



LABORATÓRNA DIAGNOSTIKA

Slovak Society of Clinical Biochemistry
Časopis pre pracovníkov diagnostických laboratórií

Číslo 1-2/2010

Ročník XV.

IX. KONGRES
SLOVENSKEJ SPOLOČNOSTI KLINICKEJ BIOCHÉMIE
S MEDZINÁRODNOU ÚČASŤOU

KOŠICE, 12. - 14. MÁJA 2010

SÚHRNY
A IN EXTENSO ČLÁNKY



UniCel *i*class

- UniCel *i*class PREDSTAVUJE KOMPLETNÚ RADU INTEGROVANÝCH SYSTÉMOV BECKMAN COULTER
- ŠTYRI KOMBINÁCIE INTEGROVANÝCH SYSTÉMOV UniCel. Dx C880i, Dx C860i, Dx C680i a Dx C660i PONUKAJÚ MOŽNOSŤ VOĽBY OPTIMÁLNEHO RIEŠENIA PRE VAŠE LABORÁORIUM
- UniCel CLOSED TUBE ALIQUOTER UMOŽŇUJE UNIKÁTNE PREPOJENIE BIOCHEMICKÉHO A IMUNOCHEMICKÉHO ANALYZÁTORA

- Jedno miesto pre vkladanie vzoriek
- Paralelné spracovanie biochemických a imunochemických analýz
- Nezávislosť biochemického a imunochemického modulu
- Prednostné spracovanie STATIM vzoriek

ClozCap TECHNOLOGIA UMOŽŇUJE SPRACOVANIE UZATVORENÝCH SKÚMAVIEK ČO PRINÁŠA

- vyššiu bezpečnosť práce s biohazard materiálom
- redukciu manuálnej činnosti (otváranie a zatváranie skúmaviek)
- lepšiu kvalitu analytického stanovenia (minimalizuje sa odparovanie séra)

PRE VIAC INFORMÁCIÍ KONTAKTUJTE PRODUKTOVÝCH ŠPECIALISTOV :

Ing. Lukáš Palivec, tel. +420 603 538 361, e-mail: lpalivec@beckman.com

Ing. Miroslav Bischof, tel. +420 605 200 149, e-mail: mbischof@beckman.com



www.beckmancoulter.com/iclass

cobas[®]

Life needs answers



cobas[®] 4000

Sloboda pre realizáciu Vášho laboratórneho potenciálu



ROCHE Slovensko, s.r.o.
Diagnostics Division
Lazaretská 12
811 08 Bratislava 1
www.roche.sk

Ako zabezpečiť bezproblémovú prevádzku laboratória?



Ak ide o rýchlosť a presnosť, nikto vám nedokáže poskytnúť lepšie nástroje.

Siemens Healthcare Diagnostics veľmi dobre chápe neustály tlak na zefektívňovanie pracovných postupov, rýchlejšie poskytovanie výsledkov a elimináciu chýb. Naše pokročilé testovacie systémy, IT konektivita a automatizačné riešenia vám umožnia pracovať efektívnejšie tak, aby ste lekárom mohli poskytovať informácie, ktoré nevyhnutne potrebujú pre zabezpečenie lepšej starostlivosti o pacienta. Začnite už dnes:

www.siemens.com/diagnostics-streamline

Answers for life.

SIEMENS



LABORATÓRNA DIAGNOSTIKA

Slovak Society of Clinical Biochemistry

Časopis pre pracovníkov diagnostických laboratórií

Číslo 1–2/2010

Ročník XV.

PRESEDA REDAKČNEJ RADY

Katarína Daňová

VÝKONNÝ REDAKTOR

Oliver Rácz

ODBORNÝ REDAKTOR

Ján Mocák

REDAKČNÁ RADA

Anna Stecová, bývalá predsedkyňa redakčnej rady

Ján Balla, bývalý výkonný redaktor

Pavol Blažíček, bývalý výkonný redaktor

Roman Alberty

Peter Božek

Ladislav Cebecauer

Jozef Čársky

Ivan Čižmár

Michal Farkaš

Drahoslav Gábor

Ján Lepej

Tomáš Lipšic

Vladimír Kohút

Peter Kubisz

Ivan Pecháň

Hedviga Pivovarníková

Viera Spustová

Dagmar Syrová

Katarína Šebeková

Helena Šeboková

Ivana Šidlíková

Božena Švecová

Rastislav Valko

Juraj Volmut

OBSAH

IX. KONGRES SLOVENSKEJ SPOLOČNOSTI KLINICKEJ BIOCHÉMIE S MEDZINÁRODNOU ÚČASŤOU KOŠICE, 12.-14. MÁJA 2010 - PREDNÁŠKY

MEZENCHÝMOVÉ KMEŇOVÉ BUNKY A ICH MIESTO V REGENERAČNEJ MEDICÍNE	7
<i>Rosocha J., Tóthová T., Harvanová D., Čížková D., Kitka M., Bačenkova D., Cibur P.</i>	
NANOMEDICINE – THE SCIENCE OF FUTURE	8
<i>Fodor B., Szebeni J.</i>	
AKREDITÁCIA FLEXIBILNÉHO ROZSAHU V KLINICKOM LABORATÓRIU	8
<i>Balla J., Kužmová A., Hrehorovský M., Pošefková I., Palková J., Karahutová R.</i>	
BIOCHEMICKÉ VÝŠETRENIA A ICH INTERPRETÁCIA PRI NÁDOROVÝCH OCHORENIACH	9
<i>Oravkinová I.</i>	
PROTEÍN S-100 B V MONITOROVANÍ MALÍGNEHO MELANÓMU	9
<i>Švobodová A., Havránková M., Borecká D., Polakovičová J.</i>	
VÝZNAM GENETICKÝCH VÝŠETROVACÍCH METÓD V ONKOLÓGII	9
<i>Nováková P., Ilenčíková D.</i>	
VÝŠETROVANIE SOLUBILNÉHO HER2 ECD (CIRKULUJÚCA EXTRACELULÁRNA DOMÉNA HER2/NEU ONKOPROTEÍNU) V SÉRE PACIENTIEK S KARCINÓMOM PRSNÍKA.....	10
<i>Sanislo L., Belohorská B., Rácová K., Veličová D.</i>	
CHRONICKÉ HEPATITÍDY PRI METABOLICKÝCH CHOROBÁCH PEČENE	11
<i>Szántová M.</i>	
MOŽNOSTI VČASNEJ LABORATÓRNEJ DIAGNOSTIKY DEDIČNÝCH METABOLICKÝCH PORÚCH S PORUCHAMI GIT	11
<i>Ůrge O., Knapková M., Štrnová J.</i>	
WILSONOVA CHOROBA.....	12
<i>Gábor D., Dobiasová I., Gáborová E.</i>	
SÉROVÉ MARKERY V DIAGNOSTIKE IDIOPAGTICKÝCH ČREVŇÝCH ZÁPALOVÝCH OCHORENÍ (IBD)	13
<i>Baláž J., Květenský J.</i>	
FEKÁLNÝ KALPROTEKTÍN - NOVÝ NEINVAZÍVNY MARKER ZÁPÁLU GASTROINTESTINÁLNEHO TRAKTU.....	13
<i>Žitňanová I., Paduchová Z., Bucová M., Muchová J., Čierna I., Szekyová D., Kovács L., Ďuračková Z.</i>	
VÝZNAM VITAMÍNŮ V ORGANIZMU A MOŽNOSTI STANOVENÍ	15
<i>Hlúbik P., Hlúbik J., Skřítecká H.</i>	
VÝZNAM STANOVENIA OXIDAČNÉHO STRESU A ANTIOXIDAČNÉHO STATUSU V KLINICKEJ PRAXI	16
<i>Blážíček P., Kudláčková M., Koška J., Valachovičová M.</i>	
NOVÉ MOŽNOSTI VYUŽITÍ SPOJENÍ ELEKTROCHEMIE, CHROMATOGRÁFIE A HMOTNOSTNÍ SPEKTROMETRIE PRO HODNOCENÍ NUTRACEUTIK.....	18
<i>Horna A., Doležal K.</i>	
VÝZNAM VÝŠETRENIA A MONITOROVANIA VITAMÍNU D	18
<i>Špustová V., Štefíková K., Krivošíková Z.</i>	

OMEGA-3 MASTNÉ KYSELINY - OD VÝŽIVOVÉHO DOPLNKU KU FARMAKU PODLOŽENÉMU MEDICÍNOU DŮKAZOV	19
<i>Pella D.</i>	
KLINICKÝ VÝZNAM HOMOCYSTEÍNU A JEHO MODULÁTOROV	20
<i>Lietava J., Husárová V., Čaprnda M., Beharková E., Blážíček P., Varga I.</i>	
NUTRIČNÝ STAV U HOSPITALIZOVANÝCH CHORÝCH.....	20
<i>Paľko M., Ilková J., Firmant J.</i>	
MIESTO VÝŽIVY V PREVENČII SRDCOVOCIEVNYCH CHORŮB	21
<i>Bada V.</i>	
BIOCHEMICKÝ PROFIL ZDRAVÝCH DOJČIAT KŮRMENÝCH MATERSKÝM MLIEKOM ALEBO FORMULAMI	21
<i>Klenovicsová K., Boor P., Šebeková K.</i>	
CHANGING TIMES: DEVELOPMENT OF PROTEIN TESTING.....	23
<i>Holmes P. T., Kelly F. M., McAleer D., McConnell R. I. FitzGerald S. P.</i>	
VÝŠETŘENÍ INDIKÁTOROVÝCH BÍLKOVIN V MOČI - 5 LET ZKUŠENOSTÍ	24
<i>Granátová J., Hornová L., Fantová L., Bolková M.</i>	
DŮKAZ OLIGOKLONALITY IMUNOGLOBULÍNOV V MOZGOMIECHOVOM MOKU	24
<i>Bertová D.</i>	
FUNKČNÉ VÝŠETRENIE OBLIČIEK A KLINICKÁ BIOCHÉMIA.....	26
<i>Mydlík M., Derzsiová K.</i>	
HODNOTENIE FUNKCIE OBLIČIEK POMOCOU RÁDIONUKLIDOV A POROVNANIE S BIOCHEMICKÝMI METÓDAMI.....	26
<i>Lepej J., Lepejová K., Tóthová V., Mocnejová I.</i>	
NEW TRENDS IN THE DIAGNOSING OF ALBUMINURIA AND PROTEINURIA	27
<i>Fodor B.</i>	
METÓDY NA MERANIE A ODHADU GLOMERULÁRNEJ FILTRÁCIE - KAM VEDIE CESTA VON Z BAŽINY „JAFFÉHO CHROMOGÉNU A COKROFTA A GAULTA“	28
<i>Rácová K., Lepej J., Derzsiová K., Lepejová K., Mocnejová I., Fedorová E., Cimboláková I.</i>	
ÚLOHA VITAMÍNU D PRI PORUCHÁCH MINERÁLOVÉHO A KOSTNÉHO METABOLIZMU U PACIENTOV S CHRONICKÝM OCHORENÍM OBLIČIEK	28
<i>Špustová V., Okša A., Štefíková K., Krivošíková Z.</i>	
MIKROALBUMINÚRIA, MARKER RIZIKA DIABETICKE NEFROPATIE.....	29
<i>Mathéová E., Fedorová E.</i>	
STANOVENIE VOĽNÝCH LAHKÝCH REŤAZCOV V SÉRE U NEFROLOGICKÝCH PACIENTOV	30
<i>Ďurovcová E., Paľfiová A., Bertová D., Guzy J.</i>	
PREANALYTICKÉ CHYBY Z POHLADU ODDELENIA KLINIC- KEJ FARMAKOLÓGIE VO FNLP KOŠICE	31
<i>Fargašová J., Kašatová A., Kossuthová H., Klobošniková Z.</i>	
POSTANALYTICKÁ FÁZA - AKÉ NÁSTROJE MÁME K DISPOZÍČII A AKO ICH VYUŽÍVAME?	31
<i>Sečník P., Sečníková A.</i>	

ZABEZPEČENIE PREDANALYTICKEJ A POSTANALYTICKEJ FÁZY VO VEĽKOM LABORATÓRIU	32
<i>Stecová A., Belicová Z., Schenková K., Vlniešková K., Búran J.</i>	

**IX. KONGRES SLOVENSKEJ SPOLOČNOSTI KLINICKEJ
BIOCHÉMIE S MEDZINÁRODNOU ÚČASŤOU KOŠICE,
12.-14. MÁJA 2010 - POSTERY**

SLEDOVANIE INDIKÁTORA (ČI INDIKÁTOROV?) U METABOLICKÉHO SYNDRÓMU U PACIENTOV V INTERNEJ AMBULANCI	35
<i>Balcová D.</i>	

DETEKCIA VASKULÁRNYCH MARKEROV V PERIFÉRNEJ KRVI PACIENTOK, S RÔZNYMI DRUHMI GYNEKOLOGICKÝCH MALIGNÍŤ NA ÚROVNI GÉNOVEJ EXPRESIE	35
<i>Bilecová-Rabajdová M., Urban P., Ostrá A., Mareková M.</i>	

URISED - PRÍNOS K VYŠETRENÍU MOČOVÉHO SEDIMENTU	36
<i>Drozda D.</i>	

TYPIZÁCIA PROTEINÚRIE - POROVNANIE TROCH METÓD	36
<i>Đurovcová E., Toperczerová M., Bertová D., Vašková M., Guzy J.</i>	

HODNOTENIE MARKEROV ZÁPALOVÉHO PROCESU U ONKOLOGICKÝCH PACIENTOV PROSTREDNÍCTVOM VIACROZMERNEJ ANALÝZY DÁT	37
<i>Fraňo L., Netriová J.</i>	

VYUŽITIE FLUORESCENČNEJ ANALÝZY PRI DETEKCIÍ CELIAKIE	37
<i>Gajová A., Feťková A., Mareková M.</i>	

ANALYTICKÁ PRESNOŠŤ NEPRIAMÝCH METÓD STANOVENIA LDL-C. PRVÉ VÝSLEDKY MEDZINÁRODNEJ MULTICENTRICKEJ PROSPEKTÍVNEJ ŠTÚDIE	38
<i>Gaško R., Šimková O., Frigová V., Mocnejová I., Krotká J., Horská M., Uhrinová L., Gašková Z., Piskayová R., členovia skupiny IMLSG</i>	

PRESNOŠŤ FRIEDELWALDOVEJ ROVNICE NA VÝPOČET LDL-CHOLESTEROLU JE PRIAMO ZÁVISLÁ OD CELKOVÉHO CHOLESTEROLU	38
<i>Gaško R., de Cordova C.M.J., Geletková S.</i>	

SÚ CIRKULUJÚCE MIKROPARTIKULY MARKEROM ALEBO RIZIKOVÝM FAKTOROM ISCHEMICKÝCH PRÍHOD?	39
<i>Kollár J.</i>	

RECEPTORY AKTIVOVANÉ PROLIFERÁTORMI PEROXIZÓMOV - ICH ROLA V REGULÁCIÍ METABOLIZMU LIPIDOV	39
<i>Kollár J.</i>	

VÝZNAM INTRAOPERAČNÉHO STANOVENIA PARATHORMÓNU V CHIRURGII PRIŠŤÍTNÝCH TELIESOK	40
<i>Kollárová E., Janoková E.</i>	

JE CYSTATIN C VHODNÝM MARKEROM NA MONITOROVANIE FUNKCIE OBLIČIEK U TRANSPLANTOVANÝCH PACIENTOV?	40
<i>Kováčová A., Puškášová F., Rosenberger J., Grejtovská B.</i>	

BIELKOVINY METABOLIZMU ŽELEZA V DIAGNOSTIKE ANÉMII	41
<i>Netriová J., Balíková A., Božek P.</i>	

DÔKAZ LIKVOREY POMOCOU STANOVENIA KONCENTRÁCIE BETA TRACE PROTEÍNU	41
<i>Ondrkalová M., Kalnovičová T., Turčáni P.</i>	

HODNOTY VYBRANÝCH STRESOVÝCH MARKEROV V KRVNOM SÉRE ODSTAVČIAT PO APLIKÁCIÍ ŠALVIOVEJ SILICE	42
<i>Poráčová J., Maity S., Vargová T., Blaščáková M., Sedlák V.</i>	

DESIGNER DRUGS A SPICE - NOVÝ FENOMÉN?	42
<i>Schmidtová K.</i>	

ORGANICKÉ ACIDÚRIE NA SLOVENSKU	43
<i>Škodová J., Vasilenková A., Behúlová D., Holešová D., Perečková J., Šalingová A., Ostrožlíková M., Šebová C., Hlavatá A., Fabriciova K., Bzdúch V., Kolníková M., Šaligová J., Potočnáková L., Hálová K., Gregová E., Chandoga J.</i>	

ANALÝZA EXPRESIE GÉNOV ZAPOJENÝCH DO AKTIVÁCIE ALTERNATÍVNEJ CESTY APOPTÓZY PO ISCHÉMICKO-REPERFÚZNM POŠKODENÍ SLIZNICE TENKÉHO ČREVA	43
<i>Urban P., Bilecová-Rabajdová M., Veselá J., Mareková M.</i>	

DÔKAZ OLIGOKLONÁLNYCH PROTILÁTKO METÓDOU IZOFOKUSÁCIE	44
<i>Vindiš J., Gallová Z., Strigáčová J., Bartková J.</i>	

HODNOTENIE GLOMERULÁRNEJ FILTRÁCIE NA ZÁKLADE VÝPOČTOV ZO SÉROVEJ KONCENTRÁCIE CYSTATINU C A KREATINÍNU	44
<i>Mocnejová I., Popík V., Fedorová E., Rácz O., Lepej J., Lepejová K.</i>	

IL-6 V DIAGNOSTIKE ZÁPALOVÝCH REAKCIÍ - PRVÉ SKÚSENOSTI	45
<i>Netriová J., Zeliská H., Božek P.</i>	

IN EXTENZO - ČLÁNKY

HLADINY MALONDIALDEHYDU VO VZORKÁCH PLODOVEJ VODY ODOBŤATEJ V RÁMCI PRENATÁLNEJ DIAGNOSTIKY VÝVOJOVÝCH CHÝB PLODU	49
<i>Kuračka L., Kalnovičová T., Turčáni P.</i>	

UKAZOVATELE KOSTNÉHO METABOLIZMU U SLOVENSÝCH PREMENOPAUZÁLNYCH ŽIEN	55
<i>Stecová A., Dobáková, E., Payer J., Killinger Z., Kmečová, Z., Masaryk, P., Spustová, V., Tomková, S., Vaňuga, P., Kilián P.</i>	

ANALÝZA DEGRADAČNÝCH PRODUKTOV PURÍNOVÝCH NUKLEOTIDOV V PLODOVEJ VODE	59
<i>Kalnovičová T., Kuračka L., Turčáni P.</i>	

RÔZNE

JUBILEUM ING. KATARÍNY DERZSIOVEJ	67
<i>Mydlík M., Spustová V.</i>	

MUDR. JOZEF STAVNÝ, 1941-2009	70
-------------------------------------	----

**IX. KONGRES
SLOVENSKEJ SPOLOČNOSTI
KLINICKEJ BIOCHÉMIE
S MEDZINÁRODNOU ÚČASŤOU**

KOŠICE, 12.–14. MÁJA 2010

PREDNÁŠKY

MEZENCHÝMOVÉ KMEŇOVÉ BUNKY A ICH MIESTO V REGENERAČNEJ MEDICÍNE

Rosocha J.¹, Tóthová T.¹, Harvanová D.¹
Čížková D.², Kitka M.³, Bačenkova D.¹, Cibur P.³

¹Združená tkanivová banka Lekárskej fakulty UPJŠ Košice
a Fakultnej nemocnice L. Pasteura Košice;

²Neurobiologický ústav SAV, Košice

³Klinika úrazovej chirurgie Lekárskej fakulty UPJŠ Košice
a Fakultnej nemocnice L. Pasteura Košice

Populácia mezenchýmových kmeňových buniek (MKB) z kostnej drene predstavuje významnú, ľahko získateľnú a dobre charakterizovanú populáciu buniek so schopnosťou regenerácie tkanív mezodermálneho pôvodu. Ľudské MKB (hMKB) majú preukázané imunomodulačné a imunosupresívne vlastnosti, exprimujú malé množstvá molekúl hlavného histokompatibilného systému prvej triedy (MHC I) a takmer žiadne množstvá MHC II triedy alebo kostimulačných molekúl. Izolácia a kultivácia buniek kostnej drene schopných tvorby ektopickej kosti bola po prvýkrát popísaná Friedenstei- nom v roku 1970 (1). Po opakovaných štúdiách bol tento fenomén zhodnotený tvrdením, že kostná dreň je zdrojom MKB. MKB dávajú základ tkanivovým líniam schopným tvoriť kosť, chrupku, tukové a iné - pôvodom mezenchýmové tkanivá (2), ktoré sú schopné diferencovať sa aj na svalové, neurónové prekursor (3) a kardiomyocyty (4). Na základe popísaných objavov o MKB sa pre medicínu otvorili obrovské terapeutické možnosti. MKB si dnes postupne nachádzajú svoje uplatnenie aj v takých prípadoch, ako je liečba geneticky podmienených a degeneračných ochorení. Tieto bunky sa vyznačujú aj schopnosťou významnou mierou modifikovať iné bunkové populácie v ľudskom tele - napríklad endogénne kmeňové bunky, resp. majú schopnosť pod vplyvom lokálnych faktorov diferencovať sa na funkčné bunky špecifické pre dané tkanivo.

V literatúre boli popísané mnohé terapeutické aplikácie hMKB aj vo veľmi komplikovaných prípadoch, napríklad pri regenerácii ischemického myokardu, pri liečbe pľúcnej fibrózy, poškodenej miechy, kosti a chrupky (5). V ortopedii dnes existuje viacero príkladov použitia autológnych hMKB pri reparácii kostných defektov, spinálnej fúzii, pri regenerácii po kraniotómii (6, 7). Okrem priameho tkanivovo regeneračného potenciálu bola preukázaná aj

výrazná podporná funkcia mezenchýmových kmeňových buniek pre expanziu krvotvorných a embryonálnych kmeňových buniek *in vitro*. Jedným z kľúčových objavov v bunkovej terapii mezenchýmovou kmeňovou bunkou bolo zistenie, že tieto bunky sú schopné migrovať do poškodených tkanív a podporovať ich regeneráciu a prispieť ku zníženiu tvorby jazvy (8). Súčasné štúdie regeneračného potenciálu prostredníctvom produkčnej schopnosti alogénnych MKB pri terapii genetických chorôb (osteogenesis imperfecta) a liečby GVHD (reakcia štepu voči hostiteľovi) na princípe imunosupresívneho pôsobenia MKB na lymfocyty dokazujú ich ohromný terapeutický efekt a poukazujú zároveň na extrémnu potrebu štúdia autológneho a alogénneho potenciálu hMKB v predklinických a klinických štúdiách. Redukcia GVHD, podpora prihojenia orgánového štepu formou supresie efektorových T buniek a NK buniek a schopnosť hMKB navodiť protizápalový alebo tolerantný fenotyp je pre medicínsku prax obrovskou výzvou.

Dôkaz schopnosti organizmu vlastnej regenerácie poškodených tkanív s podporou *ex vivo* technológií má pre budúcnosť medicíny mimoriadne veľký význam. Bunková terapia reprezentuje novú metódu vo svete modernej regeneračnej medicíny a hlavne použitie bezpečných a eticky nekonfliktných dospelých kmeňových buniek môže byť dôležitou súčasťou terapie mnohých závažných ochorení.

LITERATÚRA

- Friedenstein, A. J. P.-S. I., Petrakova, K. V., 1966: *The Journal of Embryological Experimental Morphology*, 16, 381–390.
- Caplan, A. I., 1991: *J. Orthop. Res.*, 9, 641–650.
- Wilmot, I., Schnieke, A. E., McWhir, J., Kind, A. J., 1997: *Nature*, 385, 810–813.
- Wang, L., Li, Y., Chen, X., Chen, J., Gautam, S. C., 2002: *Hematology*, 7, 113–117.
- Krebsbach, P. H., Mankani, M. H., Satomura, K., Kuznetsov, S. A., Robey, P. G., 1998: *Transplantation*, 66, 1272–1278.
- Muschler, G. F., Nitto, H., Matsukura, Y., Boehm, C., Valdevit, A., Kambic, H., Davros, W., Powell, K., Easley, K., 2003: *Clinical Orthopaedics*, 102–118.
- Rosocha, J., Bačenkova, D., Hrbková, H., Vaško, G., Švihla, R., Jenča, A., 2002: *Research methodology in orthopedics and reconstructive surgery*, Editor A. Nather, World Scientific, 2002, ISBN 981-02-4775-3.
- Mackenzie, T. C., Flake, A. W., 2001: *Blood Cells Mol. Dis.*, 27, 1–4.

NANOMEDICINE – THE SCIENCE OF FUTURE

Fodor B.¹, Szebeni J.²

¹University of Miskolc, Faculty of Health Care Studies,
Nanotechnological Research Laboratory and
Almási Pál Hospital, Central Laboratory, Ózd, Hungary

²Bay Zoltan Foundation for Applied Research,
Institute for Nanotechnology, Miskolc, Hungary

Nanomedicine is a basically new field of the medical sciences. The number of registered nanomaterials, patents and the scientific papers in nanotechnology are increasing exponentially in the last years. The chemical and physical properties of nanosize materials fundamentally differ from macroscopic characteristic features. (Paramagnetic iron oxide particles become superparamagnetic below 10nm. Quantum dot fluorescence varies with size when diameter is less than the exciting Bohr radius in conditions of 3D confinement. Nanowires have electron confinement in two dimensions. Metal nanoshells with dielectric core light absorption wavelength are inversely proportional to shell thickness due to surface plasmon resonance.) These changes enable us to apply revolutionary new diagnostic and therapeutic techniques. With achievement of nanotechnology in imaging process we can assess better and earlier the tumorigenesis and get an excellent localization possibility. For therapy, ultrasound can offer both guidance and delivery. Targeted contrast nanoagents provide pinpoint guidance to pathology by adhering to disease tissues and reflecting a strong ultrasound signature. This signature is picked up by the intelligent scanner which focuses high-energy pulses onto these sites to destroy or treat the disease tissue by either bursting drug-encapsulated bubbles or hyperthermia. The nanoencapsulation of some drugs allow us also to apply radically new therapeutic strategies. Main advantages of encapsulated drug delivery systems: localized and rate controlled delivery, improved therapeutic response, reduced adverse reactions, lower dosing frequency, utilization of otherwise un-useable compounds. In our lecture we give a short overview of the current opportunities of nanomedical applications.

AKREDITÁCIA FLEXIBILNÉHO ROZSAHU V KLINICKOM LABORATÓRIU

Balla J., Kužmová A., Hrehorovský M.
Pošefková I., Palková J., Karahutová R.

Analyticko-diagnostické laboratórium, s.r.o.
Prešov

Globalizácia zdravotníckych služieb vyžaduje, aby sa požiadavky na kvalitu služieb poskytovaných v klinických laboratóriách v SR zosúladi s požiadavkami, ktoré platia v členských krajinách EÚ. Medicínske laboratóriá, ktoré chcú poskytovať kvalitnú zdravotnú starostlivosť preukázateľným spôsobom, musia pracovať na základe uznávaných medzinárodných štandardov. Musia vypracovať, zaviesť a udržiavať taký systém manažérstva kvality, ktorý je vhodný na príslušnú oblasť použitia. Požiadavky na kvalitu musia zodpovedať typu medicínskeho laboratória, rozsahu a objemu skúšobných činností, ktoré sa v laboratóriu vykonávajú. Spôsobilosť medicínskeho laboratória vykonávať špecifikované činnosti spoľahlivo a dôveryhodne osvedčuje tretia, nezávislá strana (autorita), akreditáciou. To, že sa posudzovanie a hodnotenie všetkých činností vykonáva nezávisle a nestranne, sa považuje za hlavný faktor dôveryhodnosti a spoľahlivosti akreditácie. Akreditácia klinického laboratória sa stáva dôležitým indikátorom kvality pri uzatváraní zmlúv so zdravotnými poisťovňami. V rámci akreditácií sú laboratóriá rozdelené na laboratóriá s takzvaným fixným rozsahom, označované ako laboratóriá typu 1 a laboratóriá s flexibilným rozsahom, ktorými sú laboratóriá 2. a 3. typu. Fixný rozsah akreditácie znamená presné zadefinovanie rozsahu, na aké konkrétne činnosti je laboratórium akreditované. Mimo týchto činností sa laboratórium nemôže odkazovať na svoj akreditovaný status. Flexibilný rozsah akreditácie umožňuje laboratóriám prebrať zodpovednosť za riadenie celého rozsahu akreditácie alebo jeho časti, vrátane výkonu zmien a rozšírení o nové činnosti, v rámci povolenej a zadefinovanej flexibility. Rozsah akreditácie nie je zadefinovaný tak konkrétne, ako v prípade fixného rozsahu a môže sa po vykonaní jasne definovaných krokov a splnení náležitých požiadaviek definovaných akreditačným orgánom a laboratóriom, upraviť alebo rozšíriť bez predchádzajúceho posúdenia zo strany SNAS. Princíp flexibility u laboratórií 2. typu možno využívať v rámci skúšaných materiálov, matric, prostredí, typov meradiel, kalibrovaných typov meradiel, skúšaných parametrov, ukazovateľov, meracích rozsahov a postupov používaných na skúšanie, meranie alebo kalibráciu. IFCC vo svojom oficiálnom stanovisku deklaruje flexibilný rozsah akreditácie ako preferovanú formu akreditácie a odporúča touto formou akreditovať väčšinu vykonávaných skúšok.

BIOCHEMICKÉ VYŠETRENIA A ICH INTERPRETÁCIA PRI NÁDOROVÝCH OCHORENIACH

Garanti sekcie
MUDr. Alena Svobodová
MUDr. Irina Oravkinová

BIOCHEMICKÉ VYŠETRENIA A ICH INTERPRETÁCIA PRI NÁDOROVÝCH OCHORENIACH

Oravkinová I.

Oddelenie detskej onkológie a hematológie
Detská fakultná nemocnica Košice

Z pohľadu onkológa respektíve detského onkológa sú dôležité dve skupiny biochemických vyšetrení:

- Vyšetrenia charakterizujúce samotné nádorové ochorenie.
- Vyšetrenia signalizujúce vznik komplikácií a vedľajších účinkov protinádorovej terapie.

Do prvej skupiny patria biochemické vyšetrenia podporujúce správne stanovenie diagnózy nádorového ochorenia, sledovanie priebehu ochorenia a včasnú diagnostiku recidívy alebo relapsu nádorového ochorenia.

Do druhej skupiny radíme biochemické vyšetrenia, ktoré umožňujú včasnú rozpoznávanie infekčných komplikácií najmä u pacientov s neutropéniou a upozorňujú na vývoj vedľajších účinkov protinádorovej terapie.

Autor podrobnejšie sa venuje interpretácie biochemických vyšetrení pri nádorových ochoreniach detského veku.

PROTEÍN S-100 B V MONITOROVANÍ MALÍGNEHO MELANÓMU

**Svobodová A.¹, Havránková M.²
Borecká D.³, Polakovičová J.⁴**

¹Oddelenie klinickej biochémie,
Národný onkologický ústav, Bratislava

²Kožná ambulancia I,
Národný onkologický ústav, Bratislava

³Kožná ambulancia II
Národný onkologický ústav, Bratislava

⁴Kožná ambulancia III
Národný onkologický ústav, Bratislava

Kožný melanóm je najagresívnejšia forma kožnej rakoviny, s významne stúpajúcim výskytom v posledných rokoch. Rakovinové bunky rýchlo penetrujú do iných tkanív a zakladajú metastatické ložiská. Na odhalenie včasných metastáz sa donedávna používali málo citlivé a nešpecifické testy – LD, ALP, NSE. Už niekoľko rokov sú však k dispozícii viaceré nádorové markery zamerané na diagnostiku malígneho melanómu a monitoring ochorenia. Patria sem proteín S-100 (S-100B), melanóm inhibičná aktivita (MIA), 5-S-cysteinyl-DOPA, tyrozináza. V tejto problematike sa proteín S-100 považuje za veľmi citlivý a špecifický parameter, ktorý sme v roku 2006 v spolupráci s kožnou ambulanciou NOU stanovovali najprv experimentálne, a od roku 2008 zaviedli do rutiny. Do súčasnosti sme vyšetřili cca 1300 vzoriek a rozšíril sa aj počet kožných ambulancií na NOÚ. Proteín S-100 nie je vhodný na včasnú detekciu a diagnostiku melanómov, slúži predovšetkým na odhalenie včasných metastáz v II. –III. štádiu ochorenia, dobre monitoruje liečbu a tiež slúži ako prognostický ukazovateľ. Vychádzajúc z poznania, že zvýšené sérové hodnoty sú špecifické pre malígnu melanóm za podmienok, že sa nejedná o pacienta s poškodením mozgových buniek, predostrieme naše skúsenosti s analytikou a návaznosťou na klinické štádium ochorenia.

VÝZNAM GENETICKÝCH VYŠETROVACÍCH METÓD V ONKOLÓGII

Nováková P., Ilenčíková D.

Oddelenie genetiky
Národný onkologický ústav, Bratislava

Nádorové ochorenie, či už sporadické alebo hereditárne, je genetické ochorenie, ktoré sa vyvíja prostredníctvom viacerých genetických zmien. Zistilo sa, že špecifické genetické defekty sú nenáhodne asociované s predispozíciou, genézou, progresiou a metastázami u rôznych druhov neoplázií. Genetika dnes viac ako

inokedy zaujíma významné miesto v onkológii. Využitie nových technológií v oblasti molekulárnej biológie slúži v onkológii v prvom rade na rozpoznanie genetických mechanizmov vedúcich k lepšiemu pochopeniu karcinogenézy. Počas posledných 20 rokov prešla nádorová genetika obrovským rozvojom diagnostických metód. Od kultivačných metód a klasických cytogenetických sa diagnostické metódy obohatili metódami fluorescenčnej in situ hybridizácie (FISH), viacfarebnej FISH, komparatívnej genómovej hybridizácie ako aj sofistikovanými molekulárnymi metódami ako sú napríklad real time polymerázová reťazová reakcia a automatická sekvenčná analýza na dôkaz somatických a zárodočných mutácií. Kým biochémia stanovuje a sleduje nádorové markery už pri zistenom nádorovom ochorení, čím umožňuje výborný monitoring ochorenia, tak cieľom genetiky v onkológii je využívať vyšetrovacie metódy na čo najlepšiu charakteristiku nádorového klonu a takto prispieva k upresneniu diagnózy. Určením genetických zmien v nádorovom tkanive je možné taktiež prispieť k vyjadreniu sa k prognóze, monitorovaniu odpovede na liečbu, sledovaniu minimálnej reziduálnej choroby a sledovaniu postransplantačného priebehu u nádorových ochorení. Genetika taktiež otvára možnosť presymptomatickej diagnostiky, ktorá je dnes neoddeliteľnou súčasťou prevencie nádorových ochorení v rizikových rodinách.

VYŠETROVANIE SOLUBILNÉHO HER2 ECD (CIRKULUJÚCA EXTRACELULÁRNA DOMÉNA HER2/NEU ONKOPROTEÍNU) V SÉRE PACIENTIEK S KARCINÓMOM PRSNÍKA

Sanislo E.¹, Belohorská B.²
Rácová K.³, Veličová D.³

¹Oddelenie klinickej imunológie a alergológie
Onkologický Ústav sv. Alžbety, Bratislava

²Interná klinika, Onkologický Ústav sv. Alžbety, Bratislava

³Oddelenie klinickej biochémie
Onkologický Ústav sv. Alžbety, Bratislava

Zvýšené sérové hladiny HER2 ECD sa vyskytujú približne v 0%-38% u pacientok s primárnym karcinómom prsníka a 23%-80% pacientok s metastatickým karcinómom prsníka. HER2 pozitívita nádorového tkaniva IHC/FISH je približne 25-30% z celkového

počtu nádorov prsníka. Stanovovaním sérovej hladiny HER2 ECD môžeme získať potencionálny nezávislý prognostický a prediktívny marker u primárneho a metastatického nádoru prsníka. Rovnako ako pri amplifikácii a overexpresii HER2 sa pozitívita HER2 ECD spája s horšou prognózou ochorenia. Kombinácia vyšetrovania HER2 ECD a konvenčne využívaných markerov CEA a CA 15-3, prináša celkové zvýšenie senzitivity hlavne na skorú detekciu relapsu ochorenia až 76%. Zvýšená sérová hladina CA 15-3 v kombinácii so zvýšenou sérovou hladinou HER2 ECD je spojená s horšou prognózou ako samostatne zvýšená sérová hladina CA 15-3. Klinické štúdie ukázali, že približne 25% pacientiek s prvoliniovou hormonálnou terapiou môžu zmeniť svoj status z HER2/neu negativity na HER2/neu pozitívitu. Stanovenie sérovej hladiny HER2 ECD u tejto skupiny je nezávislým rizikovým faktorom. Pri relapsoch nádoru prsníka sú pozorované zmeny HER2 statusu medzi primárnym nádorom a tkanivom metastáz, pravdepodobne selekciou a zmenami klonov nádorových buniek. Stanovovanie sérovej hladiny HER2 ECD vykazuje vysokú konkordanciu s referenčným štandardom IHC a FISH, so senzitivitou a špecificitou do 90%. Rozdiel vo výsledkoch vyšetrení môže naznačovať práve selekciu klonu. Každý relaps nádoru prsníka nie je niekedy možné biopsizovať a histologizovať, preto môže detekcia HER2 ECD napomáhať stanoveniu prognózy a predikcie, čím prináša pridanú hodnotu oproti konvenčným markerom. Napomáha tiež klinickým rozhodnutiam v prípade diskordantných tkanivových vzoriek. Vysoká sérová hladina HER2 ECD pri negatívnej tkanivovej expresii HER2 je spojená s vysokou pravdepodobnosťou recidívy základného ochorenia. Pri metastatickom HER2 pozitívnom karcinóme prsníka liečenom kombináciou chemoterapie a Trastuzumabom bol v prípade účinnosti liečby zistený signifikantný pokles hladín HER2 ECD oproti vstupným hodnotám. Pacienti, u ktorých došlo k progresii ochorenia počas liečby mali nesignifikantné zmeny sérovej hladiny ECD. Ukazuje sa, že opakované stanovenie HER2 ECD je výborným ukazovateľom účinnosti terapie Trastuzumabom. Elevované hladiny HER2 ECD sú prediktorom relatívnej rezistencie na hormonálnu liečbu a niektoré režimy chemoterapie. Vyšetrovanie HER2 ECD u zdravej kontrolnej populácie počas viacerých mesiacov vykazovalo konzistentné hladiny sérového HER2 ECD v medziach referenčnej normy s minimálnymi odchýlkami. Stanovovanie HER2 ECD predstavuje pravú kvantitatívnu metodiku, ktorá prináša doplňujúcu informáciu k IHC a FISH stanovovaniu HER2 v nádorovom tkanive, ktoré sú semikvantitatívnymi. Perspektívne je vhodné zväziť súčasné vyšetrovanie sérovej hladiny TIMP-1 a ECD, nakoľko TIMP-1 ovplyvňuje produkciu solubilného HER2 ECD.

BIOCHEMICKÉ VYŠETRENIA A ICH INTERPRETÁCIA PRI CHOROBÁCH TRÁVIACEHO TRAKTU

Garanti sekcie
Doc. MUDr. Mária Szántová, PhD.
MUDr. Drahošlav Gábor

CHRONICKÉ HEPATITÍDY PRI METABOLICKÝCH CHOROBÁCH PEČENE

Szántová M.

III. Interná klinika
Lekárska fakulta Univerzity Komenského, Bratislava

Metabolické choroby pečene (MCHP) predstavujú v širšom kontexte najčastejšie ochorenie v hepatologickej praxi. Z dnešného pohľadu tu totiž zaradujeme okrem tradične ponímaných zriedkavých metabolických ochorení aj nealkoholovú tukovú chorobu pečene (NAFLD) a nealkoholovú steatohepatitídu (NASH). MCHP definujeme ako chronické vrodené alebo získané ochorenia pečene, pri ktorých dochádza ku chronickému progredujúcemu poškodeniu pečene v dôsledku akumulácie metabolitov.

Podľa manifestácie ich delíme na tie, ktoré sa manifestujú v detstve a v dospelosti. Podľa príčiny ochorenia ide o poruchy metabolizmu cukrov, tukov, bielkovín, sfingolipidov, medi, železa a hému. Pojem lyzozómové choroby označuje skupinu viac ako 40 geneticky podmienených ochorení zapríčinených deficitom špecifického enzýmu s následnou akumuláciou metabolitov v organizme. Patria tu glykogenózy (M. Gierke, M. Pompe) a poruchy metabolizmu sfingolipidov: mukopolysacharidózy, M. Niemann-Pick, M. Gaucher, M. Fabry, gangliozidózy. Deficit α -1-antitrypsínu je poddiagnostikovaným dedičným ochorením s následným poškodením pečene a pľúc. Väčšina týchto ochorení je extrémne raritná a manifestuje sa najčastejšie v ranom detskom veku. Tie s manifestáciou v ranej dospelosti zostávajú zväčša klinicky nepoznané. Až 46% z nich nemá žiadne alebo len minimálne postihnutie CNS. Včasná diagnostika týchto ochorení dnes môže zachrániť život pacientom a zlepšiť jeho kvalitu vďaka enzýmovej substituúnej liečbe. Vo svete sa ujalo zakladanie národných a medzinárodných registrov a diagnostických centier extrémne raritných MCHP s cieľom zlepšenia diagnostiky.

Najčastejšie MCHP s manifestáciou v dospelosti okrem NAFLD a NASH sú Wilsonova choroba a hereditárna hemochromatóza. Porfýrie predstavujú skupinu ochorení s poruchou enzýmov v biosyntéze hému a následnou

akumuláciou metabolitov. Amyloidóza je charakterizovaná patologickým ukladaním amyloidu v rôznych tkanivách.

Pre všetky MCHP je typická multiorgánová klinická symptomatológia. V diagnostike sú kľúčovými vyšetrenie enzýmovej aktivity, genetické a histologické vyšetrenie so stanovením železa, medi príp. amyloidu v pečeni. Dôležité je myslieť na možnosť výskytu a manifestácie raritných MCHP i v dospelom veku. Skvalitnenie multiodborovej spolupráce a centralizácia postupov môže zlepšiť včasnú diagnostiku raritných MCHP.

Podporené grantom VEGA 1/0188/08.

MOŽNOSTI VČASNEJ LABORATÓRNEJ DIAGNOSTIKY DEDIČNÝCH METABOLICKÝCH PORÚCH S PORUCHAMI GIT

Ťrge O.^{1,3}

Knappková M.², Strnová J.³

¹Oddelenie biochémie Synlab.SK s.r.o., Bratislava

²Skriningové centrum novorodencov SR
Detská fakultná nemocnica Banská Bystrica

³Klinika pre deti a dorast A. Getlíka SZU
Fakultná nemocnica s poliklinikou Bratislava

Dedičné metabolické poruchy (DMP) predstavujú rôznorodú skupinu s veľmi pestrým klinickým obrazom. Ich včasné rozpoznanie na základe klinických príznakov býva často problematické. Dôležité je poznať určité prvotné príznaky. Pomerne včas sa však dá zistiť nahromadenie určitého typického metabolitu v telesných tekutinách (sérum, plazma, moč, likvor), podľa ktorého je ochorenie možné odhaliť a diagnostikovať. V posledných troch desaťročiach využitie moderných biochemických, histochemických a molekulárnych techník umožnilo objavenie mnohých nových DMP. Doteraz bolo identifikovaných niekoľko stoviek genetických defektov spojených s poruchou syntézy, metabolizmu alebo transportu. Podstatou klinických príznakov je hromadenie

metabolitu pred prekážkou, ktorý spôsobuje poškodenie vyvíjajúcich sa tkanív v organizme, predovšetkým CNS a parenchymatóznych orgánov. Príčinou býva znížená aktivita, úplné chýbanie enzýmu alebo skupiny enzýmov v intermediárnom metabolizme na dedičnom základe. Asi 4% všetkých oligofrénii vzniká ako následok DMP. Najrýchlejší diagnostický a terapeutický zásah vyžadujú akútne metabolické poruchy, kde klinické príznaky sú často zreteľné skoro po narodení. Včasná diagnóza a včasná adekvátne liečba môže zachrániť život dieťaťa. U ostatných porúch sa klinické príznaky manifestujú neskôr, tie však už bývajú často spojené s ireparabilnými zmenami centrálného nervového systému a parenchymatóznych orgánov. Laboratórna diagnostika mnohých z týchto porúch je v súčasnosti dostupná v špecializovaných medicínskych centrách a laboratóriách s kvalitným prístrojovým a personálnym vybavením.

Podľa viacerých autorov rozoznávame 3 typy klinického priebehu akútnych dedičných metabolických porúch: neurologická tieseň „intoxikačného typu“, neurologická tieseň typu „deficitu energie“ a DMP pod obrazom hepatopatie, hepatomegálie, hypoglykémie.

Medzi prvé príznaky ochorenia patrí lenivé pitie, letargia, hypotónia, poruchy dýchania, singultus, poruchy periférneho prekrvenia, zvracanie ako pri pylorostenóze, kŕče, progresia ochorenia až kóma, hypotónia, areflexia, hypertonus, abnormálne pohyby končatín, myoklonie, tremor s veľkou amplitúdou, hypertrofická kardiomyopatia, hyperlaktacidémia, malformácie, dysmorfia, hepatomegália, hepatopatia, hypoglykémia a iné. Akútne dedičné metabolické poruchy vyžadujú rýchly diagnostický a terapeutický zásah. U niektorých porúch sa objavujú zvláštne príznaky ako zápach dychu, moču, potu, faciálna dysmorfia, makrocefalia, malformácie, drobná stigmatizácia, makroglosia, stridor, zvláštny typ vlasov, rekurentné vracanie, nápadná hypotermia, iné skeletálne zmeny, organomegália.

Z bežných laboratórnych nálezov pri DMP býva často neutropénia, trombocytopenia, metabolická acidóza, ketonúria, ťažká porucha koagulácie, progredujúca a výrazná hyperbilirubinémia, zvýšené pečeneové testy, hypokalcémia, hyperglykémia, hypoglykemické stavy, hyperamonémia, hyperlaktacidémia a mnohé iné. Skúsenosti však ukázali, že len malý počet metabolických porúch možno diagnostikovať len z typického klinického obrazu. V mnohých prípadoch len zavedenie laboratórnych skriningových metód na DMP môže viesť k diagnóze, pretože iníciaľne symptómy nie sú nešpecifické.

Laboratórne vyšetrenie v diagnostike DMP majú svoje špecifické pravidlá. Väčšinou sa začína od najjednoduchších laboratórnych metód. Skriningové vyšetrenia by mali byť ľahko a rýchlo realizovateľné, dostatočne citlivé, nesmú poskytovať falošne negatívne výsledky, musia obsiahnuť široké spektrum metabolitov. Ďalším stupňom v diagnostike DMP sú špeciálne biochemické, histochemické, semikvantitatívne a kvantitatívne chromatografické vyšetrenia s využitím najmodernejších laboratórnych techník a postupov. Definitívnu diagnózu

často potvrdí u mnohých porúch molekulárna genetika. Vyšetrenia indukujú lekári a iní odborní pracovníci centier, ktorí sa špecializujú na dedičné metabolické poruchy.

V práci prinášame prehľad a súčasné možnosti včasnej diagnostiky dedičných metabolických porúch spojených s príznakmi GIT-u so zameraním na neonatálny skrining a následné možnosti diagnostiky a monitorovania ochorenia.

WILSONOVA CHOROBA

Gábor D., Dobiasová I., Gáborová E.

Oddelenie klinickej biochémie
FNsP FD Roosevelta, Banská Bystrica

Wilsonova choroba (WD) je dedičná porucha metabolizmu medi. Prvýkrát bola popísaná Dr. Samuelom Alexandrom Kinnier Wilsonom v roku 1912. WD je spôsobená mutáciami v gène kódujúcom beta polypeptid (ATP7B) ATPázy pre transport medi, ktorý sa nachádza na chromozóme 13 a klinicky sa prejavuje prevažne v pečeni. Toto ochorenie sa dedí autozomálne recesívnym spôsobom. WD je prítomná vo väčšine populácie po celom svete, najmä v tých, v ktorých sú bežné príbuzenské manželstvá. Frekvencia ochorenia je odhadovaná medzi 1 na 5000 až 1 na 30000 a výskyt prenášačov je 1:90.

WD najlepšie pochopíme, ak pochopíme metabolizmus medi. Základná denná potreba medi pre ľudské telo je asi 1-2 mg. Je splnená diétnym príjmom medi. Meď je absorbovaná črevnou bunkou a uložená v nejedovatej forme naviazaná na metalothionein. Meď je neskôr vylúčená do krvného obehu bielkovinovým transportným proteínom, meď - transportujúcou ATPázou 1 (ATP7A), ktorý je umiestnený na membráne enterocytov. Krvou je transportovaná do pečene vo väzbe na albumín, odkiaľ je prijatá hepatocytmi. Časť medi je viazaná na metalothionein pre účely skladovania, a zvyšok sa vylučuje prostredníctvom regulácie ATP7B do žlčových kanálikov. ATP7B tiež sprostredkováva prevod medi na apoceruloplazmín za tvorby šesť molekúl medi viažúceho proteínu známeho ako ceruloplazmín, čo je α 2-globulín. Ceruloplazmín je vylúčený do krvi, je naň viazané 90% medi prítomnej v plazme a pôsobí ako zdroj medi pre periférne orgány, ako je mozog a obličky.

Mutácia ATP7B vedie k zníženiu premeny apoceruloplazmínu na ceruloplazmín, ktorý je v dôsledku toho zvyčajne prítomný u pacientov s WD v nízkej koncentrácii. Okrem toho, neschopnosť vylučovať meď do žlčových kanálikov vedie k jeho jedovatému pôsobeniu v hepatocytoch. Nadbytok medi poškodzuje mitochondrie,

čo spôsobuje oxidačné poškodenie buniek a umožňuje rozlätie medi do krvi, a tým preťaženie ďalších orgánov, ako je mozog, obličky a červené krvinky, čo spôsobí ich toxické poškodenie. Pri WD je urýchlené apoptotické odumretie buniek inhibíciou IAPS (inhibitor apoptózy proteínov), ktoré je spôsobené toxickými intracelulárnymi depozitmi medi.

Väčšina pacientov s WD sa prejaví buď s prevažne pečeňovými, alebo neuropsychiatrickými príznakmi, a to buď s klinicky asymptomatickým alebo symptomatickým zapojením pečene. Zvyšných 20 % pacientov sa však môže prejavíť príznakmi svedčiacimi pre zapojenie ďalších orgánov.

U pacientov s pečeňovou poruchou WD sa klinické príznaky prejavia v neskorom detstve alebo počas dospievania a vykazujú príznaky akútnej hepatitídy, fulminantného zlyhania pečene, alebo progresívneho chronického ochorenia pečene vo forme buď chronickej aktívnej hepatitídy alebo cirhózy makronodulárneho typu. Stupeň zapojenia pečene je variabilný, od asymptomatickej hepatosplenomegálie s miernym zvýšením hladiny niektorých pečeňových enzýmov, až po úplné zlyhanie pečene. Sprievodné príznaky zahŕňajú nešpecifické celkové príznaky, ascites a žltáčku, a príznaky ako hematemesis a meléna, ktoré sú spôsobené portálnou hypertenziou. Všeobecne platí, že čím mladší vek pacienta pri prepuknutí príznakov, tým väčšia miera účasti pečene.

Priemerný vek nástupu neurologickej formy WD je v druhej až tretej dekáde. U väčšiny pacientov je symptomatická pred dosiahnutím veku 50 rokov. Pacienti sa bežne prejavujú extrapyramidálnymi, mozočkovými a mozgovými príznakmi spojenými so subakútnou, alebo chronickou formou. Akútna prezentácia je vidieť len v zriedkavých prípadoch. Najčastejšia úvodná prezentácia sú bulbárne príznaky, charakteristické ťažkosťami s rečou a prehltním, a slintaním. Asi jedna tretina pacientov má skúsenosti s psychickými poruchami. Tieto poruchy sa môžu prejavíť ako zmeny výkonnosti v škole alebo v práci, porucha pozornosti s hyperaktivitou, impulzivita, paranoidná psychóza, obsedantné správanie, depresie, samovražedné sklony alebo bizarného správania, a môžu sa objaviť kedykoľvek v priebehu ochorenia.

Kayser-Fleischer prstenec po obvode rohovky spôsobený ukladaním medi je charakteristický nález pozorovaný vo väčšine prípadov choroby neurologickej formy WD a približne pri 50 % prípadov ochorenia pečene pri WD.

V dôsledku rôznych klinických prejavov WD, je toto ochorenie často nedostatočne diagnostikované.

WD je biochemicky charakterizovaná nízkymi hladinami ceruloplazminu a celkovej medi v sére, zvýšením 24 hodinového vylučovania medi močom, a abnormálne vysokým obsahom medi v pečeni.

V prednáške sa okrem prehľadu metabolizmu medi, vysvetlenia patogenézy WD a priblíženia jej rôznych klinických prejavov budeme venovať predovšetkým biochemickým parametrom použiteľným v diagnostike a monitorovaní pacientov s WD.

SÉROVÉ MARKERY V DIAGNOSTIKE IDIOPAGTICKÝCH ČREVNÝCH ZÁPALOVÝCH OCHORENÍ (IBD)

Baláz J., Květenký J.

II. Interná klinika SZU
FNsP F.D. Roosevelta Banská Bystrica

Diagnostika idiopatických črevných zápalových ochorení (inflammatory bowel diseases - IBD) je zafažená subjektivitou anamnestických údajov, často minimálnym klinickým nálezom a endoskopické vyšetrenia predstavujú pre pacienta záťaž a riziko komplikácií. Preto sa hľadajú biochemické markery, ktoré by neinvasívne a pomerne objektívne prispeli k stanoveniu diagnózy IBD, k diferenciálnej diagnostike medzi Crohnovou chorobou a ulceróznou kolitídou, umožňovali by hodnotiť úspešnosť liečby a riziko ďalšieho relapsu.

V klinickej praxi sú najmä využívané „klasické“ zápalové markery ako CRP a sedimentácia erytrocytov, ktorých význam v IBD bol potvrdený viacerými štúdiami. Osobitné miesto majú protilátky proti exogénnym antigénom (ASCA, anti-OmpC, anti-I2, anti-CBir1 flagelín) a autoprotilátky (pANCA), ktoré predovšetkým pomáhajú pri diferenciácii medzi Crohnovou chorobou a ulceróznou kolitídou. Pre správne hodnotenie stanovovaných parametrov je potrebné poznať vlastnosti jednotlivých metód stanovovania a situácie, kedy môže dochádzať k falošnej pozitívite alebo negatívite výsledkov.

FEKÁLNY KALPROTEKTÍN - NOVÝ NEINVAZÍVNY MARKER ZÁPALU GASTROINTESTINÁLNEHO TRAKTU

Žitňanová I.¹, Paduchová Z.¹

Bucová M.², Muchová J.¹, Čierna I.³

Szekyová D.³, Kovács L.³, Ďuračková Z.¹

¹Ústav lekárskej chémie, biochémie a klinickej biochémie

²Imunologický ústav Lekárskej Fakulty UK Bratislava

³II. detská klinika, LF UK a DFN Limbová 1, Bratislava

Zápalové ochorenie čreva (Inflammatory bowel disease IBD), ku ktorému patrí Crohnova choroba (CC) je chronický stav s opakujúcimi sa zápalmi v gastrointestinálnom trakte. Toto ochorenie sa prejavuje rektálnym krvácaním, hnačkami a abdominálnymi bolesťami. Na určenie vážnosti a stupňa zápalu boli vyvinuté rôzne

metódy ako sú napr. klinické, sérologické a hematologické, rádiologické, rádio-izotopové metódy, endoskopické a histologické vyšetrenia. Vyšetrenie aktivity ochorenia pacientov s IBD je veľmi invazívne, nepríjemné a bolestivé. Je preto potrebné nájsť marker tohto ochorenia, ktorého stanovenie by bolo jednoduché, rýchle, citlivé, špecifické, nie veľmi drahé, ale najmä neinvazívne.

Vo vyspelých štátoch sa v diagnostike a na stanovenie aktivity ochorenia používa neinvazívne vyšetrenie markera zápalového procesu – kalprotektínu. Kalprotektín je proteín s antimikróbnyimi a antiproliferačnými účinkami viažuci vápnik. Patrí do skupiny proteínov S100 a produkujú ho hlavne neutrofilové. Možno ho stanoviť v plazme, telových tekutinách, tkanivách, stolici a inom biologickom materiáli. Jeho hladiny v plazme sú zvýšené pri rôznych typoch infekcií. Zvýšené koncentrácie kalprotektínu v stolici sa zistili u pacientov s kolorektálnou rakovinou, IBD a baktériovou infekciou v gastrointestinálnom trakte. Monitorovanie hladín fekálneho kalprotektínu u pacientov s IBD môže pomôcť pri sledovaní priebehu aktivity ochorenia, odpovedi na liečbu a tiež predpovedať zhoršenie zdravotného stavu. Napriek tomu sa stanovenie kalprotektínu v stolici na Slovensku nevyužíva.

Mnohé štúdie však dokázali, že meranie kalprotektínu v stolici reprezentuje náhradný marker influxu neutrofilov do črevného lumenu, a preto ho môžeme považovať za jednoduchý, neinvazívny a vysoko citlivý marker črevného zápalu. U detí aj dospelých s IBD sa zistili signifikantne vyššie hladiny kalprotektínu, ktoré dobre korelovali s endoskopickými a histologickými nálezmi, s vyšetrením permeability čreva a tiež s indexom CDAI (Crohn disease activity index).

Do našej pilotnej štúdie sme zaradili 27 pacientov s diagnostikovaným IBD (priemerný vek 15,8 roka) a 11 zdravých dobrovoľníkov (priemerný vek 13,4 roka). Výsledky našej štúdie potvrdzujú, že pacienti s IBD majú signifikantne vyššie hladiny kalprotektínu v porovnaní so zdravou kontrolou (medián 1076 vs. 19,5 µg/g stolice, $p = 3,5 \cdot 10^{-5}$). V prednáške budú prezentované korelácie medzi vybranými markermi a hladinami kalprotektínu v stolici.

Naším cieľom je zaviesť stanovenie kalprotektínu ako rutinný test na sledovanie aktivity ochorenia, odpovedi na liečbu a tiež predpovedi zhoršenia zdravotného stavu aj na Slovensku.

Tento projekt bol podporený grantmi VEGA 1/0224/08, AV 4/2028/08, MZ 2007-16-UK-01.

BIOCHEMICKÉ VYŠETRENIA A ICH INTERPRETÁCIA PRI PORUCHÁCH VÝŽIVY

Garanti sekcie

Doc. Ing. Pavol Blažíček

MUDr. Július Špaňár

VÝZNAM VITAMÍNŮ V ORGANIZMU A MOŽNOSTI STANOVENÍ

**Hlúbik P.¹, Hlúbik J.²
Skřítecká H.¹**

¹Fakulta vojenského zdravotnictví Hradec Králové,
Česká Republika

²České vysoké učení technické v Praze
Fakulta elektrotechnická Katedra kybernetiky
Česká Republika

Vitamíny jsou esenciálními složkami potravy. Jsou definovány jako organické esenciální biokatalyzátory heterotrofních organismů. Z hlediska jejich charakteristiky je důležitá především jejich exogennost, esenciálnost a katalytický charakter. Mezi jednotlivými vitamíny neexistují po stránce chemické žádné strukturální vztahy, podle nichž by mohly být klasifikovány. Důležitým rozlišovacím znakem vitamínů je jejich rozpustnost, podle níž je lze rozdělit na vitamíny rozpustné v tucích (lipofilní) a na vitamíny rozpustné ve vodě (hydrofilní).

Nedostatečný přívod vitamínů v potravě se v organismu projeví různými poruchami, v lehčích případech hovoříme o hypovitaminózách, těžší formy se nazývají avitaminózy. Dlouhodobý extrémní nedostatek vitamínů může mít i fatální následky. Avitaminózy nevznikají pouze jako následek nedostatečného obsahu příslušného vitamínu v potravě, ale mohou se na nich podílet i jiné faktory, například špatná resorpce vitamínů v zažívacím traktu, vliv některých fyziologických změn v organismu, přítomnost antivitaminů a v některých případech i zvýšená potřeba vitamínů při zvýšené fyzické nebo psychické zátěži. Nadbytečný příjem vitamínů např. vitamínu A, D může mít řadu nežádoucích až toxických projevů.

Incidence a prevalence hypovitaminóz a vitaminóz je závislá na stravovacích zvyklostech konkrétního jednotlivce a na nabídce vhodných potravin v dané společnosti. V rozvinutých státech světa, v zemích EU mezi které se řadí také Česká republika je nabídka i spotřeba potravin na velice dobré úrovni zabezpečující doporučený denní příjem prakticky všech vitamínů. U exponovaných jedinců lze pozorovat klinické příznaky marginálního

nedostatku některých vitamínů. Uvedená relativní hypovitaminóza je důsledkem nadměrné potřeby u konkrétní osoby, např. u kuřáků se zvyšuje denní potřeba vitamínu C až o 40 % ve srovnání s nekuřáky, u těhotných jsou zvýšené nároky na příjem kyseliny listové z důvodu prevence vzniku malformací neurální trubice u plodu. Hodnocení hladin jednotlivých vitamínů nebo jejich metabolitů v biologických materiálech obyvatel České republiky neprokázalo významné změny a zvýšené riziko hypovitaminóz u zdravé populace.

Neadekvátní příjem řady vitamínů nebo subklinicky se projevující deficit vitamínů představuje rizikový faktor vzniku a rozvoje řady chronických metabolických onemocnění, mezi které lze zařadit kardiovaskulární onemocnění, diabetes mellitus, aterosklerozu, dále se mohou podílet na vzniku osteoporózy, anémie a také nádorových onemocnění. Z výše uvedeného vyplývá nutnost zabezpečení adekvátního příjmu vitamínů již u klinicky zdravých jedinců.

Hodnocení saturace organismu vitamíny patří do komplexního odnocení nutričního stavu jednotlivce zahrnujícího anamnestické, antropometrické, biochemické vyšetřovací metody. V rámci antropometrického sledování je prováděno hodnocení tělesného složení se zaměřením na stanovení množství tělesného tuku, tukuprosté tkáně, pro které lze využít především měření tělesné impedance – bioimpedanční analýza.

V klinické praxi se pro hodnocení situace organismu vitamíny používají především biochemická stanovení jednotlivých vitamínů v biologických tkáních, v séru a v červených krvinkách, ale také sledování odpadu vitamínů nebo jejich metabolitů v moči. Saturaci organismu je možno rovněž hodnotit na základě koncentrací metabolitů vitamínů v biologickém materiálu nebo podle koncentrací dalších látek, jejichž metabolismus je specificky ovlivněn konkrétním vitamínem (cystein – saturace organismu kyselinou listovou, vitamíny B6 a B12, osteokalcin – saturace vitamínem D).

V klinické praxi po stanovení diagnózy hypovitaminózy konkrétního vitamínu je nutno zahájit suplementaci chybějícím vitamínem. U zdravých jedinců je vhodné doporučovat takovou skladbu jídelníčku, která zabezpečí adekvátní příjem vitamínů. Pro kvantifikaci příjmu vitamínů ve stravě je vhodné použít doporučení RDA.

VÝZNAM STANOVENIA OXIDAČNÉHO STRESU A ANTIOXIDAČNÉHO STATUSU V KLINICKEJ PRAXI

Blažiček P.¹, Kudláčková M.²
Koška J.³, Valachovičová M.²

¹Alpha Medical, Bratislava

²Slovenská zdravotnícka univerzita, Bratislava

³Ústav experimentálnej endokrinológie SAV, Bratislava

Dôsledkom poškodenia organizmu pôsobením voľných radikálov je celý rad s vekom asociovaných ochorení. Voľné radikály sú schopné chemicky meniť všetky hlavné skupiny lipidov, proteínov, nukleových kyselín, ovplyvňujúc ich štruktúru a tým ich vlastnosti a funkcie. Tiež v etiológii dvoch hlavných civilizačných ochorení, rakoviny a aterosklerózy, ktoré sú síce multifaktoriálne, môžu byť jedným z kľúčových vyvolávajúcich faktorov voľné radikály. Existuje viacero mechanizmov ochrany pred škodlivým účinkom voľných radikálov. Tieto mechanizmy zahŕňajú enzýmy, endogenné antioxidanty ako aj vo vode a v tukoch rozpustné exogenné (naturálne, z potravy) antioxidanty ako sú kyselina askorbová (vitamín C), α -tokoferol (vitamín E) a β -karotén. Benefičný efekt naturálnych antioxidantov bol popísaný v mnohých epidemiologických štúdiách. Klinické intervenčné štúdie s vysokými dávkami vitamínových suplementov (často v nerovnováhe s ich „sparing“ partnermi) už nevyznievajú jednoznačne priaznivo.

Plazmatické koncentrácie naturálnych antioxidantov sú preukaznejšími indikátormi antioxidačného statusu než kalkulovaný príjem z potravy, pretože aktuálny status in vivo je výsledok jednak využiteľnosti antioxidantov závislej od diétnej ponuky, od intestinálnej absorpcie, od hepatálnej sekrécie a od metabolickej regulácie a jednak výsledok individuálnej požiadavky organizmu, ktorá môže byť zvýšená nutrientami náchylnými ku oxidácii, oxidačným stresom, životným prostredím alebo faktormi životného štýlu napr. fajčením. Extrémne krátky polčas rozpadu najagresívnejších radikálov bráni ich priamemu stanoveniu. Dostačujúca je nepriama informácia z merania koncentrácií antioxidantov, ktoré sú kľúčové v ochrane proti radikálom. Na základe dlhodobých epidemiologických štúdií, v ktorých sa vzala za základ morbidita a mortalita pre dve najzávažnejšie ochorenia, boli určené protektívne plazmatické hodnoty antioxidačných vitamínov, teda optimálne z pohľadu antioxidačnej ochrany, ktoré znamenajú redukcii rizika voľnoradikálových ochorení. V našej prednáške by som Vás chcel oboznámiť s niektorými našimi experimentami kde sme dokázali priaznivý vplyv vyváženej nutricie a na druhej strane sme zistili zvýšené parametre lipoperoxidácie u pacientov s rôznymi diagnózami a nakoniec zníženú aktivitu antioxidačného statusu u rôznych foriem hypertenzie v porovnaní s kontrolnou skupinou.

MATERIÁL A METÓDY

MDA merané (HPLC s FD), lipofuscín (Fluorimetry), SOD (Randox), A,NA (enzymaticko-izotopová metóda), Kortizol a Prolaktín (Elecsys), GPx (Randox), TAS (Randox), Koncentrácie vitamínu C a vitamínu E v plazme boli merané HPLC metódami. Obsah karbonylových skupín v plazme bol určovaný 2,4-dinitrofenylhydrazínovým testom. Alkalická comet assay bola použitá na detekciu DNA zlomov v izolovaných lymfocytoch a jej modifikácia s pôsobením špecifických enzýmov na určenie oxidovaných báz.

Experiment A: Pacienti s ICHS (n=49) a kontrolná skupina (n=22)

Experiment B: Náhodne vybraná populačná skupina pozostávala zo 48 subjektívne zdravých dospelých nefajčiarov (23 mužov, 25 žien) z regiónu Bratislava; vekové rozpätie 20–69 rokov; priemerný vek $40,6 \pm 2,0$ rokov; body mass index $23,7 \pm 0,7$ kg/m². Probandi boli rozdelení do 4 subskupín v závislosti na koncentráciách vitamínu C (protektívna >50 μ mol/l, deficitná <50 μ mol/l) a vitamínu E (protektívna >30 μ mol/l, deficitná <30 μ mol/l). V I.skupine boli subjekty s deficitnými hodnotami vitamínu C a vitamínu E, v II.skupine bol deficitný vitamín C, v III.skupine vitamín E a vo IV.skupine (kontrolná skupina) boli probandi s protektívnymi hodnotami oboch vitamínov (tab.1).

Koncentrácie vitamínu C a vitamínu E v plazme boli merané HPLC metódami (EDTA bol použitý ako antikoagulant a inhibitor voľnoradikálových reakcií. Hodnota malondialdehydu v plazme bola určená HPLC. Obsah karbonylových skupín v plazme bol určovaný 2,4-dinitrofenylhydrazínovým testom. Alkalická comet assay bola použitá na detekciu DNA zlomov v izolovaných lymfocytoch a jej modifikácia s pôsobením špecifických enzýmov na určenie oxidovaných báz. Príjem vitamínov, minerálnych a stopových látok bol len v prirodzenej forme (žiadna suplementácia). Protektívne hodnoty: vitamín C > 50 μ mol/l, vitamín E > 30 μ mol/l, vitamín C/vitamín E > 1, vitamín E/cholesterol > 5,2 μ mol/mmol, vitamín E/triacylglyceroly > 16 μ mol/mmol.

V práci je vyhodnotený vzájomný vzťah medzi produktami oxidačného poškodenia a plazmatickými koncentraciami dvoch hlavných antioxidantov veľkého fyziologického významu, vitamínu C a vitamínu E.

Experiment C:

Probandov sme rozdelili na: kontrolná skupina zdraví dobrovoľníci (K) (n=12), pacienti s labilnou hypertenziou (IH) (n=12), pacienti s fixovanou hypertenziou (fH) (n=12). Všetky tri skupiny sme vystavili záťažovému testu na ergometri (6 min 0,5 W/kg, 1 min pauza, 6 min 1 W/kg, 1 min pauza a 6 min 1,5 W/kg). Krv sa odoberala zo zavedeného katétra z v. cubiti: 0' 6' 12' 18' 24' 30'. Merali sme A, NA, Kortizol, Prolaktín, SOD, GPx, MDA, Lipofuscín.

VÝSLEDKY

Experiment A:

Pacienti s ICHS (n = 49) mali signifikantne zvýšenú (p < 0,001) koncentráciu MDA v krvi oproti kontrolnej skupine (n = 22). Podobne významné (p < 0,001) bolo aj zvýšenie koncentrácie lipofuscínu. Pacienti s ICHS však mali významne zníženú hladinu TAS (p < 0,05) oproti kontrolnej skupine.

Experiment B:

Protektívny efekt vitamínov C a E v podmienkach ich optimálnych plazmatických koncentrácií je uvedený v tab.1. V porovnaní so skupinou s optimálnymi hodnotami vitamínov v plazme (IV) probandi s deficitnými koncentraciami oboch vitamínov (I) mali významne zvýšené všetky sledované produkty oxidačného poškodenia. Zvýšenie malondialdehydu predstavovalo 61 %, proteínkarbonyly boli zvýšené o 46 %, hodnoty oxidačných produktov DNA v lymfocytoch sa zvýšili o 31 a 17 %.

Tab.1. Plazmatické koncentrácie vitamínov a hodnoty oxidačného poškodenia lipidov, proteínov a DNA

Plazmatické koncentrácie vitamínov				
Skupiny	I	II	III	IV
n	16	5	12	15
Vitámín C (µmol/l)	<50	<50	>50	>50
priemer	33,4 ± 2,5	32,1 ± 6,0	66,2 ± 2,2	63,4 ± 2,9
Vitámín E (µmol/l)	<30	>30	<30	>30
priemer	22,9 ± 0,8	36,9 ± 2,7	25,6 ± 0,9	33,1 ± 0,9
Produkty oxidačného poškodenia				
Malondialdehyd (µmol/l) P=	1,90 ± 0,10 0,0007	1,57 ± 0,10 0,0047	1,44 ± 0,09 0,0140	1,18 ± 0,04
Proteínkarbonyly (µmol/l) P=	139 ± 11 0,0075	132 ± 13 0,0450	99 ± 10 0,820	95 ± 10
DNA zlomy s oxid. purínmi (AU) P=	226 ± 8 0,0008	213 ± 17 0,0137	193 ± 8 0,0683	173 ± 6
DNA zlomy s oxid. pyrimidínmi (AU) P=	211 ± 9 0,0216	190 ± 18 0,6310	182 ± 11 0,9469	180 ± 9

Výsledky sú vyjadrené ako priemery ± SEM

V druhej skupine boli významne zvýšené okrem DNA zlomov s oxidovanými pyrimidínmi všetky sledované oxidačné produkty. V III. skupine bol významne zvýšený len produkt lipidovej peroxidácie, zvýšenia karbonylov a DNA zlomov s oxidovanými purínmi boli nevýznamné. Tieto nálezy svedčia pre to, že vitamín C má dominantnú ochrannú úlohu proti voľným radikálom vo vodnom prostredí a vitamín E spolu s vitamínom C a ich vzájomný pomer dominuje v prevencii lipidovej

peroxidácie. Tento záver je podporený významnou inverznou koreláciou produktov oxidačného poškodenia lipidov, proteínov a DNA a koncentrácií vitamínu C (malondialdehyd $r = -0,537$ /P < 0,001/, karbonyly $r = -0,661$ /P < 0,001/, DNA poškodenie $r = -0,439$ /P < 0,01/, $r = -0,359$ /P < 0,05/). V prípade vitamínu E významná korelácia bola nájdená len pre vzájomný vzťah koncentrácií vitamínu E a produktu lipidovej peroxidácie ($r = -0,476$ /P < 0,001/). V skupine s deficitom oboch vitamínov hodnoty oxidačného poškodenia lipidov a proteínov boli v rizikovom pásme a proteín karbonyly mali rizikovú hodnotu aj pri deficite vitamínu C a protektívnej hodnote vitamínu E (rizikové hodnoty pre malondialdehyd > 1,75, pre karbonyly > 124).

Z výsledkov „vitamínovej skupiny“ vyplýva, že najvýznamnejšie zmeny (najvyšší oxidačný stres) mali dobrovoľníci, ktorí mali najnižšiu koncentráciu vitamínov (C a E) a na druhej strane najmenšie zmeny mali dobrovoľníci, ktorí konzumovali dostatok ovocia a zeleniny. Aj tu sa teda ukázalo, že dôležitá je vyvážená strava s dostatkem vitamínov, čiže pravidelná a dostatočná konzumácia ovocia, zeleniny, celozrnných potravín, rastlinných olejov a olejnatých semien bohatých na antioxidantné vitamíny a ďalšie protektívne nutrienty.

ZÁVERY

Experiment A:

Pacienti s ICHS a s hypertenziou majú významne zvýšenú koncentráciu MDA a lipofuscínu a zníženú hladinu TAS oproti kontrolnej skupine. Po mesačnom užívaní vitamínu C (500 mg) a vitamínu E (40 mg) došlo k významnému zníženiu MDA a lipofuscínu a k zvýšeniu TAS.

Experiment B:

Zdraví dobrovoľníci (n = 48) podľa hodnôt vitamínov (vitamín C = 50 µmol/l, vitamín E = 30 µmol/l) do 4 skupín.

I. skupina (n = 15) C+, E+ (kontrolná skupina)

II. skupina (n = 12) C+, EIII.

III. skupina (n = 5) C-, E+

IV. skupina (n = 15) C-, EMDA

bol zvýšený u skupiny II., III., IV. oproti kontrolnej skupine I.

Proteín carbonyls boli zvýšené u skupín -C +E, -C -E
DNA breaks+oxidised (purines) boli zvýšené u skupín -C +E, -C -E

DNA breaks+oxidised (pyrimidines) boli zvýšené u skupiny -C +E

Výsledky dokumentujú požiadavku optimálnych plazmatických koncentrácií vitamínov, ktoré zabezpečia rovnováhu prooxidačno-antioxidačného stavu a zabrzdia vznik produktov oxidačného poškodenia. Viacero nutričných štúdií ukázalo vyššiu strednú dĺžku života a nižšie riziko rakoviny a ischemickej choroby srdca u subjektov, ktoré preferujú vegetariánske stravovanie a mediteránný (stredomorský) spôsob stravovania. V opakovaných epidemiologických štúdiách bolo po-

zorované, že viac než 89 % subjektov s dominantnou alebo výlučnou konzumáciou rastlinnej potravy má protektívne koncentrácie vitamínu C a vitamínu E (vo vzťahu k lipidom) v porovnaní s menej než 60 % všeobecnej populácie. Tento nálež je dôsledkom pravidelnej a dostatočnej konzumácie ovocia, zeleniny, celozrnných potravín, rastlinných olejov a olejnatých semien bohatých na antioxidačné vitamíny a ďalšie protektívne nutrienty. Z výsledkov vyplýva, že najvýznamnejšie zmeny (najvyšší oxidačný stres) mali dobrovolníci, ktorí mali najnižšiu koncentráciu vitamínov (C a E) a na druhej strane najmenšie zmeny mali dobrovolníci, ktorí konzumovali dostatok ovocia a zeleniny.

Experiment C:

Namerali sme signifikantne zvýšenú koncentráciu MDA ($p < 0.01$) a lipofuscínu ($p < 0.01$) u pacientov s hypertenziou a signifikantne zníženú aktivitu GPx ($p < 0.001$) u pacientov s fixovanou hypertenziou ($n = 12$) oproti kontrolnej skupine ($n = 12$) po záťaži na bicyklovom ergometri. Signifikantný bol aj rozdiel GPx ($p < 0.05$) medzi labilnou a fixovanou hypertenziou a MDA ($p < 0.05$).

Záverom môžeme konštatovať, že aj tu sa ukázalo, že dôležitá je vyvážená strava s dostatkom vitamínov, čiže pravidelná a dostatočná konzumácia ovocia, zeleniny, celozrnných potravín, rastlinných olejov, rýb a olejnatých semien bohatých na antioxidačné vitamíny a ďalšie protektívne nutrienty. V experimente C sa ukázala znížená antioxidačná ochrana (znížený GPx) u pacientov s hypertenziou, závažnejší deficit u fixovanej hypertenzii. Vzhľadom nato, že GPx je enzým kde kofaktorom je Se, u pacientov s hypertenziou je vhodné odporučiť konzumovať morské ryby, sezamové semienka atď.

NOVÉ MOŽNOSTI VYUŽITÍ SPOJENÍ ELEKTROCHEMIE, CHROMATOGRAFIE A HMOTNOSTNÍ SPEKTROMETRIE PRO HODNOCENÍ NUTRACEUTIK

Horna A.¹, Doležal K.²

¹Centrum výzkumu potravin,
Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně

²Centrum regionu Haná pro biotechnologický
a zemědělský výzkum,
PřF Univerzita Palackého v Olomouci

Doplňky stravy, označované někdy také jako nutraceutika, jsou definovány jako potraviny a jako takové jsou konzumované ústy. Nutraceutika jsou přípravky na pomezí mezi potravinami a léčivy. Cílem těchto přípravků je upevňovat zdraví.

Nutraceutika však mohou obsahovat i xenobiotika, která podle již názvu jsou tělu cizí a jsou z těla vylučována ven. lipofilní xenobiotika jsou pomocí biotransformací měněny na látky hydrofilní povahy.

Analytické metody jako je elektrochemie, chromatografie a hmotnostní spektrometrie jsou zdrojem nových informací o obsahových látkách nutraceutik, potřebných pro tvorbu racionálních potravních doplňků a jejich praktickou využitelnost.

Elektrochemická cela s pracovní elektrodou z porézního grafitu byla použita pro simulaci redox procesů, které probíhají katalytickým působením enzymů P450 v těle. Pro identifikaci vznikajících produktů bylo použito spojení vysoko účinné kapalinové chromatografie a hmotnostní spektrometrie.

Poděkování

Práce vznikla za podpory projektu AV ČR KAN20813801 Nanotechnologie pro společnost.

VÝZNAM VYŠETŘENIA A MONITOROVANIA VITAMÍNU D

**Spustová V., Štefiková K.
Krivošíková Z.**

Slovenská zdravotnícka univerzita
Bratislava

Viacere, v súčasnosti publikované práce poukazujú na to, že nízka koncentrácia vitamínu D je problém, ktorý má globálny rozmer a veľké epidemiologické štúdie dokladajú, že nedostatok vitamínu D sa podieľa na rozvoji mnohých chronických ochorení.

Podobne môžeme povedať, že ostatné roky priniesli tiež nové poznatky vo fyziológii a patofyziológii vitamín D endokrinného systému, ktoré viedli k značnej revízii nášho chápania ako spôsobu účinku vitamínu D tak aj jeho významu v rôznych tkanivách, systémoch a orgánoch.

Vitamín D sa syntetizuje v koži vplyvom slnečného UV žiarenia. V pečeni sa hydroxyluje na 25(OH) vitamín D, ktorý sa považuje za ukazovateľ zásob vitamínu D v organizme. 25(OH) vitamín D sa druhý raz hydroxyluje v obličkách na 1,25(OH)₂ vitamín D, ktorý reguluje metabolizmus minerálov, čo predstavuje „klasický“ endokrinný účinok vitamínu D. Okrem obličiek prebieha syntéza 1,25(OH)₂ vitamínu D aj v mnohých iných tkanivách a orgánoch, kde pôsobí autokrinne/parakrinne a zabezpečuje „neklasické“ účinky vitamínu D ako sú vplyv na proliferáciu a diferenciáciu buniek, imunitné funkcie, atď.

Akútny deficit vitamínu D vedie u detí k rozvoju rachitidy a u dospelých jedincov vyvoláva osteomaláciu.

Chronický nedostatok vitamínu D vedie k osteoporóze, svalovej slabosti a pádom, zistila sa asociácia nedostatku vitamínu D s kardiovaskulárnymi ochoreniami, diabetom, nádorovými ochoreniami a autoimúnnymi ochoreniami.

Hypovitaminóza D sa diagnostikuje na základe stanovenia 25(OH) vitamínu D v sére. Odporúčaná koncentrácia 25(OH) vitamín D má byť > 30 ng/ml. Nedostatok vitamínu D charakterizuje rozhranie koncentracii 30–15 ng/ml, stredne ťažký deficit 15–5 ng/ml a ťažký deficit < 5 ng/ml. V rôznych častiach sveta je prevalencia hypovitaminózy D vysoká. Aj v slovenskej vzorke populácie sme zistili, že len 30 % jedincov malo koncentráciu 25(OH) vitamínu D > 30 ng/ml, 48 % malo nedostatok vitamínu D a 22 % malo stredne ťažký deficit. Nikto nemal ťažký deficit.

Sérová koncentrácia 25(OH) vitamínu D odráža nutričný príjem a endogénnu syntézu, ktorá závisí od expozície na UV žiarenie (zemepisná šírka, sezóna) a veku. Nutričný príjem je oproti syntéze v koži zanedbateľný.

Na základe porozumenia významu vitamínu D pre zdravie organizmu je potrebné prijať efektívnejšiu stratégiu prevencie epidémie hypovitaminózy D. V súčasnosti odporúčaný denný príjem vitamínu D je v závislosti od veku 200–400 IU cholekalciferolu/deň. Vzhľadom na to, že denná metabolická potreba vitamínu D je približne 4000 IU, viaceré autority vo svojich štúdiách prezentujú, že na udržanie dostatočnej koncentrácie 25(OH)D v bežnej populácii sú potrebné dávky 1000–4000 IU/deň.

Hypovitaminóza D je významný problém verejného zdravotníctva. Vzhľadom na presvedčivé dôkazy o význame vitamínu D pre zdravie obyvateľstva je nevyhnutné upraviť nutričné odporúčania pre vitamín D a široko informovať odbornú i laickú verejnosť o spôsoboch ako riešiť tento celosvetový problém.

OMEGA-3 MASTNÉ KYSELINY - OD VÝŽIVOVÉHO DOPLNKU KU FARMAKU PODLOŽENÉMU MEDICÍNOU DÔKAZOV

Pella D.

III. interná klinika UPJŠ Lekárska fakulta
a Fakultná nemocnica L. Pasteura Košice

Prvé zmienky o kardioprotektívnych vlastnostiach rybieho tuku u grónskych Eskimákov pochádzajú z roku 1976. Dovedy bolo pomerne ťažké vysvetliť, prečo populácia ľudí s tendenciou k nadváhe a obezite, zároveň konzumujúca pomerne veľa nasýtených tukov a naopak charakterizovaná nízkym príjmom zeleniny a ovocia, má najnižšiu úmrtnosť na koronárnu chorobu srdca. Rybí

tuk odvtedy ako výživový doplnok prešiel širokým výskumom a dnes je ho dokonca možné použiť i na lekárskej predpis vo viacerých európskych krajinách v indikácii adjuvantnej liečby u pacientov po infarkte myokardu ku ostatnej štandardnej terapii. Vysoko purifikovaný rybí tuk v randomizovaných kontrolovaných klinických štúdiách (v dávke 1 g denne) viedol ku signifikantnému poklesu kardiovaskulárnej ale aj celkovej mortality, predovšetkým znížením výskytu náhlej srdcovej smrti (GISSI Prevenzione). Vo vyšších koncentráciách (2–4 g purifikovaného rybieho tuku denne) n-3 PUFA znižujú aj hladinu triacylglycerolov. Občas býva pri tomto vyššom dávkovaní pozorovaný nežiaduci mierny vzostup LDL cholesterolu, ktorý je v rámci sekundárnej prevencie ICHS a u diabetikov vhodné kompenzovať súčasným podaním statínov. Kombinácia n-3 PUFA so statínmi vedie aj ku výraznejšej redukcii kardiovaskulárnych príhod v porovnaní so statínovou monoterapiou, čo dokumentovala napríklad štúdia JELIS.

Stále rastúca sila dôkazov pre n-3 PUFA vo forme rybieho tuku (alebo kapsúl s vysoko purifikovanými n-3 PUFA) našla svoj odraz aj v najnovších odporúčaniach American Heart Association). Pacienti s dokumentovanou koronárnou chorobou srdca by mali užívať denne 1 g EPA+DHA.

Len nedávno publikované výsledky štúdie GISSI - Heart Failure priniesli prekvapujúce výsledky. Ku štandardnej terapii chronického srdcového zlyhávania boli pridané buď n-3 PUFA 1 gram denne alebo rosuvastatín v dávke 10 mg denne oproti placebo. Prekvapujúco, primárny endpoint štúdie (celková mortalita a kardiovaskulárne hospitalizácie) boli signifikantne nižšie v skupine n-3 PUFA, naproti tomu ostali nesignifikantne zmenené v skupine pacientov užívajúcich rosuvastatín.

Význam suplementácie n-3 PUFA u nás je o to väčší, že slovenská populácia konzumuje pomerne veľa omega-6 polynenasýtených mastných kyselín (n-6 PUFA). Prítom je známe, že pomer omega-6 a omega-3 mastných kyselín je dôležitý z hľadiska viacerých ochorení, v ktorých patogenéze sa uplatňuje zápal (najmä subklinický vaskulárny zápal) – vrátane aterosklerózy, hypertenzie, diabetu, bronchiálnej astmy a ďalších. Za optimálny je možné považovať pomer 4 : 1 a nižší, pričom u nás býva často viac ako 20–30 : 1.

Pri snahe zvýšiť prívod n-3 PUFA predovšetkým konzumáciou rýb je potrebné mať na zreteli viaceré dôležité skutočnosti. Predovšetkým však variabilitu obsahu n-3 PUFA podľa druhu rýb, ich pôvodu (umelý chov, resp. ryby žijúce vo voľnej prírode), spôsobu ich prípravy, kompetíciu pri ich vstrebávaní s n-6 PUFA (vstrebávajú sa, žiaľ, viac práve n-6 PUFA).

Bohaté dôkazy pochádzajúce zo základného výskumu, experimentálnych, epidemiologických, ale dnes už aj randomizovaných kontrolovaných klinických štúdií ukazujú, že n-3 PUFA zohrávajú relevantnú úlohu v prevencii a liečbe kardiovaskulárnych ochorení. Výsledky klinických štúdií navyše vyvrátili obavy z ich možných vedľajších účinkov. Zdá sa, že rybí tuk vo forme kapsúl

s vysoko purifikovanými n-3 PUFA, najmä v kombinácii so statínmi, by v budúcnosti mohol znamenať ďalšie zlepšenie prognózy pacientov nielen po infarkte myokardu, prípadne so srdcovým zlyhávaním alebo dysrhythmiami, ale možno i v rámci primárnej prevencie aterosklerózy. Nespochybniteľný je efekt n-3 PUFA v oblasti prevencie náhlej srdcovej smrti u pacientov po infarkte myokardu.

KLINICKÝ VÝZNAM HOMOCYSTEÍNU A JEHO MODULÁTOROV

Lietava J.¹, Husárová V.¹, Čaprnda M.¹
Beharková E.¹, Blažíček P.², Varga I.³

¹II. interná klinika LF UK Bratislava

²Alphamedical Bratislava

³Katedra histológie a embryológie LF UK Bratislava

ÚVOD

Homocysteín (Hcy) vzniká demetyláciou metionínu, ktorý sa prijíma v potrave hlavne zo živočíšnych bielkovín a menej z rastlinnej potravy (asi tretina). Metabolizmus metionín je riadený tromi základnými enzýmami - metionín syntézou, betaín homocysteín metyltransferázou a cystationín - syntázou za prítomnosti kofaktorov (kyselina listová, vitamíny B6 a B12), ktorých prítomnosť alebo nedostatok, či dokonca absencia, určujú cestu odbúrania Hcy.

Ústredné postavenie folátu v regulácii Hcy je dané skutočnosťou, že 5-metyl THF sa pri katabolizme spotrebúva, na rozdiel od pyridoxínu a kyanokobalamínu, ktoré pôsobia iba ako kofaktory.

Zvýšená hladina Hcy sú významne asociované s výskytom klinických komplikácií aterosklerózy. Tento vzťah nie je zatiaľ plne objasnený a popri iných príčinách môže byť determinovaný aj epigenetickým účinkom hyperHcy na DNA. Zjednodušene je uvedený patofyziologický mechanizmus následný: Nadmerný prívod energie (abdominálnu obezita a/alebo metabolický syndróm), a porucha nutricie v zmysle deficiencie folátu, cholínu, metionínu a vitamínov skupiny B narušujú homeostázu Hcy a významne zvyšujú jeho hladinu. Zvýšený Hcy moduluje aktivitu S-adenylhomocysteín (SAH) hydrolázy a zvyšuje jeho produkciu, čím blokuje metyláciu DNA, RNA, proteínov a fosfolipidov.

HyperHcy cestou blokády remetylácie zároveň potencie hypometyláciu DNA a defektnú reparáciu DNA. Hypometylácia DNA znamená poruchu expície a transkripcie génov a spôsobuje endoteliálnu degeneráciu. Viaceré štúdie naznačujú, že uvedený cyklus je skôr podmienený stratou schopnosti endotelu metabolizo-

vať Hcy intracelulárne ako absolútnym nedostatkom kofaktorov.

METODIKA

V rámci štúdie Homocysteín Slovakia sme vyšetrili 331 pacientov s ICHS a 102 kontrol na hladiny Hcy, vitamínu B6, B12 a kyseliny folovej. Diétne zvyklosti boli identifikované stravovacími dotazníkmi.

VÝSLEDKY

U mužov i žien s ICHS sme zistili vysokú prevalenciu hyperHcy (34.3 % vs. 30.4 %; NS), deficitu vitamínu B12 (18.5 % vs. 10.5 %; $p < 0.05$) a deficitu kyseliny listovej (39.0 % vs. 32.9 %; NS)

Pomocou korelačnej analýzy sme prekvapujúco identifikovali nepriamoúmernú závislosť medzi príjmom mäsa a Hcy ($r = -0.16$; $p < 0.02$). Graf dokumentuje, že nie metionínová nálož ale hladiny kofaktorov sú určujúce pre výslednú hladinu Hcy. Zvýšený príjem mäsa vedie k zvýšenému príjmu vitamínu B12 ($r = 0.15$; $p < 0.01$), ktorý znižuje hladinu Hcy.

Medzi príjmom ovocia/zeleniny a hladinami kyseliny listovej sme tiež zistili významnú závislosť ($r = 0.10$; $p < 0.05$), ktorá bola mierne slabšia ako závislosť mäsa a vitamínu B12.

U kontrol sme nezistili rozdiely v hladinách vitamínov B6 a B12, resp. kyseliny listovej medzi osobami s normálnym a zvýšeným Hcy. Naproti tomu u pacientov s ICHS tieto rozdiely boli vysoko významné.

ZÁVERY

Regulácia hladiny homocysteínu je u pacientov s ICHS voľne determinovaná nutričnými faktormi, ktoré však vysvetľujú len malú časť regulácie.

NUTRIČNÝ STAV U HOSPITALIZOVANÝCH CHORÝCH

Paľko M.¹, Il'ková J.², Firment J.³

¹I. interná klinika FNLP a UPJŠ Košice

²II. chirurgická klinika FNLP a UPJŠ Košice

³Klinika anestéziológie a intenzívnej medicíny
FNLP a UPJŠ Košice

Na podklade mnohých klinických štúdií je veľmi dobre známe, že podvýživa zhoršuje funkciu imunitného systému pacienta, zvyšuje počet infekčných komplikácií, predlžuje dobu hospitalizácie, predlžuje dobu hojenia rán, zvyšuje počet opakovaných hospitalizácií, zvyšuje

finančné náklady nemocnice a zvyšuje mortalitu pacientov.

Vo fakultných nemocniciach musí byť klinická výživa zabezpečovaná a riadená členmi nutričného tímu a ústavným dietológom. Vzhľadom na to, že v našej nemocnici sú vysoko špecializované pracoviská, v ktorých sa sústreďujú pacienti z celého Slovenska, musí zabezpečiť aj vysoko špecializovanú výživu pre komplikované stavy a rozsiahle operačné postupy. Autori v práci podávajú informácie o nutričnom tíme v nemocnici, o nutnosti venovania pozornosti nutričnému stavu pacienta a nutričnej podpore počas hospitalizácie.

MIESTO VÝŽIVY V PREVENCIÍ SRDCOVOCIEVNYCH CHORÔB

Bada V.

III. interná klinika, Lekárska fakulta
Univerzita Komenského, Bratislava

Problematika výživy vo vzťahu k srdcovocievnyim ochoreniam prekonala v nedávno uplynulom XX. storočí vývoj, ktorý možno pokojne s nazvať turbulentným často až protirečivým. Neskorší nositeľ Nobelovej ceny (spolu s Ehrlichom) I. I. Mečnikov napísal na prahu nového storočia r. 1903 v Paríži esej Etudy o podstate človeka, kde sa zapodieval optimistickou filozofiou a cestami k ľudskej dlhovekosti. Hlavnou prekážkou na tejto ceste sa mu javila nevyvážená strava s prebytkom živočíšnych bielkovín. Experimentálne overenie tejto Mečnikovovej tézy sa podujali realizovať na Vojenskej lekárskej akadémii v St. Petersburgu na ústave experimentálnej patológie pod vedením prof. Ignatovského. Vplyv čistých živočíšnych bielkovín na aterogénu sa ukázal ako neúčinný. Zato kráľici kŕmený cholesterolom preukázali akcelerovanú aortálnu aterosklerózu. Prácu realizoval čerstvý absolvent akadémie, neskorší akademik N. N. Aničkov, ktorý r. 1915 publikoval vetu: bez cholesterolu niet aterosklerózy. Názory na úlohu cholesterolu v ľudskej potrave boli dlho rôznorodé. Prezident Kennedy v televízii vypil pohár mlieka na dôkaz, že sa cholesterolu neobáva. D. H. Blankenhorn na záver štúdie CLAS r. 1987 s podávaním Colestipolu s Niacínom však potvrdil, že znižovaním hladiny cholesterolu je možná dokonca regresia AS procesu v koronárnych artériách. Ale až objav A. Enda statíny, podávané vzhľadom nízky výskyt nežiadúcich účinkov vo veľkých klinických štúdiách rozptýlili pochybnosti o význame znižovania cholesterolu u pacientov s KVS chorobami v primárnej i sekundárnej prevencii. Framinghamská štúdia už r. 1948 zaradila do kategórie rizikových alkohol a čiernu kávu. Predstava, že najlepšou diétou na znižovanie cholesterolu

je strava bez cholesterolu sa nepotvrdila. Vaječný žltok plný cholesterolu bol roku 1999 oficiálne rehabilitovaný. Celosvetová pandémia osteoporózy poukázala na rovnako celosvetovú pandémiu deficitu vit. D3, ktorého zdrojom je živočíšna potrava (ryby, vajcia, maslo, syry) s pobytom na slnku zakazovaný dermatookológmi. Fraktúry *coli femoris* sú 2× častejšie u pacientov so srdcovým zlyhaním. Mierne, pravidelné pitie alkoholu, najmä červeného vína KVS riziko znižuje, podobne ako pitie čiernej kávy, a to v množstve aj 5–6 šálok denne. Obidva nápoje sú zdrojom účinných antioxidantov. To sú závery s Framinghamu. Dostatok zeleniny a ovocia je nenahraditeľný ale musí to byť zelenina pestovaná na slnku. Inak jedinečný likopén a resveratrol chýbajú. Najvyššiu spotrebu nasýtených tukov majú Francúzi s veľmi nízkou KVS mortalitou. Francúzsky paradox sa istotou nemôže vysvetliť len pitím červeného vína.

BIOCHEMICKÝ PROFIL ZDRAVÝCH DOJČIAT KŔMENÝCH MATERSKÝM MLIEKOM ALEBO FORMULAMI

Klenovicová K.
Boor P., Šebeková K.

OKEF, VVZ SZU, Limbová 14, Bratislava

Diétny režim výrazne ovplyvňuje biochemické parametre. Cieľom štúdie bolo objektivizovať rozdiely v biochemickom profile zdravých dojčiat kŕmených materským mliekom, alebo formulami.

V štúdiu ICARE sme stanovili 26 štandardných biochemických ukazovateľov a krvný obraz u 53 zdravých dojčených a 60 detskými formulami kŕmených detí vo veku 5–7 mesiacov, a u 8–18-mesačných detí, z ktorých 67 bolo pridávaných a 67 dostávalo ako prídavok k bežnej strave formulu alebo kravské mlieko.

Dojčené 5–7-mesačné deti mali vyššie koncentrácie bilirubínu, cholesterolu a LDL-cholesterolu v plazme, vyššie aktivity AST a ALT, nižší počet leukocytov, nižšie koncentrácie železa, močoviny a fosfátov v plazme, vylučovali menej močoviny a sodíka, mali nižšiu osmolaritu moča a boli inzulín senzitivnejšie v porovnaní s dojčatami kŕmenými formulami, alebo kombináciou materské mlieko/formula. Multivariačná analýza (všeobecný lineárny model) určila ako najzávažnejší determinant uvedených ukazovateľov stravovací režim. Metódou ortogonálnej čiastkovej analýzy najmenších štvorcov (orthogonal partial least-squares-discriminant analysis) sme potvrdili jasnú separáciu medzi dojčenými a formulami kŕmenými dojčatami. U 8–18-mesačných detí konzumujúcich bežnú stravu zodpovedajúcu stravu doplnovanú materským mliekom alebo formulami, pretrvávali rozdiely v koncentráciách

bilirubínu, cholesterolu, močoviny a fosfátov v plazme, vo vylučovaní močoviny, osmolarite moču a inzulínovej senzitivite. Analýzou hlavných komponentov (principal component analysis) sme však v tejto vekovej skupine jasnú separáciu kohort nepotvrdili.

Zdravé dojčené deti majú odlišný biochemický profil od detí kŕmených formulami, čo by bolo pravdepodobne potrebné zohľadniť pri udávaní referenčných rozmedzí

štandardných biochemických parametrov. Odpoveď na otázku, či stravou v rannom detstve ovplyvnený biochemický profil môže mať dlhotrvajúci efekt v zmysle „postnatálneho programovania“, a manifestácie ochorení v dospelosti, ostáva otvorená.

Podporené grantom EU 6RP ICARE č. COLL-CT-2005-516415.

VYŠETRENIE BIELKOVÍN V RÔZNYCH TELESNÝCH TEKUTINÁCH

Garanti sekcie

MUDr. Július Špaňár
Doc. Ing. Pavol Blažiček, CSc.

CHANGING TIMES: DEVELOPMENT OF PROTEIN TESTING

Holmes P. T., Kelly F. M., McAleer D.
McConnell R. I., FitzGerald S. P.

Northern Ireland

Since Lowry first detected ketone bodies in just 1 ml of blood there has been an extensive advancement in the quantification of proteins in biological fluids (1). Sixty years ago quantification of proteins in biological fluids was typically performed using chemistry techniques such as the Biuret method or agglutination reactions. In the 1950s a radio-immunoassay was developed by Yalow and Berson (2) which allowed for a more accurate method of measurement. As advances were made the radio-isotopes used were replaced by enzymes and the colorimetric method of detection began. This improved the safety of the assay and made the method more accessible to less skilled personnel. The enzymatic method was more efficient and had a higher specificity to the target molecule (3).

The last 40 years has resulted in improved immunoassay techniques and detection methods for biomarkers with ever improving sensitivity and specificity for the target molecule and an application in many different industries such as the health, food and veterinary industry.

The latest advance in protein detection is multiplexing with systems being developed for simultaneous multi-analyte analysis of biomarkers. One such system is based on biochip array technology (4, 5). A fundamental part of this technology is the biochip which is a 9mm squared solid substrate that facilitates the deposition of capture agents onto spatially distinct test regions. For protein analysis the capture agent is usually an antibody with the assay based on traditional ELISA principles. Detection is based on peroxidase induced chemiluminescence using a highly sensitive

CCD camera. As each biochip has up to 25 distinct test regions, multiple test results can be reported from a single patient sample simultaneously. The technology already offers novel and routine biomarker arrays and a full range of analyzers. This method of testing has the advantage of reduced sample volume and provides a very cost effective, efficient method of testing. Another important advantage of the technology is the inclusion of in-built QC test regions on every array.

Biochip array technology has numerous applications in the detection of protein biomarkers as well as being applicable for toxicology, forensic and genomic analysis. Arrays are available for use in clinical diagnosis such as cardiac, fertility, and thyroid and tumour marker assessment. In addition arrays have been developed which include over 30 cytokine assays and specific cerebral biomarker assays to facilitate their introduction into routine clinical application.

The multi-plexing format is the future of patient profiling as the availability of multiple test results from the same time point enables the clinician to give a more accurate diagnosis and to make an earlier diagnosis reducing the incidence of chronic diseases.

REFERENCES

- (1) **Lowry O. H., Rosebrough N. J., Farr A. L., Randall R. J.:** Protein Measurement with the Folin Phenol Reagent. *J. Biol. Chem.* 1951; 193: 265–275.
- (2) **Yalow R. S., Berson S. A.:** Immunoassay of endogenous plasma insulin in man. *J. Clin. Invest.* 1960; 39: 1157–1175.
- (3) **Lequin R. M.:** Enzyme Immunoassay (EIA)/Enzyme-Linked Immunosorbent assay (ELISA). *Clin. Chem.* 2005; 51: 2415–2418.
- (4) **FitzGerald S. P., Lamont J. V., McConnell R. I., Benchikh E. O.:** Development of a High-Throughput Automated Analyzer Using Biochip-Array Technology. *Clin. Chem.* 2005; 51: 1165–1176.
- (5) **Molloy R. M., McConnell R. I., Lamont J. V., FitzGerald S. P.:** Automation of Biochip Array Technology for Quality Results. *Clin. Chem. Lab. Med.* 2005. 43: 1303–1313.

VYŠETŘENÍ INDIKÁTOROVÝCH BÍLKOVIN V MOČI - 5 LET ZKUŠENOSTÍ

Granátová J.¹, Hornová L.²
Fantová L.², Bolková M.¹

¹Oddělení klinické biochemie
Fakultní Thomayerovy nemocnice, Praha
²Nefrologická ambulance, Medicon a.s., Praha

Prezentujeme spolupráci klinického biochemika s nefrologem při hodnocení proteinurii a hematurii na podkladě exkrece vybraných proteinů do moče, tzv. indikátorových proteinů.

Indikátorové proteiny v moči jsou proteiny o různé molekulové hmotnosti a s rozdílným způsobem transportu ledvinou. Albumin je indikátorem permeability glomerulární stěny, IgG ukazatelem integrity glomerulární stěny a intersticiálního zánětu, alfa-1-mikroglobulin slouží k hodnocení tubulární resorpce a míry postižení intersticia. Na základě hodnocení jejich exkrecí, resp. vzájemných poměrů exkrecí indexy a grafy lze diferencovat primární a sekundární glomerulopatie, izolované poškození tubulů, primární tubulointersticiální postižení a smíšené glomerulotubulární postižení. Při hematurii po doplnění o stanovení alfa-2-makroglobulinu v moči lze rozlišit pomocí proteinových indexů typ hematurie (renální glomerulární, tubulointersticiální, postrenální a smíšený) s vyšší senzitivitou i specificitou než vyšetření erytrocytů ve fázovém kontrastu.

Indikátorové proteiny v moči stanovujeme na našem pracovišti od r. 2005 nefelometricky na analyzátoru Immage (Immunotech), využíváme principy hodnotícího systému Hofmann-Guder-Ivandic. Do března 2010 bylo takto vyšetřeno 745 pacientů. Jsou demonstrovány možnosti využití tohoto vyšetření v ordinaci nefrologa. Komplexní posouzení vylučovaných indikátorových proteinů při znalosti klinických dat a ve spolupráci s indikujícím lékařem poskytuje tzv. patientsky orientovaný interpretační nále; významně pomáhá při diferenciální diagnostice etiologie proteinurie, event. hematurie, umožňuje sledovat průběh onemocnění v čase, hodnotit efekt terapie a compliance nemocného, pomáhá při cílené indikaci dalších vyšetření.

Získané výsledky ukazují, že stanovení indikátorových proteinů v moči by mělo být součástí moderního komplexního diagnostického postupu u nemocných s proteinurii a/nebo hematurii.

DŮKAZ OLIGOKLONALITY IMUNOGLOBULÍNŮ V MOZGOVOMIECHOVOM MOKU

Bertová D.

LABMED a.s., Laboratorna diagnostika
Košice

Diagnostika chronických, zápalových ochorení CNS sa opiera o likvorologické vyšetrenia. Práve špeciálna likvorológia je zameraná na stanovovanie mnohých parametrov, nevynímajúc dôkaz intratekálnej syntézy imunoglobulínov (Ig) v mozgovomiechovom moku (likvore). Intratekálna syntéza Ig nepoukazuje vždy na prítomnosť akútneho ochorenia. Je pozorovaná i pri chronických, zápalových ochoreniach CNS.

Ochorenie Sclerosis multiplex patrí medzi chronické, zápalové ochorenie CNS, kde veľkú úlohu zohráva autoimunita. Likvorová diagnostika Sclerosis multiplex sa opiera o dôkaz oligoklonality Ig hlavne v triede IgG, hoci literatúra udáva pozitivitu oligoklonality aj v triede IgM cca 25 % a v triede IgA cca 9 % (Reiber, 1998).

Lokálnu tvorbu Ig v likvore je možné určiť orientačne-výpočtom. K dispozícii je množstvo vzorcov od rôznych autorov. V súčasnosti je preferovaný výpočet podľa Reibera (1994), resp. IgG index podľa Linka. Pre uvedené výpočty musia mať pacienti zaznamenané výraznejšie koncentračné zmeny Ig v likvore. Odhad intratekálnej syntézy Ig pri ich fyziologickej koncentracii v likvore, pri hyperalbuminémii, pri hypo- resp. hyperimmunoglobulinopatii, pri arteficiálnej prímеси krvi v likvore zlyháva. Preto je potrebné intratekálnu syntézu Ig v likvore (kvantitu) vždy spájať s jej kvalitatívnym dôkazom. V súčasnosti je izoelektrická fokusácia (IEF) považovaná za „zlatý štandard“ pre dôkaz oligoklonality Ig v likvore.

Kvalitatívny dôkaz oligoklonality v triede IgG metódou IEF je pre diagnostiku Sclerosis multiplex vysoko senzitivne vyšetrenie (98 %), (Reiber, 2001), no nešpecifické. Špecificitu vyšetrenia je možné zvýšiť stanovením intratekálnej syntézy špecifických protilátok, tzv. MRZ-reakciu.

Zavedením tejto polyspecifickej protilátkovej reakcie sa zdokonalila likvorová diagnostika chronických, zápalových a autoimunitných ochorení CNS, medzi ktoré patrí aj Sclerosis multiplex (Reiber, 1991).

SKÚSENOSTI

Do súboru sme zaradili skupinu pacientov, u ktorých odhad intratekálnej syntézy IgG bol negatívny, IEF dokázala pozitívitu oligoklonality IgG. V ďalšej skupine bol odhad intratekálnej syntézy IgG pozitívny, no IEF poukázala na to, že išlo o falošne pozitívne výsledky, v dôsledku prítomnosti hyperalbuminémie,

hypo- i hyperimmunoglobulinopatie i pre kontamináciu likvoru krvou (arteficiálna prímes krvi v likvore). V ďalšej skupine pacientov bola intratekálna syntéza IgG pozitívna výpočtom i kvalitatívne. V tejto skupine pozitívita oligoklonálnych protilátok IgG v likvore v kombinácii s pozitívnou MRZ-reakciou podporila dif. dg. chronických, zápalových ochorení CNS autoimunitného charakteru.

BIOCHEMICKÉ VYŠETRENIA A ICH INTERPRETÁCIA PRI CHOROBÁCH OBLIČIEK

Garanti sekcie

Prof. MUDr. Miroslav Mydlík, DrSc.
Doc. MUDr. Ján Lepej, CSc.

FUNKČNÉ VYŠETRENIE OBLIČIEK A KLINICKÁ BIOCHÉMIA

Mydlík M., Derzsiová K.

IV. interná klinika FN L. Pasteura
a Ústav experimentálnej medicíny LF UPJŠ, Košice

Funkčné vyšetrenie obličiek je súhrn neinvazívnych vyšetrení obličiek, ktoré sú potrebné pre včasnú diagnózu, diferenciálnu diagnózu, primeranú liečbu a určenie prognózy choroby obličiek. Funkčné vyšetrenie obličiek tvoria nasledujúce biochemické vyšetrenia: kvantitatívna proteinúria, kvantitatívne vyšetrenie močového sedimentu, glomerulová filtrácia, tubulárna resorpcia vody, vyšetrenie koncentračnej a zriedovacej schopnosti obličiek, frakčné exkrécie elektrolytov a iných látok a iné vyšetrenia. Neoddeliteľnou súčasťou každého funkčného vyšetrenia obličiek je mikrobiologické vyšetrenie kvantitatívnej bakteriúrie.

Na zabezpečení funkčného vyšetrenia obličiek sa podieľa praktický lekár pre dospelých, internista, nefrológ, klinický biochemik a iní odborní lekári. V prípade potreby je funkčné vyšetrenie obličiek, včítane sonografického vyšetrenia, doplnené niektorými invazívnymi vyšetreniami, najmä rádiodiagnostickými, urologickými a histologickými.

HODNOTENIE FUNKCIE OBLIČIEK POMOCOU RÁDIONUKLIDOV A POROVNANIE S BIOCHEMICKÝMI METÓDAMI

Lepej J.^{1, 3}, Lepejová K.², Tóthová V.¹, Mocnejová I.⁴

¹Inštitút nukleárnej a molekulárnej medicíny Košice

²Roche Slovensko, s.r.o.

³Ústav sociálnych vied a zdravotníctva
bl. P. P. Gojdiča Prešov, VŠZaSP sv. Alžbety Bratislava

⁴Cumulus s.r.o. Košice

Objektívne a jednoduché stanovenie funkcie obličiek je problém, ktorý sa mnoho desaťročí nepodarilo dostatočne uspokojivo vyriešiť. Nielen klinická biochémia, ale aj nukleárna medicína postupne zaviedli mnohé typy stanovení a výpočtov pre čo najpresnejšiu kvantifikáciu funkcie obličiek. V prezentácii porovnáваме viaceré typy vyšetrení funkcie glomerulov, ale aj tubulov, pomocou rádioizotopových metód s klasickými aj novými biochemickými testami a definujeme ich výhody aj nedostatky. Na príkladoch z praxe a grafoch je poukázané na postavenie jednotlivých metód.

Z dvoch základných prístupov je sledovanie klirens externe aplikovaných látok presnejšie, ale náročnejšie ako hodnotenie klirensu látok, ktoré vznikajú v organizme a sú prirodzene vylučované obličkami. Z použiteľných biochemických metód na stanovenie externe aplikovaných látok, má vyššiu presnosť merania metóda HLPC pri stanovení koncentrácie iohexolu. Inými látkami, ktoré sa podávajú externe pre výpočet GFR sú iothalamát, alebo klasický inulín. Problémom nie je len stanovenie koncentrácií týchto látok, ale aj potreba udržiavať hladinu indikátora v krvi (infúznou pumpou) do vytvorenia rovnováhy. Pre metodickú náročnosť sa alternatívne používajú rádionuklidmi značené indikátory, ktoré sa v diagnostike funkcie obličiek zaviedli pred necelými 60 rokmi. Tieto metódy sú považované za referenčné (golden standard) najmä v kvantifikácii GFR.

Základným prínosom izotopovej metódy je možnosť jednoducho, neinvazívne a veľmi presne merať koncentráciu rádioindikátora. Takýmto rádioindikátorom môžu byť rôzne molekuly, ktorých mechanizmus vylučovania býva odlišný a preto dokážu hodnotiť rôzne parametre funkcie obličiek. Všetky tieto metódy majú spoločný základ - vyžadujú aplikáciu rádiofarmaka do tela pacienta. Pokles koncentrácie rádiofarmák v plazme je jednoducho merateľný zo vzoriek krvi, ale aj externým meraním z obličiek, či cievneho pozadia. Ak pre vyšetrenie použijeme gamakameru, dokážeme kvantifikovať okrem klirens, separovane funkciu pravej a ľavej obličky, ale aj posúdenie glomerulárnej alebo tubulárnej funkcie voľbou selektívne vylučovaného rádiofarmaka.

Stanovenie glomerulárnej filtrácie (GFR) umožňujú: A) Meranie klirens 51Cr-EDTA (etylen-diamino-tetraacetát), ktorý sa vykonáva pomocou detektora a po podaní rádiofarmaka formou bolusu alebo kontinuálnou infúziou. Podobne ako meranie 131(123)I-iohexolu ich

hlavnou výhodou je vysoká presnosť stanovenia a jednoduchosť používaného meracieho zariadenia, ktorým sa merá rádioaktivita vo vzorkách krvi. Pre kliniku postačujú dva odbery s pomerne dlhým časovým odstupom (120 a 240 minút). Presnejší multiodberový variant metódy sa používa ako referenčný vo výskume. Časová náročnosť testu je jednou z nevýhod metódy. Druhou je veľmi nízka koncentrácia izotopu, vďaka ktorej je radiačná záťaž nízka, ale nedovoľuje zobrazit obličky a tak posúdiť ich separovanú funkciu. B) ^{99m}Tc -DTPA (dietylén-triamino-penta acetát) sa používa na vyšetrenia GFR pomocou gamakamery. Radiačná záťaž je síce vyššia, ako u predchádzajúcej metódy (aj keď nepresahuje iné RTG metódy), ale na oplátku sa získa ďalekosiahlejšia informácia. Preto sa metódy s použitím gamakamery využívajú častejšie. Stanovenie koncentrácie rádiofarmaka sa vykonáva z krvných odberov externým meraním ako pri ^{51}Cr -EDTA. Častejšie sa využíva pre pacienta menej zaťažujúca bezdobroerová modifikácia metódy, ktorá nie je taká presná.

Iné rádiofarmakum, ortojod hipuran – ^{131}I OIH – chemický analog PAH, umožňuje presne merať efektívny renálny plazmatický prietok (ERPF). Ďalšia molekula ^{99m}Tc -MAG3 merkapto-acetyltriglycín sa z 98 % vylučuje tubulami a tak dokáže hodnotiť parameter tubulárna extrakcia (TER). Iná molekula ^{99m}Tc -DMSA dimerkatojantárová kyselina sa vychytáva tubulmi, kde dlhodobo pretrváva. Pre toto rádiofarmakum definujeme termín tubulárna fixácia a nepriamo hodnotí tubulárnu funkciu – množstvo tubulárnych buniek a ich metabolickú schopnosť vychytávať cudzorodé látky. V ostatných rokoch sa zavádza možnosť hodnotenia funkcie obličiek aj pomocou iných zobrazovacích metód. Okrem CT, ktorý používa kontrastnú látku Iohexol (Omnipaque 300) je to MRI s ^{67}Ga -DTPA (Magnevist). Ich problém je vysoká cena vyšetrenia, v porovnaní s izotopovými technikami.

Stanovenie glomerulárnej filtrácie sa najčastejšie vykonáva pomocou klirens endogénnych látok. Okrem endogénneho kreatinínu, je viac ako desaťročie sledované vylučovanie molekuly cystatínu C. Ukazuje sa, že cystatín C je kvalitnejší a citlivejší marker pre posúdenie GF, než kreatinín. Reprodukovateľnosť metód veľmi závisí na štandardizovanom vykonávaní vyšetrenia. Medzi jednotlivými pracoviskami existujú pomerne významné rozdiely v metodických postupoch a interpretácii. Okrem toho existuje významná variabilita medzi vyšetreniami aj u toho istého pacienta a na tom istom pracovisku, ktorú spôsobujú hlavne rozdiely v miere hydratácie pacienta a prijímanej potrave. V literatúre je diskutovaná možnosť indexácie výsledkov na povrch tela, na ECV (objem

extracelulárneho priestoru) alebo ich neindexovanie. Opatrnosť pri hodnotení vyžadujú hlavne špecifické klinické situácie – určité pridružené ochorenia ako je diabetes mellitus (hyperfiltrácia), cirhóza pečene a iné poruchy koncentrácie proteínov (transport), ale aj zápal a nádorové ochorenia (zvýšená deštrukcia tkanív). Vo všetkých týchto prípadoch je potrebné kombinovať viacero diagnostických metód a v záverečnom hodnotení posúdiť ich možné obmedzenia. V diagnostike obličiek je, viac ako inde, dôkladné vykonávanie predanalytickej a postanalytickej fázy spolu s používaním overených a dobre štandardizovaných analytických metód nevyhnutnou podmienkou správnej diagnostiky.

NEW TRENDS IN THE DIAGNOSING OF ALBUMINURIA AND PROTEINURIA

Fodor B.

Chair of Nephrology Working Group of
Hungarian Society of Laboratory Medicine
University of Miskolc, Department of
Basic Health Care Studies, Hungary

According to current clinical trials, albumin excretion is an early indicator of cardiovascular damage. While proteinuria is considered as a marker of kidney function, albuminuria first of all indicates cardiovascular risk. Sensitivity of the previous laboratory tests do not meet the clinical requirements, and the error of urine collection makes the results misleading. For that reason recent guidelines suggest to calculate albumin/creatinine (ACR) and protein/creatinine (PCR) measured from the first morning urine. For the clinical diagnosis of albuminuria the sensitive immunoturbidimetric assays are suggested. Albumin dipsticks are not recommended for the measurement of albuminuria. Wide-range urinary protein reagents are also available with high sensitivity, while serum reagents are not applicable (Biuret). The traceability of calibrator to a reference material is a critical requirement. Proteinuria and albuminuria of a patient should be monitored in the same laboratory, using a fixed method and cut-off value. Albumin/creatinine value should be reported together with gender-dependent reference range.

METÓDY NA MERANIE A ODHADU GLOMERULÁRNEJ FILTRÁCIE – KAM VEDIE CESTA VON Z BAŽINY „JAFFÉHO CHROMOGÉNU A COKROFTA A GAULTA“

Rácz O.^{1,2}, Lepej J.³, Derzsiová K.⁴, Lepejová K.⁵
Mocnejová I.², Fedorová E.², Cimboláková I.¹

¹Ústav patologickej fyziológie
UPJŠ Lekárska fakulta, Košice

²Ústav nukleárnej a molekulovej medicíny, Košice

³Cumulus s.r.o., Košice

⁴Ústav experimentálnej medicíny

UPJŠ Lekárska fakulta, Košice

⁵Roche Slovensko s.r.o.

Základným ukazovateľom poklesu počtu glomerulov bez ohľadu na etiológiu obličkovej choroby je miera glomerulárnej filtrácie (GFR). Presné meranie GFR pomocou exogénnych látok je možné, ale tieto metódy nie sú vhodné pre rutinnú prax. Myšlienka výpočtu GFR (mGFR = measured) pomocou stanovenia plazmatickej koncentrácie a vylučovania endogénneho kreatinínu je logická, pretože ide o odpadovú látku, ktorej sa organizmus zbavuje práve obličkami. Táto metóda je však zafažená niekoľkými chybami. Niektoré súvisia s fyziologickými odchýlkami od postulátu, že to musí byť látka, ktorá sa len vylučuje obličkami, iné sú metodického charakteru. Jednou zo základných zdrojov nepresnosti pri meraní a odhadu GFR je to, že Jaffého metóda nestanovuje len kreatinín, ale aj iné chromogény. Jediná cesta na odstránenie tejto nepresnosti je použitie špecifických enzýmových metód na stanovenie kreatinínu.

Druhá možnosť, ktorá umožňuje posúdiť filtráciu je odhad GFR (eGFR = estimated GFR) na základe plazmatickej koncentrácie kreatinínu (prípadne iných látok). Aj tento prístup je logický, pretože plazmatická koncentrácia látky, ktorá pre porušenie vylučovacia funkciu sa nedostane do moča, sa zvyšuje. Ak by sa sledovaná látka dostala do krvi vždy stálou rýchlosťou, medzi jej koncentráciou a GFR by bola pomerne jednoduchá závislosť – súčin filtrácie a koncentrácie látky v plazme by mala byť konštantná. Predpoklad o stálosti prísunu kreatinínu do krvi však nie je splnený. Tvorba kreatinínu v ľudskom tele závisí od svalovej hmoty, veku, pohlavia a v malej miere aj od množstva mäsa v potrave. Z toho aspektu je vo vzorcoch, ktoré slúžia odhad GFR oprávnená korekcia pre pohlavie a pre vek. Korekcia na hmotnosť má však jeden háčik. V praxi u väčšiny vyšetrených vyššia hmotnosť v porovnaní s ideálnou nie je zapríčinená väčším množstvom svalového, ale tukového tkaniva, ktoré neprodukuje kreatinín. Ďalším problémom eGFR je to, že koncentrácia kreatinínu a GFR kolíšu v priebehu dňa. Z jedného odberu kreatinínu aj za ideálnych podmienok sa dá odhadnúť GFR len v čase odberu.

Uvedené skutočnosti majú za následok, že odhad GFR (estimated = eGFR) na základe rastu koncentrácie kreatinínu sa nedá vyjadriť rovnicou, ktorá by vychádzala len z fyziologických úvah. Rovnice na výpočet sú založené na porovnaní meranej GFR a koncentrácie kreatinínu (prípadne iných látok) u veľkej skupiny chorých s rôznym stupňom poškodenia obličiek. Tieto rovnice obsahujú korekčné faktory podľa veku, pohlavia a hmotnosti vyšetrených. Iné rovnice sa snažia korigovať chyby odhadu počítaného z koncentrácie kreatinínu tým spôsobom, že do rovnice zahrňujú aj koncentráciu močoviny a/alebo albumínu. Situáciu nevyrieši ani prepočet „Jaffého chromogénu“ na štandardizovaný kreatinín.

Odhad GFR je možný aj na základe stanovenia plazmatickej koncentrácie Cystatinu C látky, ktorá sa tvorí v každej bunke a jeho prísun do krvi by nemala byť ovplyvnená stravovacími návykmi vyšetreného. Cystatin C sa však nevylučuje do moča (je reabsorbovaný a následne degradovaný bunkami obličkových tubulov) a preto aj v tomto prípade je potrebné počítať eGFR na základe empirických rovníc. Napriek tomu je možné konštatovať, že výpočet a odhad GFR na základe plazmatickej koncentrácie dáva správnejšie výsledky, ako výpočet a odhad na základe (skutočnej) koncentrácie kreatinínu. Presný a správny výsledok výpočtu eGFR z plazmatickej koncentrácie Cystatinu C má najväčší praktický význam pri miernom poklese GFR, t.j. medzi 1,0–1,5 ml/s (60–90 ml/min).

Autori na základe vlastných skúseností a analýz výsledkov odporúčajú algoritmus vyšetrení na odhad a meranie GFR u chorých s miernym stupňom poklesu glomerulárnej filtrácie.

ÚLOHA VITAMÍNU D PRI PORUCHÁCH MINERÁLOVÉHO A KOSTNÉHO METABOLIZMU U PACIENTOV S CHRONICKÝM OCHORENÍM OBLIČIEK

Spustová V., Okša A.
Štefíková K., Krivošíková Z.

Slovenská zdravotnícka univerzita
Bratislava

S progresiou chronického ochorenia obličiek (CKD) sa vyvíjajú poruchy minerálového metabolizmu so závažnými klinickými dôsledkami: dochádza k hromadeniu fosfátov, recipročne sa znižuje koncentrácia vápnika a v obličkách sa znižuje syntéza kalcitriolu dôsledkom nedostatočnej aktivity 1 α -hydroxylázy, ktorá hydroxyluje 25(OH)D₃ na aktívny metabolit 1,25(OH)₂D₃. Tieto

poruchy majú kľúčovú úlohu aj v patogenéze extraskeletálnych kalcifikácií vrátane cievnych, čím sa podieľajú na KV komplikáciách a mortalite pacientov s CKD.

S poklesom renálnych funkcií klesá koncentrácia $25(\text{OH})\text{D}_3$ aj $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$. V minulosti prevládala názor, že koncentrácia $25(\text{OH})\text{D}_3$ nie je významná, lebo u pacientov s CKD je primárna porucha syntézy aktívneho vitamínu D v obličkách. Neskôr sa potvrdilo, že renálna syntéza $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ je závislá od dostatočnej koncentrácie $25(\text{OH})\text{D}_3$. Navyše sa doložilo aj jeho význam pre extrarenálnu syntézu $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$, ktorý zabezpečuje tzv. nekalcotropné účinky vitamínu D podobne ako u zdravých ľudí. U pacientov s CKD sa nedostatok/deficit vitamínu D vyskytuje ako v období pred dialýzou, tak aj v priebehu dialyzačnej terapie. Renálne ochorenie ovplyvňuje status vitamínu D viacerými mechanizmami:

- a) nedostatok UV žiarenia,
- b) rezistencia kože na slnečné žiarenie, a tým znížená syntéza vitamínu D,
- c) nízky prírod vitamínu D potravou,
- d) pri významnej proteinúrii strata $25(\text{OH})\text{D}_3$ a iných metabolitov vitamínu D do moču.

Z hľadiska rozvoja sekundárnej hyperparatyreózy a renálnej osteodystrofie je najvýznamnejšia prevencia a liečba deficitu vitamínu D. V súčasnosti sú vypracované odporúčania na jeho suplementáciu už vo včasných fázach renálneho ochorenia, na základe koncentrácie $25(\text{OH})\text{D}_3$ v plazme. Ak u pacientov s chronickým ochorením s mierne alebo stredne závažným poklesom renálnych funkcií klesne koncentrácia $25(\text{OH})\text{D}_3$ pod 30 ng/ml je potrebné začať suplementáciu vitamínom D (cholecalciferol).

U pacientov, u ktorých sa vyvíja sekundárna hyperparatyreóza (koncentrácia PTH je nad odporúčanú hodnotu pre dané štádium CKD) a majú dostatočnú koncentráciu $25(\text{OH})\text{D}_3$, začína sa liečba aktívnym vitamínom D, kalcitriolom alebo analógom vitamínu D parikalcitolom.

Nedostatok/deficit $25(\text{OH})\text{D}_3$ sa vyskytuje u pacientov s CKD už vo včasných štádiách renálneho ochorenia. V našom súbore 87 pacientov s CKD v štádiu 2-4 malo 83 % pacientov koncentráciu $25(\text{OH})\text{D}_3$ menej ako 30 ng/ml. Ročná suplementácia cholecalciferolom v dvoch testovaných dávkach (5 000 IU/týždeň a 20 000 IU/týždeň) významne zlepšila status vitamínu D, zvýšila sa koncentrácia $25(\text{OH})\text{D}_3$ (viac po vyššej dávke), menej významne aj $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ a poklesol PTH. Pri oboch dávkach sme nezistili žiadne nežiaduce účinky na kalciumfosfátový metabolizmus.

Suplementácia bežným vitamínom D (cholecalciferolom alebo ergocalciferolom) sa zapracovala do medzinárodných odporúčaní KDIGO (Kidney Disease Improving Global Outcome) pre prevenciu a liečbu minerálových a kostných porúch u pacientov s CKD.

MIKROALBUMINÚRIA, MARKER RIZIKA DIABETICKE NEFROPATIE

Mathéová E.¹, Fedorová E.²

¹Katedra laboratórných vyšetrovacích metód VŠ
ZaSP sv. Alžbety, n.o. Bratislava

²Oddelenie klinickej biochémie a hematológie
Nemocnica Pro Vitae, n.o. Gelnica

Diabetická nefropatia (DN) je jednou z najzávažnejších mikroangiopatických komplikácií cukrovky (DM). Približne u 25-40 % pacientov s DM 1. typu a u 10-20 % diabetikov 2. typu sa vyvinie klinicky manifestná DN. Podiel diabetikov na liečbe nahradzujúcej funkciu obličky na hemodialýze, peritoneálnej dialýze alebo transplantácii obličiek na Slovensku je 28 %.

Klinicky manifestná nefropatia je definovaná prítomnosťou albuminúrie v hodnotách nad 200 ug/min., ktorá dáva pozitívnu reakciu kvalitatívnym určením bielkovín v moči. Ukázalo sa, že rozvoj renálnej patomorfologie a pokles funkcie obličiek je proces dlhodobý, trvá 5-15 rokov. Je doprevádzaný postupným zvyšovaním albuminúrie nad hodnoty referenčné (< 20 ug /min). Fenomén mikroalbuminúrie je definovaný prítomnosťou albumínu v moči v hodnotách od 20 do 200 ug/min. kedy sú kvalitatívne vyšetrenia na proteinúriu negatívne. Mikroalbuminúria charakterizuje obdobie predklinickej manifestácie, incipientnej DN, kedy je možné správnou terapiou spomaliť alebo zastaviť proces rozvoja nefropatie.

Laboratórna imunoturbidimetrická metóda vyšetrenia mikroalbuminúrie je dostatočne citlivá, rýchla a presná v určovaní nízkej koncentrácie albumínu. Renálna exkrécia albumínu U_{alb} (ug/min) sa vyšetruje v zbieranej nočnej frakcii moču a index mikroalbuminúrie $U_{alb}/U_{kreatinín}$ (ug/mmol) vo vzorke jednorázového prvého ranného moču

Vyšetrenie mikroalbuminúrie sa doporučuje u pacientov s DM 4x ročne. Včasný skrining mikroalbuminúrie, účinná možná liečba incipientnej DN spolu s optimálnou glykemickou kompenzáciou sú dôležité nástroje v prevencii rozvoja klinicky manifestnej DN.

STANOVENIE VOĽNÝCH ĽAHKÝCH REŤAZCOV V SÉRE U NEFROLOGICKÝCH PACIENTOV

Đurovcová E.¹, Palfiová A.²
Bertová D.¹, Guzy J.³

¹LABMED a.s., Laboratórna diagnostika, Košice

²Nefrologická klinika Logman,a.s., Košice

³Ústav lekárskej chémie, biochémie, klinickej biochémie
LF UPJŠ, Košice

ÚVOD

Kvantitatívne stanovenie voľných ľahkých reťazcov (free light chains - FLC) v sére je pevnou súčasťou diagnostiky a monitorovania priebehu monoklonových gamapatií (MG). Nakoľko obličky zohrávajú v problematike MG významnú úlohu, pribúdajú skúsenosti s využitím vyšetrenia aj u nefrologických pacientov. Medzi klinické manifestácie FLC proteinúrie patria: asymptomatická LC proteinúria, dysfunkcia proximálnych tubulov - Fanconiho sy, myelómová oblička (akútna tubulárna nekróza), amyloidóza a choroba z ukladania ľahkých reťazcov (LCDD).

CIEĽ

- A. Vyhodnotiť na súbore pacientov za obdobie 2,5 roka indikácie na vyšetrenie FLC zo strany nefrologického pracoviska,
- B. preveriť na vlastnom súbore referenčné hodnoty pre pomer kappa/ lambda FLC u pacientov so zníženou glomerulárnou filtráciou.

METÓDY

Za obdobie máj 2007 - december 2009 sme vyšetřili FLC metódou Freelite® Binding Site UK na nefelometri Image Beckman Coulter u 342 pacientov spolu 1320-krát.

V skupine 66 pacientov z hemodialyzačného pracoviska a nefrologickej ambulancie boli v zdravotnej dokumentácii dohľadané indikácie na vyšetřenie FLC. Nakoľko patologický pomer FLC sa vyskytol u nefrologických pacientov bez dokázanej MG v 35%, preskúmali sme na vlastnej vzorke pacientov (n = 40) platnosť referenčných intervalov pre pomer kappa/lambda (K/L) FLC v sére.

VÝSLEDKY

- A. Indikácie na vyšetřenia FLC v sére u nefrologických pacientov tvorili:
 1. diferenciálna diagnostika proteinúrie,
 2. monitorovanie pacientov s diagnostikovaným MM a renálnym postihnutím vyžadujúcim liečbu,
 3. skrining amyloidózy a LCDD,
 4. iné. V sledovanom období boli zachytené 2 pacientky s amyloidózou.
- B. Pomer K/L bol preskúmaný u 40 pacientov (22 žien, 18 mužov, priemerný vek 57,2 roka, 24 liečených HD, 16 konzervatívne), ktorí boli rozdelení do 2 skupín podľa koncentrácie S-kreatinínu. V skupine s S-kreatinínom do 500 μmol/l sa pomer K/L-FLC pohyboval v rozmedzí 0,61-2,26, v skupine s S-kreatinínom nad 500 μmol/l v rozmedzí 1,01-2,64 v porovnaní s referenčnými hodnotami pre zdravých jedincov 0,26-1,65.

ZÁVER

Kvantitatívne stanovenie voľných ľahkých reťazcov v sére je užitočný diagnostický prostriedok aj v skupine nefrologických pacientov. Umožňuje diferenciálnu diagnostiku proteinúrie a vďaka vysokej senzitivite vyšetřenia diagnostikuje jedincov s atypickými formami MG, ktoré unikali klasickým elektroforetickým metódam. Podmienkou správnej interpretácie nálezov je použitie referenčných intervalov zohľadňujúcich retenciu FLC v sére v dôsledku poklesu glomerulárnej filtrácie.

PREANALYTICKÁ A POSTANALYTICKÁ FÁZA V KLINICKEJ BIOCHÉMII

Garanti sekcie

MUDr. Peter Sečník
MUDr. Vladimír Gažovič

PREANALYTICKÉ CHYBY Z POHLADU ODDELENIA KLINICKEJ FARMAKOLÓGIE VO FNLP KOŠICE

Fargašová J., Kašaiová A.
Kossuthová H., Klobušníková Z.

Oddelenie klinickej farmakológie
Fakultná nemocnica L. Pasteura, Košice

Nedodržanie a porušenie zásad správneho odberu sa len zriedka zverejňuje.

Informácií o laboratórnych chybách je v odbornej literatúre publikovaných málo.

Za obdobie 18 rokov (1992–2009) Oddelenie klinickej farmakológie spracovalo 136.620 vzoriek na vyšetrenie hladín liečiv, z toho bolo chybných 2.880 stanovení, čo je 2,10 % z celkového počtu vzoriek. Z toho bolo preanalytických chýb 82 % t.j. 2.361 stanovení, analytických chýb 5 %, t.j. 144 stanovení a postanalytických chýb 13 % t.j. 375 stanovení.

Najčastejšie preanalytické chyby z pohľadu OKF, FNLP Košice:

- chybná ordinácia lekárom
- pacient uvedený liek neužíva a bolo ordinované vyšetrenie hladiny lieku
- nesprávne dávkovanie lieku
- nesprávny čas odberu vzhľadom na užitie lieku
- odber realizovaný počas aplikácie liečiva, často z rovnakej kanyly
- zámena údajov pacienta
- nedostatočné množstvo a nedostatočná kvalita materiálu na vyšetrenie
- strata materiálu
- nevhodné nádoby na prepravu biologického materiálu
- nevhodná preprava biologického materiálu
- nedostatočná spolupráca s pacientom.

Nedodržanie týchto zásad spôsobuje:

- nespoľahlivosť laboratórnych analýz
- následnú pochybnú liečbu
- ohrozovanie zdravia pacienta.

POSTANALYTICKÁ FÁZA - AKÉ NÁSTROJE MÁME K DISPOZÍCII A AKO ICH VYUŽÍVAME?

Sečník P., Sečníková A.

Klinické laboratórium SK-Lab spol. s r.o.
Lučenec

Postanalytická fáza činnosti klinického laboratória sa obvykle definuje ako súbor činností a opatrení, zabezpečujúcich kontrolu, validáciu a interpretáciu výsledkov laboratórnych vyšetrení, vykonaných u príslušného pacienta. Súčasťou postanalytickej fázy je transfer výsledkov vyšetrení k indikujúcemu lekárovi a odborná komunikácia kompetentného personálu laboratória pri klinickej interpretácii výsledkov s ošetrovateľom. Postanalytická fáza zahŕňa i retrospektívne analýzy dát z informačného systému laboratória, slúžiace k edukácii personálu laboratória a taktiež ku vzdelávaniu lekárov, spolupracujúcich s laboratóriom v rámci seminárov, či iných vzdelávacích aktivít.

Postanalytická činnosť laboratória naväzuje na preanalytickú a analytickú fázu a tvorí tak jednotný celok z hľadiska organizácie, efektivity a kvality práce laboratória. Činnosti v rámci postanalytickej fázy sa dotýkajú všetkých odborných pracovníkov laboratória – od laborantov až po lekárov.

V práci uvádzame a hodnotíme nástroje a možnosti, ktoré máme pri činnostiach v rámci postanalytickej fázy v súčasnosti k dispozícii:

- možnosti, ktoré poskytujú súčasné informačné technológie:
 - na strane laboratória
 - na strane ošetrovateľského lekára
- aktivity laboratória v oblasti:
 - edukácie vlastného personálu
 - edukácie a komunikácie s lekármi spádového regiónu laboratória
- komunikácia (?) a spolupráca (?) laboratórií navzájom.

V širšom pohľade činnosť každého klinického laboratória - a týka sa to i postanalytickej fázy - ovplyvňujú a modifikujú aj:

- pacienti
 - ako koneční „utilizátori“ a často aj plátcovia laboratórných výsledkov
- inštitúcie, organizácie
 - inštitúcie pre postgraduálne vzdelávanie (školiace akcie, semináre...)
 - MZSR - legislatívne nástroje (odborné usmernenia, vyhlášky...)
 - Zdravotné poisťovne (plátcovia ZS, revízna činnosť lekárov)
 - Úrad pre dohľad nad zdravotnou starostlivosťou

V našej práci analyzujeme uvedené nástroje, činnosti a skutočnosti vzhľadom na aktuálnu situáciu a „špecifiká doby“. Našou snahou je načrtnúť pohľad do budúcnosti, poukázať na možnosti využitia dostupných, perspektívnych a niektorých dosiaľ pomerne málo využívaných zdrojov a nástrojov postanalytickej fázy.

ZABEZPEČENIE PREDANALYTICKEJ A POSTANALYTICKEJ FÁZY VO VEĽKOM LABORATÓRIU

**Stecová A., Belicová Z., Schenková K.
Vlniešková K., Búran J.**

Medirex, a. s. Bratislava

Medzi úlohy medicínskeho laboratória možno zaradiť zodpovednosť za predanalytické, analytické a postanalytické spracovanie biologického materiálu pacientov. V našom laboratóriu pracujeme v odboroch klinická biochémia, hematológia a trasfúziológia, klinická imunológia a lekárska genetika. Každý z týchto odborov má svoje špecifiká, ktoré musia byť rešpektované.

V rámci predanalytickej fázy sa treba venovať:

- požiadavke lekárov na vyšetrenia, teda zodpovedajúcej palete vyšetrení, rýchlosti dodania výsledku - turn-around time, kvalite vyšetrenia
- príprave pacienta, vrátane poučenia pacienta, spôsobu odberu biologického materiálu a odberovým systémom, označeniu materiálu, príprave a správneho vypísanie žiadanky

- zberu a transportu biologického materiálu so zameraním na dopravnú službu, dodržanie časových a teplotných podmienok transportu
- identifikácii pacienta v laboratóriu
- príprave vzoriek na vyšetrenie.

Spracované informácie o predanalytickej fáze poskytujeme všetkým spolupracujúcim lekárom a sestram formou tlačenej brožúry Predanalytická fáza, alebo na www.medirex.sk.

Analytická fáza zahŕňa predovšetkým:

- výber vhodnej prístrojovej techniky
- výber vhodnej analytickej metódy
- sledovanie analytickej kvality. Zavedený systém vnútorného monitorovania kvality je jedinečný v tom, že výsledky jednotlivých kontrolných materiálov sa odosielať priamo z analyzátorov do softvéru Consys, kde je možné ich v ktorejkoľvek chvíli zhodnotiť, prípadne zariadiť potrebné opatrenia. Samozrejmosťou je účasť v systémoch externého hodnotenia kvality tam, kde je to možné, alebo účasť na medzilaboratórných porovnávaníach pri ostatných metódach (napr. genetika).

Postanalytická fáza predstavuje:

- medicínsku validáciu výsledkov - tam, kde je to možné, posudzovanie trendov, prípadne automatickú validáciu
- preverovanie a spracovanie referenčných hodnôt
- interpretáciu a závery
- odosielanie výsledkov ošetrojúcim lekárom - prepojenie na nemocničné a ambulantné informačné systémy, vlastný systém „elektronického laboratória“ e-lab s on-line možnosťou preberania dát a odosielania zvalidovaných výsledkov priamo lekárovi pomocou internetového prepojenia konzultačné a konziliárne služby
- vzdelávanie vlastného personálu, ako aj spolupracujúcich lekárov a sestier formou pravidelných odborných seminárov, vydávaním metodických listov a iných odborných materiálov
- spoluprácu s príslušnými fakultami univerzít a vysokých škôl s cieľom pripravovať kádre v odboroch laboratórnej diagnostiky

**IX. KONGRES
SLOVENSKEJ SPOLOČNOSTI
KLINICKEJ BIOCHÉMIE
S MEDZINÁRODNOU ÚČASŤOU**

KOŠICE, 12.–14. MÁJA 2010

POSTERY

SLEDOVANIE INDIKÁTORA (ČI INDIKÁTOROV?) U METABOLICKÉHO SYNDRÓMU U PACIENTOV V INTERNEJ AMBULANCII

Balcová D.

Železničná nemocnica s poliklinikou Košice
Interná ambulancia

Metabolický syndróm (MS) označuje metabolické abnormality zapríčinené inzulínovou rezistenciou (IR). V čase sledovania pacientov boli k dispozícii diagnostické kritéria metabolického syndrómu podľa definície 1. National Cholesterol Education Program NCEP Adult Treatment Panel (ATP) III 2. International Diabetes Federation IDF spoločne s European Association for the Study of Diabetes (EASD).

1. ATP III bola IR vylúčená z kritérií MS pre jej zložitost merania. ATP III radí medzi kritéria MS päť dobre merateľných v klinickej praxi parametrov: obvod pásu (OP), hodnotu triglyceridov (TAG), koncentráciu HDL cholesterolu, tlak krvi (TK), glykémiu nalačno. K diagnóze MS je potrebných tri a viac z piatich uvedených parametrov, pričom zvýšená glykémia nalačno nemusí byť vždy prítomná
2. IDF + EASD sleduje 5 rovnakých parametrov, ale podmienkou je prítomnosť abdominálnej obezity a k tomu najmenej dva ďalšie rizikové faktory.

V období od 1.8.2008 do 30.10.2008 bolo na našej internej ambulancii vyšetrených celkovo 546 vo veku nad 18 rokov. Vyradovacím kritériom boli gravidné ženy a akútne stavy ohrozujúce život pacienta. V ďalšom období bola sledovaná táto skupina pacientov pri svojich kontrolách až do júna 2009. Bol sledovaný výskyt MS porovnaním kritérií NCEP ATP III oproti IDF + EASD, nárast/pokles výskytu MS v čase (sledovanie zaradených pacientov až do júna 2006) a nárast/pokles výskytu MS v závislosti od edukácie pacienta lekárom v rámci bežnej kontroly alebo vydanými edukačnými materiálmi.

Snahou práce bolo priblížiť dôležitosť metabolického syndrómu, jeho rýchlej diagnostiky a formy edukácie v ambulancijnej praxi, liečby komorbidít v kontexte EBM (Evidence Based Medicine) s ohľadom na dôležitosť sledovaných laboratórnych či fyzikálnych parametrov.

DETEKCIA VASKULÁRNYCH MARKEROV V PERIFÉRNEJ KRVI PACIENTOK, S RÔZNYMI DRUHMI GYNEKOLOGICKÝCH MALIGNÍT NA ÚROVNI GÉNOVEJ EXPRESIE

**Bilecová-Rabajdová M.¹, Urban P.¹
Ostró A.², Mareková M.¹**

¹Ústav lekárskej chémie, biochémie, klinickej biochémie
a LABMED a.s., Lekárska fakulta UPJŠ Košice

²II. gynekologicko-pôrodná klinika Lekárskej fakulty
UPJŠ Košice

Karcinóm ovárií patrí medzi najčastejšie smrtiace rakovinové ochorenie ženských reprodukčných orgánov. Doba prežívania je približne päť rokov a pravdepodobnosť relapsu kolíše v rozmedzí 87,8% v prvom štádiu až po 18% v štvrtom štádiu. Prvé príznaky ochorenia sa prejavujú až v pokročilom štádiu s obmedzenými vyhlídkami na liečbu a značnou mortalitou.

Naším cieľom bolo sledovať zmeny expresie vybraných génov DR6 a GPM6B špecifických pre karcinóm vaječníkov v periférnej krvi žien s potvrdenou diagnózou rakoviny ovárií a porovnať tieto zmeny s hladinou expresie u zdravých pacientok. Zároveň sme sledovali špecifickosť spomínaných vaskulárnych markerov u pacientok s rôznymi druhmi gynekologických karcinómov.

Po izolácii RNA z leukocytov periférnej krvi sme reverznou transkripciou prepísali mRNA do cDNA. Zmeny génovej expresie génov DR6 a GPM6B boli detekované metódou PCR. Numerická kvantifikácia zmien hladiny expresie bola vyhodnotená programom DataSyngene.

Pri sledovaní expresie DR6 sme sledovali pacientky s už potvrdenou rakovinou ovárií a to biochemickou analýzou krvného obrazu a hladinou CA125. Oproti zdravým ženám sme zistili zvýšenú hladinu mRNA pre gén DR6, čo korelovalo s rastúcimi hladinami CA125 a rastom a šírením karcinómu. Naopak v hladine GPM6B sme zistili zníženú hodnotu oproti zdravým ženám.

Sledovanie hladín TVM prispeje k verifikácii a doplneniu výsledkov získaných sledovaním iných markerov (CA125) a umožní ich využitie pri hľadaní asymptomatických pacientiek (skrining) s nádorom v počiatočnom štádiu, pri diferenciálnej diagnostike a rovnako pri monitorovaní liečby.

URISED - PRÍNOS K VYŠETRENIU MOČOVÉHO SEDIMENTU

Drozda D.

Oddelenie klinickej biochémie
Nemocnica Košice-Šaca a.s., 1. súkromná nemocnica

Vyšetrenie močového sedimentu patrí k základným vyšetreniam v klinicko-biochemickom laboratóriu. Pretože vyšetrenie je potrebné urobiť do dvoch hodín po odbere je automatizácia vyšetrenia rozhodujúci faktor. Je tu štandardný postup s premiešaním vzorky, napietovaním presného množstva do kvety s následnou centrifugáciou a zosnímaním 15 záberov CCD kamerou. Software vyhodnotí snímky sedimentu, ktoré je možné obsluhou modifikovať. Pri hodnotení krvných elementov je vyhodnotenie softwarom spoľahlivé, určité rezervy sú pri hodnotení válcov a kryštálov.

Naše doterajšie skúsenosti s močovým analyzátorom URISED firmy Elektronika 77 sú pozitívne, problémy boli riešené s technikmi firmy.

URISED:

- zlepšuje ergonomiku práce laborantov
- urýchľuje vyšetrenie močového sedimentu s napojením on-line
- štandardizuje vyšetrenie
- kvantifikuje výsledky
- umožňuje postprocesing nálezu
- archivuje výsledky s možnosťou využitia pri výučbe personálu

TYPIZÁCIA PROTEINÚRIE - POROVNANIE TROCH METÓD

**Ďurovcová E.¹, Toperczerová M.²
Bertová D.¹, Vašková M.³, Guzy J.⁴**

¹Laboratórna diagnostika LABMED, a.s., Košice

²Nefrologická klinika Logman,a.s., Košice

³Pemax-Nefro, s.r.o, Bardejov

⁴Ústav lekárskej chémie, biochémie,
klinickej biochémie LF UPJŠ, Košice

ÚVOD

Včasná diagnostika a typizácia proteinúrie prispieva k rýchlejšej diagnostike vyvolávajúcej príčiny a umožňuje včasnejší začiatok liečby ochorenia.

CIEĽ

Porovnať efektívnosť typizácie proteinúrie pomocou 3 metód:

- SDS-AGE
- imunofixácia
- močovej exkrécie vybraných indikátorových proteínov stanovených nefelometricky.

METÓDY

72 močov pacientov s nefrologických pracovísk s celkovou proteinúriou od 200–13 200 mg/24 hod. bolo vyšetrených pomocou SDS-AGE (Hydragel Proteinuria Sebia). Typ proteinúrie bol u 40 vzoriek porovnávaný voči nálezu imunofixácie pomocou protilátok proti nízko- a vysokomolekulovým bielkovinám (Hydragel IF Sebia) a u 44 vzoriek pomocou exkrécie indikátorových proteínov - albumín, transferín, IgG, α 1-mikroglobulín, β 2-mikroglobulín v mg/mmol kreatinínu (imunoturbidimetria a nefelometria). Všetky 3 metódy boli realizované u 12 pacientov. Na 20 vzorkách bol porovnaný nález v zbieranom 24 hodinovom moči a jednorazovej vzorke (druhý ranný moč).

VÝSLEDKY

Zhoda SDS-AGE s imunofixáciou bola zistená v 29/40 prípadoch (72,5%), zhoda nálezu s metódou exkrécie indikátorových proteínov v 39/44 (88,6%). Porovnanie s klinickými diagnózami a bioptickými nálezmi (46 pacientov) potvrdilo najvyššiu prediktívnu hodnotu pri detekcii glomerulového alebo tubulointersticiálneho poškodenia metóde kvantitatívneho stanovenia indikátorových močových proteínov.

ZÁVER

Imunochemické metódy na stanovenie špecifických proteínov v moči a priniesli zlepšenie vo včasnej detekcii, prognostickom posúdení a monitorovaní ochorenia obličiek a močového traktu. Použitie niekoľkých indikátorových proteínov umožňuje vo väčšine prípadov umožniť kompletnú diferenciálnu diagnostiku proteinúrií a nahrádza časovo náročné a pracné elektroforetické metódy (SDS-PAGE/AGE).

HODNOTENIE MARKEROV ZÁPALOVÉHO PROCESU U ONKOLOGICKÝCH PACIENTOV PROSTREDNÍCTVOM VIAC-ROZMERNEJ ANALÝZY DÁT

Fraňo E.¹, Netriová J.²

¹Oddelenie klinickej biochémie
Všeobecná nemocnica Rimavská Sobota
²Oddelenie klinickej biochémie a hematológie
Nemocnica svätého Michala, Bratislava

Viacrozmerná analýza dát, taktiež nazývaná aj mnoho-rozmerná analýza dát (MDA), v súčasnosti predstavuje základný smer chemoinformatiky, cesty od dát (údajov) k poznaniu.

Tvorí hlavný prúd súčasnej chemometrie, interdisciplinárnej oblasti medzi chémiou, matematikou a informatikou, ktorá sa zaoberá exploratórnou analýzou nameraných údajov, klasifikáciou meraných objektov alebo mnohorozmernou kalibráciou.

Na zistenie vzájomného vplyvu markerov zápalového procesu (počet LEU, CRP, PCT...) u onkologických pacientov a stupňa malignity hodnoteného prostredníctvom karcinómového sérového indexu – sme použili analýzu hlavných komponentov a zhukovú analýzu zo skupiny zorazovacích metód MDA. Hodnotenie nameraných výsledkov sme rozšírili o lineárnu a kvadratickú diskriminačnú analýzu a logistickú regresiu – metódy patriace do skupiny klasifikačných metód MDA. Sledovalo sa 268 objektov s onkologickým ochorením. Na spracovanie údajov boli použité softvérové balíky Statgraphics Plus 5.1, Systat 12.0, SPSS 15 a Microsoft Excel 2003.

Pomocou metód MDA sa hodnotila diagnostická efektívnosť a zistili sa vzájomné korelácie medzi sledovanými parametrami u chorých a suspektne chorých osôb. Pri klasifikácii pacientov do tried podľa stupňa ochorenia sa získali veľmi dobré hodnoty percentuálnej úspešnosti zatriedenia (67–94 %) pre tréningové, ako aj validačné súbory dát. Vypočítané mnohorozmerné modely umožňujú predikciu zatriedenia patientskych vzoriek do zvolených kategórii.

VYUŽITIE FLUORESCENČNEJ ANALÝZY PRI DETEKcii CELIAKIE

Gajová A.¹, Feľková A.²
Mareková M.¹

¹Ústav lekárskej chémie, biochémie,
klinickej biochémie LF UPJŠ Košice
²LABMED, a.s., Košice

Celiakia je autoimunitné, geneticky podmienené ochorenie spôsobené neschopnosťou metabolizovať potravu, ktorá obsahuje bielkovinu lepok (glutén). U pacientov s týmto ochorením sa pri trávení gluténu tvoria štiepne peptidy, ktoré vyvolávajú tvorbu protilátok proti týmto peptidom aj proti vlastným bielkovinám. U dospelých pacientov je toto ochorenie často neskoro diagnostikované, keď už má pacient druhotné následky (napr. osteoporózu). Hlavný pokrok v diagnostike celiakie priniesli nové metódy stanovenia sérových autoprotilátok proti endomýziu a proti tkanivovej transglutamináze. Spektrum klinickej manifestácie a histologických zmien sliznice tenkého čreva je omnoho širšie, než sa predpokladalo. Dve z piatich klinických foriem celiakie (latentná a potenciálna) majú normálnu architektóniku sliznice a ich diagnóza sa opiera o stanovenie intraepiteliálnych lymfocytov a sérových protilátok.

U pacientov s klinicky potvrdenou celiakiou (stanovené protilátky) sme merali (Perkin Elmer LS 55) a vyhodnocovali fluorescenčné spektrá vo vzorkách krvného séra a moču, ktoré sme porovnávali so zdravou populáciou. Vytvorené excitančno-emisné matrice a koncentračné matrice tak vzoriek krvného séra ako aj moču celiatikov sa významne odlišujú od spektier vyšetrených u zdravej populácie. Predpokladáme, že existuje súvislosť medzi diagnostikou štádia celiakie a výsledkom fluorescenčnej analýzy. Takisto predpokladáme zmenu fluorescenčných spektier u latentných a potenciálnych foriem celiakie, čo bude cieľom nášho ďalšieho výskumu a snád' aj cestou k včasnej diagnostike týchto foriem.

ANALYTICKÁ PRESNOŠŤ NEPRIAMYCH METÓD STANOVENIA LDL-C. PRVÉ VÝSLEDKY MEDZINÁRODNEJ MULTICENTRICKEJ PROSPEKTÍVNEJ ŠTÚDIE

Gaško R.^{1,2}, Šimková O.³, Frigová V.⁴, Mocnejová I.⁵,
Krotká J.⁶, Horská M.⁷, Uhrínová E.⁸, Gašková Z.¹,
Piskayová R.¹, členovia skupiny IMLSG

¹Bioštatistická jednotka

²Oddelenie klinickej biochémie, ŽNsp Košice

³ŽNaP Bratislava

⁴NLS Svidník

⁵Cumulus Košice

⁶FNKV Praha, ČR

⁷LVN Košic

⁸FNLP Košice

POZADIE

V období október 2009 – marec 2010 prebiehala fáza zberu dát medzinárodnej multicentrickej prospektívnej štúdie, zameranej na určenie analytickej a diagnostickej presnosti stanovenia LDL-cholesterolu (LDL-C) stanovením nepriamou metódou podľa Friedewaldovej rovnice. Jedným zo sekundárnych výstupov je určenie a porovnanie analytickej presnosti ďalších nepriamych metód stanovenia LDL-C. Popisujeme metodiku zberu dát, výpočtu a prezentácie výsledkov.

METÓDY

Na štúdiu sa zúčastnilo 14 laboratórií. Každé poskytlo buď základnú sadu 200 údajov, alebo rozšírenú sadu až do 10 000 údajov. Na pilotnej vzorke z 2 laboratórií sa vypočítali LDL-C rovnicami podľa Friedewalda (F), Anandaraja (A), Hattoriho (H) a Ahmadiho (Ah). Metódami podľa Blanda a Altmana, Passinga a Babloka sa porovnal LDL-C meraný priamou metódou s jednotlivými nepriamymi metódami. Porovnal sa rozptyl výsledkov medzi laboratóriami.

VÝSLEDKY

Na pilotnej vzorke z 2 laboratórií sa prezentuje rozdiel vo výsledkoch LDL-C, ktoré poskytujú rôzne nepriame metódy. V laboratóriu 1 boli rozdiely $\% \Delta \text{LDL-C}$ vyššie než $\pm 5\%$ u 56,5%, 72,8%, 57,2% a 89,5%, a vyššie než $\pm 10\%$ u 23,5%, 48,3%, 31,3% a 78,7% pre F, A, H, Ah voči priamej metóde. V laboratóriu 2 boli rozdiely $\% \Delta \text{LDL-C}$ vyššie než $\pm 5\%$ u 26,8%, 66,4%, 64,8% a 86,5%, a vyššie než $\pm 10\%$ u 6,8%, 39,5%, 19,9% a 74,7% pre F, A, H, Ah voči priamej metóde. Rozdiely v hodnotách medzi laboratóriami – ANOVA, $p < 0,001$.

ZÁVERY

Pilotná štúdia je zameraná viac na overenie metodiky spracovania výsledkov, ako na samotné výsledky. Predbežné výsledky potvrdzujú, že 1. Výsledky získané 4 nepriamymi metódami stanovenia LDL-C sú vzájomne výrazne odlišné. 2. Rozptyl rozdielov zásadne vplyva na klinické závery.

PRESNOŠŤ FRIEDEWALDOVEJ ROVNICE NA VÝPOČET LDL-CHOLESTEROLU JE PRIAMO ZÁVISLÁ OD CELKOVÉHO CHOLESTEROLU

Gaško R.^{1,2}, de Cordova C.M.J.³
Geletková S.¹

¹Oddelenie klinickej biochémie

²Bioštatistická jednotka

Železničná nemocnica s poliklinikou Košice, SR,

³Departamento de Ciências Farmacéuticas

Fundacao Universidade Regional De Blumenau, Blumenau,
Santa Catarina, Brazil

POZADIE

Celosvetovo najčastejšie používaným postupom ku stanoveniu LDL-cholesterolu (LDL-C) v praxi klinických laboratórií je výpočet založený na Friedewaldovej rovnici (FLDL-C). Je však popísaných a dobre zdôvodnených niekoľko obmedzení používania tejto rovnice. Mnohé štúdie popisali, že FLDL-C sa systematicky líši od LDL-C stanovovaného buď referenčnou metódou alebo niektorou z priamych metód (DLDL-C). Tieto štúdie ukazujú že rozdiely sú iba v časti koncentračného rozmedzia pre TG, LDL-C a VLDL-C. Táto štúdia porovnáva efekt koncentrácií celkového cholesterolu a triacylglycerolov na rozdiel medzi FDL-C a DLDL-C v dvoch veľkých súboroch zo Slovenska a Brazílie pri dodržaní podmienok platných pre použitie Friedewaldovho vzorca.

METÓDY

Hodnotili sme rozdiel medzi FLDL-C a DLDL-C ako $\% \Delta \text{LDL}$ v dvoch súboroch. Prvý, 10 324 pacientov ambulantných aj lôžkových oddelení z Košíc (DLDL-C meraný metódou Wako, Pliva Lachema Diagnostika), druhý, 10 324 pacientov ambulantných aj lôžkových oddelení z Blumenau, Santa Catarina, Brazília (DLDL-C meraný metódou Wako, DiaSys).

VÝSLEDKY

Súbor Košice: Δ LDL \pm SD bolo $-13.3 \pm 10.2\%$, Δ LDL líšiace sa o viac než $\pm 5\%$ bolo u 79.6% pacientov a o viac než $\pm 10\%$ bolo u 56.1% pacientov.

Súbor Blumenau: Δ LDL \pm SD bolo $8.5 \pm 14.6\%$, Δ LDL líšiace sa o viac než $\pm 5\%$ bolo u 82,9% pacientov a o viac než $\pm 10\%$ bolo u 61,2% pacientov. U oboch súborov koncentrácia celkového cholesterolu priamo úmerne ovplyvnila Δ LDL.

ZÁVERY

Pri dodržaní podmienok použitia Friedewaldovho vzorca sa hodnoty získané DLDL-C a FLDL-C výrazne líšia podľa koncentrácií celkového cholesterolu a triacylglycerolov v oboch dátových súborov. Pri hodnotení pacientov s hyperlipidémiou môže výpočet podľa Friedewalda podceňovať riziko aterosklerózy.

SÚ CIRKULUJÚCE MIKROPARTIKULY MARKEROM ALEBO RIZIKOVÝM FAKTOROM ISCHEMICKÝCH PRÍHOD?

Kollár J.

Lekárska fakulta
Univerzity P. J. Šafárika, Košice

Štúdium funkcií mikropartikul a zavádzanie poznatkov o nich do praxe je vysoko aktuálne odkedy sa zistilo, že ich zvýšené množstvá v cirkulácii a substancie nachádzajúce sa v nich determinujú promóvanie aterosklerózy, malígnych tumorov a iných závažných ochorení. Z tohto dôvodu sa považujú za dôležitý diagnostický a prognostický marker akútnych koronárnych syndrómov.

Impakt mikropartikul (MPs), veľkých okolo 1-mikrometra na funkcie cieľových buniek a na vaskulárnu homeostázu je nad očakávanie intenzívny, a to je dôvod ich systematického detailného skúmania. Majú buď deštruktívny, resp. protektívny efekt, v závislosti od substancií obsiahnutých v nich, od ich stimulov a stimulov aktivovaných buniek. Mikrovezikularizácia bunkovej membrány ako dôsledok zintenzívňujúcich sa apoptotických stimulov je prejavom poškodenia a následného formovania MPs. Ich nález aj u zdravých v minimálnom množstve je bežný jav, ale obzvlášť veľké ich množstvá sa zisťujú u viacerých závažných chorôb, lebo sa enormne zvýši deštrukcia bunkových membrán. Evolučným tlakom sa vyvinul jednoduchý, ale efektívny obranný systém voči ledovaným bunkovým membránam

a príľahlého cytosólu, a to tak, že v predstihu pred apoptózou odvrhne sa poškodená časť bunky skrze mikrovezikularizáciu, formovaním mikropartikul. Takto umne sa nastavil komunikačný systém medzi zdravými a poškodenými bunkami. V enormne zvýšenej miere sa formujú mikropartikuly v čase progresie aterosklerózy. Detekcia ich veľkého množstva, v súčasnosti dobre kvantifikovaného poskytuje spoľahlivé dôkazy o destabilizácii aterosklerotických plátoch. Okrem toho, je jedinečným markerom ich prognózovania. Váhu ich zvýšeného množstva porovnávajú významní znalci s váhou rizika metabolického syndrómu, resp. Framinghamskeho skóre či globálneho rizika.

Veľmi často pertraktovaná téma MPs obohacuje diagnostické možnosti a prognózovanie aktuálneho stavu okrem iných závažných chorôb aj aterosklerózy. Poznanie ich impaktu zaručuje obrovský vklad do jejčasnej detekcie.

RECEPTORY AKTIVOVANÉ PROLIFERÁTORMI PEROXIZÓMOV - ICH ROLA V REGULÁCII METABOLIZMU LIPIDOV

Kollár J.

Lekárska fakulta
Univerzity P. J. Šafárika, Košice

Nukleárne receptory aktivované proliferátormi peroxizómov (PPARs) modulujú transkripciou expresiu cieľových génov participujúcich na širokom spektre aktivít v metabolizme a diferenciácii buniek. Ich funkcie sú ľahšie chápané, ak sa rozoberajú cez prizmu molekulárnej biológie, lebo takýto modus umožňuje nazrieť do najsubtilnejších detailov ich regulácie.

PPARs sa aktivujú širokou paletou exogénnych ligandov, a v omnoho menšom rozsahu endogénnymi ligandmi. Nielen množstvá ligandov, ale aj ich formy stimulujú PPARs. Peroxizómy proliferujú účinkom stimulov proliferátorov, pričom ich stimuláciou sa promptne zaktualizováva potreba zintenzívniť oxidačný, resp. detoxikačný proces. Bez stimulov proliferácie peroxizómov sa nemôžu receptory aktivovať a vyslať posolstvá do odpovedajúceho elementu v PPARs (ERP) DNA o aktuálnej potrebe exprimovať cieľové - subalterné gény k produkcii proteínov - enzýmov potrebných k metabolizovaniu energetických zdrojov, resp. k detoxikácii škodlivín. Objasňovanie problematiky sa preferenčne z časovej tiesne koncentruje iba na impakt izoforiem PPARs na metabolizmus lipidov a lipoproteínov a iba okrajovo sa analyzuje homeostáza glukózy. Z klinického hľadiska je dôležité vedieť aký je spôsob

oxidácie mastných kyselín i ako a prečo vstupujú steroly do interakcií s PPARs. Dešifrovanie funkcií PPARs by poskytlo iba parciálny obraz o metabolizme lipidov bez poznania funkcií receptorov hepatálnych, retinoidných a farnezoidných, a toľž bez poznania funkcií korepresorov a supresorov izoforiem PPARs. PPARs by nemohli spĺňať metabolické funkcie ani bez kooperácie so selektívnymi modulátormi, čo poukazuje na ich kľúčový význam z dôvodu terapeutického ovplyvňovania aktivít PPARs.

Aj napriek zdanlivej zložitosti interakcií v metabolizme vôbec a nevšímajúc ani reguláciu homeostázy metabolizmu lipidov, jej detailné poznanie sa zdôvodňuje empiriou, lebo v dešifrovaní ich funkcií sú skryté návody pre efektívne intervencie porúch metabolizmu lipidov.

VÝZNAM INTRAOPERAČNÉHO STANOVENIA PARATHORMÓNU V CHIRURGII PRIŠTÍTNYCH TELIESOK

Kollárová E., Janoková E.

Nemocnica Košice-Šaca a.s., 1. súkromná nemocnica
Oddelenie klinickej biochémie

ÚVOD

Primárna hyperparatyreóza (PHP) je zapríčinená dlhodobou nadprodukciou parathormónu (PTH) zvyčajne z adenómu, ktorý produkuje PTH bez spätnej kontroly. Cieľom paratyreoidektómie je odstrániť postihnuté prištítne teliesko (1 alebo viac), ktoré produkuje abnormálne množstvo PTH. Práve tu sa dá výborne využiť samotný PTH na potvrdenie toho, že sa odstránilo celé abnormálne tkanivo. Na to slúži stanovenie intaktného PTH (iPTH) pred operáciou a 10 minút po resekcii prištítnej žľazy (PŽ). Indikáciou úspechu operácie je pokles PTH pod 50 %.

CIEĽ

Cieľom našej práce bolo zhodnotiť prínos intraoperačného stanovenia PTH u pacientov s PHP, ktorí podstúpili paratyreoidektómiu.

Súbor: Tvorilo ho 36 pacientov s PHP, ktorí boli operovaní na ORL oddelení v našej nemocnici v období od januára 2006 do marca 2010. Išlo o 7 mužov (19.4 %) vo veku od 18 do 74 rokov a 29 žien (80.6 %) vo veku od 40 do 70 rokov.

METÓDY

Na stanovenie iPTH sme použili dg. súpravu firmy Roche (ref. rozsah 15-65 ng/l). Analýzy sa vykonávali

na imunochemickom analyzátore ELECSYS 2010. Na stanovenie vápnika sme použili dg. súpravu firmy Roche (ref. rozsah: 2.15-2.55 mmol/l). Analýzy sa vykonávali na biochemickom analyzátore HITACHI 912.

VÝSLEDKY

Z celkového počtu 36 pacientov sa u dvoch (5.6 %) nepodarilo operačne odstrániť príčinu zvýšeného PTH, preto neboli zaradení do štatistického spracovania.

Priemerná predoperačná hodnota vápnika vo vyšetrovanom súbore 34 pacientov bola 2.79 mmol/l (2.39–3.18), pričom 8 pacientov (23.5 %) malo hodnotu vápnika v referenčnom rozsahu a 26 pacientov (76.5 %) malo zvýšené hodnoty, z nich 9 pacientov (26.5 %) malo hodnotu vápnika až nad 3 mmol/l.

Priemerná predoperačná hodnota iPTH bola 190.5 ng/l (77.1–539.0). Priemerná hodnota intraoperačne stanoveného iPTH bola 35.7 ng/l (3.6–133.1). Priemerný percentuálny pokles iPTH predstavoval 77.7 %.

ZÁVER

Intraoperačné stanovenie hladiny intaktného parathormónu má svoje nezastupiteľné miesto v chirurgii prištítnych teliesok, pretože významný pokles jeho hladiny po resekcii hyperfunkčnej žľazy alebo viacerých žliaz umožňuje chirurgovi potvrdiť kompletnosť resekcie a v prípade potreby zmeniť priebeh operácie.

JE CYSTATIN C VHODNÝM MARKEROM NA MONITOROVANIE FUNKCIE OBLIČIEK U TRANSPLANTOVANÝCH PACIENTOV?

Kováčová A.¹, Puškášová F.¹
Rosenberger J.², Grejtovská B.²

¹Laboratórna diagnostika, LABMED, a.s. Košice
²FRESENIUS, nefrologické a dialyzačné centrum, Košice

Cystatin C je neglykozylovaný bázický proteín zo skupiny inhibitorov cysteinových proteáz.

Jeho syntéza prebieha vo všetkých jadrových bunkách konštantnou rýchlosťou, nie je ovplyvňovaná zápalom, katabolizmom ani diétou. Je voľne filtrovaný glomerulami, kompletne resorbovaný a následne degradovaný v proximálnych tubuloch.

Cieľ práce: stanovenie cystatinu C u pacientov po transplantácii obličky a následné porovnanie so súčasne stanoveným sérovým kreatinínom. Porovnali sme tiež odhad GF podľa Grubba s metódou eGF vypočítanou podľa vzorcov MDRD.

METODIKA

Cystatin C sme stanovovali imunoturbidimetrickou metódou súpravou IMU-LA-TEST a kreatinín Jaffého reakciou na biochemickom analyzátore ADVIA 1650.

VÝSLEDKY

V čase od januára do marca 2010 sme vyšetrili 62 pacientov, ktorí sú po transplantácii obličky (37 žien a 25 mužov). Súbor bol nehomogenný, pretože pacienti boli v rôznom časovom úseku po transplantácii. Nameované koncentrácie cystatinu C boli od 0,88–4,05 mg/l. Z celkového počtu stanovení cystatinu C bolo 41 pozitívnych, t.z. nad referenčný rozsah 1,2 mg/l. Súčasne stanovené koncentrácie kreatinínu u žien boli v rozmedzí 65,7–280 umol/l a u mužov 88,5–295,3 umol/l. Odhad GF podľa Grubba v celej skupine 0,128–1,793 ml/s/1,73 m² a eGF (MDRD) 0,24–1,4 ml/s/1,73 m².

ZÁVER

Veľa odborných prác hovorí o tom, že sérové hladiny cystatinu C sa zvyšujú už pri malom poklese GF, skôr ako kreatinín v sére a z toho dôvodu je táto látka považovaná za citlivejší indikátor mierneho poklesu GF. Vzhľadom na zloženie a veľkosť súboru boli naše porovnania vzostupu oboch parametrov nad hornú hranicu referenčného rozpätia štatisticky nevýznamné napriek tomu, že koncentrácie cystatinu C stúpali výraznejšie. Štatisticky významná (chí kvadrát test) bola závislosť patologických hodnôt cystatinu C a kreatinínu.

BIELKOVINY METABOLIZMU ŽELEZA V DIAGNOSTIKE ANÉMII

**Netriová J., Balíková A.
Božek P.**

Oddelenie klinickej biochémie a hematológie
Nemocnica svätého Michala, Bratislava

Anémia je patologický stav charakterizovaný znížením hemoglobínu pod fyziologickú hodnotu. Nemusi byť zapríčinená primárnou poruchou krvotvorby, je častým sprievodným znakom mnohých ochorení. Zistenie príčiny jej vzniku je nevyhnutné pre úspešnú liečbu.

Anémia môžeme deliť z morfológického (pre klinickú prax nedostatočné) a etiopatogenetického (delenie podľa príčin a spôsobu vzniku) hľadiska. Najčastejšie vyskytujúcou sa anémiou je sideropenická anémia vznikajúca na základe nedostatku železa – základného prvku pri výstavbe hemu.

V organizme človeka sa železo nachádza v troch formách: funkčné (hemoglobín, myoglobín, cytochrómy, katalázy, peroxidázy), transportné (solubilný transferínový receptor, ferroportin, hepcidin) a zásobné (transferínové, ferritin, hemosiderin). Je vždy v chelátovanej forme viazané na bielkovinu. Ak nie je bezpečne uložené v proteíne, je pre organizmus toxické.

Zásoby stavu železa v organizme sa najčastejšie posudzujú na základe hodnôt sérového železa, ale jeho znížené hodnoty nie sú špecifickým ukazovateľom sideropénie a izolované vyšetrenie má malú výpovednú hodnotu. Preto sa toto vyšetrenie kombinuje s transferínom (TRF), saturáciou transferínu a ferritínom (Fer). Hodnota Fer síce odráža množstvo zásobného železa, ale je to súčasne parameter akútnej fázy a pri zvýšených hodnotách treba zhodnotiť, či v organizme neprebíha zápalová reakcia. Klinicky významné, pri diagnostikovaní anémie, sú znížené hodnoty. Najpresnejším ukazovateľom sideropénie sa javí solubilný transferínový receptor (sTfR), ktorý sa postupne zavádza do praxe. Množstvo cirkulujúcich transferínových receptorov je priamoúmerné ich počtu na povrchu buniek. U pacientov s poruchami zásob železa a so súčasným priebehom zápalovej reakcie má veľký diagnostický význam matematická kombinácia výsledkov vyšetrení sTfRf a Fer, tzv. index sTfR-Fer (pomer c(sTfR)/log c(Fer)), čo prezentujeme aj v predkladanej práci na základe skúseností z našej hematologickej ambulancie.

DŮKAZ LIKVOREY POMOCOU STANOVENIA KONCENTRÁCIE BETA TRACE PROTEÍNU

**Ondrkalová M.
Kalnovičová T., Turčáni, P.**

1. neurologická klinika FNŠP a Lekárskej fakulty
UK Bratislava

Likvorey, únik likvoru z likvorových ciest nosnou dutinou (rinorea), alebo uchom (otorea) vzniká najčastejšie traumatickým mechanizmom. Pri masívnom úniku likvoru vzniká posttraumatická likvorová hypotenzia, ktorá sa klinicky prejavuje podobne ako syndróm vnútrolebečnej hypertenzie. Pacient s rinoreou je ohrozený permanentnou intrakraniálnou infekciou a pri dlhom trvaní rinorey môže podľahnúť ascendentne vyvolanej meningitide.

Diagnostika likvorey predstavuje závažný problém v neuroológii, neurochirurgii a ORL. Diagnostika pomocou hodnotenia cytologického nálezu z dodaného biologického materiálu vrátane hodnotenia biochemických parametrov, t.j. glukózy, celkovej bielkoviny, kálie, chloridov a pod. diagnózu likvorey spofahlivo neumožňuje. Dôkaz likvorey stanovením transferínu bez naviazanej kyseliny

acetylneuraminovej – asialotransferínu, je komplikovaný skutočnosťou, že ľudský transferín vykazuje genetický polymorfizmus, ktorý spôsobuje pri rozdelení pomocou izoelektrickej fokusácie z množenie pásov jednotlivých foriem transferínu, ktoré je však pre časť populácie fyziologické. V súčasnosti sa pre svoju senzitivitu a rýchlosť akceptuje ako štandardná metóda pre dôkaz likvorey imunonefelometrické stanovenie koncentrácie beta-trace proteínu (BTP, prostaglandín D syntáza) v príslušnom biologickom materiále, paralelne aj v sére pacientov, čo je potrebné pre výpočet koeficientu BTP, ktorého zvýšenie nad hodnotu $Q > 2$ odhaľuje prítomnosť likvoru v analyzovanom biologickom materiále a predstavuje dôkaz likvorey. BTP sa produkuje intratekálne, hlavne v chorioidálnom plexe a leptomeningoch. Jeho koncentrácia v likvore (15 mg/L) je asi 30 krát vyššia ako v sére, čím sa BTP stáva výborným markerom likvorey. V predloženej práci prezentujeme imunonefelometrickú metódu stanovenia BTP na analyzátoře BN Pro Spec pomocou testu N Latex bTP (fy Siemens).

HODNOTY VYBRANÝCH STRESOVÝCH MARKEROV V KRVNOM SÉRE Odstavčiat PO APLIKÁCIÍ ŠALVIOVEJ SILICE

Poráčová J.¹, Maity S.², Vargová T.³
Blaščáková M.¹, Sedlák V.³

¹Centrum excelentnosti ekológie živočíchov a človeka
Prešovská univerzita v Prešove, Prešov

²Centre for Environmental Studies, Visva-Bharati
Santiniketan, India

³Katedra ekológie, Fakulta humanitných a prírodných vied,
Prešovská univerzita v Prešove, Prešov

V súvislosti s rôznymi ochoreniami, ktoré sa prejavili v poslednom období u rôznych druhov hospodárskych zvierat sa dostáva stále viac do popredia aktuálna otázka zdravotnej bezpečnosti a nezávadnosti bravčového mäsa. Niektoré liečivé rastliny a prírodné rastlinné zložky sa vyznačujú antistresovým účinkom, ktorého vplyv bol študovaný na rôzne orgánové systavy. Sekundárne metabolity znižujú reakciu na stres u zvierat a emocionálny stres u človeka. Fyziologické parametre odrážajú dôležité biologické a metabolické funkcie organizmu, ktoré citlivo reagujú na zmeny životného prostredia zvierat.

Fytogénne krmné aditíva predstavujú jednu z možností náhrady používania syntetických látok (napr. antibiotík) vo výžive a prevencii chorôb hospodárskych zvierat.

Modelový experiment bol zameraný na sledovanie účinku šalviovkej silice podávanej v krmive v podmienkach konvenčného chovu ošípaných plemena slovenská biela ušľachtilá x pietrain na vybrané stresové biomarkery

v krvnom sére. Odstav prasiatok bol vo veku 28. dní. Ošípané boli chované v kotercoch, bežným spôsobom pod matkou. Mikroklíma bola zabezpečovaná elektrickými kvočkami a vetraním. V experimente boli ciciaky rozdelené do dvoch skupín: kontrolná skupina (n = 7 ks) bola kŕmená ČOS1, ČOS2 bez prídavku silice, pokusnej skupine (n = 11 ks) bola podávaná do krmiva šalviová silica v koncentrácii 0,05 %. Uskutočnili sme štyri odbery – 0. (21. deň veku), 1. (28. deň), 2. (35. deň) a 3. (42. deň) odber. V krvnom sére odstavčiat sme sledovali vybrané stresové biomarkery – glukózu, triacylglyceridy, cholesterol, enzymatickú aktivitu AST (EC 2.6.1.1, aspartátaminotransferáza), ALT (EC 2.6.1.2, alanínaminotransferáza). V pokusnej skupine sme zistili štatisticky významné zmeny v koncentrácii glukózy medzi 0. a 3. odberom a medzi 2. a 3. odberom na hladine významnosti $P < 0,05$. Štatisticky významné zmeny boli zistené aj v koncentrácii triacylglyceridov – medzi 2. a 3. odberom, celkových bielkovín medzi 0. a 2. odberom, 1. a 3. odberom, 2. a 3. odberom.

DESIGNER DRUGS A SPICE – NOVÝ FENOMÉN?

Schmidtová K.

Synlab.SK s.r.o.
Bratislava

V rokoch 2006–2007 sa začali šíriť v krajinách EU informácie o zvyšujúcom sa záujme drogy nazvanej SPICE. Spice je rastlinná zmes, pôvodne určená ako vonná látka na vytvorenie príjemnej atmosféry. Zistilo sa, že niektoré takéto zmesi majú pri fajčení podobné účinky ako marihuana. Na internete boli dostupné všetky informácie a súčasne bolo možné drogu zakúpiť. Vzhľadom na nebezpečnosť užívania drogy je Spice už vo viacerých krajinách EU zákonom zakázaná. V prednáške sú prezentované účinné látky spice, účinkov na organizmus ako aj stav legislatívy v SR.

Designer drugs je názov pre skupinu psychoaktívnych látok, ktoré majú podobnú chemickú štruktúru ako „zakázané“ omamné a psychotropné látky. Vznikajú nepatrnými pozmeneniami molekuly tak, aby sa obíšiel zákon o drogách a mohli voľne predávať a užívať.

Typy zneužívaných látok, účinky a situácia v SR bude prezentovaná v prednáške.

Škodová J.¹, Vasilenková A.¹, Behúlová D.¹
Holešová D.¹, Perečková J.¹, Šalingová A.¹
Ostrožliková M.¹, Šebová C.¹, Hlavatá A.²
Fabriciova K.³, Bzdúch V.³, Kolníková M.⁴
Šaligová J.⁵, Potočnáková L.⁵, Hálová K.⁶
Gregová E.⁶, Chandoga J.⁷

¹Centrum dedičných metabolických porúch,
Detská fakultná nemocnica s poliklinikou Bratislava

²Detská klinika DFNSP Bratislava

³Detská klinika DFNSP Bratislava

⁴Klinika detskej neurológie DFNSP Bratislava

⁵Detská fakultná nemocnica Košice

⁶Fakultná nemocnica Banská Bystrica

⁷Centrum lekárskej genetiky FNSP Bratislava

ÚVOD

Organické acidúrie (OAU) sú autozómovo recesívne dedičné metabolické poruchy spôsobené deficitom cytozolového alebo mitochondriového enzýmu v intermediárnom metabolizme. Predstavujú skupinu ochorení, pri ktorých sa v telesných tekutinách hromadia karboxylové kyseliny bez voľnej aminoskupiny. Organické kyseliny (OK) vznikajú v dôsledku poruchy metabolizmu aminokyselín, mastných kyselín alebo sacharidov a spôsobujú intoxikáciu organizmu.

METÓDY A PACIENTI

Na diagnostiku OAU sa najčastejšie využíva spojená technika plynová chromatografia-hmotnostná spektrometria (GC-MS). Vo Fakultnej nemocnici v Banskej Bystrici sa stanovujú OK v moči jednoduchou plynovou chromatografiou od roku 1993.

V Centre lekárskej genetiky FNSP v Bratislave sa analyzujú metódou GC-MS od roku 1995. V Centre dedičných metabolických porúch DFNSP v Bratislave stanovujeme OK na prístroji GC-MS (ThermoFinnigan, USA) od roku 2003. Prezentujeme retrospektívnu analýzu všetkých pacientov s OAU v posledných 17 rokoch. V tomto období bolo na Slovensku zachytených, resp. monitorovaných spolu 35 pacientov.

VÝSLEDKY

Väčšina pacientov bola diagnostikovaná v novorodeckom veku a v priebehu prvého roka života, ojedinele v staršom detskom veku a adolescencii. V laboratórnych nálezoch pacientov dominovali metabolická acidóza, hyperamonémia, ketóza, hypoglykémia, hyperlaktatémia, neutropénia. Najčastejšie klinické príznaky boli vracanie, neurologické symptómy, problémy s kŕmením. Doteraz bolo

na Slovensku diagnostikovaných, resp. monitorovaných 9 pacientov s metylmalónovou acidúriou, 7 pacientov s propiónovou acidúriou, 2 pacienti s glutárovou acidúriou I. typu, 6 pacientov s Canavanovou chorobou, 1 pacient s leucinózou (MSUD), 2 pacienti s 2-oxoadipovou acidúriou, 1 pacient s kompletným deficitom biotinidázy a 2 pacienti s parciálnym deficitom biotinidázy, 1 pacient s 3-metylglutakónovou acidúriou, 2 pacienti a mevalónovou acidúriou, 2 pacienti s pyroglutamovou acidúriou.

ZÁVER

Predpokladáme, že väčšinu pacientov s OAU na Slovensku sa zatiaľ nedarí diagnostikovať. Je to spôsobené predovšetkým nízkou informovanosťou klinických pracovníkov o možnostiach selektívneho skríningu týchto ochorení a tiež nedostatočnou vybavenosťou špecializovaných laboratórií sofistikovanou prístrojovou technikou.

ANALÝZA EXPRESIE GÉNOV ZAPOJENÝCH DO AKTIVÁCIE ALTERNATÍVNEJ CESTY APOPTÓZY PO ISCHÉMICKO-REPERFÚZNM POŠKODENÍ SLIZNICE TENKÉHO ČREVA

Urban P.¹, Bilecová-Rabajdová M.¹
Veselá J.², Mareková M.¹

¹Ústav lekárskej chémie, biochémie, klinickej biochémie
a LABMED a.s., Lekárska fakulta UPJŠ Košice

²Ústav histológie a embryológie, Lekárska fakulta UPJŠ
Košice

Ischémiá a následná reperfúzia (IR) sú stresové faktory, ktoré vo veľkej miere ovplyvňujú endoplazmatické retikulum (ER) a hladinu jeho génovej expresie. Dysfunkcia ER indukuje odpovede, ktoré cez aktiváciu kináz stimulujú anti-apoptický mechanizmus napr. aktivácia GRP78 (Bip), alebo pro-apoptický mechanizmus napr. aktiváciou Gadd153 (CHOP). Pri ischémií je aktivovaná RNA závislá eIF2 α kináza (PERK). Tá následne indukuje aktivačný transkripčný faktor 4 (ATF-4), ktorý indukuje proteín CHOP (GADD153) spúšťajúci apoptózu. Aktivácia CHOP je teda dôležitým krokom vedúcim k apoptóze buniek po ischemicko-reperfúznom inzulte. Dosiaľ neexistuje efektívny postup liečby ischemicky postihnutého tkaniva čreva, a preto je nevyhnutné študovať zmeny v poškodenom tkanive na molekulovej úrovni a pokúsiť sa definovať možné cesty vedúce k ochrane tkaniva.

Naším cieľom bolo analyzovať vplyv IR poškodenia epitelu tenkého čreva potkanov po 1 h. ischémii a následnej reperfúzií v časových periódach 1h, 24 h a 30 dní na hladinu expzie pro (gadd 153) a anti (Bip-) apoptických génov. Kvantifikácia zmien génovej expzie pro (GADD153) a anti (Bip) apoptických génov bola detekovaná na základe zmien hladín mRNA špecifických pre dané gény metódou RT-PCR. Po hodinovej ischémii a 1 hodinovej reperfúzií sme detekovali signifikantne zvýšenú hladinu mRNA pre gén GRP78. Oproti tomu hladina mRNA pre gén GADD153 vykazovala nárast oproti kontrole až 24 hodín po ischémii, čo naznačuje zapojenie proapoptickej signalizácie po neúspešných reparačných procesoch v epiteli tenkého čreva. 30 dní po ischémii došlo k obnove epitelu, a preto sme zistili hladiny mRNA oboch génov na úrovni kontroly.

DŮKAZ OLIGOKLONÁLNÝCH PROTILÁTKO METÓDOU IZOFOKUSÁCIE

Vindiš J., Gallová Z.
Strigáčová J., Bartková K.

Oddelenie klinickej biochémie a hematológie
Fakultnej nemocnice Trenčín

Mnohé ochorenia CNS sú sprevádzané zvýšenou koncentráciou proteínov v likvore. Pre klinickú prax tento údaj nie je postačujúci. Preto je dôležitou súčasťou likvorologického vyšetrenia podrobná analýza proteínogramu, ktorá zahrňuje aj stanovenie intratekálnej syntézy IgG a následné rozlíšenie polyklonálnej a oligoklonálnej tvorby IgG v CNS.

Diagnostický význam má stanovenie takých oligoklonálnych Ig, ktoré sa vyskytujú v likvore, ale v sére sa nevyskytujú. Takýto obraz je typickým znakom pre sklerózu multiplex. Kvalitatívne sa intratekálna syntéza IgG stanovuje izofokusáciou proteínov likvoru a séra s následnou imunochemickou detekciou oligoklonálnych IgG. Táto metóda je citlivejšia ako kvantitatívne stanovenie IgG nefelometriou a následný výpočet podľa Reibera.

HODNOTENIE GLOMERULÁRNEJ FILTRÁCIE NA ZÁKLADE VÝPOČTOV ZO SÉROVEJ KONCENTRÁCIE CYSTATÍNU C A KREATINÍNU

Mocnejová I.¹, Popik V.¹, Fedorová E.¹
Ráč O.^{1, 2}, Lepej J.³, Lepejová K.⁴

¹Cumulus s.r.o., Košice

²Ústav patologickej fyziológie

UPJŠ Lekárska fakulta, Košice

³Inštitút nukleárnej a molekulárnej medicíny, Košice

⁴Roche Slovensko s.r.o.

ÚVOD

Presné stanovenie glomerulárnej filtrácie (GF) je u ambulantných pacientov náročná úloha (problémy s presným zberom moču a i.). Preto je snahou čo najpresnejšie stanoviť GF odhadom zo sérovej koncentrácie látok, ktoré sa v organizme vytvárajú stálou rýchlosťou a obličkami sa len filtrujú. Kreatinín túto podmienku nespĺňa. Cystatín C je nízkomolekulový proteín filtrovaný glomerulami. Jeho vylučovanie do krvi je nezávislé na svalovej hmote a preto sa ukazuje ako spoľahlivý parameter pre stanovenie funkcie obličiek.

CIEĽ

V našej práci sme porovnali výsledky odhadu GF z hodnôt cystatínu C podľa Grubbovej rovnice s odhadom GF zo sérového kreatinínu (S-kr), podľa rovnice MDRD (Modification Diet Renal Disease).

MATERIÁL A METÓDA

Vyšetřili sme súbor 142 pacientov s hodnotou S-kr vyššou ako sú referenčné hodnoty pre daný vek. V súbore bolo 64 mužov a 78 žien vo veku 18 až 93 rokov, vekový priemer 61,6 rokov. Celkový počet vyšetření bol 157.

Cystatín C sme vyšetřovali turbidimetrickou metódou a S-kr Jaffého kompenzovanou kinetickou metódou fotometricky, obidva setmi firmy ROCHE na prístroji Integra 800.

Výsledky a diskusia: Priemerná hodnota sérového kreatinínu v súbore bola 123,3 $\mu\text{mol/l}$, cystatínu C 1,14 mg/l a bola medzi nimi silná, štatisticky významná korelácia. Na druhej strane priemerná hodnota GF počítaná z S-kr podľa MDRD bola 57 ml/min a GF počítaná podľa Grubba z cystatínu C 93,2 ml/min. Výrazný rozdiel medzi takto počítanými výsledkami pramenil predovšetkým z toho, že pri koncentráciách Cystatínu C v rámci referenčných hodnôt Grubbova rovnica dáva abnormálne vysoké hodnoty GF. Pri vyšších hodnotách Cystatínu C je zhoda medzi dvoma spôsobmi výpočtu dobrá.

ZÁVER

Na základe našich skúseností odporúčame u pacientov, kde môže byť hladina kreatinínu ovplyvnená inými faktormi stanoviť aj hladinu cystatínu C. Je však potrebné prehodnotiť platnosť Grubbovej rovnice na výpočet GF v oblasti referenčnej hodnôt Cystatínu C. V prípade klinickej nezhody alebo výrazného rozdielu výsledku vypočítanej GF obomi metódami, je vhodné indikovať scintigrafiu ^{99m}Tc-DTPA alebo stanovenie GF pomocou iných exogénnych látok, ktoré sú považované za nezávislejšie hodnotenie a môže nám významne pomôcť pri záverečnom hodnotení glomerulárnej filtrácie.

IL-6 V DIAGNOSTIKE ZÁPALOVÝCH REAKCIÍ - PRVÉ SKÚSENOSTI

Netriová J., Zeliská H., Božek P.

Oddelenie klinickej biochémie a hematológie
Nemocnica svätého Michala, Bratislava

Interleukín 6 (IL-6) je glykoproteín s Mr 26 kDa. Patrí do skupiny cytokínov, „informačných molekúl“ polypeptidovej štruktúry s prevažne parakrinným a autokrinným pôsobením. Pôvodne bol popísaný ako diferenciálny faktor B-lymfocytov a induktor syntézy

imunoglobulínov. Ukázalo sa, že je totožný s hepatocyty stimulujúcim faktorom 1 a hlavným stimulatorom syntézy proteínov akútnej fázy. Ovplyvňuje reparačné deje a podporuje syntézu erytropoetínu. Abnormálna produkcia IL-6 je spojená s patologickými procesmi ako patogenéza nádorových ochorení (mnohočetný myelóm), chronické zápalové ochorenia na imunopatologickom podklade, infekcie. Koncentrácie v mozgomiešnom moku pomáhajú identifikovať bakteriálnu etiológiu meningitídy, koncentrácia v moči deteguje rejeckiu štepu po transplantácii. IL-6 je veľmi senzitívny, na systémovú bakteriálnu infekciu reaguje v priebehu 1,5–2 hod., hladiny prokalcitonínu sú detegované v priebehu 3 – 6 hod. a CRP v priebehu 6–12 hod. Má krátky biologický polčas, jeho koncentrácia po úspešnom zvládnutí infekcie rýchlo klesá na rozdiel od CRP. V kombinácii s PCT, ktorý je veľmi špecifický marker systémovej bakteriálnej infekcie, slúži na diferenciálnu diagnostiku zápalových procesov.

Vzhľadom na vysoké riziko bakteriálnych a plesňových infekcií pri závažných chirurgických zákrokoch a nemožnosti rýchleho vyšetrenia hemokultúr, sa vyšetrenie hladín PCT v kombinácii s CRP a v poslednom období aj s IL-6 v našej nemocnici stalo rutinnou záležitosťou, o čom svedčia aj prezentované kazuistiky (zvládnutie sepsy po rozsiahlom krvácaní z dýchacích ciest, sledovanie a zabránenie rozvoja bakteriálnej infekcie u pacienta s pokročilým karcinómom hrubého čreva, sledovanie pacienta so zdĺhavou obštrukčnou chorobou pľúc).

Včasný záchyt systémovej infekcie u pacienta znižuje náklady na dĺžku hospitalizácie a náklady vynaložené na ďalšie komplikácie spojené so včasným neodhalením infekcie.

IN EXTENZO
ČLÁNKY

HLADINY MALONDIALDEHYDU VO VZORKÁCH PLODOVEJ VODY ODOBRAJEJ V RÁMCI PRENÁTÁLNEJ DIAGNOSTIKY VÝVOJOVÝCH CHÝB PLODU

Kuračka Lubomír¹, Kalnovičová Terézia², Turčáni Peter²

¹Ústav lekárskej chémie, biochémie a klinickej biochémie
Lekárskej fakulty UK Bratislava

²Prvá neurologická klinika Lekárskej
fakulty UK Bratislava

SÚHRN

Analyzovali sme hladiny malondialdehydu (MDA) v plodovej vode odobratej v rámci prenatálnej diagnostiky vývojových chýb plodu. Zistili sme štatisticky významné zvýšenie koncentrácie MDA v plodovej vode u matiek s vyššími hodnotami alfafetoproteínu (MS AFP) a choriongonádotropínu (hCG) a nízkymi hodnotami estriolu (E3) v sére, a tiež pri zníženom pH a zvýšenej koncentrácii xantínu v plodovej vode. Výsledky poukazujú na prítomnosť oxidačného stresu pri uvedených patologických stavoch.

Kľúčové slová: plodová voda, malondialdehyd, xantín, kyselina močová, rizikové tehotenstvo.

SUMMARY

We analyzed the level of malondialdehyde (MDA) in amniotic fluids from subjects screened for foetal developmental errors. Significantly increased concentrations of MDA were observed in amniotic fluids of risk pregnancies with high maternal serum alpha-fetoprotein (MS AFP), high human chorionic gonadotropin (hCG) and low serum estriol (E3) and also in amniotic fluids with increased xanthine levels and low pH. These results suggest presence of oxidative stress in the above mentioned pathologic states.

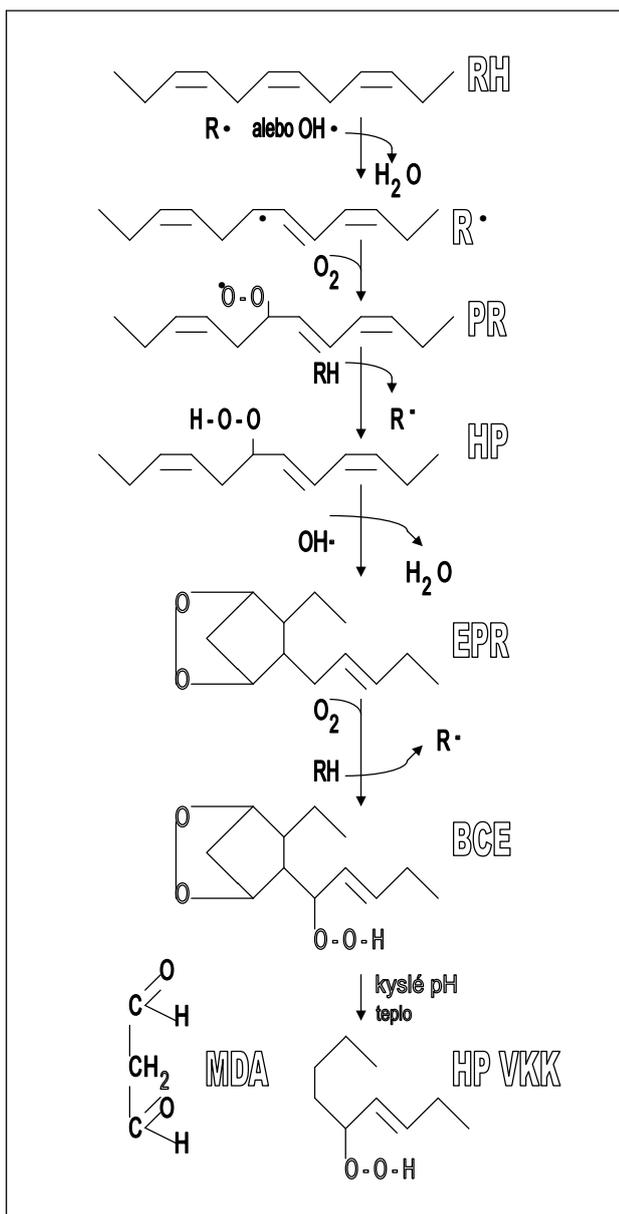
Key words: amniotic fluid, malondialdehyde, xanthine, uric acid, risk pregnancy

ÚVOD

Viacero štúdií poskytlo dôkazy, že v patomechanizmoch niektorých patologických tehotenstiev (preklampsia, diabetes mellitus, hypotrofia plodu, Downov syndróm), ako aj u perinatálnych ochorení novorodencov (bronchopulmonálna dysplázia, nekrotizujúca enterokolitída, retinopatia, intraventrikulárna hemorágia) zohráva

významnú úlohu oxidačný stres (2,5,7), ktorý vzniká pri nerovnováhe medzi tvorbou voľných radikálov a od nich odvodených reaktívnych metabolitov a aktivitou obranných systémov (antioxidantov), ktoré eliminujú toxický dopad ich účinkovania. Reaktívne formy kyslíka a dusíka môžu atakovať väčšinu bioštruktúr a poškodzovať v nich lipidy, bielkoviny a DNA. Poškodenie nenasýtených mastných kyselín v lipidoch (lipoperoxidácia) vedie k zániku dvojitych väzieb a k tvorbe reaktívnych metabolitov, čo má za následok zmenu fluidity membrán, a tým aj ich permeability. Peroxidáciou lipidov membrán vznikajú rôzne produkty (konjugované diény, lipidové hydroperoxydy, TBARP, alkány, izoprostány), ktoré môžu byť príčinou rôznych patologických stavov, alebo ako ich dôsledok a spôsobovať sekundárne poškodenie buniek a orgánov. Pri posudzovaní oxidačného stresu a účasti voľných radikálov na patologických stavoch organizmu spojených s lipoperoxidáciou sa najčastejšie používa produkt oxidačného poškodenia vyšších nenasýtených karboxylových kyselín, malondialdehyd (MDA).

MDA, 3-uhlikatý produkt lipoperoxidácie (Obr. 1) a aktivácie cyklu kyseliny arachidonovej sa najčastejšie používa ako indikátor peroxidačného poškodenia bunkových membrán. Je to genotoxická bifunkčná látka, ktorá spôsobuje zosieťovanie (crosslinking) a polymerizáciu proteínov a nukleotidov, čo spôsobuje zmenu vlastností bunkových membrán, zníženie membránového potenciálu a ich priepustnosti pre ióny a organické zlúčeniny (11). Na stanovenie MDA sa najčastejšie používa spektrofotometrické, alebo fluorometrické stanovenie farebného komplexu MDA s kyselinou tiobarbiturovou (TBA). Pri reakcii MDA s TBA vzniká kondenzačný produkt 2 molekúl TBA s jednou molekulou MDA ružovej farby, ktorý má absorpčné maximum pri vlnovej dĺžke 532 nm. Táto reakcia je nešpecifická, pretože s TBA môže reagovať veľa látok, ktoré nemajú vzťah k lipoperoxidácii (cukry, močovina, biliverdín, aminokyseliny) a tvoriť absorpčný pás okolo 530–550 nm. Preto je vhodnejšie pri spektrofotometrickom a fluorescenčnom stanovení tieto produkty označovať ako látky reagujúce s kyselinou thiobarbiturovou (TBARS – thiobarbituric



Obr. 1. Peroxidácia nenasýtených vyšších karboxylových kyselín (VKK) lipidov

Peroxidácia membránových lipidov sa iniciuje účinkom akéhokoľvek faktora, ktorý má dostatočný potenciál vytrhnúť vodíkový atóm z metylénovej skupiny nenasýteného lipidu. Pôsobením hydroxylového radikálu (OH^*) sa z VKK odštiepi atóm vodíka a po preskupení dvojitych väzieb v molekule VKK vznikne lipidový konjugovaný diénradikál (R^*). Reakciou R^* s molekulovým kyslíkom vznikajú peroxidové radikály lipidov (PR), ktoré sú schopné prolongovať reakčný reťazec s novými molekulami lipidov za súčasnej tvorby lipoperoxidov. Primárnymi produktmi peroxidácie lipidov sú hydroperoxydy lipidov (HP), ktoré sú nestále a v bunke sa degradujú na sekundárne produkty (endoperoxidový radikál (EPR), bicyklický endoperoxid (BCE/ a pod.) Jedným z najviac zastúpených sekundárnych produktov je malondialdehyd (MDA), ktorý je schopný reagovať s aminskupinami lipidov (napr. s fosfatidyletanolaminom) a bielkovín a tvoríť koncový polymérny produkt lipoperoxidácie lipofuscín. Peroxidy lipidov a ich sekundárne produkty sa dostávajú do extracelulárneho prostredia. Ich zvýšené hladiny v biologických tekutinách zvyčajne indukujú poškodenie membrán buniek alebo tkanív.

reactive substances). Najjednoduchším spôsobom ako sa vyhnúť týmto interferujúcim vplyvom je analyzovať kondenzačný produkt TBA-MDA vysokoúčinnou kvapalinovou chromatografiou (HPLC) s fluorometrickou alebo spektrofotometrickou detekciou (11).

Cieľom našej práce bolo stanoviť metódou HPLC hladiny MDA v plodovej vode odobratej pre prenatalnú diagnostiku vývojových chýb plodu a na základe analýz MDA zhodnotiť účasť oxidačného stresu pri jednotlivých indikáciách rizikového tehotenstva.

PACIENTI A METÓDY

Vyšetrovaný súbor tvorilo 241 tehotenstiev, u ktorých bola amniocentéza zrealizovaná pre pokročilý vek matky ($n = 86$), zvýšené sérové hladiny alfa-1-fetoproteínu (MS AFP; $n = 66$), nízke hladiny MS AFP ($n = 27$), zvýšené hladiny celkového choriongonádotropínu (hCG; $n = 16$), znížené hladiny hCG ($n = 16$), znížené hladiny estriolu v sére (E3; $n = 14$), zvýšený MS AFP + znížený E3 ($n = 6$), zvýšený hCG + znížený E3 ($n = 12$), znížený hCG + znížený E3 ($n = 12$), zvýšený MS AFP + zvýšený hCG + znížený E3 ($n = 7$) a genetickú indikáciu ($n = 2$). Amniocentéza analyzovaného súboru bola vykonaná na II. Gynekologicko-pôrodnickej klinike LF UK v Bratislave.

Koncentrácia malondialdehydu (MDA) vo vzorkách plodovej vody sa stanovila modifikovanou vysokoúčinnou kvapalinovou chromatografiou (HPLC) podľa Knighta a spol. (6). Pred HPLC analýzou sa robila predúprava vzoriek. Lipoperoxidy prítomné vo vzorkách plodovej vody sa hydrolyzovali zriedenou kyselinou fosforečnou pri 100°C za vzniku MDA. Analyzoval sa komplex MDA-TBA, ktorý vznikol reakciou MDA s kyselinou tiobarbiturovou (TBA). Pred analýzou sa z plodovej vody odstránili proteíny precipitáciou s metanolom. Separácia MDA-TBA sa uskutočnila na kolóne Separon SGX C18 (150 mm, 5 μm) (Tessek, ČR) mobilnou fázou tvorenou fosfátovým tlmivým roztokom (50 mmol/L, pH = 6,0) a 35 % (v/v) metanolom. Separovaný MDA-TBA sa detekoval spektrofotometricky pri 532 nm. Do chromatografického systému sa injektovalo 100 μl supernatantu.

Hladiny xantínu v plodovej vode ($n = 68$) sme stanovili metódou HPLC podľa Kalnovičová a spol. (4). Izokratická separácia sa uskutočnila na kolóne Separon SGX C18 (300 mm, 7 μm), (Tessek, ČR), pri prietoku mobilnej fázy (60 $\mu\text{mol/L}$ KH_2PO_4 , pH 4,6, 0,5 % (v/v) metanol) 0,5 ml/min. Detekcia separovaných látok sa robila pri 254 nm. Do chromatografického systému sa injektovalo 50 μl supernatantu.

Výsledky prezentované ako aritmetický priemer (\pm SD) boli spracované štandardnými štatistickými postupmi (Kolmogoroffov-Smirnoffov test). Významnosť rozdielov medzi priemermi bola testovaná pomocou t-testu.

VÝSLEDKY

V Tab. 1 sú uvedené hladiny malondialdehydu (MDA) v plodovej vode u tehotenstiev, u ktorých bola robená amniocentéza pre pokročilý vek matky. Z tejto skupiny sme vyčlenili matky vo veku 35–36 rokov, z ktorých sme vytvorili kontrolnú skupinu. Táto kontrolná skupina sa použila aj pre porovnanie hodnôt MDA pri ďalších indikáciách rizikovej gravidity (Tab. 2). Výsledky analýz poukazujú, že hladiny MDA v plodovej vode stúpajú so zvyšujúcim sa vekom, ale toto zvýšenie nie je štatisticky významné (Tab. 1)

Tab. 1 Hladiny malondialdehydu (MDA; umol/L) v plodovej vode odobratej v 15. – 22. gestačnom týždni v závislosti od veku matky

Vekové skupiny	Priemerný vek (roky)	Gestačný týždeň	MDA
Skupina 1 (kontrola) (n=11)	35,8 +/- 0,4 (35-36) M = 36	17,5 +/- 0,7 (17-19) M = 17	0,094 +/- 0,07 (0,012-0,229) M = 0,099
Skupina 2 (n= 21)	37,8 +/- 0,8 (37-39) M = 38	17,8 +/- 0,8 (17-19) M = 18	0,138 +/- 0,062 (0,046-0,292) M = 0,134
Skupina 3 (n=16)	41,5 +/- 1,5 (40-45) M = 41	18,1 +/- 1,6 (15-22) M = 18	0,165 +/- 0,119 (0,047-0,549) M = 0,132
Skupina (1-3) (n=48)	38,7 +/- 2,4 (35-45) M = 38	17,8 +/- 1,1 (15-22) M = 18	0,148 +/- 0,103 (0,012-0,549) M = 0,134

V Tab.2 sú uvedené hladiny MDA v plodovej vode odobratej pre zvýšené, alebo znížené hladiny alfafetoproteínu v sére (MS AFP), zvýšené hladiny chorióngonadotropínu (hCG) v krvi matky a znížené hodnoty estriolu (E3). V porovnaní s kontrolnou skupinou (Tab. 1) sme zistili zvýšené hodnoty MDA pri všetkých sledovaných indikáciách (Tab. 2), ale signifikantné významné zvýšenie MDA ($p < 0,05$) sme zaznamenali len u skupín tehotenstiev so zvýšeným MS AFP, zvýšeným hCG, zníženým E3 a tripletom – zvýšený MS AFP a hCG + znížený E3 (Tab. 2). V analyzovanom súbore (n= 241) sa vyskytovalo 16 tehotenstiev so zníženým pH plodovej vody (pH 7,18 – 7,29). V porovnaní s kontrolnou skupinou boli pri zníženom pH plodovej vody hladiny MDA signifikantne vyššie, ale nedosahovali štatistickú významnosť v porovnaní s inými analyzovanými indikáciami (Tab. 2).

V tabuľke 3 sa nachádzajú hodnoty MDA pri zvýšených hodnotách xantínu (XAN), prekursoru koncového degradačného produktu purínových nukleotidov, kyseliny močovej (KM). Túto skupinu tvoria gravidity, u ktorých amniocentéza bola vykonaná pre zvýšené (n = 7), alebo znížené hodnoty MS AFP (n = 2), rizikový

Tab. 2. Hladiny malondialdehydu (MDA) v plodovej vode matiek s podozrením na rizikovú graviditu
*- $p < 0,05$

Indikácia	Vek (roky)	Gestačný týždeň	MDA (umol/L)
Zvýšený MS AFP (n=40)	26,0 +/- 5,2 (18-39) M = 25,0	18,8 +/- 1,1 (16-21) M = 19	0,215 +/- 0,17* (0,028-0,697) M = 0,183
Znížený MS AFP (n=25)	25,3 +/- 4,2 (19-34) M = 24	18,6 +/- 1,7 (16-22) M = 18,0	0,168 +/- 0,123 (0,041-0,608) M = 0,137
Zvýšený hCG (n=16)	24,0 +/- 5,0 (17-38) M = 24	18,9 +/- 3,4 (16-31) M = 18,5	0,293 +/- 0,248* (0,065-0,932) M = 0,162
Znížený E3 (n=14)	25,1 +/- 4,8 (20-36) M = 23	18,2 +/- 1,4 (15-21) M = 18	0,241 +/- 0,166* (0,011-0,496) M = 0,189
Zvýšený hCG Znížený E3 (n=12)	25,5 +/- 3,8 (22-33) M = 19	18,8 +/- 1,2 (17-21) M = 19	0,212 +/- 0,202 (0,047-0,788) M = 0,161
Znížený hCG Znížený E3 (n=5)	26,0 +/- 4,2 (21-32) M = 25	18,0 +/- 1,2 (17-21) M = 0,264	0,266 +/- 0,175 (0,054-0,492) M = 0,264
Zvýšený MS AFP Znížený E3 (n=6)	26,5 +/- 4,4 (21-32) M = 26	19,0 +/- 1,9 (17-21) M = 19	0,291 +/- 0,27 (0,087-0,788) M = 0,194
Zvýšený MS AFP Zvýšený hCG Znížený E3 (n=7)	23,6 +/- 4,2 (19-30) M = 22	18,4 +/- 0,5 (18-19) M = 18	0,220 +/- 0,148* (0,135-0,549) M = 0,162
Znížené pH plodovej vody (n=16)	28,3 +/- 5,9 (19-39) M = 28	17,9 +/- 0,93 (17-20) M = 18	0,235 +/- 0,162* (0,082-0,694) M = 0,211

vek (n = 3) a genetickú indikáciu (n = 2). Pre porovnanie hodnôt MDA sme si zvolili dve kontrolné skupiny s fyziologickými hodnotami xantínu v plodovej vode. Kontrolná skupina 1 bola vytvorená z tehotenstiev s rizikovým vekom, druhá kontrolná skupina z gravidít so zvýšenými hladinami MS AFP. V porovnaní s oboma kontrolnými skupinami boli zvýšené hladiny MDA v sledovanej skupine s rizikovou graviditou štatisticky významné (Tab. 3). V tejto rizikovej skupine tehotenstiev sme zaznamenali aj zvýšené hladiny kyseliny močovej (KM), ktoré však nedosahovali štatistickú významnosť a signifikantné zvýšenie pomeru XAN/KM (Tab.4).

DISKUSIA

Voľnoradikálová teória stárnutia predpokladá, že aktivita antioxidantných systémov sa s vekom znižuje

Tab. 3 Hladiny malondialdehydu (MDA, $\mu\text{mol/L}$) pri normálnych a zvýšených koncentráciách xantínu ($\mu\text{mol/L}$) v plodovej vode

Skupina pacientov	Xantín	MDA	Gestačný týždeň	Vek matky (roky)
Kontrolná skupina 1 (n= 35)	1,16 +/-0,42 (0,53-2,32) M = 1,12	0,132 +/-0,08 (0,036-0,34) M = 0,099	18,6 +/- 1,7 (16-22) M = 18	36,0 +/- 4,8 (16-47) M = 37
Kontrolná skupina 2 (n= 19)	1,18 +/-0,33 (0,72-2,0) M = 0,125	0,12 +/-0,05 (0,02-0,12) M = 0,125	18,7 +/- 1,7 (17-22) M = 19	22,8 +/- 3,8 (19-33) M = 22
Riziková skupina (n = 14)	3,31 +/- 1,12 (2,25-6,35) M = 2,91 $p1 = 3,79.10^{-8}$ $p2 = 1,99.10^{-7}$	0,369 +/-0,16 (0,100-0,745) M = 0,370 $p1 = 4,9.10^{-5}$ $p2 = 5,88.10^{-5}$	20,1 +/- 1,4 (18-22) M = 20	27,7 +/- 6,3 (19-37) M = 25,5

Kontrolná skupina 1 - fyziologické hladiny xantínu pri rizikovom veku gravidity, kontrolná skupina 2 - fyziologické hladiny xantínu pri zvýšených hladinách MS AFP, riziková skupina - zvýšené hladiny xantínu [pri zvýšených hladinách MS AFP (n=7), nízkych hladinách MS AFP (n=2), rizikovom veku (n=3), genetickej indikácii (n=2)]
p1 - (voči kontrole 1), p2 - (voči kontrole 2)

Tab. 4 Priemerné koncentrácie kyseliny močovej (KM) a pomer XAN/KM pri fyziologických (K1 a K2) a zvýšených (riziková gravidita) hladinách xantínu (XAN) a malondialdehydu (MDA) v plodovej vode

Indikácia	MDA/XAN ($\mu\text{mol/L}$)	KM ($\mu\text{mol/L}$)	XAN/KM.100
Rizikový vek (K1) (n= 35)	MDA 0,132 +/- 0,08 XAN 1,16 +/-0,42	236,7 +/- 51 (126,9-330,5) M = 229,7	0,51 +/-0,18 (0,28-0,85) M = 0,47
Zvýšená hladina MS AFP (K2) (n = 19)	MDA 0,121 +/- 0,05 XAN 1,18 +/- 0,33	226,2 +/- 50,9 (138,3-314,0) M= 220	0,54 +/-0,17 (0,3-0,9) M = 0,54
Riziková gravidita (n = 14) (viď tab. 3)	MDA 0,369 +/- 0,16 XAN 3,31 +/- 1,12	261,9 +/- 60,8 (182,9-364,8) M = 258,1 $p1 = 0,457$ $p2 = 0,4922$	1,36 +/- 0,71 (0,77-3,47) M = 1,14 $p1 = 3,07.10^{-7}$ $p2 = 4,97.10^{-6}$

p1 - vyjadrené voči skupine K1, p2 - voči skupine K2

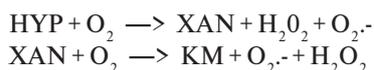
(zníženie aktivity superoxididizmutázy, glutationredukázy a koncentrácie glutationu) a zvyšuje sa tkanivová lipoperoxidácia (1). V tejto súvislosti nás zaujímalo, či sa tento trend odrazí v hladinách MDA v plodovej vode odobratej u gravidít pre rizikovú vekovú indikáciu (Tab. 1). Gravidity s rizikovým vekom sme rozdelili na tri vekovo odlišné skupiny, skupinu s vekom 35-36 rokov, skupinu s vekom 37-39 rokov a skupinu s vekom 40-45 rokov. Koncentrácia MDA v plodovej vode sa s vekom zvyšovala (Tab. 1), ale tieto zmeny neboli štatisticky významné. Zvýšené hladiny produktov lipoperoxidácie

u tehotných žien sa dávajú do súvisu so stúpajúcou hladinou sérových lipidov, ktoré sa spontánnou autooxidáciou menia na lipoperoxidy. Za ďalší možný zdroj lipoperoxidácie v tehotnosti sa považuje placenta. Lipoperoxidy sa tvoria trofoblastom a placentárnymi klkmi (10). Zvýšená produkcia voľných radikálov pri nedostatočnej antioxidačnej ochrane zapríčiňuje nielen proces nekontrolovanej lipoperoxidácie, ale účinkom oxidačného stresu môže dôjsť k poškodzovaniu ostatných významných biomolekúl v okolitých bunkových štruktúrach a tkanivách.

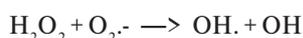
V rámci prenatalného skriningu vrodenných vývojových chýb sa v krvi matky vyšetruje v druhom trimestri alfafetoprotein (AFP), choriongonádotropín (hCG) a estriol (E3). V tejto súvislosti nás zaujímalo, aké hladiny MDA sú v plodovej vode pri jednotlivých izolovaných indikáciách amniocentézy a ich kombináciách (Tab. 2). V porovnaní s kontrolnou skupinou, ktorú sme vytvorili z matiek s rizikovou vekovou graviditou (vek 35-36 rokov) (Tab. 1), sa u všetkých sledovaných indikáciách vyskytovali v plodovej vode zvýšené hladiny MDA, ale štatistickú významnosť sme zaznamenal len u skupiny tehotenstiev so zvýšenými hladinami MS AFP, zníženom E3, pH plodovej vody a pri triplete - zvýšený MS AFP a hCG + zníženom E3.

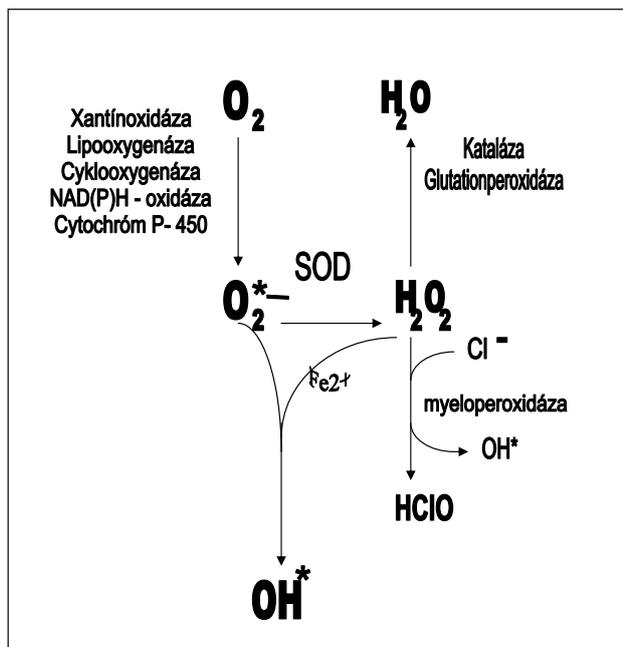
Výsledky analýz poukazujú, že rizikové parametre, ktoré boli indikáciou pre amniocentézu sa určitým spôsobom podieľajú na vzniku oxidačného stresu a následnej lipoperoxidácie, čo sa u týchto indikácii prejavuje zvýšenými hladinami MDA v plodovej vode. Aj keď sa o oxidačnom strese, jeho vzniku, príčinách a ochrane pred jeho toxicitou už veľa vie, presný mechanizmus jeho účinku pri vzniku alebo rozvoji s ním spojených ochorení sa prevažne nepozná. V súčasnosti sa predpokladá, že oxidačný stres nemusí mať vždy negatívne účinky. Nízka úroveň oxidačného stresu môže ovplyvniť regulačné signálne dráhy, ako je napr. aktivácia novej tvorby buniek, čo môže mať účinok na regeneráciu buniek. Na druhej strane silný oxidačný stres môže spôsobiť narušenie celistvosti a funkcie buniek, orgánov až celého organizmu. Zatiaľ nie je známa hranica, medzi týmito dvomi krajnými situáciami (1).

Jedným z hlavných zdrojov, ktoré podnecujú lipoperoxidáciu tvorbou voľných kyslíkových radikálov je aktivita xantinoxidázy spojená s produkciou xantínu a kyseliny močovej (Obr. 1, 2). Pri oxidácii hypoxantínu na kyselinu močovú za katalytického pôsobenia xantinoxidázy vzniká superoxidový radikál.



Tento superoxidový radikál môže ďalej reagovať s hydrogénperoxidom za vzniku vysoko reaktívneho OH. radikálu (8)





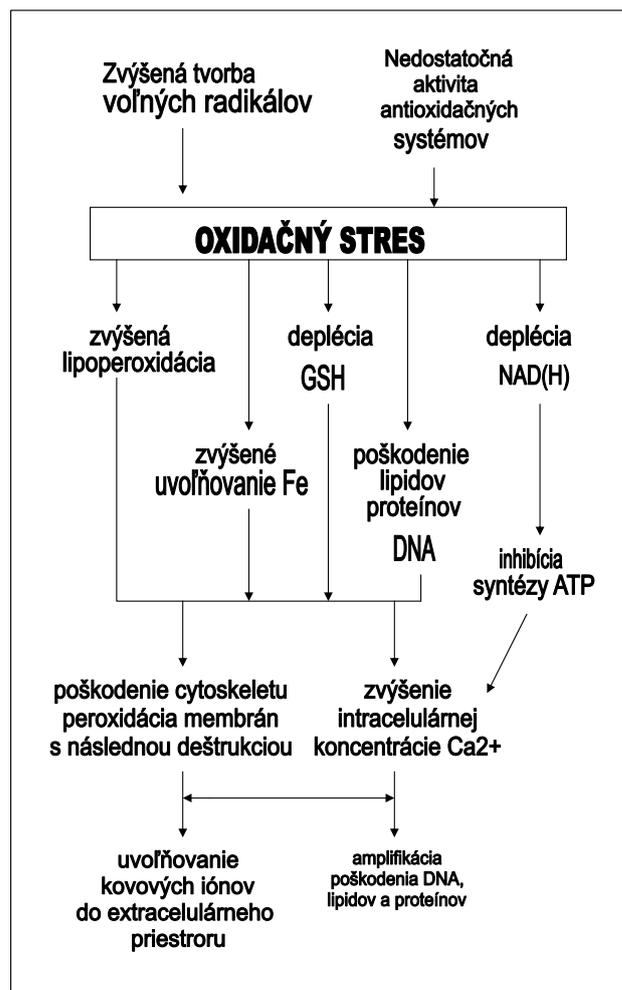
Obr. 2. Hlavné reakcie, ktoré vedú ku vzniku reaktívnych foriem kyslíka v bunke

SOD - enzým superoxididizmutáza

V tejto súvislosti nás zaujímalo, či sa hladiny MDA v plodovej vode budú líšiť medzi skupinou gravidít s fyziologickými hladinami xantínu a skupinou so zvýšenými hladinami xantínu v plodovej vode. V súlade s teoretickým predpokladom bola priemerná koncentrácia MDA pri zvýšenej hladine xantínu v plodovej vode asi 3-krát vyššia ako pri fyziologických hodnotách tohto metabolitu (Tab. 4). Zvýšené hladiny MDA a xantínu v plodovej vode (Tab. 4) boli asociované so signifikantne zvýšeným pomerom metabolitov XAN/KM (Tab. 4.). Zvýšené hladiny xantínu v plodovej vode môžu indikovať depléciu ATP. Xantín sa zvyšuje hlavne z guanínu a môže sa meniť nezávisle na jeho ďalšom prekuzore hypoxantíne (3). Kyselina močová, ktorá vzniká degradáciou xantínu sa signifikantne nelíšila od kontrolnej skupiny (Tab. 4). KM je účinný skavendžer molekúl, alebo radikálov oxidačného stresu, ktorý vzniká v tkanivách pri zvýšenej tvorbe voľných kyslíkových radikálov a pri nedostatočnej antioxidantnej ochrane organizmu (9). Nižšie hladiny KM v plodovej vode v porovnaní so xantínom môžu byť preto dôsledkom následných reakcií KM s cytotoxickými pôsobiacimi voľnými radikálmi.

ZÁVER

Analýza malondialdehydu v plodovej vode poukazuje, že pozitívny prenatálny skrining (zvýšený MS AFP, zvýšený hCG, znížený E3, znížené hodnoty pH plodovej vody) je asociovaný so zvýšenou lipoperoxidáciou, ktorá



Obr. 3. Oxidačný stres a následná kaskáda reakcií prebiehajúcich v bunke

je markerom oxidačného stresu v organizme. Zvýšená lipoperoxidácia bola zaznamenaná aj u tehotenstiev, u ktorých sa v plodovej vode zistili signifikantne zvýšené hladiny metabolitu purínových nukleotidov, xantínu. Prezentované výsledky poskytujú podnet pre ďalšie longitudinálne štúdium prípadov gravidít so zvýšenou hladinou degradačných produktov purínových nukleotidov v plodovej vode zameraného na klinické hodnotenie priebehu a ukončenia rizikovej gravidity.

LITERATÚRA

1. Droge, W.: *Free radicals in the physiological control of cell function*. *Physiol. Rev.* 2002; 82: 47-95.
2. Fellman, V., Raivio, K. O.: *Reperfusion injury as the mechanism of brain damage after perinatal asphyxia*. *Pediatr. Res.* 1997; 41(5):599-607.
3. Harkness, R. A.: *Hypoxanthine, xanthine and uridine in body fluids, indicators of ATP depletion*. *J. Chromatogr.* 1988; 429: 255-278.

4. **Kalnovičová, T., Divéky, L., Turčáni, P.:** HPLC measurement of purine nucleotide degradation products in amniotic fluid and its use in prenatal diagnosis. *J. Trace and Microprobe Techniques* 2001; 19(1): 169-174.
5. **Kharb, S.:** *Lipid peroxidation in pregnancy with preeclampsia and diabetes.* *Gynecol. Obstet. Invest.* 2000; 50: 113-116.
6. **Knight, J. A., McClellan, L., Staheli, J. K.:** *Cerebrospinal fluid lipoperoxides quantified by Liquid Chromatography, and determination of reference values.* *Clin. Chem.* 1990; 36(1): 139-142.
7. **Perrone, S., Longini, M., Bellieni, C. V. a spol.:** *Early oxidative stress in amniotic fluid of pregnancies with Down syndrome.* *Clin. Biochem.* 2007; 40:177-180.
8. **Saugstad, O. D.:** *Hypoxanthine as an indicator of hypoxia: its role in health and disease through free radical production.* *Pediatr. Res.* 1988; 23(2): 143-150
9. **Staub, M.:** *Uric acid as a scavenger in oxidative stress.* *Orv. Hetil* 1999; 140(6): 275-279.
10. **Šimko, M., Blažíček, P., Holomáň, K., Hollý, I., Bobáková, Z., Šuška, P., Sýrová, D., Štefaniková, M.:** *Sérové hladiny lipoperoxidov matiek počas pôrodu a v pupočníku novorodencov po pôrode.* *Praktická gynekologie* 2002; 3: 19-21.
11. **Zima, T., Štípek, S., Tesař, V., Nemeček, K., Mechurová, A.:** *Volné radikály v patogenezi vybraných onemocnění.* *Čas. Lék. Čes.* 1995; 134(10): 291-295.

UKAZOVATELE KOSTNÉHO METABOLIZMU U SLOVENSKÝCH PREMENOPAUZÁLNYCH ŽIEN

Stecová A.¹, Dobáková, E.¹, Payer J.², Killinger Z.², Kmečová, Z.³
Masaryk, P.⁴, Spustová, V.⁵, Tomková, S.⁶, Vaňuga, P.⁷, Kilián P.¹

¹Laboratórna diagnostika Medirex, a.s., Bratislava

²V.interná klinika Lekárskej fakulty Univerzity Komenského a Fakultnej nemocnice, Bratislava

³Roosveltova FNŠP, Banská Bystrica

⁴NURCH Piešťany

⁵SZU Bratislava

⁶Osteocentrum Košice-Šaca

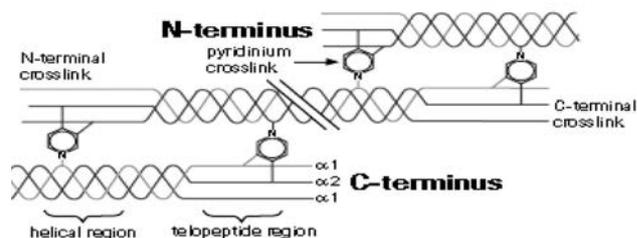
⁷NEDU Lubochňa

ÚVOD

Kostná hmota je modelovaná sústavnou činnosťou osteoblastov a osteoklastov, pričom osteoklasty rozpúšťajú minerálnu časť kosti a degradujú bielkovinovú matrix, osteoblasty vytvárajú bielkovinovú matrix kosti (8). Táto je zložená z kolagénu typu I, pyridinolinovými a deoxypyridinolinovými zvyškami naviazanými na kolagén, tzv. cross-links a bielkovinami nekolagénového typu, medzi ktoré patrí predovšetkým osteokalcín, osteonektín a niektoré ďalšie, z kvantitatívneho hľadiska minoritné zložky. Minerálnu časť kosti tvoria vápnikové soli vo forme hydroxyapatitu. Minerálne zložky tvoria až 70% hmotnosti kosti. Determinujúcou súčasťou kosti z hľadiska jej biomechanických vlastností a integrity je kolagén, ktorý sa nachádza v kostných kavitách, vo vnútri jemnej štruktúry kosti. Jeho úlohou je predovšetkým zlepšenie mechanických vlastností kosti a zvýšenie jej elasticity (2). Kolagén sa tvorí z prokolagénu typu 1. Tento má trojitú špirálovitú štruktúru, okrem C- a N-terminálnych častí, nazývaných C- a N-terminálny propeptid prokolagénu 1. typu, P1CP a P1NP (obr. č. 1, 2). Telo-peptidy sú v procese tvorby kolagénu uvoľnené do krvného riečiska, preto sú považované za ukazovatele kostnej novotvorby. Kolagén je bielkovina s vysokým obsahom aminokyselín prolínu a lyzínu, ktoré sú po čiastočnej hydroxylácii schopné tvoriť crosslinks k susedným molekulám (obrázok č. 3). V procese kostnej resorpcie sa tieto uvoľňujú do krvi ako ukazovatele kostnej resorpcie. Osteokalcín sa uvoľňuje pri tvorbe aj resorpcii kosti. Jeho koncentrácia je znakom celkového kostného obratu.

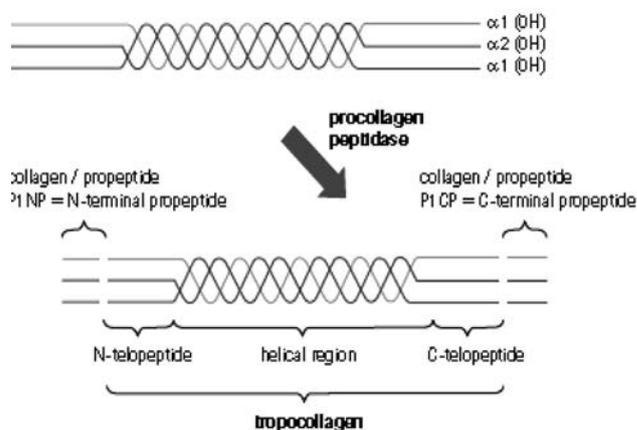
Remodeláciu kosti iniciujú osteocyty pomocou signálov prenášaných kostnými kanálkami. Osteoklasty resorbujú kostnú matrix, ktorú potom resyntetizujú osteoblasty. Osteoklasty sú multinukleárne bunky pochádzajúce z granulocytov a makrofágov, ktorých pôvod je v kmeňových bunkách kostnej drene. Ich aktivitu reguluje viacero cytokínov, vrátane IL-1, IL-6 a IL-11 a iných. V súčasnosti sa ukazuje niekoľko nových významných

faktorov zo skupiny tumor necrosis factor (TNF) a tumor necrosis factor receptor (TNF-receptor). Patria k nim receptor activator for nuclear factor kappa a jeho ligand (RANK, RANKL) a osteoprotegerín. Interakcia medzi RANK a RANKL stimuluje tvorbu a diferencovanie osteoklastov aktiváciou viacerých transkripčných faktorov.

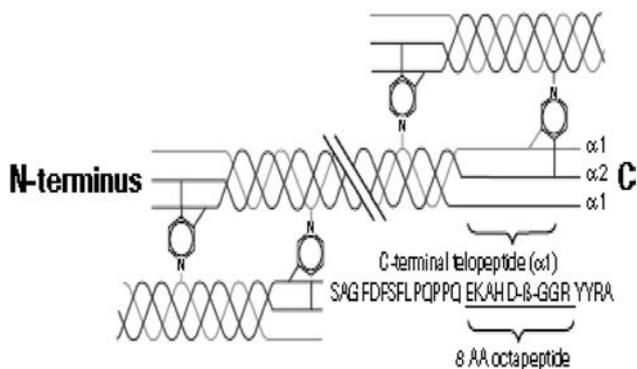


Source: Roche, 1998

Obrázok č. 1. Štruktúra kolagénu



Obrázok č. 2. Pôvod P1NP



Obrázok č. 3. Pôvod NTx a CTx

Tabuľka č. 1. Rizikové faktory osteoporózy

Genetické:

Kaukazská a ázijská rasa
 Obyvateľ Severnej Európy
 Nízka kostná hmota
 Ženské pohlavie

Nutričné:

Nedostatočný príjem vápnika
 Vitamíny D a C
 Nadmerný alebo nedostatočný príjem bielkovín

Liečivá a drogy:

Kortikoidy
 Hormóny štítnej žľazy
 Onkologická chemoterapia
 Heparín
 Kofeín
 Alkohol

Ochorenia gastrointestinálneho traktu:

Resekcia žalúdka alebo čreva
 Malabsorpcia
 Insuficiencia pankreasu
 Ochorenia pečene

Iné:

Fajčenie
 Ochorenia obličiek
 Hyperparatyroidóza
 Hypertyreóza
 Vek nad 70 rokov
 Imobilizácia alebo nedostatok pohybu
 Excesívne cvičenie
 Skorý nástup menopauzy

Osteoprotegerín kompetitívnou inhibíciou ovplyvňuje činnosť RANK a RANKL, takže znižuje kostnú resorpciu. Remodeláciu kostnej hmoty ovplyvňuje množstvo ďalších systémových a lokálnych faktorov. Medzi najdôležitejšie patria: parathormón, kalcitonín, vitamín D, kalcium, fosfor, magnézium, glukokortikoidy, estrogény, hormóny štítnej žľazy, rastový hormón a ďalšie. K lokálnym možno zaradiť transformujúce faktory beta, inzulín-like growth factor - IGF I a II, fibroblast growth factor - FGF, platelet-derived growth factor - PDGF, leukemia inhibiting factor - LIF a ďalšie. Hustota a kvalita kosti závisí od viacerých genetických faktorov (11, 13). Porucha rovnováhy medzi resorpciou a novotvorbou kosti vedie k osteoporóze. Zvýšené koncentrácie ukazovateľov kostnej resorpcie a osteokalcínu sú asociované so zvýšeným rizikom fraktúr, a to nezávisle na iných faktoroch (2, 10). Rizikové faktory osteoporózy sú uvedené v tabuľke č. 1. Okrem uvedených, je dôležitým faktorom vek, a to nielen u žien, ale i u mužov (6).

Osteoporóza, a s ňou spojená zvýšená frekvencia zlomenín, sa považuje v súčasnosti za epidemickú, a to predovšetkým u postmenopauzálnych žien, kde je riziko rozvoja osteoporózy a vzniku osteoporotickej fraktúry asi 4x vyššie ako u muža (1). Ženy po začiatku menopauzy majú zvýšenú osteoklastickú aktivitu, spôsobenú predovšetkým nižšou produkciou estrogénov. Deficit estrogénov vedie k zvýšenej produkcii viacerých cytokínov, ktoré sú aktivátormi resorpcie kosti. Zároveň pôsobí na nižšiu lokálnu tvorbu inzulín-like growth faktora, transformujúceho rastového faktora beta a inhibítorov cytokínovej akcie, napr. osteoprotegerínu. Dochádza k nižšiemu prežívaniu osteocytov a k porušenej odpovedi kosti na mechanické stimuly (12). Postmenopauzálna osteoporóza sa zvyčajne rozvinie vo veku 50-75 rokov a býva asociovaná s kolapsom chrčtice, fraktúrou v oblasti bedrového kĺbu, panvy alebo predlaktia. Osteoporotická fraktúra je u oboch pohlaví asociovaná so zvýšenou morbiditou a mortalitou (11).

Cieľom terapie osteoporózy je zvýšenie kostnej denzity a zníženie rizika zlomenín. Účinnosť terapie sa monitoruje dvoma spôsobmi - pomocou opakovaného určovania kostnej denzity alebo stanovením koncentrácie kostných markerov. Monitorovanie účinnosti liečby umožňuje identifikáciu pacientov, ktorí odpovedajú na terapiu spôsobom očakávaným na základe známeho mechanizmu účinku lieku, a u ktorých sa teda dá predpokladať zníženie rizika zlomenín v súlade so štúdiami zameranými na dané liečivo (2, 7).

Na hodnotenie resorpcie kostnej hmoty sa najčastejšie používajú voľné alebo na bielkoviny viazané cross-links:

- Deoxypyridinolín
- Karboxyterminálny telopeptid kolagénu typu 1 (ICTP, β -CTx)
- Aminoterminálny telopeptid kolagénu typu 1 (NTx)

Na hodnotenie kostnej novotvorby sa používajú:

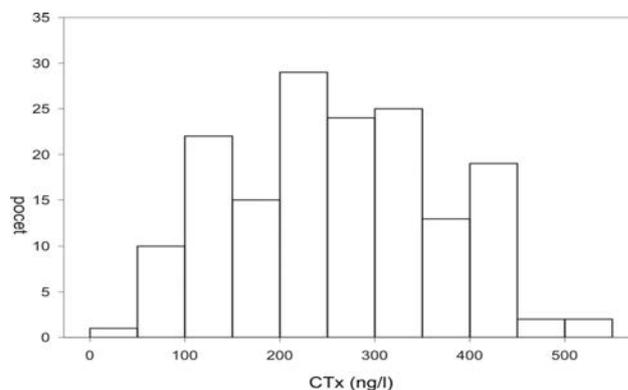
- Kostný izoenzym alkalickéj fosfatázy
- Karboxyterminálny propeptid prokolagénu typu I (P1CP)
- Aminoterminálny propeptid prokolagénu typu I (P1NP)

Obrazom celkového kostného obratu je osteokalcín.

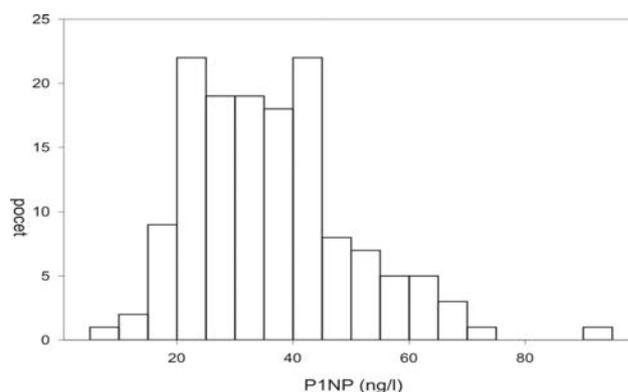
Cieľom našej štúdie bolo stanoviť ukazovatele kostného metabolizmu, a to osteokalcín, P1NP a CTx u slovenských premenopauzálnych žien. Vyšetrenia sa robili na analytickom systéme Modular E 170 (Roche, Bazilej, Švajčiarsko). Metódy sú založené na imunochemickom stanovení pomocou dvoch monoklonových protilátok, s elektrochemiluminiscenčnou detekciou. Výber vhodných probandiek sa robil v spolupráci s osteocentrami v Košiciach, Lubochni, Banskej Bystrici, Piešťanoch a 2 centrami v Bratislave. Do súboru bolo vybratých 162 zdravých žien vo veku 23–41 rokov s normálnou kostnou denzitou. Materiál sa predanalyticky spracoval v príslušných laboratóriách klinickej biochémie a zmrazil až do termínu stanovenia na -20 °C. Analýzy sa robili v jednej sérii, zvlášť pre každý parameter.

VÝSLEDKY

sú uvedené v tabuľke č. 2 a na grafoch č. 1, 2 a 3. Rozdelenie hodnôt P1NP a CTx je neparametrické. Analytická variabilita jednotlivých analytov zodpovedá



Graf č. 1. Koncentrácie CTx u slovenských premenopauzálnych žien



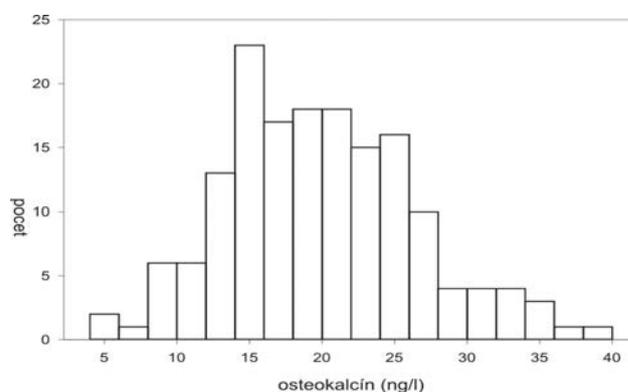
Graf č. 2. Koncentrácie P1NP u slovenských premenopauzálnych žien

Tabuľka č. 2. Hodnoty kostných ukazovateľov v populácii premenopauzálnych slovenských žien

	medián	priemer	SD	5 percentil	95 percentil	-2 SD	+2SD
CTx (ng/l)	258,95	261,05	109,76	86,90	439,31	41,53	480,57
OSTEO (ug/l)	19,45	19,95	6,55	9,91	32,02	6,85	33,05
P1NP (ug/l)	34,16	36,29	13,94	17,71	62,18	8,41	64,17

Tabuľka č. 3. Presnosť sledovaných analytov v sérii a medzi sériami

	N	intraassay CV(%)	N	interassay CV(%)
CTx	21	1,8	91	3,2
Osteocalcin	21	1,1	38	1,8
P1NP	21	2,1	46	1,9



Graf č. 3. Koncentrácie osteokalcínu u slovenských premenopauzálnych žien

údajom udávaným výrobcom (tabuľka č. 3), (3, 4, 5). Štatistické spracovanie sa robilo za pomoci programov Microsoft Excel a Systat SigmaStat. Hodnoty koncentrácií boli vyjadrené ako priemer \pm smerodajná odchýlka, aj ako 5. a 95. percentil, vzhľadom k neparametrickému rozdeleniu hodnôt, ako je uvedené vyššie.

DISKUSIA

Hodnoty ukazovateľov kostného metabolizmu u premenopauzálnych žien sú východiskovými hodnotami, keďže sa od nich odvíjajú odporúčané koncentrácie, ktoré by sa mali dosiahnuť pri terapii. Štěpán ukázal, že po 1 roku trvania terapie raloxifenom sa BMD zvýšila iba u 13/50 pacientov, zatiaľ čo signifikantná zmena CTx bola u 80 %, pričom CTx, aj P1NP dosiahli hodnoty premenopauzálnych žien. Pri terapii alendronátom boli tieto 2 ukazovatele dokonca nižšie, ako dolná hranica premenopauzálnych hodnôt (14). Pri anabolickej terapii sa ako jeden z najčastejších ukazovateľov úspešnosti liečby používa P1NP, ktorého koncentrácie by sa mali zvýšiť najmenej o 40 %. Úspešnosť antiresorpčnej terapie sa monitoruje pomocou CTx (zníženie koncentrácie o 35–55 %), osteokalcínu (zníženie o 20–40 %) a P1NP (zníženie o 40 %). Uvedené zmeny zodpovedajú minimálnej signifikantnej zmene (1).

Koncentrácie parametrov u slovenských premenopauzálnych žien ukazujú široký rozptyl, ktorý je však v súlade s literatúrou (2, 3, 4, 5). Rozdelenie hodnôt je u P1NP a CTx neparametrické, čo môže byť dané nízkym počtom probandov v štúdiu. Podľa doporučení Medzinárodnej asociácie osteoporózy (International Osteoporosis Foundation) by sa mal používať 1 vybraný marker alebo kombinácia -1 pre kostnú novotvorbu a 1 pre kostnú resorpciu. Sérové ukazovatele by sa mali odoberať ráno nalačno, najlepšie do 9.00, vzhľadom k tomu, že viaceré z nich majú diurnálny rytmus. Okrem toho je dokázané, že niektoré parametre sa menia aj v závislosti na príjme potravy (1). V našej štúdiu boli dodržané všetky predanalytické podmienky. V rámci monitorovania terapie je veľmi dôležité dodržať doporučené intervaly merania, a to pre ukazovatele kostnej resorpcie pred začatím liečby, po 3 a 6 mesiacoch, pre ukazovatele kostnej novotvorby pred začatím liečby a po 6 mesiacoch. Záver: Stanovili sme koncentrácie ukazovateľov kostného metabolizmu v populácii slovenských premenopauzálnych žien, a to P1NP, osteokalcín a CTx. Odporúčame, aby boli používané pri hodnotení účinnosti terapie osteoporózy.

LITERATÚRA

1. Elecsys bone marker testing. *Going straight for the answer*. Roche Diagnostics GmbH, Roche Centralised Diagnostics, 2008.
2. Štěpán J.: *Monitorování léčby osteoporózy*, Čes. Revmatol., 15, 2007, No.2, 91–98.
3. Total P1NP - total procollagen type 1 amino-terminal propeptide. *Elecsys and cobas e analyzers*, Roche Diagnostics GmbH, 2007.
4. N-MID Osteocalcin. *Elecsys and cobas e analyzers*, Roche Diagnostics GmbH, 2007.
5. β -CrossLaps/serum. *Elecsys and cobas e analyzers*, Roche Diagnostics GmbH, 2007.
6. Szulc P., Garnero P., Marchand F., Duboeuf F., Delmas P.D.: *Biochemical markers of bone formation reflect endosteal bone loss in elderly men - MINOS Study*. Bone, 2005 Jan, 36 (1), 13–21.
7. Dobnig H., Sipos A., Jiang Y., Fahrleitner-Pammer A., Ste-Marie S.L., Gallagher J.C., Pavo I., Wang J., Eriksen E.F.: *Early changes in biochemical markers of bone formation correlate with improvements in bone structure during Teriparatide therapy*. J. Clin. Endocrinol. Metab., 90 (7), 3970–3977, 2005.
8. Looker A. C., Bauer D. C., Chesnut C. H.: *Clinical use of biochemical markers of bone remodeling: current status and future directions*. Osteoporos Int. 2000, 11, 467–480.
9. Garnero P., Hausherr E., Chapuy M. C., Marcelli C., Grandjean H., Muller C., Cormier C., Breart G., Meunier P. J., Delmas P.D.: *Markers of bone resorption predict hip fracture in elderly women: The EPIDOS prospective study*. J. Bone Miner. Res., 1996, 11, 1531–1538.
10. Seibel M. J.: *Editorial: Serum undercarboxylated osteocalcin and the risk of hip fracture*. J. Clin. Endocrinol. Metab., 1997, 82, 3, 717–718.
11. Eisman J. A.: *Pharmacogenetics of the vitamin D receptor and osteoporosis*. Drug Metabol. and Disposition, 29, 4, 505–512, 2001.
12. Štěpán J. J., Alenfeld F., Boivin G., Feyen J. H. M., Lakatos P.: *Mechanism of action of antiresorptive therapies of postmenopausal osteoporosis*. Endocrine regulations, 37, 227–240, 2003.
13. Colin E. M., Uitterlinden A. G., Meurs J. B. J., Bergink A. P., Van de Klift M., Fang Y., Arp P. P., Hofman A., Van Leeuwen J. P. T. M., Pols H. A. P.: *Interaction between vitamin D receptor genotype and estrogen receptor and genotype influences vertebral fracture risk*. J. Clin. Endocrinol. Metab., 88 (8), 3777–3784, 2003.
14. Štěpán, J. J., Michalska D., Zikan V., Vokrouklicka V.: *Biochemical markers of type I collagen synthesis and degradation in monitoring osteoporosis treatment with raloxifen or alendronate*. JBMR 2002, 17 (Suppl1): S233.

ANALÝZA DEGRADAČNÝCH PRODUKTOV PURÍNOVÝCH NUKLEOTIDOV V PLODOVEJ VODE

Kalnovičová Terézia¹, Kuračka Lubomír²
Turčáni Peter¹

¹Prvá neurologická klinika Lekárskej fakulty UK Bratislava

²Ústav lekárskej chémie, biochémie a klinickej biochémie
Lekárskej fakulty UK Bratislava

SÚHRN

Analýza degradačných produktov purínových nukleotidov hypoxantínu (HYP), xantínu (XAN) a kyseliny močovej (KM) v telesných tekutinách umožňuje indikovať bunkovú hypoxiu, depléciu ATP a peroxynitritom spôsobené poškodenie DNA. Cieľom tejto práce bolo stanoviť koncentrácie HYP, XAN a KM v plodovej vode u pacientiek s rizikovou graviditou v dôsledku zvýšenia alebo zníženia alfa-1-fetoproteínu v sére, genetickej predispozície vývoja patologického plodu, pokročilého veku a niektorých ďalších indikáciách rizikového tehotenstva a zistiť, či degradačné produkty purínových nukleotidov sú implikované v patofyziológii vývoja plodu s Downovým syndrómom. Koncentrácie HYP, XAN a KM sme analyzovali pomocou vysokoúčinnnej kvapalinovej chromatografie (HPLC) s UV detekciou. Predbežné výsledky poukazujú, že HYP, XAN a KM majú perspektívne využitie v klinických štúdiách ako biochemický marker rizikaologickej gravidity. Naše výsledky podporujú názor zahrnutia oxidačného stresu v patogénnych mechanizmoch vzniku Downovho syndrómu.

Kľúčové slová: plodová voda, hypoxantín, xantín, kyselina močová, Downov syndróm

SUMMARY

The measurement of purine nucleotide degradation products hypoxanthine (HYP), xanthine (XAN) and uric acid (UA) in body fluid can provide evidence of cell hypoxia, ATP depletion and peroxynitrite - dependent DNA damage. The aim of this study was to determine concentrations of HYP, XAN and UA in amniotic fluid of patients (n= 196) with high or low maternal serum alpha-1-fetoprotein levels, genetic predisposition to pathologic development of foetus, advanced maternal age and some other indications of risk pregnancies, and to assess possible role of these purine nucleotide degradation products in the pathophysiology of Down's syndrome. HYP, XAN

and UA were measured by means of high performance liquid chromatography (HPLC) with UV detection. The preliminary results suggest that HYP, XAN and UA may have clinical study usefulness as a biochemical marker of increased fetal risk. Our data also support the presumption of increased oxidative stress in Down syndrome.

Key words: amniotic fluid, hypoxanthine, xanthine, uric acid, Down syndrome

ÚVOD

Prenatálna diagnostika pomocou biochemického a cytogenetického vyšetrenia plodovej vody sa indikuje u tehotenstiev, pri ktorých je vysoké riziko narodenia dieťaťa s kongenitálnou chorobou združenou s vysokou morbiditou, mortalitou, alebo výrazným funkčným poškodením. Toto vyšetrenie sa vykonáva v dobe, kedy podľa zákona je možné ešte tehotenstvo prerušiť (do 24. týždňa). Amniocentéza, odber plodovej vody, je indikovaná hlavne na základe výsledkov biochemického skrínungu, najčastejšie vykonávanom z krvi matky. Cieľom biochemického skrínungu pri prenatálnej diagnostike vývojových chýb plodu (VVCH) je vypočítať individuálne riziko najčastejšie Downovho syndrómu (DS) a rázštetu nervovej trubice (NTD). Pre výpočet rizika DS sa v období prvého trimestra používa vyšetrenie tehotenského plazmatického proteínu A (PAPP-A) a voľnej beta podjednotky choriongonadotropínu (hCG). V druhom trimestri sú to alfa-1-fetoproteín (AFP), choriongonadotropín (najčastejšie celkový hCG), nekonjugovaný estriol (triple test) a inhibin A (quadruple test). Ak toto vyšetrenie vykazuje neštandardné výsledky (napr. zvýšenú hladinu AFP), amniocentéza môže poskytnúť odpoveď, či je s vyvíjajúcim sa plodom všetko v poriadku. K amniocentéze sú indikované aj gravidné ženy nad 35 rokov (1).

V poslednom čase sa nahromadilo množstvo experimentálnych výsledkov, ktoré poukazujú na možnosť významnej úlohy oxidačného stresu a hypoxie v patogenéze

fetálnych ochorení (2, 11, 14, 16). Jedným z biochemických procesov, ktoré sa aktivujú pri nedostatku kyslíka a energetickom deficite bunky je degradácia purínových nukleotidov. Koncovými produktami tejto metabolickej dráhy sú hypoxantín (HYP), xantín (XAN) a kyselina močová (KM)

S cieľom zhodnotiť diagnostickú hodnotu a využiteľnosť týchto metabolitov ako biochemických markerov v klinickej praxi, analyzovali sme ich hladiny v plodovej vode s výskytom zvýšených, alebo nízkych hladín alfa-1-fetoproteínu (MS AFP), v plodovej vode od žien po fyzikálno-chemickej expozícii, alebo s genetickou predispozíciou patologického vývoja plodu. Cieľom tejto práce je prispieť k hľadaniu ciest, ktoré by fetálnu eutanáziu nahradili prenatálnou terapiou.

PACIENTI A METÓDY

Vyšetrovaný súbor tvorilo 196 gravidných žien, u ktorých bola zrealizovaná amniocentéza pre pokročilý vek matky, nízke, alebo zvýšené hladiny sérového alfa-1-fetoproteínu (MS AFP), pri podozrení na vývojovú chybu plodu, genetickú predispozíciu (predchádzajúce dieťa s cytogenetickou poruchou, prvostupňový príbuzný s defektom nervovej trubice, opakované potraty) a po fyzikálno-chemickej expozícii (po chemoterapii, expozícia RTG) (Tab.2 až 4). Kontrolnú skupinu sme zostavili z matiek vo veku 34-36 rokov, u ktorých bola na základe vyšetrení malá pravdepodobnosť vývoja patologickej gravidity (Tab.1, 2). Amniocentéza u analyzovaného súboru bola vykonaná na II. gynekologicko-pôrodnickej klinike LF UK v Bratislave.

Koncentrácie degradačných produktov purínových nukleotidov, hypoxantínu (HYP), xantínu (XAN) a kyseliny močovej (KM) v plodovej vode sme stanovili

Tab. 1. Referenčné hladiny metabolitov purínových nukleotidov v plodovej vode

citácia	Hypoxantín (umol/L)	Xantín (umol/L)
Harkness a Brock, 1988	0,52 +/- 0,86	1,5 +/- 1,9
Kjaergaard a spol., 1990	< 0,4	< 1,2
Kalnovičová a spol., 2010	0,44 +/- 0,44	1,0 +/- 0,43

Tab. 2. Hladiny hypoxantínu (HYP), xantínu (XAN) a kyseliny močovej (KM) v plodovej vode. (M = median, zH - hodnoty hypoxantínu vyššie ako 1,0 umol/L, zX - hodnoty xantínu vyššie ako 1,5 umol/L, zK - hodnoty KM vyššie ako 300 umol/L)

Indikácia	Vek (roky)	Gestačný týždeň	HYP (umol/L)	XAN (umol/L)	KM (umol/L)
Kontrola n = 17	35,3 +/- 0,8 (34-36) M = 36	17,9 +/- 1,4 (16-22) M = 18	0,44 +/- 0,44 (0,1-1,47) M = 0,24	1,00 +/- 0,43 0,37-1,91 M = 0,88	233,7 +/- 62,8 (126,9-323,2) M = 250,8
Zvýšený MS AFP n = 84	25,6 +/- 4,8 (18-42) M = 25	18,9 +/- 1,4 (15-24) M = 19	0,49 +/- 0,43 (0,1-2,24) M = 0,33 zH = 9 (11%)	1,29 +/- 0,71 (0,09-3,65) M = 1,155 zX = 22 (26 %)	247,9 +/- 64,2 (119,5-391,4) M = 236,9 zK = 17 (20 %)
Znížený MS AFP n = 24	30,5 +/- 5,3 (26-38) M = 29	19,5 +/- 2,1 (17-22) M = 19,5	0,67 +/- 1,27 (0,05-5,25) M = 0,31 zH = 3 (13%)	1,31 +/- 0,85 (0,37- 4,25) M = 1,12 zX = 5 (21 %)	264,4 +/- 70,2 (117,5-428) M = 249,7 zK = 4 (17 %)
Genetická predisp. n = 12	28,6 +/- 5,6 (20-36) M = 29	17,8 +/- 1,5 (16-22) M = 18	0,58 +/- 0,51 (0,1-1,79) M = 0,37 zH = 2 (17%)	1,22 +/- 0,84 (0,28-2,83) M = 0,98 zX = 3 (25 %)	302,3 +/- 103,9 (195,5-501,3) M = 254,7 zK = 5 (42 %)
Rizikový vek pacientky n = 32	38,2 +/- 1,1 (37-40) M = 38	18,5 +/- 1,4 (17-22) M = 18	0,48 +/- 0,49 (0,06-2,39) M = 0,21 zH = 4 (13%)	1,10 +/- 0,62 (0,27-2,82) M = 0,98 zX=6(19%)	265,6 +/- 57,4 (173,4-406,2) M = 259,2 zK = 7 (22 %)
n = 10	Nad 40 r. 42,7 +/- 2,0 (41-47) M = 42	17,8 +/- 0,6 (17-19) M = 18	0,44 +/- 0,26 (0,08-0,94) M = 0,46 zH=0	0,85 +/- 0,50 (0,1-1,58) M = 0,81 zX=1(10%)	282,0 +/- 65,2 (182,8-362,8) M = 278,6 zK = 5 (50 %)

pomocou vysokoúčinnnej kvapalinovej chromatografie (HPLC) s UV detekciou (254 nm) na 300 mm dlhej (150 mm +150 mm) kolóne Separon SGX C18 (7 um), (Tessek, ČR), elúciou s fosfátovým tlmivým roztokom (pH 4,6) podľa Kalnovičová a spol. (5).

Výsledky prezentované ako aritmetický priemer (+/- SD) boli spracované štandardnými štatistickými postupmi (Kolmogoroffov-Smirnoffov test). Významnosť rozdielov medzi priemermi bola testovaná pomocou t-testu.

VÝSLEDKY

Hladiny hypoxantínu (HYP), xantínu (XAN) a kyseliny močovej (KM) sme stanovili v 196 plodových vodách, ktoré boli odobraté prevažne v 17. až 22. gestačnom týždni. Indikácie, ktoré viedli k odberu plodovej vody bol vek nad 35 rokov, zvýšené, alebo nízke hladiny MS AFP, genetická indikácia a fyzikálno-chemická expozícia.

V Tab. 2 sú uvedené koncentrácie hypoxantínu, xantínu a kyseliny močovej v plodových vodách pri gravidite so zvýšenými hladinami MS AFP (n = 84), zníženými hladinami MS AFP (n = 24), s genetickou predispozíciou patologického vývoja plodu (n = 12) a s rizikovým vekom gravidity (n = 42). Rozdiel v priemerných hodnotách týchto metabolitov nie je štatisticky významný. Oproti kontrolnému súboru sme zistili

Tab. 3. Hladiny hypoxantínu (HYP), xantínu (XAN) a kyseliny močovej (KM) v plodovej vode pri niektorých indikáciách rizikovej gravidity

Indikácia	Vek (roky)	Gest. týždeň	HYP (umol/L)	XAN (umol/L)	KM (umol/L)
Užívanie farmák	22	17	0,15	2,06	226,4
Prvá gravidita DS	24	16	0,27	0,28	218,7
Zvýšený triplet	20	19	0,5	0,21	382,9
Turnerov sy.	22	20	0,73	0,19	228,6
Rh izoimun.	25	36	0,78	2,0	512,0
Respiračný sy.	19	20	0,99	3,14	225,0
po chemoterapii	20	20	1,5	2,1	250,0
Hypertrof. fetus	26	34	1,82	3,33	508,6
TAC, neúsp.kult.	37	21	2,55	2,43	267,6
Expozícia Rtg	24	19	4,23	0,28	506,6
Mrtvoro- dené dieťa z1.gravidity	20	21	10,3	7,36	244,3

Tab. 4. Hladiny hypoxantínu (HYP), xantínu (XAN) a kyseliny močovej (KM) v plodovej vode pri patologickej gravidite (nMS AFP - nízke hladiny sérového alfa-fetoproteínu, zMS AFP - zvýšené hladiny AFP v sére)

Porucha novorodenca	indikácia	Vek (r.)	Gest. t.	HYP umol/L	XAN umol/L	KM umol/L
Downov sy.	vek	41	18	3,29	0,21	473,3
Downov sy.	vek	40	17	0,21	0,27	208,7
Downov sy.	nMS AFP	34	17	0,44	2,08	302,7
Downov sy.	nMS AFP	44	17	2,25	2,25	166,1
Klinefert. sy.	zMS AFP	27	18	0,56	0,16	255,0
Turnerov sy.	Hygr. c.	22	20	0,73	0,19	228,6

najvyššia frekvencia výskytu zvýšených hladín kyseliny močovej v skupine gravidít s genetickou indikáciou (42%) a s vekom matiek nad 40 rokov (50%). Najvyššia frekvencia výskytu zvýšených hladín xantínu v plodovej vode sa zaznamenala v skupine gravidít so zvýšenými hladinami MS AFP (26%) a pri genetickej indikácii (25%). Frekvencia výskytu zvýšených hladín

hypoxantínu sa v plodovej vode u jednotlivých skupín pohybovala v rámci 11–17% (Tab. 2).

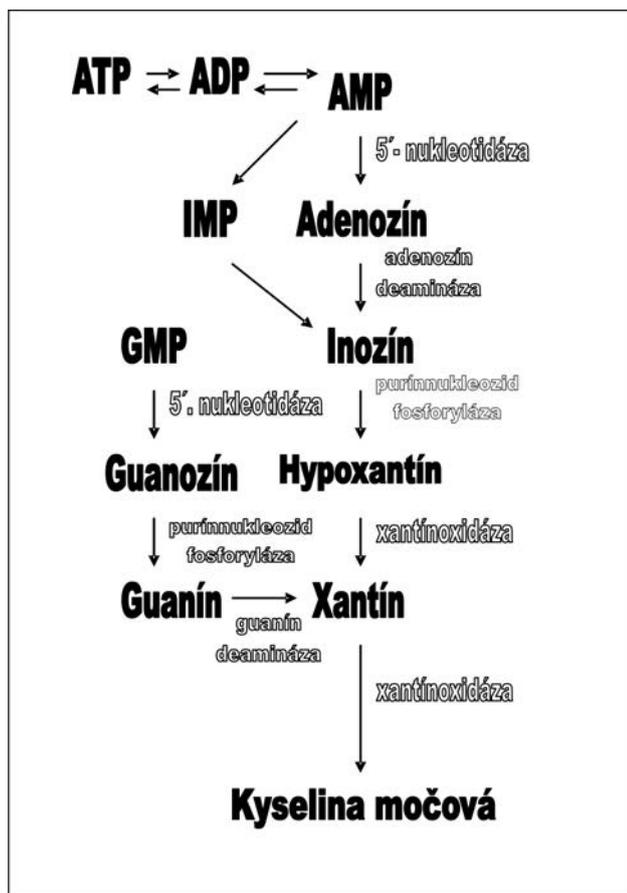
V Tab. 3 sú uvedené hladiny HYP, XAN a KM v plodovej vode po fyzikálno-chemickej expozícii matiek a pri niektorých ďalších indikáciách rizikovej gravidity. Pomerne vysoké hladiny degradačných produktov purínových nukleotidov v plodovej vode sa vyskytovali po expozícii RTG (4,23 umol/L HYP; 506,6 umol/L KM), pri rizikovej gravidite v dôsledku mŕtvonarodeného dieťaťa z 1 gravidity (10,3 umol/L HYP; 7,36 umol/L XAN), hypertrofii plodu (1,82 umol/L HYP; 3,33 umol/L XAN; 508,6 umol/L KM), TAC, neúsp. kultivácii (2,55 umol/L HYP; 2,43 umol/L XAN) a respiračnom syndróme (3,14 umol/L XAN). Vysoké hladiny KM v plodovej vode (382,9–512,0 umol/L) sa vyskytovali pri zvýšenom triple teste, expozícii RTG, hypertrofickom plode a Rh izoimunizácii (Tab. 3).

V Tab. 4 sú uvedené hodnoty degradačných produktov purínových nukleotidov v plodovej vode odobratej od 4 žien, ktorým sa narodilo dieťa s Downovým syndrómom. V plodovej vode, ktorej odber sa vykonal v 17.–18. gestačnom týždni, sa našli v dvoch prípadoch zvýšené hladiny hypoxantínu, markera hypoxie (3,29 umol/L a 2,25 umol/L HYP). Hladiny xantínu boli nízke, alebo zvýšené (Tab. 4). U jednej pacientky sa vyskytovali aj zvýšené hladiny kyseliny močovej (473,3 umol/L KM). Nízke hladiny xantínu sa vyskytovali aj pri patologickej gravidite ukončenej narodením detí s chromozomálnymi aberáciami Klinefelterov a Turnerov syndróm (Tab. 4).

DISKUSIA

Plodová voda tvorí najobjemnejšiu súčasť extracelulárneho fetálneho priestoru. Má dôležitý význam pre vývoj jednotlivých orgánov, aj pre celkový rast plodu. Tvorba, obmena a resorbcia plodovej vody je spoločným podielom matky a plodu. Na tvorbe plodovej vody sa podieľa priama filtrácia z materskej plazmy, prenikanie z fetálnej plazmy kožou plodu, prehltanie plodovej vody, vylučovanie obličkami plodu, dýchacie ústrojenstvo, spätná resorbcia pľúcami a pupočník (7).

Prenatálna diagnostika patologickeho tehotenstva je založená okrem ultrasonografického gynekologického vyšetrenia pacientky aj na vyšetrení alfa-fetoproteínu (AFP) v sére a v plodovej vode. AFP je hlavný globulín fetálneho séra. Vstupuje do plodovej vody močom plodu a presakuje cez placentu do materskej cirkulácie. Je produkovaný z väčšej časti pečeňou plodu. Hladiny AFP u plodu a matky sú rozdielne v rôznych obdobiach vývoja plodu. Hladina AFP v plodovej vode dosahuje vrcholu okolo 14.–15. gestačného týždňa, potom klesá. Naopak, hladina AFP v materskom sére kontinuálne stúpa počas gravidity. Vzhľadom k skutočnosti, že fyziologická hladina AFP závisí na týždni gestácie, vyjadrujú sa výsledky vyšetrení MS AFP najčastejšie pomocou násobku mediánu pre daný gestačný týždeň. Zvýšené hladiny sérového AFP (MS AFP) počas gravidity poukazujú na zvýšené riziko potratu a výskytu



Obr. 1 Metabolizmus purínových nukleotidov. Vznik kyseliny močovej.

Degradácia adenínových nukleotidov sa aktivuje v situáciách spojených s poklesom množstva ATP a vzostupom AMP. Defosforyláciu ATP spôsobujú viaceré enzýmy, ktoré katalyzujú reakcie využitia ATP ako zdroja energie, najmä ATPázy udržiajúce homeostázu vnútorného prostredia buniek. AMP sa môže vytvárať z ADP viacerými spôsobmi. Významnú úlohu má najmä adenylátkináza (EC 2.7.4.3), ktorá katalyzuje premenu dvoch molov ADP na 1 mol ATP a 1 mol AMP, čím pri fyziologických podmienkach zabezpečuje v bunke pomer ATP:AMP (10:1).

Degradácia adenosínmonofosfátu (AMP) na inozín sa môže uskutočniť dvomi cestami. AMP sa môže meniť pôsobením adenylátdeaminázy (EC 3.5.4.6) na inozínmonofosfát (IMP) a 5'-nukleotidázou (EC 3.1.3.5) defosforylovať na inozín. Druhou možnosťou je defosforylácia AMP enzýmom 5'-nukleotidáza na adenosín s následnou deamináciou účinkom adenosindeaminázy (EC 3.5.4.4) na inozín. Inozín sa degraduje pôsobením purinnukleozidfosforylázy (EC 2.4.2.1) na hypoxantín a pôsobením xantinoxidázy (EC 1.2.3.2) na xantín a kyselinu močovú (KM). Vznik kyseliny močovej z guanozínmonofosfátu (GMP) sa uskutočňuje degradáciou GMP pôsobením enzýmu 5'-nukleotidáza so vznikom guanozínu, ktorý sa purinnukleotidfosforylázou konvertuje na guanín a guanindeaminázou (EC 3.5.4.3) na xantín. Xantín môže vzniknúť aj degradáciou guanozínu účinkom guanozindeaminázy (EC 3.5.4.15) a premenou vzniknutého xantozínu na xantín pôsobením enzýmu purinnukleozidfosforyláza.

rážštepových defektov neurálnej trubice (amencefalia, myelokela, meningomyelokela), defekt brušnej steny (gastrochiza), fetálne alebo placentárne krvácanie, alebo viacplodovú graviditu. Zvýšené hladiny AFP sú

dôsledkom prieniku AFP do plodovej vody a krvi matky cez porušenú integritu povrchu plodu a komunikácie likvorového priestoru plodu s plodovou vodou (7). Naproti tomu veľmi nízke hladiny sérového AFP sa spájajú so zvýšeným rizikom narodenia detí s Downovým syndrómom a trizómiou 18 (9).

V plodovej vode určenej pre skriningové vyšetrenie rizika WCH sme analyzovali hladiny degradačných produktov purínových nukleotidov hypoxantín (HYP), xantín (XAN) a kyselinu močovú (KM). Tieto metabolity sme stanovovali u matiek s výskytom zvýšených alebo nízkych hladín AFP v sére (MS AFP), pri rizikovom veku a genetickej predispozícii vývoja patologického plodu (Tab.2). Nezistili sme žiadne signifikantné rozdiely v priemerných hladinách týchto metabolitov v plodovej vode, ani významný rozdiel vo frekvencii výskytu zvýšených hladín HYP, XAN a KM v skupine gravidít s rizikom vzniku rážštepových porúch plodu (zvýšené MS AFP), alebo v skupine s rizikom narodenia dieťaťa s Downovým syndrómom (nízke hladiny MS AFP) (Tab. 2). Naproti tomu sme zaznamenali pomerne vysoký výskyt zvýšených hodnôt kyseliny močovej v skupine gravidít s geneticou predispozíciou narodenia dieťaťa s Downovým syndrómom (42%) a v skupine žien s vekom nad 40 rokov (50%) (Tab. 2). Kyselina močová, koncový degradačný produkt purínových nukleotidov je účinný hydrofilný plazmatický antioxidant, ktorý pôsobí ako skavendžer radikálov a tiež inhibuje Fe-katalyzovanú oxidáciu askorbátu (13). Býva v sére detí s Downovým syndrómom zvýšená (16).

Degradácia adenínových nukleotidov sa aktivuje v situáciách spojených s poklesom množstva ATP a vzostupom AMP pri narušení fyziologického stavu, alebo pri zvýšenej funkčnej aktivite tkaniva. Defosforyláciu ATP spôsobujú viaceré enzýmy, ktoré katalyzujú reakcie využitia ATP ako zdroja energie, najmä ATPázy udržiajúce homeostázu vnútorného prostredia buniek. AMP (Obr. 1) sa môže vytvárať z ADP viacerými spôsobmi, no významnú úlohu má najmä adenylátkináza (EC 2.7.4.3), ktorá katalyzuje premenu dvoch molov ADP na 1 mol ATP a 1 mol AMP, čím za fyziologických podmienok zabezpečuje v bunke pomer ATP:AMP (10:1). Pri odbúravaní adenínových nukleotidov sa okrem konečných produktov ich metabolizmu vytvárajú aj medziprodukty, ktoré sa môžu využiť na syntézu nukleotidov pomocnými cestami. Niektoré z nich môžu mať funkčný a regulačný význam (15). Koncovými produktami tejto metabolickej dráhy sú hypoxantín, xantín a kyselina močová (Obr. 1)

Downov syndróm (DS) je genetická porucha spôsobená génovou mutáciou, ktorej výsledkom je trizómia 21. chromozómu (zdravý človek má dva 21. chromozómy, postihnutý týmto syndrómom tri). DS je ochorenie spojené s vývojovými abnormalitami mozgu, čo má za následok mentálnu retardáciu, imunodeficienciu, katarakt(?), zvýšený výskyt leukémie, predčasné stárnutie a neuropatologické alterácie podobné ako sa vyskytujú u Alzheimerovho ochorenia. Na chromozóme 21, ktorý

je u DS pacientov trizomický, sú kódované dva dôležité enzýmy. Enzým superoxidodizmutáza Cu/Zn SOD (SOD1), ktorý konvertuje superoxidové radikály na hydrogénperoxid a enzým adenosindeamináza, ktorý v metabolizme adenínových nukleotidov mení adenosín na inozín (Obr. 1). Najnovšie výskumy poukazujú, že Downov syndróm je asociovaný s chronickým oxidačným stresom. Trizomické bunky sú citlivejšie na oxidačný stres (2). Ich senzitivita je pravdepodobne podmienená nerovnováhou v metabolizme hydrogénperoxidu, alebo v dôsledku doteraz neznámych faktorov (16). V dôsledku trizómie 21. chromozómu, na ktorom je kódovaná SOD1, dochádza k nadmernej expresii tohto enzýmu, ktorý konvertuje superoxidové radikály na hydrogénperoxid. Aktivita SOD1 je u pacientov s trizómiou 21 asi o 50 % vyššia (2). SOD pôsobí v spolupráci s enzýmami kataláza (CAT) (EC1.11.1.6) a glutationperoxidáza (GPx) (EC1.11.1.9), ktoré odstraňujú hydrogénperoxid vytvorený dismutačnými reakciami. Zvýšená aktivita tohto enzýmu vedie k zvýšeniu tvorby hydrogénperoxidu a iných oxidantov (napr. hydroxylových radikálov), k zvýšeniu pomeru SOD/(GPx a CAT) a v dôsledku ich zvýšenej produkcie a nedostatočnej detoxikácie k oxidačnému stresu (2). V dôsledku trizómie 21. chromozómu dochádza aj k zvýšeniu génového podielu pre adenosindeaminázu (AD), čo môže spôsobiť zvýšenie aktivity tohto enzýmu a viesť ku zvýšenej tvorbe kyseliny močovej (Obr. 1). Predpokladá sa, že toto zvýšenie hladín KM, ktoré sa zistilo v sére detí s Downovým syndrómom, môže byť nielen dôsledkom zvýšenej aktivity AD, ale aj následkom dysfunkcie renálnej exkrécie (12).

Ani patogenéza, ani etiológia Downovho syndrómu nie je doteraz úplne objasnená. Asociáciu oxidačného stresu s Downovým syndrómom potvrdilo viacero prác (2, 10, 11, 1416). Perrone a spol. (10) zistil, že hladina izoprostanov (nový marker lipoperoxidácie katalyzovanej voľnými radikálmi) je v plodovej vode s DS plodom až 9-násobne vyššia ako v plodovej vode s normálnym plodom.

Reaktívne kyslíkové látky, hlavne hydrogénperoxid sú známe, že spôsobujú disrupciu transportných iónových mechanizmov, čo vedie k problémom v signálnej transdukcii cez bunkové membrány, k dysfunkcii buniek, štruktúrnemu zlyhaniu membránovej integrity a nakoniec k patologickým symptómom hlavne v nervovom a srdcovom tkanive (8). Sloan a spol. (14) na základe funkčných analýz DS plodov poukázali nielen na implikáciu oxidačného stresu, ale aj na potenciálne následky, na defekt iónového transportu a signalizácie G-proteínmi. Tieto výsledky podnietili diskusiu o transkripčných zmenách v dôsledku trizómie 21 a o prenatálnej antioxidačnej terapii ako cesty na zabránenie, alebo oneskorenie oxidačného stresu asociovaného s DS.

Naše výsledky podporujú názor, že fyzikálno-chemická expozícia nepriaznivo vplyva na graviditu, čo sa odráža v zmenách koncentrácie purínových metabolitov v plodovej vode (Tab. 3) Súčasne poukazujú na asociáciu medzi patologickou graviditou a metabolizmom

purínových nukleotidov (Tab. 4). Hodnoty degradačných produktov purínových nukleotidov v plodovej vode (17.-18. g.t) odobratej od 4 žien, ktorým sa narodilo dieťa s Downovým syndrómom boli v dvoch prípadoch zvýšené (3,29 umol/L a 2,25 umol/L HYP), (2,08 umol/L a 2,25 umol/L XAN), alebo sa vyskytovali nízke hladiny xantínu (0,21 umol/L a 0,27 umol/L) ako v prípade patologickej gravidity s chromozomálnou aberáciou Klinefelterov syndróm (0,16 umol/L XAN), ktorý sa vyskytuje u chlapcov s genetickou mozaikou XXY a Turnerovom syndróme (0,19 umol/L XAN), ktorý sa vyskytuje u dievčat s absenciou jedného z dvoch X chromozómov (Tab. 4). Xantín a hypoxantín sú indikátormi celulárnej hypoxie. Vysoko významné zvýšenie hladín hypoxantínu a xantínu v telesných tekutinách indikuje depléciu ATP. Malé zmeny v koncentrácii hypoxantínu odrážajú alterácie metabolického obratu ATP. Hladiny xantínu sa môžu meniť nezávisle od hladín hypoxantínu, pretože xantín pochádza aj z degradácie guanínu (4), (Obr. 1). Znížená koncentrácia hypoxantínu a xantínu, ktorá sa vyskytuje aj v sére detí s Downovým syndrómom sa vysvetľuje ich zvýšenou konverziou na kyselinu močovú cez xantinoxidázový systém, čo je spojené s tvorbou superoxidového radikálu (2) a účasťou KM pri detoxikácii toxického peroxynitritu, ktorý vzniká v reakcii NO (oxidu dusnatého) so superoxidovým radikálom.

ZÁVER

Analýza degradačných produktov purínových nukleotidov hypoxantínu, xantínu a kyseliny močovej v plodovej vode v spojení s ostatnými metódami prenatálnej diagnostiky je cestou k možnosti rozšíriť spektrum doteraz známych patologických stavov spojených s ich zvýšenými hodnotami v plodovej vode počas gravidity. Pre zhodnotenie diagnostickej hodnoty týchto markerov a ich využiteľnosť v klinickej praxi je potrebná ďalšia retrospektívna štúdia patologických gravidít, ktoré boli podrobené analýze HYP, XAN a KM v rámci skrininového vyšetrenia plodovej vody. Predbežné výsledky podporujú názor, že v patogénnych mechanizmoch Downovho syndrómu je implikovaný oxidačný stres, alebo metabolická energetická nerovnováha.

LITERATÚRA

1. **Cisárik, F.:** *Štandardizácia prenatálneho biochemického skríningu vrodenných chýb v Slovenskej republike.* (Odborné usmernenie MZSR 2006). *In vitro* diagnostika. Informačný magazín, 2007; č. 6: 14-15.
2. **Garcez M. E., Peres W., Salvador M.:** *Oxidative stress and hematologic and biochemical parameters in individuals with Down syndrome.* Mayo Clin. Proc., 2005; 80(12): 1607-1611.
3. **Gizzi F., Papponetti M., Palka G. D., Ruffini I., Di Illio C., Odorisio, M., Sopoto G.:** *Hypoxanthine and xanthine as markers in early diagnosis of fetal diseases.* Adv. Exp. Med. Biol., 1998; 431: 770-780.

4. **Harkness R. A.:** *Hypoxanthine, xanthine and uridine in body fluids, indicators of ATP depletion.* J. Chromatogr., 1988; 429: 255-278.
5. **Kalnovičová T., Divéky L., Turčáni P.:** *HPLC measurement of purine nucleotide degradation products in amniotic fluid and its use in prenatal diagnosis.* J. Trace and Microprobe Techniques, 2001; 19(1): 169-174.
6. **Kjaergaard N., Moller-Petersen J. F., Kristiansen F. V., Petersen F. L., Ekelud S., Skovbo P.:** *Xanthine and hypoxanthine in amniotic fluid during pregnancy.* Dan Med. Bull., 1990; 37: 559-560.
7. **Knappková M., Kantarská D.:** *Naše nálezy AFP v plodovej vode a korelácia s fenotypom. In vitro diagnostika.* Informačný magazín, 2007; č.6: 12-13.
8. **Kourie J. I.:** *Interaction of reactive oxygen species with ion transport mechanisms.* Am. J. Physiol., 1998; 275: C1-C4
9. **Lesin J., Skrablin S., Durič K., Suchanek E., Muzinič D., Kalafatič D., Kuvacič I., Zlopasa G., Plavec A.:** *Screening for Down syndrome using triple marker testing in the second trimester of pregnancy.* Lijec Vjesn., 2003; 125(3-4): 55-60.
10. **Perrone, S., Longini, M., Bellieni, C.V., Centini, G., kenanidis, A., De Marco, L., Petraglia, F., Buonocore, G.:** *Early oxidative stress in amniotic fluid of pregnancies with Down syndrome.* Clin. Biochem. 2007; 40: 177-180.
11. **Pinto M., Neves J., Palha M., Bicho M.:** *Oxidative stress in Portuguese children with Down syndrome.* DS Res. Pract., 2002; 8(2): 79-82.
12. **Puukka R., Puukka M., Leppilampi M., Linna S. L., Kouvalainen K.:** *Erythrocyte adenosine deaminase, purine nucleoside phosphorylase and phosphoribosyl transferase activity in patients with Down's syndrome.* Clin. Chim. Acta, 1982; 126: 275-281.
13. **Sevanian A., Davies K. J. A., Hochstein P.:** *Serum urate as an antioxidant for ascorbic acid.* Am. J. Clin. Nutr. 1991; 54: 1129S-1134S.
14. **Slonim D. K., Koide K., Hohnson K. L., Tantravahi U., Cowan J. M., Jarrah Z., Bianchi D. W.:** *Functional genomic analysis of amniotic fluid cell-free mRNA suggests that oxidative stress is significant in Down syndrome fetuses.* Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 2009; 106(23): 9425-9429.
15. **Stone T. W.:** *Physiological roles for adenosine and adenosine 5'-triphosphate in the nervous system.* Neurosci., 1981; 6: 523-555.
16. **Žitňanová I., Korytár P., Aruoma O. I., Šustrová M., Garaiová I., Muchová J., Kalnovičová T., Poeschel S., Ďuračková Z.:** *Uric acid and allantoin levels in Down syndrome: antioxidant and oxidative stress mechanisms?* Clin. Chim. Acta, 2004; 341: 139-146.

RÔZNE

JUBILEUM ING. KATARÍNY DERZSIOVEJ

Mydlík M., Spustová V.



Pred niekoľkými mesiacmi Ing. Katarína Derzsiovej oslávila jubilejné narodeniny. Narodila sa 15. septembra 1944 v Košiciach. V r. 1958–1962 absolvovala II. Strednú všeobecnovzdelávaciu školu v Košiciach, ktorú ukončila maturitou roku 1962.

V rokoch 1962–1967 absolvovala vysokoškolské štúdium na Chemickotechnologickej fakulte SVŠT v Bratislave, v odbore technická analytická chémia. Menovaná promovala roku 1967 ako chemická inžinierka. Najdôležitejšie výsledky z jej diplomovej práce na tému „Potenciometrické titrácie v nevodnom prostredí metyletylketónu s použitím grafitovej indikačnej elektródy“ boli uverejnené v časopise Chemické Zvesti (1). V roku 1967–1969 Ing. K. Derzsiovej pracovala vo Výskumnom laboratóriu Petrochémie v Slovnafte n.p., v Bratislave, ako samostatný vysokoškolský pracovník. Dňa 7. februára 1969 Ing. Katarína Derzsiovej ukončila pracovný pomer v Bratislave z rodinných dôvodov a začala pracovať vo Fakultnej nemocnici KÚNZ v Košiciach, toho istého dňa, ako vedúca Nefrologického laboratória I. internej kliniky, neskôr IV. internej kliniky a od roku 1997 do konca roka 2005 Nefrologickej kliniky FN L.Pasteura. Svoju prácu vykonávala na vynikajúcej úrovni z pohľadu československej, slovenskej a medzinárodnej nefrológie. V roku 2006 Nefrologická klinika bola odštátnená a stala sa súčasťou spoločnosti Logman a.s. V roku 2008 akciová spoločnosť Logman požiadala Ministerstvo zdravotníctva SR o zrušenie Nefrologického laboratória, ktoré týmto ukončilo svoju 54-ročnú činnosť dňa 1. IV. 2008 (2).

V rokoch 1973 a 1974 Ing. K. Derzsiovej absolvovala dva 3-týždenné kurzy z klinickej biochémie na ILF v Bratislave. V roku 1984 sa zúčastnila na 2-týždennom kurze „Biomedicínske aspekty bioinžinierstva v klinike“ na ILF v Prahe. V roku 1986 vykonala úspešne špecializačnú atestáciu z vyšetrovacích metód v klinickej biochémii a z organizácie a riadenia zdravotníctva na ILF v Bratislave.

Pracovná aktivita Ing. K. Derzsiovej v rámci liečebno-preventívnej starostlivosti u chorých s akútnymi a chronickými nefropatiami, u chorých po rôznych akútnych otravách a u športovcov po dlhotrvajúcich

behoch sa prejavila zavedením všetkých základných vyšetrení, ktoré tvoria funkčný renálny nález (3–8). Ing. K. Derzsiovej so svojim kolektívom laborantiek zaviedla celý rad špeciálnych biochemických metód týkajúcich sa niektorých vitamínov (vitamín A, B1, B2, B6, C a E) v sére resp. plazme, erythrocytoch, leukocytoch, slinách, moči a v dialyzátoch. Tieto metódy boli použité u chorých s nefrotickým syndrómom, náhlym a chronickým zlyhaním obličiek a počas rôznych foriem mimotelovej a vnútrotelovej eliminačnej liečby (9–22). Niektoré z nich mali prioritný charakter nielen na Slovensku, ale aj v Čechách (vitamíny B1, B2 a B6 v erythrocytoch, vitamín E v erythrocytoch, kyselina oxalová v plazme a slinách). Ing. Katarína Derzsiovej sa významnou mierou podieľala aj na zavádzaní rôznych foriem mimotelovej eliminačnej liečby a CAPD a ich laboratórnej kontrole. Okrem toho pri vývoji týchto metód významnou mierou prispela k príprave rôznych dialyzačných roztokov napr. k príprave bikarbonátového roztoku so 100 mg% obsahom etylalkoholu pri akútnej otrave etylénglykolom (8).

V rámci pedagogickej činnosti sa Ing. K. Derzsiovej vo významnej miere podieľala na výchove biochemických laborantiek, z nich 9 úspešne absolvovalo postgraduálne špecializačné štúdium z klinickej biochémie. Mnohí lekári, ktorí boli na našej klinike v rámci predatestačnej špecializačnej prípravy z nefrológie, absolvovali školenie z funkčného vyšetrenia obličiek v Nefrologickom laboratóriu po teoretickej aj praktickej stránke. Okrem toho Ing. K. Derzsiovej opakovane prednášala na tému funkčné vyšetrenie obličiek v nefrologických kurzoch ILF, neskôr SPAM v Košiciach. Významné boli jej postgraduálne prednášky z použitia hemoperfúzie resp. jej laboratórnej kontroly, u chorých po akútnych otravách a zo štúdií *in vitro*.

V rokoch 1980–2001 bola Ing. K. Derzsiovej spolu-riešiteľkou 6 štátnych výskumných úloh registrovaných v IKEM, v Prahe. Výskumné úlohy sa týkali metabolických porúch vitamínov pri náhlom a chronickom zlyhaní obličiek a použitia hemoperfúzie cez aktívne uhlie a iné sorbenty pri akútnych otravách v štúdiách *in vivo* a *in vitro* (teofylín, paracetamol, Amitriptylín, Nortriptylín, Karbamazepín, alfa-amanitín), (23–27). Výsledky z týchto výskumných úloh boli úspešne obhajované a zaradené do kategórie A. Okrem toho boli prezentované na medzinárodných konferenciách v Európe, Amerike a Ázii a boli publikované v domácich a medzinárodných karentovaných časopisoch. Pri riešení výskumných úloh Ing. K. Derzsiovej so spoluriešiteľmi spolupracovala z nefrologickými pracoviskami a ústavmi v Prahe, Bratislave, Nových Zámkoch a v Banskej Bystrici. Na uvedených pracoviskách osobne, aj s laborantkami Nefrologického laboratória FN L. Pasteura, vykonávala klinicko-biochemické analýzy rôznych vitamínov a kyseliny oxalovej u ich pacientov.

Ing. Katarína Derzsiovej je prvou autorkou resp. spoluautorkou 425 prednášok, ktoré boli prezentované na celoštátnych konferenciách, európskych a svetových

kongresoch po celom svete od Los Angeles (USA) až po Nagoju (Japonsko). Okrem toho Ing. K. Derzsiová je autorkou alebo spoluautorkou 203 publikácií v domácich a v mnohých zahraničných karentovaných časopisoch.

Ing. K. Derzsiová počas svojej dlhodobej aktívnej činnosti sa stala členkou Slovenskej lekárskej spoločnosti, Slovenskej spoločnosti klinickej biochémie, Slovenskej nefrologickej spoločnosti, Spolku lekárov v Košiciach, Európskej nefrologickej spoločnosti-Európskej dialyzačnej a transplantlačnej spoločnosti (ERA-EDTA), Európskej spoločnosti pre umelé orgány (ESAO) a Slovenskej komory iných zdravotníckych pracovníkov, asistentov, laborantov a technikov.

Ing. Katarína Derzsiová bola opakovane spoluorganizátorkou mnohých nefrologických konferencií a kongresov s medzinárodnou účasťou v Košiciach, vo Vysokých Tatrách a inde vo východoslovenskom regióne od roku 1970 až do súčasnej doby, do roku 2009. Od roku 1995 je členkou poradného zboru časopisu „Aktuality v nefrologii“, ktorý vychádza v Prahe. Z mnohých medzinárodných zahraničných kongresov, na ktorých boli prezentované výsledky našej vedeckovýskumnej práce, Ing. K. Derzsiová opakovane sa podieľala na publikácií správ z týchto kongresov (28, 29).

V roku 2004 bola Ing. K. Derzsiovej udelená bronzová medaila Slovenskej lekárskej spoločnosti za zásluhy o SLS pri príležitosti jej 60-tých narodenín. Dňa 7.-9. októbra 2009 sa konal v Nitre 33. kongres Slovenskej nefrologickej spoločnosti, na ktorom Ing. Katarína Derzsiová bola ocenená striebornou medailou SLS opäť pri jej jubileu, 65 rokov. Pri tejto príležitosti menovaná predniesla prednášku na tému: „Zmeny vo funkčnom renálnom náleze po maratónskom behu, po 100-kilometrovom behu a po 24-hodinovom dlhotrvajúcom behu“, (7). Jej zatiaľ posledná vyžiadaná prednáška na medzinárodnom zahraničnom kongrese bola na tému: “Comparison of the renal function abnormalities after marathon run and 16-kilometre long-distance run”, ktorá odznela na 1. kongrese nefrologickej spoločnosti štátov Stredozemného mora, dňa 4. októbra 2009, v Giardini Naxos-Taormine, na Sicílii (Taliano).

Na základe vyššie uvedených skutočností je treba zdôrazniť, že Ing. Katarína Derzsiová počas svojej 40-ročnej aktívnej činnosti v nefrológii, sa ako klinická biochemička významným spôsobom zaslúžila svojou vedeckovýskumnou, prednáškovou, publikačnou a organizátorskou činnosťou o rozvoj nefrológie - vednej klinickej disciplíny, nielen na Slovensku a v Českej republike, ale aj v iných štátoch.

Vážená pani inžinierka Katarína Derzsiová, milá Katka, prajeme Ti pri príležitosti Tvojho životného jubilea a pri príležitosti 40 rokov aktívnej činnosti, ako klinickej biochemičky pracujúcej v nefrológii, pevné zdravie, mnoho síl do Tvojej ďalšej tvorivej práce, veľa šťastia, pohody v osobnom a spoločenskom živote.

Ad multos annos!

Prof. MUDr. Miroslav Mydlík, DrSc.

Prof. MUDr. Viera Spustová, DrSc.

LITERATÚRA

1. **Berčík J., Čakrt M., Derzsiová K.:** Použitie uhlíkových indikačných elektród pri neutralizačných potenciometrických titráciách (II). Grafitová elektróda v prostredí metyletylketónu. Chem. Zvesti, 1968; 22: 761-767.
2. **Derzsiová K., Mydlík M.:** Úloha laboratória v nefrologickej diagnostike z pohľadu praktického lekára. Lab Diagnostika 2008; 17: 26-31.
3. **Mydlík M., Derzsiová K., Cesnak D. et al.:** Selektivita glomerulárnej proteinúrie pri renálnej insuficiencii. Čas Lék čes 1977; 116: 694-697.
4. **Mydlík M., Derzsiová K., Žemberová E.:** Influence of water and sodium diuresis and furosemide on urinary excretion of vitamin B6, oxalic acid and vitamin C in chronic renal failure. Miner Electrolyte Metab 1999; 25: 352-356.
5. **Mydlík M., Derzsiová K.:** The 50-year history of the Nephrology Department in Košice (Slovak Republic). J. Nephrol., 2006; 19: Suppl.10, S173-S177.
6. **Derzsiová K., Mydlík M.:** Pobrušnicový klírens a transfer bielkovín pri nepretržitej ambulantnej peritoneálnej dialýze. Vnitř. Lék., 1983; 29: 242-248.
7. **Mydlík M., Derzsiová K., Bohuš B.:** Zmeny vo funkčnom renálnom náleze po maratónskom behu, po 100-kilometrovom behu a po 24-hodinovom dlhotrvajúcom behu. Vnitř. Lék., 2009; 55: Suppl 1, 103-107.
8. **Mydlík M., Derzsiová K., Mizla P. et al.:** Diagnostika a liečba otravy etylénglykolom - rozbor 20 chorých. Vnitř. Lék., 2002; 48: 1054-1059.
9. **Derzsiová K., Mydlík M., Takáč M. et al.:** Vitamín C v sére a leukocytoch pri chronickom zlyhaní obličiek. Čas. Lék. čes., 1983; 122: 1176-1179.
10. **Derzsiová K., Farkaš M., Mydlík M.:** Vitamín A a zinok v sére pri chronickom zlyhaní obličiek. Čas. Lék. čes., 1985; 124: 530-533.
11. **Derzsiová K., Mydlík M., Havriš Š. et al.:** Vitamín B1 a horčík v erytrocytoch u chorých v dlhodobom dialyzačnom programe. Čas. Lék. čes., 1987; 126: 906-908.
12. **Mydlík M., Derzsiová K.:** Oxalic acid as a uremic toxin. J. Renal. Nutr., 2008; 18: 33-39.
13. **Mydlík M., Derzsiová K.:** Vitamins and quality of life in hemodialysis patients. J. Nephrol., 2008; 21: Suppl 13, S129-S133.
14. **Derzsiová K., Mydlík M.:** Metabolic changes of oxalate in chronic renal failure. In: **F. Consolo, G. Bellinghieri, V. Savica (Edit.):** 6th Taormina Course on Nephrology 2000, s. 149-161. Editoriale Bios, Cosenza - Italy, 2000.

15. Derzsiová K., Mydlík M., Boldizsár J. et al.: *Perorálne použitie železa s vitamínom C u hemodialyzovaných chorých*. Vnitř. Lék., 2001; 47: 210-214.
16. Mydlík M., Derzsiová K., Brátová M. et al.: *Serum vitamin A, retinyl esters and vitamin E in nephrotic syndrome*. Int. Urol. Nephrol., 1991; 23: 399-405.
17. Mydlík M., Derzsiová K.: *Erythrocyte vitamins B1, B2 and B6 and erythropoietin*. Am J Nephrol 1993; 13: 464-466.
18. Mydlík M., Derzsiová K.: *Metabolism of vitamin B6 and its requirement in chronic renal failure*. Kidney Int., 1997; 52: Suppl 62, S56-S59.
19. Mydlík M., Derzsiová K., Rác O. et al.: *Vitamin E-coated dialyzer and antioxidant defense parameters: three-month study*. Semin. Nephrol., 2004; 24: 525-531.
20. Mydlík M., Derzsiová K.: *Renal replacement therapy and secondary hyperoxalemia in chronic renal failure*. Kidney Int 2001; 59: Suppl 78, S304-S307.
21. Mydlík M., Derzsiová K., Švác J. et al.: *Peritoneal clearance and peritoneal transfer of oxalic acid, vitamin C and vitamin B6 during continuous ambulatory peritoneal dialysis*. Artif Organs 1998; 22: 784-788.
22. Mydlík M., Derzsiová K., Jenča A. et al.: *Salivary oxalic and ascorbic acid in chronic renal failure*. Proc. of selected papers of the XIII International Congress on Nutrition and Metabolism in Renal Disease. Merida (Mexico), February 28-March 4, 2006 (Edit. A. Treviño-Becerra, E. Pineda-Sanches, P. Trinida-Ramos). Medimond, Bologna (Italy), s. 39-44.
23. Derzsiová K., Mydlík M., Petriková V. et al.: *Hemoperfúzia teofylínu. Štúdia in vitro*. Čas. Lék. čes., 1991; 130: 11-14.
24. Derzsiová K., Mydlík M., Petriková V.: *Hemoperfusion study with carbamazepine in vitro*. Int. J. Artif Organs, 1999; 22: 730-733.
25. Derzsiová K., Mydlík M., Petriková V. et al.: *Haemoperfusion of Amitriptyline and Nortriptyline - an in vitro Study*. BANTAO J 2006; 4: 1-4.
26. Derzsiová K., Mydlík M., Petriková V. et al.: *Hemoperfúzia paracetamolu - štúdia in vitro*. Akt. Nefrol., 2002; 8: 129-132.
27. Mydlík M., Derzsiová K., Klán J. et al.: *Hemoperfusion with alfa - amanitin an in vitro study*. Int. J. Artif Organs., 1997; 20: 105-107.
28. Derzsiová K., Mydlík M.: *XXVII. kongres Európskej spoločnosti pre umelé orgány (ESAO) „Most ku interdisciplinarite“*, 22.-25. septembra 2001, Gent (Belgicko). Vnitř. Lék., 2002; 48: 442-443.
29. Mydlík M., Derzsiová K.: *11. medzinárodný kongres pre výživu a metabolizmus pri chorobách obličiek*, 29.-31. marca 2002, Nagoja (Japonsko). Vnitř. Lék., 2002; 48: 1088-1089.

Adresa pre korešpondenciu:
 Prof. MUDr. Miroslav Mydlík, DrSc.
 IV. interná klinika
 FN L. Pasteura
 Rastislavova 43
 041 90 Košice
 Slovenská republika
 E-mail: miroslav.mydlik@upjs.sk

MUDR. JOZEF STAVNÝ
1941-2009



Jozef STAVNÝ sa narodil 19.2.1941 v Holčíkovciach, okr. Vranov nad Topľou. Na základnú a strednú školu chodil v Trebišove. V r. 1959 sa stal študentom LF UPJŠ v Košiciach. Štúdium medicíny ukončil v júni 1965 na

LF UK Bratislava - pracovisku v Martine.

Prvým pracoviskom dr. Stavného bolo Chirurgické odd. OÚNZ v Trebišove, neskôr Interné oddelenie tej istej nemocnice a po atestácii z vnútorného lekárstva v r. 1970 Oddelenie klinickej biochémie OÚNZ v Trebišove.

Od r. 1973 pracoval na Odd. klinickej biochémie OÚNZ vo Vranove nad Topľou, kde si doplnil aj obe atestácie z odboru klinická biochémia (I. stupňa v r. 1975 a II. stupňa v r. 1985). Od roku 1974 až do

svojho odchodu zastával funkciu vedeckého sekretára SLS vo Vranove nad Topľou. Vo svojej publikačnej a prednáškovej činnosti sa venoval najmä oblasti diabetológie a poruchám tukového metabolizmu.

K nám na Oddelenie klinickej biochémie Nemocnice s poliklinikou v Poprade, dnes Klinická biochémia, s.r.o. Žilina, prišiel z Vranova nad Topľou v októbri r. 1990. V rokoch 2005-2008 pracoval súčasne na čiastočný úväzok ako lekár Metabolickej ambulancie NsP. Oddelenie viedol do apríla minulého roku, kedy odišiel do dôchodku.

Od prvých dní ako k nám nastúpil, sme si ho obľúbili. Našli sme v ňom šéfa aj priateľa, ktorý vedel na oddelení vytvoriť príjemnú pracovnú atmosféru a aj prípadné ťažké situácie vždy riešil s nadhľadom a ľudskosťou jemu vlastnou.

Bol to človek veľmi aktívny, dynamický, zaniatený športovec a zástanca zdravej životosprávy. Mal rád prírodu, svoju záhradku, bol milovníkom umenia a nado všetko miloval svoju rodinu.

Primár Stavný nebol len dobrý lekár, šéf a dobrý biochemik, bol v prvom rade veľmi dobrý človek, priateľský, tolerantný, ochotný kedykoľvek pomôcť, vždy usmiaty.

Takého si Ťa budeme, pán primár, pamätať, taký ostaneš v našich srdciach...

Česť Tvojej pamiatke!

Nová generace přístrojů pro POCT

ABL90 FLEX



pH | $p\text{CO}_2$ | $p\text{O}_2$ | $s\text{O}_2$ | ctHb | FO_2Hb | FCOHb | FMetHb
 FHHb | FHbF | cK^+ | cNa^+ | cCa^{2+} | cCl^- | cGlu | cLac | ctBil

- Bezúdržbový systém ■
- Výsledky do 35 sekund ■
- Objem vzorku jen 65 μl ■
- Homogenizace vzorku ■
- Automatická kontrola jakosti ■
- Intuitivní ovládání ■

Simpler, faster, better

RADIOMETER s.r.o.

zastoupení pro ČR a SR

Křenova 3, 162 00 Praha 6, Tel.: +420 - 220 400 300

Mail: office@radiometer.cz, Web: www.radiometer.com

RADIOMETER 



Komplexná laboratórna diagnostika

Medirex, a. s.

je lídrom medzi poskytovateľmi laboratórnej diagnostiky na Slovensku. Sieť nemocničných a poliklinických laboratórií poskytuje diagnostiku najdôležitejším zdravotníckym zariadeniam v Bratislave a okolí, pričom centrálné laboratórium v Bratislave zabezpečuje najširšie spektrum vyšetrení v najvyššej kvalite. Laboratóriá spoločnosti Medirex, a. s. denne vyšetria vzorky od viac ako 7 tisíc pacientov a lekárom poskytnú viac ako 70 tisíc výsledkov v širokej škále viac ako 1 500 vyšetrení v odboroch klinická biochémia, hematológia a transfuziológia, klinická imunológia a alergológia, lekárska genetika.

LABMED, a. s.

je samostatný komplex najmodernejších, a zároveň aj najväčších laboratórií pôsobiacich v regióne východného Slovenska. Centrálné laboratórium, ktoré je umiestnené v areáli Fakultnej nemocnice L. Pasteura v Košiciach je zároveň Výučbovou základňou Ústavu lekárskej chémie, biochémie a klinickej biochémie Lekárskej fakulty, ako aj Prírodovedeckej fakulty Univerzity P. J. Šafárika. LABMED, a. s. ako jediné laboratórium v regióne východného Slovenska zabezpečuje toxikologické vyšetrenia.

Medirex, a. s. a LABMED, a. s. pomáhajú klinickým lekárom pri stanovení diagnózy, monitorovaní stavu a liečby pacienta nielen spoľahlivými výsledkami, ale aj odbornými konzultáciami. Pomáhame pri diagnostike od najbežnejších ochorení až po diagnostiku a monitoring rôznych metabolických ochorení, porúch metabolizmu tukov a iných. Robíme vyšetrenia, ktoré sú nepostrádateľné pri stanovení ochorení endokrinných orgánov, gastrointestinálneho traktu, ako aj pri obličkových a srdcových chorobách. Široká paleta nádorových markerov pomáha lekárom pri sledovaní terapie a vývoja onkologických ochorení. Ponúkame vysoko špecifické druhy vyšetrení (onkomarkery, hormóny, enzýmy a pod.). Sme súčasťou diagnostiky, diferenciálnej diagnostiky a monitorovania endokrinných ochorení, diabetu, metabolických porúch, ochorení obličiek a gastrointestinálneho traktu.

Kontakty: Medirex, a. s., člen MEDIREX GROUP
Galvaniho 17/C
821 04 Bratislava
Zvýhodnené telefónne číslo: **0850 00 30 30**
info@medirex.sk, www.medirex.sk

Odborný garant laboratórií Medirex, a. s.: MUDr. Anna Stecová, CSc.

Kontakty: LABMED, a. s., člen MEDIREX GROUP
Srbská 4
040 01 Košice
Zvýhodnené telefónne číslo: **0850 00 30 60**
info@labmed.sk, www.labmed.sk

Odborný garant laboratórií LABMED, a. s.: MUDr. Anna Kováčová



Samozrejmosťou je kvalita. My ponúkame viac:



širokú paletu
vyšetrení



krátke časy
diagnostiky

ebenefit.sk



vlastný transport
vzoriek
a výsledkov



laboratórne
výsledky
elektronicky

www.medirex.sk

www.ebenefit.sk

www.labmed.sk

UF-1000i

Prietoková fluorescenčná cytometria moča

■ Sysmex UF-1000i:

- riešenie močovej analýzy
- nové špecifické farbenie pre citlivú detekciu baktérií
- ešte lepšia štatistická spoľahlivosť
- komfortná obsluha
- nový stabilný polovodičový laser
- možnosť vzdialenej správy
- SIS-U – SW pre technickú validáciu výsledkov



Sysmex CZ s. r. o.
Elgartova 683/4 , 614 00 Brno
tel.: +420 548 216 855, fax: +420 548 216 343
e-mail: office@sysmex.cz
www.sysmex.cz
www.naselaborator.cz

Sysmex Slovakia s. r. o.
Galvaniho 15/A , 821 04 Bratislava
tel.: +421 264 532 881-2 , fax: +421 264 281 651
e-mail: office@sysmex.sk
www.sysmex.sk

NOVA
biomedical

Nova StatStrip™



Nova StatStrip™ Xpress™

Meranie glukózy bez interferencií!

Eliminuje interferencie hematokritu, maltózy, galaktózy, xylózy, kyseliny askorbovej, bilirubínu, kyseliny močovej

- výsledky do 6 sekúnd, len 1,2 μ l krvi
- bez zadávania kalibračných kódov
- kontrola akosti nezávislá na šarži prúžku
- diaľková správa a prenos výsledkov do LIS
- integrovaná čítačka čiarových kódov

Laboratória priamo na oddelenie!

*pH, pO₂, pCO₂, satO₂%, Hct, Hb, Na⁺, K⁺, Cl⁻, Ca⁺⁺, Mg⁺⁺
glukóza, laktát, močovina, kreatinín, bilirubín
iHb, O₂Hb, COHb, MetHb, Hb*

- krvné plyny, ióny, metabolity
- ľubovoľná kombinácia parametrov, jednoduchá obsluha
- najmenšie množstvo vzorky na parameter
- automatická kontrola kvality
- diaľkové ovládanie z PC, prenos výsledkov do LIS



Stat Profile® pH0x



Stat Profile® Critical Care Xpress

TECOM
ANALYTICAL SYSTEMS

TECOM ANALYTICAL SYSTEM SK spol. s r.o.

Majernikova 3478/23, 841 05 BRATISLAVA, tel.: 02/207 676 01, fax: 02/207 051 56

www.tecom-as.com, e-mail: tecom@tecom-as.com