

Bilirubin je endogeni antioksidant v endoteliju žilne stene



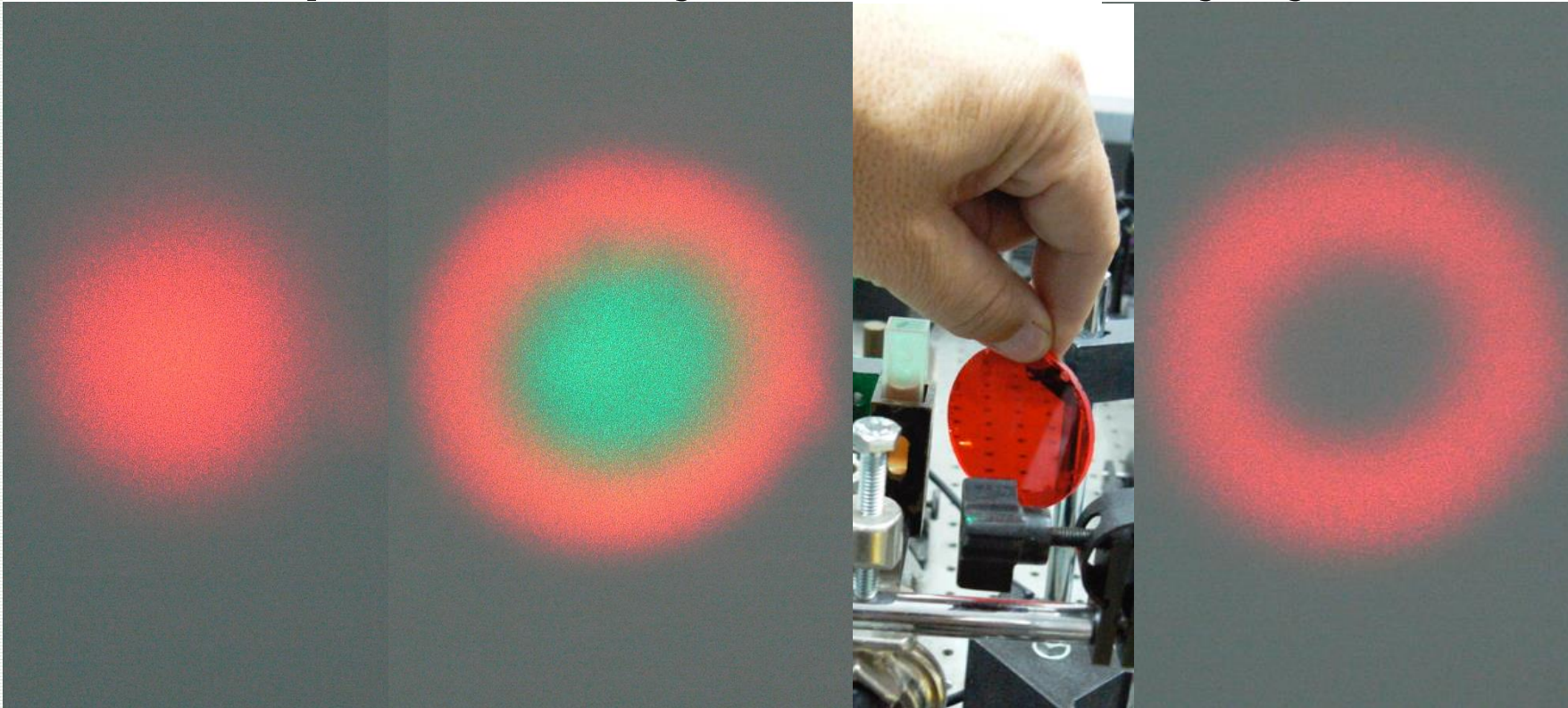
L. Žiberna¹, M. Martelanc², M. Franko², S. Passamonti³

¹Univerza v Ljubljani, Medicinska fakulteta

²Univerza v Novi Gorici, Laboratorij za vede o okolju in življenju

³Univerza v Trstu

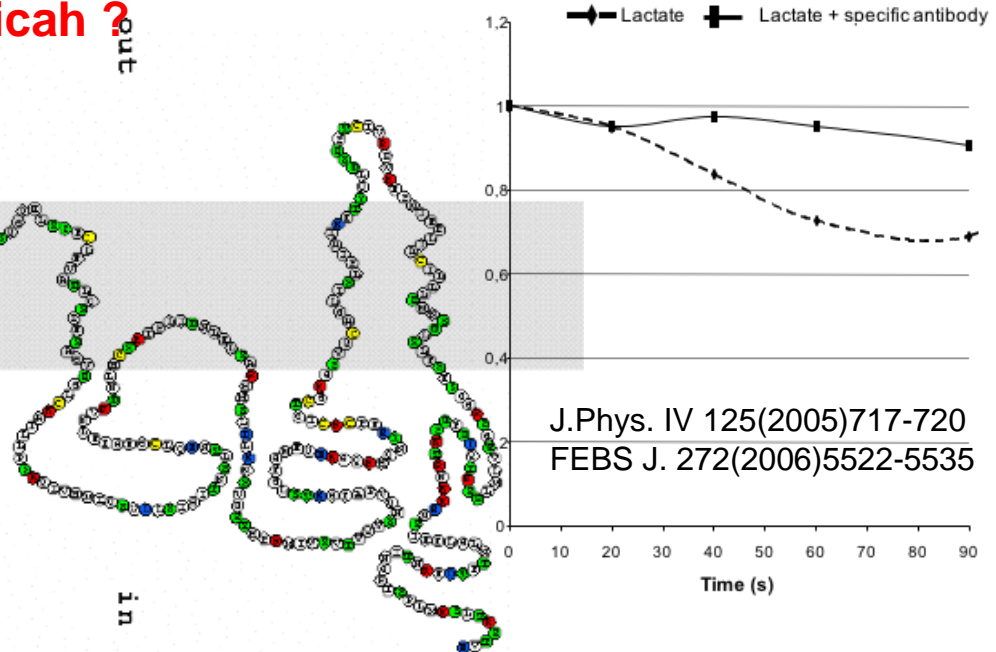
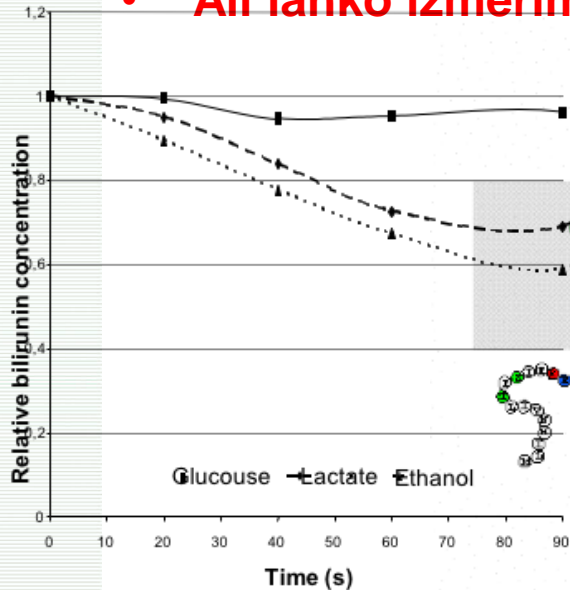
S TLS je občutljivost 100-1000 krat višja, kot pri transmisijskem načinu merjenja



Razpršitev tipalnega laserskega snopa zaradi nastanka toplotne leče

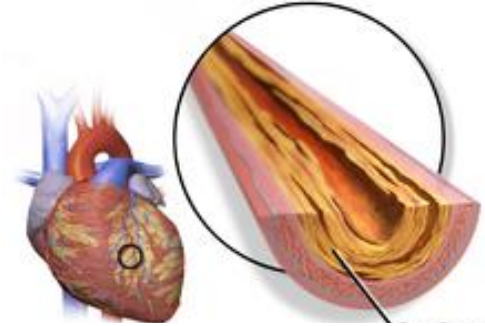
Kaj smo pred tem dognali o prostem bilirubinu?

- S TLS ga lahko določujemo tudi v koncentracijah 100 pM
- Aktiven in hiter transport prostega BR preko celične membrane omogoča membranski protein bilitranslokaza (inhibira jo nikotinska k.)
- V krvni plazmi smo izmerili konc. BR 8-13 nM
- **Ali lahko izmerimo BR v celicah ?**

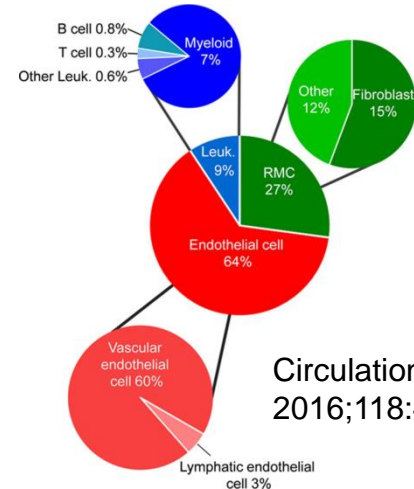


Zakaj bilirubin v endotelijskih celicah žilne stene?

- Bolezni ožilja in srca so vodilni vzrok smrtnosti v svetu (> 30% vseh smrti)
- Koronarna srčna bolezen je vzrok za 80% vseh smrti zaradi srčno-žilnih zapletov
- Med glavnimi vzroki so vnetja in oksidativni stres endotelijskih celic
- Če izvzamemo miokardij (mišične celice) sestavljajo preostali del srca v 64% endotelijske celice

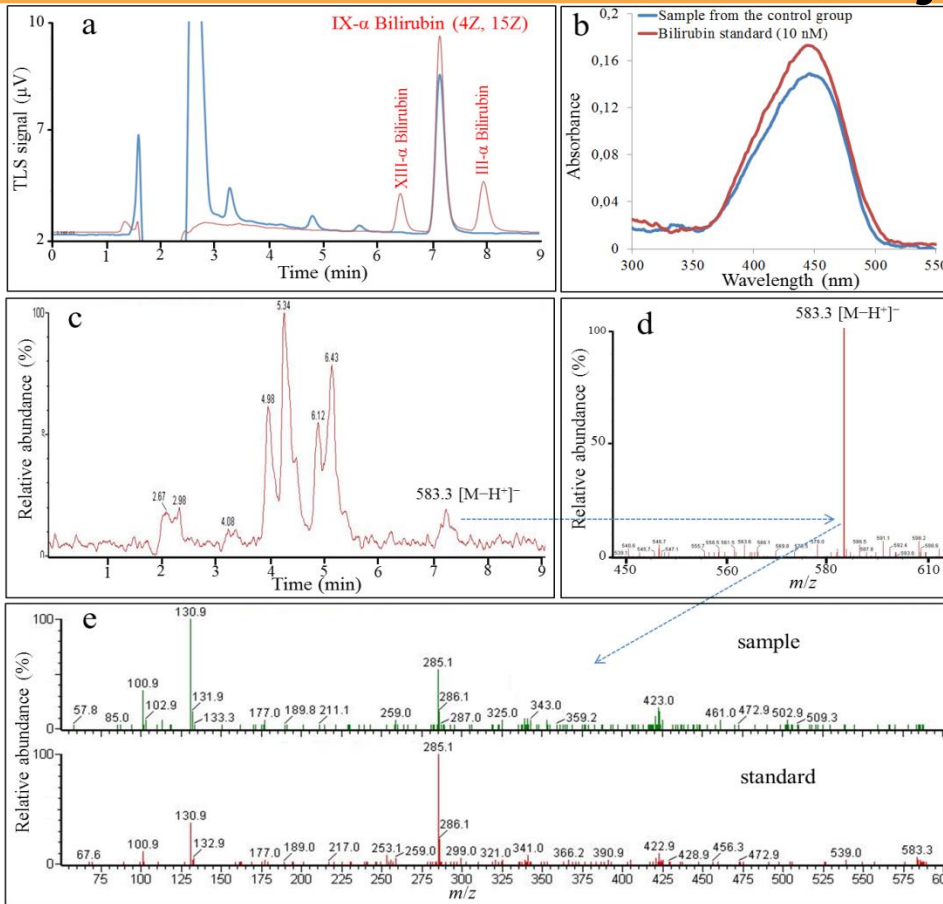


https://sl.wikipedia.org/wiki/Koronarna_arterijska_bolezen

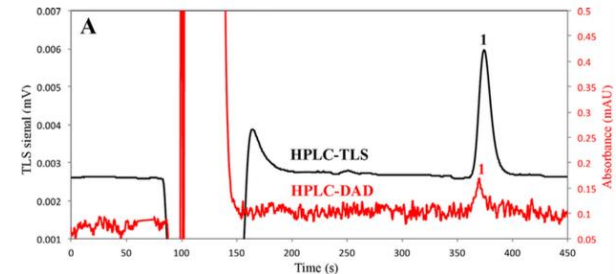


Circulation Research.
2016;118:400-409

Kako smo dokazali prisotnost bilirubina v endotelijskih celicah?



S kombinacijo HPLC-TLS



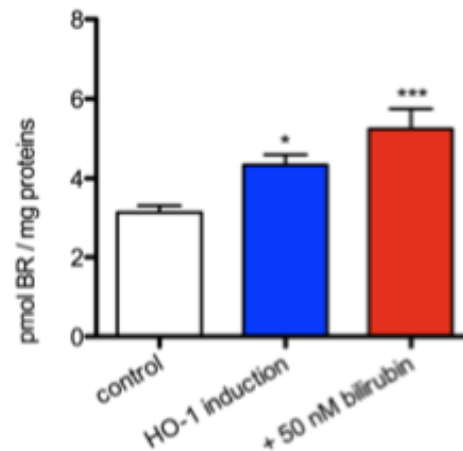
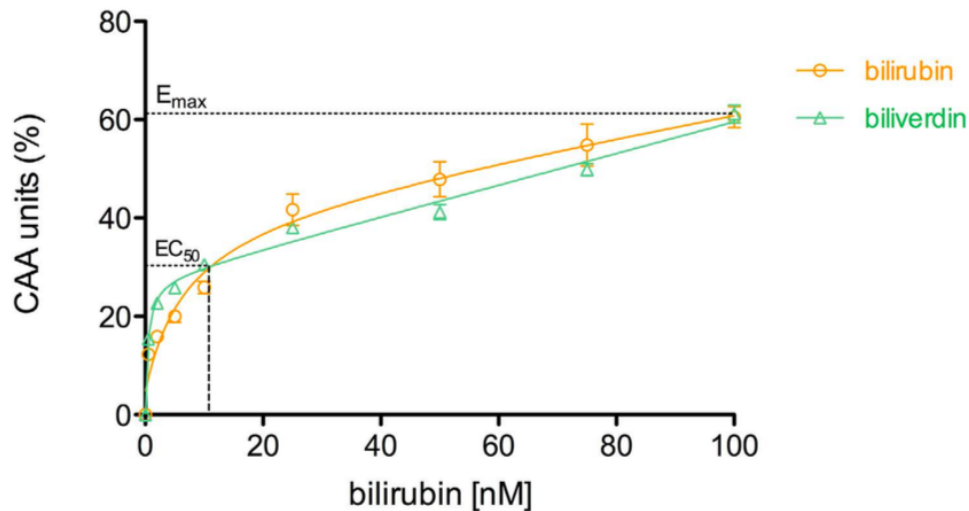
Anal. Chim. Acta 809 (2014) 174–18

- UV-Vis je potrdila identičnost spektrov bilirubina v vzorcih in standarda
- MS spektrometrija pa pokazala molekularni ion z molsko maso bilirubina in fragmentacijo enako kot pri standardu

Scientific Reports 2016,6:29240,
DOI:10.1038/srep29240



Koncentracija BR, možnost regulacije BR, in antioksidativna sposobnost endotelijskih celic



V endoteliju izoliranem iz podganje aorte oz. ven smo določili $1,53 \pm 0,57$ oz. $0,93 \pm 0,14$ pmol BR/mg proteinov

LOQ za HPLC-TLS = 0,12 pmol/mg proteinov

Zaključki

- Dokazana prisotnost BR v endotelijskih celicah, njegovega endogenega nastanka ter možnost regulacije antioksidativne sposobnosti endotelija že z majhnimi spremembami koncentracije BR (močan antioksidant, deluje protivnetno), odpirajo možnosti novim farmakološkim pristopom za zdravljenje žilnih bolezni.

SCIENTIFIC REPORTS



2016, 6:29240

OPEN

**Bilirubin is an Endogenous
Antioxidant in Human Vascular
Endothelial Cells**

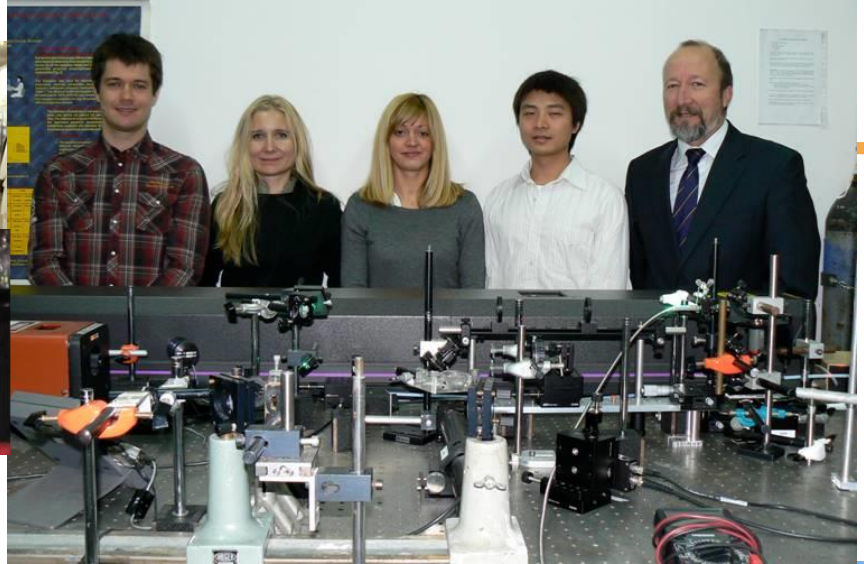
Received: 29 December 2015

Lovro Ziberna^{1,2}, Mitja Martelanc³, Mladen Franko³ & Sabina Passamonti¹



Zahvala

- Lovro Žiberna
- Mitja Martelanc
- Sabina Passamonti
- Chieu D. Tran
- Dane Bicanic



- Funding: ARRS, Trans2Care

