



LABORATÓRNA DIAGNOSTIKA

Slovak Society of Clinical Biochemistry
Časopis pre pracovníkov diagnostických laboratórií

Číslo 2/2012

Ročník XVII.

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

BANSKÁ BYSTRICA, 27. – 29. MÁJA 2012

PREDNÁŠKY

POSTERY

Vydáva Slovenská spoločnosť klinickej biochémie pre SLS

Povolené Ministerstvom Kultúry SR pod reg. č. 1531/96

ISSN 1335-2644

... pre komplexne dokonalé laboratórium sú dôležité aj detaily



SUPER GL 2
najpoužívanejšie glukóзовé analyzátory

NOVINKA

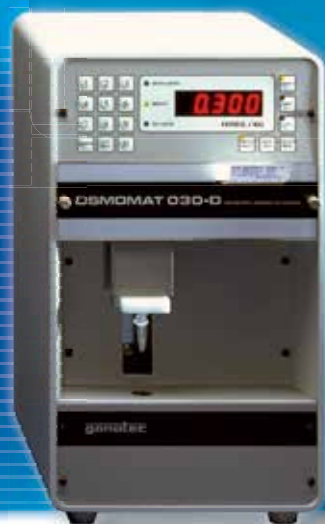


ADAMS A1c
HPLC analyzátor glykovaného hemoglobínu

Eurolab Lambda a.s.

Špecialista na

- automatizovanú močovú analýzu
- glukóзовé analyzátory
- osmometriu
- analýzu glykovaného hemoglobínu (HPLC)
- okultné krvácanie



Osmomat 030 osmometer
rokmi preverená kvalita



močová linka **Iris**
viac ako 95 inštalácií v SR a ČR

Randox has been providing diagnostic solutions
for 30 years to laboratories
worldwide

*Revolutionising healthcare
through continuously improving
diagnostic solutions*



*Saving lives through early
intervention and diagnosis*

RANDOX

Randox S.R.O., Vilová 2, 851 01 Bratislava, Slovakia
T +421 2 6381 3324 F +421 2 6381 2482

Randox Laboratories Limited, 55 Diamond Road, Crumlin, County Antrim, BT29 4QY, United Kingdom
T +44 (0) 28 9442 2413 F +44 (0) 28 9445 2912 E marketing@randox.com I www.randox.com



cobas[®] 8000 – modulárna línia analyzátorov
Inteligentná sila v laboratóriu



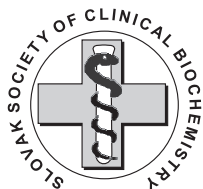
Prvá inštalácia na Slovensku v apríli 2012!



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

cobas[®]

Life needs answers



LABORATÓRNA DIAGNOSTIKA

Slovak Society of Clinical Biochemistry

Časopis pre pracovníkov diagnostických laboratórií

Číslo 2/2012

Ročník XVII.

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

Denisa Maceková, korektorka

Roman Alberty

Peter Božek

Ladislav Cebecauer

Jozef Čársky

Ivan Čižmár

Michal Farkaš

Drahošlav 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

Vydáva Slovenská spoločnosť klinickej biochémie pre SLS

Povolené Ministerstvom Kultúry SR pod reg. č. 1531/96

ISSN 1335-2644

OBSAH

PREDNÁŠKY

KLINICKÁ BIOCHEMIE A LABORATORNÍ MEDICÍNA - SOUČASNOST A PERSPEKTIVY 15 CLINICAL BIOCHEMISTRY AND LABORATORY MEDICINE - PRESENT AND FUTURE <i>Palička, V.</i>	15
TRANSPLANTAČNÝ PROGRAM - POŽIADAVKY NA LABORATORNE VYŠETRENIA18 ORGÁNOVÉ TRANSPLANTÁCIE 18 <i>Lacková, E.</i> TRANSPLANTÁCIA PEČENE Z POHLADU HEPATOLÓGA..... 19 <i>Skladany, L., Gábor, D.</i> TRANSPLANTÁCIE PEČENE A OBLIČKY Z POHLADU CHIRURGA20 <i>Janek, J., Hampl, F., Baláz, V., Kminiak, R., Šinkovič, L., Kothaj, P.</i> ČO POTREBUJE TRANSPLANTOLÓG PRI SVOJEJ PRÁCI OD LABORATÓRNYCH ODBOROV O VYŠETRENIACH, KONZULTÁCIÍ A SPOLUPRÁCI 21 <i>Grantnerová, B.</i>	18
LABORATORNE MARKERY PRI OCHORENIACH CNS 22 NEUSPORIADANÝ PROTEÍN TAU A JEHO PATOLOGICKÁ TRANSFORMÁCIA PRI ALZHEIMEROVEJ CHOROBE22 <i>Parrák, V., Kovačech, B., Novák, M.</i> ZOBRAZOVACIE METÓDY V DIAGNOSTIKE ALZHEIMEROVEJ CHOROBY A METABOLIZMUS MOZGU24 <i>Lepej, J., Gdovinová, Z., Blašková, H., Lepejová, K., Jurgová, T., Marin, I.</i> DEFICIT TRANSPORTÉRA GLUKÓZY 1 - LIEČITELNÉ NEUROMETABOLICKÉ OCHORENIE28 <i>Behúlová, D., Bzdúch, V., Fabriciová, K., Kolníková, M., Sýkora, P., Syrová, D., Genčík, A., Minichová, L.</i> TRANZIENTNÝ VÝSKYT PARAPROTEÍNU V LIKVORE U NEUROBORELIÓZY 30 <i>Pelikán, S., Albertyová, D., Donáth, V., Lužinský, L.</i> MRZ-REAKCIA: POLYŠPECIFICKÁ IMUNITNÁ ODPOVEĎ V CNS.....38 <i>Bertová, D., Gajová, A.</i> INTRATEKÁLNA SYNTÉZA IMUNOGLOBULÍNŮV G A METABOLIZMUS PURÍNŮVÝCH NUKLEOTIDOV U PACIENTOV SO SKLERÓZOU MULTIPLEX S DEFICITOM KOENZÝMU Q10 39 <i>Ondrkalová, M., Kuračka, L., Kalnovičová, T., Turčáni, P.</i>	22
LABORATORNA DIAGNOSTIKA V ZÁŤAŽOVÝCH STAVOCH ORGANIZMU41 INFEKCIA, ZÁPÁL A HIBERNÁCIA.....41 <i>Kula, R.</i> BIOMARKERY ZÁNĚTU A ORGÁNOVÉ ZÁTĚŽ V EXTRÉMNIÍCH KLINICKÝCH SITUACIÍCH44 <i>Jabor, A., Franeková, J., Hošková, L., Sečník, P. jr.</i> PRESEPSIN - CHARAKTERISTIKA, OČAKÁVANIA, NAŠE SKÚSENOSTI46 <i>Franeková, J., Sečník, P. jr., Jabor, A.</i> ON THE COEXISTENCE OF IMMUNE ACTIVATION AND IMMUNODEFICIENCY.....48 <i>Fuchs, D.</i> HLADINY NEOPTERÍNU V PLAZME U PACIENTOV S CHRONICKOU LYMFATICKOU LEUKÉMIOU.....49 <i>Parrák, V., Sečník, P., Mistrík, M., Fuchs, D.</i>	41
LABORATORNA DIAGNOSTIKA V ENDOKRINOLÓGII 50 UKAZOVATELE KOSTNÉHO METABOLIZMU V KLINICKEJ PRAXI..... 50 <i>Stecová, A., Dobáková, E., Bátorová, E.</i> VÝZNAM BIOCHEMICKÝCH MARKEROV KOSTNÉHO OBRATU V KLINICKEJ PRAXI..... 52 <i>Málek, Z.</i> HORMONÁLNE PODMIENENÁ SEKUNDÁRNA OSTEOPORÓZA54 <i>Halmová, H., Sečník, P.</i> LABORATORNA DIAGNOSTIKA NEUROENDOKRINNÝCH NÁDOROV 56 <i>Albertyová, D., Kohút, V.</i> NOVORODENECKÝ SKRÍNING KONGENITÁLNEJ HYPOTYREÓZY NA SLOVENSKU - VÝSLEDKY 27-ROČNÉHO SLEDOVANIA.....57 <i>Knapková, M., Dluholucký, S., Bieliková, S., Nogeová, A., Ferenczová, J.</i>	50
LABORATORNA DIAGNOSTIKA V REPRODUKČNEJ A PRENATÁLNEJ MEDICÍNE 58 MOŽNOSTI HODNOTENIA OVARIÁLNEJ FUNKCIE 58 <i>Stecová, A.</i> MOŽNOSTI LABORATORNEJ IMUNOLOGICKEJ DIAGNOSTIKY U PACIENTOV S PORUCHAMI PLODNOSTI60 <i>Girovská, B.</i> SÚČASNÝ POHLAD NA BIOCHEMICKÝ PRENATÁLNY SKRÍNING VRODENÝCH VÝVOJOVÝCH CHÝB.....63 <i>Schenková, K.</i> GENETICKÉ VYŠETRENIA V PRENATÁLNOBDOBÍ65 <i>Hojsíková, I., Plavinová, V.</i>	58

LABORATORNA DIAGNOSTIKA V NEFROLÓGII.....	66
NGAL - SLIBNÝ MARKER V DIAGNOSTICE AKUTNÍHO POŠKOZENÍ LEDVIN	66
<i>Trbušek, J.</i>	
STANOVENIE PARATHORMÓNU U PACIENTOV S CHRONICKOU OBLIČKOVOU CHOROBOU - MOŽNOSTI A ÚSKALIA	67
<i>Đurovcová, E., Kováčová, A., Anderková, S.</i>	
CYSTATÍN C - JE IBA MARKEROM GLOMERULÁRNEJ FILTRÁCIE?	69
<i>Gregová, E.</i>	
VARIA	70
CENOTVORBA LABORATÓRNYCH VÝKONOV V ÉRE EURA. QUI BONO?	70
<i>BALLA, J.</i>	
VOLNÉ LAHKÉ REŤAZCE KAPPA A LAMBA V DIAGNOSTIKE MNOHOPOČETNÉHO MYELÓMU	72
<i>Kubala, J.</i>	
C-PEPTID - SKÚSENOSTI Z NÁŠHO PRACOVISKA	74
<i>Barlová, J., Kollárová, E., Janoková, E., Drozda, D., Skalina, I., Rudíková, M.</i>	
NOVÝ POHLAD NA DETSKÝ AUTIZMUS - MOŽNOSTI LABORATÓRNEJ DIAGNOSTIKY A LIEČBY	75
<i>Ůrge, O., Gáborová, I., Pastorková, K., Schmidtová, K.</i>	
NOVÉ DROGY V OBEHU	77
<i>Schmidtová, K., Bolf, A., Plačková, S.</i>	

POSTERY

EOZINOPÉNIA - SKORÝ MARKER ZÁPALOVÝCH PROCESOV?	81	TERAPEUTICKÉ MONITOROVANIE IMUNOSUPRESÍV, VALIDÁCIA ANALYTICKÝCH VÝKONOVÝCH KRITÉRIÍ	95
<i>Dobišová, A., Pecháň, I., Koutun, J., Yaghi, A.</i>		<i>Karaffová, N., Jesenská, L., Grantnerová, B., Odaláš, I., Pullmann, R., Dobrota, D.</i>	
VPLYV AKTIVITY MOZGOVÝCH LÉZIÍ NA LIKVIOROVÉ HLADINY DEGRADAČNÝCH PRODUKTOV PURÍNOVÝCH NUKLEOTIDOV U PACIENTOV SO SCLEROSIS MULTIPLEX	82	KEDY PREDPOKLADAŤ PRI LAKTÁTOVEJ ACIDÓZE DEFICIT TIAMÍNU?	97
<i>Keményová, P., Kuračka, L., Kalnovičová, T., Turčáni, P.</i>		<i>Ostrožlíková, M., Behúlová, D., Holešová, D., Buzássyová, M., Sejnová, D., Franková, E.</i>	
ANALÝZA MARKEROV OXIDAČNÉHO A NITRAČNÉHO STRESU U PACIENTOV SO SCLEROSIS MULTIPLEX	83	RESPIRAČNÁ ALKALÓZA U PACIENTA S KARDIÁLNOU DEKOMPENZÁCIU (SPÔSOB HODNOTENIA ACIDOBÁZICKEJ ROVNŮVÁHY A KAZUISTIKA)	98
<i>Lukáč, Š., Muchová, J., Kalnovičová, T.</i>		<i>Pelikán, S., Albertyová, D., Mazal, J.</i>	
AUTOPROTILÁTKY U NEUROPSYCHIATRICKÉHO SLE	85	KOENZÝM Q10 U PROBANDOV S RÔZNYMI STRAVOVACÍMI NÁVYKMI	98
<i>Stiborová, I., Král, V., Blažičková, S.</i>		<i>Příbojová, J., Kudláčková, M., Mišlanová, Cs., Valachovičová, M.</i>	
STANOVENÍ VOLNÝCH LEHKÝCH ŘETĚZČŮ V MOZKOMÍŠNÍM MOKU	86	AGE DEPENDENCE OF LIPIDS PARAMETERS IN VEGETARIANS AND NON-VEGETARIANS	99
<i>Vinciková, A., Stiborová, I., Pohořská, J., Mikešová, R., Král, V.</i>		<i>Valachovicova, M., Kudlackova, M., Spustova, V., Urbanek, V.</i>	
VYUŽITIE REAL-TIME PCR PRI URČOVANÍ CHIMÉRIZMU PO ALOGÉNEJ TRANSPLANTÁCIÍ KRVOTVORNÝCH BUNIEK	87	OPTIMALIZÁCIA STANOVENIA AMINOTIOLOV V ĽUDSKEJ PLAZME	99
<i>Hanušová, E.</i>		<i>Mišlanová, Cs., Hutta, M., Kadřabová, J., Mařarič, A.</i>	
HE4 A CA 125 AKO PREDIKTÍVNE MARKERY OVARIÁLNEJ MALIGNITY	88	BUDOVANIE CENTRA EDUKÁCIE MOLEKULÁRNEJ MEDICÍNY NA ÚSTAVE CHÉMIE, KLINICKEJ BIOCHÉMIE A LABORATÓRNEJ MEDICÍNY LEKÁRSKEJ FAKULTY SLOVENSKEJ ZDRAVOTNÍCKEJ UNIVERZITY	100
<i>Kollárová, E., Janoková, E., Drozda, D.</i>		<i>Kováč, G., Baluchová, K., Porubenová, A.</i>	
STANOVENIE GLUTATIÓNU A ANTIOXIDAČNÉHO STATUSU U ONKOLOGICKÝCH PACIENTOV	89	SPRÁVA ZO SYMPÓZIA EUROPEAN FEDERATION OF LABORATORY MEDICINE „EDUCATION IN CLINICAL CHEMISTRY AND LABORATORY MEDICINE“ PRAGUE, 17.-19. 3. 2012	101
<i>Gaboňová, E., Jurga, L., Benedikovičová, A.</i>		<i>Kováč, G., Porubenová, A.</i>	
POROVNANIE DVOCH METÓD STANOVENIA ADENOZÍNDEAMINÁZY V PLEURÁLNOU VÝPOTKU - PRVÉ SKÚSENOSTI A VÝSLEDKY	89	MINIMAL STANDARD FOR POSTGRADUAL STUDY PROGRAM IN LABORATORY MEDICINE AND CLINICAL CHEMISTRY IN SLOVAK REPUBLIC	103
<i>Vaverková, G., Magula, D., Tóthová, K., Plutinský, J., Gažovičová, A.</i>		<i>Kováč, G., Porubenová, A.</i>	
KVANTITATÍVNE STANOVENIE HEMOGLOBÍNU V STOLICI	90	AKTUÁLNY STAV POSTGRADUÁLNEHO VZDELÁVANIA V KLINICKEJ BIOCHÉMII A LABORATÓRNEJ MEDICÍNE NA SLOVENSKEJ ZDRAVOTNÍCKEJ UNIVERZITE	105
<i>Uhrová, J., Vindiš, J.</i>		<i>Kováč, G., Porubenová, A.</i>	
INTEGRÁCIA A AUTOMATIZÁCIA V KLINICKOM LABORATÓRIU - BENEFIT PRE OŠETRUJÚCEHO LEKÁRA I PACIENTA	90	VYBRANÉ BIOCHEMICKÉ PARAMETRE V KRVNOM SÉRE OVIEC KONVENČNÝCH A EKOLOGICKÝCH CHOVŮV V ZÁVISLOSTI OD PLEMENA	107
<i>Hricová, J., Sečník, P., Sečnicková, A.</i>		<i>Poráčová, J., Sedlák, V., Blaščáková, M., Muchaničová, A.</i>	
POKROK V POCT V DFNSP BRATISLAVA	92	VYBRANÉ MARKERY LIPIDOVÉHO PROFILU PRASIAŤ PO APLIKÁCII FYTOADITÍV	107
<i>Syrová, D., Behúlová, D., Vasílenková, A., Farkašová, L., Brenner, M.</i>		<i>Poráčová, J., Blaščáková, M., Sedlák, V.</i>	
ABSOLÚTNA DELTA HSTNT 10 NG/L - EFEKTÍVNA DIAGNOSTIKA AKÚTNEHO INFARKTU MYOKARDU	93		
<i>Sečník, P. jr., Kíca, O., Franeková, J., Jabor, A.</i>			
NOVORODENECKÝ SKRÍNING FENYLKETONÚRIE NA SLOVENSKU V ROKU 2011	94		
<i>Revtáková, A., Zahorcová, M., Vyšleková, B., Dluholucký, S., Knapková, M.</i>			
VÝŠETRENIE HLADINY NGAL V MOČI U PACIENTOV S CHRONICKÝM ZLYHÁVANÍM SRDCA	94		
<i>Ondřejkovičová, K., Demešová, E., Daňová, K., Minářová, H.</i>			
D-HORMÓN V AMBULANTNEJ PRAXI	95		
<i>Schudichová, J., Dobrota, D., Zacharovská, A., Škereňová, M., Jesenská, L., Mórica, Z., Halienová, D.</i>			

SLOVENSKÁ LEKÁRSKA SPOLOČNOSŤ
SLOVENSKÁ SPOLOČNOSŤ KLINICKEJ BIOCHÉMIE

Vás pozývajú na

**X. ZJAZD
SLOVENSKEJ SPOLOČNOSTI KLINICKEJ BIOCHÉMIE
s medzinárodnou účasťou**

27.–29. máj 2012

BANSKÁ BYSTRICA
hotel Lux



ODBORNÝ A SPOLOČENSKÝ PROGRAM

*Vážené dámy, vážení páni,
Milé kolegyně, kolegovia!*

Výbor SSKB, organizačný a programový výbor X. zjazdu SSKB s radosťou prijal Vašu prihlášku na X. zjazd SSKB.

S potešením môžeme konštatovať, že vďaka prekvapivému záujmu o aktívnu účasť sme mohli uzavrieť prípravu odborného programu už mesiac pred začiatkom rokovania a veríme, že sa nám podarí úspešne pripraviť aj organizáciu zjazdu a spoločenské aktivity tak, aby ste si z Banskej Bystrice odniesli nielen nové poznatky týkajúce sa našej práce, ale aj spomienky na stretnutia s kolegynami a kolegami z odboru a nové podnety do Vašej budúcej činnosti.

Aby sme spoločne mohli prediskutovať aktuálny stav odboru, na návrh programového a organizačného výboru schválil výbor SSKB dodatočné zaradenie bloku, v ktorom sa týmito otázkami budeme zaoberať formou panelovej diskusie. Uskutoční sa hneď v prvý deň zjazdu - v nedeľu 27.5.2012. Informácie o činnosti výboru, ktoré bývajú obvykle náplňou plenárnej schôdze odbornej spoločnosti budú zverejnené na webovej stránke SSKB – plenárna schôdza sa bude konať vo volebnom roku 2014.

V rámci spoločenských aktivít, súvisiacich s X. zjazdom SSKB pripravujeme aj pobyt v prírode – počas druhého dňa zjazdu, 28. 5. 2012 popoludní plánujeme uskutočniť vychádzku na Pustý hrad pri Zvolene. Okrem nenáročnej fyzickej aktivity sa dozviete zaujímavé skutočnosti zo života v našom regióne v dávnejšej histórii. Rovnako si budete môcť vybrať aj oboznámenie sa s mestom Banská Bystrica formou organizovanej prechádzky po meste so sprievodcom. Vo večerných hodinách pripravujeme spoločenský večer, kde okrem užitočných diskusií si budeme môcť posediť pri hudbe, prípadne si zatancovať, či zaspievať.

Ak máte v súvislosti s Vaším pobytom v Banskej Bystrici na X. zjazde SSKB akékoľvek otázky alebo priania, neváhajte kontaktovať organizačný výbor, pokúsime sa vyhovieť Vám.

Tešíme sa na stretnutie s Vami v Banskej Bystrici !

MUDr. Drahoslav Gábor
predseda
organizačného výboru

MUDr. Katarína Daňová, PhD
prezidentka
SSKB

MUDr. Peter Sečník
predseda
programového výboru

ORGANIZUJE:

SLOVENSKÁ LEKÁRSKA SPOLOČNOSŤ

Prezident: prof. MUDr. Peter Krištúfek, CSc.

SLOVENSKÁ SPOLOČNOSŤ KLINICKEJ

BIOCHÉMIE

Prezident: MUDr. Katarína Daňová, PhD.

ORGANIZAČNÝ VÝBOR:

Albetyová Dáša

Dobiasová Iveta

Gábor Drahoslav

Miháliková Tatiana

Palková Andrea

Turay Jozef

Kontakt: MUDr. Drahoslav Gábor

OKB FNŠP F. D. R., Nám. L. Svobodu 1

975 17 Banská Bystrica

tel.: +421 48 441 2181, +421 915 831 409

e-mail: dgabor@nsppb.sk

PROGRAMOVÝ VÝBOR:

Daňová Katarína

Franeková Janka

Gregová Elena

Jabor Antonín

Parrák Vojtech

Sečník Peter

Stecová Anna

Členovia výboru SSKB

Kontakt: MUDr. Sečník Peter

Klin. laboratórium SK-Lab spol. s r. o.

Partizánska 15, 984 01 Lučenec

tel.: +421 47 4333 210, 211

e-mail: peter.secnik@sklab.sk alebo

peter.secnik@infomed.sk

ORGANIZÁCIA ZJAZDU:

Slovenská lekárska spoločnosť – kongresové oddelenie

Ing. Bieliková Ingrid

Cukrová 3, 813 22 Bratislava

tel.: +421 2 5292 2017, 2019, 2020

fax: +421 2 5263 5611

e-mail: bielikova@sls.sk

ODBORNÝ PROGRAM – PREHLAD TÉM:

- Transplantačný program – požiadavky na laboratórne vyšetrenia
- Laboratórne markery pri ochoreniach CNS
- Laboratórna diagnostika v záťažových stavoch organizmu

- Laboratórna diagnostika v endokrinológii
- Laboratórna diagnostika v reprodukčnej a prenatálnej diagnostike
- Laboratórna diagnostika v nefrológii
- Varia

MIESTO KONANIA:

Banská Bystrica, Hotel LUX, Námestie Slobody 2

(www.hotellux.sk)

ROKOVACIE JAZYKY:

Slovenský, český, anglický (bez simultánneho prekladu)

REGISTRÁCIA, PREZENTÁCIA:

Ku registrácii je potrebné vyplniť a poslať registračnú prihlášku poštou, alebo sa zaregistrovať na webovej stránke SSKB: www.sskb.sk

Prezentácia účastníkov začína v nedeľu 27. 05. 2012 od 12.00 do 17.30 hod. a pokračuje v dňoch 28. a 29. 05. 2012 v priestoroch hotela LUX

PREDNÁŠKY:

Prednášatelia, s výnimkou vyzvaných, majú časový limit na prednášku spravidla 10 minút – bližšie pozri v časovom rozpise odborného programu.

K dispozícii bude multimedialny projektor (jednoprojekcia), ozvučenie prednáškovej sály.

Zaslané súhrny prednášok budú publikované v časopise Laboratórna diagnostika.

POSTERY:

Postery budú umiestnené na paneloch podľa svojho poradového čísla. Miesto inštalácie bude oznámené počas otvorenia zjazdu. Autori nainštalujú postery tak, aby boli k dispozícii od 28.05.2012 od 08:30 hod. Diskusia pri posteroch sa uskutoční dňa 29.05.2012, 07:30 – 08:30. Prosíme autorov o osobnú prítomnosť pri svojich posteroch v uvedenom čase. Rozmery posterov: výška 106 cm × šírka 68 cm. Zaslané súhrny posterov budú publikované v časopise Laboratórna diagnostika.

VÝSTAVA:

Organizačný výbor pripravuje výstavu produktov a služieb najvýznamnejších výrobcov a dodávateľov pre klinické laboratóriá. Expozície hlavných sponzorov a vystavovateľov budú umiestnené v priestoroch hotela LUX. Výstava bude pre zaregistrovaných účastníkov dostupná počas konania zjazdu.

KONFERENČNÝ POPLATOK

Zľavnený konferenčný poplatok môžete zaplatiť najneskôr do 30. apríla 2012 zloženkou, alebo bankovým prevodom na účet (VÚB) SLS. Číslo účtu: 4532012, kód banky: 0200, VS: 121051025. Ústrižok o zaplatení poplatku predložte pri prezentácii.

Plný konferenčný poplatok môžete uhradiť tým istým spôsobom aj po tomto termíne alebo priamo pri registrácii. Jednodňový konferenčný poplatok uhradíte pri registrácii.

Konferenčný poplatok zahŕňa identifikačnú kartičku účastníka, vstup na vedecký, spoločenský program, výstavu firiem, zjazdové dokumenty a potvrdenie o účasti.

V cene jednodňového poplatku sú materiály zjazdu, účasť na prednáškach, návšteva posterov, občerstvenie pri kávových prestávkach, vstup na výstavu a potvrdenie o účasti.

Zástupcovia vystavujúcich firiem, členovia organizačného, programového výboru a pozvaní prednášatelia konferenčný poplatok neplatia.

	pred 30. 04. 2012	po 30. 04. 2012
členovia SSKB	30 €	33 €
nečlenovia SSKB	33 €	36 €
študenti a dôchodcovia	10 €	13 €
jednodňový poplatok 27.05.2012		0 €
28.05.2012		15 €
29.05.2012		15 €

POTVRDENIE O ÚČASTI, KREDITY SACCME

X. zjazd Slovenskej spoločnosti klinickej biochémie s medzinárodnou účasťou je odborné podujatie, ktoré je zaradené do systému kontinuálneho postgraduálneho medicínskeho vzdelávania. Slovenská akreditačná rada pre kontinuálne medicínske vzdelávanie (SACCME) pridelila na základe obsahu a trvania odborného programu X. Zjazdu SSKB príslušný počet kreditov. Potvrdenie o účasti obdržia všetci riadne zaregistrovaní účastníci konferencie.

UBYTOVANIE

Je rezervované v Hoteli LUX. Objednávku a úhradu za ubytovanie si rieši každý účastník individuálne cez recepciu hotela. (www.hotellux.sk)

Ceny za ubytovanie:

- 2-posteľová izba STANDARD pri obsadení 2 osobami: 48 €/noc
- 2-posteľová izba STANDARD pri obsadení 1 osobou: 38 €/noc
- 2-posteľová izba BUSINESS pri obsadení 2 osobami: 58 €/noc
- 2-posteľová izba BUSINESS pri obsadení 1 osobou: 48 €/noc

STRAVOVANIE

Raňajky sú zahrnuté v cene ubytovania. Obedy si bude možné objednať v reštaurácii hotela Lux. Bližšiu informáciu obdržia záujemcovia pri prezentácii.

V rámci konferenčného poplatku je zahrnuté „Posedenie pri víne“ (po divadelnom predstavení 27. 05. 2012) a večera formou rautu v rámci spoločenského večera 28. 05. 2012.

Izba Business



Reštaurácia



Letná terasa



Kongresové priestory



Hotelová hala

PROGRAM

27. 05. 2012 – nedeľa

- 13,30-13,45 **OTVORENIE X. ZJAZDU SSKB**
Daňová, K., Gábor, D., Sečnik, P.
- 13,45-14,15 Plenárna prednáška
Klinická biochémia a laboratórna medicína - súčasnosť a perspektívy
Palička, V. (Hradec Králové)
- 14,15-15,45 **TRANSPLANTAČNÝ PROGRAM - POŽIADAVKY NA LABORATÓRNE VYŠETRENIA**
Predsedajúci: *Lacková, E., Gábor, D.*
- 14,15-14,30 **Orgánové transplantácie**
Lacková, E. (Banská Bystrica)
- 14,30-14,45 **Transplantácia pečene z pohľadu hepatológa**
Skladany, L. (Banská Bystrica)
- 14,45-15,00 **Transplantácia obličiek a pečene z pohľadu chirurga**
Janek, J. (Banská Bystrica)
- 15,00-15,25 **Čo očakáva transplantológ od laboratórných odborov?**
Grandmerová, B. (Banská Bystrica)
- 15,25-15,35 **Diskusia**
- 15,35-16,00 **Prestávka - uvítací drink, káva**
- 16,00-17,30 **SÚČASNOSŤ A BUDÚCNOSŤ LABORATÓRNYCH ODBOROV NA SLOVENSKU - panelová diskusia**
Účastníci: *Balla, J., Daňová, K., Gábor, D., Heriban, V., Jabor, A., Kováč, G., Palička, V., Sečnik, P.*
Témy/Úvodné slovo:
Aktuálna situácia na Slovensku/K. Daňová
Postgraduálne vzdelávanie/G. Kováč
Financovanie (DRG)/V. Heriban
- 18,30-23,00 **Odvodzenie „Ceny profesora Ivana Pecháňa“ (Štátna Opera Banská Bystrica)**
Divadelné predstavenie: F. Lehár - Veselá vdova
Po predstavení - posedenie pri pohári vína

28. 02. 2012 – pondelok

- 08,30-10,05 **LABORATÓRNE MARKERY PRI OCHORENIACH CNS**
Predsedajúci: *Behúlová, D., Lepej, J.*
- 08,30-08,50 **Neusporiadaný proteín Tau a jeho patologická transformácia pri Alzheimerovej chorobe**
Parrák, V., Kovačech, B., Novák, M. (Bratislava)
- 08,50-09,05 **Zobrazovacie metódy v diagnostike Alzheimerovej choroby a metabolizmu mozgu**
Lepej, J., Gdovinová, Z., Blašková, H., Lepejová, K., Jurgová, T., Marin, I. (Košice)

- 09,05-09,20 **Deficit transportéra glukózy1 - liečiteľné neurometabolické ochorenie**
Behúlová, D., Bzdúch, V., Fabriciová, K., Kolníková, M., Sýkora, P., Syrová, D., Genčík, A., Minichová, L. (Bratislava)
- 09,20-09,35 **Tranzientny výskyt paraproteínu v likvore u neuroboreliózy**
Pelikán, S., Albertyová, D., Donáth, V., Lužinský, L. (Banská Bystrica)
- 09,35-09,50 **MRZ-reakcia: polyšpecifická imunitná odpoveď v CNS**
Bertová, D., Gajová, A. (Košice)
- 09,50-10,05 **Diskusia**
- 10,05-10,20 **Prestávka - káva**
- 10,20-12,05 **LABORATÓRNA DIAGNOSTIKA V ZÁŤAŽOVÝCH STAVOCH ORGANIZMU**
Predsedajúci: *Jabor, A., Parrák, V.*
- 10,20-10,40 **Infekcia, zápal a hibernácia**
Kula, R. (Ostrava)
- 10,40-11,00 **Biomarkery zánetu a orgánové záťaž v extrémnych klinických situáciách**
Jabor, A., Franeková, J., Hošková, L., Sečnik, P. jr. (Praha)
- 11,00-11,20 **Coexistence of immune activation and immunodeficiency**
Fuchs, D. (Innsbruck)
- 11,20-11,35 **Presepsin - charakteristika, očakávania, naše skúsenosti**
Franeková, J., Sečnik, P. jr., Jabor, A. (Praha)
- 11,35-11,50 **Hladiny neopterinu v plazme u pacientov s chronickou lymfatickou leukémiou**
Parrák, V., Sečnik, P., Mistrík, I., Fuchs, D. (Bratislava, Lučenec, Innsbruck)
- 11,50-12,05 **Diskusia**
- 12,10-13,30 **Obed**
- 13,30-15,05 **LABORATÓRNA DIAGNOSTIKA V ENDOKRINOLÓGI**
Predsedajúci: *Málek, Z., Sečnik, P.*
- 13,30-13,45 **Ukazovatele kostného metabolizmu v klinickej praxi**
Stecová, A., Dobáková, E., Bátorová, E. (Bratislava)
- 13,45-14,05 **Význam biochemických markerov kostného obratu v klinickej praxi**
Málek, Z. (Zlín)
- 14,05-14,20 **Hormonálne podmienená sekundárna osteoporóza**
Halmová, H., Sečnik, P. (Lučenec)
- 14,20-14,35 **Laboratórna diagnostika neuroendokrinných nádorov**
Albertyová, D., Kohút, V. (Banská Bystrica)
- 14,35-14,50 **Novorodenecký skrining kongenitálnej hypotyreózy na Slovensku - výsledky 27-ročného sledovania**
Knapková, M., Dluholucký, S., Bieliková, S., Nogeová, A., Ferenczová, J. (Banská Bystrica)
- 14,50-15,05 **Diskusia**

15,30-19,00 Spoločenský program
Výlet - Pustý hrad pri Zvolene
(prosíme záujemcov o výlet o zaslanie potvrdzujúceho e-mailu - kvôli zaisteniu dopravy - na adresu: sskbzjazd@nspbb.sk)
Prehliadka mesta so sprievodcom
(trasa podľa výberu pri prezentácii)

20,00-24,00 Spoločenský večer - hotel LUX
večera formou rautu, hudba, tanec, neformálne oblečenie

29. 05. 2012 - utorok

07,30-08,30 DISKUSIA PRI POSTEROCH
08,00-09,30 LABORATÓRNA DIAGNOSTIKA V REPRODUKČNEJ A PRENATÁLNEJ MEDICÍNE
Predsedajúci: *Stecová, A., Hojsíková, I.*
08,00-08,20 Možnosti hodnotenia ovariálnej funkcie
Stecová, A. (Bratislava)
08,20-08,40 Možnosti laboratórnej imunologickej diagnostiky u pacientov s poruchami plodnosti
Girovská, B. (Bratislava)
08,40-09,00 Súčasný pohľad na biochemický prenatálny skrining vrodených vývojových chýb
Schenkova, K. (Bratislava)
09,00-09,20 Genetické vyšetrenia v prenatálnom období
Hojsíková, I., Plavinová, V. (Bratislava)
09,20-09,30 Diskusia
09,30-09,45 Prestávka - káva
09,45-11,15 LABORATÓRNA DIAGNOSTIKA V NEFROLÓGII
Predsedajúci: *E. Gregová, P. Dlhopolček*
09,45-10,00 Akútne zlyhanie obličiek
Čellár, M. (Banská Bystrica)

10,00-10,15 NGAL - sľubný marker v diagnostike akútneho poškodení ledvin
Trbušek, J. (Praha)
10,15-10,30 Dôvody včasného záchytu pacientov s chronickou obličkovou chorobou
Dlhopolček, P. (Banská Bystrica)
10,30-10,45 Stanovenie parathormónu u pacientov s chronickou obličkovou chorobou - možnosti a úskalia
Đurovcová, E., Kováčová, A., Anderková, S. (Košice)
10,45-11,00 Cystatín C - je iba markerom glomerulárnej filtrácie?
Gregová, E. (Banská Bystrica)
11,00-11,15 Diskusia
11,15-11,30 Prestávka - káva
11,30-13,00 VARIA
Predsedajúci: *D. Gábor, P. Blažiček*
11,30-11,50 Cenotvorba laboratórnych výkonov v ére Eura. *Qui bono?*
Balla, J. (Prešov)
11,50-12,05 Voľné ľahké reťazce kappa a lambda v diagnostike mnohopočetného myelómu
Kubala, J. (Ružomberok)
12,05-12,20 C-peptid - skúsenosti z nášho pracoviska
Barlová, J., Kollárová, E., Janoková, E., Drozda, D., Skalina, I., Rudíková, M. (Košice)
12,20-12,35 Nový pohľad na detský autizmus - možnosti laboratórnej diagnostiky a liečby
Ťrge, O., Gáborová, I., Pastorková, K., Schmidtová, K. (Bratislava)
12,35-12,50 Nové drogy v obehú
Schmidtová, K., Bolf, A., Plačková, S. (Bratislava)
12,50-13,00 Diskusia
13,00-13,30 UKONČENIE X. ZJAZDU SSKB
Daňová, K., Gábor, D., Sečník, P.
13,30-14,30 Obed

POSTERY

1. **Eozinopénia – skorý marker zápalových procesov ?**
Dobišová, A., Pecháň, I., Koutun, J., Yaghi, A. (Bratislava)
2. **Vplyv aktivity mozgových lézií na likvorové hladiny degradačných produktov purínových nukleotidov u pacientov so *sclerosis multiplex***
Keményová, P., Kuračka, E., Kalnovičová, T., Turčáni, P. (Bratislava)
3. **Analýza markerov oxidačného a nitračného stresu u pacientov so *sclerosis multiplex***
Lukáč, Š., Muchová, J., Kalnovičová, T. (Bratislava)
4. **Autoprotilátky u neuropsychiatrického SLE**
Stiborová, I., Král, V., Blažíčková, S. (Trnava, Ústí nad Labem, Piešťany)
5. **Stanovení volných lehkých řetězců v mozkomíšním moku**
Vinciková, A., Stiborová, I., Pohořská, J., Mikešová, R., Král, V. (Ústí nad Labem)
6. **Využitie real-time PCR pri určovaní chimérizmu po alogénnej transplantácii krvotvorných buniek**
E. Hanušovská (Bratislava)
7. **HE-4 a CA125 ako prediktívne markery ovariálnej malignity**
Kollárová, E., Janoková, E., Drozda, D. (Košice)
8. **Stanovenie glutatiónu a antioxidačného statusu u onkologických pacientov**
Gaboňová, E., Jurga, L., Benedikovičová, A. (Trnava, Žiar nad Hronom)
9. **Porovnanie dvoch metód stanovenia adenosídne aminázy v pleurálnom výpotku – prvé skúsenosti a výsledky**
Vaverková, G., Magula, D., Tóthová, K., Plutinský, J., Gažovičová, A. (Nitra, V. Hággy)
10. **Kvantitatívne stanovenie hemoglobínu v stolici**
Uhrová, J., Vindiš, J. (Trenčín)
11. **Integrácia a automatizácia v klin. laboratóriu – benefit pre ošetrojúceho lekára i pacienta**
Hricová, J., Sečník, P., Sečníková, A. (Lučenec)
12. **Pokrok v POCT v DFNSP Bratislava**
Syrová, D., Behúlová, D., Vasilenková, A., Farkašová, L., Brenner, M. (Bratislava)
13. **Absolútna delta hsTnT 10 ng/l – efektívna diagnostika akútneho infarktu myokardu**
Sečník, P., jr., Kica, O., Franeková, J., Jabor, A. (Praha)
14. **Novorodenecký skrining fenylketonúrie na Slovensku v roku 2011**
Revtáková, A., Zahorcová, M., Vyvleková, B., Dluholucký, S., Knapková, M. (Banská Bystrica)
15. **Výšetrenie hladiny NGAL v moči u pacientov s chronickým zlyhávaním srdca**
Ondrejkošová, K., Demešová, E., Daňová, K., Minárová, H. (Bratislava)
16. **D-hormón v ambulantnej praxi**
Schudichová, J., Dobrota, D., Zacharovská, A., Škereňová, M., Jesenská, L., Móricaová, Z., Halienová, D. (Martin)
17. **Terapeutické monitorovanie imunopresív, validácia analytických výkonových kritérií**
Karaffová, N., Jesenská, L., Grantnerová, B., Odaloš, I., Pullmann, R., Dobrota, D. (Martin)
18. **Kedy predpokladať pri laktátovej acidóze deficit tiamínu ?**
Ostrožlíková, M., Behúlová, D., Holešová, D., Buzássyová, M., Sejnová, D., Franková, E. (Bratislava)
19. **Respiračná alkalóza u pacienta s kardiálnou dekompenzáciou (spôsob hodnotenia acidobázickej rovnováhy a kazuistika)**
Pelikán, S., Albertyová, D., Mazal, J. (Banská Bystrica)
20. **Koenzym Q10 u probandov s rôznymi stravovacími návykmi**
Príbojová, J., Kudláčková, M., Mišlanová, Cs., Valachovičová, M. (Bratislava)
21. **Age dependence of lipids parameters in vegetarians and non-vegetarians**
Valachovičová, M., Kudláčková, M., Spustová, V., Urbánek, V. (Bratislava)

22. **Optimalizácia stanovenia aminotiolov v ľudskej plazme**
Mišlanová, Cs., Hutta, M., Kadrabová, J., Maďarič, A.
(Bratislava)
23. **Budovanie centra edukácie molekulárnej medicíny na Ústave chémie, klinickej biochémie a laboratórnej medicíny lekárskej fakulty Slovenskej zdravotníckej univerzity**
Kováč, G., Baluchová, K., Porubenová, A. (Bratislava)
24. **Správa zo sympózia European federation of laboratory medicine „Education in clinical chemistry and laboratory medicine“ Prague, 17.-19.3.2012**
Kováč, G., Porubenová, A. (Bratislava)
25. **Minimal standard for postgraduate study program in laboratory medicine and clinical chemistry in Slovak republic**
Kováč, G., Porubenová, A. (Bratislava)
26. **Aktuálny stav postgraduálneho vzdelávania v klinickej biochémii a laboratórnej medicíne na Slovenskej zdravotníckej univerzite**
Kováč, G., Porubenová, A. (Bratislava)
27. **Vybrané biochemické parametre v krvnom sére oviec konvenčných a ekologických chovov v závislosti od plemena**
Poráčová, J., Sedlák, V., Blaščáková, M., Muchaničová, A. (Prešov)
28. **Vybrané markery lipidového profilu prasiat po aplikácii fytoaditív**
Poráčová, J., Blaščáková, M., Sedlák, V. (Prešov)

X. ZJAZD
SLOVENSKEJ SPOLOČNOSTI
KLINICKEJ BIOCHÉMIE
S MEDZINÁRODNOU ÚČASŤOU
BANSKÁ BYSTRICA, 27.–29. MÁJA 2012

PREDNÁŠKY

KLINICKÁ BIOCHEMIE A LABORATORNÍ MEDICÍNA – SOUČASNOST A PERSPEKTIVY

PALIČKA, V.

Ústav klinické biochemie a diagnostiky, Lékařská fakulta a Fakultní nemocnice
Hradec Králové

Klinická biochemie se od svého vzniku potýká s problémem své specifikace a existence a přesného vymezení či specifikace spolupráce s ostatními lékařskými obory. Desítky let se objevují články o krizi oboru, riziku jeho zániku, o hledání hranic s ostatními laboratorními obory či o pevnosti jeho vazby a prolnutí s obory klinickými.

V posledních dvaceti letech prodělala klinická biochemie v ČR a obdobně i v SR neskutečný rozvoj, ale i změnu svého postavení. Rozvoj pracovišť vystřelil přístrojové vybavení o několik řádů výše než bylo v předchozím období, dostupnost kvalitních chemikálií a metod prudce zvedla analytickou kvalitu. Tento technický rozvoj však ani zdaleka nevyřešil problémy uvnitř oboru, jeho personální vybavení ani specifikaci existence.

Jestliže výdaje na zdravotnictví ve světě jsou odhadovány na více než 2.500 biliónů USD, pak je potřeba současně upozornit, že výdaje na diagnostiku z toho představují cca 4% (a to jen ve vyspělých zemích) a vlastní laboratorní diagnostika činí jen asi jedno procento. I zde jsou však značné rozdíly a ČR vynakládá na IVD asi 6× méně než Německo, a SR uvolňuje jen asi 60% výdajů ČR. Česká republika patří přitom k velmi ojedinělým státům v EU, ve kterých podíl výdajů na zdravotnictví, vyjádřený v % HDP, dokonce klesá. Na rozdíl od výdajů na IVD je naopak

podíl zdravotnictví z celkového HDP na Slovensku vyšší než v ČR. To vše pochopitelně dopadá i na laboratorní diagnostiku a ovlivňuje rozvoj (či „nerozvoj“) oboru.

Nedostatek finančních prostředků, ať už je v absolutních hodnotách vyjádřený jakkoli, ovlivňuje i klinickou biochemii a laboratorní diagnostiku. V dobách krize i IFCC varuje před několika „pokuseními“, která mohou ovlivňovat laboratorní diagnostiku. I přes rozdílnost organizačního zařazení či formy vlastnictví laboratoří mezi ČR a SR, jsou tato „pokusení“ obdobná, i když ovlivňují především nestátní sféru: pokusení zavádět klinicky málo potřebná, ale lukrativní vyšetření, pokusení zavádět nové metody bez dostatečných znalostí o jejich klinických přínosech (typickým příkladem mohou být některá genetická vyšetření), ale především – a to se týká všech laboratoří, státních i nestátních – neprovádět plnohodnotnou validaci, kontrolu, definici referenčních mezí a především šetřit na personálním vybavení pracovišť. Nedostatek finančních prostředků, ať již absolutní či relativní, vyvolaný snahou o větší zisky, může negativně ovlivnit kvalitu analytické práce, vede k nákupu lacinějších chemikálií s malým důrazem na jejich kvalitu a snahou omezit personál jak v počtech, tak kvalifikaci a kvalitě. Laboratorní obory tím mají tendenci sklou-

závat k pouhé produkci výsledků (s potenciálně ohroženou kvalitou) a limitovat či dokonce likvidovat medicínskou stránku oboru.

Z hlediska metodického je potřeba přiznat, že obor klinické biochemie mnoho let ztrácí (či předává) mnohé své metody a know-how. Nepochybný je přesun mezi laboratorními obory, který je v poslední době „kompensován“ vznikem pracovišť, zahrnujících více laboratorních odborností (klinickou biochemii, hematologii, imunologii, případně i nukleární medicínu, genetiku a někde i mikrobiologii). Mnohé metody však předáváme i do nelaboratorních pracovišť – metody POCT přecházejí do gesce praktických lékařů (v ČR nejen glykemie a vyšetření moče, ale i glykovaný hemoglobin, CRP a brzy jistě i další).

V posledních letech není patrný nárůst nových oblastí v klinické biochemii – ne vždy jsme zachytili obrovský potenciál molekulárně biologických metod, proteomiky a dalších.

Kvalita laboratorních vyšetření nepopíratelně úžasně vzrostla, především v analytické sféře. Daleko menší pozornost však věnujeme oblastí preanalytické a tolerujeme stakilometrové transporty biologického materiálu. Ještě méně pozornosti věnujeme stránce postanalytické, především interpretační s aktivním vstupem do klinického procesu. Zatímco kupř. v UK se zdárně rozvíjí reflektivní testování, kdy klinický biochemik aktivně ordinuje (nebo vyřazuje) potřebné-nepotřebné testy, u nás jsme se o to ani nepokusili. Jedním ze základních důvodů tohoto stavu a problémů je patrný odklon od klinické stránky oboru – mnoho pracovišť se stává především producentem číselných hodnot, aniž si uvědomuje, že klinické vyšetření není automat na výsledky, ale potřebuje mentální autorisaci a úzký, každodenní styk s klinickým partnerem a přímý kon-

takt s pacientem alespoň formou konsiliárních kontaktů. Limitace klinické stránky oboru snižuje zájem mladých lékařů o vstup do oboru, tím klesá schopnost oboru vyvíjet klinickou činnost a bludný kruh se uzavírá. ČR a SR měly v historii obrovskou výhodu v aktivním zapojení kvalitních lékařů (ale i analytiků) do oboru, kterou však v posledních letech poněkud ztrácí.

Spokojujeme se s tím, že vyhovíme nastaveným limitům EQA a nebereme v úvahu, že klinika naprosto nezajímá naše nejednotnost imunochemických metod a neschopnost dosáhnout sjednocení a tím paralelní použitelnosti výsledků, produkovaných různými laboratořemi.

Obor klinické biochemie a všech ostatních laboratorních oborů však je pro kvalitní medicínu naprosto nezbytný a bude se tedy jistě rozvíjet. Rozvoj medicíny si vynutí rozvoj laboratorních metod (i když bychom mohli toužit, aby tento vztah byl přinejmenším vyrovnaný, nebo aby dokonce klinická biochemie „hnala kupředu celou medicínu, jako tomu bylo v dobách Paula Astrupa a dalších). Máme stále šanci být aktivními hybateli tohoto procesu a nedopustit, abychom se stali jeho pasivními subjekty. Je však třeba trvale zavádět nové metody a testy a aktivně se podílet na jejich interpretaci a aplikaci, zapojit se do klinických aktivit a „vyjít z laboratoří“, publikovat v klinických časopisech a neuzavírat se do laboratorních klausur, přednášet na klinických fórech a především – vědět o nových metodách a jejich přínosech více než naši kliničtí partneři. Rozvoj medicíny přináší stálé novinky – musíme být první v jejich záchytu, rozvoji a aplikaci; příkladem může být personalizovaná medicína. V takovém případě jsou perspektivy klinické biochemie více než dobré.

VLADIMÍR PALIČKA
palicka@lfhk.cuni.cz

CLINICAL BIOCHEMISTRY AND LABORATORY MEDICINE – PRESENT AND FUTURE

PALICKA, V.

Institute for Clinical Biochemistry and Laboratory Diagnostics, Charles University
School of Medicine and University Hospital, Hradec Kralove
Czech Republic

Clinical biochemistry faces to the danger of its destruction and limitation for many years. The financial shortage leads to the temptation to reduce the quality of testing and limit the staff in laboratories. This danger is more pronounced in countries like CR and/or SR, in which the IVD support is very limited in comparison with other parts of the European Union. The outsourcing of tests could be dangerous for quality, especially in pre-analytical part.

The perspective of clinical biochemistry and laboratory medicine is mostly in the development of new methods and in the clinical part of the discipline and close cooperation with clinical partners. Clinical biochemists must be active in the new method development as well as in the clinical interpretation of the results.

TRANSPLANTAČNÝ PROGRAM – POŽIADAVKY NA LABORATÓRNE VYŠETRENIA

ORGÁNOVÉ TRANSPLANTÁCIE

LACKOVÁ, E.

Transplantačné centrum, FN sP F. D. Roosevelta
Banská Bystrica

Ľudia oddávna túžili prenášať orgány z jedného človeka na druhého, aby si týmto spôsobom mohli zachrániť alebo predĺžiť život. 23. 12. 1954 J. Murray a J. Merrill vykonali prvú úspešnú transplantáciu obličky medzi monozygotnými dvojčatami. História transplantácií obličiek na Slovensku začala 16. 6. 1972, na Urologickej klinike ak. L. Déreera v Bratislave, vykonal ju profesor Zvara. V r. 1970 – 1975 boli obličkové transplantácie akceptované ako možná liečebná alternatíva pre pacientov s obličkovým zlyhaním. Prinášajú komplexné obnovenie obličkových funkcií, predĺženie a skvalitnenie života pacienta, ich cena je nižšia v porovnaní s dialýzou.

Transplantačné centrum v B. Bystrici vzniklo ako tretie na Slovensku po Bratislave a Koši-

ciach, 19. 9. 1990 a 25. 1. 1991 bola vykonaná prvá úspešná transplantácia obličky. Banskobystrické centrum otváralo celoslovenský transplantačný program obličiek od geneticky nepríbuzného, transplantácie pečene, kombinovanú transplantáciu obličky a pankreasu a skrížené transplantácie obličiek. V roku 2011 sa uskutočnilo na Slovensku 132 transplantácií obličiek, 25 pečení a 19 srdc.

Orgánové transplantácie sú multidisciplinárnym odborom, bez spolupráce jednotlivých klinických (nefrológia, hepatológia, chirurgia, OAIM,...) a paraklinických pracovísk (OKB, HLA lab., Hematol., RTG,...) ich nie možné vykonávať.

TRANSPLANTÁCIA PEČENE Z POHL'ADU HEPATOLÓGA

SKLADANÝ, L.¹, GÁBOR, D.²

¹II. interná klinika SZU FNŠP F. D. Roosevelta Banská Bystrica

²Oddelenie klinickej biochémie FNŠP F. D. Roosevelta Banská Bystrica

Cieľom hepatológie je predísť transplantácii pečene; ak sa to nedá, tak pomôcť pacientovi pri znovu- alebo, častejšie, nadobúdaní kvalitného života. Hlavným nástrojom je prehľad o aktuálnom stave, mimo iného za pomoci laboratórnych metodík.

Okrem skúseného oka, ktoré sa na tento účel žiaľ nepoužíva, je najefektívnejším spôsobom na zachytávanie chorôb pečene v latentnom štádiu aktivita alanín aminotransferázy; či by sa jej suboptimálny výkon zvýšil znížením hornej hranice normy, je zaujímavá nevyriešená otázka.

Diferenciálna diagnostika etiológie je bez biochemického panelu nástrojov nemysliteľná. Presnosť je pomerne nízka pri najzávažnejšej forme akútnej hepatitídy - fulminantnom hepatálnom zlyhaní a na opačnej strane spektra - pri terminálnej fáze cirhózy pečene.

Naopak, pri veľmi dôležitom stanovovaní prognózy pacienta, si panel zachováva presnosť aj v týchto krajných situáciách: skórovacie systémy King's College a MELD sú hlavnými indikačnými kritériami na transplantáciu pečene. Fibrotest(R) a pod. sú kombinácie laboratórnych parametrov, odhadujúce s presnosťou blízkou biopsii pečene stupeň fibrózy.

Stanovovanie hladiny liekov je *conditio sine qua non* potransplantačnej starostlivosti, nemej užitočnými by boli testy na predvídanie recidívy choroby vrátane pitia alkoholu.

Bayesianskej matematike o živote a smrti veľmi pomáha tesný a neustály kontakt klinika s kolegami z laboratória, ktorí aktualizujú jej základné vstupné premenné: prediktívne hodnoty a presnosť vyšetrení.

TRANSPLÁNTÁCIE PEČENE A OBLIČKY Z POHĽADU CHIRURGA

JANEK, J., HAMPL, F., BALÁŽ, V., KMINIAK, R., ŠINKOVIČ, L., KOTHAJ, P.

Transplantačné centrum, FNŠP F. D. Roosevelta, Banská Bystrica

Orgánové transplantácie sa stali štandardnou liečbou terminálneho zlyhania pečene a obličky v indikovaných prípadoch. Od 60 rokov minulého storočia boli postupne rozpracované a štandardizované chirurgické techniky až do dnešnej podoby. Na našom pracovisku dnes vykonávame ortotopické transplantácie pečene od mŕtvych darcov technikou kavokaválnej side po side anastomózy,

v ojedinelých prípadoch aj technikou bikaválnej anastomózy s veľmi dobrými výsledkami. Transplantácie obličiek či už od kadaverózných alebo aj živých darcov sa rutinne vykonávajú implantáciou na panvové tepny do bedrovej jamy. Autori v prednáške prezentujú prehľad základných chirurgických techník pre transplantácie pečene a obličky.

ČO POTREBUJE TRANSPLANTOLÓG PRI SVOJEJ PRÁCI OD LABORATÓRNYCH ODBOROV O VYŠETRENIACH, KONZULTÁCIÍ A SPOLUPRÁCI

GRANTNEROVÁ, B.

Zlaté kúpele, Turčianske Teplice

Transplantačná problematika predstavuje jednu z najdynamickejších oblastí medicíny. Prepojenie medzi klinickou starostlivosťou o pacienta a laboratórnym zázemím je mimoriadne úzke. Posledné desaťročia sme svedkami významného zlepšenia krátkodobých výsledkov obličkových transplantácií najmä vďaka novým potentným imunosupresívam. Menej uspokojujúce sú dlhodobé výsledky. Hlavnou príčinou je pozdné zlyhanie štepu a smrť pacienta s funkčným štepom v dôsledku kardiovaskulárnych, infekčných a nádorových ochorení. Transplantačná starostlivosť musí byť komplexná, t.j. zameraná na monitorovanie a zaistenie „zdravia“ štepu ako i zdravia pacien-

ta samotného. Zatiaľ nám chýbajú biomarkery odrážajúce primerane stav štepu a umožňujúce predikovať výsledky u konkrétneho jednotlivca. Projekt DeKAF (Deterioration of Kidney Allograft Function) je príkladom multidisciplinárneho a multiinštitučného prístupu, ktorý sa za pomoci „omiksových“ metodík (genomiky, metabolomiky a proteomiky) zameriava na identifikovanie špecifických príčin zlyhania štepu. Účelom projektu RISE (Reprogramming the Immune System for Establishment of Tolerance) bolo priviesť nás bližšie k navodeniu tolerancie – permanentného prijatia transplantátu bez kontinuálnej imunosupresie.

NEUSPORIADANÝ PROTEÍN TAU A JEHO PATOLOGICKÁ TRANSFORMÁCIA PRI ALZHEIMEROVEJ CHOROBE

PARRÁK, V.¹, KOVAČECH, B.¹, NOVÁK, M.¹

¹Neuroimunologický ústav Slovenskej akadémie vied, Dúbravská cesta 9, 845 10 Bratislava
Slovenská republika

Induktorom neurodegenerácie humánnych taupatií je patologicky zmenený neurónový proteín Tau. Vznik patologických foriem Tau proteínov je spôsobený zmenou fyziologického neusporiadaného Tau v procese hyperfosforylácie, alebo jeho skrátením, resp. ich kombináciou. Nedávno sme zvieracím modelom (transgénny potkan) predstavili expresiu neusporiadaného skráteného proteínu Tau, získaného z ľudského Alzheimerovho mozgu, ktorý odzrkadľuje ťažké neurologické poškodenie – degeneráciu neurónov. Použitím tohto modelu sme schopní podrobne zdokumentovať a vysvetliť priebeh premeny neusporiadaného fyziologického Tau proteínu na patologický Tau proteín spôsobujúci neurodegeneráciu.

Proces premeny je charakterizovaný tromi štádiami:

I. Štádium predstavuje nerozpustný sarkozyl Tau proteín, ktorý nachádzame u mladých transgénnych zvierat, pred vznikom intraneu-

ronálnych kľbiek. Tento prvý stupeň sarkosyl nerozpustného monoméru predstavuje nezrelý vývoj sarkozyl-nerozpustnej formácie.

II. Štádium je ďalšia maturácia sarkozyl – nerozpustného Tau ďalšou fosforyláciou za vzniku nerozpustného patologicky zmeneného Tau komplexu.

III. Štádium predstavuje „reťazovú reakciu“ premenu Tau proteínov na patologické nerozpustné komplexy spôsobujúce zmenu – degeneráciu neurónov vo veľkom rozsahu prekročením kompenzačných schopností mozgu spôsobujúcu zrýchľujúcu neurodegeneráciu vedúcu k smrti.

Podrobné monitorovanie tejto patológie na molekulárnej úrovni umožňuje jej pochopenie a predstavuje dôležité kroky k diagnostike a liečbe taupatií.

Misordered neuronal protein tau is an inducer of neurodegeneration in human tauopathies. It

is believed that posttranslational events leading to the transition of tau protein from disordered to misordered state are associated with hyperphosphorylation or truncation or their combination. Recently, we have presented a rat model of tauopathy expressing disordered truncated tau protein, derived from human sporadic AD, which displays severe neuronal degeneration. By using this model, we were able to outline time course of the transition process of disordered tau into misordered, mature neurofibrillary tau. The transition process is characterized by three stages. The first stage represents sarcosyl insoluble tau monomer appearing already in very young transgenic animals, well before the detection of mature intraneuronal tangles. This stage of sarcosyl insoluble “monomer” (“the one band

stage”) represents immature developmental stage of sarcosyl insoluble complex formations. Further maturation of sarcosyl insoluble tau, the second stage, is represented by appearance of novel phosphorylation marker characteristic of misordered tau. This modification causes the shift of the “misordered monomer” on the SDS-PAGE (“the stage of shifted monomer”). Phosphorylation pattern characteristic of this stage is most probably contributing to the development of mature sarcosyl insoluble misordered tau complexes, the third stage (“the stage of tau ladder”), encompassing both truncated and endogenous full-length tau. Full molecular understanding of the tau transition from disordered into misordered could provide important cue for the development of the treatment for tauopathies.

ZOBRAZOVACIE METÓDY V DIAGNOSTIKE ALZHEIMEROVEJ CHOROBY A METABOLIZMUS MOZGU

LEPEJ, J.^{1,3,4}, GDOVINOVÁ, Z.², BLAŠKOVÁ, H.³, LEPEJOVÁ, K.⁴, JURGOVÁ, T.³, MARIN, I.¹

¹Inštitút nukleárnej a molekulárnej medicíny, Košice, ²Neurologická klinika LF UPJŠ a UNLP, Košice

³Klinika rádiológie a nukleárnej medicíny LF UPJŠ a UNLP, Košice

⁴Ústav sociálnych vied a zdravotníctva P.P. Gojdiča, Prešov

Alzheimerova choroba (AD) je jedno zo závažných neurodegeneratívnych ochorení. O vážnosti témy neurodegeneratívnych ochorení hovorí aj najnovšia výskumná iniciatíva EU pod názvom: „Boj s Alzheimerovou chorobou a ostatnými neurodegeneratívnymi ochoreniami v Európe”, ktorá bola vyhlásená 2. februára 2012. AD je prakticky neliečiteľné, neurodegeneratívne ochorenie charakterizované progresívnou stratou pamäte, ktoré v roku 1906 popísal Alois Alzheimer. V minulosti raritné, dnes v krajinách, kde sa pacienti dožívajú vysokého veku, 4. najčastejšia príčina smrti. V diagnostike AD sa okrem klasického klinického vyšetrenia a laboratórnej diagnostiky čoraz viac využívajú moderné zobrazovacie metódy.

Americká Akadémia Neurológie odporúča tieto metódy ako účelné hlavne u pacientov s príznakmi demencie s včasným nástupom a neobvyklým priebehom. Rutinné rádiologické techniky, ktoré zobrazujú mozog, sú založené na detekcii atrofie kôry mozgu. Tento nález obvykle svedčí až pre neskoré štádium ochorenia a nie je špecifický pre AD, pretože sa vyskytuje aj u iných neurodegeneratívnych ochorení. Preto sa hľadajú nové metódy, ktoré sú špecifickejšie pre Alzheimerovu chorobu.

Cieľom moderných metód je detekcia pre-symptomatických štádií AD, ale aj posúdenie

prognózy u pacientov s prítomnosťou alely APOE-4, ktorá zvyšuje riziko autozomálne dominantnej AD (ADAD). Pre rozhodovanie o budúcej liečbe je významné, že neurologické zobrazovacie metódy taktiež umožňujú odlišiť iné neurologické ochorenia (hydrocefalus, subdurálny hematóm, infekcia, tumor a iné), ktoré môžu v počiatočných štádiách vyvolávať podobnú klinickú symptomatológiu.

V diagnostike a diferenciálnej diagnostike AD dnes možno použiť niektoré z pomerne širokej palety diagnostických metód, mnohé z nich možno navzájom kombinovať a vykonávať súčasne:

- Počítačová tomografia (CT) – prvá metóda, ktorá zobrazovala atrofické zmeny pri AD.
- Magnetická rezonancia (MRI) – je najčastejšie odporúčaná metóda zobrazenia AD, umožňuje presné meranie 3S objemu mozgových štruktúr, najmä hipokampu a okolia.
 - Funkčná magnetická rezonancia (fMRI)
 - Magnetická rezonančná spektroskopia (MRS)
- Jednofotónová emisná počítačová tomografia (SPECT)
 - rCBF (^{99m}Tc-HMPAO) – hodnotenie regionálnej mikrocirkulácie
 - DaT-scan ¹²³I-FP-CIT (Ioflupan) dopamínové transportéry, Lewy body demencia

- prípadne aj MIBZ (^{123}I -MIBZ)-D2 receptory
- iné, napr.: hodnotenie poškodenia hematoencefalickej bariéry - BBB
- Pozitronová emisná tomografia (PET)
 - FDG-PET (^{18}F -FDG)
 - PET iné (^{11}C -PID) dopamínové transportéry, Lewy body demencia.

Počítačová tomografia mozgu sa používa od konca 70-tych rokov. Počiatočné nadšenie pre možnosti diagnostiky AD, rýchlo vystriedala skepsa, pretože cerebrálna atrofia môže byť prítomná u starších a zdravých osôb a niektorí pacienti s demenciou nemali vyvinutú atrofiu ani vo vyššom veku. Preto sa v primárnej diagnostike nevyužíva. Bola popisovaná senzitivita 81 % - 85 % a špecifickosť 67 %. Okrem odlišenia iných diagnóz spôsobujúcich podobné príznaky ako AD sa v súčasnosti CT využíva hlavne ako lokalizačný marker pre metódy nukleárnej medicíny (SPECT/CT a PET/CT).

Výhodou **magnetickej rezonancie** oproti ostatným metódam je, že nepoužíva ionizačné žiarenie. Do kliniky sa dostáva o dekádu neskôr, koncom 80-tych rokov. Diagnostika ochorenia mozgu je jednou z jej domén, pretože lepšie ako CT dokáže odlíšiť šedú a bielu hmotu a poskytuje aj ďalšie užitočné informácie. MRI štúdie poukazovali hlavne na veľkú redukciu objemu hipokampu v porovnaní s kontrolami. Senzitivita, podobne ako pre CT, sa pohybuje od 77 % (pre ľahké formy AD) do 85 %, ale špecifickosť je jednoznačne vyššia až 80 %. Novšie modifikácie tejto technológie ako **funkčné MRI** (fMRI) môže byť užitočné na meranie cerebrálnej perfúzie. Fokálne oblasti hypoperfúzie boli zistené v zadnej temporo-parieto-okcipitálnej oblasti. Ďalšou modifikáciou je **magnetická rezonančná spektroskopia** (MRS), ktorá umožňuje biochemickú analýzu *in vivo* vo vybranej časti mozgu a dá sa použiť pri hodnotení metabolických zmien v dlhodobom sledovaní pacientov s AD.

K metódam **nukleárnej medicíny**, ktoré využívajú priamu aplikáciu rádioaktívnym indikátorom značených rádiofarmák, patrí **SPECT - jednofotónová emisná počítačová tomografia**. Súčasné gamakamery majú vyššie rozlíšenie a využívajú softvérové vybavenie, ktoré umožňuje sofistikovanú kvantifikáciu hromadenia rádiofarmaka a normalizačné postupy porovnávajúce výsledky s databázou fyziologických nálezov, ktoré znižujú subjektívnu chybu hodnotenia. SPECT štúdie poukazovali na redukciiu perfúzie v zadnej temporálnej a parietálnej kôre. Závažnosť temporo-parietálnej hypoperfúzie korelovala so závažnosťou demencie v početných štúdiách. SPECT je užitočný len v prípade použitia štandardizovaných semikvantitatívnych techník, aké používa aj naše pracovisko (INMM - Košice). V literatúre sa uvádza senzitivita techniky od 76 % (u ľahkej AD) do 90 %, špecifickosť sa pohybuje podľa rôznych práce medzi 73 - 87 %, pozitívna prediktívna hodnota (PPV) je výrazne vyššia 92 % ako negatívna (NPV) 57 %. V porovnaní so zdravými kontrolami pacienti s AD mali nízke relatívne rCBF v perietálnej a prefrontálnej kôre. Pozitívny výsledok SPECT vyšetrenia môže zvýšiť potestovú pravdepodobnosť AD o 30 %, zatiaľ čo negatívny výsledok testu môže znížiť pravdepodobnosť neprítomnosti AD len o 10 %.

Inou SPECT a PET možnosťou diferenciálnej diagnostiky demencie pri Alzheimerovej chorobe je vylúčenie zmien dopamínergnej dráhy. Túto dokážeme hodnotiť na viacerých úrovniach. ^{18}F -DOPA = tvorba dopamínu, ^{123}I -FP-CIT = dopamínové transportéry, a nakoniec ^{123}I -IBMZ = posúdenie aktivity D2 receptorov.

Druhou metódou v nukleárnej medicíne je **pozitronová emisná tomografia - PET**, využíva pozitronové žiarenie, ktoré je emitované z jadier s prebytkom protónov. Tieto sa rozpadajú na neutróny za uvoľnenia pozitronu s (+) nábojom. Pozitron je antičastica elektrónu a po stretnutí

s ním dochádza k anihilácii – premene hmoty na dve kvantá gama žiarenia 511 keV, ktoré sú registrované prstencom detektorov PET/CT skenera.

PET je výkonná zobrazovacia technika, ktorá umožňuje *in vivo* vyšetrenie metabolizmu mozgu. Umožňuje neinvazívnu kvantifikáciu cerebrálneho krvného prietoku, metabolizmu a zobrazenie receptorov. PET pomáha pochopiť patogenézu ochorení, vykonávať korektnú diagnostiku a monitorovať progresiu ochorenia a odpoveď na liečbu.

Na sledovanie metabolizmu glukózy v mozgu sa široko používa ¹⁸F-FDG (fluor-deoxy-glukóza). Pacienti s AD majú prítomný **hypometabolizmus glukózy** s maximom v temporoparietálnej oblasti. Stupeň postihnutia zodpovedá závažnosti demencie. Progresia neskôr vedie k postihnutiu aj frontálneho laloku. Pokles metabolizmu je spôsobený stratou neurónov a iných buniek a poklesom synaptickej aktivity. Rizikovní jedinci (asymptomatickí nositelia alely APOE-4) vykazujú rovnaké známky glukózového hypometabolizmu ako pacienti s AD. Pre FDG-PET je uvádzaná senzitivita 94 % a špecifickosť 73 %. Predikciu progresívneho priebehu demencie možno uvažovať s 91 % senzitivitou a neprogresívny priebeh so 75 % špecifickosťou.

Snaha o vývoj nového ligandu pre Aβ amyloidové plaky je niekoľkoročný trend vo vývoji nových rádiofarmák na špecifickú diagnostiku predklinických štádií AD. Jedným z nich je marker ¹¹C-PIB. Ukladanie amyloidu je intenzívnejšie vo frontálnom laloku, čo je paradoxné k zmenám perfúzie, ktoré sa tu objavujú až vo vyšších štádiách ochorenia. BAY 94-9172 je ďalší preparát predstavený v roku 2010, použiteľný na vylúčenie Alzheimerovej choroby, predikciu AD a sledovanie účinku liečby. Progresia ochorenia aj nálezu s časom poukazuje na ukladanie amyloidu, ktoré začína vo frontálnych lalokoch a až v neskorších štádiách sa dostáva temporálne a parietálne. Tieto rádiofarmaká nie sú v našich podmienkach

dostupné a v zahraničí sú zatiaľ využívané len vo výskumných triáloch.

Od roku 2010 sa do klinického využitia dostávajú nové hybridné detekčné zariadenia PET/MRI, ktoré sa zatiaľ ukazujú byť najvhodnejšie v diagnostike CNS, menej v kardiológii a sporne v onkológii. Sú konštruované na báze nových PET detektorov. Klinické skúsenosti s touto technológiou (v EU bolo len niekoľko inštalácií koncom 2011) sú zatiaľ malé.

Diagnostika v neurológii je jednou z medicínskych oblastí, kde dochádza k prelínaniu klasického anatomického zobrazovania štruktúr mozgu s posudzovaním ich funkčných zmien. Moderné zobrazovacie metódy, ako sme v našom krátkom prehľade ukázali, umožňujú hodnotenie detailných biochemických zmien nielen na globálnej úrovni (ako umožňujú klasické biochemické testy), ale aj lokálne hodnotenie biochémie a funkcie mozgu v jednotlivých štruktúrach.

Je potrebné vykonať viacero triálov na vytvorenie klinicky prínosného, ale aj ekonomicky efektívneho diagnostického postupu, ktorý by využíval zobrazovacie metódy v diagnostike AD. Analýza nákladov a prínosu jednotlivých metód je nevyhnutná na zlepšenie diagnostiky u pacientov s včasným nástupom demencie alebo neobvyklým priebehom a pridruženou neurologickou symptomatológiou. Výber vhodného algoritmu je pomerne zložitý, pretože každý rok prichádzajú technické inovácie, ktoré menia kvalitu diagnostických metód a predtým jedinečné prístupy sa stávajú až druhoradými a naopak. Vysoká cena jednotlivých vyšetrení (napríklad SPECT DaTscan 1300.-, ¹⁸F-FDG-PET 1500.- €) si vyžadujú uvažlivý prístup k indikácii a veľmi zodpovednú interpretáciu nálezu. V tejto oblasti náročnej na interpretáciu výsledkov je veľmi dôležitá užšia multidisciplinárna spolupráca medzi klinickými a diagnostickými pracovníkmi.

LITERATÚRA

1. **Walhovd, K.B. et al.:** Combining MR Imaging, Positron-emission Tomography, and CSF Biomarkers in the Diagnosis and Prognosis of Alzheimer Disease. *AJNR Am. J. Neuroradiol.* 31(2010): 347–354.
2. **Ramachandran, T.S.:** Alzheimer Disease Imaging. <http://emedicine.medscape.com/article/336281-overview>.
3. **Schott J.M. et al.:** Short echo time proton magnetic resonance spectroscopy in Alzheimer's disease: a longitudinal multiple time point study. *Brain* 2010; 133; 3315 – 3322.

Ostatná literatúra u autora.

DEFICIT TRANSPORTÉRA GLUKÓZY 1 – LIEČITEĽNÉ NEUROMETABOLICKÉ OCHORENIE

BEHÚLOVÁ, D.¹, BZDÚCH, V.², FABRICIOVÁ, K.², KOLNÍKOVÁ, M.³
SÝKORA, P.³, SYROVÁ, D.¹, GENČÍK, A.⁴, MINICHOVÁ, L.⁴

¹Centrum dedičných metabolických porúch Oddelenia laboratórnej medicíny

²1. Detská klinika a ³Klinika detskej neurológie, Detská fakultná nemocnica s poliklinikou, Bratislava

⁴MedGene, Bratislava

ÚVOD

Väčšinu energie pre ľudský mozog zabezpečuje kontinuálna dodávka glukózy. Pre transfer glukózy z krvi do mozgu cez hematoencefalickú bariéru je nevyhnutný transporér glukózy 1 (GLUT1). Ide o membránový proteín kódovaný génom SLC2A1. Prví pacienti s deficitom GLUT1 boli opísaní v roku 1991, dodnes sa na celom svete identifikovalo približne 400 ďalších pacientov. Defekt transportu glukózy do mozgu sa prejavuje rôznymi neurologickými symptómami. U „klasických“ pacientov sa v dojčenskom veku manifestuje farmakorezistentná epilepsia, zaostávanie v psychomotorickom (PM) vývoji, poruchy pohybu, poruchy svalového tonusu a v dôsledku nedostatočného vývoja mozgu sa vyvíja mikrocefalia. V posledných rokoch sa škála klinických prejavov deficitu GLUT1 významne rozšírila. U postihnutých pacientov dominujú jednak komplexné poruchy pohyblivosti a svalového tonusu (ataxia, dyskinéza, spasticita), poruchy reči, nesústredenosť, únavnosť a bolesti hlavy, ktoré môžu byť perzistujúce alebo paroxyzmálne pri cvičení, námahe a hladovaní. Kľúčovým biochemickým nálezom je izolovaná hypoglykorrhachia pri normoglykémii. Väčšina pacientov sú heterozygoti pre mutáciu vzniknutú *de novo*, boli

opísané aj rodiny s autozómovo dominantnou a autozómovo recesívnou dedičnosťou. Účinná liečba ochorenia spočíva v promptnom nasadení ketogénnej diéty, pri ktorej nadmerná produkcia ketolátok poskytuje náhradný zdroj energie pre mozog. Cieľom práce je prezentovať diagnostiku a liečbu u štyroch pacientov s deficitom GLUT1 detegovaných na Slovensku.

PACIENTI A METÓDY

Štyri deti z nepríbuzných rodín mali neurologické symptómy nereagujúce na obvyklú liečbu. V rámci selektívneho skríningu dedičných metabolických porúch sa u nich vykonala po 4–6 hodinách lačnenia lumbálna punkcia, krv na vyšetrenie glykémie sa odobrala tesne pred zákrokom. U každého pacienta sa vyšetrila súčasne koncentrácia glukózy (glu) v sére (S) a koncentrácie glu (referenčné rozmedzie RR 2,5–3,9 mmol/l) a laktátu (RR 0,70–2,10 mmol/l) v líkvore (CSF). Vypočítal sa pomer CSF-glu/S-glu (RR > 0,65). Biochemickým, cytologickým a mikrobiologickým vyšetrením sa vylúčil zápalový proces mozgu ako možná príčina hypoglykorrhachie. Na mutačnú analýzu sa odobrala venózna krv. Pre monitorovanie ketózy pri ketogénnej dié-

PACIENT (POHLAVIE, VEK – ROKY)	1 (M, 8)	2 (Ž, 8)	3 (Ž, 9)	4 (M, 10)
CSF-glu (mmol/l)	1,1	1,7	1,8	2,2
CSF-glu/S-glu	0,19	0,37	0,40	0,48
CSF-laktát (mmol/l)	0,82	0,93	1,30	1,20
Vek manifestácie (mesiace)	2,5	8	9	48
Vek detekcie (roky)	0,3	5	5	8
Záchvaty/kŕče	+++	-	+	-
Zaostávanie v PM vývoji	++	+	+	-
Ataxia/apatia	-	+++	++	-
Poruchy koncentrácie	+	+	+	+
Mutácia v géne SLC2A1	c.798_799insC	c.505_507del	c.1119delG	?

te sa stanovovala koncentrácia 3-hydroxybutyrátu v plazme (RR 0,03 – 0,30 mmol/l).

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Iniciálne laboratórne a klinické nálezy u pacientov s deficitom GLUT1 sú uvedené v tabuľke. Napriek malému súboru indikujú nálezy u našich pacientov s deficitom GLUT1, že medzi závažnosťou klinického priebehu a stupňom hypoglykémie a znížením pomeru CSF-glu/S-glu je nepriamo úmerný vzťah.

Koncentrácia CSF-laktátu nie je zvýšená, naopak pohybuje sa na dolnej hranici RR. Keto-

géna diéta viedla u všetkých detí k výraznému zlepšeniu až úprave klinických prejavov napriek pretrvávajúcej hypoglykémii. Stupeň ketózy bol monitorovaný a upravovaný diétnymi opatreniami s cieľom udržať koncentráciu 3-hydroxybutyrátu v plazme v rozmedzí od 2,5 do 5,0 mmol/l.

ZÁVER

Vzhľadom na jednoduchú a dostupnú laboratórnu diagnostiku a známu účinnú liečbu je potrebné zvážiť deficit GLUT1 u pacientov s neobjasnenými neurologickými symptómami vo všetkých vekových skupinách.

TRANZIENTNÝ VÝSKYT PARAPROTEÍNU V LIKVORE U NEUROBORELIÓZY

PELIKÁN, S.¹, ALBERTYOVÁ, D.², DONÁTH, V.², LUŽINSKÝ, L.³

¹Oddelenie klinickej biochémie FNŠP F.D.Roosevelta, Banská Bystrica

²II. neurologická klinika SZU FNŠP F.D.Roosevelta, Banská Bystrica

³Infekčné oddelenie FNŠP F.D.Roosevelta, Banská Bystrica

Paraproteíny (monoklonálne imunoglobulíny) sú produkované jedným klonom imunokompetentných buniek. Rozdeľujú sa na trvalé a prechodné (tranzientne). Trvalé paraproteíny sa klasifikujú na maligne a monoklonálnu gamapatiu nejasného významu (MGUNS) (9). Najčastejšie sa vylučujú do krvi a následne prechádzajú do moču. Výskyt paraproteínov môže byť spojený s nádorovým hematologickým ochorením (plazmocytóm, maligne lymfómy, hemoblastózy) a v tomto prípade ide o malignu monoklonálnu gamapatiu. Môžu byť zistené aj pri infekčných ochoreniach (infekčná mononukleóza, borelióza.). V týchto prípadoch tvorba paraproteínov vzniká následkom chronickej antigénnej stimulácie, ktorá najskôr vedie ku tvorbe polyklonálnych imunoglobulínov a následne monoklonálnych imunoglobulínov (paraproteínov). Môžu sa tvoriť intratekálne a to pri nádorovom postihnutí CNS (plazmocytóm), prípadne prechádzať z krvi do likvoru pri ich vysokej koncentrácii a porušenej hematollikvorovej bariére. V iných telových tekutinách, ako je likvor (CSF) sa objavujú vzácné. (9)

Neuroborelióza je jednou z foriem Lymeskej boreliózy, ktorá postihuje nervový systém. Klinické prejavy neuroboreliózy sú veľmi pestré (2). Ochorenie môže prebiehať akútne ako meningi-

tída, menigoencefalitída, meningoradikulitída, meningitída s kraniálnou neuritídou (najčastejšie je postihnutý *n. facialis*) a myelitída. Chronická neuroborelióza prebieha ako chronická menigoencefalitída, ktorá môže napodobňovať *sclerosis multiplex*, alebo ako polyneuritída, či radikulomyelitída. Pri diagnostike neuroboreliózy je dôležité likvorologické vyšetrenie, kde sa analyzujú antirelievové protilátky metódou ELISA a Westernblot, IgG, albumín v likvore, cytologické vyšetrenie a klinický nález pacienta. Významným podporným nálezom pri neuroborelióze je pozitívny nález protilátok proti *Borrelia burgdorferi* v likvore a tiež v sére, ktoré sú stanovené metódou ELISA. Na potvrdenie a presnejšiu diagnostiku slúži stanovenie protilátok proti jednotlivým antigénom *Borrelia burgdorferi* metódou Westernblot. Pri diagnostike paraproteínov vo všetkých telových tekutinách a aj v mozgomiechovom moku (ďalej likvore) používame v klinickej biochémii elektroforetické metódy. Metódou voľby je elektroforéza bielkovín na agaróze, ktorú používame aj na našom pracovisku. V druhej časti našej prednášky na konkrétnom príklade pacientky rozoberáme diagnostiku neuroboreliózy a poukazujeme na významnú úlohu klinickej biochémie v diagnostickom procese a jeho interdisciplinárny charakter.

ÚVOD

Paraproteíny (monoklonálne imunoglobulíny) sú produkované jedným klonom imunokompetentných buniek. Rozdeľujú sa na trvalé a prechodné (tranzientné). Trvalé paraproteíny sa klasifikujú na malígne a monoklonálnu gamapatiu nejasného významu (MGUNS) (9). Najčastejšie sa vylučujú do krvi a následne prechádzajú do moča. Výskyt paraproteínov môže byť spojený s nádorovým hematologickým ochorením (plazmocytóm, malígne lymfómy, hemoblastózy) a v tomto prípade ide o malígnu monoklonálnu gamapatiu. Pri nej dochádza ku nádorovej transformácii imukompetentných buniek, ich následnej proliferácii a vytváraniu populácie nádorových buniek. Okrem toho sa vyskytujú aj pri iných nádorových ochoreniach. Môžu sa objaviť aj pri infekčných ochoreniach (infekčná mononukleóza, borelióza.). V týchto prípadoch tvorba paraproteínov vzniká následkom chronickej antigénnej stimulácie, ktorá najskôr vedie ku tvorbe polyklonálnych imunoglobulínov a následne monoklonálnych imunoglobulínov (paraproteínov). Môžu sa tvoriť intratekálne a to pri nádorovom postihnutí CNS (plazmocytóm), prípadne prechádzať z krvi do likvoru pri ich vysokej koncentrácii a porušenej hematollikvorovej bariére. V iných telových tekutinách, ako je likvor (CSF) sa objavujú vzácne. (9)

Neuroborelióza je jednou z foriem Lymeskej boreliózy, ktorá postihuje nervový systém. Klinické prejavy neuroboreliózy sú veľmi pestré (2). Ochorenie môže prebiehať akútne ako meningitída, menigoencefalitída, meningoradikulitída, meningitída s kraniálnou neuritídou (najčastejšie je postihnutý *n. facialis*) a myelitída. Chronická neuroborelióza prebieha ako chronická menigoencefalitída, ktorá môže napodobňovať *sclerosis multiplex*, alebo ako polyneuritída, či radikulomy-

elitída. V rámci diagnostiky paraproteínov sa ordinujú rutinné a špeciálne klinicko-biochemické vyšetrenia. Z rutinných vyšetrení sú to bielkoviny, albumín, imunoglobulíny, KVP a zo špeciálnych elektroforéza bielkovín (ďalej ELFO bielkovín) a imunofixačná elektroforéza (imunofixácia). V prípade ELFO vyšetrovacích metód sa používa ako nosič agarózový gél na ktorom dochádza ku rozdeleniu vyšetrovaného materiálu pacienta (sérum, moč, likvor) na viac bielkovinových frakcií. Hodnotenie ELFO je možné kvantitatívne, alebo kvalitatívne (vizuálne). Pri diagnostike neuroboreliózy je dôležité likvorologické vyšetrenie, kde sa analyzujú antiboreliové protilátky metódou ELISA a Westernblot, IgG, albumín v likvore, cytologické vyšetrenie a klinický nález pacienta. Významným podporným nálezom pri neuroborelióze je pozitívny nález protilátok proti *Borrelia burgdorferi* v likvore a tiež v sére, ktoré sú stanovené metódou ELISA. Na potvrdenie a presnejšiu diagnostiku slúži stanovenie protilátok proti jednotlivým antigénom *Borrelia burgdorferi* metódou Westernblot. Diagnostiku neuroboreliózy rozoberáme konkrétne v druhej časti našej prednášky u 35 ročnej pacientky hospitalizovanej vo FNŠP F.D.Roosevelta Banská Bystrica, u ktorej sa prejavila periférna lézia *n. facialis* a *n. abducens* vpravo. Z laboratórnych výsledkov bola dokázaná pozitivita antiboreliových protilátok IgM v likvore (metódou ELISA), zvýšený proti látkový index protilátok IgG a pozitivita IgG protilátok v sére (metódou Westernblot). Okrem toho sme metódou ELFO bielkovín diagnostikovali prechodný paraproteín v likvore, ktorý vymizol v dôsledku antibiotickej a poly vitamínovej liečby. Tento prípad pacientky okrem postupu pri diagnostike boreliózy poukazuje na významnú úlohu klinickej biochémie v diagnostickom procese a jeho interdisciplinárny charakter.

METÓDY

HODNOTENIE NEUROBEORELIÓZY

Diagnostika neuroboreliózy vychádza z anamnézy, klinického stavu a vyšetrenia pacienta, laboratórnych vyšetrení a zobrazovacích vyšetrení. Konkrétny diagnostický postup sme popísali na prípade 35-ročnej pacientky hospitalizovanej na II. neurologickej klinike SZU a infekčnom oddelení FNsP F.D. Roosevelta. Vyšetrenia pozostávali z anamnézy, klinického vyšetrenia, vrátane neurologického vyšetrenia, laboratórnych vyšetrení a CT a MR vyšetrenia mozgu. Postup a metódy laboratórnych vyšetrení je popísaná v kapitolách vyšetrenia v likvore a vyšetrenia v sére.

VYŠETRENIA V LIKVORE

Albumín v likvore stanovujeme nefelometricky na nefelometri Image rate nefelometriou. Na kalibráciu používame CALIBRATOR 3. Analytické parametre sú: SD=0,74, CV=8,0%

Normálne hodnoty sa pohybujú v rozpätí od 100 do 350 mg/l. IgG v likvore stanovujeme nefelometricky na nefelometri Image rate nefelometriou. Používame Calibrator 1.

Analytické parametre sú: SD=0,20, CV=8,0%. Normálne hodnoty sa pohybujú v rozpätí od 10 mg/l do 40 mg/l.

Tab. 1. Presnosť stanovenia albumínu

POČET MERANÍ N = 60	V SÉRII		CELKOVO	
	SD	CV	SD	CV
priemer g/l				
24,04	0,43	1,80 %	0,63	2,62 %
42,04	0,50	1,17 %	0,67	1,55 %
57,04	0,53	0,92 %	1,03	1,79 %

Legenda: SD – štandardná deviácia, CV – koeficient variácie

ELFO robíme na agarózových géloch Hydrigel protein 20, SEBIA. Materiál pred analýzou zahusťujeme v likvorových kolonkách CSF B 15. ELFO delenie sa vykonáva v deliacej komore

Sebía K20 a trvá 22 minút pri napätí 60V a štartujúcom prúde na 1 gél 12+3 mA. Po odfarbení gélu a jeho vysušení ELFO nález hodnotíme kvalitatívne, vizuálne.

Imunofixáciu (IFE) robíme so súpravou Sebía 2 IF K 20. Súprava obsahuje agarózové gély, filtračné papiere, farbičku, odfarbovací roztok. Materiál pred analýzou zahusťujeme rovnako ako pred ELFO. Delenie vzorky prebieha na agarózovom géli v deliacej komore K20 Sebía a trvá 20 minút pri napätí 100 V s štartujúcom prúde na jeden gél 32+3 mA.

Po odfarbení a vysušení gélov nález hodnotíme kvalitatívne, vizuálne.

VYŠETRENIA V SÉRE

Albumín vyšetrujeme fotometrickou metódou na automatickom analyzátore Olympus AU 2700. Presnosť metódy má nasledujúce ukazovatele (legenda N: počet meraní, SD: štandardná deviácia, CV: koeficient variácie) Celkový počet meraní (N) je 60 a analytické parametre sú v tabuľke č. 1 v samostatnej prílohe. Linearita metódy je od 15 do 60 g/l a na kalibráciu používame kalibrácia: Olympus System kalibrator. Normálne

Tab. 2. Presnosť stanovenia IgG

POČET MERANÍ N = 80	V SÉRII		CELKOVO	
	SD	CV	SD	CV
priemer g/l				
4,31	0,05	1,14	0,14	3,29
10,88	0,16	1,45	0,38	3,49
21,73	0,49	2,24	1,01	4,66

Legenda: SD – štandardná deviácia, CV – koeficient variácie

Tab. 3. Normálne hodnoty IgG v sére podľa veku

VEK	HODNOTY [g/l]
0–15 deň	7,86–15,34
15 deň–3 mesiace	2,9–7,30
3 mesiace–6 mesiacov	0,50–7,32
6 mesiacov–12 mesiacov	2,82–11,18
12 mesiacov–24 mesiacov	2,75–10,65
4 roky–6 rokov	5,47–10,53
6 rokov–9 rokov	4,60–13,40
9 rokov–12 rokov	5,36–15,04
12 rokov–16 rokov	8,08–12,92
16 rokov–150 rokov	6,80–15,45

Prevzaté z laboratórneho informačného systému (LIS) OKB
FNsP F. D. Roosevelta

Tab. 4. Hodnoty albumínového kvocientu (Q alb.) v závislosti od veku

VEK	Q alb.
novorodenci	$8-28 \times 10^{-3}$
1 mesiac	$5-15 \times 10^{-3}$
2 mesiace	$3-10 \times 10^{-3}$
3 mesiace	$2-5 \times 10^{-3}$
4–6 rokov	$0,5-3,5 \times 10^{-3}$
6–9 rokov	$4,0 \times 10^{-3}$
6–9 rokov	$4,5 \times 10^{-3}$
>12–15 rokov	$5,0 \times 10^{-3}$
>15–23 rokov	$5,5 \times 10^{-3}$
>23–32 rokov	$6,0 \times 10^{-3}$
>32–40 rokov	$6,5 \times 10^{-3}$
>40–45 rokov	$7,0 \times 10^{-3}$
>45–53 rokov	$7,5 \times 10^{-3}$
>53–60 rokov	$8,0 \times 10^{-3}$
>60–70 rokov	$8,5 \times 10^{-3}$
>70 rokov	$9,0 \times 10^{-3}$

Vekovo závislé hodnoty albumínového kvocientu (Q alb.),
Zíma T., Laboratórni diagnostika, Galén 2007

Tab. 5. Modifikované vekovo závislé hodnoty albumínového kvocientu (Q alb.)

VEK	Q alb.
novorodenci	0,8–2,8
1. mesiac	0,5–1,5
2. mesiac	0,3–1,0
3. mesiac	0,2–0,5
4 mesiac – 6 rokov	0,05–0,35
6–9 rokov	0,4
>9–12 rokov	0,45
>12–15 rokov	0,5
>15–23 rokov	0,55
>23–32 rokov	0,6
>32–40 rokov	0,65
>40–45 rokov	0,7
>45–53 rokov	0,75
>53–60 rokov	0,8
>60–70 rokov	0,85
>70 rokov	0,9

Modifikované vekovo závislé hodnoty albumínového kvocientu (Q alb.), Zíma T., Laboratórni diagnostika, Galén 2007

ne hodnoty sa pohybujú v rozpätí od 35,0g/l do 45,0g/l

IgG stanovujeme turbidimetrickou metódou na analyzátoře Olympus AU 2700. Analytické parametre sú uvedené v tabuľke č. 2 v samostatnej prílohe Normálne hodnoty závisia od veku pacienta a sú v tabuľke č. 3 v samostatnej prílohe.

POČÍTANÉ PARAMETRE

Albumínový kvocient Q alb. počítame podľa vzorca (albumín csf/ albumín fs x 1000) × 100. Výsledok je bez rozmerné číslo a výpočtový vzťah je zadaný v programe Microsoft Excel (verzia

2003), kde po vložení jednotlivých hodnôt dostaneme výsledok. Okrem toho patologické hodnoty sú vyznačené farebne na základe podmienky definovanej v podmienkovom formátovaní. Albumínový kvocient slúži na posúdenie stavu hematolikorovej bariéry. Normálna hodnota je závislá od veku pacienta podľa výšky hodnoty Q alb. je možné posúdiť závažnosť poruchy hematolikorovej bariéry. Výsledky sú uvedené v tabuľkách č. 4 a č. 5 v samostatnej prílohe. IgG index vypočítame podľa vzorca (albumín csf/albumín fs)/(IgG csf/IgG fs.) Výsledok je bezrozmerné číslo a výpočtový vzťah je zadaný v programe Microsoft Excel (verzia 2003), kde po vložení jednotlivých hodnôt dostaneme výsledok. Okrem toho patologické hodnoty sú vyznačené farebne na základe podmienky definovanej v podmienkovom formátovaní. IgG index slúži na posúdenie intratekálnej syntézy IgG a normálna hodnota je 0,7.

VÝSLEDKY

HODNOTENIE PACIENTA

35-ročná pacientka s anamnézou prekonanej toxoplazmózy pred viac ako 10. rokmi bez významnejšieho predchordia 4 týždne pred hospitalizáciou pociťovala bolesti hlavy a závraty. Asi o dva týždne sa objavilo postupné zväznenie dvojitého videnia. Postupne začala pociťovať „neistotu“ v ľavej polovici tváre a stupňovalo sa dvojité videnie. Bola preto prijatá v júli 2008 na II. Neurologickú kliniku SZU na diagnostický pobyt.

Pri prijatí bol v neurologickom náleze prítomný konvergentný strabizmus, zväzňujúci sa pri pohľade doľava, slabší uzáver viečka vľavo, diskrétno znížené cerenie vľavo, nastrieknutá spojovka vľavo. Meningeálne príznaky ani iné zmeny v objektívnom neurologickom náleze neboli prítomné. Pacientka neudávala v predchord-

bí horúčku a ani uštipnutie hmyzom či uhryznutie kliešťom. Neurologický nález svedčil pre léziu *nervus abducens* (N VI) vpravo, parciálnu periférnu léziu *nervus facialis* (N VII) vľavo.

V LIKVORE

Likvor bol vizuálne číry. Výsledky z 18.7.2008 sú nasledujúce: bielkoviny 1290,0 mg/l, albumín 1010,0 mg/l, IgG 171,0 mg/l, laktát 2,31 mmol/l. Podľa cytologického vyšetrenia likvoru sú elementy 1015/3. Cytologické, mikroskopické vyšetrenie svedčí pre prítomnosť reaktívnych foriem lymfocytov, menej monocytov. ELFO bielkovín v likvore svedčí pre transudatívny ELFO obraz s homogénnou zónou gamaglobulínov a prítomný paraproteín v oblasti gamaglobulínov. Podľa imunofixácie ide o paraproteín IgM-kappa. Albumínový kvocient je 2,35 a IgG index 0,83

Na základe albumínového kvocientu ide o poruchu hematolikorovej bariéry a na základe IgG indexu o intratekálnu syntézu IgG. Pri kontrolných vyšetreniach z 5.8.2008 sme získali výsledky:

bielkoviny 740,0 mg/l, albumín 435,0 mg/l, IgG 69,9 mg/l. Podľa cytologického vyšetrenia likvoru sú elementy 185/3. Mikroskopické vyšetrenie svedčí pre prevažnú prítomnosť lymfocytov, menej monocytov. ELFO bielkovín v likvore svedčí pre transudatívny ELFO obraz s homogénnou zónou gamaglobulínov, pričom paraproteín vymizol. Nález pri porovnaní s predchádzajúcim nálezom je možné hodnotiť ako zlepšený. Imunofixácia v likvore nebola indikovaná vzhľadom na jednoznačný ELFO nález s vymiznutím paraproteínu. Albumínový kvocient je 1,07 IgG index 0,73. Na základe albumínového kvocientu ide o poruchu hematolikorovej bariéry a na základe IgG indexu o intratekálnu syntézu IgG. Porucha hematolikorovej bariéry je zlepšená podľa poklesu hodnoty albumínového kvocientu. Prietoková cytometria a imunofenotypizácia v krvi a likvore,

ktorá sa urobila v rámci diferenciálnej diagnostiky svedčila pre nasledujúci záver: Vo vyšetrovanej vzorke krvi sme cytometricky patologické bunky nedetekovali. Prítomné sú zrelé T-lymfocyty, B-lymfocyty a NK bunky. V likvore je cytometrický nález t.č. bez nádorovej infiltrácie. V sére z dňa 18.7.2008 je albumín 43,0 g/l a IgG 9,05 g/l. ELFO bielkovín v sére svedčí pre obraz akútneho zápalového ochorenia. Imunofixácia v sére nepotvrdila prítomnosť paraproteínu. Vo výsledkoch z 5.8.2008 je albumín 41,0 g/l a IgG 9,10 g/l. ELFO bielkovín v sére svedčí pre obraz akútneho zápalového ochorenia. Imunofixácia v sére nebola indikovaná vzhľadom na jednoznačne negatívny ELFO nález v sére nepotvrdujúci prítomnosť paraproteínu. Ostatné výsledky v sére sú v medziach normy. Okrem toho sa urobili mikrobiologické a z nich pre diagnostiku bolo významné vyšetrenie antiboreliových protilátok v likvore a v sére. Tieto vyšetrenia ukázali nasledujúce výsledky. V likvore boli pozitívne protilátky proti *Borrelia burgdorferi* v triede IgM a IgG stanovené metódou ELISA a hodnota proti látkového indexu IgG (AI je 6,8), čo svedčí pre intratekálnu tvorbu protilátok v triede IgG. Prítomnosť *Borrelia burgdorferi* metódou PCR DNA nebola potvrdená. V sére boli vyšetované protilátky proti jednotlivým antigénom *Borrelia burgdorferi* v tried IgG a IgM. Pozitívne boli protilátky proti peptidu VlsE v triede IgG. Protilátky proti ostatným antigénom *Borrelia burgdorferi* v triede IgG a protilátky proti všetkým antigénom *Borrelia burgdorferi* v triede IgM boli negatívne. Na základe výsledkov protilátok bol zaznamenaný významný vzostup protilátkovej aktivity v triede IgG (koncentrácia protilátok v triede IgG = 33,0 U/ml) a Westernblot je pozitívny pre IgG a negatívny pre IgM. Protilátky proti vírusom VZV, HSV, CMV, EBV, kliešťovej encefalitídy a coxsackie v likvore boli negatívne.

ZOBRAZOVACIE METÓDY

Výsledok CT a MR mozgu bol negatívny v zmysle prítomnosti patologických zmien.

DISKUSIA

Paraproteíny (monoklonálne inunoglobulíny) v likvore sú vzácnym nálezom. Objavujú sa pri plazmocytóme a lymfómoch. Nachádzajú sa tiež u zápalových, infekčných ochorení a v týchto prípadoch by sa ich vznik dal vysvetliť transformáciou imunokompetentných buniek následkom antigénnej stimulácie vplyvom infekčného agens. Môžu sa tvoriť intratekálne, alebo prechádzať do likvoru cez hematolikorovú bariéru CNS. Cez hematolikorovú bariéru prechádzajú najmä monoklonálne ľahké reťazce, pretože majú nízku molekulovú hmotnosť (monomér 22 000). Veľké molekuly paraproteínov, ako napr. IgM neprechádzajú cez hemato-likvorovú bariéru pre ich veľkú molekulovú hmotnosť (900 000), ale sa tvoria intratekálne.

Na OKB FNsP F.D.Roosevelta od 1.9.1990 boli diagnostikované len dva prípady. Prvý bol ľahkoreťazcový paraproteín kappa u plazmocytómu. Druhý paraproteín bol IgM-kappa diagnostikovaný v júli 2008 u referovanej pacientky. Podobný typ paraproteínu popísali francúzski autori (3). V tomto prípade nešlo o infekčné ochorenie, ale o prípad demyelinizačnej neuropatie. U prípadov neuroboreliózy boli zatiaľ popísané v likvore len oligoklonálne frakcie (7).

Základnou metódou, ktorá sa používa v likvorológii na diagnostiku oligoklonálnych frakcií a paraproteínov je elektroforéza na agaróze. Imunofixácia v likvore je druhým krokom v diagnostike a mala by byť používaná pri nejednoznačných ELFO nálezoch v likvore, alebo na určenie typu paraproteínu. Do štandardnej likvorologickej diagnostiky na oddeleniach klinickej biochémie

by malo patriť stanovenie glukózy, bielkovín, albumínu, IgG, laktátu, elektroforézy a v indikovaných a najmä nejednoznačných ELFO nálezoch aj imunofixácia. Okrem toho je nutné vypočítavať aj albumínový kvocient a IgG index. Posúdenie albumínového kvocientu sa podľa literatúry doporučuje hodnotiť vzhľadom na vek.(9). Pri posúdení albumínového kvocientu našej referovanej pacientky hospitalizovanej v roku 2008 hodnota dosiahla 2,3 (mala by byť do 0,62 podľa veku pacientky). Pri hodnotení IgG indexu sa veková závislosť neudáva (9) a pre intratekálnu syntézu IgG svedčí prekročená horná hranica normy. Na našom OKB používame normu pre IgG index do 0,7, a teda aj naša pacientka mala prítomnú intratekálnu syntézu IgG (IgG index 0,83).

Pri diagnostike boreliózy sa používa na stanovenie protilátok v likvore a v sére metóda ELISA a prípadne Westernblot, kde sa stanovujú protilátky proti jednotlivým antigénom *Borrelia burgdorferi*. V súčasnosti bola diagnostika Westernblot rozšírená o rekombinantné proteíny a peptid VISe, ktorý sa primárne tvorí *in vivo*. Použitie peptidu VISe a peptidu C6 zvýšilo citlivosť metódy Westernblot v 1. štádiu ochorenia na 30 až 50 %, v druhom štádiu na 70 až 90 % a v treťom štádiu na 100 % (2).

Problematika diagnostiky neuroboreliovej infekcie je multidisciplinárna a prípad našej pacientky poukazuje na skutočnosť, že aj OKB má v diagnostickom procese významné miesto.

ZÁVER

Paraproteín IgM-kappa v likvore je zriedkavým nálezom a u neuroboreliózy nebol v literatúre doteraz referovaný. U neuroboreliózy boli popisované len oligoklonálne frakcie - oligoklonálne IgG (7). U našej pacientky sa nám podarilo detekovať tranzientny výskyt para-proteínu IgM-

kappa. Klinické príznaky (serózna meningitída + kraniálna neuropatia), likvorový nález, pozitívne nálezy protilátok proti *Borrelia burgdorferi* v likvore a v sére podporili diagnózu neuroboreliózy. Nakoľko paraproteín nebol dokázaný v sére, ale len v likvore, predpokladáme, že sa tvorí intratekálne pri infekčnom ochorení, ktoré postihuje CNS.

LITERATÚRA

1. **Ambler, Z.:** *Základy Neurologie*. Galén, 2006.
2. **Bartúněk, P.:** *Lymeská borelióza*. Grada Publishing a.s., 2006.
3. **Bolehovská, R., Plíšek, S., Plíšková, L., Čermáková, Z., Palička, V.:** Lymeská borelióza. *Klin. Biochem. Metab.*, 17(38), 2009, No. 1, 24-28.
4. **Drouet, A., Caudie, C., Vallat, J. M., Ruel, J. H., Felten, D., Guilloton, L., Giraud, P.:** Polyneuropathy involving cranial nerves associated with monoclonal IgM antibodies with anti- MAG/SGPG/SGPLG/ sultatides activity. *Rev. Neurol. (Paris)*. 2006 Jun, 162(6-7),760-6.
5. **Hučková, D., Predný, J., Holečková, K., Ondrkalová, M.:** Stanovenie protilátok v likvore a ich využitie pre diagnostiku neuroinfekcií. *Klin. mikrobiol. inf. lék.*, 1999, 5(6), 192-197.
6. **Kelbich, P., Koudelková, M., Machová, H., Tomašovič, M., Vachata, P., Kotalíková, P., Chmelíková, V., Hanuljaková, E.:** Význam urgentního vyšetření mozgomíšního moku pro včasnou diagnostiku neuroinfekcií. *Klin. mikrobiol. inf. lék.*, 2007, 13(1), 9-20.
7. **Pícha, D., Moravcová, L., Doulík, S.:** Oligoklonální imunoglobuliny v mozgomíšním moku u neuroboreliózy. *Čes. a Slov. Neurol. Neurochir.*, 57/90, 1994, No. 4, 150-152.

8. **Tichý, M.:** *Laboratorní analýza monoklonálních imunoglobulinů (paraproteinů)*. FIBDR, s.r.o. Český Tešín, 1997.
9. **Zíma, T.:** *Laboratorní diagnostika*. Galén, 2007.

Adresa:

MUDr. Sven Pelikán, OKB FNŠP

F. D. Roosevelta, Nám. Gen. L. Svobodu 1,
975 17 Banská Bystrica, Slovenská republika

Telefón: +4210484412537

mobil: 0905268814

e mail: spelikan@nspbb.sk

MRZ-REAKCIA: POLYŠPECIFICKÁ IMUNITNÁ ODPOVEĎ V CNS

BERTO VÁ, D., GAJO V Á, A.

LABMED, a.s., Laboratórna diagnostika, Košice

Diagnostika autoimunitných ochorení predstavuje zložitý proces, pretože presná príčina vzniku mnohých týchto ochorení je neznáma.

Jedným zo závažných autoimunitných ochorení centrálného nervového systému (CNS) je ochorenie *Sclerosis multiplex* (SM). Toto demyelinizačné ochorenie je charakterizované ako chronický zápalový proces, pri ktorom autoimunitné procesy poškadzujú myelinové proteíny axónov, čo spôsobí stratu schopnosti vedenia vzruchov.

Dôležitou súčasťou diagnostického algoritmu SM je vyšetrenie mozgovomiechového moku (likvor), so zameraním na dôkaz oligoklonality IgG izoelektrickou fokusáciou (senzitivita 98 %, Reiber *et al.*, 2001).

Nález oligoklonality IgG nie je špecifický len pre SM, pretože oligoklonalita IgG v likvore je zaznamenaná aj pri infekčnom postihnutí nervového systému (Freedman *et al.*, 2005; Anderson *et al.*, 1994).

V rámci diagnostiky SM špecificitu oligoklonality IgG v likvore je možné zvýšiť stanovením

MRZ-reakcie (M-measles, R-rubella, Z-VZV), tzv. sekundárnej polyšpecifickej protilátkovej reakcie. Pozitivita intratekálnej syntézy IgG proti trom, dvom alebo jednému uvedenému vírusu podporuje chronický zápalový proces v CNS autoimunitného charakteru, t.j. podporuje diagnostiku SM (špecificita 84 – 92 %, Graef *et al.*, 1994). Naopak vylučuje akútne infekčné ochorenie nervového systému. Pri diagnostike SM má pozitívny nález intratekálnej syntézy IgG proti *measles* a *rubelle* významnejšie postavenie ako pozitivita proti VZV (Brettschneider *et al.*, 2009).

Patofyziológia MRZ-reakcie nie je doposiaľ objasnená. Uvedená reakcia je vysvetľovaná „teóriou imunitnej siete, v ktorej príslušná imunitná reakcia indukovaná určitým antigénom, následne postihuje celú imunitnú sieť. Táto polyšpecifická protilátková reakcia v CNS pretrváva, aj keď príslušný antigén chýba“ (Reiber *et al.*, 1998).

V prezentácii uvádzame naše skúsenosti so stanovením MRZ-reakcie u pacientov s demyelinizačným ochorením CNS.

INTRATEKÁLNA SYNTÉZA IMUNOGLOBULÍNŮV G A METABOLIZMUS PURÍNŮVÝCH NUKLEOTIDOV U PACIENTOV SO SKLERÓZOU MULTIPLEX S DEFICITOM KOENZÝMU Q10

ONDRKALOVÁ, M.¹, KURAČKA, L.², KALNOVIČOVÁ, T.¹, TURČÁNI, P.¹

¹1. neurologická klinika Lekárskej fakulty UK a Univerzitnej nemocnice Staré mesto Bratislava

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

Dôkaz intratekálnej syntézy imunoglobulínov G (IgG) a prítomnosti oligoklonálnych pásov (IgG) v cerebrospinálnom likvore (CSF) je kľúčovým nálezom na podporu diagnózy sclerosis multiplex (SM). Vyšetrenie CSF nadobúda dôležitý diagnostický význam hlavne pri objavení sa prvých neurologických príznakov s negatívnym nálezom na MRI.

Koenzým Q10 je esenciálny faktor pre tvorbu ATP v procese oxidačnej fosforylácie prebiehajúcej v mitochondriách a jeho deficit spôsobuje zmenu v metabolizme purínových nukleotidov. V predchádzajúcich štúdiách sme zistili, že u pacientov so sklerózou multiplex plazmatické hladiny CoQ10 korelujú s likvorovými hladinami degradačných produktov purínových nukleotidov adenozinom a xantínom. V tejto súvislosti nás zaujímalo, či deficit CoQ10 bude ovplyvňovať metabolizmus purínových nukleotidov aj v asociácii s intratekálnou syntézou IgG..

PACIENTI A METÓDY

Vyšetrovaný súbor pozostával z 24 pacientov s priemerným vekom $37,6 \pm 10,7$ rokov s klinicky a laboratórne potvrdenou diagnózou skleróza multiplex (SM). 15 pacientov obsahovalo fyziolo-

gické hladiny CoQ10 v plazme, 9 pacientov znížené plazmatické hladiny CoQ10. Všetci SM pacienti mali pozitívny dôkaz prítomnosti oligoklonálnych pásov v cerebrospinálnom likvore a zvýšený IgG index vyjadrujúci prítomnosť intratekálnej syntézy IgG (IgG index = (CSF IgG/CSF albumín)/(IgG v sére/albumín v sére))

Likvorové hladiny degradačných produktov purínových nukleotidov kyseliny močovej (KM), hypoxantínu (HYP), xantínu (XAN), inozínu (INO) a adenozinu (ADO) sme stanovili pomocou vysokoúčinnnej kvapalinovej chromatografie s UV detekciou. Separované látky sa detegovali pri vlnovej dĺžke 254 nm.

Výsledky boli hodnotené podľa štandardných štatistických postupov (Kolmogorov-Smirnovov test, Spearmanov korelačný test).

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Skleróza multiplex (SM) je zápalové, neurodegeneratívne ochorenie centrálného nervového systému, pri ktorom dochádza k demyelinizácii a axonálnej strate. Chronický zápal, patologické imunologické reakcie, oxidačný a nitračný stres, voľnoradikálové reakcie, zlyhanie mitochondrií spojené s následnou depléciou makroergických

Tab. 1. Porovnanie niektorých korelačných vzťahov medzi IgG indexom (IgG-I) a metabolitmi purínových nukleotidov v likvore u pacientov s normálnymi (SM-nCoQ10) a zníženými (SM-zCoQ10) hladinami koenzýmu Q10 v plazme

KORELÁCIE MEDZI	SM - N COQ10	SM - ZCOQ10
IgG-I - xantín (XAN)	r = 0,616 p = 0,07	r = -0,144 p = 0,607
IgG-I - adenzín (ADO)	r = 0,073 p = 0,851	r = -0,697 p = 0,0039
IgG-I - INO/ADO	r = -0,242 p = 0,529	r = 0,7016 p = 0,0036
IgG-I - XAN/HYP	r = 0,771 p = 0,014	r = 0,261 p = 0,346

fosfátov na jednej strane a zvýšené energetických požiadaviek demyelinizovaných a remyelinizovaných axónov na strane druhej, významným spôsobom zasahujú do antioxidačnej kapacity organizmu a celkovej patológie. Koenzým Q10 je indikátorom energetického stavu a súčasne látkou s antioxidačnými vlastnosťami. V tejto súvislosti nás zaujímalo, ako sa budú metabolicky líšiť pacienti, ktorí majú fyziologické a deficitné plazmatické koncentrácie CoQ10 v degradácii purínových nukleotidov v asociácii s intratekálnou syntézou IgG.

Pacienti s deficitom CoQ10 ($0,352 \pm 0,04$ umol/L) mali v porovnaní s fyziologickými plazmatickými hladinami CoQ10 ($0,512 \pm 0,09$ umol/L) zvýšené likvorové hladiny hypoxantínu, xantínu, kyseliny močovej a zvýšený metabolický obrat premeny adenzínu na inozín a xantínu na kyselinu močovú. Tieto zmeny neboli štatisticky významné, okrem premeny adenzínu na inozín ($p=0,05$). Deficit CoQ10 spôsobuje pokles

produkcie ATP a aktiváciu procesov, ktoré vedú k defosforylácii adenzínmonofosfátu (AMP) na adenzín, ktorý sa ďalej deaminuje adenzíndeaminázou na inozín. Pri fyziologických koncentráciách ATP je preferovaná deaminácia AMP na inozínmonofosfát (IMP). Významné rozdiely sme pozorovali aj v korelačných vzťahoch medzi degradačnými produktmi purínov a IgG indexom. Kým v skupine pacientov s deficitom CoQ10 sa pozorovala negatívna korelácia medzi IgG a adenzínom a pozitívna korelácia medzi metabolickým obratom adenzínu na inozín, v skupine SM pacientov s fyziologickými hladinami CoQ10 sa vyskytovala pozitívna korelácia medzi premenou hypoxantínu na xantín,

Tieto výsledky poukazujú, že deficit koenzýmu Q10 významne zasahuje do energetického stavu a antioxidačných procesov v patológii sklerózy multiplex a podnecujú ďalší výskum tohto parametra aj na úrovni klinických štúdií.

LABORATÓRNA DIAGNOSTIKA V ZÁŤAŽOVÝCH STAVOCH ORGANIZMU

INFEKCIA, ZÁPÁL A HIBERNÁCIA

KULA, R.

ARK FN Ostrava, Česká republika

ÚVOD

Interakcia makroorganizmu s mikroorganizmom sa ešte donedávna popisovala len dvoma fenoménmi: infekciou, t.j. prítomnosťou mikroorganizmov v tkanivách, ktoré sú bežne sterilné a zápalom, ktorým makroorganizmus reaguje na prítomnosť mikroorganizmov. Prvý fenomén je prejavom mikrobiálnej invazivity a druhý prejavom funkčnej zdatnosti imunitného systému makroorganizmu. Priebeh tejto interakcie je dnes dostatočne objasnený. Čo však nie je celkom jasné je to, k akým zmenám dochádza v štrukturálnych bunkách infikovaného a zápalom postihnutého tkaniva. Historicky je však známe, že infikovaný a zápalom postihnutý orgán (tkanivo) dočasne stráca svoju funkciu (*functio laesa*). A pretože tá je vecou práve štrukturálnych buniek, dá sa predpokladať, že podstatou dočasnej straty funkcie infikovaného a zápalom postihnutého orgánu, či tkaniva je dočasný útlm funkcie štrukturálnych buniek – tzv. hibernácia.

ZMYSEL A MECHANIZMY HIBERNÁCIE

Interakcia medzi mikroorganizmom a lokálnymi imunokompetentnými bunkami (predovšetkým makrofágmi) vedie, okrem iného k produkcii prozápalových cytokínov (TNF-a, IL-1b, IL-6), ktorých úlohou je vo finále sprostredkovať fagocytózu mikroorganizmov polymorfonukleárnymi (PMC). Tomu predchádza sekvencia procesov, pomocou ktorých sa PMN (sú v krvnom riečisti) k mikroorganizmom v infikovanom tkanive dostávajú. Sú to:

- a/ vazodilatácia so spomalením krvného prúdu a krátkodobou aktiváciou fibrinolýzy,
- b/ interakcia PMN s endoteliálnymi bunkami a ich následná transmigrácia do infikovaného tkaniva,
- c/ zvýšenie kapilárnej permeability, a v závere proces, ktorý oddeľuje „konflikt“ medzi imunitným systémom a mikroorganizmami od zdravého tkaniva – tzv. kompartmentizácia (zaisťujúcimi mechanizmami sú prekapilár-

na vazokonstrikcia s otvorením a-v skratov a postkapilárna mikrotrombotizácia).

Všetky popísané deje sú na jednej strane nevyhnutné pre úspešný priebeh likvidácie mikroorganizmov imunitným systémom, na druhej strane však predstavujú isté riziko pre štrukturálne bunky zápalom postihnutého tkaniva. Tým rizikom je ich hypoxia a toto riziko je tým väčšie, čím intenzívnejšia je zápalová odpoveď. Vyššie popísaná vazodilatácia totiž vedie k poklesu perfúzneho tlaku, intersticiálny edém k predĺženiu difúznej dráhy pre kyslík, prekapilárna vazokonstrikcia a otvorenie a-v skratov k poklesu denzity perfundovaných kapilár. Výsledkom je nedostatočná lokálna dodávka kyslíka s rizikom hypoxického poškodenia štrukturálnych tkanivových buniek. Ukazuje sa však, že i s touto, relatívne bezvýhodiskovou situáciou si evolúcia imunitného systému poradila. Prozápalové cytokíny, ktoré na jednej strane ohrozujú svojim pôsobením štrukturálne tkanivové bunky hypoxiou, sú na strane druhej schopné vyvolať v nich stav metabolického útľmu – t.j. nízkej náročnosti na kyslík. Štrukturálne bunky sú tak schopné prežiť, avšak prechodne neplnia svoju funkciu (sú hibernované).

Aké mechanizmy sú bezprostredne zodpovedné za vývoj hibernácie nie je dnes celkom jasné. Najčastejšie diskutovaným je tzv. mitochondrial shutdown – (i)reverzibilné vypnutie mitochondrií prozápalovými mediátormi. Výsledkom je prudký pokles ATP v štrukturálnych bunkách, ktorý je natoľko stresujúcim, že vedie k expresii genetického kódu pre konverziu z normálneho stavu do stavu nízkej energetickej (a teda i kyslíkovej) potreby. Tento proces je však relatívne časovo náročný (v experimente su prvé zmeny funkcie mitochondrií pozorované od 17. hodiny po vyvolaní experimentálnej peritonitídy), čo je spojené s rizikom nekrózy buniek ak je zápalová odpoveď excesívna a proces konver-

zie štrukturálnych buniek do stavu hibernácie sa proste „nestihne“. Kontrola intenzity zápalovej odpovede sa tak stáva absolútne kruciálnou, ak chceme získať čas pre úspešnú konverziu štrukturálnych buniek do stavu hibernácie. Za zmienku stojí opäť zdôrazniť nesmiernu dôležitosť práve prvých 12 hodín od vzniku zápalovej odpovede pre efektívnu terapeutickú intervenciu, zameranú na kontrolu intenzity zápalu.

HYPOXICKÉ A HIBERNAČNÉ MULTIORGÁNOVÉ ZLYHANIE

Multiorgánové zlyhanie (MODS) je dnes najčastejšou príčinou úmrtia pacientov na jednotkách intenzívnej starostlivosti. V patogenéze hrá opäť kľúčovú úlohu imunitná odpoveď organizmu na komunitnú, alebo nozokomiálnu infekciu. Ak je excesívna (absolútne, či relatívne – vysvetlenie presahuje rámec tohoto zdelenia), potom môže dôjsť k úniku prozápalových cytokínov z miesta ložiska infekcie do systémovej cirkulácie, kde pôsobia rovnako ako v lokálnom prostredí – vyvolávajú vazodilatáciu, aktiváciu fibrinolýzy, alteráciu kapilárnej permeability a hyperkoagulačný stav. Výsledkom je opäť riziko hypoxického poškodenia orgánov, alebo navodenia stavu ich hibernácie tentoraz v orgánoch vzdialených od miesta infekcie. Či bude výsledok pre pacienta nepriaznivý (nekróza buniek vo vzdialených orgánoch), alebo priaznivý (reverzibilná hibernácia), o tom opäť rozhoduje intenzita systémoveho prozápalového stavu a včasnosť zahájenia efektívnych liečebných intervencií. Ich praktické portfólio nie je malé, pričom dominantnú úlohu hrá včasná kontrola zdroja infekcie (chemoterapia, chirurgická intervencia) a včasne zahájená cieľená hemodynamická podpora. Nesmierne dôležitým momentom je sledovanie intenzity prebiehajúceho systémoveho prozápalového stavu, kde sa s výhodou dá použiť sledovanie sérových hladín

Interleukinu-6 a Prokalcitonínu, ak ide o zápal bakteriálnej etiológie. Sledovanie ostatných parametrov, ako teploty, leukocytózy, či hladiny CRP je v tejto situácii (septický šok) takmer bezcenné.

HIBERNAČNÉ MODS

Hibernačné MODS bolo popísané prvý krát pred 20 rokmi u pacientov zomrelých na MODS, ktorí boli pitvaní do 60 min. od úmrtia. Bolo veľkým prekvapením, že napriek klinicky jednoznačne zlyhávajúcim orgánom, bol ich mikromorfologický nález takmer intaktný. Záver síce vyznel pre termín hibernácia, ale dodnes vlastne nie je jasné, prečo títo pacienti vlastne zomreli. Jedna z možností, ako to vysvetliť je značne špekulatívna, avšak logická – máme pred sebou novú nozologickú jednotku, ktorú nevieme včas diagnostikovať a hlavne včas zmeniť liečebnú stratégiu. Ak vychádzame z princípu hibernácie, potom by zmena liečebnej stratégie mala mať logický charakter „less is more“. V stave hibernácie

môže byť napríklad škodlivý kyslík (mitochondrie sú jeho akceptorom a ak nefungujú potom sa tvoria v nadbytku toxické kyslíkové radikály), nutričná podpora (vedie k škodlivému overfeeding), antibiotiká a sedatíva (spôsobujú poruchu funkcie mitochondrii) a celá rada ďalších intervencií. Inými slovami, ak sa nám v krátkej dobe podarí dospieť do situácie, keď budeme schopní diagnostikovať hibernačné (adaptačné) MODS, potom bude asi vhodné uvažovať i o zmene v rozsahu liečebných intervencií. Dnes totiž si vôbec nemôžeme byť istí, či pacienti s MODS liečebnou intervenciou skutočne pomáhame. Svedčí o tom jednoduchý príklad z praxe, ktorý každý intenzivista už zažil. Pacient s MODS sa horší napriek dobre mienenej intervencii a v určitom štádiu sa ošetrojúci personál rozhodne, že ďalšia liečba už nemá šancu na úspech. Rozsah liečebnej intervencie sa následne zredukuje a stav pacienta, ktorý bol považovaný za beznádejný, sa paradoxne zlepšuje.

Literatúra u autora.

BIOMARKERY ZÁNĚTU A ORGÁNOVÉ ZÁTĚŽE V EXTRÉMNÍCH KLINICKÝCH SITUACÍCH

JABOR, A.¹, FRANEKOVÁ, J.¹, HOŠKOVÁ, L.², SEČNÍK, P. jr.¹

¹Pracoviště laboratorních metod, IKEM, Praha,

²Kardiologická klinika, IKEM, Praha

ÚVOD

Použití biomarkerů umožňuje v extrémních situacích posoudit vitální funkce, ovlivnit léčebné strategie a posoudit prognózu pacientů. Jako model pro hodnocení biomarkerů byla použita transplantace srdce, kde je stav organismu modifikován řadou patofyziologických procesů (operační trauma, výchozí zdravotní stav pacienta modifikovaný srdečním selháním, ischemicko-reperfuční poškození, mimotělní oběh, imunologická situace a použití imunosuprese již v preoperačním průběhu a další) a je tak více důvodů pro výrazné změny biomarkerů. Cílem práce bylo posoudit výpovědní hodnotu rutinně měřitelných biomarkerů ve vztahu ke klinickým cílům a krátkodobé prognóze pacientů.

METODIKA

Bylo sledováno 50 pacientů po transplantaci srdce v období 10/2010 až 1/2012. Medián věku byl 54,0 roků (interkvartilové rozpětí 46,5 - 60,0 let), zastoupení žen bylo 21 %. Biomarkery byly konfrontovány s pěti klinickými cíli: mortalita, rozvoj akutního poškození ledvin (acute kidney injury, AKI) v časném potransplantačním období, stav

myokardu 30 dnů po transplantaci (hodnoceno podle BNP), stav ledvin 30 dnů po transplantaci (Tx, hodnoceno podle cystatinu C) a predikovaná mortalita podle systému IMPACT (predikce mortality podle předtranplantačních vstupních proměnných). Jako kritérium rozvoje AKI bylo v souladu s klasifikací AKIN použita změna sérového kreatininu, skóre IMPACT a predikovaná mortalita byla určena vlastním kalkulátorem podle literárních údajů (Weiss, 2011). Hodnocené biomarkery byly v séru/plazmě kreatinin (enzymově, Abbott), cystatin C a CRP (turbidimetrie, Abbott), BNP (chemiluminiscence, Abbott), prokalcitonin (PCT, chemiluminiscence, Roche), presepsin (imunoanalýza, Mitsubishi), v moči alfa-1-mikroglobulin (nefelometrie, Siemens), NGAL (chemiluminiscence, Abbott). Biomarkery byly odebrány bezprostředně po Tx, 3., 7., 10. a 30. den po Tx s modifikacemi podle použitého markeru. Pro statistické vyhodnocení byla použita ROC analýza, Kruskalův-Wallisův test, Kaplanova-Meierova analýza.

VÝSLEDKY

Skóre IMPACT má maximální počet bodů 50, u sledovaných pacientů byl medián 3,5 bodu

(2,6 – 6,0), predikce roční mortality měla medián 9,2 % (8,2 – 12,2), skutečná mortalita byla 9,6 %. K přežití měly těsný vztah biomarkery až od 10. dne po Tx (CRP, PCT, kreatinin a cystatin C, vše $p < 0,05$), dále BNP a cystatin C v 30. dnu po Tx ($p < 0,05$). Kaplanova-Meierova analýza ukázala významný rozdíl přežití pro cut-off cystatinu C 1,5 mg/l ($p < 0,03$). V predikci mortality se neuplatnily presepsin, NGAL a alfa-1-mikroglobulin. K rozvoji AKI v časném období po Tx měl vztah cystatin C v 1. dnu po Tx a alfa-1-mikroglobulin, ale nezjistili jsme vztah mezi NGAL a rozvojem AKI. Stav myokardu hodnocený podle koncentrace BNP ve 30. dnu po Tx predikovaly logicky koncentrace BNP v 1. a 3. dnu po Tx ($p < 0,01$), v dalším období CRP a PCT (10. den, $p < 0,05$) a cystatin s alfa-1-mikroglobulinem (30. den, $p < 0,05$). Také skóre IMPACT souviselo se stavem myokardu ($p < 0,02$). Stav ledvin hodnocený podle koncentrace cystatinu C 30 dnů po Tx souvisel s řadou biomarkerů v průběhu potransplantačního období: v časném období mezi 1. a 3. dnem to byl PCT, cystatin C, kreatinin, NGAL a presepsin ($p < 0,03$), mezi 7. až 30. dnem PCT, CRP, cystatin C a alfa-1-mikroglobulin ($p < 0,05$). Překvapivě nebyl vztah tohoto klinického cíle k BNP. K poslednímu klinickému cíli (IMPACT) měly vztah všechny biomarkery ($p < 0,04$) již v časném období do 3 dnů (PCT, cystatin C, presepsin, NGAL), případně do 30 dnů (CRP, cystatin C, PCT), neuplatnil se kreatinin.

DISKUSE

Žádný ze sledovaných biomarkerů v časně fázi po transplantaci srdce nepredikoval prognózu, resp. mortalitu pacientů. Predikce úmrtí je možná až v pozdější fázi po Tx (od 7. dne dále), přičemž relevantní ukazatele byly CRP, PCT, cystatin C, kreatinin a BNP. NGAL neprediko-

val AKI při použití různých kriterií změn kreatininu, nepotvrdila se ani hypotéza, že rychlý pokles NGAL může být známkou dobré prognózy. Naopak stav ledvin v časném potransplantačním období charakterizoval efektivně cystatin C a alfa-1-mikroglobulin. Koncentrace BNP 30 dnů po Tx byly téměř u poloviny souboru nad běžně používaným cut-off pro akutní srdeční selhání (400 ng/l), vyšší koncentrace BNP 30 dnů po Tx byly asociovány se zhoršenou prognózou. Kreatinin v séru se během 30 dnů po Tx zcela normalizoval u všech pacientů, ale u části pacientů, především se zhoršenou prognózou, byly 30 dnů po Tx zvýšené koncentrace cystatinu C (nad 1,5 mg/l). Zvýšené koncentrace cystatinu C byly navíc asociovány s řadou nepříznivých vývojů ostatních biomarkerů. Skóre IMPACT je novou možností predikce mortality z hodnot zjištěných před transplantací, má řadu asociací s biomarkery a jeho efektivitu je vhodné dále sledovat.

ZÁVĚRY

Se zvolenými klinickými cíli u pacientů po transplantaci srdce (přežití, rozvoj AKI, stav myokardu a ledvin, skóre IMPACT) měly nejvíce asociací ukazatele tíže SIRS (PCT, CRP, presepsin) a cystatin C. Pro hodnocení stavu myokardu se ukázal nejvíce efektivní BNP, pro hodnocení stavu ledvin cystatin C a alfa-1-mikroglobulin. Poslední dva jmenované ukazatele by bylo vhodné zařazovat do vyšetřovací palety častěji.

LITERATURA

1. Weiss, E. S., Allen, J. G., Arnaoutakis, G. J. *et al.*: Creation of a quantitative recipient risk index for mortality prediction after cardiac transplantation (IMPACT). *Ann. Thorac. Surg.*, 92, 2011, s. 914 – 922.

PRESEPSIN – CHARAKTERISTIKA, OČAKÁVANIA, NAŠE SKÚSENOSTI

FRANEKOVÁ, J., SEČNÍK, P. jr., JABOR, A.

Pracovisko laboratórných metod, Inštitút klinickej a experimentálnej medicíny
Praha

ÚVOD

Syndróm systémovej zápalovej odpovede (SIRS) je častou komplikáciou traumy, operačného zákroku, popálenín, pankreatitídy a ďalších akútnych stavov. U transplantovaných pacientov je SIRS modifikovaný imunosupresívnou terapiou, pri transplantácii (Tx) srdca je navyše komplikovaný ischemicko-reperfúznym poškodením a mimotelovým obehom. Zvlášť v týchto klinických situáciách je potrebné diferencovať, či sa u pacienta jedná o SIRS, alebo sepsu. Definícia oboch stavov vychádza z fyzikálneho vyšetrenia a vyšetrenia leukocytov (Tabuľka 1), u sepsy je navyše prítomná pozitívna hemokultúra, alebo sa predpokladá prítomnosť infekcie. Cieľom nášho sledovania bolo posúdiť úlohu biomarkerov (prokalcitonín, CRP a presepsín) pri diferenciálnej diagnostike SIRSu a sepsy u skupiny pacientov s modelovou situáciou SIRS (pacienti po transplantácii srdca).

METODIKA

Sledovali sme celkom 117 pacientov v troch skupinách. Prvú skupinu tvorilo 40 pacientov hospitalizovaných na ARO (IKEM Praha a VFN

Praha), 12 z nich bolo klinicky zhodnotených ako SIRS (medián veku 62,5 rokov, interkvartilové rozpätie 48,5 – 75,5 rokov, 50 % žien) a 28 ako sepsa (63,0 rokov; 51,0 – 72,5 rokov, 43 % žien). V druhej skupine bolo sledovaných 50 pacientov so SIRS po transplantácii srdca v období 10/2010 až 1/2012, medián veku bol 54,0 rokov (46,5 – 60,0, zastúpenie žien 21 %). Tretím súborom bola kontrolná skupina 27 diabetikov, medián veku 60,0 rokov (53,8 – 65,8 rokov, 15 % žien). Hodnotené biomarkery boli vyšetřované v sére/plazme CRP (turbidimetria, Abbott), prokalcitonín (PCT, chemiluminiscencia, Roche) a presepsin (subtyp solubilného CD14, imunoanalýza, Mitsubishi). Biomarkery boli odobrané bezprostredne po Tx, 3., 7., 10. a 30. deň po Tx s modifikáciami podľa použitého materiálu. U pacientov na ARO a u diabetikov sa jednalo o jeden odber. Pre štatistické vyhodnotenie bol použitý Kruskalov-Wallisov test.

VÝSLEDKY

Najvyššia koncentrácia CRP bola u pacientov so SIRS a sepsou (mediány nad 100 mg/l), ale významne sa v jednotlivých skupinách pacientov nelíšila. CRP u pacientov s diabeticko-

Tab. 1. Diagnostické kritéria SIRS (prítomnosť dvoch a viac známk = SIRS)

NÁLEZ	HODNOTA
Teplota	< 36 °C alebo > 38 °C
Tepová frekvencia	> 90/min
Dychová frekvencia	> 20/min alebo PaCO ₂ < 4,3 kPa
Leukocyty	< 4.10 ⁹ /l alebo > 12.10 ⁹ /l alebo viac než 10 % nezrelých neutrofilov (tyčiek)

kou nohou - 8,4mg/l (interkvartilové rozpätie 0,04 - 16,9mg/l). PCT bol výrazne zvýšený predovšetkým po transplantácii srdca (medián 25 ug/l, interkvartilové rozpätie 11,4 - 52,8 ug/l), nižšie koncentrácie boli u pacientov ARO so sepsou (medián 2,33 ug/l), SIRS (medián 0,79 ug/l) a diabetikov s chronickou infekciou (medián 0,06 ug/l). Koncentrácia presepsinu bola najvyššia u pacientov so sepsou (medián 2265,0 ug/l), stredne zvýšená u SIRS (po Tx medián po Tx 1125,5 ug/l, ARO 1247,0 ug/l) a najnižšia u pacientov s diabetickou nohou (medián 345,0 ug/l). V nami sledovaných skupinách pacientov presepsin signifikantne diskriminoval pacientov so SIRS a so sepsou ($p < 0,05$).

ZÁVER

Presepsin (subtyp solubilného CD14) je možným markerom sepsy, ktorý sa môže uplatniť pri diskriminácii SIRS a sepsy v situáciach, kedy je prokalcitonin zvýšený bez infekčnej etiológie (stav po transplantácii srdca). Najmenšiu schopnosť diskriminácie malo CRP. Zvýšenie efektivity pri diagnostike sepsy, SIRSu a ich rozlíšení, ako aj pri určení prognózy pacienta, prináša monitorovanie markerov v čase a ich vzájomná kombinácia.

ON THE COEXISTENCE OF IMMUNE ACTIVATION AND IMMUNODEFICIENCY

FUCHS, D.

Division of Biological Chemistry, Biocenter, Innsbruck Medical University
dietmar.fuchs@i-med.ac.at

Immunosurveillance plays an important role in the development and progression of a variety of diseases, e.g., infections, autoimmune syndromes, malignant tumor disease and allergic responses. Thereby various cells and mediators like cytokines are engaged to establish a stable equilibrium between forward- and backward-regulatory pathways to guarantee, on the one hand, clearance of, e.g., infection and, on the other hand, to avoid overwhelming and chronic inflammatory response, which could trigger autoimmune syndromes or allergy and asthma.

Patients suffering from immunopathologies like infections, autoimmune syndromes but also cardiovascular, neurodegenerative and malignant diseases oft present with features of immunodeficiency. However, at the same time signs of an activated immune system are apparent. Among them are the increased production of macrophage activation marker neopterin [1] and an accelerated tryptophan breakdown by cytokine-inducible indoleamine 2,3-dioxygenase (IDO) [2]. These indicators of immune activation strongly predict outcome in patients suffering from HIV-1 infection, with various forms of cancer and also

with cardiovascular disease, higher levels being predictive for worse prognosis [3 – 5]. Observations imply that the host response in the patients with its antiproliferative effector functions is primarily involved in the host response and recovery of patients but in the long-run the same functions contribute to the loss of immunocompetence, the development of anemia and the precipitation of mood changes and other neuropsychiatric symptoms in patients.

- [1] **Murr, C. et al.:** Neopterin as a marker for immune system activation. *Curr. Drug. Metabol.*, 2002; 3: 175 – 187.
- [2] **Schroecksnadel, K. et al.:** Monitoring tryptophan metabolism in chronic immune activation. *Clin. Chim. Acta.*, 2006; 364: 82 – 90.
- [3] **Wirleitner, B. et al.:** Neopterin in HIV infection. *Mol. Immunol.*, 2005; 42: 183 – 194.
- [4] **Sucher, R. et al.:** Neopterin, a prognostic marker in human malignancies. *Cancer Lett.*, 2010; 287: 13 – 22.
- [5] **Fuchs, D. et al.:** The role of neopterin in atherogenesis and cardiovascular risk stratification. *Curr. Med. Chem.*, 2009; 16: 4644 – 4653.

HLADINY NEOPTERÍNU V PLAZME U PACIENTOV S CHRONICKOU LYMFATICKOU LEUKÉMIOU

PARRÁK, V.¹, SEČNÍK, P.², MISTRÍK, M.¹, FUCHS, D.³

¹UNB Bratislava, NsP sv. Cyrila a Metoda, Klinika hematológie SZU a LFUK, Slovakia

²SK-Lab sro, Lučenec, Slovensko, ³Division of Biological Chemistry, Biocenter Innsbruck
Medical University Center for Chemistry and Biomedicine, University Innsbruck, Austria

Neopterín je marker dobre korelujúci s imunitným stavom človeka (pacienta). V priebehu roku 2011 sme monitorovali koncentrácie neopterínu u pacientov (219 pacientov/629 vzoriek) s chronickou lymfatickou leukémiou (CLL) v plazme. Neopterín sme stanovovali kitom

ELISA Enzyme-Linked Immunosorbent Assay BRAHMS Germany, referenčný rozsah: $5,3 \pm 2,7$ nmol/l Zistili sme signifikantné zmeny hladín neopterínu u pacientov s CLL a veľmi dobrú koreláciu a dynamiku s klinickým stavom pacientov v niektorých prípadoch.

LABORATÓRNA DIAGNOSTIKA V ENDOKRINOLÓGII

UKAZOVATELE KOSTNÉHO METABOLIZMU V KLINICKEJ PRAXI

STECOVÁ, A., DOBÁKOVÁ, E., BÁTOROVÁ, E.

Medirex, a.s., Bratislava

Kostná remodelácia prebieha u dospelého človeka počas celého života, pričom dochádza k resorpcii vytvorenej kostnej hmoty s nasledujúcou tvorbou novej tak, aby veľkosť a architektúra kosti zostali zachované. Remodeláciu kostnej hmoty ovplyvňuje množstvo 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. 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. S postupujúcim vekom systém zabezpečujúci rovnováhu

medzi resorpciou a novotvorbou kosti prestáva fungovať a, zvyčajne, resorpcia prevažuje nad novotvorbou kosti. V súčasnosti sa paleta laboratórných ukazovateľov kostného metabolizmu rozširuje, keďže pri epidémii osteoporózy je snaha o čo najlepšiu diagnostiku a monitorovanie pacienta, predovšetkým pri zisťovaní veľkosti kostného obratu a monitorovaní antiresorpčnej aj anabolickej liečby.

Na hodnotenie resorpcie kostnej hmoty sa najčastejšie používajú:

- Hydroxyprolín - dnes sa od neho ustupuje vzhľadom k predanalytickým problémom a s tým súvisiacimi ťažkosťami pri interpretácii.
- Voľné alebo na bielkoviny viazané cross-links:
 - Deoxypyridinolín
 - Karboxyterminálny telopeptid kolagénu typu 1 (1CTP, β -CTx)
 - Aminoterminálny telopeptid kolagénu typu 1 (NTx).

Pri zmenách kostnej novotvorby sú to:

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

Obrazom celkového kostného obratu je osteokalcín.

Dôležitými bodmi, od ktorých sa odvíjajú hranice, ktoré by sa mali dosiahnuť pri terapii, sú referenčné hodnoty jednotlivých ukazovateľov, a ich analytická a biologická variabilita. Vieme tak vypočítať štatisticky významný rozdiel nutný pre posúdenie účinnosti terapie. Pri anabolickej terapii je najpoužívanejším ukazovateľom úspešnosti liečby P1NP, ktorého koncentrácie by sa mali zvýšiť najmenej o 40 %. Úspešnosť anti-resorpčnej terapie sa monitoruje pomocou CTx (zníženie koncentrácie o 35 - 55 %), osteokalcínu (zníženie o 20 - 40 %) a P1NP (zníženie o 40 %).

Významným faktorom je vitamín D, pričom najdôležitejšie sú vitamín D₃ (cholecalciferol) a vitamín D₂ (ergocalciferol). Väčšinu potrebného vitamínu D₃ si organizmus tvorí v koži účinkom ultrafialového žiarenia na 7-dehydrocholesterol. Iba malú časť prijíma potravou živočíšneho pôvodu, ako sú vaječný žĺtok alebo olej z rybacej pečene. 25(OH)-vitamín D₃ a 25(OH)-vitamín D₂ sú najdôležitejšími metabolitmi vitamínov D nachádzajúcich sa v krvi a sú odrazom ich zásob v organizme. Biologicky aktívnymi sa stávajú obi-

dva až po ich 25-hydroxylácii v pečeni a nasledujúcej 1-hydroxylácii v obličkách. Hoci aktívnou formou je 1,25(OH)₂-vitamín D₃, jeho stanovovanie nie je vhodné na posúdenie stavu vitamínu D. Pri deficite 25(OH)-vitamínu D₃ vzniká porucha resorpcie vápnika v čreve, s nasledujúcim uvoľnením PTH do cirkulácie. Zvýšený PTH zabezpečuje obnovu koncentrácie vápnika zvýšením jeho reabsorpcie v obličkách, mobilizácie z kostí a zvýšenou produkciou 1,25(OH)₂-vitamínu D₃. Koncentrácia 1,25(OH)₂-vitamínu D₃ je preto pri deficite vitamínu D v organizme zvyčajne normálna alebo dokonca zvýšená. Formou, ktorá je odrazom zásob vitamínu D v organizme, je preto 25(OH)-vitamín D₃.

Predpokladá sa, že koncentrácia 25(OH)-vitamínu D₃ by nemala byť nižšia ako 20 µg/l, ak sa má predísť problémom s kostným metabolizmom. Hodnota dôležitá pre zdravú diferenciáciu buniek a ostatné účinky vitamínu D, predovšetkým zabránenie sekundárnej hyperparatyroidóze, sa udáva viac ako 30 µg/l. Adekvátne substituovanie vitamínom D je dôležitá v puberte a v mladom veku z hľadiska maximálnej tvorby kostnej hmoty. Z ďalších faktorov, ktoré vitamín D ovplyvňuje, je závažná prevencia fraktúr, kde sa ukazuje, že optimálna koncentrácia vitamínu D, asociovaná s najnižšou prevalenciou fraktúr femuru a iných nonvertebrálnych fraktúr je okolo 36 - 40 µg/l.

VÝZNAM BIOCHEMICKÝCH MARKEROV KOSTNÉHO OBRATU V KLINICKEJ PRAXI

MÁLEK, Z.

Osteologická akademie
Zlín

ÚVOD

Vyšetrenie biochemických markerov kostného obratu (BM) je neoddeliteľnou súčasťou moderného diagnostického i terapeutického algoritmu metabolických ochorení skeletu. V kosti prebieha neustály proces prestavby, kľúčový pre zachovanie jej kvality. V súčasnosti je možné stanovenie BM oboch zložiek kostnej prestavby – osteorezorpcie a osteoformácie. Informácie, získané prostredníctvom BM, sú pre klinickú prax jedinečné a nenahraditeľné.

MATERIÁL A METODIKA

Prezentácia súčasných poznatkov o využití BM v klinickej praxi. Predpokladom efektívneho použitia BM je nielen štandardizácia preanalytickej a analytickej fázy, ale i korektná klinická interpretácia v konkrétnych podmienkach daného pacienta (vek, pohlavie, kostná denzita, komorbidity, medikácia, strava atď.) Hodnotíme bazálne hodnoty BM vo vzťahu k referenčnému intervalu a kontrolné hodnoty BM po 3 až 6 mesiacoch liečby. Pre hodnotenie dynamiky BM je pre klinika nevyhnutná znalosť kritického rozdielu (LSC), ktorý je pre BM osteorezorpcie cca 30 %

a osteoformácie cca 18 – 20 % východzej hodnoty markeru. V klinickej praxi je BM možné využiť pre:

1. Odhad rizika osteoporotickej fraktúry Úroveň kostného obratu je nezávislým rizikovým faktorom osteoporotickej fraktúry (vysoký kostný obrat zvyšuje riziko cca 2×).
2. Odhad rýchlosti straty kostnej hmoty v postmenopauze. Osoby s vysokým kostným obratom majú signifikantne rýchlejšiu stratu kostnej hmoty.
3. Monitorovanie účinnosti liečby osteoporózy BM sú dynamickým ukazovateľom stavu skeletu, ich zmeny pri liečbe osteoporózy sú rýchlejšie a významnejšie ako zmeny kostnej denzity. Efektívna antirezorpčná liečba vedie po 6 mesiacoch k poklesu BM osteorezorpcie o 35 – 55 %, efektívna osteoanabolická liečba zvýši po 3 – 6 mesiacoch BM osteoformácie o > 40 %.
4. Kontrolu compliance pacienta Areaktivita BM na liečbu môže byť následkom nonadherence pacienta.
5. Indikáciu sekundarity osteoporózy. Areaktivita BM na liečbu môže byť spôsobená prítomnosťou sekundárnej etiológie osteoporózy.
6. Hodnotenie negatívneho vplyvu glukokortikoidov na kosť. Pokles BM osteoformácie po

liečbe glukokortikoidmi signalizuje zvýšené riziko glukokortikoidmi indukovanej osteoporózy.

ZÁVER

Z uvedeného vyplýva, že korektná aplikácia BM v klinickej praxi je prínosom, vedie k zvýšeniu efektivity terapeutického procesu a má tak i ekonomický efekt.

HORMONÁLNE PODMIENENÁ SEKUNDÁRNA OSTEOPORÓZA

HALMOVÁ, H.¹, SEČNÍK, P.²

¹Endokrinologická ambulancia OSTEOMED, s.r.o., Lučenec

²Klinické laboratórium SK-Lab, spol s r.o., Lučenec

ÚVOD

Sekundárna osteoporóza môže byť spôsobená nadbytkom hormónov, resp. ich deficitom. V prípade nadbytku hormónov sa jedná o hyper tyreózu, hyperkortizolizmus, hyperparatyreózu a hyperprolaktinémiu. Pri deficite hormónov dochádza k sekundárnej osteoporóze pri *diabetes mellitus*, ženskom a mužskom hypogonadizme a hyposomatotropizme (Payer a Killinger, 1999 a 2001).

MECHANIZMY VZNIKU SEKUNDÁRNEJ OSTEOPORÓZY

Hypertyreóza

Príčinou sekundárnej osteoporózy je zvýšenie aktivity osteoklastov (zvýšenie osteorezorpcie), skrátenie remodelačného cyklu takmer o tretinu, zníženie črevnej rezorpcie vápnika, naopak zvýšenie jeho rezorpcie z kosti (negatívna kalciová bilancia). Výraznejšia strata kostnej hmoty je v kortikálnej kosti. Jednotlivé nozologické jednotky sú: *m. Basedowi*, toxický adenóm, resp. multinodózna toxická struma, subklinická hypertyreóza (Zamrazil, 2000).

Hyperkortizolizmus

Nadbytok kortizolu stimuluje aktivitu osteoklastov a má katabolický vplyv na kostnú matrix. Má tiež tlmivý vplyv na maturáciu a funkciu osteoblastov, znižuje rezorpciu kalcia v GIT-e, renálnu reabsorpciu kalcia a tvorbu aktívnych metabolitov vitamínu D (stúpa produkcia parathormónu - sekundárna hyperparatyreóza). Ďalej negatívne ovplyvňuje sekréciu rastového hormónu, IGF1, androgénov a estrogénov, čo prispieva k zvýšenej kostnej rezorpcii (Vaňuga, 2002).

Dochádza tiež k výraznejšiemu pôsobeniu na kortikálnu kosť (cca. 4× vyššie než na trabekulárnu kosť). Najrýchlejší úbytok kostnej hmoty sa prejavuje v priebehu prvých mesiacov ochorenia alebo liečby kortikoidmi.

Diabetes mellitus

Diabetes mellitus 1. typu sa vyznačuje deficitom inzulínu, ktorý zapríčiňuje zníženie mineralizácie osteoidu, pokles syntézy proteínov kostnej matrix (kolagén), syntézy kalcitonínu a tvorbu aktívnych metabolitov vitamínu D (zvýšená osteorezorpcia). Osmotickou diurézou dochádza k hyperkalcii a znižuje sa rezorpcia kalcia črevom (negatívna kalciová bilancia).

Naopak u diabetu 2. typu je úbytok kostnej hmoty nejednoznačný (je častý hyperinzuliniz-

mus) a na vzniku osteoporózy sa podieľajú skôr diabetické komplikácie ako sú diabetická enteropatia, steatóza pečene, diabetická nefropatia, diabetická noha (imobilizácia) a diabetická angiopatia (znížená nutriícia).

Hyperprolaktinémia

Úbytok kostnej hmoty nie je spôsobený priamo zvýšenými hladinami prolaktínu, ale sekundárnym hypogonadizmom (inhibícia sekrécie GnRH a následne gonadotropínou LH a FSH). U žien je to blokácia ovulácie, následne oligomenoroe až amenoroe. U mužov je to inhibícia 5-alfa reduktázy a tým zníženie koncentrácie dihydrotestosterónu v periférii (Kocián, 2000).

Hyposomatotropizmus

Rastový hormón (HGH) a IGF1 stimulujú vznik a diferenciáciu osteoblastov (osteofórmácia), syntézu vitamínu D3 a následne zvýšenie rezorpcie kalcia črevom. Deficit HGH pôsobí najmä na kortikálnu kosť. Dôvodom vzniku deficitu sú v dospelosti hlavne stavy po hypofyzektómii, alebo idiopatický deficit (Rosa, 2000).

Hyperparatyreóza

Parathormón (PTH) je jedným zo základných osteotropných hormónov spolu s kalcitonínom a aktívnymi metabolitmi vitamínu D. PTH stimuluje osteoblasty, ktoré následne stimulujú

osteoklasty (cez IGFI, IL-6, atď.) v ich diferenciácii a aktivite. V nadbytku PTH pôsobí na kosť katabolicky. Hyperparatyreóza pôsobí najmä na kortikálnu kosť, dochádza aj k subperiostálnej rezorpcii. Klinické jednotky primárnej hyperparatyreózy sú adenóm a hyperplázia. Osobitnú kapitolu predstavuje sekundárna hyperparatyreóza (HPT).

Vlastný súbor pacientov

V období 2005 – 2010 bolo v endokrinologickej ambulancii v Lučenci diagnostikovaných 36 pacientov s primárnou HPT. Najväčší výskyt bol zaznamenaný v rokoch 2009 a 2010. Prevažnú väčšinu pacientov tvorili ženy vo veku od 51 do 80 rokov. Najčastejšia lokalizácia prištítného teľieska bola vľavo dole v súlade s odbornou literatúrou. Hodnoty kalcia sa pohybovali v rozmedzí od 2,76 do 3,34 a hodnoty parathormónu v rozpätí 122 až 1206.

ZOZNAM LITERATÚRY

1. Payer a Killinger, 1999 a 2001.
2. Zamrazil, 2000.
3. Vaňuga, 2002.
4. Kocián, 2000.
5. Rosa, 2000.

LABORATÓRNA DIAGNOSTIKA NEUROENDOKRINNÝCH NÁDOROV

ALBERTYOVÁ, D., KOHÚT, V.

Oddelenie klinickej biochémie, Fakultná nemocnica F.D. Roosevelta
Banská Bystrica

Neuroendokrinné nádory pochádzajú z neuroektodermálneho tkaniva, ktoré sa v priebehu vývoja dostalo do bronchov, čreva, pankreasu, nadobličiek a ďalších orgánov. Sú to vzácne sa vyskytujúce nádory, preto sa väčšina klinikov s nimi stretáva iba zriedkavo, a to je príčinou ich obtiažnej diagnostiky.

Bunky týchto nádorov vylučujú do krvi zvýšené množstvo hormonálne aktívnych látok, napr. katecholamínov, metanefrínov, serotonínu a iných, ktoré spôsobujú manifestnú klinickú symptomatológiu. Diagnóza týchto nádorov sa opiera o laboratórny dôkaz hormonálnych látok v krvi a moči. Na presnú lokalizačnú diagnostiku sa využívajú najnovšie zobrazovacie techniky (CT, PET, Octeoscan).

Na našom pracovisku sa zameriavame hlavne na laboratórnu diagnostiku karcinoidu, feochromocytómu a neuroblastómu. Stanovujeme tri skupiny hormonálnych látok: (1) katecholamíny (adrenalin, noradrenalin a dopamin), (2) metanefríny (metanefrín, normetanefrín a 3-me-

toxytyramín) a (3) kyseliny vanilmandľová, homovanilová a 5-hydroxyindolactová.

Analýzy vykonávame v 24 h zbieranom moči tromi rôznymi metódami v systéme vysokoúčinatej kvapalinovej chromatografie s elektrochemickou detekciou (HPLC-ED), ktorý sa nateraz považuje za najekonomickejšie riešenie.

Dôležitou súčasťou tejto diagnostiky je predanalytická fáza, ktorá súvisí s prípravou pacienta na vyšetrenie (vplyv stravy, liekov a stresu) ako aj s podmienkami zberu 24 h moču so stabilizačným činidlom, jeho skladovaním a transportom.

V práci uvádzame niekoľko vybraných kazuistík. Zameriavame sa na prezentáciu laboratórnych výsledkov u pacientov na začiatku diagnostikovania nádoru, po jeho odstránení a v čase liečby. Zvýšenie hladín hormonálnych látok počas monitorovania pacienta môže upozorniť na metastázy alebo recidívu ochorenia.

Prínos biochemických vyšetrení tak spočíva vo vyhľadávaní a rýchlej diagnostike vzácne sa vyskytujúcich nádorových ochorení.

NOVORODENECKÝ SKRÍNING KONGENITÁLNEJ HYPOTYREÓZY NA SLOVENSKU – VÝSLEDKY 27-ROČNÉHO SLEDOVANIA

KNAPKOVÁ, M.¹, DLUHOLUCKÝ, S.¹, BIELIKOVÁ, S.¹, NOGEOVÁ, A.², FERENCZOVÁ, J.³

¹SCN SR a Detská endokrinologická ambulancia Detskej fakultnej nemocnice v Banskej Bystrici

²Detská endokrinologická ambulancia Kliniky pre deti a dorast A. Getlíka SZU,
Nemocnica sv. C a M Bratislava

³Detská endokrinológia Detskej fakultnej nemocnice v Košiciach

Novorodenecký skríning kongenitálnej hypotyreózy (KH) na Slovensku ako plošný preventívny program funguje 27 rokov. V našej práci dokumentujeme výsledky SCN SR a regionálnych recall centier kongenitálnej hypotyreózy za uvedené obdobie. Od roku 1985 – 2011 sme vyšetrili v skríningu kongenitálne hypotyreózy 1 704 805 novorodencov a zachytili 413 porúch štítnej žľazy, incidencia živorodených 1:4128. Skríningovým markerom kongenitálnej hypotyreózy je tyreostimulačný hormón (TSH), ktorý stanovujeme kitom neo TSH ILMA zo suchej kvapky krvi. Doporučená a nami overená hodnota cut-off limitu je 10 mIU/L pre novorodencov vo

veku 72. – 96. hodiny života. Hodnoty v rozmedzí 10 – 20 mIU/L sú považované za šedú zónu a hodnoty nad 20 mIU/L sú hlásené ako veľmi suspektný záchyt. V skríningu kongenitálnej hypotyreózy pravidelne vyhodnocujeme diagnostickú senzitivitu, špecificitu a validitu skríningového testu. V roku 2011 senzitivita testu bola 100 %, špecificita 99,36 % a validita 99,25 %. Oneskorene zvýšenú hladinu TSH sme zachytili u 26 novorodencov z reskríningu. Za uvedené obdobie sme nezaznamenali únik zo skríningu KH, čo je zásluha všetkých zložiek skríningu a správne nastaveného algoritmu vyšetřovania TSH zo suchej kvapky krvi.

LABORATÓRNA DIAGNOSTIKA V REPRODUKČNEJ A PRENATÁLNEJ MEDICÍNE

MOŽNOSTI HODNOTENIA OVARIÁLNEJ FUNKCIE

STECOVÁ, A.

Medirex, a. s., Bratislava

Ovariálna rezerva je tvorená veľkosťou ovariálneho folikulárneho poolu a kvalitou oocytov v ňom. Znižuje sa s vekom, výsledkom čoho je znižovanie reprodukčnej funkcie ženy. Veľkosť folikulárneho poolu sa určuje vo fetálnom období, pri narodení má dieťa ženského pohlavia asi 1 milión oocytov. Tento pool sa priebehu života znižuje až na 300 – 500 000 oocytov pri začiatku menarché. V priebehu života sa oocyty z poolu primordiálnych folikulov presúvajú do poolu rastúcich oocytov, z ktorých sa od začiatku puberty pod vplyvom FSH vyberá cyklicky jeden, tzv. dominantný. V tomto prebiehajú pod vplyvom LH zmeny vedúce k ovulácii, a to až do obdobia, keď je pool primordiálnych folikulov vyčerpaný a dochádza k menopauze. Už v rokoch predchádzajúcich menopauze fertilita klesá a menštruačný cyklus sa stáva nepravidelným. Avšak vek je zlým indikátorom reprodukčného starnutia, a teda hodnotenia ovariálnej rezervy.

V súčasnosti sa za najlepšiu metódu zistenia ovariálnej rezervy považuje ultrazvukové hodnotenie počtu antrálnych folikulov pomocou transvaginálneho ultrazvukového hodnotenia vo včasnej folikulárnej fáze.

Na hodnotenie individuálnej ovariálnej rezervy sa používajú tiež koncentrácie FSH v skorej folikulárnej fáze menštruačného cyklu, inhibín B a estradiol. Inhibín B a estradiol sú produkované v skorých antrálnych folikuloch ako odpoveď na pôsobenie FSH, ktorého koncentrácie zároveň regulujú spätnou väzbou. S klesaním počtu primordiálnych folikulov sa znižuje tvorba inhibínu B a estradiolu, a teda zvyšuje sa koncentrácia FSH. Keďže tieto hormóny sa vzájomne ovplyvňujú, významné zmeny prichádzajú pomerne neskoro v období reprodukčného starnutia.

Za výborný ukazovateľ by sa považoval taký, ktorý vie určiť množstvo primordiálnych folikulov schopných prejsť do stavu rastúcich folikulov,

pričom by nebol pod vplyvom gonadotropných hormónov. Jedným z takýchto sa ukazuje byť anti-Müllerov hormón.

Anti-Müllerov hormón (AMH) produkujú vo fetálnom období Sertolihov bunky testes a jeho úlohou je regresia *ductus Mülleri* u plodov mužského pohlavia. Vplyvom androgénov sa tak rozvíja *ductus Wolfi*, z ktorého vzniknú mužské pohlavné orgány. Okrem toho AMH hrá významnú úlohu v postnatálnom období pri vývoji a udržiavaní funkcie gonád. U plodov ženského pohlavia nie je AMH exprimovaný, a keďže ani androgény sa nesyntetizujú, dochádza k premene *ductus Mülleri* na ženské vnútorné orgány.

U žien sa AMH produkuje od perinatálneho obdobia v preantrálnych a skorých antrálnych folikuloch, a jeho úlohou je ovplyvnenie výberu a rastu dominantného folikulu. Keďže ovárium a prítomnosť antrálnych folikulov sa od narodenia do puberty zvyšuje, s maximom v pubertálnom období, zodpovedajú tomu aj zmeny v koncentráciách AMH. Vtedy je najvyššia reprodukčná schopnosť ženy, aj koncentrácie AMH, obidve postupne klesajú, po menopauze sú hladiny AMH nedetekovateľné a odzrkadľujú vyčerpanie ovariálnej rezervy. Najnovšie štúdie ukazujú, že AMH sa znižuje po pôrode, pod vplyvom hormonálnej antikoncepcie, v ostatnom období sa preto začína predpokladať, že skôr ako ukazovateľom celkového folikulárneho poolu, bude možno ukazovateľom rastúcich folikulov, teda tých, ktoré sú pripravené dozrieť.

Vyšetrenie AMH má význam pri sledovaní reprodukčného stavu u mužov aj u žien, pričom zvýšené hodnoty bývajú asociované u mužov s oneskorenou pubertou, gonadotropín-inde-

pendentnou predčasnou pubertou, v niektorých prípadoch rezistencie na androgény a porúch syntézy testosterónu. U žien ho zvyšujú nádory vychádzajúce zo Sertolihov-Leydigových buniek, buniek *zona granulosa* ovárií, polycystické ovária. Znížené hodnoty môžu byť u mužov pri kryptorchidizme a anorchii, v niektorých prípadoch predčasnej puberty, u žien u predčasnej menopauzy.

AMH je výborným prediktorom ovariálneho starnutia. Používa sa aj pri hodnotení ovariálnej odpovede na liečbu gonadotropínmi u *in vitro* fertilizácie, kde koncentrácie AMH výborne korelujú s počtom antrálnych folikulov pred liečbou a počtom získaných oocytov po ovariálnej stimulácii. Syndróm polycystických ovárií (PCOS) je stavom, u ktorého koncentrácie AMH sú zvýšené, pričom podstata nie je zatiaľ celkom jasná. Zvýšený je pool antrálnych folikulov produkujúcich AMH, ktorý môže byť spôsobený poruchou vo výbere dominantného folikulu, keďže AMH znižuje senzitivitu folikulov na FSH. Predbežné výsledky štúdií tiež ukazujú, že aj produkcia AMH folikulmi môže byť zvýšená. Cykly môžu byť ovulačné aj anovulačné a sú prítomné aj ďalšie biochemické zmeny, predovšetkým zvýšené koncentrácie androgénov, ktoré sú asociované s inzulínovou rezistenciou a obezitou u niektorých žien. Liečba inzulínovej rezistencie viedla k zníženej koncentrácii AMH aj androgénov.

Hodnotenie ovariálnej funkcie je teda komplexným problémom, kde v súčasnosti prebieha veľa štúdií, potrebných na definitívne posúdenie metód vhodných na použitie v rámci medicíny založenej na dôkazoch.

MOŽNOSTI LABORATÓRNEJ IMUNOLOGICKEJ DIAGNOSTIKY U PACIENTOV S PORUCHAMI PLODNOSTI

GIROVSKÁ, B.

Oddelenie laboratórnej diagnostiky – imunológia
Medirex, a.s., Bratislava

V r. 1953 sa dr. Medawar začal zaoberať problematikou semialogénneho plodu v maternici matky a stal sa tak zakladateľom reprodukčnej imunológie. Vzhľadom k narastajúcemu počtu pacientov s poruchami plodnosti sa tento odbor stáva čoraz populárnejším. Diagnostika, z veľkej časti laboratórna, má zásadný význam, keďže následná liečba býva úspešná až v 50 – 60 %.

Pre správny výber metód a následnú správnu interpretáciu výsledkov vyšetrení je nutné poznať aspoň základné mechanizmy fungovania imunitného systému v reprodukcii.

FUNGOVANIE IMUNITNÉHO SYSTÉMU VRÁMCI REPRODUKČIE - ZÁKLADNÉ FAKTY

V oblasti reprodukčného systému je nutná prítomnosť spoľahlivých regulačných mechanizmov zaisťujúcich imunitnú toleranciu. Je tomu tak preto, že k dozrievaniu imunitného systému a vytváraniu tolerancie voči vlastným antigénom dochádza už perinatálne. Špecifické antigénne štruktúry tkanív zreých reprodukčných orgánov sa však objavujú až v období puberty, preto ich imunitný systém nemusí identifikovať ako vlastné. Druhým dôvodom je obdobie gravidity, kedy

musí materský organizmus dokázať tolerovať vyvíjajúci sa plod, nesúci časť otcovských, t.j. cudzích antigénov.

IMUNITA A REPRODUKČNÝ SYSTÉM MUŽA

U muža vzniku autoreaktivity imunitného systému zabráňujú mechanizmy aktívne (pôsobenie tlmivých regulačných T lymfocytov a ich produktov v tkanive semenníkov a znížená aktivita fagocytov v tejto oblasti) a pasívne (znížená antigénnosť tkanív mužského reprodukčného systému a špecifická anatomická stavba semenníkov).

IMUNITA A REPRODUKČNÝ SYSTÉM ŽENY

U ženy sa tzv. primordiálne folikuly formujú už počas embryonálneho vývoja, preto sú povrchové znaky oocytu imunitným systémom vnímané ako vlastné. Neplatí to ale pre ďalšie štruktúry, ktoré sa v organizme objavujú až v období puberty. Okrem vlastných antigénov zreého reprodukčného systému je imunitný systém ženy konfrontovaný navyše aj s cudzími antigénmi spermii. Miestom kontaktu je cervikálny kanál.

Tab. 1. Vyšetrenie muža

Metódy I. voľby	spermiogram kvalita ejakulátu protilátky proti spermiám v ejakuláte
Metódy II. voľby	protilátky proti spermiám v sére funkčná aktivita NK buniek, MIF screening systémovej autoimunity a celiakie (ANA, a-TTG/ EMA)

Tab. 2. Vyšetrenie ženy - primárna sterilita

Metódy I. voľby	protilátky proti <i>zona pellucida</i> protilátky proti spermiám (v sére, prípadne v cervikálnom hliene) screening celiakie (a-TTG/EMA) protilátky proti štítnej žľaze (a-TPO, a-TG)
Metódy II. voľby	funkčná aktivita NK buniek APLA, beta-2-GP1 screening systémovej autoimunity (ANA) protilátky proti ováriám

Tab. 3. Vyšetrenie ženy - opakované potraty

Metódy I. voľby	ACLA APLA profil-annexin V, anti-beta-2GP1
Metódy II. voľby	anti protrombin funkčná aktivita NK buniek screening celiakie (a-TTG/EMA) protilátky proti štítnej žľaze (a-TPO, a-TG) imunofenotypizácia

Kľúčovú úlohu v ňom má cervikálny hlien, ktorý v období mimo ovulácie obsahuje veľké množstvo imunokompetentných buniek a zamedzuje prestupu cudzorodého materiálu do vnútorného prostredia organizmu. V období ovulácie sa jeho charakter zásadne mení, dochádza v ňom k výraznému zníženiu počtu buniek, čo umožní priechod kvalitných spermií do dutiny maternice a obmedzí možnosti ich eliminácie imunitným systémom ženy.

IMUNOLÓGIA GRAVIDITY

Úlohu styčného miesta medzi embryom a sliznicou maternice plní trofoblast. Nízku imunogénnosť a vysokú odolnosť voči matkiným imunitným reakciám zaisťuje špeciálna povrchová výbava jeho buniek, ktoré neexprimujú klasické HLA znaky II. triedy a iba málo exprimujú HLA znaky I. triedy, čo zaisťuje zachovanie neodpovedavosti cytotoxických T lymfocytov. Ich miesto

zaberajú málo polymorfné HLA znaky E, F a G. Štruktúry HLA G reagujú s inhibičnými receptormi NK buniek, ktoré by mohli byť za absencie molekúl HLA I. triedy aktivované. Samotný plod je takisto vybavený množstvom ďalších ochranných najmä humorálnych mechanizmov, ktoré obmedzujú množenie a aktiváciu materských imunitných buniek a stupňujú odolnosť trofoblastu a plodu na ich pôsobenie. Podľa novším poznatkov sa ukazuje, že významným faktorom fyziologického tehotenstva je aj presun v početnosti populácií Th lymfocytov smerom k tlmivým Th2 lymfocytom, vplyvom progesterónu, prostaglandínu E2 a interleukínov 4 a 10. Rozhodujúcim faktorom pre navodenie imunologickej tolerancie matky voči plodu sú teda imunoregulačné mechanizmy špecifické pre rozhranie embryo-tehotenská decidua.

VYŠETROVACÍ POSTUP PRI PODOZRENÍ NA IMUNOPATOLÓGIU VRÁMCI REPRODUKCIE

Po imunologických príčinách neplodnosti je potrebné pátrať po vylúčení iných etiologických

faktorov (anatomických, genetických, hormonálnych a infekčných). Následne je možné vyšetrenie zahájiť u párov, ktorým sa nepodarilo otehotnieť po roku pravidelného nechráneného styku, u žien s opakovanými spontánnymi potratmi (2 aborty, bez rozdielu veku) a v prípade minimálne 2 neúspešných pokusov niektorej z metód asistovanej reprodukcie. Keďže v oblasti reprodukčnej medicíny existuje celá škála rôznych laboratórnych vyšetrení, z ktorých mnohé sa doposiaľ používajú skôr v experimentálnej oblasti, rozhodli sme sa v našom laboratóriu vychádzať z odporúčania vypracovaného autormi z Českej republiky (M. Drahošová *a kol.*) s bohatými skúsenosťami v tejto problematike. Odporúčanie zahŕňa vždy metódy prvej i druhej voľby, konkrétny výber jednotlivých vyšetrovacích postupov však samozrejme ostáva aj naďalej na ošetrojúcom lekárovi – špecialistovi a mal by byť sa opierať o individuálne potreby konkrétneho pacienta, resp. patientskeho páru.

SÚČASNÝ POHĽAD NA BIOCHEMICKÝ PRENATÁLNY SKRÍNING VRODENÝCH VÝVOJOVÝCH CHÝB

SCHENKOVÁ, K.

Oddelenie laboratórnej diagnostiky, Medirex a.s., Bratislava

Prenatálny biochemický skríning vrodených vývojových chýb zaznamenal v ostatnom období výrazný rozvoj. Selekcia tehotných s vysokým rizikom postihnutia plodu Downovým syndrómom bola v minulosti postavená len na vyššom veku matky, prípadne anamnestických údajoch. V 80. rokoch sa začala stanovovať hladina AFP v II. trimestri gravidity a postupne boli nájdené aj ďalšie markery II., resp. I. trimestra. Individuálne riziko postihnutia plodu sa začalo stanovovať pomocou certifikovaného softvéru. V súčasnosti sú evidentné snahy presunúť skríning z druhého trimestra do prvého a súčasne nájsť schému skríningu, ktorá by bola čo najefektívnejšia.

Tento skríning umožňuje detekciu najčastejších chromozómových aberácií, ako je trizómia 21. chromozómu - Downov syndróm, trizómia 18. chromozómu - Edwardsov syndróm. Nízka až nemerateľná hodnota nekonjugovaného estriolu upozorňuje na možný Smith-Lemli-Opitzov syndróm. Abnormálny výsledok skríningu nachádzame aj vo väčšine prípadov Turnerovho syndrómu, u zriedkavých trizómií iných chromozómov, resp. u triploidických plodov. Dobre detegovateľné skríningom sú aj defekty kožného krytu plodu (otvorené rázštepky nervovej trubice, rázštep prednej brušnej steny). Okrem toho môže abnormálna hodnota niektorého markera

upozorniť na možné komplikácie gravidity v I. trimestri tehotenstva (spontánny abort, ektopická gravidita), prípadne pôrodnícke komplikácie v III. trimestri gravidity (mŕtvy plod, intrauterínna rastová retardácia, preeklampsia, nízka pôrodná hmotnosť plodu a pod.)

V I. trimestri sa pre potreby prenatálneho skríningu využívajú jednak biochemické markery - Pregnancy associated plasma protein A (PAPP-A), voľná beta podjednotka choriogonadotropného hormónu (free β HCG), jednak markery ultrazvukové - nuchálna translucencia (NT), prípadne nosová kostička (nasal bone - NB). V II. trimestri sú to len biochemické markery, a to alfafetoproteín (AFP), choriogonadotropný hormón (HCG) - celkový alebo voľná beta podjednotka, a nekonjugovaný estriol (uE3). Inhibín A sa na Slovensku štandardne nestanovuje.

V závislosti od možností laboratória a dostupnosti certifikovaného vyšetrenia NT sú možné rôzne skríningové stratégie, využívajúce len markery I. trimestra (kombinovaný test), len II. trimestra (double, tripple test) alebo obidvoch (integrovaný, resp. sérum integrovaný test). Každý z týchto testov je charakteristický určitou senzitivitou a falošnou pozitivitou (tab. 1). Podľa štúdie SURRUS (2003) by pri 5 % falošnej pozitivite mala byť senzitivita nasledovná:

- Kombinovaný test (NT, PAPP-A, free β HCG) - 80 %
- Double test (AFP, total HCG) - 66 %
- Triple test (AFP, total HCG, uE3) - 74 %
- Sérium integrovaný test (PAPP - A, AFP, total HCG, uE3) - 85 %
- Integrovaný test (PAPP - A, NT, AFP, total HCG, uE3) - 92 %

Na oddelení laboratórnej diagnostiky Medirex a. s. stanovujeme v I. trimestri hladinu PAPP-A, v II. trimestri AFP, total HCG, uE3. Hodno-

tu NT akceptujeme len vtedy, ak bola odmeraná certifikovaným sonografistom. Na vyhodnotenie skríningu sme použili program ALPHA.

V roku 2011 sme vyhodnotili spolu 9 437 tehotných, z toho 59,6 % sérum integrovaným testom, 28,9 % triple testom, 11,2 % integrovaným testom a 0,3 % kombinovaným testom. Zvýšené riziko Downovho syndrómu bolo u 6,4 %, Edwardsovho syndrómu u 0,77 %, Smith-Lemli-Opitz syndrómu u 0,54 % skrínigov. Zvýšená hodnota AFP nad 2,5 MoM bola u 0, % skrínigov.

GENETICKÉ VYŠETRENIA V PRENATÁLNOBOM OBDOBÍ

HOJSÍKOVÁ, I.¹, PLAVINOVÁ, V.¹

¹Oddelenie lekárskej genetiky, Medirex, a.s.

V rámci prenatálnej diagnostiky uskutočňujeme genetickú analýzu zo vzoriek plodovej vody. Dlhodobá kultivácia plodovej vody (cca 10 – 12 dní) slúži na získanie preparátov, z ktorých sa stanovuje konštitučný karyotyp ešte nenarodeného plodu. Cytogenetická analýza plodovej vody môže byť doplnená aj o FISH a molekulovú analýzu.

Ďalšou z možností prenatálnej genetickej analýzy je prvotrimestrálna diagnostika zo vzoriek choriových klkov. Podobne ako pri plodovej vode po dlhodobej kultivácii choriových klkov po cca 10 – 12 dňoch získame preparáty, prostredníctvom ktorých sa takisto ako z plodovej vody stanovuje konštitučný karyotyp ešte nenarodeného plodu.

FISH analýza v rámci prenatálnej diagnostiky dopĺňa a v určitých prípadoch aj nahrádza cytogenetickú analýzu vzoriek periférnej krvi, plodovej vody a choriových klkov. Táto metóda sa využíva na potvrdenie cytogenetického nálezu a tiež na odhalenie rôznych aberácií, ktoré nie je možné detegovať pomocou karyotypovania kvôli jeho nízkej senzitivite, napr. mikrolečné syndrómy. Výhodou FISH analýzy je možnosť detekcie porúch genetického materiálu z interfáznych jadier, ktorých počet je vo vzorke po kultivácii podstatne vyšší v porovnaní s metafá-

zovými figúrami. Rádovo vyššia citlivosť metódy umožňuje stanoviť percentuálne zastúpenie klonov v prípade mozaicizmu.

Pomocou kvantitatívnej fluorescenčnej PCR uskutočňujeme vyšetrenia plodovej vody, odhaľujeme zmeny počtu chromozómov 13, 18, 21 a určujeme pohlavie plodu (X a Y). Toto vyšetrenie je možné realizovať takisto zo vzoriek choriových klkov a pupočníkovej krvi.

V rámci včasnej prenatálnej diagnostiky ponúkame molekulovú analýzu choriových klkov zameranú na odhalenie aneuploidii 8 chromozómov, ktoré sú najčastejšie zahrnuté do chromozómových anomálií pri ťažkých VVCH plodu (13, 15, 16, 18, 21, 22, X a Y).

Rovnakú analýzu ponúkame zo vzoriek tkaniva plodu, choriových klkov, aj pupočníkovej krvi po spontánnom i vyvolanom aborte.

Nevyhnutným predpokladom úspešnej genetickej analýzy v prenatálnom období je dodržanie správnych predanalytických postupov. Zvláštny dôraz treba klásť na odber biologického materiálu, ktorý nesmie byť kontaminovaný materskou DNA. Pre vylúčenie kontaminácie materskou DNA je vhodné porovnať DNA z odobratého biologického materiálu plodu s DNA pochádzajúcou z periférnej krvi matky.

NGAL – SLIBNÝ MARKER V DIAGNOSTICE AKUTNÍHO POŠKOZENÍ LEDVIN

TRBUŠEK, J.

Abbott Laboratories sro, Praha

Akutní poškození ledvin („Acute Kidney Injury“; AKI) je definováno jako náhle vzniklý pokles funkce ledvin, přičemž se jedná o dynamický proces různé závažnosti, často život ohrožující, s možností reverzibility nebo progresu. Časná detekce AKI ovlivňuje terapeutické postupy a výrazně zlepšuje prognózu pacienta.

Diagnóza AKI je v současnosti založena zejména na parametrech souvisejících se sérovým kreatininem (viz RIFLE klasifikace). Kreatinin ale není nejvhodnějším markerem pro sledování akutních změn funkce ledvin zejména proto, že nárůst jeho koncentrace je pozorován obvykle nejdříve až 24 – 72 hodin po začátku poškození, kdy až 50 % funkce ledvin může být nevratně ztraceno. Proto hlavním cílem v diagnostice AKI je nalezení biomarkeru, který bude schopen zachytit renální poškození v časných stádiích, bude co možná nejvíce specifický vzhledem k renálním funkcím a snadno stanovitelný (praktické využi-

ti). Všechny tyto parametry splňuje v nejvyšší míře NGAL („Neutrophil Gelatinase Associated Lipocalin“; Neutrofilní lipokalin asociovaný s gelatinázou). NGAL je jedním z prvních proteinů, jehož koncentrace v moči se rychle zvyšuje po ischemických či nefrotoxických podnětech působících na ledviny. Je produkován epiteliálními buňkami zejména distálních tubulů nefronu, přičemž ledvinový epitel vytváří a sekretuje do moče obrovské množství NGALu během několika desítek minut od působení patologického podnětu. NGAL se tak v rychlosti nárůstu koncentrace liší od ostatních tzv. funkčních markerů (např. kreatinin nebo cystatin), jejichž zvýšení je až odpovědí na funkční selhání ledvin a je detekováno výrazně později.

Firma Abbott Laboratories uvedla na trh první plně automatizovanou detekci NGALu v moči na analyzátoch ARCHITECT s možností velmi rychlého (statimového) stanovení do 36 minut.

STANOVENIE PARATHORMÓNU U PACIENTOV S CHRONICKOU OBLIČKOVOU CHOROBOU – MOŽNOSTI A ÚSKALIA

ĐUROVCOVÁ, E.^{1,2}, KOVÁČOVÁ, A.^{1,2}, ANDERKOVÁ, S.¹

¹LABMED, a.s., Košice

²Ústav lekárskej biochémie, klinickej biochémie a Labmed, a.s.

LF UPJŠ Košice

Chronickú obličkovú chorobu (CKD) sprevádza sekundárny hyperparatyreoidizmus, ktorý vedie k vzniku špecifickej obličkovej kostnej choroby. Pre správny manažment pacientov je nevyhnutné meranie bioaktívnej formy parathormónu (PTH).

PTH je peptidový hormón s 84 aminokyselínami, ktorý sa tvorí v prištitných telieskach pri poklese extracelulárnej koncentrácie ionizovaného vápnika. Hyperkalcemizujúci účinok dosahuje PTH stimuláciou uvoľňovania vápnika z kostí, jeho reabsorpcie v obličkových distálnych tubuloch a podporou syntézy kalcitriolu – aktívnej formy vitamínu D, prostredníctvom ktorého sa zvyšuje črevná reabsorpcia vápnika. Modulačný vplyv PTH na osteoblasty sa v súčasnosti využíva v liečbe osteoporózy.

Okrem kompletnej molekuly PTH (1 – 84) sa v cirkulácii nachádzajú aj rôzne dlhé fragmenty, ktorých dĺžka ani funkcia nie je celkom objasnená. Bolo dokázané, že najmä koncentrácia fragmentu 7 – 84 PTH sa zvyšuje úmerne poklesu glomerulovej filtrácie. Tento fragment má v porovnaní s 1 – 84 PTH opačné účinky na kosť a pravdepodobne pôsobí cez odlišný receptor.

Odporúčania K/DOQI (Kidney Disease Outcome Quality Initiative) pre kostnú metabolickú chorobu odporúčajú pravidelné monitorova-

nie sérovej koncentrácie PTH a jej udržiavanie v cieľových koncentráciách podľa stupňa CKD. Kvalita vyšetrovacích metód pre PTH priamo ovplyvňuje terapeutické rozhodnutia, t.j. podávanie aktívneho vitamínu D alebo kalcimetických liekov pri koncentráciách PTH nad cieľovým rozsahom pre dané štádium CKD alebo naopak, prerušenie liečby pri znížených koncentráciách, aby sa zabránilo nežiaducim kostným aj mimokostným kalcifikáciám.

V súčasnej klinickej praxi sa používajú na trhu dostupné metódy 2. a 3. generácie.

Metódy 2. generácie označované ako „intact PTH“, ktoré boli dostupné od 80-tych rokov 20. storočia využívali dvojicu protilátok proti strednému (15 – 20 alebo 26 – 32 AK) a C-terminálnemu úseku (39 – 84 AK) molekuly PTH. Zistilo sa, že aj tieto metódy s rôznou skríženou reaktivitou zachytávali iné molekuly ako 1 – 84 PTH, z ktorých najvýznamnejšia bola pomocou HPLC identifikovaná ako 7 – 84 PTH fragment. Nadhodnotené koncentrácie PTH u pacientov s CKD viedli niekedy k zbytočnej supresii PTH s nežiaducim vznikom adynamickej kostnej choroby alebo k neindikovaným paraidektómiam.

Metódy 3. generácie (whole, biointact PTH) používajú podobnú protilátku proti C-terminálnemu koncu ako metódy 2. generácie, ale protilátka

proti N-terminálnemu koncu je namierená proti epitopu 1 – 5 AK. Keďže nezachytávajú fragment 7 – 84 PTH, poskytujú u pacientov s CKD až o 50 % nižšie hodnoty.

Cieľom práce bolo porovnať používanú metódu 2. generácie „intact“ PTH Roche s novou metódou 3. generácie PTH 1 – 84 Roche na skupine pacientov s CKD. Vyšetřili sme PTH u 126 pacientov v chronickom dialyzačnom programe (priemerný vek 61 ± 14 rokov, trvanie dialýzy 79 ± 45 mesiacov) a v porovnávej skupine 25 pacientov z endokrinologických ambulancií s normálnou koncentráciou sérového kreatinínu.

VÝSLEDKY

U HD pacientov boli koncentrácie 1 – 84 PTH v porovnaní s metódou „intact“ PTH o 47 % nižšie ($189,6 \pm 123,1$ versus $361,3 \pm 237,4$ ng/l). V kontrolnej skupine pacientov bol rozdiel medzi koncentraciami 29 % ($55,9 \pm 29,6$ versus $38,8 \pm 19,6$ ng/l). Obe metódy navzájom vynikajúco korelovali ($r = 0,997$).

Na základe výsledkov stanovenia 1 – 84 PTH nebolo 35 pacientov (27,8 %) zaradených do kategórie PTH > 300 ng/l, ktorá je cut-off hodnotou pre zmenu liečby.

DISKUSIA

Súčasná odporúčania skupiny expertov K/DOQI nespochybňujú potenciálnu výhodu metód 3. generácie, avšak odporúčajú používanie metód 2. generácie dovtedy, kým nebudú publikované štúdie s kostnými biopsiami, ktoré by mali potvrdiť zlepšenie diagnostiky porúch kostného obratu metódami 3. generácie. Snaha zabezpečiť kontinuitu v používaní metód 2. a 3. generácie viedla k používaniu korekčných faktorov (napr. faktor 1,7 v japonských národných odporúčaní).

Okrem analytickej variability medzi jednotlivými súpravami na stanovenie PTH (použitie protilátky a referenčné materiály pre kalibráciu) ovplyvňuje použitie PTH ako markera metabolickej kostnej choroby aj jeho veľká biologická variabilita. Kritická diferencia (RCV) u hemodialyzovaných pacientov môže dosahovať až 70 %, z čoho vyplýva potreba opakovaného stanovenia PTH a hodnotenie trendov pri iniciácii alebo úprave liečby (odporúčania KDIGO, 2009).

CYSTATÍN C – JE IBA MARKEROM GLOMERULÁRNEJ FILTRÁCIE?

GREGOVÁ, E.

Oddelenie klinickej biochémie, FNsP F.D.Roosevelta
Banská Bystrica

Cystatín C (CysC) je neglykozylovaný nízko-molekulový (13 kDa) proteín patriaci medzi inhibítory cysteínových proteáz. Tvorí sa konštantne vo všetkých bunkách s jadrom, voľne sa filtruje v glomerule, takmer úplne sa reabsorbuje a katabolizuje v proximálnom tubule. Koncentrácia CysC v sére koreluje s glomerulárnou filtráciou a preto bol navrhnutý ako marker glomerulárnej filtrácie (GFR). Na rozdiel od kreatinínu nedochádza k tubulárnej sekrécii, nie je ovplyvnený pohlavím, diétou, zápalom a množstvom svalovej hmoty, preto je koncentrácia CysC v sére za určitých okolností vhodnejším endogénnym markerom GFR ako kreatinín.

Cystatín C v sére sa zvyšuje už pri miernom znížení glomerulárnej filtrácie, ktoré sa ešte nemusí prejavíť zvýšenými hodnotami kreatinínu. Preto sa považuje za citlivejší marker pre diagnostiku začínajúcich porúch glomerulárnej filtrácie v tzv. „slepej oblasti kreatinínu“.

Vyšetrenie CysC v sére ako alternatíva ku kreatinínu je vhodné pri stavoch, kde sú odchýlky v metabolizme kreatinínu, u detí, starších ľudí, diabetikov, pri hepatopatiách, po transplantáciách, pri akútnych zmenách renálnych funkcií. Pri jeho vyšetrení treba brať do úvahy, že hladina CysC môže byť ovplyvnená niektorými liekmi (kortiko-

idy ju zvyšujú, CyA znižuje) a dysfunkciou štítnej žľazy (hypotyreóza ju znižuje, hypertyreóza zvyšuje).

Pri posudzovaní funkcie obličiek by sa nemala hodnotiť samotná koncentrácia CysC, ale podobne ako pre kreatinín existuje množstvo prediktívnych rovníc na odhad GFR z CysC samotného alebo v kombinácii s kreatinínom. Pri použití rovníc musíme však brať do úvahy aj metodiku, ktorou bol CysC vyšetrený a použiť rovnicu zodpovedajúcu metóde. V rokoch 1994 – 1997 boli uvedené do praxe imunoturbidimetrické (PETIA) a imunonefelometrické (PENIA) metódy, ktoré dávajú rozdielne výsledky a sú aj rozdielne referenčné hodnoty. Pre širšie využitie CysC v praxi je nevyhnutná štandardizácia, ktorá spočíva najmä v jednotnej kalibrácii metód.

Viac ako 20 rokov sa študoval CysC ako endogénny marker GFR, ale po roku 2005 sa objavujú nové pohľady na CysC. Viacero štúdií, v ktorých autori sledovali CysC na súboroch rôznych pacientov dospelo k poznatkom, že pacienti so zvýšeným CysC majú vyššie riziko vývoja kardiovaskulárnej aj chronickej obličkovej choroby. Zdá sa, že vzťah Cys C a kardiovaskulárnych ochorení môže zmeniť pohľad na význam a interpretáciu sérových hodnôt cystatínu C.

CENOTVORBA LABORATÓRNYCH VÝKONOV V ÉRE EURA. QUI BONO?

BALLA, J.

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

Zdravie je obrovský balík výdavkov, ten najväčší v segmente liekov. Ceny liekov v SR sa radia k najdrahším v európskych krajinách. Preto sa v liekovej politike tak veľmi nalieha na potrebu porovnania cenových hladín v jednotlivých krajinách EÚ. Napriek tomu, že v klinických laboratóriách došlo v posledných dvadsiatich rokoch k expanzii služieb, sú s výdajmi na lieky neporovnateľne menšie. Nárast služieb v laboratórnej medicíne spôsobilo viacero faktorov, ale hlavne nové metodológie a technológie, privatizácia medicínskych laboratórií a výrazne zvýšené využívanie laboratórnych služieb. Prečo sa aj v prípade laboratórnych služieb tak naliehavo nevolá po cenovom porovnaní? Prečo sa v laboratórnych službách ešte ani raz za posledných 24 rokov nerealizoval poctivý cenový benchmarking? Pretože ceny (pardon, platby) za laboratórne vyšetrenia patria v SR k tým najlacnejším v európskych krajinách. Pretože by sa ukázalo, že veľký podiel laboratórnych testov je v SR úplne podhodnotených.

V laboratórnej diagnostike absentujú reálne pravidlá, ktoré by umožňovali optimálne fungovanie cenovej regulácie. Proces cenotvorby laboratórnych služieb je už dve desaťročia netransparentný. Aj samotné laboratóriá sa bránia „referencovaniu“. Tvorcovia cenových rozhodnutí majú často obmedzené vedomosti o nákladoch spojených s laboratórnymi službami a už nehovoriac o nákladoch na zvyšovanie kvality. Správna cenotvorba je dôležitou premisou optimálneho financovania laboratórnych služieb. **Neplatí, že to, čo je najlacnejšie, je aj najvýhodnejšie.** Každá efektívnosť má svoje limity. Zamýšľa sa niekto z tvorcov cenových opatrení nad priamymi a nepriamymi nákladmi laboratórnych vyšetrení pri stanovení optimálnej ceny? Každý riaditeľ zdravotníckeho laboratória vie pomenovať, v čom má problémy a väčšinou sa zhodujú v tom, že náklady mnohých testov stále prevyšujú príjmy. Ak sú ceny regulované natoľko, že nimi laboratóriá nedokážu pokryť náklady na zabezpečenie

kvalitných služieb, vyžadujú si zmenu. Cenová regulácia musí byť založená na transparentnosti a nezávislosti a potom je jedno, kto z účastníkov konania cenové návrhy predkladá. Regulátor má právo tlačiť laboratóriá k efektívnosti nie však laboratóriá okrádať a vždy a všade uplatňovať iba metódu cenového stropu (price-cap). Mimo chodom, kto je dnes vlastne regulátor? Ministerstvo zdravotníctva SR, Úrad pre dohľad nad zdravotnou starostlivosťou, zdravotné poisťovne? Tie sa odvolávajú na to, že zohľadňujú kritériá na uzatváranie zmlúv, ako sú dostupnosť, personálne zabezpečenie (podľa vzdelania a kvalifikácie), materiálno-technické vybavenie (pričom ale nerešpektujú metodologickú nadväznosť vykonaného testu s jeho úhradou), bodovú sadzbu za vykázané laboratórne vyšetrenia (v mnohých prípadoch však absolútne nereálne) a indikátory kvality (za ktoré omylom vydávajú systémové indikátory).

Laboratóriá musia vykonať požadované vyšetrenia v duchu zákonom stanovenej povinnosti poskytnúť v každej situácii neodkladnú zdravotnú starostlivosť. Poisťovne naopak, nie sú povinné uhradiť tieto výkony najčastejšie v duchu nezákonne stanovených „nadlimitov“. Vyššie ceny niektorých laboratórnych testov poisťovne svojvoľne ignorujú a neuhrádzajú ich. Na druhej strane zdravotné poisťovne teší extrémne nízka cena niektorých laboratórnych vyšetrení, ktorá je ale zároveň zlou správou, pretože prevádzkovateľ niekde musí prudko šetriť. Na kvalitných ľuďoch? Na investíciách do technológií, na lac-

ných a menej kvalitných diagnostikách alebo na vzdelávaní či zvyšovaní kvalifikácie personálu? Dobrá cena by totiž všetko toto mala obsahovať, aby sa naplnil strategický cieľ, t.j. ukázať, akí dôležití sú ľudia a ich kreativita, ich erudícia a talent pre kvalitu laboratórneho vyšetrenia a pre jeho pridanú hodnotu. To oni prinášajú kvalitu (alebo nekvalitu), oni ťahajú laboratóriá vpred, to oni stoja za ich úspechmi.

K najvýznamnejším zmenám v novom Zozname zdravotných výkonov, ktorý Ministerstvo zdravotníctva SR zamýšľa vydať Nariadením vlády SR patrí doba trvania zdravotného výkonu. Tento údaj jednotliví predkladatelia vyrátali ako priemerný čas potrebný na komplexné vykonanie vyšetrenia. Odhad tzv. čistého pracovného času laboratórnych výkonov v klinických laboratóriách v SR sa v zmysle predloženej metodiky od začiatku chápal ako podklad na kalkuláciu ceny práce. Zdravotné poisťovne však zamýšľajú tento parameter vzťahovať aj k celkovej dĺžke pracovného času s následným zohľadnením pri úhrade zdravotného výkonu. Ak cieľom určenia čistého pracovného času bolo zamýšľané použitie na úpravy objemov a úhrad zmluvných laboratórnych výkonov, mala byť metodika v tomto smere jednoznačná a mala obsahovať príklady kvalifikovaného odhadu priemernej doby trvania laboratórneho výkonu. Z pôvodného zámeru určenia časov, ktoré mali modelovo slúžiť na kalkuláciu reálnej ceny práce laboratórneho vyšetrenia sa tak môže stať nástroj zdravotných poisťovní na ďalšie neodvodnené limitovanie laboratórnych vyšetrení.

VOLNÉ ĽAHKÉ REŤAZCE KAPPA A LAMBA V DIAGNOSTIKE MNOHOPOČETNÉHO MYELÓMU

KUBALA, J.

Ústav klinickej biochémie, imunológie a alergológie, ÚVN Ružomberok – FN

Mnohopočetný myelóm je entita, ktorá padá do širokého spektra monoklonových gamapatií (MG). Ide o ochorenia charakterizované proliferáciou jedného alebo viacerých klonov plazmatických buniek alebo B lymfocytov, ktoré sú schopné sekrécie homogénneho, kompletného imunoglobulínu (IgG, IgA, IgM, IgD, IgE) a/alebo jeho fragmentov, najčastejšie voľných ľahkých reťazcov κ alebo λ , zriedkavo ťažkých reťazcov α , γ , μ . Výsledkom klonovej produkcie je monoklonový proteín (paraproteín, M-proteín), ktorý môže byť detekovaný ako elektroforeticky a imunologicky homogénny proteín. M-proteín je tumorový marker špecifický pre monoklonovú gamapatiu, pretože reflektuje klonovú produkciu imunoglobulínov. Ide však o diagnózu laboratornú, ktorá vyžaduje ďalšie komplementárne biochemické, hematologické, cytogenetické, rentgenologické a ďalšie vyšetrenia na stanovenie definitívnej diagnózy.

Klasifikácia monoklonových gamapatií

- Monoklonová gamapatia nejasného významu (MGUS)
- Mnohopočetný myelóm (MM)
 - Symptomatický myelóm (sMM)
 - Asymptomatický myelóm (aMM)
 - Nesekrečný myelóm

- Plazmocelulárna leukémia
- Osteosklerotický myelóm – POEMS
- Plazmocytóm
 - Solitárny plazmocytóm kosti
 - Extramedulárny plazmocytóm
 - Mnohonásobný/viacpočetný solitárny plazmocytóm kosti
- Ochorenia spôsobené agregáciou monoklonových proteínov
 - AL amyloidóza
 - Choroba z ukladania ľahkých, ľahkých-ťažkých a ťažkých monoklonových reťazcov v neamyloidovej podobe (LCDD, LHCDD, HCDD)
 - Histiocytóza s ukladaním kryštálov (Crystal-storing histiocytosis)
 - Kryoglobulinémia typ I
 - Glomerulonefritída s organizovanými mikrotubulárnymi depozitmi monoklonového imunoglobulínu
- Ochorenia spôsobené protilátkovou aktivitou M-proteínu
 - Zmiešaná chladová kryoglobulinémia
 - Monoklonový chladový aglutinín
 - Polyneuropatie
- Lymfoproliferatívne ochorenia
 - Waldenströmova makroglobulinémia
 - B-CLL

- Iné lymfoproliferatívne ochorenia asociované s M-proteínom
- Choroba ťažkých reťazcov α , γ , μ
- Iné ochorenia spojené s M-proteínom (malignita, autoimunita, infekčné choroby atď.)

Doterajšia detekcia MG bola založená na ELFO a IF séra a moču ako „zlatom štandarde“, ktorý však nedokázal v plnom rozsahu pokryť rozmanité spektra MG a skoro úplne absentoval pri kvantifikácii voľných ľahkých reťazcov (VLR).

Voľné ľahké reťazce kappa a lambda (VLR) sú známe viac ako 150 rokov. Najčastejšie sa detekovali orientačnou skúškou známou ako Bence-Jonesova bielkovina v moči. Zavedenie testu stanovenia VLR zo séra metódou turbidimetrie/nefelometrie v roku 2001 predstavuje novú metódu, ktorá radikálnym spôsobom zmenila laboratórne možnosti pri MG. V roku 2006 boli VLR implementované ako testy pre monoklonové ochorenia so širokým portfóliom: skrining pre všetky diagnózy MG, posúdenie prognózy pre MGUS, asymptomatický a symptomatický myelóm, solitárny plazmocytóm, AL amyloidóza, monitorovanie odpovede u AL amyloidózy, oligo- alebo nesekrečných myelómov, dokumentovanie „stringent“ kompletnej remisie a „únik/prielom“ voľných ľahkých reťazcov.

V práci podávame vlastné skúsenosti so stanovením VLR na základe analýzy pacientov s di-

agnózou mnohopočetný myelóm od apríla 2006 do marca 2012. Súbor predstavuje 40 pacientov, z toho bolo 29 pacientov so symptomatickým MM vrátane jedného MM s prechodom do plazmocelulárnej leukémie a 11 s asymptomatickým MM. Z 29 pacientov so sMM 28 (96.5 %) malo patologický index κ/λ a z 11 pacientov s aMM 10 (90.9%) malo patologický index. IF séra bola pozitívna u 39 (97.5 %) pacientov. 5 pacientov so sMM malo negatívny moč na VLR metódou IF a ELFO. U pacienta s plazmocelulárnou leukémiou boli pozitívne len VLR, pri 90% infiltrácii kostnej drene plazmatickými bunkami. Kombináciou troch sérových testov ELFO, VLR a IF sme zachytili všetkých pacientov s mnohopočetným myelómom.

VLR je testom s veľkým benefitom, ale ako každá laboratórna analýza, aj VLR majú svoje analytické limitácie, ktoré sa týkajú variability šarží, nadbytku antigénu, polymerizácie, non-lineariry a referenčného rozpätia. Ide však o „riešiteľné“ problémy. VLR sú markery každodennej hemato-onkologickej praxe a majú nezastupiteľné miesto pri diagnóze myelómu event. inej monoklonovej gamapatie. Ich veľký potenciál je aj v tom, že ako veľmi citlivý parameter v kombinácii s ELFO a IF séra zachytia všetky relevantné gamapatie a testovanie močových nálezov nie je potrebné. Potvrdila to aj naša analýza, kde vyšetrenie moču neodhalilo žiadneho ďalšieho pacienta, ak tieto testy boli negatívne.

C-PEPTID – SKÚSENOSTI Z NÁŠHO PRACOVISKA

BARLOVÁ, J.¹, KOLLÁROVÁ, E.¹, JANOKOVÁ, E.¹

DROZDA, D.¹, SKALINA, I.², RUDÍKOVÁ, M.²

¹OKB

²Interné odd., 1. Súkromná nemocnica Košice-Šaca

C-peptid – malý spojovací mostík medzi A a B reťazcom inzulínu, zložený z 35-tich aminokyselín (majúci v cirkulácii v konečnej podobe 31 aminokyselín) je napriek svojej subtilnej forme parametrom všeobecne obľúbeným nielen diabetológmi a endokrinológmi, ale aj parametrom veľmi užitočným pre pacientov – diabetikov. Hoci objav štruktúry C-peptidu siaha do 70-tych rokov minulého storočia (pričom dnešnému spôsobu stanovenia výrazne napomohol rozvoj imunochemických analytických metód), skúsenosti z nášho pracoviska sa začali v decembri v minulom roku. Pomerne rýchlo sa začal štandardne stanovovať ako test funkcie beta buniek pankreasu z hľadiska sekrécie inzulínu. Indikáciou sta-

novenia C-peptidu je najmä novozistený *diabetes mellitus*, *diabetes mellitus* 1. a 2. typu a podozrenie na LADA diabetes (latentný autoimunitný diabetes dospelých).

Výhodou stanovenia C-peptidu je najmä jeho nezávislosť na podaní exogénneho inzulínu a jeho neschopnosť interferovať s autoprotiľátkami proti endogénnemu inzulínu.

C-peptid ako biologický parameter má významné priame i sprostredkované účinky ovplyvňujúce stupeň a mieru rozvoja cievnych a nervových komplikácií u pacientov – diabetikov.

Súčasťou prezentácie sú kazuistiky ako konkrétny príklad prepojenia laboratórnej a praktickej medicíny.

NOVÝ POHĽAD NA DETSKÝ AUTIZMUS – MOŽNOSTI LABORATÓRNEJ DIAGNOSTIKY A LIEČBY

ÜRGE, O.^{1,2}, GÁBOROVÁ, I.¹, PASTORKOVÁ, K.¹, SCHMIDTOVÁ, K.¹

¹Synlab Slovakia s.r.o., Bratislava

²Klinika pre deti a dorast A. Getlíka SZU, UNB, Nemocnica sv. Cyrila a Metoda, Bratislava

Autizmus je v súčasnosti chápaný ako neuro-psychické ochorenie s nedostatočnými sociálnymi interakciami, nedostatočnou verbálnou a neverbálnou komunikáciou, abnormálnym až bizarným návykovým správaním, ktoré je stereotypné a rituálne. Pri autizme databáza reálneho počtu jedincov neexistuje. Z epidemiologických výskumov vyplýva, že na 10 000 obyvateľov pripadá osem ľudí s ťažkou formou autizmu. Detský autizmus je štyrikrát častejší u chlapcov ako u dievčat. Medzi možné príčiny autizmu patria genetické faktory, mozgové poškodenia, nedostatočné prepojenie mozgových centier, tzv. extrémne mužský typ mozgu, monotropistická hypotéza a iné. Po stránke etiologickej sa objavili aj informácie, že môže ísť aj o metabolické ochorenie spojené s nekompletným trávením a poruchou metabolizmu proteínov. Mnohí odborníci, či psychiatri, psychológovia, genetici, anatómovia, elektrofyziológovia, pediatri alebo biochemici sa snažia vysvetliť autizmus na základe vlastných pozorovaní a skúseností. Autizmus zostal naďalej „syndrómom“, ktorý je definovaný iba pozorovanými príznakmi. Ak tento syndróm existuje, musí existovať tiež racionálne vysvetlenie abnormálneho správania sa týchto pacientov v spojitosti s možnou metabolickou abnormalitou. Boli analyzované vzorky moču od viac ako 1000

pacientov s autizmom so zaujímavým zistením. Fragменты nekompletného trávenia (špecifické peptidy) prenikajú črevnou stenou do krvného obehu, poškodzujú centrálny nervový systém. Nadbytok nekompletno natrávených proteínov sa dostáva do moču. Zistilo sa, že vzniknuté peptidy sú chemicky podobné morfinu. Ide o tzv. endogénne opioidy (betaendorfiny). Nekompletným trávením lepku vzniká tzv. gluteomorfin, nekompletným trávením mlieka vzniká tzv. caseomorfin. Práve tieto peptidy sú pravdepodobne zodpovedné za poškodenie centrálného nervového systému u autistických pacientov. Klinický stav detí s autizmom sa dramaticky zlepšil po vylúčení gluténu a kazeínu z potravy tzv. GFCF (gluten free and casein free diet) diéta. Morfín účinkuje v centrálnom nervovom systéme tak, že sa viaže na tzv. opioidný receptor (mí receptor) s následným opioidným účinkom na CNS. Zo zjednodušeného prehľadu látok, ktoré majú opioidnú aktivitu v CNS vyplýva, že ide predovšetkým o prírodné alkaloidy z ópia (morfin, kodeín), polosyntetické deriváty morfinu a kodeínu, syntetické analógy morfinu, analgetické peptidy, endogénne morfiny (endorfiny) a ich deriváty. Koncom 90. rokov 20. storočia začali analyzovať a identifikovať tzv. gluteomorfin a kazeomorfin v moči od pacientov s klasickým detským autiz-

mom len tri pracoviská vo svete (Oslo, Sunderland, University of Florida).

V roku 2004 sme začali s podobnou analýzou aj na našom pracovisku, čím sme vyšli v ústrety našim pacientom. V spolupráci s fyziologickým ústavom L. F. Univerzity Komenského v Bratislave sme sa v roku 2007 zúčastnili celoslovenského projektu zameraného na zlepšenie starostlivosti

o deti s autizmom. Bolo vyšetrených viac ako 50 pacientov z celého Slovenska. Projekt bol zameraný na psychometrické, endokrinologické, genetické, metabolické, toxikologické a alergologické aspekty ochorenia. Projekt ešte nie je definitívne ukončený. Výsledky a poznatky hlavne z laboratórnej diagnostiky peptidov a diétnej liečby za roky 2004 až 2012 uvádzame v našej prezentácii.

NOVÉ DROGY V OBEHU

SCHMIDTOVÁ, K.¹, BOLF, A.², PLAČKOVÁ, S.³

¹SYNLAB Slovakia s.r.o, Bratislava

²Kriminalistický a expertízny ústav PZ, Bratislava

³Plačková Silvia, Národné toxikologické informačné centrum, Univerzitná nemocnica Bratislava

V rastlinných produktoch („Spice“), sa nedávno objavili syntetické kanabinoidy, čo prinieslo potrebu odovzdávania si informácií o chemickom zložení, distribúcii, užívaní a účinkoch týchto látok.

Zisťovali sa informácie o farmakologickej aktivite, potenciálnej toxicite a odporúčaní, týkajúcich sa nelegálnej manipulácie s týmito látkami.

Od roku 2004, sú bylinné zmesi nazvané „Spice“ dostupné v niekoľkých európskych krajinách ako je Nemecko, Švajčiarsko a Veľká Británia.

Prvá generácia „Spice“ bola deklarovaná ako bylinná zmes do kadidiel a produkty mali názvy ako Spice Silver, Spice Gold a pod. Obsahovali 0,5 – 3 g zeleno hnedého rastlinného materiálu v profesionálne dizajnovanom obalom. Boli deklarované ako prísady bez žiadnych syntetických aditív. Tieto látky však mali pri konzumácii produkovať „cannabis-like“ efekty a užívatelia mali uveriť, že tieto produkty obsahujú len kvalitne čistené prírodné látky.

V r. 2007 bola vo Švédsku identifikovaná nová psychoaktívna látka nazvaná JWH-018-kanabinoidný receptor. Jej štruktúra sa líši od delta⁹THC, ale vzniká podobný efekt s vyššou účinnosťou.

Výrobky sa predávali cez internet a so vzrastajúcou popularitou aj v Headshopoch – obchodoch, predávajúcich pomôcky pre fajčenie marihuany a tabaku.

V týchto zmesiach sa identifikovali syntetické kanabinoidy, označované ako CP-47, 497-C8, JWH – 073, JWH-018 a iné.

Na Slovensku sa situácia na drogovej scéne monitoruje prostredníctvom Národného monitorovacieho centra pre drogy NMCD), ktorý vznikol v r.1995 ako poradný, koordinačný a kontrolný orgán vlády SR na riešenie problematiky rastúceho zneužívania OPL.

Súčasná Národná stratégia boja proti drogám na obdobie 2009 – 2012 bola schválená vládou SR. Významným článkom NMCD je Systém včasného varovania – jeho pracovná skupina zložená z odborníkov z rôznych oblastí – Colného kriminalistického úradu, Útvary liekovej politiky, Úradu boja proti organizovanej kriminalite, Centra pre liečbu drogových závislostí a ďalších oblastí činností.

V prednáške sú prezentované najnovšie poznatky a riešenia protidrogovej problematiky na Slovensku.

X. ZJAZD
SLOVENSKEJ SPOLOČNOSTI
KLINICKEJ BIOCHÉMIE
S MEDZINÁRODNOU ÚČASŤOU
BANSKÁ BYSTRICA, 27.-29. MÁJA 2012

POSTERY

EOZINOPÉNIA – SKORÝ MARKER ZÁPALOVÝCH PROCESOV?

Dobišová, A.¹, Pecháň, I.², Koutun, J.¹, Yaghi, A.¹

¹I. Klinika anesteziológie a intenzívnej medicíny
LF UK a Univerzitná nemocnica Bratislava

²Oddelenie klinickej biochémie
Národný ústav srdcových a cievnych chorôb a. s., Bratislava

ÚVOD: Dôsledkom exogénneho i endogénneho poškodenia tkanív a orgánov je vznik lokálnej zápalovej reakcie, ktorá pri rozsiahlejšom inzulte neinfekčnej povahy ako je napr. trauma, ischemicko-reperfúzne poškodenie, sa môže v organizme viac alebo menej nekontrolovane šíriť a vyvolať celkovú reakciu, označovanú ako syndróm systémovej zápalovej odpovede (**SIRS** – **systemic inflammatory response syndrome**). Komplikované patogenetické mechanizmy tohto procesu zahrňujú celý rad mediátorov, tvorených na bunkovej a tkanivovej úrovni. Ďalšie narušenie rovnováhy už rozkolísanej cytokínovej siete sprievodným infekčným agens alteruje imunitný systém. Dochádza k „prestrelenej“ reakcii imunitného systému v zmysle buď nadprodukcie proinflamačných cytokínov a chemokínov, čo rezultuje v sepsu až ťažký septický šok. Ten je najčastejšou príčinou morbiditu a včasnej mortality u kriticky chorých pacientov na oddeleniach intenzívnej medicíny. Druhou extrémnou situáciou je prevaha antiinflamačných cytokínov systému **CARS** (**compensatory anti-inflammatory response syndrome**) s vývojom imunodeficiencie až imunoparalýzy ako príčiny neskoršej mortality. Je zrejme, že skoré spoznanie generalizácie zápalovej odpovede organizmu je mimoriadne dôležité, pretože dáva možnosť rýchlejšieho a cieleného terapeutického zásahu, a tým zábranie jej prechodu do ďalších štádií septického stavu.

CIELE PRÁCE: Cieľom práce bolo presvedčiť sa o tom, či pri neinfekčných traumách nedochádza k eozinopénii, zato však pri septických stavoch áno. Išlo nám o overenie, či za nedostatočných ekonomických podmienok zdravotníckeho zariadenia, by bolo možno považovať jeden z akútnych rutinných hematologických parametrov – absolútne počty eozinofilov a ich zmeny – za skorý marker nastupujúcej sepsy. Druhým cieľom našej práce bolo overiť si platnosť predpokladu, že narastajúce dichotomické správanie sa percentuálneho zastúpenia neutrofilov a lymfocytov v bielom krvnom obraze slúži ako charakteristický signál nastupujúceho septického stavu u pacienta skôr, než sa vyšetří finančne náročný marker – hladina prokalcitonínu.

METODIKA A SÚBORY PACIENTOV: Išlo o retrospektívnu štúdiu pacientov prijatých na I.Kliniku aneste-

ziológie a intenzívnej medicíny (KAIM) LF UK v rokoch 2009–2010. 21 pacientov sme rozdelili do dvoch skupín: *Skupina A* – 10 pacientov s polytraumatizmom (9 mužov a 1 žena), priemerný vek 38 (19–62) rokov, ktorí boli prijatí na KAIM bezprostredne po inzulte. *Skupina B* – 11 pacientov (7 mužov a 4 ženy), priemerný vek 56,7 (25–86) rokov. Išlo o chirurgických pacientov s abdominálnou sepsou až septickým šokom s multiorgánovým zlyhaním po akútnej chirurgickej intervencii. Klinický stav pacientov sme hodnotili podľa vstupného APACHE II skóre, hodnoteného po prvých 24 hod hospitalizácie a SOFA skóre sledovaného pri prijatí pacientov a nasledujúcich ďalších šesť dní. Z laboratórnych parametrov sme sledovali diferenciálny krvný obraz a zápalové markery – hladiny prokalcitonínu a C-reaktívneho proteínu v rovnakých sledovaných intervaloch.

VÝSLEDKY: Pri analýze APACHE II a SOFA skóre u pacientov sme zistili nasledovné skutočnosti: APACHE II skóre bolo signifikantne vyššie u pacientov so sepsou (trauma $23,3 \pm 5,3$; sepsa $36,4 \pm 9,8$), % mortality (trauma $26 \pm 14,8$; sepsa $86 \pm 12,1$). Rovnako SOFA skóre u pacientov so sepsou bolo už pri prijatí významne vyššie ako u traumatických pacientov predstavujúcich model SIRS (7,7 verus 12,3 b.), taktiež i na 6. deň sledovania, kde traumatickí pacienti dosiahli 4 b, u septických pacientov sa hodnoty SOFA skóre naďalej pohybovali v takmer nezmenených vysokých hodnotách (10,5 b) svedčiacich o multiorgánovej dysfunkcii. Najcennejším laboratórnym parametrom sa podľa očakávania ukázala hladina prokalcitonínu, ktorá odrážala signifikantne klinický stav. Bola významne zvýšená u septických pacientov už pri prijatí a ďalej stúpala na 1. deň (trauma 3,5; sepsa 38,4; $p < 0,01$) neskôr klesala a po týždni dosahovala takmer normálnych hodnôt. C-reaktívny proteín mal neskoršiu odozvu a jeho hladina sa výrazne neznižovala – na rozdiel od hladiny prokalcitonínu ani po zlepšení klinického stavu. Z hematologických parametrov sme zistili významné dichotomické správanie sa neutrofilov a lymfocytov, ktoré však svojim pohybom neodrážali klinický stav pacientov – neodznievali ani pri zlepšení klinického stavu pacientov so sepsou, nehýbali sa významnejšie ani u pacientov s polytraumou. Demonštrovali sme zmeny hladín eozinofilných leukocytov, ktoré sa po prechodnom poklese normalizovali už 2. deň sledovania u pacientov s traumou, kým u sepsy dosahovali v tomto období najnižšie hodnoty (Eozinofily v % - trauma 0,22; sepsa 0,02) ($p < 0,00004$), pričom ich návrat k fyziologickým hodnotám bol u septických stavov výrazne pomalší.

ZÁVER: Eozinopéniu možno považovať za parameter, ktorý by mohol byť pomocným kritériom pri rozhodovaní o nastupujúcej sepsu. Práca má pilotný charakter a vyžaduje ďalšie doplnenie sledovania na väčších súboroch pacientov.

VPLYV AKTIVITY MOZGOVÝCH LÉZIÍ NA LIKVIOROVÉ HLADINY DEGRADAČ- NÝCH PRODUKTOV PURÍNOVÝCH NUK- LEOTIDOV U PACIENTOV SO *SCLEROSIS* *MULTIPLEX*

Keményová, P.¹, Kuračka, E.²
Kalnovičová, T.¹, Turčáni, P.¹

¹1. neurologická klinika LF UK a UN Bratislava

²Ústav lekárskej chémie, biochémie a klinickej biochémie
LF UK Bratislava

Sclerosis multiplex (SM) je zápalovo-demyelinizačné neurologické ochorenie, pri ktorom dochádza k multiložiskovému poškodeniu mozgu a miechy. V skorých štádiách rozvoja lézií dochádza k poruche hematoencefalickej bariéry a k invázii hematogénnych monocytov a T-buniek do tkaniva mozgu, kde participujú v zápalovo-demyelinizačných reakciách asociovaných s tvorbou voľných radikálov, lipoperoxidáciou, spotrebou intracelulárnych antioxidantov a depléciou intracelulárnych energetických zásob v dôsledku inhibície mitochondriálneho elektrónového transportného reťazca. V predchádzajúcich štúdiách sme zistili, že pacienti so *sclerosis multiplex* sa už v skorých

štádiách ochorenia vyznačujú poruchami v metabolizme purínových nukleotidov, zníženou antioxidačnou a neuroprotektívnou ochranou. V tejto súvislosti nás zaujímalo, k akým alteráciám dochádza v metabolizme purínových nukleotidov u pacientov so *sclerosis multiplex* s aktívnymi (AL) a neaktívnymi (NAL) léziami v obraze magnetickej rezonancie a ako sa tieto zmeny odrazia v likvorových hladinách ich metabolitov adenosínu, inozínu, hypoxantínu, xantínu a kyseliny močovej.

PACIENTI A METÓDY: Vyšetovaný súbor pozostával z 26 pacientov. 13 pacientov malo klinicky a laboratórne potvrdenú diagnózu SM s priemerným vekom 38,4±9,2 rokov. Všetci SM pacienti mali pozitívny nález na prítomnosť oligoklonálnych pásov IgG v cerebrospinálnom likvore. Kontrolnú skupinu tvorilo 13 neurologických pacientov s priemerným vekom 36,0±13 rokov s diagnózou G43–G44, ktorí mali základné likvorologické parametre (celkové bielkoviny, albumín, chloridy, glukóza, elementy, IgG index) v rámci fyziologických hodnôt, bez závažných celkových ochorení.

Likvorové hladiny degradačných produktov purínových nukleotidov, kyseliny močovej (KM), hypoxantínu (HYP), xantínu (XAN), inozínu (INO), a adenosínu (ADO) sme stanovili pomocou metódy HPLC s UV detekciou pri vlnovej dĺžke 254 nm.

Výsledky sme hodnotili pomocou štandardných štatistických postupov (Kolmogorov-Smirnov test).

Tab. 1. Hladiny degradačných produktov purínových nukleotidov v cerebrospinálnom likvore u pacientov so *sclerosis multiplex* (SM) s aktívnymi (AL) a neaktívnymi léziami (NAL) v obraze magnetickej rezonancie (¹p – voči kontrole, ²p – medzi AL a NAL)

	Kontrola	SM	SM-AL	SM-NAL
Adenosín (ADO)	0,48±0,24	0,23±0,18 ¹ p=0,01	0,13±0,03	0,30±0,2 ² p=0,06
Inozín (INO)	1,16±0,53	1,2±0,28 ¹ NS	1,13±0,26	1,28±0,28 ² NS
Hypoxantín (HYP)	2,69±0,7	2,86±0,62 ¹ NS	3,29±0,58	2,76±0,82 ² NS
Xantín (XAN)	1,64±0,56	2,62±0,99 ¹ p=0,009	2,36±0,30	2,79±1,25 ² p=0,01
Kyselina močová (KM)	18,9±5,2	23,1±12,6 ¹ NS	15,2±3,7	28,8±13,5 ² p=0,05
KM/XAN	11,32±3,74	8,45±2,38 ¹ p=0,03	6,42±1,26	10,64±1,78 ² p=0,004
XAN/HYP	0,61±0,11	0,93±0,47 ¹ p=0,048	0,73±0,15	1,09±0,55 ² NS
HYP/INO	2,37±0,66	2,45±0,61 ¹ NS	2,93±0,25	2,18±0,58 ² p=0,02
INO/ADO	3,65±2,0	6,93±3,78 ¹ p=0,016	6,49±2,95	7,04±4,32 ² NS

VÝSLEDKY A DISKUSIA: V porovnaní s kontrolnou skupinou sme u pacientov s SM zistili štatisticky signifikantné zvýšenie likvorových hladín xantínu a signifikantné zníženie hladín adenosínu. Štatisticky významné zmeny v metabolickom obrate adenosínu na inozín (INO/ADO), hypoxantínu na xantín (HYP/XAN) a xantínu na kyselinu močovú (KM) (Tab. 1) poukazujú na zvýšenú degradáciu purínových nukleotidov, čo je pravdepodobne iniciované poklesom produkcie ATP v dôsledku patologických dejov prebiehajúcich pri SM, ako je zápal, voľnoradikálové reakcie, znížená antioxidačná kapacita, dysfunkcia mitochondrií a pod. Vychádzajúc z predpokladu, že oxidačný a nitračný stres je najvýraznejší v aktívnych léziách sme pacientov so sclerosis multiplex rozdelili na skupinu s aktívnymi (AL) a neaktívnymi mozgovými léziami v obraze magnetickej rezonancie a porovnávali ich metabolizmus purínových nukleotidov. U pacientov s aktívnymi mozgovými léziami sme v porovnaní s neaktívnymi (Tab. 1) zaznamenali zvýšenú premenu inozínu na hypoxantín a znížené likvorové hodnoty adenosínu a kyseliny močovej, látok, ktoré obe majú neuroprotektívne vlastnosti.

Výsledky poukazujú, že pri hodnotení likvorových hladín degradačných produktov purínových metabolitov treba brať do úvahy alterácie v metabolizme adenínových nukleotidov medzi SM pacientmi s aktívnymi a neaktívnymi mozgovými léziami. Zvýšené odbúravanie adenínových nukleotidov v aktívnych léziách mozgu a pokles kyseliny močovej spôsobený pravdepodobne jej spotrebou v antioxidačnej ochrane mozgového tkaniva v oblasti zápalu je významné v súvislosti s experimentálnymi štúdiami, pri ktorých sa zistil terapeutický efekt kyseliny močovej, resp. inozínu cez inaktiváciu toxického peroxynitritu a látok produkovaných monocytmi, ktoré prispievali ku tkanivovej patológii CNS.

ANALÝZA MARKEROV OXIDAČNÉHO A NITRAČNÉHO STRESU U PACIENTOV SO SCLEROSIS MULTIPLEX

Lukáč, Š.¹, Muchová, J.¹, Kalnovičová, T.²

¹Ústav lekárskej chémie, biochémie a klinickej biochémie,
Lekárska fakulta Univerzity Komenského, Bratislava

²1. neurologická klinika, Lekárska fakulta
Univerzity Komenského a Univerzitná nemocnica, Bratislava

Skleróza multiplex (SM) predstavuje progresívne zápalové, demyelinizačné, autoimunitné ochorenie centrálného nervového systému. Príčiny vzniku SM nie sú známe, najnovšie poznatky však naznačujú, že oxidačný stres (OS) hrá významnú úlohu v rozvoji tohto ochorenia. Cieľom našej práce bolo detegovať celkový antioxidačný stav krvnej plazmy u pacientov so SM a analyzovať markery oxidačného poškodenia lipidov a proteínov, nitračného poškodenia proteínov, ich vzájomné korelácie, ako aj ich vzťah k stavu hematolikorovej bariéry (HLB). Sledovali sme aj hladinu kyseliny močovej (KM) ako prirodzeného antioxidantu krvnej plazmy, ktorej koncentrácia v plazme SM-pacientov je v súčasnosti často diskutovaná.

Analyzovaných bolo 58 vzoriek krvnej plazmy od pacientov s diagnózou SM podľa McDonaldových pravidiel a potvrdenou prítomnosťou oligoklonálnych pásov v likvore. U každého z nich bol vypočítaný QA-index charakterizujúci stav hematolikorovej bariéry. Kontrolnú skupinu tvorili zdraví jedinci v identickej vekovej kategórii. Analyzované parametre a metódy využité na ich stanovenie sú v tab. 1. Sumár výsledkov prezentuje tab. 2.

V súlade s inými štúdiami sme u SM pacientov zistili zníženú antioxidačnú kapacitu plazmy a zvýšené hladiny lipoperoxidov, o ktorých význame pri diagnostike *sclerosis multiplex* sa v súčasnosti uvažuje. Pozitívny korelačný vzťah medzi lipoperoxidáciou a stavom hematolikorovej bariéry poukazuje na úlohu oxidačného poškodenia lipidov pri znižovaní jej funkčnosti. U SM pacientov sme zaznamenali aj signifikantné zvýšenie ďalšieho markera OS, karbonylov proteínov, ktorý vykazoval štatisticky významnú negatívnu koreláciu s kyselinou močovou. Môžeme uvažovať o poškodení proteínov plazmy, poškodení integrálnych proteínov bunkových membrán, myelinu alebo o zvýšenom poškodení plazmových lipoproteínov. 3-nitrotyrozín sa považuje za indikátor zvýšenej tvorby peroxynitritu. V súhlase s literárnymi údajmi sme v našom súbore SM pacientov zaznamenali signifikantne zvýšené plazmové hladiny 3-nitrotyrozínu, ktoré môžu odzrkadľovať výrazné poškodzovanie neurónov v CNS a rozvoj SM vplyvom hyperaktivity makrofágov. Antioxidačné účinky kyseliny močovej a jej účasť na vychytávaní voľných radikálov plazmy potvrdzuje aj jej signifikantný korelačný vzťah s TAS. Na jednej strane negatívna korelácia KM

Tab. 1. Metódy stanovenia sledovaných parametrov

Parameter	Celkový antioxidačný stav (TAS)	Lipoperoxidácia	3-nitrotyrozín	Karboony proteínov	Kyselina močová (KM)
Metóda	Podľa Re a kol. (1999)	Podľa el Saadani a kol. (1989)	ELISA (Hycult®)	ELISA podľa Buss a kol. (1997)	HPLC podľa Kuračka (2011)

Tab. 2. Priemerné hodnoty sledovaných parametrov oxidačného a nitračného stresu

PARAMETER	SM-PACIENTI	KONTROLA	P
Počet	58	43	
Vek [roky]	36,52 ± 10,56	39,22 ± 14,88	p > 0,1
TAS [mmol/l]	1,41 ± 0,47	1,91 ± 0,74	p < 0,001
Lipoperoxidy [nmol/ml]	79,17 ± 50,70	46,62 ± 27,36	p < 0,001
3-nitrotyrozín [nmol/l]	104,51 ± 38,43	21,57 ± 3,67	p < 0,001
Karboony proteínov [nmol/mg P]	0,44 ± 0,08	0,31 ± 0,01	p < 0,001
KM-Muži [μmol/l]	380,41 ± 86,57	320 ± 101,6	Fyziologická
KM-Ženy [μmol/l]	298,86 ± 56,11	240 ± 101,6	Fyziologická

a koncentrácie karboony proteínov, na strane druhej absencia korelácie medzi nitrotyrozínom a kyselinou močovou môže poukazovať na významnejšiu úlohu kyseliny močovej pri ochrane bielkovín pri OS ako pri nitračnom strese. V našej štúdii bola zaznamenaná fyziologická koncentrácia KM u oboch pohlaví.

Na základe týchto výsledkov, môžeme povedať, že oxidačný stres je dôležitým faktorom pôsobiacim v patogenéze *sclerosis multiplex*. Pôsobí na široké spektrum biologickej významných látok a môže indikovať zhoršovanie stavu hematolickvorovej bariéry, či progresiu ochorenia, preto je potrebné venovať pozornosť jeho redukcii v terapeutickom procese.

AUTOPROTILÁTKY U NEUROPSYCHIATRICKÉHO SLE

Stiborová, I.^{1,2}, Král, V.², Blažíčková, S.^{1,3}

¹Fakulta zdravotnictva a sociálnej práce, Trnavská Univerzita,
Trnava, SR

²Centrum imunologie a mikrobiologie
Zdravotní ústav se sídlem v Ústí nad Labem, Ústí n. L., ČR

³Laboratória Piešťany, Piešťany, SR

Systémový *lupus erythematoses* (SLE) je autoimunitní onemocnění, pro které je typický výskyt řady orgánových postižení. Je pro něj charakteristická přítomnost širokého spektra autoprotilátek. Řada z těchto autoprotilátek je významná pro diagnostiku SLE.

Jedním ze závažných klinických projevů SLE je postižení nervové soustavy označované jako neuropsychiatrický lupus (NPSLE). Postižena bývá jak centrální nervová soustava tak periferní nervy. Podobně jako v případě samotného SLE je i pro NPSLE charakteristická přítomnost řady autoprotilátek, které jsou v tomto případě namířeny proti strukturám buněk nervových tkání. Jen některé z nich jsou však významné klinicky nebo jako markery vhodné pro stanovení diagnózy či sledování průběhu onemocnění.

Příznaky neuropsychiatrického postižení u SLE se mohou objevit na počátku onemocnění nebo kdykoliv v jeho průběhu. Projevy NPSLE jsou pravděpodobně zprostředkovány vaskulopatií cév způsobenou protilátkami a autochtonně probíhajícím zánětem. Diagnostická kritéria pro NPSLE uvádějí, že s NPSLE jsou asociovány zejména antifosfolipidové protilátky (APLA) a protilátky proti ribozomálnímu proteinu P (ribo-P). Bylo prokázáno, že reaktivita APLA, charakteristická zejména pro antifosfolipidový syndrom, je u pacientů s NPSLE významně vyšší ve srovnání s pacienty s lupusem bez neuropsychiatrického postižení. Souvislost průkazu autoprotilátek proti antigenu ribo-P s neuropsychiatrickými projevy SLE je známa řadu let, dosud však chybí přesvědčivý důkaz o neuropatogenním působení anti-ribo-P protilátek.

U NPSLE stejně jako u jiných autoimunitních onemocnění dochází v poslední době k detekci nových typů autoprotilátek namířených proti buněčným strukturám cílových tkání. Jejich význam pro stanovení diagnózy a sledování průběhu onemocnění není často ještě přesně popsán. Řada z nich se v tomto směru jeví jako velmi přínosné. K nedávno popsaným autoprotilátkám významným pro NPSLE patří protilátky proti subjednotce NR2 glutamátového receptoru pro N-metyl-d-aspartát (NMDAR). Je popsána molekulární podobnost mezi dsDNA a oligopeptidem tvořícím extracelulární doménu subjednotky NR2 glutamátového receptoru. Proteomické analýzy pomáhají odhalit další antigenní terče asociované s neuropsychiatrickými projevy u SLE. Jedná se například o proteiny z rodin peroxiredoxinů nebo proteinů tepelného šoku.

U některých pacientů s NPSLE je možné prokázat protilátky reagující se strukturami optického nervu, mozečku příp. velkého mozku. Jako terčová struktura byl odhalen aquaporin 4 (AQP4), základní stavební jednotka H₂O kanálů v CNS. Přítomnost těchto autoprotilátek je specifická pro závažné demyelinizační onemocnění neuromyelitis optica (NMO, Devicův syndrom). Průkaz těchto protilátek u pacientů se SLE poukazuje na koincidenci dvou samostatných chorob – SLE a NMO.

Diagnostika neuropsychiatrického lupusu je dosud velmi komplikovaná z důvodu různorodosti klinických příznaků a jejich definice. Identifikace nových biomarkerů asociovaných s klinickými projevy NPSLE tak může pomoci porozumět etiologii a patogenezi onemocnění a v důsledku toho poskytovat významnou diagnostickou nebo prognostickou informaci.

Ivana Stiborová
Zdravotní ústav se sídlem v Ústí nad Labem
Centrum imunologie a mikrobiologie
Moskevská 15
400 02 Ústí nad Labem
Česká republika
ivana.stiborova@zuusti.cz

STANOVENÍ VOLNÝCH LEHKÝCH ŘETĚZCŮ V MOZKOMÍŠNÍM MOKU

Vinciková, A.¹, Stiborová, I.¹, Pohořská, J.¹
Mikešová, R.¹, Král, V.¹

¹Centrum imunologie a mikrobiologie
Zdravotní ústav se sídlem v Ústí n. L.

Kompartment CNS byl dlouho považován za imunologicky privilegovanou oblast, hlavně díky jeho anatomickému a funkčnímu oddělení systémem krevně mozkových bariér. K rozvoji imunitní reakce ale může dojít i v této oblasti. Přítomnost zvýšených hladin volných lehkých řetězců v mozkomíšním moku při neporušené propustnosti systému krevně mozkových bariér poukazuje na rozvoj lokální imunitní reakce v kompartmentu CNS.

Přesný mechanismus rozvoje imunitní odpovědi v CNS není zatím známý. Dostupné jsou pouze experimentální údaje získané při pokusech na zvířecích modelech. Za fyziol. podmínek není CNS díky nepropustnosti hemato-likvorové bariéry dostupný pro Ag ani buňky imunitního systému a je uvnitř CNS je pouze minimum lymfocytů. Předpokládá se, že stejně jako v systému hlavní úlohu v při rozvoji imunitní odpovědi hrají cytokiny. Při zánětu dochází k expresi adhezivních molekul na endotelu mozkových cév a tím k usměrňování vstupu bu. imunitního systému do a z CNS. Díky expresi adhezivních molekul dochází také k rozvolnění pevných spojů, čímž se hematoencefalická bariéra stává prostupnější. Přes ní mohou pravděpodobně prostoupit aktivované T lymfocyty. Nedojde li k

rozpoznání specifického antigenu, dochází k jejich apoptóze. Pokud je ale dojde k rozpoznání specifického Ag dojde k rozvoji imunitní rce. Buňky imunitního systému, především pak leukocyty a Tly mohou také do CNS vstoupit přes porušenou bariéru při systémovém zánětu.

Volné lehké řetězce (VLŘ) jsou produkovány plasmatickými buňkami při vzniku kompletní imunoglobulinové molekuly. Oproti těžkým řetězcům jsou produkovány v cca 40% nadbytku. VLŘ přecházejí snadno přes glomerulární membránu a jsou metabolizovány v proximálních tubulech nefronů. VLŘ kappa se vyskytuje ve formě monomera, VLŘ lambda se ve formě dimeru. Díky renální clearence je poločas rozpadu VLŘ v řádu několika hodin.

Naproti tomu v CNS tyto proteiny chovají stejně jako ostatní proteiny. V mozkomíšním moku můžeme nalézt zvýšené hladiny VLŘ buď díky přestupu z krve přes porušenou BCB a BBB nebo díky při intratekální syntéze imunoglobulinů přímo v CNS jako reakci na Ag podnět.

Na našem pracovišti využíváme stanovení VLŘ v CSF hlavně v diagnostice RS, kdy je známá vysoká korelace s průkazem oligoklonální syntézou IgG. Stanovujeme VLŘ kappa, které je pro RS senzitivnější a specifitější než stanovení VLŘ lambda, hlavně díky analytickým problémům spojeným disociací dimerního VLŘ lambda. Dále vyšetřujeme VLŘ kappa v CSF jako pomocný marker při dg. neuroinfekcí, kdy se zvyšuje při intratekální produkci sp. protilátek.

VLŘ kappa v séru i v CSF stanovujeme nefelometricky za použití protilátky proti vnitřním epitopům lehkých řetězců, které jsou v kompletní molekule imunoglobulinu nedostupné. Kasuistika 1 ukazuje na využití VLŘ kappa v CSF v diagnostice RS, kasuistika 2 nárůst hodnot při neuroinfekcích.

VYUŽITIE REAL-TIME PCR PRI URČOVANÍ CHIMÉRIZMU PO ALOGÉNNEJ TRANS- PLANTÁCII KRVOTVORNÝCH BUNIEK

Hanušovská, E.

Medirex, a. s., Bratislava

ÚVOD: S rozvojom medicínskeho poznania úzko súvisí aj pokrok v transplantáčnom programe. Transplantácia krvotvorných buniek (TKB) je zatiaľ jedinou kurabilnou liečebnou metódou hemato-onkologických ochorení, napriek vysokokvalitnej cieľovej liečbe dostupnej pre našich pacientov. Pri alogénnej TKB je pre kliniku dôležité poznanie čiastočného, alebo totálneho chimérizmu darca/pacient –prijemca (donor/recipient). Metódy klasickej cytogenetiky a FISH nie sú dostatočne citlivé a sú navyše závislé na rozdielnosti pohlaví darcu a pacienta, pretože sú založené na vyhodnotení percentuálneho zastúpenia krvných buniek s XX a XY chromozómov po alo TKB. Na stanovenie stupňa chimérizmu po alo TKB na molekulovej úrovni sa využívajú DNA markery STR, VNTR (s citlivosťou 1-5%) a NPs (s citlivosťou pod 1%). Metódou Real-time PCR sa dajú detekovať desiatky NPs (bialelické nukleotidové polymorfizmy), ktoré sú pre donora a recipienta špecifické, a ktoré v prípade informativity môžu slúžiť ako DNA markery chimérizmu po alo TKB.

CIEĽ: Vypracovať metodiku DNA diagnostiky s vysokou senzitivitou a špecificitou použiteľnú v laboratórnej medicíne v postrtransplantačnej fáze, ktorá je nezávislá od pohlavia darcu a prijemcu krvotvorných buniek.

MATERIÁL A METÓDY: DNA sme izolovali z leukocytov (WBC) periférnej krvi darcov, pacientov pred a po alo TKB (n=450) odobratej do skúmaviek s EDTA a stabilizovanej roztokom RNA-later (Applied Biosystems, AB). Izolácia DNA sme: NucleoSpin Blood, Macherey-Nagel. Meranie koncentrácie DNA: NanoPhotometer, Implen. Špecifické primery: SigmaGenosys. PCR Master mix: Power SYBR Green (AB). Automatické pipety: Gilson. Špičky s filtrom: Greiner Bio-one. 96-jamkové platničky: (AB). Chladené bločky „Cooler“: Eppendorf. Centrifúga: Microfuge 22R, Beckman Coulter. Proces amplifikácie a vyhodnocovania: 7300 Real time PCR System (Applied Biosystems). K teplotnému profilu amplifikácie bol pridaný stupeň disociácie kvôli získaniu T_m .

VÝSLEDKY: Od zavedenia metódy na našom pracovisku v roku 2007 bolo vyšetrených pred plánovanou alogénnou transplantáciou krvotvorných buniek (alo TKB) 102 dvojíc donor/recipient na 12 DNA markerov (11 bialelických nukleotidových polymorfnych markerov na rôznych chromozómoch a 1 monoalelický marker na Y chromozóme). Skríňovaním vzoriek DNA darcu a pacienta metódou Real time PCR s použitím sady primerov pre alelu A a sady primerov pre alelu B 12 tých markerov (jeden pár pri Y chromozóme a 1 pár pri GAPDH géne endogénnej

kontroly) sme vyhľadávali informatívne DNA markery (označené napr. 3A, 5A, 7B), ktoré sme ďalej využívali na kvantifikáciu a tým na stanovenie chimérizmu pacienta po alo TKB. Počet informatívnych markerov súvisí s typom alo TKB, či sa jedná o súrodeneckú, alebo nepríbuzenskú transplantáciu realizovanú z medzinárodného registra darcov krvotvorných buniek. Iba v 2 prípadoch sme nenašli vhodný informatívny DNA marker. Vo väčšine prípadov sme našli 2-3 informatívne autológne markery (najviac 6), pomocou ktorých sme paralelne merali relatívnu kvantifikáciu DNA, ktorá pochádzala z pôvodnej krvotvorby pacienta (z leukocytov, WBC). Alogénne DNA markery darcu nekvantifikujeme, pretože metodika relatívnej kvantifikácie Real time PCR nie je nastavená na hodnoty kvantifikácie nad 50% a už 15, či 30 dní po alo TKB dosahuje donorská krvotvorba v recipientovi hodnoty nad 90%. Naopak autológne DNA markery pôvodnej krvotvorby pacienta sú utlmené pod 10%, kde začína mať táto metóda svoje výhody citlivosti a pokračuje až k hodnotám 0,0001%. Vysoká citlivosť metódy je daná originálnym prístupom DNA kvantifikácie PCR metódy a môže nahradiť počítanie pohlavných chromozómov na cytogenetických preparátoch. Okrem toho je nezávislá na pohlaví darcu a prijemcu TKB. Na vyhodnocovanie amplifikačných kriviek Real time PCR metódy sme využili program Study (AB), ktorý je pôvodne určený na relatívnu kvantifikáciu expresie génov. Ako kalibrátor sa používa vždy vzorka amplifikácie pacienta pred alo TKB. Pri každom meraní je nutné kvantifikovať aj endogénnu kontrolu relatívne stabilnej expresie génu GAPDH, ktorý sa rovnomerne nachádza aj v donorských aj patientskych leukocytoch, a ku ktorému sa príslušná kvantifikácia DNA markera vzťahuje. Merania sa zvyčajne uskutočňujú z leukocytov periférnej krvi 30 dní, 100 dní, 6 mesiacov, 1 rok a následne každý rok po úspešnej alo TKB. Program Study (AB) nám umožňuje postupné pridávanie dát z jednotlivých meraní relatívnej kvantifikácie v prístroji Real time PCR, vytvára adekvátne grafy a poskytuje hodnoty percentuálneho zastúpenia autológných DNA markerov v krvi pacienta po alo TKB.

ZÁVER: Do klinickej praxe sa nám podarilo zaviesť originálnu metódu DNA diagnostiky stanovenia chimérizmu po alogénnej transplantácii krvotvorných buniek nezávislú od pohlavia darcu a prijemcu založenú na relatívnej kvantifikácii (percentuálnom zastúpení) jedinečných DNA markerov bialelického polymorfizmu metódou Real time PCR. Vzhľadom na vysokú citlivosť metódy, dostáva klinik okrem výsledkov iných vyšetrení skorú informáciu o prihojení, či odvrhnutí darcovského štepu, prípadne prichádzajúcom relapse. Metodika je zapojená do Národného programu skúšania spôsobilosti pre oblasť kvantitatívneho vyšetrenia chimérizmu po alogénnej transplantácii krvotvorných buniek koordinovaného Ústavom hematológie a krvnej transfúzie Národným referenčným laboratóriom pre DNA diagnostiku v Prahe, ČR. Spomínané referenčné laboratórium nám udelilo v uplynulých 3 rokoch už 3 certifikáty za úspešné absolvovanie medzilaboratórnych porovnávacích skúšok a tento rok sme opäť vyzvaní na nájdenie informatívnych DNA markerov a ich následnú kvantifikáciu v neznámych vzorkách.

HE4 A CA 125 AKO PREDIKTÍVNE MARKERY OVARIÁLNEJ MALIGNITY

Kollárová, E., Janoková, E., Drozda, D.

Oddelenie klinickej biochémie
Nemocnica Košice-Šaca a.s., Košice

ÚVOD: V súčasnosti je najpoužívanejším markerom pre nádory vaječníkov CA 125. Ale pre jeho nízku senzitivitu v I. štádiu ochorenia, orgánovú nešpecificitu a častú pozitivitu pri benígnych ochoreniach vo svete stále pretrvávajú snahy o nájdenie lepšieho markera. HE4 (Human epididymis protein 4) je sľubným nástrojom včasnej detekcie epiteliálneho ovariálneho karcinómu (EOC) s potenciálom odlíšiť ženy s EOC od žien zdravých alebo s benígnym ochorením. S cieľom zdokonaľiť diagnostiku u pacientiek s tkanivovou hyperpláziou v oblasti vaječníkov bol vyvinutý algoritmus pre odhad rizika zhubného ochorenia vaječníkov ROMA (R. Moore 2009), ktorý využíva kombináciu metód HE4 a CA 125 a berie do úvahy aj menopauzálny stav pacientky. Využíva sa k určeniu rizika výskytu EOC u pacientiek, ktoré sa majú podrobiť chirurgickému zákroku.

CIEĽ: Porovnanie nádorových markerov HE4, CA 125 a indexu ROMA u pacientiek s podozrením na EOC.

METÓDY: Sledovaný súbor tvorilo 118 pacientiek gynecologického oddelenia našej nemocnice s nálezom adnexálnej masy, u ktorých sme na OKB vyšetřili hladiny HE4 a CA 125 a následne vypočítali index ROMA. Išlo o pacientky vo veku od 17 do 84 rokov, z ktorých väčšina bola pred menopauzou. Všetky boli vyšetřené v období od októbra 2010 do marca 2012.

Parametre HE4 a CA 125 sme stanovovali na imunochemickom analyzátoře Architect i 2000SR setmi firmy Abbott Diagnostics. Pri výpočte indexu ROMA sme použili vzorce odporúčané v príbalovom letáku k testu Architect HE4, ktoré sme implementovali do LIS-u.

VÝSLEDKY: Súbor premenopauzálnych žien pozostával z 83 pacientiek. Z nich 81 (97.59 %) malo benígny nález (cysta, cystadenóm, endometrióza, fibróm). Iba u 2 pacientiek (2.41 %) bola potvrdená ovariálna malignita.

Vypočítali sme priemerné namerané hodnoty parametrov HE4, CA 125 a indexu ROMA v súbore premenopauzálnych žien zvlášť pre benígne a malígne nádorové ochorenia. Tieto výsledky sú uvedené v tabuľke 1. Najlepšiu špecificitu vykazoval parameter HE4 (95.06 %). Najmenej špecifický bol marker CA 125 (67.90 %). Index ROMA mal špecificitu 82.72 %.

Súbor postmenopauzálnych žien tvorilo 35 pacientiek. U 32 z nich (91.43 %) išlo o benígny tumor, v 3 prípadoch (8.57 %) bol potvrdený karcinóm ovária. Priemerné namerané hodnoty sledovaných parametrov sú uvedené v tabuľke 2. V tejto skupine dosahovala špecificita HE4 až 100%. Najmenšiu špecificitu vykazoval parameter CA 125 (81.25 %). Špecificita indexu ROMA bola 87.50 %.

Celková špecificita pre celý súbor pacientiek predstavovala pre HE4 96.46 %, pre CA 125 to bolo 71.68 % a pre index ROMA 84.07 %.

Korelačný koeficient medzi HE4 a CA 125 bol 0.674.

ZÁVER: Práca potvrdila predpokladaný klinický prínos vyšetřenia HE4 pri odlíšení benígnych ovariálnych nádorov od EOC. HE4 je špecifickejšim parametrom oproti CA 125. U premenopauzálnych žien je zvýšenie CA 125 často benígneho pôvodu (cysty, endometrióza). Nízka korelácia medzi HE4 a CA 125 indikuje, že tieto markery sa navzájom dopĺňajú a teda index ROMA, ktorý je kombináciou týchto testov, je vhodným prediktívnym nástrojom pre stanovenie rizika ovariálnej malignity u pacientiek s nálezom adnexálnej masy.

Tab. 1. Premenopauzálné ženy

parameter	benígny tumor (n = 81)		malígny tumor (n = 2)	
	priemer	rozsah	priemer	rozsah
HE4 (pmol/l)	36.99	20.2-95.4	118.55	38.9-98.2
CA 125 (U/ml)	48.76	3.6-769	744.60	16.2-1473
ROMA (%)	4.68	0.9-31.7	39.15	4.3-74.0

Tab. 2. Postmenopauzálné ženy

parameter	benígny tumor (n = 32)		malígny tumor (n = 3)	
	priemer	rozsah	priemer	rozsah
HE4 (pmol/l)	45.59	21.7-134.9	1294	1178-1500
CA 125 (U/ml)	21.22	6.4-92.4	2147	634-4808
ROMA (%)	12.73	4.2-44.9	99.07	98.6-99.6

STANOVENIE GLUTATIÓNU A ANTIOXIDAČNÉHO STATUSU U ONKOLOGICKÝCH PACIENTOV

Gaboňová, E.^{1,2}, Jurga, L.^{1,3}, Benedikovičová, A.¹

¹Fakulta zdravotníctva a sociálnej práce TU, Trnava

²Oddelenie Laboratórnej Medicíny

Všeobecná Nemocnica Žiar nad Hronom

³Klinika Onkológie, Fakultná Nemocnica Trnava

Glutatión je tripeptid g-glutamyl-cysteinyglycínu. Nachádza sa takmer vo všetkých eukaryotických bunkách vo forme voľnej molekuly alebo naviazaný na proteín. Voľný glutatión sa vyskytuje ako redukovaný (GSH) alebo oxidovaný (GSSG). GSH je životne dôležitým intra- a extracelulárny antioxidant, ktorý má kľúčovú úlohu v kontrole signalizačných procesov, detoxifikácii niektorých antibiotík, xenobiotík, ťažkých kovov a pri regulácii mnohých ďalších procesoch, ako intracelulárny redox status, syntéza DNA, proteínov, bunková proliferácia a apoptóza. Aj keď je prítomný v bunke v milimolárnych koncentráciách, má pri svojej nízkej hladine veľkú kapacitu a schopnosť brániť bunku pred poškodeniami spôsobenými reaktívnymi metabolitmi kyslíka a dusíka. Tieto zlúčeniny sú pre organizmus veľmi nebezpečné a podieľajú sa na patogenéze mnohých ochorení ako *diabetes mellitus*, ateroskleróza a nádorové ochorenia. Zvýšená hladina GSH sa zistila pri množstve nádorových ochorení v rôznych typoch tkaniva, napr. kostnej drene, prs, čreva, hrtanu a pľúc. Oxidačný stres predstavuje porušenie rovnováhy medzi produkciou a odstraňovaním reaktívnych foriem kyslíka. Jedným z ukazovateľov tejto rovnováhy je aj antioxidačná aktivita. Je definovaná ako schopnosť zlúčeniny (zmesi látok) inhibovať degradáciu rôznych zlúčenín. Na meranie celkovej antioxidačnej kapacity sa používa niekoľko metód, ktoré však nielenže poskytujú rozdielne výsledky, ale líšia sa i podielom jednotlivých zložiek plazmy na výsledku. Jednou z najrozšírenejších metód je „total antioxidant status“ – celkový antioxidačný status.

Cieľom nášho experimentu bola analýza vzoriek krvného séra u pacientov s diagnostikovaným nádorovým ochorením verzus zdravých jedincov ako kontrolná skupina. Zamerali sme sa na stanovenie celkového glutatiónu (GSH + GSSG) a celkového antioxidačného statusu.

Výsledky našej práce potvrdili rozdiely medzi analyzovanými skupinami, t.j. pacienti s nádorovým ochorením trpeli oproti kontrolnej skupine zvýšeným oxidačným stresom s výrazne nižšími hodnotami antioxidačnej aktivity.

POROVNANIE DVOCH METÓD STANOVENIA ADENOZÍNDEAMINÁZY V PLEURÁLNO M VÝPOTKU – PRVÉ SKÚ- SENOSTI A VÝSLEDKY

Vaverková, G.¹, Magula, D.¹, Tóthová, K.¹
Plutinský, Ján¹, Gažovičová, A.²

¹Špecializovaná nemocnica sv. Svorada Zobor n.o. Nitra,

²Národný ústav tuberkulózy, pľúcnych chorôb
a hrudníkovej chirurgie, Vyšné Hágy

Adenozindeamináza (ADA) je považovaná za jeden z kľúčových enzýmov metabolizmu purínov. Pre laboratórne stanovenie aktivity celkovej ADA bolo popísaných viacero postupov. Jeden z najrozšírenejších je založený na modifikácii Berthelotovej reakcie, využívaný na OKB Národného ústavu tuberkulózy, pľúcnych chorôb a hrudníkovej chirurgie vo *Vyšných Hágoch*. Na OKB v Špecializovanej nemocnici sv. Svorada Zobor, n.o. sme v rokoch 2011-2012 začali využívať diagnostickú súpravu Diazyme-Adenosine Deaminase Assay (Diazyme Laboratories, 2008), určenú pre automatizované stanovenie. Metodiku sme aplikovali na automatickom biochemickom analyzátoe (Biolis 24i Premium).

Obidvoma metódami bolo na oboch pracoviskách paralelne analyzovaných 147 vzoriek z materiálov pleurálneho punktátu.

Porovnávané paralelné merania preukázali vysokú tesnosť korelácie ($R^2 = 0,84$ pri korelovaní všetkých paralelne meraných hodnôt, resp. $R^2 = 0,89$ pri korelovaní patologických hodnôt) a vypovedajú o dobrej zhode medzi obidvoma metódami. Pri Berthelotovej metóde využívannej na OKB Vyšné Hágy je pre tuberkulózne výpotky zadaná cut-off hodnota vyššia ako 100,5 nkat/l. Vypočítaná cut-off hodnota pre automatizovanú metodiku Adenosine deaminase assay kit fy Diazyme použitej na OKB Zobor je 34,72 U/l.

Výhodou novozavedenej metódy v porovnaní s manuálnou metódou využívajúcou Berthelotovu reakciu je nielen automatizácia laboratórneho procesu, ale aj to, že odpaďá interferencia amoniaku, najmä pri kontaminovaných, resp. zakalených vzorkách punktátu.

KVANTITATÍVNE STANOVENIE HEMOGLOBÍNU V STOLICI

Uhrová, J., Vindiš, J.

Oddelenie klinickej biochémie, hematológie a mikrobiológie,
Fakultná nemocnica Trenčín

Stanovenie hemoglobínu (Hb) v stolici slúži k odhaleniu okultného krvácania do čreva. Najrozšírenejšou metódou jeho dôkazu je guajakový test, ktorý je však málo citlivý (detekčný cut-off je približne 5 mg Hb/g stolice) a je ovplyvniteľný diétou. V mnohých krajinách ho nahradili imunochemické testy, ktoré dokazujú hemoglobín pomocou monoklonálnej protilátky. Viaceré štúdie potvrdili vysokú senzitivitu (cca 100–500 ng Hb/ml) kvalitatívnych imunochemických testov, ale zároveň aj pokles špecificity.

Kvantitatívne stanovenie hemoglobínu v stolici je v súčasnosti najpresnejšou metódou dôkazu okultného krvácania. Vysoká citlivosť (cca 14 ng Hb/ml), nastaviteľný cut-off, korelácia s mierou krvácania prekanceróz a nádorov hrubého čreva, možnosť zaistenia kvality ho určujú stať sa metódou vhodnou pre screening kolorektálnych nádorov, ako aj metódou pre diagnostické účely.

Kľúčové slová: okultné krvácanie, stolica, kvantitatívne stanovenie hemoglobínu

INTEGRÁCIA A AUTOMATIZÁCIA V KLINICKOM LABORATÓRIU – BENEFIT PRE OŠETRUJÚCEHO LEKÁRA I PACIENTA

Hricová, J., Sečník, P., Sečníková, A.

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

ÚVOD: Termíny „Integrácia“ a „Automatizácia“ sa v problematike laboratórnej diagnostiky vyskytujú za posledné roky čoraz častejšie. Integrácia značí zjednotenie, spojenie, scelenie. Pod pojmom automatizácia rozumieme zavádzanie a používanie moderných procesov, kde človek kontroluje automatmi vykonávané operácie. Predkladaná práca podáva informáciu o integrácii technologických procesov a zavádzaní prvkov automatizácie na našom pracovisku. Sledujú sa dopady na kvalitu analytického procesu pracoviska samotného ale i benefit smerom k ošetrovateľmu lekárovi a pacientovi.

METODIKA: V období jún – november 2011 sme realizovali na našom pracovisku pomerne rozsiahle zmeny v technologickom vybavení, paralelne sledované zmenami v organizácii práce klinického laboratória. Celý proces zmien môžeme z hľadiska časového rozdeliť na dve etapy:

Jún – August 2011 – inštalácia dvoch integrovaných analytických systémov Siemens Dimension Vista® ako samostatne stojacich systémov. Na tieto systémy sme postupne presunuli 72 parametrov zo šiestich rôznych analyzátorov.

Október – November 2011 – zapojenie vyššie uvedených integrovaných systémov do analytickej linky Siemens StreamLab®

Všetky procesy, súvisiace s realizáciou uvedených činností sme uskutočnili za plnej prevádzky pracoviska, s minimalizáciou dopadov na spolupracujúcich ošetrovateľských lekárov, či pacientov.

Nevyhnutná bola dôkladná príprava a presné plánovanie jednotlivých krokov v čase, keďže sa jednalo o pomerne rozsiahly a rôznorodý repertoár aktivít, ktoré bolo potrebné vykonať a navzájom priebežne synchronizovať (stavebná príprava, doprava zariadení, základná inštalácia, technická inštalácia, dátové pripojenie, zadefinovanie vyšetrení, školenie personálu a ďalšie).

DISKUSIA: Analytické systémy Siemens Dimension Vista® sú moderné inteligentné zariadenia novej generácie. Integrujú v sebe štyri meracie technológie: fotometria, nefelometria, ISE a technológia „LOCI“ (Luminescent Oxygen Channeling Immunoassay). Vďaka integrácii uvedených technológií v jednom prístroji, analyzátor Dimension Vista® ponúkajú pomerne širokú paletu laboratórnych vyšetrení z oblasti „klasickej klinickej biochémie“, nefelometrie a imunochemie (viac ako 100 druhov vyšetrení „on board“).

V oblasti fotometrie, ISE a nefelometrie výrobca vychádza z rokmi overených systémov Dimension a BN (Behring Nephelometer).

Technológia LOCI predstavuje novinku v imunochemických metódach. Je to homogénna imuno-assay, vyznačujúca sa vyššou citlivosťou meraní, menším potrebným objemom vyšetrovanej vzorky a kratšími inkubačnými časmi v porovnaní s existujúcimi metódami.

V ďalšom uvádzame niektoré charakteristiky analyzátorov Dimension Vista®:

- alikvotovanie vzoriek na „boarde“ – z primárnej skúmavky systém odpipetuje alikvot do alikvotovacej doštičky. Primárnu skúmavku systém uvoľní pre iné analyzátory v laboratóriu max. do 15 min. V analyzátore je priestor pre 600 až 800 alikvotov, z ktorých sa vykonajú požadované vyšetrenia a ďalej sú tieto k dispozícii pre možné opakovanie, doordínovanie vyšetrení, či reflexné testovanie
- STAT vzorky – majú zvláštny vstup s vyššou prioritou spracovania
- automatizácia kalibrácii a kontrolných meraní – kalibrátory aj kontrolné materiály sú permanentne vložené v prístroji. Kalibrácie a kontrolné merania sa vykonávajú automaticky, sú časovo programované mimo hlavný analytický čas. Software ponúka inteligentnú správu nameraných dát
- testy dôležitých agregátov (pipetovacie ihly a pod.) prebiehajú automaticky mimo hlavný analytický čas
- jednotný systém reagenčných kaziet pre celú paletu vyšetrení – uzavretý systém, značenie kaziet 2D čiarovým kódom, inteligentný systém monitoringu stavu reagenčných kaziet v prístroji. K dispozícii je 144 pozícií pre reagenčné kazety a/alebo kalibrátory, či kontrolné materiály (viac ako 100 rôznych druhov vyšetrení). Je možné využiť aj 10 „otvorených kanálov“ pre programovanie vlastných metód
- analyzátor má integrovanú vlastnú úpravovňu vody
- monitoring systému – on screen priebežný monitoring poskytuje informáciu o aktuálnej kondícii systému. Vzdialený monitoring cez web je nespornou výhodou pre servisné stredisko (proaktívny servis).

Na našom pracovisku boli nainštalované dva analyzátory Dimension Vista® - v prvej etape ako samostatne stojace prístroje. V druhej etape boli tieto pripojené do automatizovanej linky StreamLab® spolu s imunochemickým analyzátorom Immulite 2000 XPI.

VÝSLEDKY: Pre porovnanie situácie pred a po zavedení integrovaného automatizovaného systému sme vykonali „work-flow“ analýzu a vyhodnotili časy merania i TAT pre jednotlivé skupiny analytov za IV. štvrťrok 2010 (pred) a IV. štvrťrok 2011 (po). Dáta prezentujeme vo forme grafických výstupov z nášho laboratórneho informačného systému „LabIS“.

Je možné konštatovať, že z hľadiska „work-flow“ došlo k zvýšeniu maximálneho hodinového analytického výkonu o 40 % a k skráteniu celkového analytického času pre celú sledovanú skupinu analytov o 31 %.

Ak hodnotíme TAT pre jednotlivé podskupiny analytov, zisťujeme skrátenie TAT o 10–85 % oproti stavu pred zavedením systému.

ZÁVER: Zavedenie integrovaného automatizovaného systému na našom pracovisku prinieslo okrem benefitov pre prevádzku pracoviska samotného i benefity pre spolupracujúcich ošetrovateľov i pacientov:

- zlepšenie dostupnosti výsledkov vyšetrení – lekár/pacient
- skrátenie času merania i TAT (o 10–85 %)
- zníženie objemov biologického materiálu, potrebných pre vykonanie požadovaných vyšetrení
- zachovanie/zvýšenie kvality meraní, použitím špičkových analytických technológií

Uvedené opatrenia v analytickej fáze sú súčasťou komplexného prístupu, (preanalytika – analytika – postanalytika), ktorý dlhoročne naše pracovisko vo svojom spádovom regióne uplatňuje.

POKROK V POCT V DFNSP BRATISLAVA

Syrová, D.¹, Behúlová, D.¹, Vasilenková, A.¹
Farkašová, L.¹, Brenner, M.²

¹Oddelenie laboratórnej medicíny

²Oddelenie urgentného príjmu

Detská fakultná nemocnica s poliklinikou, Bratislava

ÚVOD: Systém merania analýz v mieste poskytovania zdravotnej starostlivosti (POCT) bol v DFNSP Bratislava implementovaný so zámerom zabezpečiť okamžitú dostupnosť diagnostiky na vybraných oddeleniach. V roku 2001 boli inštalované prvé 2 POCT analyzátory krvných plynov, iónov a glukózy na Oddelení anesteziológie a intenzívnej medicíny a Operačných sálach Detského kardio-centra SR. V priebehu 11 rokov prešiel tento systém v nemocnici viacerými zmenami s cieľom optimalizovať jeho fungovanie a zvýšiť benefity pre pacientov. Cieľom práce bolo posúdiť prínos implementácie POCT na 3 pracoviskách poskytujúcich intenzívnu starostlivosť.

PACIENTI A METÓDY: Pacienti na JIS Oddelenia patologických novorodencov 1. detskej kliniky (OPN) a Detskej klinike anesteziológie a intenzívnej medicíny (DKAIM) sú od roku 2008 monitorovaní pomocou analyzátorov Stat Profile Critical Xpress (Nova Biomedical, USA). Meranými parametrami sú pH, pCO₂, pO₂, sO₂, Hct, Hb, Na⁺, K⁺, Cl⁻, iCa a glukóza. Kritériami pre výber analyzátorov boli: zhoda výsledkov s laboratórnymi, analýza z malého objemu krvi, krátka doba analýzy, jednoduchá obsluha a údržba, automatický QC modul, prenos dát do laboratórneho informačného systému, ako aj integrovaný software pre vzdialenú správu. Analyzátory sú pod supervíziou povereného pracovníka centrálného laborató-

ria Oddelenia laboratórnej medicíny (OLM) DFNSP. Supervízia zahŕňa každodennú kontrolu stavu analyzátora a reagensí, overenie výsledkov vnútorných kontrol a stavu dokumentácie. Software pre vzdialenú správu umožňuje supervízorovi náhľad do analyzátora cez monitor počítača v laboratóriu, prípadne riešenie niektorých problémov na diaľku z centrálného laboratória, pokiaľ nie je potrebná manuálna manipulácia. OLM je tiež zodpovedné za preškolenie a praktický zácvik všetkých osôb zúčastňujúcich sa POCT. V roku 2009 bol na Oddelení urgentného príjmu implementovaný POCT analyzátor na stanovenie CRP QuickRead 101 (Orion Diagnostica, Fínsko). Externé hodnotenie kvality pre POCT analyzátory je zabezpečené kontrolným cyklom SEKK (Česká republika).

VÝSLEDKY A DISKUSIA: V rokoch 2009–2011 sa na DKAIM a OPN vykonalo spolu 39 717 POCT vyšetrení, čo predstavuje 48,3 % všetkých vyšetrení krvných plynov a elektrolytov v DFNSP (Tabuľka 1). Pokles vyšetrení zaznamenaný na OPN je pravdepodobne spôsobený nižším počtom pacientov kvôli rekonštrukcii pracoviska.

Vyšetrenia CRP POCT v posledných 2 rokoch predstavujú 11,9 % všetkých vyšetrení CRP, po prepočítaní na ambulantných pacientov 25,4 % (Tabuľka 2).

Zavedením systému POCT sa takmer 50 % analýz krvných plynov a elektrolytov realizuje v DFNSP priamo na oddeleniach intenzívnej starostlivosti a až 25 % vyšetrení CRP u ambulantných pacientov sa realizuje mimo centrálného laboratória.

ZÁVER: POCT v DFNSP má významný prínos v akútnej starostlivosti o pediatrického pacienta, kde zabezpečuje okamžitú dostupnosť koncentrácie elektrolytov a krvných plynov z minimálneho objemu vzorky. Na oddelení urgentného príjmu CRP POCT prispieva k zrýchleniu diferenciálnej diagnostiky zápalových ochorení a tým aj k zvýšenej priepustnosti jednotlivých ambulancií.

Tab. 1. Počty analýz krvných plynov a iónov v rokoch 2009 – 2011

Rok	DKAIM	OPN	POCT spolu	OLM	Spolu
2009	7 315	7 053	14 368	15 966	30 334
2010	7 198	6 117	13 315	12 950	26 265
2011	7 436	4 598	12 034	13 533	25 567

Tab. 2. Počty analýz CRP v rokoch 2010 – 2011

Rok	CRP POCT	CRP OLM	CRP spolu
2010	5 202	41 787	46 989
2011	5 937	40 447	46 384

ABSOLÚTNA DELTA HSTNT 10 NG/L - EFEKTÍVNA DIAGNOSTIKA AKÚTNEHO INFARKTU MYOKARDU

Sečník, P. jr., Kica, O., Franeková, J., Jabor, A.

Pracoviště laboratorních metod
Institut klinické a experimentální medicíny, Praha

ÚVOD: Stanovenie koncentrácie kardiálnych troponínov je jedným zo základných vyšetrení u pacientov s akútnym koronárnym syndrómom. V poslednej dobe sú „konvenčné“ metódy vyšetovania stále častejšie nahradzované vysoko senzitivnými (hs) metódami, ktoré sú schopné merať v pásme fyziologických koncentrácií. Metódy hs stanovenia troponínov umožňujú skrátenie času do diagnózy akútneho infarktu myokardu (AIM). Dôležitá je však správna interpretácia výsledkov podľa modifikovaných diagnostických kritérií.

METODIKA: V spolupráci s Klinikou kardiológie IKEM sme realizovali krátku štúdiu s cieľom získať klinické skúsenosti so stanovením hs troponínu T (hsTnT). Hlavným kritériom bola schopnosť metódy diskriminovať pacientov s AIM. Použili sme diagnostické súpravy Abbott Architect STAT Troponin I, cut-off 0,03 µg/l a Roche Troponin T hs STAT, cut-off 0,0135 µg/l, t.j. 13,5 ng/l. Štúdia bola rozdelená na 2 fázy. Prvá fáza zahŕňala 102 pacientov akútnej kardiológie IKEM s negatívnym troponínom I pri prijatí. Pacientov sme rozdelili do 8 klinických skupín podľa výslednej diagnózy stanovenej ošetrovúcim lekárom (STEMI+NSTEMI, nestabilná AP, arytmia, dekompenzovaná hypertenzia, dušnosť kardiálneho pôvodu, dušnosť nekardiálneho pôvodu, iné ochorenie srdca v anamnéze, bez ochorenia srdca v anamnéze). Porovnali sme rôzne prístupy k interpretácii výsledkov hsTnT (koncentrácia pri prijíme pacienta – nad 13,5 ng/l, relatívna delta – nad 50 % a absolútna delta – **nad 10 ng/l koncentrácie v čase**). V druhej fáze sa jednalo o súbor 48 pacientov akútneho príjmu prichádzajúcich so symptómami akútneho koronárneho syndrómu. Porovnali sme stanovenie hsTnT (absolútna delta = absolútna hodnota rozdielu koncentrácie pri prijíme a do 6 hodín po prijatí) s „konvenčnou“ metódou pre troponín I (koncentrácia pri prijíme) z hľadiska schopnosti správne zaradiť pacienta s výslednou diagnózou AIM.

VÝSLEDKY: 1. fáza – vo všetkých 8 klinických skupinách sa hodnoty koncentrácie hsTnT pri prijíme pre 25.–75. percentil pohybujú medzi 5–50 ng/l. V každej skupine sa vyskytujú pacienti s hodnotami koncentrácie pri prijíme nad cut-off 13,5 ng/l.

U pacientov s infarktom myokardu (STEMI+NSTEMI) sú hodnoty absolútnej delty pre 25.–75. percentil v rozmedzí 100–1100 ng/l. Okrem skupiny s AIM sa hodnoty absolútnej delty nad cut-off 10 ng/l vyskytli u pacientov s dekompenzovanou hypertenziou (3 pacienti) a nekardiálnou dušnosťou (1 pacient). V ďalších 5 skupinách (nestabilná AP, arytmia, dušnosť kardiálneho pôvodu, iné ochorenie srdca v anamnéze, bez ochorenia srdca v anamnéze) bola hodnota absolútnej delty pre 75. percentil vždy pod cut-off 10 ng/l.

2. fáza – vysoko senzitivne stanovenie troponínu T pri použití kritéria absolútnej delty (cut-off 10 ng/l, odstup + 3 hodiny) vykazovalo 87 % špecificitu a 100 % senzitivitu pre infarkt myokardu. U „konvenčnej“ metódy pre troponín I hodnotenej podľa koncentrácie pri prijíme (cut-off 0,03 µg/l) bola špecificita 71 % a senzitivita 90 %.

Uvedené dáta sú porovnateľné s odbornou literatúrou [1, 2]. Obaja autori vyhodnotili kritérium absolútnej delty ako najvhodnejšie. Reichlin [1] doporučuje cut-off 7 ng/l s odstupom + 1 až + 2 hodiny, Mueller [2] cut-off 9,2 ng/l s časovým odstupom + 3 až + 6 hodín.

ZÁVERY: Vzostup koncentrácie kardiálnych troponínov stanovenej vysoko senzitivnými metódami je charakteristický prakticky pre všetky ochorenia myokardu a s tým súvisí nižšia špecificita pre infarkt myokardu a vyššie nároky na diferenciálnu diagnostiku. Hodnotenie výsledkov hsTnT v 1. odbere pri prijíme (cut-off 13,5 ng/l) neodlišuje pacientov s AIM od iného ochorenia srdca vrátane chronických.

Špecificitu stanovenia je možné výrazne zvýšiť zavedením hodnotenia **absolútnej delty**. Optimálne kritériá cut-off a časového odstupe druhého odberu pre infarkt myokardu sú v súčasnosti predmetom diskusie v odbornej literatúre [1,2]. Vyhodnotenie súboru 102 pacientov akútnej kardiológie IKEM ukázalo ako najvhodnejšie kritérium pre rule-out diagnostiku AIM cut off **10 ng/l** s časovým odstupom **+ 3 hodiny** od prijímu. V porovnaní s „konvenčnými“ metódami stanovenia kardiálnych troponínov patrí k výhodám hs stanovenia vyššia senzitivita a v prípade uplatnenia kritéria absolútnej delty i vyššia špecificita pre diagnostiku akútneho infarktu myokardu. Praktickým výstupom je skrátenie času do diagnózy a následnej liečby a nižší počet „poddiagnostikovaných“ pacientov.

LITERATÚRA

- [1] Reichlin *et al.*: Utility of absolute and relative changes in cardiac troponin concentrations in the early diagnosis of acute myocardial infarction. *Circulation*, 2011, i. 124, p. 136–145.
- [2] Mueller M. *et al.*: Absolute and relative kinetic changes of high-sensitivity cardiac troponin T in acute coronary syndrome and in patients with increased troponin in the absence of acute coronary syndrome. *Clin. Chem.*, 2012, i. 58, p. 158–161.

NOVORODENECKÝ SKRÍNING FENYLKETONÚRIE NA SLOVENSKU V ROKU 2011

Revfáková, A., Zahorcová, M., Vyvleková, B.
Dluholucký, S., Knapková, M.

Skriningové centrum novorodencov SR
Detská fakultná nemocnica s poliklinikou Banská Bystrica

ÚVOD: Skriningové centrum novorodencov SR pri Detskej fakultnej nemocnici s poliklinikou je centrálné laboratórium pre novorodenecký skrining kongenitálnej hypotyreózy, kongenitálnej adrenálnej hyperplázie, fenylketonúrie a cystickej fibrózy. Fenylketonúria je jednou z najčastejších dedičných metabolických ochorení. Biochemickým prejavom tohto ochorenia je zvýšená koncentrácia fenylalanínu v krvi. Pre monitorovanie pacientov s hyperfenylalaninémiou sa využíva stanovenie fenylalanínu v suchej kvapke krvi, ktorá predstavuje kompromis medzi komfortom pacienta a požiadavkami lekára. V súčasnosti je na Slovensku monitorovaných 223 pacientov s HPA, ktoré napomáha k správne nastaveniu liečby.

METODIKA: Skrining FKU vyšetrujeme pomocou kvantitatívneho fluorometrického stanovenia koncentrácie fenylalanínu v suchej kvapke krvi kitom neo PKU od firmy Immunotech. Pre skrining FKU je stanovený cut-off limit 150 $\mu\text{mol/L}$. Hodnoty v rozmedzí 150–300 $\mu\text{mol/L}$ sú nahlasované ako šedá zóna, hodnoty nad 300 $\mu\text{mol/L}$ sú nahlasované ako horúci recall príslušným recall centrom v Banskej Bystrici, Košiciach a Bratislave.

ZÁVER: V roku 2011 bolo vyšetrených 55 140 novorodencov a zachytených 15 prípadov hyperfenylalaninémie. Incidencia je 1: 3 676 živorodených. Priemerná hodnota fenylalanínu u zachytených prípadov bola 650,38 $\mu\text{mol/L}$. Priemerný deň nahlásenia diagnózy do recall centier bol 8,8 dňa. Od r. 1995 bolo vyšetrených 927 524 novorodencov a zachytených 157 detí s fenylketonúriou. Incidencia ochorenia je 1: 5 908 živorodených.

VYŠETRENIE HLADINY NGAL V MOČI U PACIENTOV S CHRONICKÝM ZLYHÁVANÍM SRDCA

Ondrejkočová, K.¹, Demešová, E.²
Daňová, K.¹, Minárová, H.¹

¹Oddelenie laboratórnej medicíny
Národný ústav srdcových a cievnych chorôb, Bratislava

²Oddelenie zlyhávania a transplantácie srdca
Národný ústav srdcových a cievnych chorôb, Bratislava

NGAL je pomerne mladým členom rodiny lipokalínov, malých sekrečných proteínov. Zúčastňujú sa na prevažne transmembránovom transporte malých hydrofóbných molekúl ako sú steroidy, bilíny, retinoidy a lipidy. Pôvodne bol NGAL izolovaný zo špecifických granúl neutrofilov, neskôr ho našli v kostnej dreni a výstelkových tkanivách niektorých orgánov.

Expresia NGAL vo výstelkových orgánoch (obličky, pľúca, žalúdok, črevo) a telesných tekutinách stúpa pri zápalových a nádorových ochoreniach. NGAL je skorý marker akútneho poškodenia obličiek. Do moču je secerovaný bunkami hrubého ascendentného ramienka Henleho slučky, tvorí sa aj v cirkulujúcich krvných elementoch. V moči je prítomný pri ischemickom poškodení obličiek počas revaskularizácie koronárnych artérií, po operáciách na veľkých cievach, po transplantácii obličiek a pri nefrotoxickom poškodení kontrastnými látkami alebo aminoglykozidmi, diabetickej nefropatii.

Cieľom štúdie bolo opísať vzťah medzi hladinami NGAL v moči a kardiovaskulárnymi rizikovými faktormi (arteriálna hypertenzia, vek, obezita, *diabetes mellitus*, obličková choroba) u pacientov s chronickým srdcovým zlyhávaním a stanovenie hladín NGAL u kontrolnej skupiny zdravých jedincov.

NGAL v moči sme vyšetřili u 80 pacientov s chronickým srdcovým zlyhávaním (CHSZ) na podklade ľavej systolickej dysfunkcie ľavej komory (LK) (ejekčná frakcia LK: 24 ± 9%). Priemerný vek u pacientov bol 48 ± 12 rokov, priemerný vek u kontrolnej skupiny zdravých jedincov 32 ± 6 rokov. Hladiny NGAL v moči boli merané metódou ELISA firmy Bio Porto.

Existuje silná asociácia medzi NGAL a záťažou kardiovaskulárnym rizikom, pričom najvýraznejšie hodnoty NGAL ovplyvňuje prítomnosť diabetu.

D-HORMÓN V AMBULANTNEJ PRAXI

Schudichová, J.¹, Dobrota, D.^{1,2}
Zacharovská, A.³, Škereňová, M.¹, Jesenská, E.¹
Móricová, Z.¹, Haliénová, D.¹

¹Ústav klinickej biochémie, ÚNM, Martin

²Ústav lekárskej biochémie, JLF UK, Martin

³Klinika anesteziológie a intenzívnej medicíny, JLF UK, Martin

ÚVOD: Endogénnou produkciou vitamínu D v koži, jeho hydroxyláciou v pečeni a obličke, špecifickou géno-ovou transkripciou na VDR receptoroch zodpovedá kalcitriol **viac definícií hormónu než vitamínu.**

Liečba syntetickým alfa-kalcidolom - ALPHA D3 je preto **aktívnou hormonálnou liečbou.**

CIEĽ: K objektívne stanoveným biomarkerom saturácie D-hormónom u dospelých patria okrem iného aj laboratórne ukazovatele kostnej remodelácie a **vyšetrenie minerálnej kostnej denzity (BMD).**

Zámerom práce bolo **zistiť zmenu v denzitometrickom vyšetrení kostí** u žien s postmenopauzálnou osteopéniou, ktoré užívali ALPHA D3, v dávke 1 µg/deň v období 2 rokov.

Komplexnou analýzou vrátane laboratórnych výsledkov **poukázal na význam a potrebu liečby postmenopauzálny osteopénié** v prevencii ďalšieho možného rozvoja osteoporózy a vzniku non-vertebrálnych fraktúr.

SÚBOR A METODIKY: Súbor tvorilo 150 žien s postmenopauzálnou osteopéniou. Priemerný vek žien bol $47,2 \pm 10,1$ roka.

Základné biochemické vyšetrenia boli vykonané bežnými metódami rutinnej diagnostiky, denzitometrické, metódou DEXA (Hologic).

VÝSLEDKY: Zaznamenali sme signifikantný pokles T-skóre, t.j. vzostup kostnej denzity, po dvojročnej liečbe ALPHA D3 u žien s postmenopauzálnou osteopéniou.

ZÁVER: Alfa-kalcidol sa stal prvým analógom D-hormónu so schválenou indikáciou na liečbu osteoporózy už v 80-tych rokoch minulého storočia. V súčasnosti sú k dispozícii široké klinické skúsenosti a štúdie, ktoré poukazujú na jeho preferencie.

Svojou jedinečnou farmakokinetikou zabezpečuje postupné vstrebávanie, čo vylučuje vznik hyperkalcémie.

Vzostup BMD u žien, ktoré užívali ALPHA D3 **poukazuje aj na zlepšenie osteopénié, ako aj možné zvýšenie svalovej sily**, a tým zníženie rizika non-vertebrálnych zlomenín.

TERAPEUTICKÉ MONITOROVANIE IMUNOSUPRESÍV, VALIDÁCIA ANALYTICKÝCH VÝKONOVÝCH KRITÉRIÍ

Karaffová, N.¹, Jesenská, E.¹, Grantnerová, B.²
Odalos, I.¹, Pullmann, R.¹, Dobrota, D.¹

¹Ústav klinickej biochémie, Jesseniova lekárska fakulta Univerzity Komenského a Univerzitná nemocnica Martin

²Transplantačné centrum UNM Martin

ÚVOD: Podávanie imunosupresív vyžaduje trvalé monitorovanie ich koncentrácií, najmä aby sa zabránilo rejekcii transplantátu, jednak pre úzke terapeutické okno na minimalizáciu toxických reakcií. Tradičná TDM je nedostatočná pre imunosupresiu. Takáto individualizovaná supresia je založená na strategických prístupoch, ktoré sú založené na farmakokinetických, farmakodynamických a farmakogenomických postupoch. Existuje viacero monitorovacích stratégií, pričom rozhodujúcu úlohu má analytika a analytické výkonové charakteristiky použitých metód.

CIEĽ PRÁCE: Validovať výkonové charakteristiky použitých metód a porovnať s firemnými deklarovateľnými hodnotami v štyroch nami použitých imunosupresívach: Cyklosporin, Tacrolimus, Sirolimus, Kyselina mykofenolová (MPA). Porovnať získané hodnoty pacientov s odporúčanými terapeutickými hladinami.

METÓDY: Cyklosporin, Tacrolimus, Sirolimus. Stanovenie chemiluminiscenčnou imunoanalýzou na mikročasticách (CMIA - Chemiluminescent Microparticle Immunoassay) v plnej krvi na analyzátore ARCHITECT i 1000 firmy ABBOTT. MPA v plazme: EMIT metóda (Syva SIEMENS), analyzátor ADVIA 1200. Boli zhodnotené koncentrácie od transplantovaných pacientov za r. 2010-2011, (n = 4 162 hodnôt).

VÝSLEDKY: Pri porovnaní nameraných dosiahnutých koncentrácií s hodnotami konsenzu terapeutických hodnôt jednotlivých imunosupresív sa zistilo:

Cyklosporin C_0 (n = 301) - z nameraných 301 hodnôt 6,6 % patrilo pacientom v prvom mesiaci po transplantácii, pričom všetky boli v terapeutickom rozmedzí do 300 ng/ml. V období po štyroch mesiacoch pod terapeutickým rozmedzím (50 ng/ml) bolo 1,6 % hodnôt, nad terapeutickým rozmedzím (200 ng/ml) 7,0 % hodnôt.

Cyklosporin C_2 - hodnoty sa pohybovali v rozmedzí od 184 ng/ml do 1 500 ng/ml, vrátane pacientov bezprostredne po transplantácii.

Tacrolimus (n = 3221) pod 10 ng/ml 99,75 %, nad 20 ng/ml 0,25 %, - všetky v terapeutickom okne.

CYKLOSPORIN			
reprodukovateľnosť v dni			
n = 10	Hladina 1 (ng/ml)	Hladina 2 (ng/ml)	Pacient terapeutická hladina (ng/ml)
SD (ng/ml)	7,1	69,73	45,76
CV (%)	6,6	8,0	12,8
reprodukovateľnosť po dni			
SD(ng/ml)	11,57	80,78	31,81
CV (%)	10,2	8,9	9,2

Metóda Architect Cyklosporin bola deklarovaná firmou tak, aby presnosť bola $\leq 15\%$ celkového variačného koeficientu (CV).

TACROLIMUS			
reprodukovateľnosť v dni			
n=10	Hladina 1 (ng/ml)	Hladina 2 (ng/ml)	Pacient terapeutická hladina (ng/ml)
SD (ng/ml)	0,24	0,73	0,31
CV (%)	5,4	7,0	3,5
reprodukovateľnosť po dni			
SD (ng/ml)	0,29	0,67	0,4
CV (%)	6,1	3,7	4,7

Metóda Architect Tacrolimus bola deklarovaná firmou tak, aby presnosť bola $\leq 10\%$ celkového variačného koeficientu (CV).

Sirolimus (n=230) - pod 4 ng/ml 1,31 %, nad 15 ng/ml 0,07 % - všetky v terapeutickom okne.

Mykofenolová kyselina (n=410) - pod 1,0 $\mu\text{g/ml}$ 11 %;

SIROLIMUS			
reprodukovateľnosť v dni			
n=10	Hladina 1 (ng/ml)	Hladina 2 (ng/ml)	Pacient terapeutická hladina (ng/ml)
SD (ng/ml)	0,16	0,44	0,36
CV (%)	3,1	2,3	3,5
reprodukovateľnosť po dni			
SD (ng/ml)	0,35	0,94	0,63
CV (%)	6,6	5,0	6,8

Metóda Architect Sirolimus bola deklarovaná firmou tak, aby presnosť bola $\leq 10\%$ celkového variačného koeficientu (CV).

MPA			
reprodukovateľnosť v dni			
n = 10	Hladina 1 ($\mu\text{g/ml}$)	Hladina 2 ($\mu\text{g/ml}$)	Pacient terapeutická hladina ($\mu\text{g/ml}$)
SD ($\mu\text{g/ml}$)	0,35	0,94	0,63
CV (%)	6,6	5,0	6,8
reprodukovateľnosť po dni			
SD ($\mu\text{g/ml}$)	0,092	0,386	0,12
CV (%)	4,5	3,5	5,1

Metóda MPA-EMIT bola deklarovaná firmou tak, aby presnosť bola $\leq 10\%$ celkového variačného koeficientu (CV).

ZÁVER: Analytické výkonové kritéria všetkých sledovaných imunosupresív boli v súlade so všetkými deklarovanými hodnotami. Získané hodnoty koncentrácií u jednotlivých imunosupresív sú odrazom výbornej spolupráce medzi klinikom a laboratóriom.

KEDY PREDPOKLADAŤ PRI LAKTÁTOVEJ ACIDÓZE DEFICIT TIAMÍNU?

Ostrožlíková, M.¹, Behúlová, D.¹, Holešová
D.¹, Buzássyová, M.², Sejnová, D.³, Franková, E.⁴

¹Centrum dedičných metabolických porúch
Oddelenia laboratórnej medicíny

²Detská klinika anesteziológie a intenzívnej medicíny

³Klinika detskej hematológie a onkológie

⁴Oddelenie patologických novorodencov 1. detskej kliniky
Detská fakultná nemocnica s poliklinikou, Bratislava

ÚVOD: Primárna metabolická acidóza z hromadenia laktátu sa vyskytuje pri viacerých dedičných metabolických poruchách. Získaná laktátová acidóza má množstvo príčin: hypoxia, tkanivová hypoperfúzia, dysfunkcia pečene alebo obličiek, diabetes, sepsa, intoxikácie, malignity a deficit tiamínu. Tiamín, v aktívnej forme kofaktor pyruvátdehydrogenázového komplexu (PDHC), je kľúčovým kofaktorom glykolýzy a oxidatívnej dekarboxylácie glycidov v produkcii energie. Liečba tiamínom je účinná pri laktátových acidózach zapríčinených jeho deficitom a tiež pri niektorých dedičných deficitoch PDHC.

PACIENTI A METÓDY: V práci sme retrospektívne zhrnuli 5 prípadov ťažkých laktátových acidóz v dôsledku deficitu tiamínu. Epizódy boli zaznamenané v nemocnici za obdobie 10 rokov (1998–2008). Pri jednotlivých prípadoch ošetrojúci lekári konzultovali klinického biochemika a intenzivistu.

VÝSLEDKY: Ťažké laktátové acidózy zapríčinené deficitom tiamínu sa vyskytli vo všetkých vekových kategóriách (27 dní – 18 rokov) a u oboch pohlaví (4 dievčatá, 1 chlapec). Príčinami deficitu tiamínu bola totálna parenterálna výživa (TPN) bez suplementácie vitamínov B u prematúrneho novorodenca s nekrotizujúcou enterokolitídou a u dojčťa po opakovaných brušných operáciách pre gastroschízu, neplnohodnotná náhrada doporučenej sójovej výživovej formule u dojčťa, chronická malnutricia u pacientov s malignitami po ukončení chemoterapie pri nádore mozgu a po prerušení chemoterapie pri hematologickej malignite. Klinický obraz bol pestrý a nešpecifický, s dominujúcou symptomatológiou neurologickou, kardiologickou, gastrointestinálnou, u dvoch pacientov s rozvojom multiorgánovej dysfunkcie. Parametre vnútorného prostredia svedčili pre ťažkú metabolickú acidózu, refraktérnu na podanie bikarbonátu (pH 6,98–7,17; BE: 4,2–13,6 mmol/L; štandardný bikarbonát 5,6–14,6 mmol/L). Maximálne koncentrácie laktátu stanovené vo venóznej plazme boli 6,86–22,88 mmol/L. Signifikantný pokles alebo úprava laktátu sa prejavili už po niekoľkých hodinách (4–12) po iniciálnej intramuskulárnej dávke tiamínu. U všetkých päť pacientov si závažný klinický stav vyžiadala intenzívna starostlivosť.

ZÁVER: U detí v našich podmienkach boli príčinami deficitu tiamínu TPN bez jeho suplementácie, malnutričné stavy u pacientov s malignitami a neplnohodnotná výživa dojčťa. V diferenciálnej diagnostike ťažkých laktátových acidóz refraktérnych na bikarbonát je potrebné zvážiť aj deficit tiamínu.

RESPIRAČNÁ ALKALÓZA U PACIENTA S KARDIÁLNOU DEKOMPENZÁCIU (SPÔSOB HODNOTENIA ACIDOBÁZICKEJ ROVNOVÁHY A KAZUISTIKA)

Pelikán, S.¹, Albertyová, D.¹, Mazal, J.²

¹Oddelenie klinickej biochémie FNŠP F.D. Roosevelta

²Oddelenie pneumológie a ftizeológie FNŠP F.D. Roosevelta

V našom príspevku sa zaoberáme rôznymi prístupmi hodnotenia acidobázickej rovnováhy (ABR). Podnetom ku tejto prezentácii, bol zaujímavý prípad rozvratu vnútorného prostredia u pacienta s chronickým zlyhaním srdca a obojstranným zápalom pľúc. V celkovom hodnotení stavu pacienta sme vychádzali z klinickej symptomatológie a laboratórnych výsledkov. Pri posúdení laboratórnych výsledkov sme zistili kombinovanú poruchu acidobázickej rovnováhy, hyponatriémiu, hypoalbuminémiu, hypochlorémiu a hyp-osmolalitu. Pri hodnotení vzniknutých porúch ABR sme použili prístup podľa Astrupa a Stewarta a Fencla. Syntetickým postupom s využitím oboch koncepcií klasifikácie porúch ABR s dôrazom na novú koncepciu podľa Stewarta a Fencla sme u pacienta odhalili kombinovanú poruchu ABR. Súčasne sme analyzovali príčiny acidobázických porúch, faktory v liečbe, ktoré ich ovplyvňujú. Tieto boli potom zohľadnené pri ďalšom terapeutickom prístupe v prípade komplikovaného pacienta hospitalizovaného na pľúcnom oddelení FNŠP F.D. Roosevelta.

KOENZÝM Q10 U PROBANDOV S RÔZNYMI STRAVOVACÍMI NÁVYKMI

Pribojová, J., Kudláčková, M.
Mišlanová, Cs., Valachovičová, M.

Slovenská zdravotnícka univerzita, Bratislava

Rôzne formy ubichinónov nachádzame vo všetkých živých bunkách, avšak len jeden ubichinón je bezprostredne významný pre človeka- koenzym Q10. Ľudský organizmus nemôže priamo využívať ubichinóny 1-9, ale ich transformáciou v pečeni je schopný vytvoriť Q10. Koenzym Q10 sa v tele človeka vytvára do 20. roku života, potom dochádza k zníženiu jeho obsahu v organizme. U osôb po 40 roku života je dokázaný nedostatok tejto látky. Koenzym Q10 je obsiahnutý v mnohých potravinách (v bravčovom mäse, vnútornostiach, rybách, zelenine, sóji a iných potravinách), avšak pri technologickom spracovaní je veľké množstvo koenzýmu Q10 zničené skôr ako sa dostane ku spotrebiteľovi. Cieľom práce bolo zistiť koncentrácie plazmy koenzýmu Q10 u probandov s rozličnými stravovacími návykmi vo vekom rozpätí 20-60 rokov. V štúdiu bolo zaradených 240 probandov (99 m + 141 ž) s priemerným vekom $40,15 \pm 11,36$. Všetci probandi boli subjektívne zdraví a nefajčiari. V štúdiu sme zistili nasledovné výsledky (Tab. 1), pričom referenčná hodnota pre stanovenie koenzýmu Q10 v plazme je od 750 do 1000 $\mu\text{g/l}$. Z uvedených výsledkov vyplýva, že ani jedna sledovaná skupina nedosahuje optimálny príjem koenzýmu Q10 potravou.

Tab. 1. Koncentrácie plazmy koenzýmu Q10 u probandov s rôznymi stravovacími návykmi

	N	SV	LO
Koenzym Q10 ($\mu\text{g/l}$)	608,24 \pm 17,60	460,28 \pm 15,02	490,64 \pm 15,55

Výsledky sú vyjadrené ako priemer \pm SEM; N-nevegetariáni, SV-semivegetariáni, LO-lakto-ovo vegetariáni

Všeobecne sa udáva, že hodnota Q10 v organizme dospelého človeka je 0,5–1,5 g, pričom 5–10 mg je do organizmu prijímané z potravy. Hlavnou príčinou oslabenej biosyntézy ubichinónov je nedostatok substrátov, ktoré sú potrebné pre jej priebeh. Tento stav je najčastejšie spôsobený nesprávnou výživou, najmä redukčnými diétami alebo metabolickými ochoreniami, ktoré vyžadujú špeciálnu diétu. Vzhľadom k uvedeným výsledkom by mal byť koenzým Q10 súčasťou zmesi, ktoré by obohacovali niektoré druhy potravín.

Táto práca bola realizovaná projektom: „Výskum zdravotných efektov rastlinnej potravy a možnosti redukcie zdravotných rizík“, itms: 26240220022.

AGE DEPENDENCE OF LIPIDS PARAMETERS IN VEGETARIANS AND NON-VEGETARIANS

Valachovicova, M., Kudlackova, M.
Spustova, V., Urbanek, V.

Slovak Medical University, Bratislava

OBJECTIVE: Ageing belongs to main risk factors in development also of cardiovascular disease. Besides genetic factors there are environmental factors including nutritional habits which can influence the rate of risks of age-related diseases.

SUBJECTS AND METHODS: Total cholesterol, HDL-cholesterol, triacylglycerol were measured as well as LDL-cholesterol, atherogenic index were calculated in 270 long-term vegetarians (lacto-ovo) and 278 subjects of general population (apparently healthy non-obese non-smoking psychic working subjects aged 21–70 years) and these findings were evaluated according to age decades.

RESULTS: Vegetarian vs. non-vegetarian concentrations of total cholesterol, LDL-cholesterol and values of atherogenic index are significantly reduced in all age decades. Vegetarian vs. non-vegetarian triacylglycerol concentrations are significantly reduced from 4. to 7. decade. Vegetarian average decade values of all lipid parameters are in reference range. In non-vegetarian group, the risk average values of total cholesterol (>5.2 mmol/l) were found from 5. to 7. decade, LDL-cholesterol (>3.4 mmol/l) in 7. decade and atherogenic index (>4) in 6. and 7. decade. In vegetarians vs. non-vegetarians were noted the average decade values for total cholesterol in range 4.01–4.59 vs. 4.48–5.67 mmol/l, for triacylglycerols 1.00–1.33 vs. 1.13–1.74 mmol/l, for LDL-cholesterol 2.03–2.58 vs. 2.43–3.49 mmol/l, for atherogenic index 2.72–3.31 vs. 3.05–4.21. On the base of the slope of straight lines of linear regression between markers and age is evident, that age decade changes of markers are less pronounced in vegetarians.

CONCLUSION: The findings of significantly reduced mean age decade values of lipid cardiovascular risk markers of adult vegetarians in all five age decades and smaller changes of markers between decades in comparison to non-vegetarians document a protective effect of vegetarian nutrition in prevention of cardiovascular disease.

This work was created by realization of research project "Health effects of plant food and the possibility of reduction of health risks", ITMS code: 26240220022.

OPTIMALIZÁCIA STANOVENIA AMINOTIOLOV V ĽUDSKEJ PLAZME

Mišľanová, Cs.¹, Hutta, M.²
Kadrová, J.¹, Maďarič, A.¹

¹Oddelenie bioaktívnych látok

Slovenská zdravotnícka univerzita, Bratislava

²Katedra analytickej chémie, Prírodovedecká fakulta UK
Bratislava

Cieľom práce bolo optimalizovať citlivú a rýchlu RP-HPLC metódu s kulochemickou detekciou pre stanovenie aminotiolov (cystein, redukovaný glutatión, homocystein a metionín) v ľudskej plazme po suplementácii probandov kvercetínom. Bol sledovaný vplyv zmeny obsahu organického modifikátora (acetonitril, metanol) v mobilnej fáze, ako aj pH mobilnej fázy na retenčný a separačný faktor. Na základe získaných výsledkov sa pre separáciu aminotiolov ukázalo ako optimálne zloženie mobilnej fázy 50 mmol/l fosforečnanový tlmivý roztok s obsahom 6 % (v/v) acetonitrilu s pH 2,6. Navrhnutá HPLC metóda bola validovaná vzhľadom na linearitu, presnosť a správnosť. Korelačné koeficienty boli vyššie ako 0,99 pre každý analyt. Presnosť bola v rozmedzí 0,8–7,1 % pre cystein; 0,8–6,6 % pre redukovaný glutatión; 0,8–7,4 % pre homocystein; 1,0–8,2 % pre metionín. Presnosť bola 0,8–6,9 %; 0,7–5,9 %; 0,8–7,9 %; 0,9–7,9 % pre cystein, redukovaný glutatión, homocystein a metionín. Táto metóda predstavuje dostatočnú presnosť a citlivosť (koeficienty variácie a relatívne chyby boli nižšie ako 5 %) pre aplikáciu na analýzu reálnych vzoriek plazmy. Tieto analýzy sa ukázali byť vhodné aj pre stanovenie aminotiolov v klinických štúdiách, ako aj pre epidemiologické štúdie u ľudí so špeciálnymi stravovacími návykmi, napr. vegetariáni, kde je predpokladaná vyššia expozícia už spomínaných analytov.

Táto práca bola realizovaná projektom: „Výskum zdravotných efektov raslinnej potravy a možnosti redukcie zdravotných rizík“, itms: 26240220022.

**BUDOVANIE CENTRA EDUKÁCIE
MOLEKULÁRNEJ MEDICÍNY NA ÚSTAVE
CHÉMIE, KLINICKEJ BIOCHÉMIE
A LABORATÓRNEJ MEDICÍNY
LEKÁRSKEJ FAKULTY SLOVENSKEJ
ZDRAVOTNÍCKEJ UNIVERZITY**

Kováč, G., Baluchová, K., Porubenová, A.

Ústav chémie, klinickej biochémie a laboratórnej medicíny
SZU, Bratislava

SUMMARY: Institute of chemistry, clinical chemistry and laboratory medicine at Slovak Medical School in Bratislava builds up a new educational center for molecular medicine within the project based on EU funding. Analytical technique for southern blotting, restriction fragment length polymorphism analysis, PCR, Q-PCR, sequencing DNA, reagents and disposables will be set up in 4 laboratories. 3 specialists in molecular medicine will make sure the scientific and educational work focused on implementation of molecular biology analytical procedures applied prevalently in oncology and hematology. In addition monography, papers and conferences with the aim of dissemination of knowledge and skills in molecular medicine will be developed. The project is planned for 3 years.

ÚVOD: Úlohou Ústavu chémie, klinickej biochémie a laboratórnej medicíny (ÚCHKBLM) SZU je vybudovať v rámci projektu EÚ „Molekulárna medicína“ prístrojovo, materiálne a personálne školiace pracovisko molekulárnej medicíny na ÚCHKBLM.

MATERIÁLNE TECHNICKÉ ZABEZPEČENIE:

ÚCHK BLM SZU menovite zabezpečí:

- zariadenie na izoláciu DNA: izolačné kity – krvné a tkanivové, spektrofotometer
- zariadenie na Southern Blot (elektroforézu, UV-spektrofotometer s počítačom, hybridizačnú zostavu a chemikálie)
- zariadenie na restriction fragment length polymorphism analysis (ako u Southern blotu)
- zariadenie na realizáciu PCR (reagencie, cykler a vybavenie ako u Southern blot)
- spotrebný materiál na realizáciu reverznej transkripcie PCR
- cykler a počítačová zostava na Q-PCR
- probes pre Southern a Q-PCR (kity na výrobu probes)
- sekvenátor na DNA sequencing procedures

- priestory pre zriadenie 2 vývojových laboratórií na SZU a vývojových laboratórií na výučbovej báze SZU v za účelom rozvinutia molekulárnych metodík v hematológii, onkológii, mikrobiológii a virológii a vybaví ich počítačmi a softwarom, podpornou IT technikou, zariadením (laboratórne stoly, stoličky, skrina).

PERSONÁLNE ZABEZPEČENIE: Vyčlenenie pracovníkov ÚCHKBLM do projektu:

- 1 pracovník na úväzok 0,5
- 1 pracovník na úväzok 0,3
- Noví pracovníci

Výchova a príprava:

- 1 VŠ
- 1 laborant so stredoškolským vzdelaním pre prácu a zabezpečenie plnenia úloh na projekte.

VÝVOJOVÁ ČINNOSŤ: Vývojová činnosť sa v laboratóriách SZU ako aj na výučbovej báze sústreďuje na:

- implementáciu nových metodík pre vyšetrenia solídnych tumorov
- diferenciálnu diagnostiku vybraných infekčných chorôb
- diferenciálnu diagnostiku vybraných hematologických chorôb
- diferenciálnu diagnostiku vybraných dedičných chorôb

ĎALŠIA ČINNOSŤ: Príprava:

- monografie o molekulárnej medicíne
- konferencií domácich ako aj so zahraničnou účasťou za účelom výmeny poznatkov a zdroj nových trendov v odbore
- publikácií z vývojovej činnosti
- prednášok na domácich a zahraničných podujatiach
- nákup odbornej knižnej a časopiseckej databázy
- spolupráca s domácimi pracoviskami a zahraničnými pracoviskami.

LITERATÚRA

1. **Kulozik, A. E., Hentze, M. W., Hagemeyer, Ch., Bartram, C. R.:** *Molekulare Medizin: Grundlagen, Pathomechanismen*. Klinik, de Gruyter, Berlin, New York, 2000.
2. **Serhan, A.:** Molecular Pathology, 143-239. In **McKlatchey K:** *Clinical Laboratory Medicine*. Lippincot, Williams, Wilkins, Philadelphia, Baltimore, New York, 2002.

Adresa

Gustáv Kováč
Kuklovska 34, 84104 Bratislava
gustav.kovac@alphamedical.sk

**SPRÁVA ZO SYMPÓZIA EUROEPAN
FEDERATION OF LABORATORY
MEDICINE „EDUCATION IN CLINICAL
CHEMISTRY AND LABORATORY
MEDICINE“ PRAGUE, 17.–19. 3. 2012**

Kováč, G., Porubénová, A.

Ústav chémie, klinickej biochémie a laboratórnej medicíny
Lekárska fakulta Slovenskej zdravotníckej univerzity
Bratislava

SUMMARY: European register will acknowledge only one specialization for both: physician and scientists: Specialist in laboratory medicine, Harmonization of content of postgraduate study programs of EC 4 syllabus for clinical chemistry and Blue Book for Medical Biopathology will be written down in new document called Blue Syllabus. Implementation of the common platform for the specialist in laboratory medicine into the EU directive is awaited for December 2012. The role of polyvalent specialist in laboratory medicine is vital for clinical laboratory and its importance is growing. Contents and goals of the postgraduate educational programs for physicians and scientists are in the process of harmonization. Laboratory medicine is an independent scientific discipline in the system of clinical sciences. Credit system of continual education in EU and USA is formal, not harmonised and reflects the current not very optimal situation.

ÚVOD: Cieľom sympózia bolo zjednotiť postoje European Federation of Laboratory Medicine (vznikla premenovaním z European Federation of Clinical Chemistry) a European Union of Medical Specialists k postgraduálnemu vzdelávaniu v laboratórnej medicíne a spoločnému postupu voči relevantným orgánom EU.

METÓDA: Hlavnými témami sympózia boli:

- európsky register špecialistov v laboratórnej medicíne
- harmonizácia postgraduálneho a kontinuálneho vzdelávania všetkých zdravotníckych profesionálov v EU
- direktíva EU o profesionálnej kvalifikácii: spoločná platforma k návrhu Špecialista v laboratórnej medicíne
- úloha polyvalentného lekára v laboratóriu
- obsah a ciele vzdelávania špecialistov v laboratórnej medicíne: lekári a nelekári
- laboratórna medicína ako profesia a medicínska veda
- kredity v postgraduálnom vzdelávaní.

VÝSLEDKY:

Európsky register špecialistov v laboratórnej medicíne

Väčšina špecialistov v laboratórnej diagnostike v krajinách EU je polyvalentná. Stupeň polyvalencie je rôzny:

- len polyvalentnú špecializáciu z laboratórnej medicíny poznajú v Portugalsku, Belgicku, Francúzku

- prevažný stupeň polyvalencie je vo väčšine krajín EU (napr. Benelux, Nemecko, Rakúsko, Španielsko)
- medzi čiste monovalentné krajiny patria ČR, UK, Dánsko.

Európska federácia klinickej chémie sa počas posledných 5 rokov premenovala cez Európsku federáciu klinickej chémie a laboratórnej medicíny na Európsku federáciu Laboratórnej medicíny. Proces bol zavŕšený spoločnou deklaráciou o špecialistovi v laboratórnej medicíne. Dôvody tohto procesu boli:

- laická verejnosť a politici sa nevyznajú v spleti názvoslovných subšpecializácií a je treba postupovať navonok jednotne: špecialista pre laboratórnu medicínu
- polyvalentná špecializácia reflektuje potreby a možnosti súčasného stavu.

Harmonizácia postgraduálneho a kontinuálneho vzdelávania všetkých zdravotníckych profesionálov v EU

Vzdelávanie v laboratórnej medicíne zahŕňa:

- klinickú chémiu
- hematológiu
- imunológiu
- mikrobiológiu
- genetiku
- toxikológiu
- cytológiu a histológiu
- endokrinológiu
- molekulárnu biológiu.

Špecialista v laboratórnej medicíne sa vzdeláva vo všetkých vyššie uvedených subdisciplínach v rámci spoločného základu (**common trunk**), na ktorý nasadá monovalentná alebo polyvalentná špecializácia. Podrobnosti budú uvedené v spoločnom materiáli „Blue Syllabus“ (Blue Book UEMS + EFCC Syllabus).

Direktíva EU o profesionálnej kvalifikácii: spoločná platforma k návrhu Špecialista v laboratórnej medicíne

Snahou je presadiť do direktívy EU zmeny, ktoré by odstránili diskrimináciu medzi lekármi a nelekármi pokiaľ ide o ich status. Špecialista v laboratórnej medicíne a harmonizácia jeho vzdelávania predstavujú základný predpoklad na dosiahnutie tohto cieľa.

Úloha polyvalentného lekára v laboratóriu

Za posledných 20 rokov prišlo v Belgicku k redukcii 2000 laboratórií z pôvodného stavu na 200 v súčasnosti. Pôvodne malé laboratóriá mali polyvalentný charakter, pracovali však neekonomicky. Súasných 200 laboratórií vzniklo procesom integrácie a konsolidácie menších laboratórií do veľkých útvarov. V týchto laboratóriách sa vyžaduje polyvalentná špecializácia za účelom riadenia a koordinácie jednotlivých subdisciplín, ale aj monovalentná špecializácia, nakoľko tieto laboratóriá poskytujú špeciálnu laboratórnu diagnostiku v jednotlivých subdisciplínach. Koncentráciou laboratórií sa stratil bezprostredný kontakt s klinikom a problémy centralizácie sa kompenzujú zlepšovaním logistiky a IT komunikácie.

Obsah a ciele vzdelávania špecialistov v laboratórnej medicíne: lekári a nelekári

Vo Fínsku prebiehalo postgraduálne vzdelávanie v laboratórnej medicíne tak, že bolo polyvalentné, ale pod názvom klinická chémia (napr. subdisciplínou klinickej chémie bola hematológia). Zmenou názvu z klinickej chémie na laboratórnu medicínu sa dramaticky zväčšil záujem lekárov o postgraduálne vzdelávanie v tomto odbore. Fínsko je v súčasnosti zrejme jediná krajina v EÚ, ktorá nemá problémy s personálnym zabezpečením odboru. V súlade s ostatnými škandinávskymi krajinami však v procese postgraduálneho vzdelávania striktno rozlišuje medzi lekármi a nelekármi. Tento rozdiel môže predstavovať problém pri presadzovaní spoločnej platformy špecialistu v laboratórnej medicíne.

Laboratórna medicína ako profesia a medicínska veda

V Poľsku sa presadil trend, kde laboratórna medicína ako polyvalentná disciplína s laboratórnym charakterom predstavuje nástroj/prístup, ktorý/v rámci ktorého sa riešia problémy veda a výskumu v klinických odboroch. Polyvalencia v laboratóriu a komplexnosť klinických problémov sú navzájom komplementárne.

Kredity v postgraduálnom vzdelávaní

Existujú rozdiely v kreditnom systéme:

- medzi USA a EÚ
- v rámci USA a EÚ (lekári a nelekári).

Rozdiely potencie hlavne rozdielny legislatívny rámec (postavenie komôr a spoločností a ich kompetencií), ktorý rozdiely skôr podporuje, než by ich harmonizoval. Problémom vo všeobecnosti je formálny charakter účasti a monitoringu, ktorý sa sústreďuje hlavne na zbieranie kreditov, pričom obsah a kvalita sú sekundárne. V UK boli zavedené kroky zvyšujúce reflexný charakter monitoringu a vyhodnocovanie, ktorý spočíva v tom že každý účastník vzdelávacej akcie zasiela monitorovacej inštitúcii kritický komentár reflektujúci obsah, kvalitu a prínos vzdelávacej akcie.

DISKUSIA:

K Európskemu registru špecialistov v laboratórnej medicíne

Slovensku sa napriek silnej monovalentnej tradícii podarilo za posledných 13 rokov presadiť monovalentnú špecializáciu laboratórna medicína jednak do legislatívy, jednak do edukácie ako aj klinickej praxe. Udialo sa tak vďaka iniciatíve Slovenskej spoločnosti pre laboratórnu medicínu napriek odporu Slovenskej spoločnosti klinickej biochémie, ostatných monovalentných spoločností a lekárskej komory.

K harmonizácii postgraduálneho a kontinuálneho vzdelávania všetkých zdravotníckych profesionálov v EÚ

Na Slovensku existuje polyvalentná špecializácia: laboratórna medicína a monovalentná špecializácia s polyvalentným charakterom: klinická biochémia. Obe špecializácie sú pre lekárov aj nelekárov.

K direktíve EÚ o profesionálnej kvalifikácii: spoločná platforma k návrhu Špecialista v laboratórnej medicíne

Na Slovensku, ako jedinej krajine z krajín so silnou monovalentnou špecializáciou EÚ sa vytvorili predpoklady de jure a podmienky de facto pre implementáciu platformy špecialista v laboratórnej medicíne.

K úlohe polyvalentného lekára v laboratóriu

Na Slovensku bude treba vytvoriť legislatívny rámec pre bezproblémovú realizáciu polyvalentnej špecializácie v laboratórnej diagnostickej praxi.

K obsahu a cieľom vzdelávania špecialistov v laboratórnej medicíne: lekári a nelekári

Obsah vzdelávania v laboratórnej medicíne je pre lekárov a nelekárov identický. V klinickej biochémii sa harmonizáciou s EFCC sylabom dosiahol polyvalentný charakter disciplíny, rozdiely medzi lekármi a nelekármi nie sú podstatné.

K laboratórnej medicíne ako profesii a medicínskej vede

Bude potrebné diskutovať o problematike postavenia laboratórnej medicíny v systéme medicínskych vied u nás.

Ku kreditom v postgraduálnom vzdelávaní

Spory medzi SLS a SLK v oblasti kontinuálneho vzdelávania len reflektujú v súčasný stav v EÚ a USA.

ZÁVER:

- Európsky register bude uznávať len jednu špecializáciu v laboratórných odboroch: špecialista v laboratórnej medicíne.
- Harmonizácia postgraduálneho a kontinuálneho vzdelávania v laboratórnej medicíne bude popísaná v Blue Syllabe.
- Presadenie spoločnej platformy Špecialista v laboratórnej medicíne do direktívy EÚ o profesionálnej kvalifikácii sa očakáva v decembri 2012.
- Úloha polyvalentného lekára v laboratóriu je nezastupiteľná a jej význam rastie.
- Obsah a ciele vzdelávania špecialistov v laboratórnej medicíne: lekári a nelekári sú v procese harmonizácie.
- Laboratórna medicína je samostatnou vedeckou disciplínou v rámci systému medicínskych vied.
- Kreditový systém v postgraduálnom a kontinuálnom vzdelávaní nie je jednotný, je formálny a postráda reflexívny charakter.

DOPORUČENIA:

- Rešpektovať Európsky register špecialistov v laboratórnej medicíne v rámci SR.
- Dôsledne dodržiavať slovenské minimálne štandardy v laboratórnej medicíne a klinickej biochémii, ktoré sú výsledkom procesu harmonizácie slovenského postgraduálneho a kontinuálneho vzdelávania s EÚ.
- Presadzovať direktívu EÚ o profesionálnej kvalifikácii: spoločná platforma k návrhu Špecialista v laboratórnej medicíne.

- Rešpektovať postavenie polyvalentného špecialistu v laboratóriu.
- Odstraňovať rozdiely v obsahu a cieľoch vzdelávania špecialistov v laboratórnej medicíne medzi lekármi a nelekármi.
- Integrovať laboratórnu medicínu do systému medicínskych vied.
- Riešiť problematiku zjednocovania a reflexného monitoringu v rámci systému kreditov v postgraduálnom a kontinuálnom vzdelávaní.

Adresa:

Gustáv Kováč, Kuklovska 34, 84104 Bratislava
gustav.kovac@alphamedical.sk

MINIMAL STANDARD FOR POSTGRADUAL STUDY PROGRAM IN LABORATORY MEDICINE AND CLINICAL CHEMISTRY IN SLOVAK REPUBLIC

Kovac, G., Porubenova, A.

Institute for Chemistry, Clinical Chemistry and Laboratory Medicine, Slovak Medical School, Bratislava
Slovak Republic

SÚHRN: Minimálne štandardy pre postgraduálne vzdelávanie v laboratórnej medicíne a klinickej biochémií sú postavené na harmonizácii postgraduálneho vzdelávacieho procesu v SR s EC4 Sylabom pre klinickú biochémiu a UEMS štandardom pre medicínsku biopatológiu. Tvoria základ pre akreditáciu postgraduálneho vzdelávania v SR. V minimálnych štandardoch sa definuje minimum znalostí, zručností, počet výkonov a prax na jednotlivých oddeleniach, ktoré je nevyhnutné nadobudnúť počas 5 ročného procesu postgraduálneho štúdia uzatváraného štátnou záverečnou skúškou. Minimálne štandardy pre laboratórnu medicínu sú identické pre lekárov a laboratórnych diagnostikov, pre klinickú biochémiu sa nevýznamne líšia. Požiadavky na znalosti a zručnosti pre klinickú biochémiu a laboratórnu medicínu sa navzájom prekrývajú na cca 85 %.

Defition and length of the study

1. Laboratory medicine deals with laboratory analyses of body fluids, cells, tissues as well as with interpretations of laboratory findings in disease and health.
2. The length/duration of the study is 5 years.
3. The study follows the university degree in general medicine, or chemistry, or and biology.

Scope of knowledge, skills and experience

Knowledge:

1. clinical laboratory
2. molecular pathology
3. clinical chemistry
4. medical microscopy and urine analysis
5. cytogenetics
6. HLA
7. hematology
8. coagulation
9. microbiology
10. immunopathology
11. blood bank and transfusion medicine.

Skills:

Mandatory minimal counts of performed analyses and laboratory operation required:

1. validation and interpretation of laboratory finding 500

2. spectrophotometry	500
3. EIA, RIA	500
4. ISE and acid base balance including O ₂	500
5. AAS and flame photometry	500
6. chromatography: GC + HPLC	150
7. electrophoresis	50
8. blood count	200
9. hemostasiology analyses	400
10. specimen collection and preparation	500
11. microbiological cultures	300
12. microscopy	200
13. flow cytometry	100
14. hybridisation	100
15. PCR	50
16. cytogenetic analyses	10
17. HLA	10
18. blood groups	100

Experience

1. basic and special operations in manual and automated laboratory
2. basics of clinical examination (history, physical findings)
3. laboratory operations in molecular pathology

4. laboratory operations in clinical chemistry
5. laboratory operations in medical microscopy and urine analysis
6. laboratory operations in cytogenetics
7. laboratory operations in hematology
8. laboratory operations in coagulation
9. laboratory operations in microbiology (including bacteriology, parasitology, virology, serology)
10. laboratory operations in immunopathology
11. laboratory operations in blood bank and transfusion medicine.

Training in communication

1. personal prerequisites of effective communication,
2. verbal and non verbal communication,
3. assertive management of conflicts

Organisation of postgraduate study

Postgraduate study is organized in concordance with 5 years study plan in which the above mentioned knowledge (theory) and skills (practice) topics are divided (2 topics for each year/11 topics for 5 years). Training of skills should prevail. The study is closed by the postgraduate state exam including written essay. Plan of seminars/courses for academic year 2011/2012 is attached below:

Seminar/Course	Duration	From	To	Venue	Planned participants
Laboratory medicine: introduction	5	5.12.2011	9.12.2011	Bratislava	10
Laboratory medicine: wrap up	5	18.6.2012	22.6.2012	Bratislava	10
Hematology	2	12.9.2011	13.9.2011	Bratislava	10
Transfusiology	1	3.10.2011	3.10.2011	Bratislava	10
Coagulation	1	17.10.2011	17.10.2011	Bratislava	10
Microbiology	5	7.11.2011	11.11.2011	Bratislava	10
Immunopathology	2	12.12.2011	13.12.2011	Bratislava	5
Clinical laboratory	3	16.1.2012	18.1.2012	Bratislava	10
Molecular pathology	3	13.2.2012	15.2.2012	Bratislava	10
Clinical chemistry	5	12.3.2012	16.3.2012	Bratislava	5
Medical microscopy and urine analysis	1	16.4.2012	16.4.2012	Bratislava	10
Cytogenetics	2	14.5.2012	15.5.2012	Bratislava	10
HLA	1	11.6.2012	11.6.2012	Bratislava	10
Laboratory medicine: innovations	3	17.11.2011	19.11.2011	Bratislava	150

Participation at each seminar is mandatory.

Mandatory medical and laboratory practice at laboratory departments and clinical wards: minimal duration (in months)

1. year

laboratory of clinical chemistry12 months

2. year

internal ward3 months

surgery3 months

gynecology and obstetrics3 months

pediatrics2 months

intensive care 1 month

3. year

laboratory of molecular biology3 months

laboratory of immunopathology5 months

laboratory of cytogenetics4 months

4. year

laboratory of hematology4 months

coagulation laboratory4 months

blood bank4 months

5. year

laboratory of microbiology12 months

LITERATÚRA

1. **McClatchey, K. D.:** *Clinical Laboratory medicine: second edition.* Lippincot, Williams, Wilkins, Philadelphia, Baltimore, New York, 2002.
2. **EC4 Syllabus of Clinical Chemistry, 2006**
3. **UEMS Blue Book Medical Biopathology.**

Adresa:

Gustáv Kováč, Kuklovska 34, 84104 Bratislava
gustav.kovac@alphamedical.sk

**AKTUÁLNY STAV POSTGRADUÁLNEHO
VZDELÁVANIA V KLINICKEJ BIOCHÉMII
A LABORATÓRNEJ MEDICÍNE NA SLO-
VENSKEJ ZDRAVOTNÍCKEJ UNIVERZITE**

Kováč, G., Porubenová, A.

Ústav chémie, klinickej biochémie
a laboratórnej medicíny, SZU Bratislava

SUMMARY: Review and evaluation of postgraduate study process in postgraduate study programs for laboratory medicine and clinical chemistry for medical doctors and scientists harmonized with EC4 syllabus and UEMS Blue Book was run at 25 of October 2011. 45 postgraduate students registered in the above mentioned programs were invited and 23 of them have participated. At the evaluation meeting regulations of the Department of Health setting legislative framework for postgradual process, study programs were presented and discussed. Individual study plans for each participants were developed for each participant.

ÚVOD: 25. 10. 2011 prebehol kontrolný deň postgraduálneho štúdia z klinickej biochémie a laboratórnej medicíny pre lekárov a laboratórnych diagnostikov. Jeho cieľom bolo oboznámiť študentov vyššie uvedených študijných špecializačných odborov s novými pravidlami, požiadavkami na postgraduálne štúdium ako aj vysvetlenie prípadných nejasností v súvislosti s touto problematikou.

METÓDA:

Kontrolný deň prebehol v súlade s plánom:

08:00 prezentácia

09:00 vestníky MZ SR súvisiace s postgraduálnym štúdiom

10:00 študijné špecializačné programy z klinickej biochémie a laboratórnej medicíny pre lekárov a laboratórnych diagnostikov

11:00 študijné plány na školský rok 2011 / 2012

12:00 obed

13:00 Akreditácia študijných špecializačných odborov

14:00 osobné pohovory a zostavovanie individuálnych študijných plánov na školský rok 2011 / 2012

16:00 ukončenie

VÝSLEDKY: Zo 45 pozvaných študentov sa zúčastnilo 23. K jednotlivým bodom programu:

Vestníky MZ SR súvisiace s postgraduálnym štúdiom

VESTNÍK MINISTERSTVA ZDRAVOTNÍCTVA SLOVENSKEJ REPUBLIKY 15. október 2010, Ročník 58, Výnos Ministerstva zdravotníctva Slovenskej republiky zo 17. septembra 2010 č. 12422/2010 – OL: Minimálne

štandardy pre špecializačné študijné programy a ich štruktúra.

Príloha č. 1. LEKÁR

- klinická biochémia
- laboratórna medicína

Príloha č. 17 LABORATÓRNY DIAGNOSTIK

- laboratórna medicína
- laboratórne a diagnostické metódy v klinickej biochémi

Študijné špecializačné programy z klinickej biochémi a laboratórnej medicíny pre lekárov a laboratórnych diagnostikov

- Postgraduálne špecializačné štúdium klinickej biochémi a laboratórnej medicíny je sa skladá z 10 predmetov, ktoré sú rozdelené rozdelené do 5 ročníkov rámci zimných a letných semestrov.
- Podmienkou zaradenia je absolvovanie vstupného kurzu v júna každého kalendárneho roku.
- Podmienkou prihlásenia sa na štátnu záverečnú skúšku je absolvovanie predpísaných kurzov/školiacich miest, a hlavne absolvovanie dielčích skúšok z jednotlivých predmetov v januári, resp. júni každého školského roku.

ZOZNAM POVINNÝCH KURZOV

- Klinická biochémia a laboratórna medicína vstupný kurz.
- Klinické laboratórium.
- Molekulárna patológia.
- Klinická biochémia.
- Mikroskopia a analýza moču.
- Cytogenetika.
- HLA.
- Hematológia.
- Koagulácia.
- Mikrobiológia.
- Imunopatológia.
- Krvná banka a transfuziológia.
- Laboratórna medicína a klinická biochémia.

Akreditácia študijných špecializačných odborov VMZ SR 2011/13, str. 79-102

- Minimálnym štandard.
- Odborný garant.
- Lektorský zbor.
- Materiálne technické a personálne zabezpečenie.
- Rozvoj a trvalá udržateľnosť kvality.

Osobné pohovory a zostavovanie individuálnych študijných plánov na školský rok 2011/2012

DISKUSIA: U pozvaných 5 sa nenašiel adresát a vrátila sa neotvorená obálka

- 3 pozvaní sa ospravedlnili
- U 4 prítomných sa zistilo, že vzhľadom na ich pracovné zaradenie budú vhodnejšie študijné špecializačné odbory, ktoré zabezpečuje fakulta verejného zdravotníctva

Študijné plány na školský rok 2011/2012

HARMONOGRAM		
Zimný semester	Kurzy	Skúšky
September	Klinické laboratórium	
Október	Mikroskopia	
November	Imunopatológia	
December	Mikrobiológia	
Január	molekulárna patológia	atestácie, dielčie skúšky, prijímačky
Letný semester	Kurzy	Skúšky
Február	Transfuziológia	
Marec	Klinická biochémia	
Apríl	Hematológia	
Máj	Koagulácia	
Jún	cytogenetika	atestácie, dielčie skúšky, prijímačky
Júl	prázdniny	
August	prázdniny	

ZÁVER:

- Kontrolný deň postgraduálneho špecializačného štúdia z klinickej biochémi a laboratórnej medicíny pre lekárov a laboratórnych diagnostikov prebehlo 25. 10. 2011 v súlade s programom.
- Kontrolného dňa sa zúčastnilo sa 23 študentov z 45 pozvaných.
- Prítomní boli oboznámení s vestníkmi MZ súvisiacimi s postgraduálnym štúdiom, študijnými programami, študijnými plánmi na školský rok 2011/2012, z nich vyplývajúcimi pravidlami a požiadavkami.
- S každým z prítomných bol absolvovaný osobný pohovor, na ktorom sa zhodnotil doterajší priebeh a stanovil plán štúdia na 2011/2012.

DOPORUČENIA:

- 4 študentom bolo doporučené obrátiť sa na fakultu verejného zdravotníctva vzhľadom na ich pracovné zaradenie.
- Ostatným bolo doporučené zúčastňovať sa školiacich miest a kurzov v súlade s individuálnym študijným plánom.
- Zúčastniť sa kontrolného dňa v septembri 2012.

Adresa:

Gustáv Kováč, Kuklovska 34, 84104 Bratislava
gustav.kovac@alphamedical.sk

VYBRANÉ BIOCHEMICKÉ PARAMETRE V KRVNOM SÉRE OVIEC KONVENČNÝCH A EKOLOGICKÝCH CHOVOV V ZÁVISLOS- TI OD PLEMENA

Poráčová, J.¹, Sedlák, V.²
Blaščáková, M.¹, Muchaničová, A.²

¹Centrum excelentnosti ekológie živočíchov a človeka
Katedra biológie, Prešovská univerzita v Prešove, Prešov
²Katedra ekológie, Fakulta humanitných a prírodných vied
Prešovská univerzita v Prešove, Prešov

V práci sme sa zamerali na sledovanie biochemických markerov v krvnom sére oviec plemena cigája (konvenčný chov) a cigája × východofrizska ovca (ekologický – alternatívny chov). Biochemické markery (AST, ALT, GMT, LDH, CK – enzýmová aktivita) sme merali u 10 ks oviec obidvoch plemien, ktoré boli ustajnené v rôznych podmienkach technológie chovu (konvenčné chovy a dodržiavanie welfare v alternatívnych chovoch). Vybrané biomarkery boli merané na automatickom biochemickom analyzátoře Cobas Integra 400 (firmy Roche, Švajčiarsko). Priemerné hodnoty aktivity jednotlivých enzýmov u oviec plemena cigája boli: AST=2,78 μkat.l⁻¹ ± 0,540, ALT=0,35 ± 0,058, LDH= 10,38 ± 1,742, GGT= 1,22 ± 0,259, ALP= 2,35 ± 1,199. U oviec plemena cigája × východofrizska ovca sa nameovaná enzýmová aktivita pohybovala v priemerných hodnotách: AST=2,08 ± 0,540 μkat.l⁻¹, ALT=0,30 ± 0,096, LDH=8,87 ± 0,905, GGT= 1,27 ± 0,181, ALP=2,03 ± 0,978.

Kľúčové slová: enzymatický profil, ovce, ekologický chov, konvenčný chov, cigája, východofrizska ovca

Podakovanie: Tento súhrn bol vytvorený realizáciou projektu „Centrum excelentnosti ekológie živočíchov a človeka“, na základe podpory operačného programu Výskum a vývoj, financovaného z Európskeho fondu regionálneho rozvoja ITMS 26220120041 a projektu KEGA 016PU-4/2012.

VYBRANÉ MARKERY LIPIDOVÉHO PROFI- LU PRASIAŤ PO APLIKÁCIÍ FYTOADITÍV

Poráčová, J.¹, Blaščáková, M.¹, Sedlák, V.²

¹Centrum excelentnosti ekológie živočíchov a človeka
Katedra biológie, Prešovská univerzita v Prešove, Prešov
²Katedra ekológie, Fakulta humanitných a prírodných vied
Prešovská univerzita v Prešove, Prešov

V modelovom experimente na farme ošípaných sme aplikovali odstavčatám pamajoránovú a šalviouú silicu v kŕmnej zmesi ČOS 1, ČOS 2. V priebehu aplikácie sme sledovali produkčné a biochemické parametre so zameraním na lipidový profil odstavčiat. V experimente sme použili plemeno slovenská biela ušľachtilá × **pietrain**, odstav prasiatok bol vo veku 28 dní. Ošípané boli chované v kotercoch, bežným spôsobom pod matkou. Mikroklíma bola zabezpečovaná elektrickými kvočkami a vetraním. Ciciaky boli zaradené do dvoch skupín: kontrolná skupina (n=7) bez prídavku fytoaditív a pokusná skupina (n=6) s prídavkom pamajoránovej a šalviovej silice v koncentrácii 0,05 % v kŕmive. Pri porovnávaní biochemických parametrov medzi kontrolnou (KS) a šalviouú a pamajoránovú (SO) skupinou sme zistili štatisticky významné rozdiely v koncentrácii triacylglyceridov (KS=0,797 ± 0,322, SO= 1,25 ± 0,255, P < 0,05).

Kľúčové slová: cholesterol, triacylglyceridy, HDL, LDL, krvné sérum, ošípané

Podakovanie: Tento súhrn bol vytvorený realizáciou projektu „Centrum excelentnosti ekológie živočíchov a človeka“, na základe podpory operačného programu Výskum a vývoj, financovaného z Európskeho fondu regionálneho rozvoja ITMS 26220120041 a projektu KEGA 016PU-4/2012.

Kvalitní a spolehlivé řešení pro laboratoře a POCT



Libovolná kombinace parametrů • Jednoduchá obsluha • Minimální údržba

ACIDOBÁZE

pH	cCl ⁻	cGlu	ctHb
cH ⁺	cCa ²⁺	cLac	sO ₂
pCO ₂	cK ⁺	cCrea	FO ₂ Hb
pO ₂	cNa ⁺	ctBil	FCOHb
			FMetHb
			FHHb
			FHbF

IMUNOCHEMIE

Troponin I, T
CK-MB
Myoglobin
NT-proBNP
CRP
βhCG
D-dimer

Simpler, faster, better

RADIOMETER s.r.o.

Zastoupení pro ČR a SR

Křenova 3, 162 00 Praha 6, tel: +420 220 400 300
email: office@radiometer.cz, web: www.radiometer.com

Obchodní zástupce pro SR

Ing. Jiří Hiemer, Ph.D., tel: +420 725 730 156
email: jiri.hiemer@radiometer.cz

RADIOMETER 



...riešenie pre Vaše laboratórium

Profesionálne vybavenie, pre profesionálne laboratórium

CENTRIFÚGY

LAMINÁRNE BOXY, DIGESTORY

CHOVNÉ BOXY PRE
LABORÁTORNE ZVIERATÁ

MRAZIACE A CHLADIACE BOXY

TERMOSTATY, VODNÉ KÚPELE
SUŠIARNE, AUTOKLÁVY

BOXY S ANAERÓBNOU
ATMOSFÉROU

LABORÁTORNE UMÝVAČKY, SUŠIČKY

MOLEKULÁRNA BIOLÓGIA

MIKROPLATNIČKOVÁ
INŠTRUMENTÁCIA

BIO-IMAGING a ANALÝZA

KONCENTRÁTORY, LYOFILIZÁTORY

POČÍTAČE KOLÓNÍ a INHIBIČNÝCH
ZÓN

MONITORING TEPLoty, VLHKOSTI

PURIFIKÁCIA VODY

PIPETY, PLASTY

Prístroje a spotrebný materiál na analýzu, prípravu a skladovanie vzoriek

Svojim zákazníkom poskytujeme kvalifikované služby - poradenstvo, predaj laboratórnych prístrojov a spotrebného materiálu, vrátane inštalácií, školení, záručného a pozáručného servisu, preventívnych kontrol a validácií.

VÝHRADNÝ ZÁSTUPCA FIRIEM PRE SR A ČR:

THERMO SCIENTIFIC - divízia laboratórnych produktov
(Jouan / Heto-Holten / Heraeus / H+P / Forma / Savant
/ Sorvall / Barnstead / TKA / LabSystems / Finnzymes)

EVERmed - ARCTIKO - LANCER - RUSKINN
- SYNGENE - SYNBIOSIS - ERLAB
- TECNIPLAST COMET System
- TUTTNAUER



Kontakt:

TRIGON, s.r.o.
Štefunkova 13
821 03 Bratislava 2

tel.: 02 635 31 241, 0905 728 896
e-mail: mail@trigon-plus.sk
web: www.trigon-plus.sk

DIASYS

- biochemické reagentie nemeckej kvality
- biochemické analyzátory Response 910, Response 920 a BioMajesty
- technická a aplikačná podpora

BioMajesty®



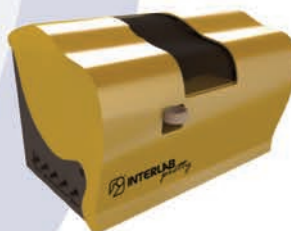
TECAN

- spektrofotometre, ELISA premývačky
- multifunkčné prístroje (fluorescencia, absorbanca, luminiscencia)
- microarray systémy - hybridizačná stanica, skenery
- robotické pipetovacie automaty



INTERLAB

- automatizované elektroforetické systémy Easy Interlab G26 a Interlab G26
- nový kompaktný automatický elektroforetický systém Interlab pretty
- agarózové gély na sérové proteíny, imunofixácia acid blue, acid violet
- široká paleta ďalších vyšetrení vrátane proteinúrie a CSF
- možnosť porovnania staršieho vyšetrenia pacienta s aktuálnym v jednom grafe



SIEMENS

- distribúcia kompletného portfólia SIEMENS pre biochémiu, imunochémiu, hematológiu, koaguláciu a POCT
- dlhoročné skúsenosti a expertná podpora aplikácií

SIEMENS

Siemens Medical Solutions Diagnostics



**Kto mi naozaj dokáže
pomôcť rásť?**

Len Siemens má inovatívne riešenia, ktoré potrebuje vaše laboratórium, aby dosiahlo na vrchol a víziu, ktorá vás na ňom udrží.

Plánovanie budúcnosti vášho laboratória začína už dnes výberom správneho partnera pre diagnostiku. Siemens poskytuje komplexné riešenia prispôsobiteľné potrebám zákazníkov, takže laboratórni a klinickí pracovníci dokážu každodenne zlepšovať svoju produktivitu. Vďaka 130-ročnej tradícii v inováciách nám môžete dôverovať – stále stojíme na čele najnovších trendov a technológií. Spolu s nami dokážete v najbližších rokoch vytvoriť nové trendy v starostlivosti o pacienta.

www.siemens.com/diagnostics

Answers for life.

SIEMENS