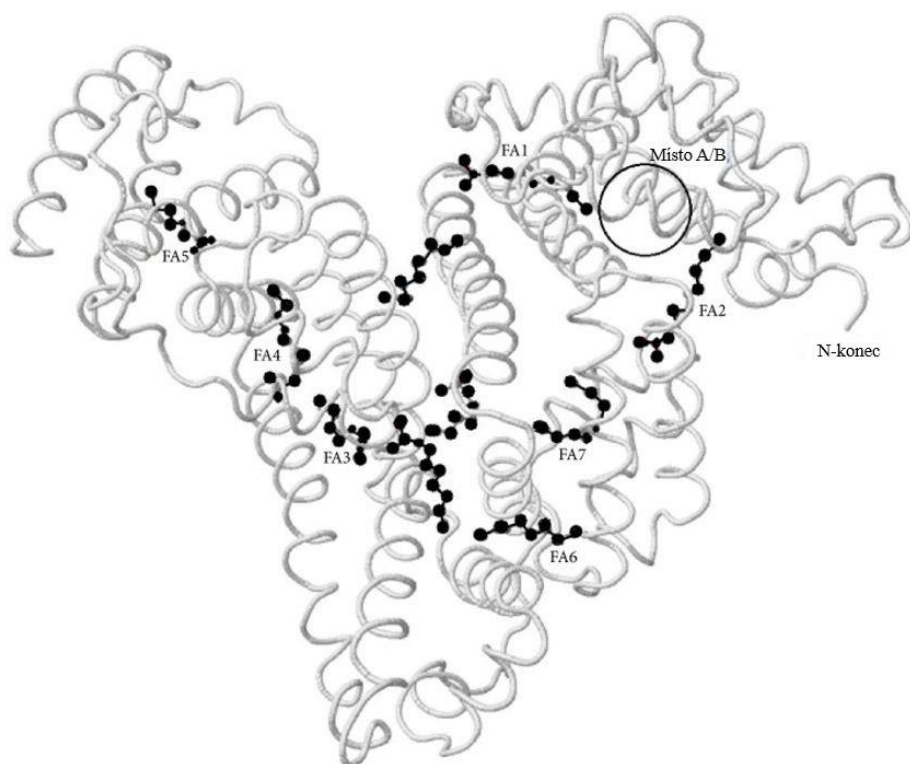
Obrázek 1 Mechanismus vzniku ischemií modifikovaného albuminu – upraveno (5)

1.1.2 Volné mastné kyseliny

Další možností vedoucí ke vzniku IMA je, že snížená vazebná schopnost albuminu je způsobená obsazením vazebných míst volnými mastnými kyselinami (FAs), které jsou hlavním zdrojem energie pro srdeční a kosterní sval. Mastné kyseliny se silně váží na albumin a v této formě jsou transportovány krví. Procentuální zastoupení těchto mastných kyselin v lidském séru je: kyselina olejová (38 %), kyselina palmitová (25 %), kyselina linoleová (22 %), kyselina stearová (10 %) a kyselina arachidonová (3 %). Porucha hladin nebo distribuce mastných kyselin je spojena s patologickými poruchami jako je cukrovka, kardiovaskulární a neurologická onemocnění a rakovina (7), (8).

Výzkumy ukázaly, že albumin má nejméně sedm vazebných míst pro mastné kyseliny se středním až dlouhým řetězcem (C10-C18), tj. FA1-7. Z nich FA2, FA4 a FA5 mají nejvyšší afinitu pro mastné kyseliny. Za fyziologických podmínek se na každou molekulu albuminu naváže v průměru 0,1-2 mastných kyselin. Molární poměr mastných kyselin k albuminu se zvyšuje během cvičení nebo u pacientů s jaterním nebo kardiovaskulárním onemocněním a může dosáhnout až hodnoty 6-7 (7), (8).

Ischémie myokardu vede během několika minut od nástupu bolesti na hrudi ke stavu, kdy dochází k rozpadu fosfolipidů tkání a také triacylglycerolů, což vede ke zvýšení koncentrace mastných kyselin. Většina volných mastných kyselin se váže poměrně silně na albumin, což způsobuje konformační změny v proteinové struktuře albuminu a tyto změny jsou doprovázeny snížením afinity albuminu ke kobaltu. Existuje teorie, že snížená vazebná kapacita kobaltu k albuminu není způsobena modifikací N-konce albuminu, ale spíše obsazením albuminu mastnými kyselinami. Tuto teorii potvrzuje skutečnost, že u pacientů mající akutní ischemii myokardu byla objevena silná pozitivní korelace mezi zvýšenými hladinami volných mastných kyselin a zvýšenou hladinou IMA (7), (8).



Obrázek 2 Umístění sedmi hlavních vazebných míst mastných kyselin na lidském sérovém albuminu ve vztahu k hlavním vazebným místům A a B pro kobalt – upraveno (7).

1.1.3 Glykovaný albumin

U špatně kompenzovaných diabetiků dochází k neenzymatické vazbě glukózy na aminoskupinu albuminu. Jedná se o tzv. glykovaný albumin, který má porušenu schopnost vázat další ligandy jakým je např. kobalt, ale i mastné kyseliny. Následnou oxidací vznikají glykační produkty, které se váží na povrch albuminu. Jistý potenciál pro vznik glykačních produktů má také N-konec albuminu prostřednictvím 59 lysinových a 24 argininových zbytků. Vývoj glykace závisí na stupni a trvání hyperglykémie. Pokud je albumin obsazen glykačními produkty, bude naměřena ACB testem vyšší hladina IMA v důsledku blokace vazebných míst pro kobalt (7).

1.2 Kinetika IMA

Zátěžové testy se jeví jako dobrý model pro vznik srdeční ischemie, s jehož pomocí je možné sledovat měnící se koncentraci IMA v určitém časovém intervalu. Jak již bylo uvedeno, IMA není specifický pro srdeční ischemii, ale může vzniknout i v důsledku jiných zdravotních problémů. Fyzická námaha při cvičení může být efektivním faktorem k zvýšení IMA a následně důvodem zvýšení markerů srdečního poškození (9).

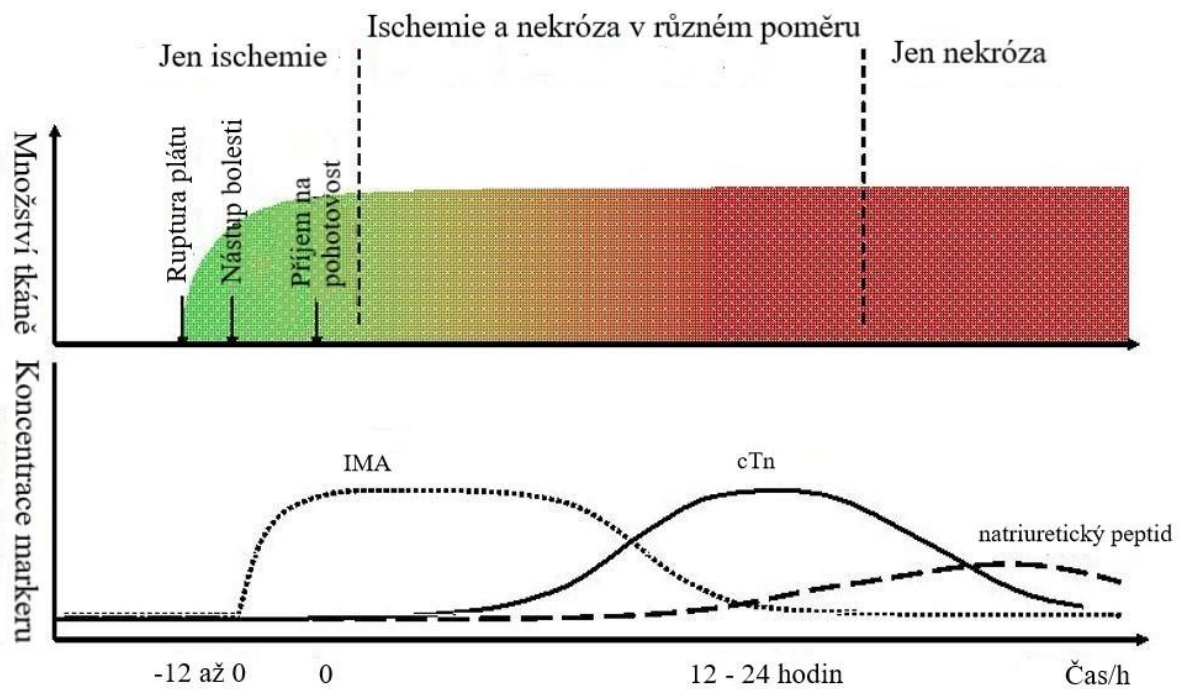
Byla provedena studie, která zjišťovala, jak se mění hladiny IMA v průběhu ischemie vyvolané pomocí zátěžového testu. Toto testování provedli u 43 pacientů rozdělených na 2 skupiny: zdravou skupinu, která byla použita jako kontrola a skupinu s potvrzenou ischemickou chorobou srdeční. U těchto jedinců změřili hodnotu před cvičením a po cvičení v devíti časových bodech během 6 hodin. Tato studie prokázala, že kinetika IMA se lišila u skupiny s ischemií a bez ischemie. Hodnota IMA byla mírně vyšší u ischemické skupiny 1 hodinu a výrazně vyšší 3 a 4 hodiny po cvičení, zatímco u kontrolní skupiny byla jeho koncentrace snížena 5 minut po cvičení a po dobu půlhodiny zůstala na stejné úrovni. Za jednu hodinu po zátěžovém testu se vrátila koncentrace IMA u kontrolní skupiny k výchozím hodnotám. Citlivost pro detekci ischemie činila 10,6 % a specificita dosáhla 82 %. Dále bylo možné pozorovat, že hladiny IMA se během prvních šesti hodin po cvičení zvýšily u ischemické skupiny a naopak snížily u kontrolní skupiny. Těmito výsledky bylo dospěno k závěru, že ačkoli je detekce ischemie myokardu jediným vzorkem IMA obtížná, může být IMA užitečným biomarkerem, pokud je provedeno jeho sériové měření po cvičení. Mohl by tedy také sloužit k potvrzení či vyloučení chybného výsledku zátěžového testu. Jiná studie doplňuje tuto studii tím, že čas cvičení (ráno nebo večer) nemá významný vliv na hodnoty IMA, ačkoliv ráno byla naměřena vyšší hladina IMA před cvičením než večer. Toto testování vycházelo z faktu, že nejvíce srdečních příhod nastává během dne a to hlavně brzy ráno (9), (10).

Kinetiku IMA zkoumali v několika studiích v průběhu chirurgických zákroků jako je angioplastika, perkutánní koronární intervence a koronární bypass. Těmito zákroky lze vyvolat ischemii, která je přechodná a může sloužit jako model pro měření koncentrací IMA v jejím průběhu. Studie, které měřily IMA u pacientů podstupujících angioplastiku ukázaly, že po nafukování balónku dochází k rychlému nárůstu hodnoty IMA s následným poklesem po 6 hodinách a návratem k normálu za 12 až 24 hodin. Při ischemii dochází k nárůstu IMA dříve než ke vstupu srdečního troponinu a natriuretického peptidu, jak je vidět na obrázku 3, a také dříve, nežli dojde k prasknutí aterosklerotického plátu (5), (11).

Byla dále zjištěna pozitivní korelace mezi zvýšením IMA a počtem a frekvencí nafukování balónku v průběhu perkutánní koronární intervence. Pomocí tohoto zákroku bylo léčeno 34 pacientů se stabilní anginou pectoris. U 44 % byl balónek nafouknut nejvíce čtyřikrát a u 56 % bylo provedeno nafouknutí více než pětkrát. Čím častěji byl balónek nafouknut a čím větší bylo jeho tlakové působení, tím dosahovala koncentrace IMA vyšší hodnoty. IMA je tedy schopen nejen detekovat výskyt ischemie, ale také ukázat závažnost ischemie. Zvýšení IMA souvisí také s následnou revaskularizací. V jedné ze studií u 60 pacientů, kteří podstoupili

perkutánní koronární intervenci kvůli stabilní angině pectoris, bylo zvýšení IMA přesahující hodnotu 130 kU/l spojeno s vyšší frekvencí obnovy průtoku krve cílovou lézí (5), (12).

Nižší koncentrace IMA byly objeveny u pacientů, u kterých byl v koronárním řečišti nalezen kolaterální oběh, který umožnil průtok krve potom, kdy došlo k přerušení jejího přítoku z přirozeného zdroje krve. Sérové hladiny IMA po perkutánní koronární intervenci byly vyšší než jeho výchozí hodnota u pacientů bez kolaterální cirkulace a nižší u těch s vytvořeným kolaterální oběhem. Kolaterální cirkulace představuje kardioprotektivní účinek proti ischemii vyvolanou perkutánní koronární intervencí s čímž souvisí nižší hladina IMA (13).



Obrázek 3 Kinetika uvolňování albuminu modifikovaného ischemií. Ve spodním panelu změny hladin IMA značeny tečkovanou čarou, srdečního troponinu plnou čarou a natriuretický peptid přerušovanou čarou. Jejich vztah k rozsahu poškození tkáně v čase je znázorněn v horní panelu – upraveno (5).

2 STANOVENÍ IMA

2.1 Bar-Or's Albumin Cobalt Binding Test

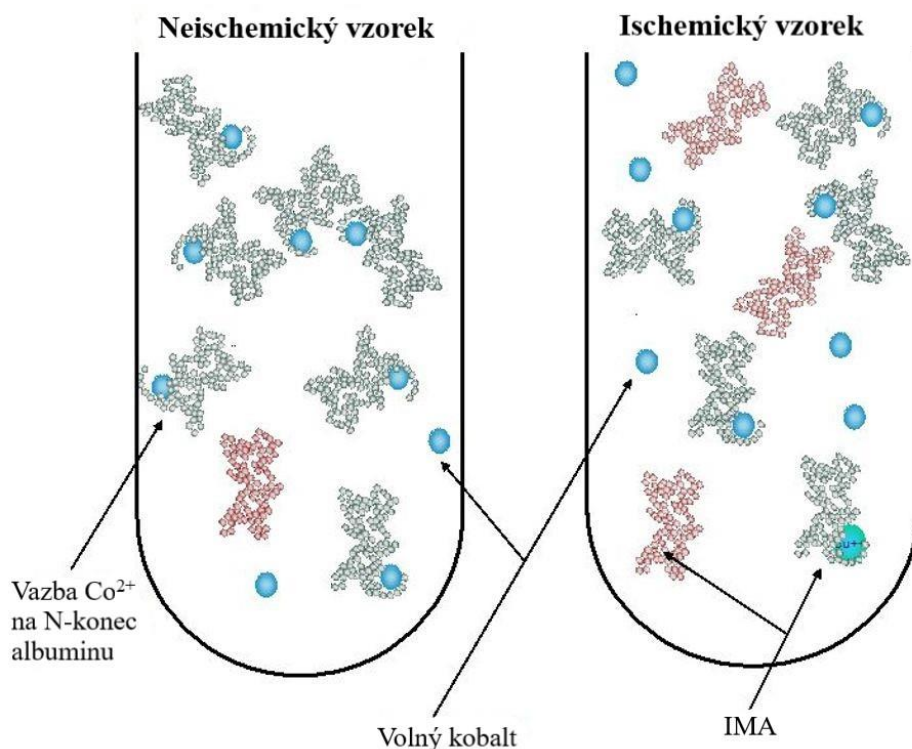
Úřad pro kontrolu potravin a léčiv schválil v roce 2003 The Albumin Cobalt Binding Test jako metodu, s jejíž pomocí je možné detekovat myokardiální ischemii před tím, než dojde k nekróze tkáně. Je založen na skutečnosti, že albumin má u pacientů s myokardiální ischemií nižší vazebnou kapacitu pro kobalt v důsledku modifikace N-konce albuminu. ACB test je kvantitativní test, který měří hladinu IMA v séru (2), (7).

Při ACB testu se do séra přidává známé množství exogenního kobaltu ve formě CoCl_2 . Tento kobalt se neváže na N-konec IMA. Volný kobalt reaguje dithiothreitem za vzniku tmavě zbarveného produktu. Tato reakce je zastavena přidáním 0,9% NaCl po dvou minutách inkubace a je možno měřit absorbancí barevného produktu na spektrofotometru při vlnové délce 470 nm nebo na přístroji COBAS Mira Plus (Roche Molecular System, Pleasanton, CA) při vlnové délce 500 nm. Jako blank je použito sérum s přidavkem kobaltu, ale bez dithiothreitolu. Výsledky jsou vyjádřeny v jednotkách absorbance (ABSU). ABSU pak poskytují míru koncentrace nenavázaného kobaltu ve vzorku a odráží tak nepřímo hladinu IMA. Čím více je ve vyšetřovaném séru nenavázaného kobaltu, tím větší je barevná změna. Množství IMA je také obvykle uváděno v jednotkách U/ml nebo kU/l. (2), (7), (14).

Test byl automatizován na již zmíněném spektrofotometru Cobas MIRA Plus (Roche Diagnostic) a upraven dále také pro LX-20 (Beckman Coulter, Brea, CO, USA), Hitachi 911 (Hitachi, Japonsko), Hitachi 7600 (Hitachi, Japonsko) a Konelab 20 (Thermo Scientific, Velká Británie) (5).

2.1.1 Odběr, transport, skladování vzorku

Odběr plné krve se provádí ráno nalačno. Pro stanovení IMA se používá sérum. Analýzu je třeba provést do dvou a půl hodiny nebo lze krevní sérum zmrazit na teplotu $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$. Pokud použijeme k analýze zmrazené sérum, je třeba vyčkat do úplného rozmrazení a sérum dobře promíchat. Dále je třeba zabránit zředění vzorku. Při rozmrazení vzorku při $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ není nárůst hladiny IMA vyšší než 4 %. Jako nevhodné se považuje rozmrazení při pokojové teplotě po dobu 20 minut, kdy se hladina IMA může zvýšit až o 15 %. Vzorek IMA se jeví také jako stabilní, pokud je skladován v uzavřených zkumavkách 24 hodin při teplotě $+4\text{ }^{\circ}\text{C}$ a průměrný nárůst hodnoty IMA v tomto případě činí méně než 4 % (14), (15).



Obrázek 4 Princip ACB testu - upraveno (5).

2.1.2 Referenční hodnoty

Fyziologické rozmezí hodnot IMA bylo získáno vyšetřením 283 zdravých jedinců. Hladiny IMA se pohybovaly mezi 52 až 116 U/ml s 95% percentilem při 85 U/ml. V následujících studiích poté detekovali myokardiální ischemii při hladinách vyšších než 85 U/ml a tato hodnota byla zvolena jako optimální cut-off pro IMA k vyloučení ACS. Dolní mez detekce je 14 U/ml a linearita je zachována do 200 U/ml. Analytické charakteristiky se zdají být dobré, pokud nedochází k interferencím s léky a variační koeficient je nižší než 9 % (14).

2.1.3 Vztah mezi albuminem a IMA

Koncentrace albuminu v séru negativně koreluje se sérovým IMA. U pacientů s albuminem nižším než 34 g/l je pozorována vyšší negativní korelace než u pacientů s hladinami albuminu v referenčním intervalu. V klinických studiích je uváděno, že výsledky ACB testu je proto třeba interpretovat s opatrností, pokud je koncentrace albuminu nižší než 2,0 g/dl nebo vyšší než 5,5 g/dl (14), (16).

2.1.4 Nedostatky ACB testu

Bar-Or's ACB test byl založen na předpokladu, že snížená vazebná afinita kobaltu k albuminu je způsobena modifikací specifického vazebného místa pro kobalt na N-konci

tohoto proteinu. Albumin má však další vazebná místa pro kobalt, ke kterým má vyšší afinitu než k N-konci. Je to vazebné místo A, B a Cys34. Kobalt se po přidání do séra váže převážně na vazebné místo A a B a v menší míře na N-konec. Proto má ischemií indukovaná modifikace N-konce albuminu nevýznamný vliv na celkovou vazebnou kapacitu albuminu ke kobaltu. Jak již bylo v této práci uvedeno dříve, modifikace nebo konkrétněji delece aminokyselinové sekvence NH₂-Asp-Ala-His-Lys nebyla prokázána u všech vzorků pacientů s diagnostikovanou myokardiální ischemií. Albumin při ischemii tedy nemusí mít vždy modifikovaný N-konec (7).

Ačkoli ACB test se spektrofotometrickou detekcí IMA schválil úřad pro kontrolu potravin a léčiv, je nevýhodný z důvodu nepřímé detekce, falešně pozitivních nebo negativních výsledků a jeho spolehlivost je snížena, pokud má pacient v krvi nižší koncentraci albuminu než 34 g/l. Analýza IMA prostřednictvím ACB testu je však také spojena s interferencemi s jinými látkami v séru. Jak již bylo uvedeno dříve v této práci, v průběhu myokardiální ischemie jsou uvolňovány mastné kyseliny, které alostericky inhibují vazbu kobaltu na albumin. Další interferující látkou je laktát. Interference laktátu při ACB testu byla zjištěna po silovém cvičebním testu předloktí. Během tohoto cvičebního testu docházelo k zvýšení tvorby laktátu a amoniaku. Když došlo ke zvýšení koncentrace amoniaku, hladina IMA zůstala nezměněna. Jakmile však vzrostla koncentrace laktátu, hodnoty IMA poklesly. Koncentrace laktátu 3 až 11 mmol/l způsobila pokles IMA o 7-25 % a u hladin laktátu mezi 4 a 5 mmol/l se snížil IMA až o 9 %. Tyto interference vedou k poklesu citlivosti ACB testu. Z tohoto důvodu jsou hledány nové spolehlivější způsoby stanovení IMA (7), (17).

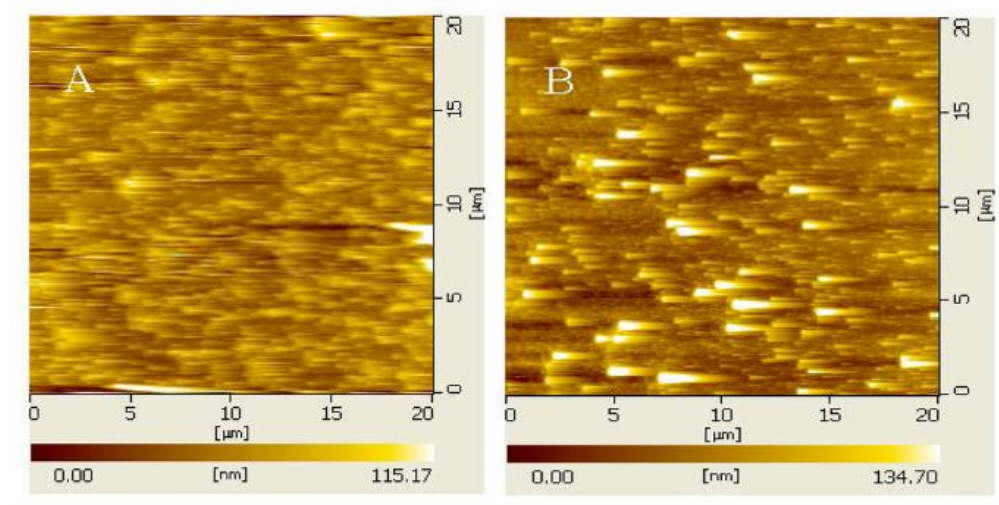
2.2 Albumin Copper Binding Test

Korejští vědci se zabývali vytvořením testu k detekci hladin IMA, který je založen na vazebné kapacitě albuminu k mědi se zkratkou ACuB test. Myšlenka vytvořit tento test vznikla na popud skutečnosti, že albumin váže silněji měď než kobalt. Pro ACuB test se stejně jako u ACB testu používá a obdobně získává sérum. Do séra se dále přidává známé množství exogenní mědi ve formě CuCl₂ a tato směs se nechá inkubovat po dobu 10 minut. Mědnaté ionty se vážou na vazebné místo na NH₂-konci albuminu. Jako barvicí činidlo je použit žlutý fluorescenční protein luciferin, pomocí něhož jsou kvantifikovány volné mědnaté ionty. Fluorescence je detekována při excitační vlnové délce 430 nm a emisní vlnové délce 540 nm. Výsledky jsou vyjadřovány ABSU nebo v relativních jednotkách fluorescence (RFU). Při tomto testu je vhodné udržovat pH 7,4, neboť v neutrálním prostředí dochází nejvíce k zhášení fluorescence luciferinu. Vhodným pufrům pro tento účel je například 50mM dihydrogenfosforečnan sodný (NaH₂PO₄). Fluorescence luciferinu je nejúčinněji zhášena při

koncentraci mědi 0,025 $\mu\text{mol/l}$. Užitečnost ACuB testu byla potvrzena na laboratorních krysách, kdy u zdravých krys byla intenzita fluorescence vyšší než u krys, u kterých vědci vyvolali mrtvici. Platí, že čím je nižší intenzita fluorescence, tím je ve vyšetřovaném vzorku séra vyšší koncentrace IMA. Při tomto způsobu provedení stanovení IMA byla také řešena otázka ceruloplasminu, který by mohl měď vázat a tím by analýzou byly stanoveny nižší hodnoty IMA. Ceruloplasmin se však vyskytuje v séru v přibližně 150-krát nižší koncentraci než albumin. Navíc je lidský ceruloplasmin bez vazby na měď nestabilní, je degradován v játrech, a proto je pravděpodobné, že je v analyzovaném séru již obsazen mědí (18).

2.3 Imunosenzor využívající povrchové plasmonové rezonance

Čínským vědcům se podařilo vytvořit částicový zesilovač pomocí koloidních zlatých nanočástic o velikosti 10 nm pro imunosenzory využívající povrchové plasmonové rezonance k detekci IMA. Metoda je založena na excitaci povrchových plasmonů a pro detekci se používá rozdíl v indexu lomu materiálů na zlatém či jiném vhodném povrchu. Její výhodou je stanovení analytu bez použití značení, rychlá analýza a detekce v reálném čase. Samotná metoda povrchové plasmonové rezonance má pro IMA detekční limit 100 ng/l a využití zlatých nanočástic zesílí analytický signál natolik, že se mez detekce posunuje až na 10 ng/l (19), (20).

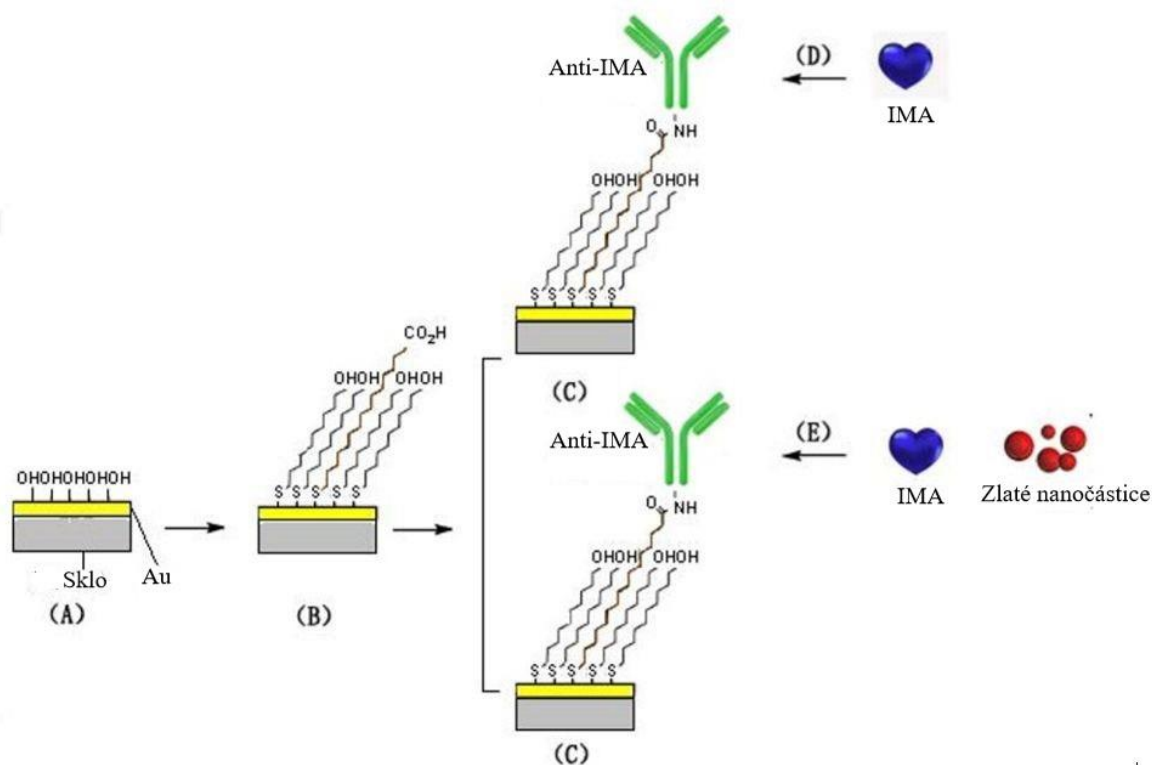


Obrázek 5 Zobrazení křemíkového čipu modifikovaného IMA (vlevo) a komplexem IMA-zlaté nanočástice (vpravo) ve stejné koncentraci (19).

Principem tohoto imunosenzoru je imobilizace anti-IMA na modifikovaný povrch zlatého čipu. Aktivace zlatých nanostrukturovaných elektrod je provedena s použitím 11- merkaptoundekanové kyseliny, která je na povrch deponována rozpuštěním v absolutním ethanolu. Tato kyselina patří mezi alkanthioly, které na povrchu zlatého čipu vytvoří samostatně sestavenou monovrstvu prostřednictvím svých -SH skupin. Dále byl funkcionalizován

povrch 16- merkptohexadekanovou kyselinou a 11- merkptoundekanoem v poměru 1:9, kdy metoda povrchové plasmonové rezonance poskytuje nejlepší odpověď. Hydroxylové zakončení poskytované 11- merkptoundekanoem je použito jako spacer pro vytvoření povrchu čipu a karboxylem zakončená kyselina 16- merkptohexadekanová jako funkční linker pro vazbu protilátky proti IMA. Karboxyláty dále reagují s NHS za přítomnosti karbonimidů jako je 1 - ethyl - 3 - (3 - dimethylaminopropyl) karbonimid. Touto reakcí vznikají stabilní NHS estery, které mohou vázat primární aminy. Dalším krokem je vlastní immobilizace protilátky anti-IMA v PBS pufru na zlatý povrch. Na takto modifikované zlaté elektrodě vědci zkoumali vazbu na protilátku samotného IMA a IMA v komplexu se zlatými nanočásticemi. IMA v komplexu se zlatými nanočásticemi poskytoval vyšší signál než IMA samotný (19), (21).

Toto stanovení se jeví jako velmi specifické, jelikož při testování touto metodou nebyla objevena interference s jinými látkami. Tím pádem je také zvýšena citlivosti detekce pro diagnostiku akutních koronárních syndromů (19).



Obrázek 6 Princip použití imunosenzoru založeném na povrchové plasmonové rezonanci. Při pokusu byla nejprve navázán na anti-IMA samotný IMA a poté byl přidán IMA v komplexu se zlatými nanočásticemi (19).

V jiné studii využili ke stanovení IMA také povrchová plasmonová rezonance, ale zde pro tento účel použili jako senzor galvanicky nanosený film nanočástic stříbra, na který je poté zabudována protilátka proti IMA. Použití stříbrných nanočástic vedlo k zesílení analytického signálu a dosažení detekčního limitu 4,7 ng/l. V procesu imobilizace protilátky se používají stejné reagencie a ve stejném poměru jako v předchozím případě se zlatými nanočásticemi. U tohoto testování nebyly zjištěny žádné interference, které by poskytovaly falešně pozitivní výsledky (20).

2.4 Rentgenová fluorescenční spektroskopie s kvantovými tečkami

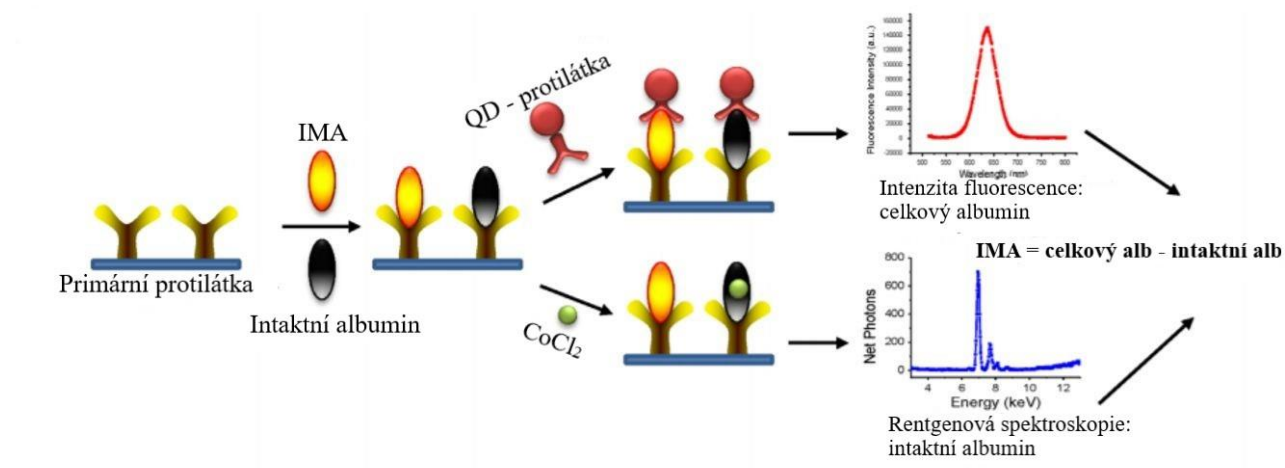
Pro stanovení IMA byla zkoumána metoda rentgenová fluorescenční spektroskopie (XRF, z angl. X-ray fluorescence spectroscopy) s využitím kvantových teček. Rentgenová fluorescenční spektroskopie se hojně používá v geologii k detekci kovových elementů díky své vysoké citlivosti, specifitě a jednoduchosti provedení. Metoda je založena na ozařování kvantových teček primárními rentgenovými paprsky a následné emisi sekundárních rentgenových paprsků, které je možno detekovat pomocí rentgenového fluorescenčního spektrometru. Množství prvku ve vzorku je možno kvantifikovat měřením intenzity píku rentgenové fluorescence. Pro účel stanovení IMA je možno použít kovy jako kobalt, železo, zinek nebo nikl, které slouží jako vhodné detekční sondy. Výhoda železa a zinku tkví v nízké toxicitě. Kobalt zase tvoří charakteristický pík spektra při 6,93 keV. Tento pík odlišuje kobalt od ostatních kovových prvků v séru, a proto je využit při rentgenové spektroskopii pro detekci biomolekul, které se s ním specificky váží. Výhodnější se však zdá využití niklu, který poskytuje silnější rentgenový signál než kobalt. Ve studii zabývající se touto metodou stanovení porovnali její citlivost a specifitu s ACB testem s využitím ROC křivky. Citlivost u rentgenové spektroskopie činila 89,3 % a u ACB testu 87,9 %. Plocha pod křivkou byla s hodnotou 0,93 vyšší než u ACB testu s hodnotou 0,89. Tento typ stanovení nevykazuje žádné interference s cholesterolem, triacylglyceroly, sérovým imunoglobulinem G, fibrinogenem a hemolýzou. (22), (23).

Prvním krokem u metody s kvantovými tečkami je modifikace povrchu mikrodestičky monoklonální protilátkou proti lidskému sérovému albuminu (HSA). Konkrétně se jedná o protilátku proti klonu HSA-9. V dalším kroku je vytvořena kalibrační řada zředěním standardu HSA ředícím roztokem. Poté je vytvořen komplex smícháním protilátky proti HSA-11 a kvantové tečky značené streptavidinem. Tato směs je inkubována po dobu 2 hodiny při 25 °C. Koncentrace stanovovaného IMA představuje rozdíl množství intaktního neboli nemodifikovaného HSA od celkového HSA. Celková koncentrace albuminu je měřena pomocí

sandwichové imunoanalýzy. Intaktní albumin je měřen rentgenovou fluorescenční spektroskopií. Teno postup je v jednoduchosti naznačen na obrázku 7 (23).

Celkový HSA je stanoven pomocí sandwichové imunoanalýzy. Do detekční jamky modifikované monoklonální protilátkou je nejprve pipetován vzorek séra. Na monoklonální protilátku se váže jak intaktní HSA tak IMA. Dále je přidána sekundární anti-HSA protilátka v komplexu s kvantovou tečkou, která se váže jak na nemodifikovaný albumin, tak i na IMA. Nakonec je změřena intenzita fluorescence při 565 nm. Zjištěná intenzita fluorescence je pak úměrná celkovému množství intaktního HSA s IMA (23).

Pro účely rentgenové fluorescenční spektroskopie se do jamky mikrotitrační destičky pipetuje sérum s HSA a ten se váže na příslušnou monoklonální protilátku. Po inkubaci je destička promyta a nakonec je do detekčních jamek přidán roztok CoCl_2 . Kobalt vytvoří komplex s intaktním HSA, ale nikoliv s IMA. Nenavázaný kobalt je odstraněn dalším promytím. Takto zpracovaný vzorek je pak proměřen na rentgenovém fluorescenčním spektrometru (23).

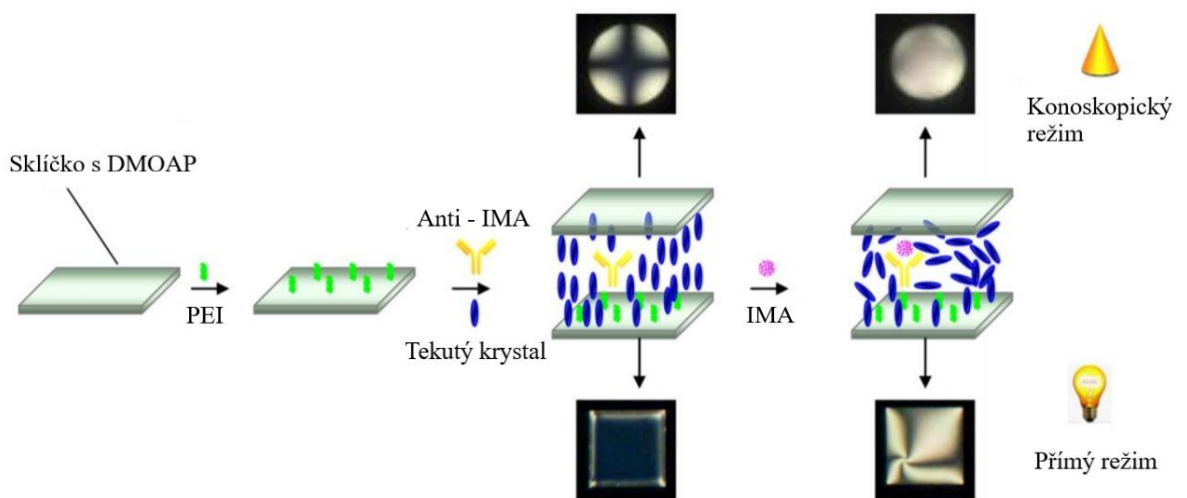


Obrázek 7 Stanovení IMA pomocí rentgenové fluorescenční spektrometrie s použitím kvantových teček jako značky – upraveno (23).

2.5 Biosensor s tekutými krystaly

Principem je imobilizace protilátky anti-IMA na povrch skleněného sklíčka pomocí N, N -dimethyl- N -oktadecyl(3-aminopropyl)trimethoxysilylchloridu a polyetherimidu. Vazba protilátky anti-IMA a antigenu, který v tomto případě představuje IMA, vede k topologicko-geometrickým změnám. Jednak je touto vazbou změněna orientace molekul 4-kyano-4-pentylbifenyly z původně vertikální homogenní orientace do chaotičtějšího uspořádání, ale také dochází k modulované transmitanci světla. Tyto změny jsou detekovatelné pouhým okem s použitím polarizačního mikroskopu. Na obrázku 8 můžeme vidět,

že při vertikálním uspořádání žádné světlo neprojde přes buňku tekutého krystalu a optickým signálem je jednotný černý obraz. K propustnosti dopadajícího světla dojde po navázání IMA na specifickou protilátku, kdy je pravidelné uspořádání tekutých krystalů narušeno v důsledku jejich různého naklonění. Z toho důvodu je možné vidět v polarizačním mikroskopu světlé skvrny na černém pozadí. K tomuto stanovení není třeba používání žádného značení a výsledek může být odečten pouhým okem. V klinické studii bylo prokázáno, že tyto biosensory dokáží detekovat IMA v koncentracích až 50 $\mu\text{g/ml}$. Ve srovnání s jinými metodami mohou být biosensory s tekutými krystaly použity díky své jednoduché obsluze, vynikající selektivitě, nepotřebě značení fluorescenčními, enzymovými a jinými značkami a nízkým nákladům (24).



Obrázek 8 Tvorba buňky tekutých krystalů (LC), imobilizace protilátky na povrch sklíčka pomocí DMOAP (N, N - dimethyl - N - oktadecyl (3 - aminopropyl) trimethoxysilyl chloridu) a PEI (polyetherimidu) a princip detekce IMA polarizačním mikroskopem – upraveno (24).

3 ONEMOCNĚNÍ OBĚHOVÉ SOUSTAVY

Onemocnění oběhové soustavy se řadí mezi civilizační onemocnění a jsou nejčastější příčinou úmrtí v západní civilizaci. I přes značné snížení počtu úmrtí, které spočívalo v soustředění příslušné péče do center pro kardiovaskulární onemocnění a specializovaných center pro cévní mozkové příhody, zůstává ischemická choroba srdeční a cévní mozková příhoda příčinou největšího počtu úmrtí v České republice (25).

Většina onemocnění kardiovaskulárního systému se vyskytuje v dospělosti, zejména po 50. roce života, kdy počet případů onemocnění oběhového systému stoupá. Více jsou ohroženi muži než ženy. Ženy jsou v produktivním věku chráněny pohlavními hormony (estrogeny), ale v klimakteriu tento ochranný účinek mizí (26).

Následující text se věnuje užitečnosti IMA v diagnostice chorob kardiovaskulárního systému a případných rizikových faktorů jejich vzniku.

3.1 Akutní koronární syndromy

Největší význam IMA se ukazuje být v diagnostice akutních koronárních syndromů, a to především k vyloučení myokardiální ischemie. Akutní koronární syndrom je projevem ischemické choroby srdeční. Mezi klinické projevy ischemické choroby srdeční patří stabilní angina pectoris, nemá ischemie myokardu, nestabilní angina pectoris, akutní infarkt myokardu, srdeční selhání, arytmie a náhlá smrt (27).

Akutní koronární syndrom je možné dále dělit na infarkt myokardu s elevací ST segmentu (STEMI), infarkt myokardu bez elevace ST segmentu (NSTEMI) a nestabilní anginu pectoris. Angina pectoris a infarkt myokardu mají podobný patofyziologický základ, tj. progresse aterosklerotického plátu, jeho nestabilita až prasknutí, vznik trombu v koronárním řečišti a následná embolizace fragmentů trombu. U infarktu myokardu s i bez elevace ST segmentu jsou však na rozdíl od anginy pectoris při biochemickém vyšetření pozitivní kardiospecifické markery (27), (28).

V současné době jsou akutní koronární syndromy obvykle diagnostikovány nálezem na EKG a zhodnocením hladiny srdečního troponinu I a T (cTnI a cTnT) a kreatinkinázy MB (CK-MB) z krve. Mnoho pacientů přijímaných na pohotovostní oddělení s bolestí na hrudi a dalšími příznaky ACS jsou však na základě negativního nálezu na EKG a nezvýšených hladin těchto kardiospecifických markerů propuštěni z nemocnice. Je totiž známo, že cTn a CK-MB se uvolňují do krve až po zániku buněk myokardu a jsou obvykle detekovatelné 3 až 4 hodiny po nástupu symptomů. Myokardiální ischemii jako projev akutního koronárního syndromu by bylo však možné identifikovat pomocí IMA u pacientů přijímaných na pohotovostní

oddělení v reverzibilním stadiu, než by došlo k nekróze myokardu a zabránit tak výběrem vhodné léčby infarktu myokardu. IMA se jeví jako neinvazivní a lehce dostupný marker, který poskytuje výsledky v časných fázích ischemie myokardu, cirkuluje v krvi dostatečně dlouho, aby byla možná jeho detekce, je snadno měřitelný, levný a má vysokou citlivost. Navíc se jeho koncentrace v krvi normalizuje za 12 až 24 hodin, což umožňuje předpovědět opakující se ischemické ataky (27), (29).

3.1.1 Infarkt myokardu

Akutní infarkt myokardu je hlavní příčinou úmrtí na celém světě. Jeho nejčastějším příznakem je bolest na hrudi, která obvykle vystřeluje do krku, zad nebo paže. Obvykle vzniká snížením nebo zastavením toku krve do části srdce, což vede k ischemii. Pokud ischemie přetrvává, dochází k nekróze srdečního svalu. Tento proces je výsledkem sraženiny v tepně zásobující určitou část srdečního svalu. Zánik buněk myokardu má za následek uvolňování strukturálních proteinů a dalších intracelulárních molekul. Mezi tyto molekuly patří srdeční troponiny T a I (cTnT a cTnI), kreatinkináza (především izoenzym CK-MB), myoglobin a laktátdehydrogenáza. (30), (31).

3.1.2 STEMI a NSTEMI

V počátečních stádiích akutních koronárních syndromů jsou pacienti rozděleni na STEMI nebo NSTEMI skupinu podle nálezu na EKG. Pacient s akutní bolestí hrudníku a současným výskytem ST elevací na EKG se řadí do STEMI skupiny. Jedinec s typickou bolestí na hrudi na jehož EKG nejsou patrné elevace ST segmentu, se řadí k NSTEMI skupině. IMA se ukázala být dobrým nezávislým markerem v diagnostice těchto akutních koronárních syndromů a zároveň je dokáže odlišit. V jedné studii zabývající se tímto problémem zjistili mezní hodnotu pro IMA při STEMI 89 U/ml a u NSTEMI 80,9 U/ml. Tyto hodnoty jsou výrazně vyšší než průměrná hodnota 69 U/ml získaná z měření kontrolních vzorků zdravé populace. Dále nebyla zjištěna korelace mezi IMA a CK-MB a stejně tak mezi IMA a cTn u NSTEMI. U STEMI byla objevena negativní korelace mezi IMA a CK-MB. (32), (33).

3.1.3 Angina pectoris

Angina pectoris vzniká nedostatkem kyslíku v myokardu a jejím projevem je palčivá bolest za hrudní kostí. Nejčastější příčinou anginy pectoris je zúžení koronární tepny v důsledku prasknutí aterosklerotického plátu, po kterém následuje vznik trombu vřetčité tepny. Toto zúžení se projevuje záchvatem buď po stejné zátěži, kdy se jedná o stabilní anginu pectoris, nebo vzniká poprvé nebo náhodně, a potom jde o nestabilní anginu pectoris. Možnou

komplikací je distální embolizace fragmentů tohoto trombu. Méně častou příčinou je vazospasmus věnčité tepny, který je způsoben endotelovou dysfunkcí nebo dysfunkcí hladké svaloviny cév (Prinzmetalova angina pectoris resp. vazospastická angina). V tomto případě záchvaty přicházejí bez předchozí námahy nejčastěji brzy ráno před probuzením. Koronární stenóza vede ke snížení průtoku krve zásobovanou oblastí, což vede k myokardiální ischemii a je také příčinou diastolické dysfunkce levé komory srdeční. (34), (35).

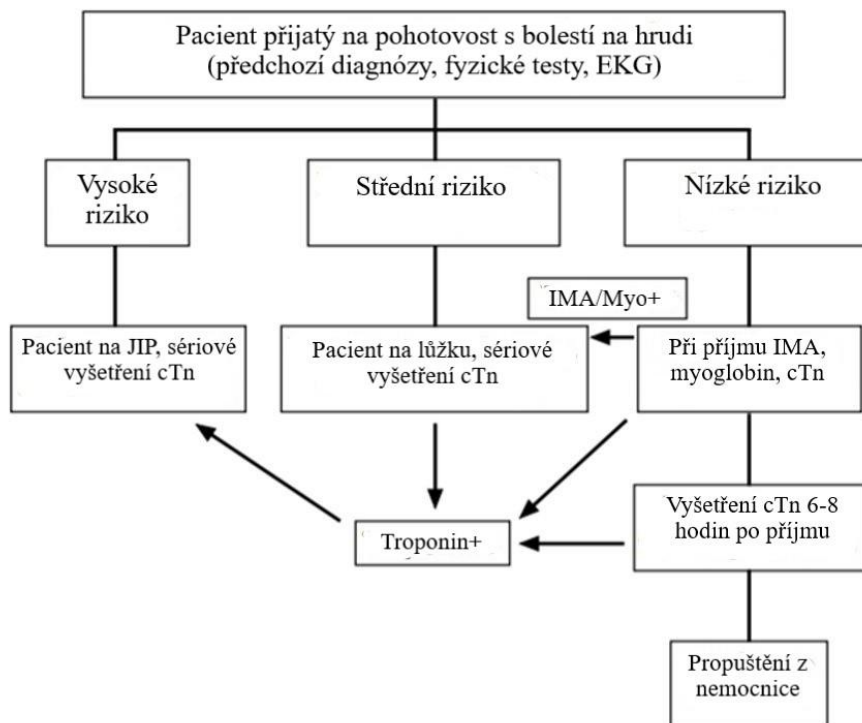
V jedné čínské studii zkoumali změny sérové hladiny IMA u 88 dobrovolníků, kteří byli rozděleni do 3 skupin: s nestabilní anginou pectoris, se stabilní anginou pectoris a zdravá kontrolní skupina. U pacientů s nestabilní anginou pectoris byla koncentrace IMA vyšší než u pacientů se stabilní anginou pectoris. Rozdíl mezi hladinami IMA u pacientů se stabilní anginou a zdravými kontrolami byl zanedbatelný. Nebyl nalezen ani rozdíl mezi hladinou CK-MB mezi těmito skupinami. Dále byla objevena negativní korelace mezi koncentrací IMA a ejekční frakcí levé komory. Hladina IMA se výrazně zvýšila u pacientů s nestabilní anginou pectoris, u nichž byla zjištěna ejekční frakce nižší než 50 % ve srovnání s těmi, kteří ji měli normální ($\geq 50\%$) (35).

3.1.4 IMA v kombinaci se standartními markery nekrózy k vyloučení ACS

Diagnostika akutních koronárních syndromů zůstává dodnes velkou výzvou. Ačkoli testování srdečních markerů jako je myoglobin, CK-MB a cTn usnadnil diagnostiku akutních koronárních syndromů, nejsou tyto markery vhodné pro diagnostiku ischemie myokardu, která je základní příčinou akutního koronárního syndromu. Akutní koronární syndromy zahrnují nestabilní anginu pectoris, které jsou spojeny s přechodným výskytem ischemie, ale ne nekrózy myokardu. Současné biomarkery používané pro diagnostiku akutních koronárních syndromů jsou však detekovatelné až za několik hodin, kdy je již srdeční svalovina zajišťující funkci srdce nevratně poškozena. Další omezení spočívá v tom, že CK-MB není specifická jen pro srdeční sval, ale stopová množství jsou detekovatelná i v kosterním svalu, a proto je hladina tohoto markeru vyšší u pacientů s poraněním svalů. Pomocí IMA je však možno detekovat ischemii myokardu ještě před tím, než dojde k nekróze tkáně (29), (36).

V několika studiích se zabývali vylepšením diagnostiky akutních koronárních syndromů a současně vyloučení ischemie kombinováním IMA se standardními biomarkery myokardiální nekrózy. S použitím naměřených dat sestrojili ROC (Receiver Operating Characteristic, operační charakteristika přijímače) křivku a zjistili, že IMA je velmi citlivý, ale jen málo specifický na přítomnost ischemie. Jako mezní hodnota byla stanovena 90 U/ml a ACB test měl 80% citlivost a 31% specificitu pro diagnózu ischemie. Negativní prediktivní

hodnota dosahovala 92 %. Nízká specifická IMA pro diagnostiku akutního infarktu myokardu je způsobena skutečností, že IMA je markerem ischemie, ale nikoliv infarktu myokardu charakteristického nekrózou srdeční tkáně. Dále byl navržen postup, který zahrnuje rychlou analýzu při použití vysoce citlivých biomarkerů, jejichž hladina se zvyšuje krátce po nástupu ischemie (tj. IMA, ale i myoglobin) společně s markerem s vysokou specificitou (tj. cTn). Pokud je vzorek séra IMA pozitivní, bude třeba provést následné měření cTn k potvrzení akutního infarktu myokardu. Na obrázku můžeme vidět, že při přijetí na pohotovost jsou pacienti rozděleni do skupin podle rizikovosti srdeční příhody. Na základě trojnásobného negativního testu (IMA < 85 U/ml, cTn < 0,03 µg/l, normální EKG) je zařazena většina pacientů do skupiny s velmi nízkým rizikem. Měření IMA a myoglobinu, po kterém následuje testování cTn se jeví jako ideální postup, který nabízí jak velkou citlivost, tak i specificitu a negativní prediktivní hodnotou. S pomocí vyšší negativní prediktivní hodnoty IMA lze spolehlivěji vyloučit přítomnost myokardiální ischemie a v kombinaci s markery nekrózy následný rozvoj infarktu myokardu (29), (37).



Obrázek 9 Začlenění IMA do diagnostického algoritmu při přijetí pacientů s bolestí na hrudi na pohotovostní oddělení – upraveno (29).

3.2 Ischemická cévní mozková příhoda

Ischemická cévní mozková příhoda neboli mrtvice je výsledkem déletrvající ischemie mozku, která vede ke smrti mozkových neuronů a při přežití vede obvykle k trvalému postižení.

Podle Světové zdravotnické organizace je mozková mrtvice druhou hlavní příčinou úmrtí po ischemické chorobě srdeční. Základním kamenem diagnózy jsou zobrazovací techniky jako počítačová tomografie nebo magnetická rezonance. Použití těchto zařízení však zabere spoustu času, přístrojové vybavení je drahé, a proto nejsou široce dostupné. Výsledek terapie závisí na včasné diagnóze a zahájení léčby. Rychlý a levný krevní test pro detekci IMA, který je dostatečně citlivý může pomoci okamžitě převést pacienty na trombolytickou terapii (38), (39).

Oxidační stres hraje důležitou roli při poškození mozku po cévní mozkové příhodě z důvodu uvolnění značného množství volných kyslíkových radikálů. N-konec je zejména během oxidačního stresu náchylnější k degradaci. (38).

Do indické studie bylo přijato 50 pacientů s mrtvicí, u kterých byl objeven výrazný vzestup IMA na hodnotu 108 U/ml první hodinu po přijetí do nemocnice v porovnání s kontrolami, jejichž IMA dosahovalo hodnoty 79 U/ml. Celková citlivost pro diagnosu akutní ischemické cévní mozkové příhody činila 85,71 % a specifita dosáhla 84,31 %. Další studie rozdělila pacienty s mrtvicí do skupiny s diabetem a bez diabetu. Při proměření na spektrofotometru hodnoty IMA u těchto skupin převyšovaly 0,20 ABSU v porovnání se zdravou skupinou, kde průměrná hodnota byla výrazně nižší a činila 0,16 ABSU. U diabetiků s mrtvicí byla dále pozorována negativní korelace mezi hodnotami IMA a sérovým albuminem. To by mohlo znamenat, že nižší sérové hladiny albuminu jsou spojeny s vyšší pravděpodobností vzniku mrtvice a následnou zvýšenou úmrtností (38), (39).

3.3 Plicní embolie

Poměrně často se vyskytující a život ohrožující kardiovaskulární poruchou je plicní embolie. Symptomy bývají nespecifické a její diagnóza stále činí potíže. Hypotenze, dysfunkce pravé komory a zvýšený troponin jsou spojeny se špatnou prognózou. Detekce této poruchy využívá diagnostických postupů jako plicní scintigrafie nebo CT-plicní angiografie, které však představují pro pacienta jistou zátěž v podobě vystavení se radiaci. Navíc jsou tyto zobrazovací metody cenově náročnější ve srovnání s krevním testem a využitím biomarkerů jako IMA nebo D-dimer. V jedné z klinických studií porovnávali specifitu a citlivost IMA a D-dimeru v diagnostice plicní embolie. Průměrné hodnoty IMA zjištěné spektrofotometricky u pacientů s plicní embolií přesahovaly 0,3 ABSU, kdy mezní hodnota činila 0,25 ABSU. Citlivost IMA pro účel diagnostiky plicní embolie dosahovala 93 % a 75% specifity. Dále pravděpodobnost, že je osoba opravdu nemocná, když vyšel pozitivně dosahovala 79,4 % a negativní prediktivní hodnota 78,6 %. Oproti IMA má D-dimer o něco nižší specifitu, pozitivní prediktivní hodnotu, ale nepatrně vyšší negativní prediktivní hodnotu. IMA v kombinaci s D-dimerem má

pozitivní vliv na negativní prediktivní hodnotu a citlivost D-dimeru. Dále se IMA zdá být dobrou a levnější alternativou k D-dimeru. Další klinická studie se zabývala hledáním vztahu mezi hladinou IMA, závažností plicní embolie a radiologickými charakteristikami, jakou je např. index obstrukce pulmonální arterie a poměr mezi pravou a levou komorou srdeční získaný výpočtem poměru mezi šířkou pravé a levé komory. Mezi těmito parametry a IMA nebyla nalezena významná korelace. To by znamenalo, že měřením IMA nelze stanovit závažnost této kardiovaskulární poruchy (40), (41).

3.4 Perzistující ductus arteriosus

Změnu perfuze orgánů narušením toku krve do tkání může způsobit perzistující ductus arteriosus. Z tohoto důvodu se u kojenců, ale také u dospělých může vyskytovat hypoxie v mnoha tkáních. Diagnostika a léčba v dětských centrech je běžná. U dospělých vyššího věku nebývá diagnóza tak častá a příčinou vzniku této poruchy může být plicní hypertenze. Jedna ze studií objevila významně vyšší hladiny IMA u předčasně narozených dětí s perzistujícím ductus arteriosus, které vzrostly v průměru na hodnotu 1,26 ABSU, zatímco u kontrolní skupiny novorozenců po léčbě činila hodnota IMA 0,65 ABSU. Hodnota 0,78 ABSU byla stanovena jako mezní hodnota s citlivostí 88,89 % a s 90,24% specificitou. Pro tuto poruchu také ve studii zjistili 92,5% pravděpodobnost, že když vyjde test pozitivní je novorozenec skutečně postižen a také poměrně vysokou 85,71% negativní prediktivní hodnotu. Lze tedy říci, že IMA je možné použít jako marker, ale také k monitorování úspěšnosti léčby perzistujícího ductus arteriosus (42), (43).

3.5 Preeklampsie

Preeklampsie se vyskytuje pouze v těhotenství a představuje ohrožující stav jak pro matku, tak plod. Hlavní roli v patogenezi tohoto onemocnění hraje invaze trofoblastu do spirálních artérií placenty. Jedním z hlavních příznaků je hypertenze. Další symptomy tohoto onemocnění zahrnují ischemii a hypoxii, endoteliální dysfunkci, vazospasmus cév a zánět. Zvýšený IMA je nalézán v normálně probíhajícím těhotenství z důvodu hypoxického intrauterinního prostředí ve fázi časně tvorby trofoblastu. V jedné prospektivní studii zjistili, že preeklampsie se rozvinula u těhotných pacientek s vysokými hladinami IMA mezi 11. a 14. týdnem jako důsledek abnormální invaze trofoblastu. Z toho důvodu může být větší zvýšení IMA dobrým prediktorem komplikací v těhotenství, jakou je preeklampsie. V jiné studii naměřili hladiny IMA dosahující průměrné hodnoty 15,7 U/ml u těhotných žen s vážnou preeklampsií, která se výrazněji lišila od hodnoty 10,2 U/ml u zdravých kontrol. Hodnoty u těhotných žen se závažnou

preeklamsií se mírně lišily od hodnot pacientek s méně závažnou preeklamsií činící v průměru 13,2 U/ml. Z toho vyplývá, že IMA dokáže v tomto případě zjistit, zda je nebo není přítomno, ale nedokáže určit jeho závažnost (44), (45).

3.6 Henochova-Schönleinova purpura

Henochova-Schönleinova purpura je systémová vaskulitida zprostředkovaná IgA. Během tohoto onemocnění dochází k ukládání imunokomplexů do malých cév ledvin a tím se spouští proces zánětu, při kterém se obvykle zvyšuje C-reaktivní protein (CRP). V klinické studii pod vedením tureckých vědců studujících toto onemocnění zaznamenali, že hladina IMA pozitivně koreluje s hodnotou sérového CRP. Tato korelace naznačuje, že by mohl existovat vztah mezi IMA a zánětem. Ve srovnání s kontrolami jejichž průměrná sérová koncentrace IMA činila 1,77 ng/ml odpovídající 0,43 ABSU, bylo u postižených aktivní vaskulitidou naměřeno v průměru 2,01 ng/ml odpovídající 0,67 ABSU (46).

3.7 IMA a onemocnění ledvin jako příčina kardiovaskulární poruchy

Ischemická choroba srdeční vzniká běžně u pacientů s poruchou funkce ledvin a je jejich nejčastější příčinou úmrtí. Jedna klinická studie popisuje, že při terminálním stadiu onemocnění ledvin IMA pozitivně koreluje se zvětšením levé komory srdeční, sníženou systolickou funkcí levé komory a plnicími tlaky levé komory. Tím dokáže IMA předpovědět prognózu konečného stadia onemocnění ledvin. Jiná studie detekovala ischemickou chorobu srdeční u pacientů s konečným stadiem onemocnění ledvin zátěžovou dobutaminovou echokardiografií. Pomocí ní byla vyvolána ischemie. Nárůst hladiny IMA o více než 20 U/ml dokázal identifikovat ischemii u terminálního stadia onemocnění ledvin s citlivostí 81 % a se specificitou 72 %, kdy byla pro tento účel zvolena mezní hodnota IMA 95 U/ml. Toto zvýšení IMA společně s pozitivním zátěžovým testem znamenalo horší prognózu srdečního onemocnění a vyšší incidenci úmrtí (47), (48), (49).

O mnoho vyšší úmrtnost na kardiovaskulární onemocnění je pozorována jedinců podstupující hemodialýzu. Hemodialýza je spojena s nepříznivými účinky jako je ischemie vzniklá v souvislosti s arteriovenózním přístupem a hypoperfuze, která vede ke snížené dodávce kyslíku do myokardu. V klinických studiích je popsáno, že u pacientů po hemodialýze je sérová koncentrace IMA a srdečního troponinu vyšší než fyziologická. IMA před hemodialýzou dosahoval průměrné hodnoty 79 U/ml a po dialýze se zvýšil až na hodnotu 105 U/ml. Tyto výsledky naznačují, že během hemodialýzy dochází k oxidačnímu stresu s tvorbou ROS, které modifikují albumin. V této souvislosti bylo dále prokázáno, že arteriální

ztuhlost, která se vyskytuje u pacientů podstupujících hemodialýzu, spolehlivě předpovídá smrt z důvodu srdečního onemocnění. V jedné čínské studii zjistili, že IMA dokáže tuto arteriální ztuhlost dobře detekovat. Při této poruše byly také naměřeny vyšší hodnoty superoxiddismutázy a sérového CRP, a proto by IMA mohl být z tohoto důvodu spojen s chronickým zánětem a oxidačním stresem u pacientů podstupující hemodialýzu. Z důvodu snížené vazebné kapacity albuminu k mědi v důsledku ischemie byla dále naměřena zvýšená koncentrace měďnatých iontů, která participuje na vyvolání zánětu, apoptózy a oxidativního stresu. Všechny tyto výše popsané změny jsou rizikovými faktory arteriální ztuhlosti (49) (50).

3.8 Diabetes mellitus typu 2 jako příčina kardiovaskulární poruchy

Hyperglykemie a oxidační stres může vyvolat ischemii u pacientů s diabetem. Ta může vést k nekróze různých tkání. Diabetes mellitus je metabolické onemocnění charakterizované hyperglykemií, která je výsledkem poruchy produkce inzulínu, poruchy působení inzulínu nebo jejich kombinací. S chronickou hyperglykemií souvisí vznik poruch, dysfunkce nebo selhání normální funkce různých orgánů. Nejvíce postiženými orgány jsou oči, ledviny, nervová soustava, srdce a cévy. Dále je diabetes mellitus charakterizován glykosurií, hyperlipidemií a ketoacidózou. Komplikacemi, které provází diabetes jsou např. nefropatie, neuropatie, retinopatie. Komplikace diabetu vznikají v důsledku makro- a mikroangiopatologických procesů, během nichž jsou produkovány ve zvýšené míře reaktivní formy kyslíku a naopak klesají hladiny antioxidantů, které brání modifikaci molekuly albuminu na IMA. Dále je toto relativně rozšířené onemocnění provázeno zvýšeným krevním tlakem, aterosklerózou, metabolickým syndromem a následným rozvojem srdečního onemocnění. Srdeční onemocnění bývá nejčastější příčinou úmrtí pacientů s cukrovkou (51), (52).

V důsledku hyperglykemie může IMA vznikat glykací albuminu. V jedné studii se podařilo dokázat, že pacienti s cukrovkou, kteří mají onemocnění periferních cév, mají zvýšené IMA a jeho hodnota pozitivně koreluje s hodnotou glykovaného hemoglobinu (HbA_{1C}). Vysoká koncentrace HbA_{1C} poukazuje na špatnou glykemickou kontrolu. IMA se ukázala být vyšší u pacientů se špatnou nebo velmi špatnou glykemickou kontrolou v porovnání s těmi, jejichž glykemická kontrola byla normální. Tato skutečnost hraje roli ve využití IMA jako indikátoru glykemické kontroly a markeru onemocnění periferních cév. Další studie doplnila tyto zjištění o poznatek, že ačkoliv jsou diabetici bez cévních komplikací, jsou u nich sérové hladiny IMA vyšší než u zdravé populace. Tento fakt je spojen s ischemií tkáně a oxidačním stresem, které provázejí diabetes mellitus (51), (52), (53).

Hyperlipidemie nejvíce přispívá ke vzniku vaskulárních komplikací. HDL cholesterol má protektivní roli proti rozvoji oxidací indukované aterosklerózy, naopak LDL tomuto rozvoji napomáhá. V několika studiích je uvedeno že hladina celkového cholesterolu pozitivně koreluje s IMA. Dále bylo objeveno, že jedinci s nízkým HDL cholesterolem mají vyšší koncentrace IMA v séru než ti s vysokým HDL cholesterolem. Naopak pozitivní korelace je mezi zvýšenými sérovou hladinou triacylglyceridů, sérovým LDL-cholesterolem a IMA (52), (53).

Další výzkumy se zabývaly hodnocením sérových koncentrací IMA u pacientů s cukrovkou s nebo bez komplikací diabetu. Jedním z nich je nefropatie, kterou IMA dokáže detekovat se 100% specifitou a 100% citlivostí. V porovnání s pacienty s diabetem bez komplikací je hladina IMA výrazně vyšší u jedinců s nefropatií. V této souvislosti byla také nalezena pozitivní korelace mezi IMA a sérovým kreatininem. Pomocí sérového IMA lze také prokázat neuropatii s citlivostí 62,5 % a specifitou 62,7 %. Při retinopatii je průměrná hodnota IMA 125,13 U/ml výrazně vyšší než u jedinců se zdravou sítnicí, kde činí pouze 69,95 U/ml. IMA má navíc schopnost předpovídat retinopatii s citlivostí 96 % a specifitou 95,5 % (53).

3.9 Syndrom spánkové apnoe jako příčina kardiovaskulární poruchy

Při syndromu spánkové apnoe dochází ke kolapsu dýchacích cest během spánku, k opakovaným apnoe, intermitentní hypoxii a reoxygenaci. Je dále spojena s rozvojem systémového zánětu a oxidačního stresu, které hrají hlavní roli při vzniku kardiovaskulárních onemocnění. V klinické studii se zabývali vztahem mezi IMA a obstrukční spánkovou apnoí. Zvýšená hladina IMA byla objevena u pacientů se spánkovou apnoí, kde průměrná hodnota IMA činila 0,46 ABSU ve srovnání s průměrnou hodnotou IMA u kontrol činící 0,31 ABSU. Dále hladina IMA pozitivně korelovala s CRP, s distribuční šíří erytrocytů a poměrem neutrofilů a lymfocytů. Jiné výzkumy doplňují, že hlavní příčinou nárůst sérové koncentrace IMA může být spíše než reoxygenace a hypoxie zánětlivý proces provázejícím obezitu jako primární příčinu tohoto syndromu (54), (55).

4 ENDOTELOVÁ DYSFUNKCE A IMA

Vznik dysfunkčního endotelu je odpovědí na jeho rizikové faktory, kterým může být diabetes mellitus, hypertenze, obezita, snížená fyzická aktivita a kouření. Představuje první stadium rozvoje aterosklerózy, ale ovlivňuje její průběh i v jejích pozdních stádiích. Důsledkem dysfunkce endotelu je zvýšená propustnost cévní stěny pro aterogenní lipidy, zvýšená produkce cytokinů a exprese adhezivních molekul, což vede k hromadění monocytů v cévní stěně. Následně se monocyty přeměňují v makrofágy a pěnové buňky. Dále je snížena produkce oxidu dusnatého, který normálně inhibuje migraci hladké svaloviny do subendotelu. V subendotelu je také produkováno extracelulární vazivo aterosklerotických lézí. V dalším stadiu urychluje dysfunkční endotel rozvoj aterosklerózy participací na hromadění makrofágů a pěnových buněk. Z důvodu vyšší syntézy von Willebrandova faktoru a tkáňového faktoru dojde k rozvoji protrombogenního stavu, kdy ruptura trombu s plátem může způsobit uzavření tepny a tím je zastaven přívod kyslíku do zásobované oblasti. Z tohoto důvodu vzniká ischemie, která vede ke vzniku IMA (56), (57).

4.1 Tloušťka komplexu intimy medie na karotických arteriích a IMA

V průběhu rozvoje aterosklerózy dochází k patologickým změnám v cévní stěně, které lze detekovat již v asymptomatickém stadiu pomocí měření tloušťky komplexu intimy-medie karotických arterií (CIMT) za použitím ultrazvuku. Toto měření může sloužit k posouzení souvislosti IMA s aterosklerotickým procesem (58).

Ve studii tureckých vědců se zabývali studiem IMA jako markeru aterosklerózy v porovnání s běžně využívanou hodnotou tloušťky intimy-medie na karotických arteriích, která se běžně používá pro detekci aterosklerotických lézí. Hladiny IMA se zvýšily u pacientů s revmatoidní artritidou, u kterých byla ateroskleróza hodnocena. IMA v tomto případě pozitivně korelovala s hodnotou CIMT. Hladina IMA při revmatoidní artritidě pravděpodobně vzrůstá v důsledku systémového zánětlivého procesu. Vědci se domnívají, že IMA lze díky pozitivní korelaci s CIMT využít k hodnocení rozvoje aterosklerózy u pacientů s revmatoidní artritidou. Jiná studie věnovala pozornost syndromu spánkové apnoe jako potenciálního rizika pro vznik aterosklerózy. Hladina IMA byla výrazně vyšší u pacientů se spánkovou apnoí a stejně jako u pacientů s revmatoidní artritidou objevili vědci pozitivní korelaci mezi IMA a CIMT. K podobným závěrům pro tyto parametry bylo dospěno také u familiární středomořské horečky, u které chronický systémový zánět také zvyšuje možnost rozvoje vzniku aterosklerózy. Zjištěním těchto skutečností lze usuzovat, že koncentrace IMA v séru se zvyšuje

i u dalších zánětlivých onemocnění spojovaných s rizikem vzniku aterosklerózy. Systémový zánět má přímý účinek na cévní tkáň, periferní tkáň a orgány. Tyto účinky vedou k endoteliální dysfunkci způsobující oxidační stres. Vlivem oxidačního stresu dochází ke zvýšení tvorby volných kyslíkových radikálů a ke vzniku aterosklerózy, což má za následek ischemii nebo hypoxii tkáň. Hypoxie tkáň a oxidační stres způsobují zvýšení hladin IMA. Za normálních okolností funguje albumin jako antioxidant a jeho nízká hladina může být rizikovým faktorem vzniku cévních chorob. Vztah mezi IMA a CIMT podporují skutečnost, že IMA pozitivně koreluje i s aterosklerózou. (59), (60), (61).

4.2 Rizikové faktory endotelové dysfunkce a IMA

4.2.1 Obezita

Větší nárůst tělesné hmotnosti je spojen s rozvojem aterosklerózy a následných kardiovaskulárních potíží. K onemocnění oběhového systému v této souvislosti může docházet v důsledku hyperglykémie, zvýšené hladiny lipidů a chronického zánětu, které vedou k produkci volných kyslíkových radikálů. V důsledku velké tělesné hmotnosti může také dojít k rozvoji diabetu, hypertenze, dyslipidemie a někdy i rakoviny. Jednou z náchylných skupin ke vzniku obezity jsou ženy po menopauze. Ve studii pod vedením řeckých vědců zjistili, že obézní ženy v menopauze a stejně tak ženy v postmenopauze s ischemickou chorobou srdeční mají vyšší hladiny IMA přesahující 110 U/ml. Naproti tomu u žen bez obezity IMA nepřesahuje 100 U/ml. K takovému zvýšení IMA dochází pravděpodobně působením oxidačního stresu spojeného s obezitou. CRP a natriuretický peptid, které s hladinou IMA pozitivně korelují, nebyly na rozdíl od IMA zvýšeny ani u jedné ze skupin žen tak, aby odrážely riziko vaskulární poruchy. Sérové hladiny IMA by proto mohly odrážet globální aterosklerotickou zátěž, když si uvědomíme, že dokáže poskytnout časněji informace o přítomnosti ischemické choroby srdeční, jak bylo uvedeno dříve v této práci (62), (63).

V souvislosti s obezitou může hrát roli leptin akumulací reaktivních forem kyslíku generovaných v buňkách endotelu, které mohou poškodit strukturu albuminu. Zároveň k oxidačnímu stresu přispívá zvýšená β -oxidace v důsledku velkého množství sérových mastných kyselin (62).

4.2.2 Hypercholesterolemie

Jedním z rizikových faktorů vzniku endoteliální dysfunkce a aterosklerózy je hypercholesterolemie. Je známo, že oxidovaný LDL cholesterol hraje významnou roli v rozvoji aterosklerózy a autoprotilátky proti němu bývají přítomny v aterosklerotických lézích.

V časných stádiích aterosklerózy dochází také k produkci reaktivních forem kyslíku a albumin podléhá nadměrnému oxidačnímu stresu, dochází k jeho oxidaci a vzniká IMA. U jedinců s hypercholesterolemií byla objeveny vyšší hladiny glukózy, celkového cholesterolu, LDL cholesterolu, triacylglyceridů, protilátek proti oxidovanému LDL cholesterolu a sérového CRP. Hladina IMA byla také zvýšena a pozitivně korelovala s těmito parametry, zatímco negativně korelovala s koncentracemi HDL cholesterolu a paraoxonázy - 1. Snížená aktivita paraoxonázy - 1 je spojena se vznikem endoteliální dysfunkce a byla objevena u pacientů s nekrózou dolní končetiny z důvodu onemocnění periferním cév. Následně byla nižší aktivita paraoxonázy - 1 nalezena u diabetiků s ischemickou chorobou dolních končetin než u diabetiků bez této komplikace. Je předpokládáno, že tento rozdíl je způsoben infekcí a periferní ischemií provázející tuto komplikaci diabetu (64), (65).

Tvorba aterosklerotického plátu u jedinců s hypercholesterolemií je spojena s chronickým zánětem a může být také spojena s ischemií, což naznačuje pozitivní korelace mezi celkovým cholesterolem, CRP a IMA. Vztahy mezi těmito parametry mohou být využity k detekci hypercholesterolemie u asymptomatických jedinců pomocí IMA. Díky pozitivní korelaci mezi IMA a protilátkami proti oxidovanému LDL by mohl být využit IMA k zjištění subklinických aterosklerotických lézí (64).

4.2.3 Hyperglykemie

V turecké studii zkoumali vztah biomarkerů endotelové dysfunkce u pacientů s diabetem 2. typu. V tomto případě je jednou z příčin vzniku endotelové dysfunkce zánětlivá reakce ve struktuře cévy, která je výsledkem hyperglykémie. Průměrné hladiny sérového CRP a IMA byly vyšší u diabetiků s endotelovou dysfunkcí než bez ní. Tato skutečnost svědčí o tom, že by IMA, ale i CRP mohli být spojeny s procesem endotelové dysfunkce. Možný mechanismus zvýšení IMA u pacientů s diabetem 2. typu může být zvýšení interleukinu-1 β v důsledku aktivace B buněk vážnou hyperglykemií a zvýšením hladiny NADP. Dále vzniká enzym NADPH oxidáza, který přenáší elektron na molekulární kyslík prostřednictvím enzymového komplexu mitochondriích za vzniku superoxidového radikálu. To způsobí zvýšení reaktivních forem kyslíku cyklooxygenázovou cestou. Zvýšení reaktivních forem kyslíku vede k modifikaci albuminu za vzniku IMA. Současně IMA i CRP pozitivně korelovaly s tloušťkou intimy-medie na karotických arteriích a s proteinurií. Ukázalo se, že IMA a sérový CRP jsou dobrými nezávislými rizikovými faktory endotelové dysfunkce. (66), (67).

4.2.4 Asymetrický dimethylarginin

Stejně jako IMA je možno použít asymetrického dimethylargininu k hodnocení ischemie a oxidativního stresu. Vzhledem k tomu, že zvýšené hladiny dimethylargininu jsou úzce spojeny s hypercholesterolemií, endotelovou dysfunkcí a aterosklerózou, může být použit ke srovnání s hladinou IMA pro tyto poruchy. V jedné z klinických studií zkoumali nárůst jejich sérových koncentrací u pacientů se spánkovou obstrukční apnoe. U tohoto typu onemocnění je endoteliální dysfunkce způsobena střídáním fáze hypoxie a reoxygenace a vysokého oxidačního stresu. Vědci zjistili výrazný vzestup koncentrace IMA u skupin s mírnou a těžkou apnoí a u asymetrického dimethylargininu byl významný nárůst hladiny pozorován jen u těžké apnoe. Tento výsledek svědčí o tom, že na rozdíl od dimethylargininu dokáže IMA určit závažnost tohoto onemocnění, a tedy možnost časnějšího zachytu poruchy cévní stěny. Podíl IMA a dimethylargininu na vznik endoteliální dysfunkce není však zcela objasněn. (68).

4.2.5 Sepse

Sepse je spojena s patologickou infekcí a fyziologickými změnami charakterizující syndrom systémové zánětové odpovědi. Výsledkem této odpovědi je poškození na úrovni kapilárního endotelu. Hlavními znaky společnými pro sepsi a endoteliální dysfunkci u přetrvávajících a chronických onemocnění je zvýšený oxidační stres, degradace glykokalyxu, zvýšená adheze leukocytů, smrt endotelových buněk, narušení bariéry mezi krví a tkání a indukce pro-koagulačního a anti-fibrinolytického stavu. (69), (70).

Při hodnocení syndromu systémové zánětové odpovědi a sepse objevili ve studii významně vyšší hladinu IMA, která stejně jako v předchozích případech pozitivně korelovala s hodnotou CRP. Pokud vycházíme z důkazů, že ateroskleróza je zánětlivý proces, tak se CRP mezi zánětlivými biomarkery zdá být nejlepším v detekci kardiovaskulárního rizika. Proaterogenní působení CRP by mohlo být zprostředkováno jeho lokálním působením v cévní stěně, ve které je uložen. Dále CRP přispívá k rozvoji zánětu za produkce reaktivních forem kyslíku, které modifikují albumin (71).

5 ZÁVĚR

Kardiovaskulární onemocnění jsou nejčastější příčinou úmrtí na celém světě a stejně tak v České republice. Včasný záchyt těchto chorob může znamenat časnější zvolení vhodné léčby a tím vést k přežití více jedinců. Pro tento účel byli hledány spolehlivé markery detekující zejména myokardiální ischemii a z nich se nejvíce osvědčil ischemií modifikovaný albumin.

Zvýšená tvorba IMA je vysvětlována zvýšenou produkcí reaktivních forem kyslíku, které modifikují albumin při oxidačním stresu, ischemii, hypoxii nebo zánětu. K nárůstu sérové koncentrace IMA však může docházet také obsazením vazebných míst na albuminu mastnými kyselinami a glykací albuminu.

Jedinou metodou stanovení IMA schválenou Úřadem pro kontrolu potravin a léčiv je ACB test. Jeho výhodou je rychlá a ve většinu spolehlivá detekce ischemie. V některých případech však poskytuje falešně negativní nebo pozitivní výsledky a jeho spolehlivost je nižší u pacientů s hypoalbuminemií. Významná je interference s laktátem, kdy v jeho zvýšené přítomnosti v séru poklesne hladina IMA. Tím pádem je citlivost ACB testu snížena v případech, kdy ke kardiovaskulárním potížím dojde během těžší fyzické námahy. V nedávné minulosti byla projevena snaha najít spolehlivější cestu stanovení IMA. Variantou k ACB testu, ale také s nepřímou detekcí se zdá být ACuB test. Důvodem je vyšší vazebná afinita mědi k albuminu na jeho N-konci. Dále se vědcům podařilo vyvinout metody stanovení IMA založené na senzorech využívajících povrchové plasmonové rezonance, rentgenové fluorescenční spektrometrie s kvantovými tečkami a tekuté krystaly. U všech třech metod hraje roli využití protilátek. V případě těchto metod nebyly dosud zjištěny interference s jinými látkami vyskytujícími se v séru. Další výzkumy jsou nutné pro objasnění, zda jsou tyto metody skutečně dostatečně spolehlivé pro uvedení do běžného laboratorního provozu.

IMA je vysoce citlivý, ale o něco méně specifický pro prokázání ACS. Příčinou nízké specifity IMA pro identifikaci ACS je skutečnost, že dokáže dobře dokázat ischemii myokardu, ale nikoliv nekrózu, která se objevuje při infarktu myokardu. Hlavní výhodou využití IMA je jeho negativní prediktivní hodnota umožňující spolehlivěji vyloučit ischemii, která je prvotní příčinou ACS. K zvýšení hladiny IMA dochází krátce po nástupu ischemie. Z toho důvodu je schopný předpovědět následné zvýšení markerů srdečního poškození a tím infarkt myokardu. Dále dokáže také rozlišit STEMI pacienty od NSTEMI pacientů a zároveň od zdravých jedinců. ACS také zahrnuje nestabilní anginu pectoris spojenou s přechodným výskytem ischemie. IMA dokáže rozlišit u pacientů nestabilní anginu pectoris od zdravých jedinců, ale nikoliv od stabilní anginy pectoris.

Jistou nevýhodu má IMA v tom, že není specifický jenom pro myokard. Jeho vyšší hladiny byly nalezeny i při sepsi, gynekologických potížích, rakovině, cirhóze jater a dalších možných onemocněních nesouvisejících s postižením myokardu. Může však sloužit jako marker u onemocnění spojených s rizikem vzniku kardiovaskulárních potíží jako je diabetes mellitus, syndrom obstrukční spánkové apnoe, preeklampsie a dalších.

Mnohé studie prokázaly, že IMA může být markerem endoteliální dysfunkce jako prvního stadia aterosklerózy. Není však zcela prokázáno, jak je do těchto patologických procesů zapojen. Pozitivní korelace s CRP, CIMT, ale i asymetrickým dimethylargininem při ateroskleróze naznačuje, že by se modifikovaný albumin mohl podílet na tvorbě aterosklerotického plátu. Pravděpodobné je, že albumin působící původně jako antioxidant, je modifikován reaktivními formami kyslíku v procesu zánětu a oxidačního stresu. Vzniklý IMA není schopen vázat přechodné kovy jako je měď. Volná měď pak katalyzuje radikálové reakce a proces endotelové dysfunkce zhoršuje toxickým působením na cévní stěnu. Zánět je součástí rizikových faktorů aterosklerózy jako obezita, sepse a diabetes mellitus, ale hrají zde roli i autoimunitní onemocnění jako revmatoidní artritida a mnoho dalších. Pokud dokáže IMA detekovat ischemii již v počátku aterosklerózy, můžou být jeho zvýšené hladiny užitečné pro následné rychlejší zvolení léčby před tím, než dojde k cévním komplikacím.

6 POUŽITÁ LITERATURA

- (1) REED, S. Essential physiological biochemistry: an organ based approach. Chichester: John Wiley, 2009. ISBN 978-0-47002-636-6.
- (2) DUŠEK, J., J. LAGO CHEC, J. ŠTÁSEK a kol. Markery myokardiální ischemie: slepá ulička nebo budoucnost laboratorní diagnostiky. *Interv Akut Kardiol.* 2010, 9(4), 190-194.
- (3) BHAGAVAN, N. V., E. M. LAI, P. A. RIOS et al. Evaluation of human serum Albumin Cobalt Binding assay for the assessment of myocardial ischemia and myocardial infarction. *Clinical Chemistry* [online]. The American Association for Clinical Chemistry, 2003, 49(4), 581-585 [cit. 2020-06-14]. DOI: 10.1373/49.4.581. ISSN 0009-9147. Dostupné z: <https://academic.oup.com/clinchem/article/49/4/581/5641827>
- (4) KANKO, M., S. YAVUZ, C. DUMAN et al. Ischemia-modified albumin use as a prognostic factor in coronary bypass surgery. *Journal of Cardiothoracic Surgery* [online]. 2012, 7(1) [cit. 2020-06-14]. DOI: 10.1186/1749-8090-7-3. ISSN 1749-8090. Dostupné z: <https://cardiothoracicsurgery.biomedcentral.com/articles/10.1186/1749-8090-7-3>
- (5) GAZE, D. Biomarkers of cardiac ischemia. *Ischemic Heart Disease* [online]. InTech, 2013 [cit. 2020-06-14]. DOI: 10.5772/55250. ISBN 978-953-51-0993-8. Dostupné z: <http://www.intechopen.com/books/ischemic-heart-disease/biomarkers-of-cardiac-ischemia>
- (6) SADLER, P. J., A. TUCKER and J. H. VILES. Involvement of a lysine residue in the N-terminal Ni²⁺ and Cu²⁺ binding site of serum albumins. Comparison with Co²⁺, Cd²⁺ and Al³⁺. *European Journal of Biochemistry* [online]. 1994, 220(1), 193-200 [cit. 2020-06-15]. DOI: 10.1111/j.1432-1033.1994.tb18614.x. ISSN 0014-2956. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1432-1033.1994.tb18614.x>
- (7) ORAN, I. and B. ORAN. Ischemia-modified albumin as a marker of acute coronary syndrome: the case for revising the concept of “N-terminal modification” to “fatty acid occupation” of albumin. *Disease Markers* [online]. 2017, 1-8 [cit. 2020-06-14]. DOI: 10.1155/2017/5692583. ISSN 0278-0240. Dostupné z: <https://www.hindawi.com/journals/dm/2017/5692583/>
- (8) COVERDALE, J., K. KATUNDU, A. SOBCZAK et al. Ischemia-modified albumin: crosstalk between fatty acid and cobalt binding. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids* [online]. 2018, 135, 147-157 [cit. 2020-06-15]. DOI: 10.1016/j.plefa.2018.07.014. ISSN 09523278. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0952327818300826>

- (9) PASAVAND, P., M. SALESI, A. MEHRABI et al. Response of ischemia-modified albumin (IMA) plasma to the time of intensive exercise (morning and evening) in male patients with cardiovascular disease. *Report of Health Care* [online]. 2019, 5(4), 35-43 [cit. 2020-06-15]. ISSN 2423-4141. Dostupné z: http://jrhc.miau.ac.ir/article_3809.html
- (10) BAKULA, M., G. MILICEVIC, M. BAKULA et al. Kinetics of ischemia-modified albumin following exercise-induced myocardial ischemia. *Clinical Laboratory* [online]. 2016, 62(042016) [cit. 2020-06-15]. DOI: 10.7754/Clin.Lab.2015.150732. ISSN 1433-6510. Dostupné z: <http://www.clin-lab-publications.com/article/2000>
- (11) BAR-OR, D., J. WINKLER, K. VANBENTHUYSEN et al. Reduced albumin-cobalt binding with transient myocardial ischemia after elective percutaneous transluminal coronary angioplasty: A preliminary comparison to creatine kinase-MB, myoglobin, and troponin I. *American Heart Journal* [online]. 2001, 141(6), 985-991 [cit. 2020-06-15]. DOI: 10.1067/mhj.2001.114800. ISSN 00028703. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0002870301530185>
- (12) DUŠEK, J., J. ŠŤÁSEK, M. TICHÝ a kol. Prognostic significance of ischemia modified albumin after percutaneous coronary intervention. *Clinica Chimica Acta* [online]. 2006, 367(1-2), 77-80 [cit. 2020-06-16]. DOI: 10.1016/j.cca.2005.11.020. ISSN 00098981. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0009898105006947>
- (13) RENTROP, K. P., M. COHEN, H. BLANKE et al. Changes in collateral channel filling immediately after controlled coronary artery occlusion by an angioplasty balloon in human subjects. *Journal of the American College of Cardiology* [online]. 1985, 5(3), 587-592 [cit. 2020-06-15]. DOI: 10.1016/S0735-1097(85)80380-6. ISSN 0735109. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0735109785803806>
- (14) ASLAN, D. and F. APPLE. Ischemia modified albumin measured by the Albumin Cobalt Binding test: a clinical and analytical review. *Laboratory Medicine* [online]. 2004, 35(1), 44-47 [cit. 2020-06-15]. DOI: 10.1309/XXYETJN8YM9HBD9C. ISSN 0007-5027. Dostupné z: <https://academic.oup.com/labmed/article/35/1/44/2504341>
- (15) GIDENNE, S., F. CEPPA, E. FONTAN et al. Analytical performance of the Albumin Cobalt Binding (ACB®) test on the Cobas MIRA® Plus analyzer. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM)* [online]. 2004, 42(4) [cit. 2020-06-30]. DOI: 10.1515/CCLM.2004.079. ISSN 1437-4331. Dostupné z: <https://www.degruyter.com>
- (16) GAZE, D., L. CROMPTON and P. COLLINSON. Ischemia-modified albumin concentrations should be interpreted with caution in patients with low serum albumin

- Concentrations. *Medical Principles and Practice* [online]. 2006, 15(4), 322-324 [cit. 2020-06-15]. DOI: 10.1159/000093000. ISSN 1011-7571. Dostupné z: <https://www.karger.com/Article/FullText/93000>
- (17) ZAPICO-MUÑIZ, E., M. SANTALÓ-BEL, J. MERCÉ-MUNTAÑOLA et al. Ischemia-modified albumin during skeletal muscle ischemia. *Clinical Chemistry* [online]. 2004, 50(6), 1063-1065 [cit. 2020-06-28]. DOI: 10.1373/clinchem.2003.027789. ISSN 0009-9147. Dostupné z: <https://academic.oup.com/clinchem/article/50/6/1063/5640042>
- (18) EOM, J-E., E. LEE, K.-H. JEON et al. Development of an Albumin Copper Binding (ACuB) assay to detect ischemia modified albumin. *Analytical Sciences* [online]. 2014, 30(10), 985-990 [cit. 2020-07-14]. DOI: 10.2116/analsci.30.985. ISSN 0910-6340. https://www.jstage.jst.go.jp/article/analsci/30/10/30_985/_pdf
- (19) LI, G., X. LI, M. YANG et al. A gold nanoparticles enhanced surface plasmon resonance immunosensor for highly sensitive detection of ischemia-modified albumin. *Sensors* [online]. 2013, 13(10), 12794-12803 [cit. 2020-06-26]. DOI: 10.3390/s131012794. ISSN 1424-8220. Dostupné z: <http://www.mdpi.com/1424-8220/13/10/12794>
- (20) ZHOU, X., Z. XIAO, J. LIN et al. Electrodeposition of advanced SRP thin film for ischemia modified albumin levels determination and potential hypertension diagnosis. *International Journal of Electrochemical Science* [online]. 12(8), 7597-7606 [cit. 2020-06-27]. DOI: 10.0964/2017.08.21. Dostupné z: <http://electrochemsci.org>
- (21) PŘIKRYLOVÁ, K. Elektrochemická charakterizace nanostrukturovaných povrchů modifikovaných biolátkami s thiolovou vazbou. Brno, 2014. Diplomová práce. Vysoké učení technické v Brně. Vedoucí práce Ing. Radim Hrdý Ph.D.
- (22) JIANG, T., X. LIU, X. QIU et al. Response to comment on “interference-free determination of ischemia-modified albumin using quantum dot coupled X-ray fluorescence spectroscopy” [Biosens. Bioelectron. 51 (2014) 136–142]. *Biosensors and Bioelectronics* [online]. 2015, 65, 437-438 [cit. 2020-06-26]. DOI: 10.1016/j.bios.2014.08.042. ISSN 09565663. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0956566314006307>
- (23) LUO, Y., C. WANG, T. JIANG et al. Interference-free determination of ischemia-modified albumin using quantum dot coupled X-ray fluorescence spectroscopy. *Biosensors and Bioelectronics* [online]. 2014, 51, 136-142 [cit. 2020-06-26]. DOI: 10.1016/j.bios.2013.07.046. ISSN 09565663. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0956566313005186>

- (24) HE, Q., H. LEI, S. LUO et al. Liquid crystal biosensor for detecting ischemia modified albumin. *Research on Chemical Intermediates* [online]. 2017, 43(1), 353-360 [cit. 2020-06-26]. DOI: 10.1007/s11164-016-2626-4. ISSN 0922-6168. Dostupné z: <http://link.springer.com/10.1007/s11164-016-2626-4>
- (25) Česko: zdravotní profil země 2019, State of Health in the EU [online]. Paris/European Observatory on Health Systems and Policies, Brussels: OECD Publishing [cit. 2020-06-15]. DOI: 9789264724662. ISSN 25227041.
- (26) KOŠATOVÁ, A. Dědičnost kardiovaskulárních onemocnění. Praha, 2013. Bakalářská práce. Univerzita Karlova v Praze. Vedoucí práce Mgr. Edvard Ehler, Ph.D.
- (27) DEMIRTAS, A., T. KARABAG and D. DEMIRTAS. Ischemic modified albumin predicts critical coronary artery disease in unstable angina pectoris and non-ST-Elevation Myocardial Infarction. *Journal of Clinical Medicine Research* [online]. 2018, 10(7), 570-575 [cit. 2020-06-15]. DOI: 10.14740/jocmr3417w. ISSN 1918-3003. Dostupné z: <http://www.jocmr.org/index.php/JOCMR/article/view/3417>
- (28) KNOT, J., M. PĚNIČKA, K. ČUŘILA a P. WIDIMSKÝ. Akutní koronární syndrom. *Medicína pro praxi* [online]. 4, 153-155 [cit. 2020-06-15]. DOI: 10.26355/eurrev_201901. Dostupné z: <https://www.medicinapropraxi.cz/pdfs/med/2007/04/02.pdf>
- (29) ANWARUDDIN, S., J. JANUZZI, A. BAGGISH et al. Ischemia-modified albumin improves the usefulness of standard cardiac biomarkers for the diagnosis of myocardial ischemia in the emergency department setting. *American Journal of Clinical Pathology* [online]. 2005, 123(1), 140-145 [cit. 2020-04-08]. DOI: 10.1309/4BCTG5UCYMQFWBLR. ISSN 0002-9173. Dostupné z: <https://academic.oup.com/ajcp/article-lookup/doi/10.1309/4BCTG5UCYMQFWBLR>
- (30) SALEH, M. and J. AMBROSE. Understanding myocardial infarction. *F1000Research* [online]. 2018, 7(40), 17152-17157 [cit. 2020-06-15]. DOI: 10.12688/f1000research.15096.1. ISSN 2046-1402. Dostupné z: <https://f1000research.com/articles/7-1378/v1>
- (31) AYDIN, S., K. UGUR, S. AYDIN et al. Biomarkers in acute myocardial infarction: current perspectives. *Vascular Health and Risk Management* [online]. 2019, 15, 1-10 [cit. 2020-06-16]. DOI: 10.2147/VHRM.S166157. ISSN 1178-2048. Dostupné z: <https://www.dovepress.com>
- (32) WIDIMSKÝ, P., R. ROKYTA and O. HLINOMAZ. Summary of the 2015 ESC guidelines for the management of acute coronary syndromes in patients presenting without

- persistent ST-segment elevation. Prepared by the Czech Society of Cardiology. *Cor et Vasa* [online]. 2016, 58(1), 4-28 [cit. 2020-06-16]. DOI: 10.1016/j.crvasa.2016.01.003. ISSN 00108650. Dostupné z: <http://e-corevasa.cz/doi/10.1016/j.crvasa.2016.01.003.html>
- (33) AL-SAEED, H. H. Early Diagnosis of brain natriuretic peptide (Pro-BNP) and ischemia modified albumin (IMA) levels in acute coronary syndrome patients with ST segment elevation myocardial infarction (STEMI) and non ST segment elevation myocardial infarction (NSTEMI). *Systematic Reviews in Pharmacy* [online]. 2020, 11(04) [cit. 2020-06-16]. DOI: 10.31838/srp.2020.4.73. ISSN 09762779. <http://sysrevpharm.org/fulltext/196-1589021480.pdf>
- (34) ROKYTA, R. Fyziologie a patologická fyziologie: pro klinickou praxi. Praha: Grada Publishing, 2015. ISBN 978-80-247-4867-2.
- (35) JU, S., J. NI, J. SU et al. Ischemia-modified albumin is increased in patients with unstable angina: a new potential diagnostic biomarker of this acute coronary syndrome?. *Laboratory Medicine* [online]. 2008, 39(11), 668-670 [cit. 2020-06-15]. DOI: 10.1309/LMQG7WM87DPTNNOB. ISSN 1943-7730. Dostupné z: <https://academic.oup.com/labmed/article-lookup/doi/10.1309/LMQG7WM87DPTNNOB>
- (36) BONORINO, N., A. LUNARDELLI and J. OLIVEIRA. Use of ischemia modified albumin for the diagnosis of myocardial infarction. *Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial* [online]. 2015, 51(6) [cit. 2020-06-15]. DOI: 10.5935/1676-2444.20150060. ISSN 1676-2444. Dostupné z: <http://www.gnresearch.org/doi/10.5935/1676-2444.20150060>
- (37) COLLINSON, P. O. and D. GAZE. Utility of admission cardiac troponin and "ischemia modified albumin" measurements for rapid evaluation and rule out of suspected acute myocardial infarction in the emergency department. *Emergency Medicine Journal* [online]. 2006, 23(4), 256-261 [cit. 2020-06-16]. DOI: 10.1136/emj.2005.028241. ISSN 1472-0205. Dostupné z: <http://emj.bmj.com/cgi/doi/10.1136/emj.2005.028241>
- (38) MENON, B., K. RAMALINGAM and V. KRISHNA. Study of ischemia modified albumin as a biomarker in acute ischaemic stroke. *Annals of Neurosciences* [online]. 2019, 25(4), 187-190 [cit. 2020-06-15]. DOI: 10.1159/000488188. ISSN 0972-7531. Dostupné z: <https://www.karger.com/Article/FullText/488188>
- (39) GUDI, J., A. MALLESHAPPA and K. NAIK. Correlation of serum albumin with ischemia modified albumin in acute stroke patients with or without diabetes mellitus. *Indian Journal of Health Sciences and Biomedical Research (KLEU)* [online]. 2017, 10(1) [cit.

- 2020-06-15]. DOI: 10.4103/2349-5006.198579. ISSN 2542-6214. Dostupné z: <http://www.ijournalhs.org/text.asp?2017/10/1/29/198579>
- (40) TUREDI, S., A. GUNDUZ, A. MENTESE et al. The value of ischemia-modified albumin compared with d-dimer in the diagnosis of pulmonary embolism. *Respiratory Research* [online]. 2008, 9(1) [cit. 2020-06-26]. DOI: 10.1186/1465-9921-9-49. ISSN 1465-993X. Dostupné z: <http://respiratory-research.biomedcentral.com/articles/10.1186/1465-9921-9-49>
- (41) TUREDI, S., S. KARAHAN, A. MENTESE et al. Investigation of relationship between the D-dimer and ischemia-modified albumin levels with the radiological imaging-based pulmonary embolism severity score in acute pulmonary embolism. *Anadolu Kardiyoloji Dergisi/The Anatolian Journal of Cardiology* [online]. 2010, 10(4), 346-352 [cit. 2020-06-26]. DOI: 10.5152/akd.2010.094. ISSN 13028723. Dostupné z: https://www.journalagent.com/anatoljcardiol/pdfs/AnatolJCardiol_10_4_346_352.pdf
- (42) KAHVECI, H., C. TAYMAN, F. LALOĞLU et al. Relationship between hemodynamically significant ductus arteriosus and ischemia-modified albumin in premature infants. *Indian Journal of Clinical Biochemistry* [online]. 2016, 31(2), 231-236 [cit. 2020-07-03]. DOI: 10.1007/s12291-015-0523-z. ISSN 0970-1915. Dostupné z: <http://link.springer.com/10.1007/s12291-015-0523-z>
- (43) FISMOL, J., J. JANUŠKA, L. ŠKŇOUŘIL et al. Perzistující ductus arteriosus jako vzácná příčina těžké plicní hypertenze u pacientů vyššího věku. *Interv Akut Kardiol* [online]. 2009, 8(3), 144-147 [cit. 2020-07-03]. Dostupné z: <https://www.solen.cz>
- (44) SESHADRI REDDY, V., M. MUNIKUMAR, P. DUGGINA and N. VARMA. A diagnostic test accuracy meta-analysis of maternal serum ischemia-modified albumin for detection of preeclampsia [online]. 2019, 32(13), 2173-2181 [cit. 2020-07-04]. DOI: 10.1080/14767058.2018.1427724. ISSN 1476-7058. Dostupné z: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/14767058.2018.1427724>
- (45) KARAŞIN, S. S. and T. ÇIFT. The role of ischemia-modified albumin as a biomarker in preeclampsia. *Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia / RBGO Gynecology and Obstetrics* [online]. 2020, 42(03), 133-139 [cit. 2020-07-04]. DOI: 10.1055/s-0040-1709662. ISSN 0100-7203. Dostupné z: <http://www.thieme-connect.de/DOI/DOI?10.1055/s-0040-1709662>
- (46) OMMA, A., S. COLAK, S. CAN SANDIKCI et al. Serum neopterin and ischemia modified albumin levels are associated with the disease activity of adult immunoglobulin

- A vasculitis (Henoch-Schönlein purpura). *International Journal of Rheumatic Diseases* [online]. 2019, 22(10), 1920-1925 [cit. 2020-07-03]. DOI: 10.1111/1756-185X.13673. ISSN 1756-1841. Dostupné z: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/1756-185X.13673>
- (47) SHARMA, R., D. GAZE, D. PELLERIN et al. The evaluation of ischaemia-modified albumin as a marker of myocardial ischaemia in end-stage renal disease. *Clinical Science* [online]. 2007, 113(1), 25-32 [cit. 2020-06-29]. DOI: 10.1042/CS20070015. ISSN 0143-5221. Dostupné z: <https://portlandpress.com/clinsci/article/113/1/25/68293/Evaluation-of-ischaemiamodified-albumin-as-a>
- (48) JIAO, D., F. GUO, M. YUE et al. Ischemia-modified albumin is associated with arterial stiffness in hemodialysis patients. *International Heart Journal* [online]. 2020, 61(2), 332-337 [cit. 2020-06-28]. DOI: 10.1536/ihj.19-489. ISSN 1349-2365. Dostupné z: https://www.jstage.jst.go.jp/article/ihj/61/2/61_19-489/_article
- (49) MONTAGNANA, M., G. LIPPI, N. TESSITORE et al. Effect of hemodialysis on traditional and innovative cardiac markers. *Journal of Clinical Laboratory Analysis* [online]. 2008, 22(1), 59-65 [cit. 2020-06-29]. DOI: 10.1002/jcla.20210. ISSN 08878013. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1002/jcla.20210>
- (50) TABRIZIANI, H., P. BARON, I. ABUDAYYEH and M. LIPKOWITZ. Cardiac risk assessment for end-stage renal disease patients on the renal transplant waiting list. *Clinical Kidney Journal* [online]. 2019, 12(4), 576-585 [cit. 2020-06-28]. DOI: 10.1093/ckj/sfz039. ISSN 2048-8505. Dostupné z: <https://academic.oup.com/ckj/article/12/4/576/5479991>
- (51) SADIK, I., Z. YAGOUB, N. SAYED et al. The level of ischemic modified albumin (IMA) as risk marker for cardio vascular disease (CVD) among some diabetic patients (type II) in Khartoum state -Sudan. *Sudan Journal of Medical Sciences* [online]. 2017, 12(4), 231-239 [cit. 2020-06-15]. DOI: 10.18502/sjms.v12i4.1354. ISSN 1858-5051. Dostupné z: <https://knepublishing.com/index.php/SJMS/article/view/1354>
- (52) CHAWLA, R., R. LOOMBA, D. GURU and V. LOOMBA. Ischemia modified albumin (IMA) - a marker of glycaemic control and vascular complications in type 2 diabetes mellitus. *JOURNAL OF CLINICAL AND DIAGNOSTIC RESEARCH* [online]. 2016 [cit. 2020-06-15]. DOI: 10.7860/JCDR/2016/15282.7432. ISSN 2249782X.
- (53) SALEH, M., N. EL SAID, Y. BAHGAT et al. Serum ischemia modified albumin as a marker of complications in patients with type 2 diabetes mellitus. *Endocrinol Diabetes Res*

- [online]. 2019, 5(1), 1-13 [cit. 2020-06-15]. DOI: 10.4172/2470-7570.1000138. ISSN 2470-7570. Dostupné z: <http://scitechnol.com>
- (54) DÜGER, M., E. C. SEYHAN, M. Z. GÜNLÜOĞLU et al. Does ischemia-modified albumin level predict severity of obstructive sleep apnea?. *Sleep and Breathing* [online]. [cit. 2020-06-29]. DOI: 10.1007/s11325-020-02038-9. ISSN 1520-9512. Dostupné z: <http://link.springer.com/10.1007/s11325-020-02038-9>
- (55) DOGAN, D., N. OCAL, M. AYDOGAN et al. Assessment of the role of serum ischemia-modified albumin in obstructive sleep apnea in comparison with interleukin-6. *Postgraduate Medicine* [online]. 2016, 128(6), 603-608 [cit. 2020-06-29]. DOI: 10.1080/00325481.2016.1203237. ISSN 0032-5481. Dostupné z: <http://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/00325481.2016.1203237>
- (56) KARÁSEK, D., H. VAVERKOVÁ, M. HALENKA a M. HUTYRA. Endoteliální dysfunkce, možnosti její detekce a využití v klinické praxi. *Interní Med.* [online]. 2004, 5(9), 450-453 [cit. 2020-06-29]. Dostupné z: <https://www.internimedica.cz>
- (57) VRÁBLÍK, M., M. JANOTOVÁ, E. MOTYKOVÁ a M. PRUSÍKOVÁ. Endoteliální dysfunkce - první stádium aterosklerózy. *Med. praxi* [online]. 2011, 8(3), 119-122 [cit. 2020-06-29]. Dostupné z: <https://www.medicinapropraxi.cz>
- (58) PÍŤHA, J. Detekce preklinické aterosklerózy. *Interní Med.* [online]. 2007, 9(4), 175-177 [cit. 2020-07-02]. Dostupné z: <https://www.internimedica.cz>
- (59) USLU, A., A. KUCUK, S. BALTA et al. The relation between ischemia modified albumin levels and carotid intima media thickness in patients with rheumatoid arthritis. *International Journal of Rheumatic Diseases* [online]. 2019, 22(1), 32-37 [cit. 2020-06-29]. DOI: 10.1111/1756-185X.12851. ISSN 17561841. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1111/1756-185X.12851>
- (60) KARAMANLI, H., A. KIYICI, B. ARIK a D. EFE. Influence of obstructive sleep apnea on ischemia-modified albumin levels and carotid intima-media thickness. *Journal of Investigative Medicine* [online]. 2016, 64(5), 1035-1041 [cit. 2020-06-29]. DOI: 10.1136/jim-2016-000063. ISSN 1081-5589. Dostupné z: <http://jim.bmj.com/lookup/doi/10.1136/jim-2016-000063>
- (61) KUCUK, A., A. USLU, S. ARSLAN et al. Ischemia-modified albumin and atherosclerosis in patients with familial mediterranean fever. *Angiology* [online]. 2016, 67(5), 456-460 [cit. 2020-07-03]. DOI: 10.1177/0003319715595744. ISSN 0003-3197. Dostupné z: <http://journals.sagepub.com/doi/10.1177/0003319715595744>

- (62) KAZANIS, K., M. DALAMAGA, E. KASSI et al. Serum levels of ischemia modified albumin in overweight/obese postmenopausal women: A potential biomarker of atherosclerotic burden associated with oxidative stress. *Maturitas* [online]. 2011, 70(2), 182-187 [cit. 2020-07-02]. DOI: 10.1016/j.maturitas.2011.07.009. ISSN 03785122. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S037851221100243X>
- (63) YIGITBASI, T., Y. BASKIN, E. AKGOL et al. Association of ischemia-modified albumin with oxidative stress status and insulin resistance in obese patients. *Revista Romana de Medicina de Laborator* [online]. 2017, 25(3), 255-263 [cit. 2020-07-03]. DOI: 10.1515/rrlm-2017-0020. ISSN 2284-5623. Dostupné z: <http://content.sciendo.com/view/journals/rrlm/25/3/article-p255.xml>
- (64) DUARTE, M., J. ROCHA, R. MORESCO et al. Association between ischemia-modified albumin, lipids and inflammation biomarkers in patients with hypercholesterolemia. *Clinical Biochemistry* [online]. 2009, 42(7-8), 666-671 [cit. 2020-06-28]. DOI: 10.1016/j.clinbiochem.2009.01.010. ISSN 00099120. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0009912009000368>
- (65) MUHTAROĞLU, S., D. B. KETİ and K. ÜNLÜHİZARCI. Investigation of ischemia-modified albumin levels and some atherosclerosis-related serum parameters in patients with diabetic foot. *TURKISH JOURNAL OF MEDICAL SCIENCES* [online]. 2016, 46, 126-132 [cit. 2020-07-02]. DOI: 10.3906/sag-1406-38. ISSN 13000144. Dostupné z: <http://online.journals.tubitak.gov.tr/openDoiPdf.htm?mKodu=sag-1406-38>
- (66) BALAMIR, I., I. ATEŞ, C. TOPCUOĞLU and T. TURHAN. Association of endocan, ischemia-modified albumin, and hsCRP levels with endothelial dysfunction in type 2 diabetes mellitus. *Angiology* [online]. 2017, 69(7), 609-616 [cit. 2020-06-28]. DOI: 10.1177/0003319717740781. ISSN 0003-3197. Dostupné z: <http://journals.sagepub.com/doi/10.1177/0003319717740781>
- (67) AKBOGA, M., S. OKUTUCU, C. SABANOĞLU et al. Are endocan and ischemia-modified albumin reliable biomarkers for endothelial dysfunction in type 2 diabetes mellitus?. *Angiology* [online]. 2020, 71(5), 479-480 [cit. 2020-06-28]. DOI: 10.1177/0003319718780610. ISSN 0003-3197. Dostupné z: <http://journals.sagepub.com/doi/10.1177/0003319718780610>
- (68) SUNNETCIOĞLU, A., S. ASKER, H. H. ALP and H. GUNBATAR. Increased asymmetric dimethylarginine and ischemia-modified albumin levels in obstructive sleep apnea. *Respiratory Care* [online]. 2016, 61(8), 1038-1043 [cit. 2020-07-02]. DOI:

10.4187/respcare.04472. ISSN 0020-1324. Dostupné z:
<http://rc.rcjournal.com/cgi/doi/10.4187/respcare.04472>

- (69) BERMEJO-MARTIN, J., M. MARTÍN-FERNANDEZ, C. LÓPEZ-MESTANZA et al. Shared features of endothelial dysfunction between sepsis and its preceding risk factors (aging and chronic disease). *Journal of Clinical Medicine* [online]. 2018, 7(11) [cit. 2020-07-02]. DOI: 10.3390/jcm7110400. ISSN 2077-0383. Dostupné z: <http://www.mdpi.com/2077-0383/7/11/400>
- (70) SAHOO, S., S. PATRA, T. PRADHAN and B. DAS. Evaluation of ischemia modified albumin in patients of sepsis. *International Journal of Biomedical and Advance Research* [online]. 2015, 6(3), 233-241 [cit. 2020-07-02]. DOI: 10.7439/ijbar.v6i3.1740. ISSN 2229-3809. Dostupné z: <http://ssjournals.com/index.php/ijbar/article/view/1740>
- (71) ZUWAŁA-JAGIEŁO, J., M. WARWAS and M. PAZGAN-SIMON. Ischemia-modified albumin (IMA) is increased in patients with chronic hepatitis C infection and related to markers of oxidative stress and inflammation. *Acta Biochimica Polonica* [online]. 2012, 59(4) [cit. 2020-07-04]. DOI: 10.18388/abp.2012_2107. ISSN 1734-154X. Dostupné z: <https://ojs.ptbioch.edu.pl/index.php/abp/article/view/2107>