



cobas

Life needs answers

Nr
27

ISSN 1644-8448

nakład: 1000 egz.

Lab*Forum*

Nagroda im. prof. Jana Sznajda



Diagnostics



Nagroda prof. Jana Sznajda za rok 2005



Diagnostics

Szanowni Państwo,

Z wielką przyjemnością informuję, że decyzją Kapituły nagrody im. prof. Jana Sznajda „Za wybitne osiągnięcia w dziedzinie diagnostyki laboratoryjnej” laureatką za rok 2005 została dr hab. n. med. Mirosława Pietruczuk. W imieniu całej firmy Roche Diagnostics Polska oraz własnym składam serdeczne gratulacje i życzę Pani doktor wielu osiągnięć naukowych i licznych sukcesów na polu zawodowym i prywatnym. Więcej informacji nt. dorobku dr Mirosławy Pietruczuk znajdzie Państwo wewnątrz tego numeru.

Bieżący numer LabForum jest bardzo urozmaicony. Polecam lekturę artykułu prof. Piechoty nt. diagnostyki chorób sercowo-naczyniowych. Jestem przekonany, że w codziennej pracy w laboratorium przydatne okażą się także zakresy referencyjne w badaniach hemostazy u dzieci. Zamieszczamy też artykuł nt. nadciśnienia tętniczego oraz informacje o alternatywnych sposobach podawania insuliny.

Chciałabym również poinformować, że firma Roche Diagnostics wprowadziła już na rynek zapowiadany wcześniej system **cobas® 6000**. Specjalna konferencja poświęcona temu wydarzeniu odbyła się na początku czerwca w Warszawie.

Tegoroczne Międzynarodowe Forum IVD poświęcone tematyce refundacji w diagnostyce in vitro w UE oraz zintegrowanym sieciom opieki zdrowotnej odbędzie się pod koniec czerwca w Budapeszcie. Relacje z obu spotkań znajdzie Państwo w następnym numerze.

Wzorem lat ubiegłych pragnę przekazać Państwu życzenia w związku ze zbliżającym się okresem urlopowym; dużo słońca, dobrej pogody i udanego wypoczynku.

Spis treści:

Nagroda prof. Jana Sznajda za rok 2005	2
Rola oznaczeń cholesterolu frakcji LDL oraz apolipoproteiny B	3–6
Transfekcje komórek eukariotycznych – FuGENE HD	7–8
Nadciśnienie – zabija powoli ale skutecznie! cz. I	9–12
Zakresy referencyjne dla badania układu krzepnięcia u dzieci	13
Nagroda Specjalna im. prof. Jana Sznajda dla dr Mirosławy Pietruczuk	14–15
Ciągły podskórny wlew insuliny w leczeniu cukrzycy typu 1	15

Z poważaniem,

Andrzej Banaszekiewicz
wraz z zespołem Roche Diagnostics

Nasz adres:

Roche Diagnostics Polska Sp. z o.o.
ul. Wybrzeże Gdyńskie 6B
01-531 Warszawa

centrala: tel. 0-22/481 55 55, 56
faks 0-22/481 55 99

serwis: tel. 0-22/481 54 54–60
faks 0-22/481 55 95

obsługa klienta: tel. 0-22/481 54 00–05
faks 0-22/481 55 96

e-mail: polska.diagnostics@roche.com
internet: www.rochediagnostics.pl

Rola oznaczeń cholesterolu frakcji LDL oraz apolipoproteiny B

Wiesław Piechota – Zakład Diagnostyki Laboratoryjnej, Wiktor Piechota – Klinika Chorób Wewnętrznych i Kardiologii, Wojskowy Instytut Medyczny, Warszawa

Cholesterol frakcji LDL (LDL-C)

Zmiany miażdżycowe inicjowane są przez uszkodzenie śródbłonna naczyniowego¹ wskutek działania szeregu czynników, spośród których na czoło wybijają się lipoproteiny (w tym zmodyfikowane). Hipercholesterolemia, bez względu na jej przyczynę, jest najlepiej poznany i najważniejszym biochemicznym czynnikiem ryzyka choroby wieńcowej.² Większość cholesterolu surowicy krwi (średnio 70%) zawarta jest w aterogennej frakcji lipoprotein o małej gęstości (*Low Density Lipoprotein* – LDL). Stężenie cholesterolu tej frakcji (LDL-C) jest wyraźniej związane z częstością występowania choroby wieńcowej w populacji niż cholesterolu całkowitego. Odnosi się to również do nasilenia zmian miażdżycowych w tętnicach wieńcowych.

Frakcja LDL, o gęstości 1,019–1,063 g/mL (ultrawierowanie), powstaje wskutek katabolizmu lipoprotein o bardzo małej gęstości (VLDL) wytwarzanych w wątrobie. Produktem pośrednim tej reakcji jest frakcja IDL (lipoprotein o gęstości pośredniej) o krótkim okresie półtrwania, występująca w niedużym stężeniu. Ponad połowę wagowego składu LDL stanowi cholesterol (zestryfikowany i wolny) a 20% białko (praktycznie wyłącznie apolipoproteina B), reszta to fosfolipidy i nieduża ilość triglicerydów. Zawartość lipidów, w tym cholesterolu, w LDL nie jest stała i mogą występować znaczne różnice, zwłaszcza międzyosobnicze. Heterogenność LDL dotyczy również wielkości cząstek, która może zmieniać się w szerokim przedziale, ale można wyróżnić dwa zasadnicze typy LDL: małe, gęste cząstki o zmniejszonej zawartości lipidów, w tym cholesterolu (fenotyp B) i duże cząstki o relatywnie większej zawartości lipidów (fenotyp A).³

LDL ulega katabolizmowi z udziałem receptorów LDL rozpoznających apoB zlokalizowanych głównie w wątrobie. Część LDL ulega potranslacyjnej modyfikacji polegającej na utlenieniu, glikacji, glikooksydacji z następowym usuwaniem zmodyfikowanych LDL przez makrofagi, co prowadzi do powstania komórek piankowatych – wczesnych zmian miażdżycowych.

Ze względu na aterogenność LDL dokładne oznaczanie cholesterolu tej frakcji odgrywa ważną rolę w ocenie ryzyka choroby wieńcowej, a także skuteczności leczenia hipercholesterolemii w prewencji pierwotnej i wtórnej tej choroby. Do niedawna oznaczano cholesterol LDL metodą pośrednią wykorzystując relacje między zawartością lipidów w innych frakcjach i oznaczając całkowite stężenie cholesterolu i triglicerydów oraz cholesterol frakcji lipoprotein o wysokiej gęstości (HDL). Stężenie cholesterolu LDL wylicza się z dobrze znanego wzoru Friedewalda:⁴

$$\text{LDL-C (mg/dL)} = \text{Cholesterol całkowity} - \text{HDL-C} - \text{triglicerydy}/5$$

lub:

$$\text{LDL-C (mmol/L)} = \text{Cholesterol całkowity} - \text{HDL-C} - \text{triglicerydy}/2,17$$

Do oznaczenia cholesterolu frakcji LDL należy zatem oznaczyć cholesterol całkowity, triglicerydy i cholesterol HDL (z wykorzystaniem metod wytrącających inne lipoproteiny lub metodą bezpośrednią). Udział cholesterolu VLDL w całej puli cholesterolu określa się przez podzielenie triglicerydów całkowitych przez 5 ponieważ średni stosunek triglicerydów do cholesterolu w VLDL wynosi 5 do 1. Po odjęciu tak wyliczonego cholesterolu i odjęciu cholesterolu HDL uzyskujemy ostatecznie oszacowanie cholesterolu LDL (LDL-C). Tak wyliczony LDL-C zawiera również cholesterol frakcji IDL oraz chole-

sterol związany z Lp(a). U większości pacjentów stężenie frakcji IDL oraz lipoproteiny (a) jest nieduże, czy wręcz znikome, i dlatego oszacowanie cholesterolu LDL na podstawie wzoru Friedewalda było (i w dużej mierze jest nadal) powszechnie stosowane i stało się podstawą stratyfikacji ryzyka oraz zaleceń terapeutycznych.

Jednakże ta tradycyjna metoda nie jest pozbawiona w niektórych przypadkach istotnych wad. Po pierwsze metoda ta daje wiarygodne wyniki, gdy pacjent jest na czczo (minimum 8–12 godzin), ma stężenie triglicerydów poniżej 400 mg/dL i gdy nie występuje u niego hiperlipoproteinemia typu III (zwiększone stężenie IDL). Nawet już stężenia triglicerydów od 250 do 400 mg/dL powodują błędne oszacowanie LDL-C u 14% osób, co prowadzi do błędnej klasyfikacji pacjentów wg zaleceń NCEP⁵. Nadmierna hipertriglicydemia i obecność nawet niedużych ilości chylomikronów obniża wartość wyliczanego LDL-C. Są to od dawna znane ograniczenia tej metody szacowania LDL-C. Niedawno pojawiło się także doniesienie, iż w przypadku bardzo niskiego stężenia triglicerydów przy zwiększonym stężeniu cholesterolu całkowitego wyliczanie LDL-C powoduje zawyżanie wyników.⁶ Ponadto wpływ cholesterolu zawartego w Lp(a), zwiększonej u około 15–20% ludzi rasy kaukaskiej, jest także ilościowo niebagatelny, gdyż może zawyżać wyniki wyliczania LDL-C o 20 i więcej procent.⁷ W takich przypadkach może zmieniać się kwalifikacja osób do leczenia (wg zaleceń ATPIII⁸) a w dodatku późniejsze monitorowanie leczenia statynami wykazuje niższą od oczekiwanej skuteczność, gdyż ich wpływ na Lp(a) jest ograniczony, a praktycznie go nie ma.

Z powyższych względów podjęto próby opracowania bezpośredniego oznaczania

nia LDL-C, które pozwoliłyby na jego pomiar bez oznaczania triglicerydów, nie byłyby oparte o założenia dotyczące składu cząstek lipoprotein o bardzo niskiej gęstości (VLDL) i nie byłyby tak zależne od obecności cholesterolu frakcji IDL, ani Lp(a). Dążenie to wynikało jeszcze z innego, ogólniejszego powodu – braku dobrej precyzji oznaczania LDL-C spowodowanej tym, iż oznaczenie każdej składowej wzoru Friedewalda jest obciążone pewną nieprecyzyznością tj. nieprecyzyznością oznaczeń cholesterolu całkowitego, triglicerydów i cholesterolu HDL. Dopuszczalne błędy przy oznaczaniu cholesterolu całkowitego powinny wynosić dla nieprecyzyzności wyrażonej współczynnikiem zmienności (CV) $\leq 3\%$, dla błędu systematycznego $\leq 3\%$ oraz całkowitego $< 8,9\%$, przy oznaczaniu cholesterolu HDL odpowiednio $\leq 4\%$, $\leq 5\%$ i $\leq 13\%$, a dla cholesterolu LDL $\leq 4\%$, $\leq 4\%$ i $\leq 12\%$. Błąd całkowity dla triglicerydów powinien być $\leq 15\%$ przy nieprecyzyzności $\leq 5,0\%$.⁹ Z danych tych można wysnuć wniosek, że niełatwo jest zredukować błąd całkowity LDL-C do poniżej 12%. W ostatnich latach błąd w wyliczaniu LDL-C ze wzoru Friedewalda zmniejszył się w laboratoriach wykorzystujących bezpośrednie metody oznaczania cholesterolu HDL, gdyż odznaczają się one większą precyzją niż metody strąceniowe.

Klasyczną metodą referencyjną rozdzielania frakcji lipoprotein, w tym LDL, jest metoda ultrawierowania. Nie jest ona jednak stosowana rutynowo ze względu na znaczną pracochłonność i duży koszt aparatury. Innymi sposobami izolowania LDL są metody sekwestracji lub blokowania polegające na wykorzystaniu przeciwciał lub innych związków do wytrącania lub blokowania innych lipoprotein zawierających cholesterol i nie dopuszczania ich do dalszych reakcji enzymatycznych. Jakość tych metod zależy od efektywności zastosowanych związków do blokowania „niechcianych” frakcji. Do blokowania reaktywności chylomikronów, VLDL i HDL stosuje się m.in. związki węglowodanowe. Ich dodanie jest poprzedzane przez wybiórcze rozpuszczenie cząstek LDL za pomocą niejonowego detergentu. W ten sposób tylko cholesterol LDL jest ekspoz-

nowany na działania esterazy cholesterolowej i oksydazy cholesterolowej sprzężone z reakcją barwną (z chromogenem).^{*} Współczesne metody są homogenne (jednorodne) tj. hamowane (blokowane) frakcje pozostają w roztworze i nie ma potrzeby ich oddzielania np. przez wirowanie. Metody jednorodne są łatwe do zautomatyzowania i dlatego oferowane są przez duże firmy działające na rynku medycyny laboratoryjnej (m.in. Roche Diagnostics). Metody bezpośrednie spełniają dobrze kryteria NECP.¹⁰

Metody bezpośrednie określania LDL-C opracowane przez renomowane firmy wykazują większą zgodność z metodą ultrawierowania (tzw. *beta-quantification*) niż metoda szacowania za pomocą wzoru Friedewalda.¹¹ Dlatego generalnie zaleca się oznaczanie cholesterolu LDL metodami bezpośrednimi zamiast jego wyliczania. Dosadnie wyraża to tytuł artykułu Aufenangera i Zawty: „Cholesterol LDL: Nie zgaduj. Dokonaj pomiaru. Krytyczna ocena wzoru Friedewalda” opublikowany już w 1999 roku.¹² Okada i wsp. proponują zaniechanie oznaczania cholesterolu całkowitego na rzecz oznaczania LDL-C metodą bezpośrednią¹³. Wydaje się to logiczne, gdyż zalecenia dotyczące leczenia hipercholesterolemii odnoszą się do LDL-C oraz liczby innych czynników ryzyka. Dla przypomnienia zamieszczamy tabelę z oceną stężeń LDL-C wg ATPIII⁸

Tabela 1. Ocena stężeń cholesterolu LDL (mg/dL)

< 100	optymalne
100–129	zbliżone do optymalnego/powyżej optymalnego
130–159	granicznie podwyższone
160–189	wysokie
≥ 190	bardzo wysokie

^{*} Jeszcze inny rodzaj metod tzw. eliminacyjnych polega na wykorzystaniu swoistych buforów i substancji powierzchniowo czynnych (surfaktantów) do preferencyjnej ekspozycji „niechcianych” lipoprotein zawierających cholesterol na działanie esterazy cholesterolowej i oksydazy cholesterolowej w reakcjach bez wytwarzania barwnych produktów. W ten sposób eliminowany jest ze środowiska reakcji cholesterol, który nie był celem pomiaru. Następnie dodawane zostają specyficzne bufor ekspozujące cholesterol we frakcji LDL na działanie wyżej wymienionych enzymów w ostatecznej reakcji z wywołaniem barwy (tzn. sprzężonej z chromogenem), która po pomiarze kolorymetrycznym daje wynik cholesterolu LDL.

U osób z rozpoznaną chorobą wieńcową i wieloma czynnikami ryzyka, a szczególnie cukrzycą, uzasadnioną opcją jest obniżanie LDL-C < 70 mg/dL.¹⁴

Oznaczanie tylko cholesterolu LDL metodą bezpośrednią jest dokładnym i na ogół wystarczającym sposobem monitorowania skuteczności leczenia hipercholesterolemii. W przypadku stosowania farmakologicznej terapii skojarzonej nakierowanej na oddziaływanie także na inne składniki (frakcje) lipidowe dodatkowe oznaczanie triglicerydów i cholesterolu HDL jest oczywiście nadal potrzebne.

Niewątpliwym wskazaniem do oznaczania LDL-C metodą bezpośrednią jest hipertriglicydemia ze stężeniem triglicerydów (TG) powyżej 400 mg/dL.¹⁵ Uważa się, że poniżej tej granicy popełniany jest błąd całkowity rzędu 7–10%, co jest jeszcze do przyjęcia z klinicznego punktu widzenia. W niektórych laboratoriach przyjmuje się dla TG niższy próg (300 mg/dL) wskazujący na konieczność stosowania bezpośredniej metody oznaczania LDL-C. Sam Friedewald uznał, iż podany przez niego wzór stosuje się do stężenia TG ≤ 200 mg/dL.

Metoda bezpośrednia jest jedyną jaką możemy zastosować do oznaczania LDL-C, gdy pacjent nie jest na czczo i próbka jest lipemiczna. Stężenie TG do 1200 mg/dL nie uniemożliwia oznaczania LDL-C metodą bezpośrednią.

Metoda bezpośrednia może być także bardziej wskazana niż nie zalecane stosowanie wzoru Friedewalda w przypadku hiperlipidemii typu III. Jednakże metodą z wyboru szacowania LDL-C w tym zaburzeniu lipidowym jest ultrawierowanie.

Metody bezpośrednie nadają się szczególnie do diagnostyki i monitorowania leczenia hipercholesterolemii u pacjentów z hipertriglicydemią, nawet niewielkiego stopnia.¹⁶ Stąd bezpośrednie oznaczanie

LDL-C wydaje się szczególnie przydatne także we wtórnych zaburzeniach lipidowych jako konsekwencji cukrzycy, niewydolności nerek, chorób wątroby i in. Wynika to z podwyższonej częstości występowania hipertriglicerydemii w tych chorobach. Metoda bezpośrednia wydaje się najlepsza dla pacjentów z cukrzycą typu 2., gdyż u ponad połowy cukrzyków określanie LDL-C ze wzoru Friedewalda daje błąd powyżej 10% w stosunku do metody ultrawiwiania.¹⁷ Zanizanie stężenia LDL-C wg wzoru Friedewalda u pacjentów z cukrzycą zdaje się wynikać głównie ze zwiększonej częstości występowania hipertriglicerydemii, nawet już w przedziale 200–400 mg/dL.¹⁸ To samo zapewne odnosi się w dużej mierze do zespołu metabolicznego, w którym hipertriglicerydemia jest jedną z cech definiujących i który występuje w Polsce z częstością ponad 20%. Wśród pacjentów leczonych hemodializami ponad 20% ma hipertriglicerydemię > 400 mg/dL, co wyklucza stosowanie wzoru Friedewalda.¹⁹ Zastosowanie tego wzoru względem pacjentów z chorobami wątroby daje niedoszacowanie LDL-C od 14–16%.²⁰

Niekiedy w laboratoriach oznaczających cały rutynowy profil lipidowy i wykorzystującymi bezpośrednią metodę oznaczania LDL-C stwierdza się rozbieżności między LDL-C wyliczonym a faktycznie zmierzonym i powstaje pytanie, który wynik jest bardziej wiarygodny. College of American Pathologists wskazuje, iż ewentualne rozbieżności nie mają konsekwencji klinicznych jeśli obie wartości są < 100 mg/dL lub > 190 mg/dL, gdyż postępowanie kliniczne jest wówczas jednakowe.²¹ Większą natomiast wiarygodność należy przypisać wynikowi oznaczenia bezpośredniego jeśli stężenie triglicerydów przekraczało 400 mg/dL. W przypadku dalszych wątpliwości należy wszystkie analizy powtórzyć zwracając uwagę na precyzję i dokładność oznaczania składników lipidowych wchodzących do wzoru Friedewalda. Należy także zwracać uwagę, aby przy monitorowaniu leczenia stosować tę samą metodę oznaczania LDL-C.

Apolipoproteina B (apoB)

Nawet najdokładniejsze bezpośrednio oznaczanie cholesterolu LDL nie odzwier-

ciedla jednak w pełni aterogennego potencjału tej lipoproteiny, a właściwie lipoprotein. Wiąże się on bowiem nie tylko z zawartością cholesterolu w tej frakcji, ale także z wielkością cząstek LDL. Z punktu widzenia mechanizmów patogenezy miażdżycy istotniejsza wydaje się liczba cząstek LDL znajdująca się w krążeniu niż zawartość w nich cholesterolu. Na ogół te dwa parametry są ze sobą wyraźnie skorelowane, chociaż korelacja nie jest aż tak wysoka jak należałoby oczekiwać. Wynika to z faktu, że zawartość cholesterolu w LDL nie jest, stała a zatem nie odzwierciedla najlepiej liczby cząstek LDL.

Znacznie lepsza pod tym względem jest apolipoproteina B (apoB, apoB-100), której cząsteczka występuje w każdej cząstce LDL, zatem można powiedzieć, stechiometryczne odzwierciedla ich liczbę.²² Prawie cała ilość apoB surowicy ($\geq 90\%$) zawarta jest w LDL, czyli praktycznie odzwierciedla apoB LDL. Różnica w zawartości cholesterolu w dużych cząstkach LDL w porównaniu z małymi, o większej gęstości wyrażona stosunkiem cholesterolu do apoB sięga nawet 25%. Chociaż realnie mamy do czynienia z całym spektrum wielkości cząstek LDL w największym uproszczeniu możemy je podzielić na duże, bogate w cholesterol LDL i małe gęste LDL o relatywnie małej zawartości cholesterolu. Wzrost liczby małych, gęstych LDL występuje u osób ze wzmożoną sekrecją bogatej w triglicerydy frakcji VLDL i zdaje się być najczęstszym zaburzeniem lipidowym u pacjentów z przedwczesną chorobą wieńcową, zespołem oporności na insulinę lub cukrzycą.^{23,24} Występowanie podwyższonych stężeń apoB z towarzyszącą hipertriglicerydemią jest także cechą rodzinnej złożonej hiperlipidemii, najczęstszej w populacji dyslipidemii rodzinnej, która także związana jest z przedwczesną chorobą wieńcową.²⁵ Bez oznaczenia apoB pełna diagnostyka tego zaburzenia nie jest możliwa.

Hipertriglicerydemia prowadzi, poprzez dość złożony mechanizm, do powstania najpierw wzbogaconych w triglicerydy LDL, które są preferowanym przez lipazę wątrobową substratem, a po jej działaniu zamieniają się w małe gęste LDL o obniżonym stosunku cholesterol/apoB.²⁶ Małe gęste LDL łatwiej niż duże cząstki

penetrują do ściany tętnicy. Ponadto mają one większą podatność na oksydację²⁷ co zwiększa ich zdolność do uszkodzania śródbłonna i wywoływania reakcji zapalnej.²⁸ Małe, gęste LDL są dominującą podklasą u osób z hipertriglicerydemią, ale tylko część tych pacjentów ma podwyższone apoB. Ci właśnie pacjenci mają podwyższone ryzyko choroby wieńcowej.²⁹ Zatem oznaczanie apoB mogłoby być wskazane u osób z hipertriglicerydemią, aby sprawdzić czy jest związana ona z podwyższonym ryzykiem choroby wieńcowej.

ApoB okazała się lepszym czynnikiem prognostycznym incydentów sercowych i progresji choroby wieńcowej w szeregu prospektywnych badaniach epidemiologicznych.^{30,31,32} Zaznaczało się to szczególnie wyraźnie u osób z cholesterolem LDL do 50 percentyla. Jest to istotne, gdyż około 50% zawałów serca występuje u osób ze stężeniami LDL-C do 130 mg/dL. U szeregu osób hiperapobetalipoproteinemia (termin po raz pierwszy użyty przez Snidermana w 1980 r.³³) jest bardziej zaznaczona niż hipercholesterolemia. Stężenie apoB jest także bardziej skorelowane z nasileniem zmian miażdżycowych w tętnicach wieńcowych niż stężenie LDL-C.³⁴

Apolipoproteina B może wykazywać również przewagę nad LDL-C w ocenie skuteczności leczenia lekami hipolipemizującymi, głównie statynami. Statyny obniżają stężenie cholesterolu LDL i apoB, ale nie jednakowo. W rodzinnej złożonej hiperlipidemii cholesterol LDL obniżany był przez atrowastatynę o 15% mocniej niż apoB.³⁵ Różnica była jeszcze większa w badaniu CARDS z udziałem chorych na cukrzycę, u których cholesterol LDL zredukowano o 40%, podczas gdy apoB obniżyło się tylko o 23%.³⁶

To, iż apoB jest wartościowym markerem skuteczności leczenia udowodnił Brown i wsp.³⁷ wykazując, że regresja zmian miażdżycowych w tętnicach wieńcowych w toku intensywnego leczenia farmakologicznego jest najbardziej skorelowana z obniżeniem poziomu apoB, następnie cholesterolu LDL i cholesterolu całkowitego oraz wzrostem cholesterolu HDL i apolipoproteiny A-I. Zjawisko to jest tym bardziej znamienne, że podobnie jak w innych badaniach, obniżenie cholesterolu LDL było większe (45%) niż obniże-

nie apoB (35%). Wskazuje to na możliwość większej miarodajności pomiarów apoB jako miernika realnej efektywności silnie działających leków hipolipemizujących, w tym oczywiście statyn.

Skoro, jak się zasadnie przypuszcza, liczba cząstek LDL jest ważniejsza dla rozwoju miażdżycy niż zawartość cholesterolu tej frakcji, to apoB powinna być lepszą miarą pozostałego (resztkowego) ryzyka u pacjentów leczonych lekami hipolipemizującymi. Potwierdzeniem tej tezy są duże badania interwencyjne, takie jak np. 4S,³⁸ LIPID³⁹ i inne.

Należy jeszcze raz podkreślić, iż w przypadku występowania małych, gęstych LDL, zubożonych w estry cholesterolu, nawet najbardziej dokładne pomiary cholesterolu LDL zaniżają o około 10–25% rzeczywistą ilość LDL we krwi.⁴⁰ Pomiary apoB są wówczas bardziej miarodajne.

Tak przekonująca wartość apoB w ocenie ryzyka miażdżycy i w monitorowaniu leczenia mogła być wykazana dzięki istnieniu dokładnych i precyzyjnych metod oznaczania tego białkowego składnika LDL. Do najczęściej stosowanych rutynowo należą turbidymetryczne metody immunochemiczne z przeciwciałami przeciw apoB⁴¹ (często bez rozróżniania apoB-100 i apoB-48). Są one w większości zautomatyzowane. Nieprecyzyjność metod wyrażona współczynnikiem zmienności nie przekracza około 5% (badania międzylaboratoryjne). Metody oznaczeń apolipoproteiny B są wystandaryzowane w oparciu o międzynarodowe standardy aprobowane przez Międzynarodową Federację Chemii Klinicznej (IFCC) i WHO. Dodatkową korzyścią pomiarów apoB jest brak wymagania, aby pacjent był na czczo.⁴²

Niedawno Sniderman zaproponował dwa punkty odcięcia dla apoB do interpretacji ryzyka choroby wieńcowej: **100 i 120 mg/dL**, co odpowiadałoby w przybliżeniu punktom odcięcia dla cholesterolu LDL wynoszącym 130 i 160 mg/dL, które w przybliżeniu przypadają na 50-ty i 75-ty percentyl. Zasugerowano zatem, aby wartości apoB powyżej 75-tego percentyla oznaczały wysokie ryzyko a wartości powyżej 50-tego percentyla ryzyko umiarko-

wane.⁴³ Ostatnio zaproponowano docelowe stężenia apoB **< 90 mg/dL** w przypadku leczenia pacjentów wysokiego ryzyka⁴⁴, a w świetle najświeższych badań klinicznych postuluje się jeszcze niższą wartość apoB **< 80 mg/dL** w tej grupie pacjentów.²² Podsumowanie danych (opracowanie własne) z piśmiennictwa na temat orientacyjnej interpretacji stężenia apolipoproteiny B umieszczono w tabeli 2.

Tabela 2. Ocena stężeń apolipoproteiny B (mg/dL)

> 120	wysokie
100–120	umiarkowanie podwyższone
90–100	optimalne
< 80–90	niskie

Podsumowanie

Dotychczasowa biochemiczna ocena ryzyka chorób sercowo-naczyniowych o podłożu miażdżycowym nie była wystarczająca i wymagała dalszych usprawnień. Sprawą o kluczowym znaczeniu stało się doskonalenie pomiarów najbardziej aterogennej frakcji lipidowej – lipoprotein o niskiej gęstości (LDL). Klasyczne podejście do jej określania poprzez kalkulację zawartego w niej cholesterolu na podstawie pomiarów cholesterolu całkowitego, cholesterolu HDL i triglicerydów powoduje w wielu przypadkach, a szczególnie przy hipertriglicerydemii, niedoszacowanie tej frakcji przekraczające często nawet 20%. Niebagatelne błędy w tak określonym cholesterolu LDL wynikają także z nieprecyzyjności oznaczania każdego z trzech składników wzoru Friedewalda oraz z błędów przedlaboratoryjnych, a głównie ze złego przygotowania pacjenta do badania (badany często nie jest na czczo). Duże błędy tak uzyskiwanych wyników LDL-C pozostają w sprzeczności z dość precyzyjnie określonymi przedziałami jego stężeń stratyfikującymi ryzyko wieńcowe i, co ważniejsze, stanowiącymi podstawę do podejmowania leczenia trwającego najczęściej całe życie. Niedoszacowanie LDL-C może prowadzić do zaniechania leczenia całkiem znaczącego odsetka chorych. Zastosowanie bezpośrednich, jednorodnych metod oznaczania stężenia cholesterolu LDL usuwa większość niedogodności i zapewnia do-

kładne i precyzyjne pomiary. Bezpośrednie pomiary LDL-C są przydatne zarówno w diagnostyce hipercholesterolemii, jak i monitorowaniu terapii. Oznaczanie cholesterolu LDL metodą bezpośrednią może wyeliminować potrzebę oznaczania cholesterolu całkowitego.

Jednakże nawet najlepsze metody bezpośrednie nie zawsze dokładnie ilościowo oceniają frakcję LDL, gdyż stężenie chole-

sterolu w tej frakcji jest zmienne w dość istotnym zakresie. Stężenie frakcji LDL rozpatrywane jako liczba cząstek LDL w określonej objętości lepiej oddaje jedyny praktycznie białkowy jej składnik – apolipoproteina B. Ważnego znaczenia nabiera jej pomiar w przypadku dominacji u chorych małych, gęstych, ubogich w cholesterol cząstek LDL. Liczne badania wskazują, iż bardziej liczba tych cząstek niż ich zawartość cholesterolu odgrywa rolę w patogenezie miażdżycy. Ponadto są one bardziej aterogenne niż duże cząstki LDL. Małe, gęste LDL występują u chorych na cukrzycę, z zespołem metabolicznym i z hipertriglicerydemią. Jest to więc zjawisko częste w populacji. U chorych takich stężenie cholesterolu LDL jest nieznacznie zwiększone lub w tzw. normie. Pomiary stężenia apolipoproteiny B, które w takich stanach może być zwiększone, stanowią zatem cenne uzupełnienie oceny aterogenności frakcji LDL. ApoB wykazuje dużą wartość prognostyczną w stosunku do incydentów sercowych, jest skorelowana z nasileniem zmian miażdżycowych i nadaje się do monitorowania skuteczności leczenia hipolipemizującego.

Pomiar stężenia cholesterolu LDL metodą bezpośrednią oraz apolipoproteiny B metodą immunochemiczną daje znacznie pełniejszy obraz aterogenności tej frakcji, którego znaczenie dla diagnostyki, profilaktyki i leczenia chorób sercowo-naczyniowych trudno przecenić.

Piśmiennictwo dostępne w redakcji.

Transfekcje komórek eukariotycznych – FuGENE HD

Autonomicznie powielające się cząsteczki DNA (kwas deoksyrybonukleinowy) nazywane wektorami, umożliwiają wprowadzanie i namnożenie fragmentów DNA w komórkach. Uzyskane w ten sposób rekombinowane DNA może ulegać replikacji niezależnie lub zależnie od genomu gospodarza. Jako wektory do klonowania wykorzystywane są między innymi plazmidy, kosmidy, sztuczne chromosomy bakterii lub drożdży, wektory bakteriofagowe i wirusowe. Wektory posiadają gen selekcyjny, który umożliwia identyfikację komórek zawierających wprowadzone DNA. Dwa główne źródła DNA wykorzystywane w klonowaniu to DNA genomowe lub mRNA, przepisane na sekwencję DNA w procesie odwrotnej transkrypcji (cDNA). Znanych jest kilka sposobów wprowadzania DNA, RNA (kwas rybonukleinowy) czy oligonukleotydów do komórek eukariotycznych (transfekcja). Pierwszy z nich to elektroporacja, czyli poddawanie komórek krótkotrwałemu działaniu prądu o wysokim napięciu, co prowadzi do czasowego powstawania otworów w błonie komórkowej. Ponadto cząsteczki można bezpośrednio podawać do komórek podczas mikroiniekcji lub bombardowania mikrocząsteczkami złota lub wolframu pokrytymi DNA. Stosowane są również metody z użyciem fosforanu wapnia, innych kationów dwuwartościowych, polikationów, liposomów, retrowirusów czy metody kationowo-liposomowe (lipofekcja).

Na stronie www.rocke-applied-science.com znajduje się baza danych „*Transfection Database*”, gdzie w bardzo krótkim czasie można odnaleźć odpowiednie informacje i dane bibliograficzne ułatwiające wybór metody transfekcji dla określonego typu komórek. Zgromadzone w bazie informacje dotyczą komórek z hodowli pierwotnych oraz ustalonych linii komórkowych, a także różnego typu wprowadzanego materiału (wektory, RNA, nukleotydy, peptydy).

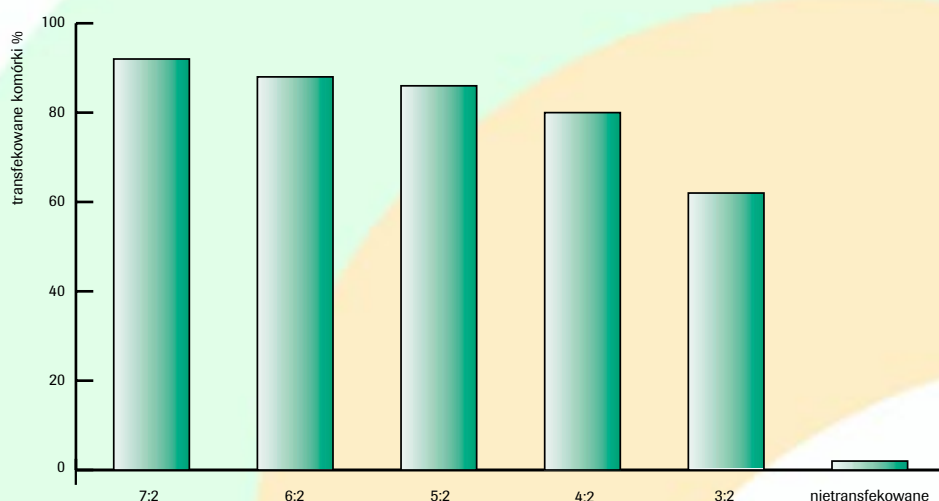
Jednym z proponowanych przez firmę Roche produktów do transfekcji jest FuGENE® 6. Jest to wieloskładnikowy odczynnik tworzący kompleksy z DNA, które są wprowadzane do komórek zwierzęcych. Stosowanie FuGENE® 6 umożliwia uzyskanie wysokiej wydajności transfekcji zarówno stabilnej, jak i przejściowej. FuGENE® 6 jest nietoksyczny dla komórek, dzięki czemu może być obecny w środowisku hodowlanym, a ponadto może być stosowany w środowiskach zawierających surowicę. FuGENE® 6 może być używany do transfekcji komórek rosnących w zawiesinie oraz komórek adherentnych. Natomiast odczynnik FuGENE® HD ma dodatkowo zastosowanie w transfekcji komórek owadzych.

FuGENE® HD ma skuteczne działanie w szerokim spektrum typów komórek. Stosowanie FuGENE® HD jest proste i nie wymaga zmian środowiska hodowlanego. Podobnie FuGENE® 6 może być stosowany w obecności surowicy w pożywce hodowlanej. Wysoka wydajność transfekcji komórek owadzych wektorami ekspresyjnymi przy użyciu FuGENE® HD oraz wysoki poziom ekspresji białek w tym systemie jest alternatywą dla czasochłonných

metod z zastosowaniem bakulowirusa. FuGENE® HD pozwala na uzyskanie zrekombinowanych produktów białkowych w ciągu dwóch do pięciu dni.

Wydajność transfekcji przy użyciu FuGENE® HD oraz ekspresji rekombinowanych białek w tym układzie była badana na ludzkiej linii komórkowej HEK-293 EBNA oraz linii komórek owadzych *High Five*.

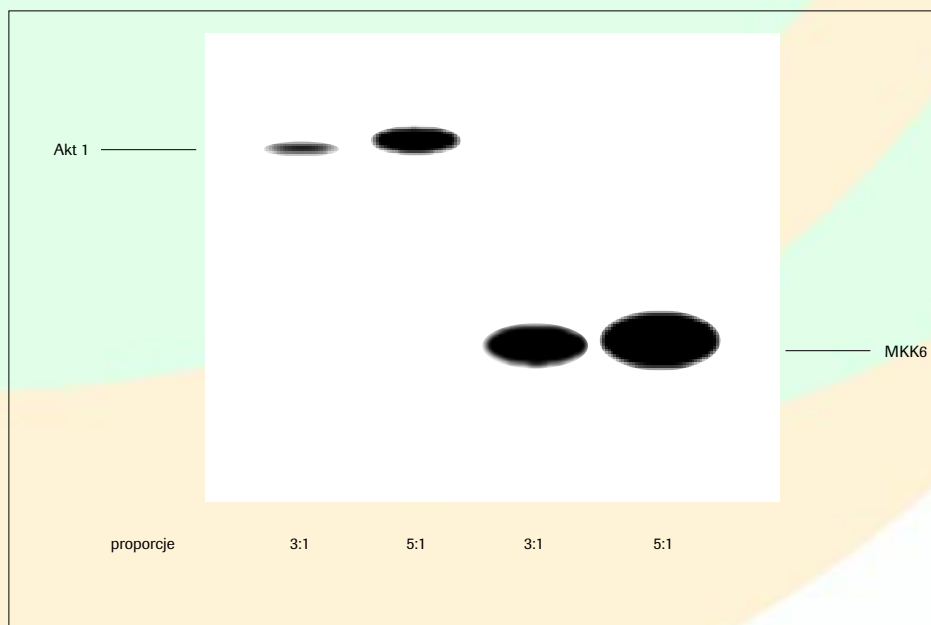
Komórki HEK-293 EBNA transfekowano wektorem gWIZ GFP i badano ekspresję białka GFP (*green fluorescent protein*). Komórki wysiano na 24 h przed eksperymentem w 12-dółkowych szalkach, w zagęszczeniu 1×10^6 na dołek, w 2 ml pożywki pozbawionej surowicy. Kompleksy transfekcyjne FuGENE® HD (μ l): plazmid (μ g) przygotowano w pięciu rozcieńczeniach (7:2, 6:2, 5:2, 4:2, 3:2). Mieszaninę plazmidu zawieszonego w 100 μ l Opti-MEM o zmniejszonej zawartości surowicy i FuGENE® HD inkubowano 15 minut w temperaturze pokojowej. Następnie zawiesinę dodawano kroplami do komórek. Procent komórek wykazujących ekspresję GFP był badany po 28 i 72 h (guana PCA-96 AFP System). Po 72 h komórki były zbierane i wirowane. Osad ko-



Rycina 1. Wydajność transfekcji komórek HEK-293 EBNA plazmidem DNA z GFP po 28 h. Zastosowane proporcje FuGENE® HD (μ l) i plazmidu (μ g): 7:2, 6:2, 5:2, 4:2, 3:2.

mórkowy zawieszono w buforze redukującym z SDS (dodecylsulfian sodu) i gotowano 5 min. Następnie przeprowadzono rozdział elektroforetyczny białek (SDS-PAGE), a żele zabarwiono roztworem błękitu Coomassiego. Poziom ekspresji białka GFP badano densytometrycznie i porównywano ze standardem BSA (albumina wołowa).

Natomiast komórki owadzie *High Five* transfekowano przy użyciu FuGENE® HD wektorem ekspresyjnym kodującym ludzkie kinazy MKK6 oraz Akt1 znakowane 6 resztami histydyny. Komórki owadzie *High Five* hodowano na szalkach 6-dółkowych, w zagęszczeniu 4×10^5 na dołek, w 2 ml pożywki. Po wysianiu komórki hodowano przez noc, a następnie zmieniono pożywkę, aby pobudzić je do wzrostu. Kompleksy transfekcyjne formowano przez zmieszanie dwu porcji 1 µg plazmidu DNA pLB/His dla Akt1 oraz dwu porcji 1 µg plazmidu DNA pLB/His dla MKK6, każda w 160 µl sterylnej wody. Do próbek z plazmidem dodawano 5 µl lub 3 µl FuGENE® HD, mieszano i inkubowano 10 min. Otrzymane rozcieńczenia kompleksów transfekcyjnych 5:1 i 3:1 dodawano kroplami do komórek *High Five*, mieszano, po czym komórki wstawiano do inkubatora. 72 h po transfekcji komórki odklejały, poddawano lizie w buforze do próbek z SDS i rozdzielano elektroforetycznie (SDS-PAGE). Następnie wykonano Western blot, z zastosowaniem przeciwciała skierowanego przeciwko resztom histydyny, aby wykryć poszukiwane białka. Przeprowadzono również eksperyment w dużej objętości (2 L), w którym komórki *High Five* transfekowano plazmidem dla kinazy Akt1. W doświadczeniu tym wykorzystano rozcieńczenie 5:1. Po 72 h od transfekcji komórki zebrano przez wirowanie, a następnie poddano lizie w TBS zawierającym 1% TX100 i rozbiciu pod wpływem ultradźwięków. Lizaty wirowano przy 20 000 prędkości obrotów na minutę przez 30 min. Supernatant наносzono na kolumnę z Ni^{2+} -NTA (kwas nitrylotrioctowy), płukano TBS z 10 mM imidazolem. Białka eluowano gradientem imidazolu 10–300 mM w TBS i wykrywano ich obecność po



Rycina 2. Ekspresja kinaz AKT1 i MKK6 w komórkach owadzie *High Five*. Western blot wykonano przy użyciu przeciwciał skierowanych przeciwko histydynie. Komórki transfekowano stosując różne proporcje FuGENE® HD (µl) i plazmidu (µg): 3:1 oraz 5:1.

rozdziale elektroforetycznym (SDS-PAGE).

W przeprowadzonych doświadczeniach uzyskano bardzo wysoką wydajność transfekcji komórek HEK-293 EBNA, stosując różne proporcje FuGENE® HD i DNA plazmidu. Przy rozcieńczeniu 7:2 (µl FuGENE® HD Transfection Reagent: µg DNA plazmidu gWIZ GFP) uzyskano ponad 90% skuteczność transfekcji (Rycina 1.). Wydajność transfekcji korelowała z ilością syntetyzowanego białka. Komórki transfekowane mieszaniną o stosunku 7:2 syntetyzują białko GFP na poziomie 12 µg/ml. Optymalizacja stosunku FuGENE® HD do plazmidowego DNA podczas formowania kompleksów transfekcyjnych znacząco podnosi poziom syntezy białek.

Podobnie dla wszystkich testowanych stężeń FuGENE® HD uzyskano syntezę ludzkich kinaz Akt1 i MKK6 w owadzie komórkach *High Five* (Rycina 2.). Najlepszą efektywność transfekcji uzyskano dla stężenia 5:1 i stosowano je do transfekcji komórek *High Five* w hodowli na dużą skalę (2 L). Trzy dni po transfekcji z homogenatów komórkowych wyizolowano białko na kolumnie z Ni^{2+} -NTA (złożę

wiąże reszty histydyny). Z tak prowadzonej hodowli uzyskano ponad 10 mg białka Akt1. W przeprowadzonych doświadczeniach wykazano, że zastosowanie FuGENE® HD pozwala na uzyskanie syntezy białka w komórkach owadzie na poziomie podobnym do uzyskiwanego przy zastosowaniu metody wykorzystującej bakulowirusa, ale w zdecydowanie krótszym czasie.

Zastosowanie FuGENE® HD do transfekcji dwu eukariotycznych linii komórkowych najczęściej używanych do produkcji białek, pozwoliło na otrzymanie wysokiej wydajności transfekcji. Testowanie niewielkiego panelu proporcji FuGENE® HD do plazmidowego DNA podczas tworzenia kompleksów transfekcyjnych, pozwala na łatwą optymalizację syntezy białka.

Piśmiennictwo:

FuGENE® HD Transfection Reagent Provides High Levels of Protein Expression in the Human Cell Line HEK-293 EBNA and in High Five Insect Cells, Linda Jacobsen, Susan Calvin, Drew Breite, and Weijia Ou

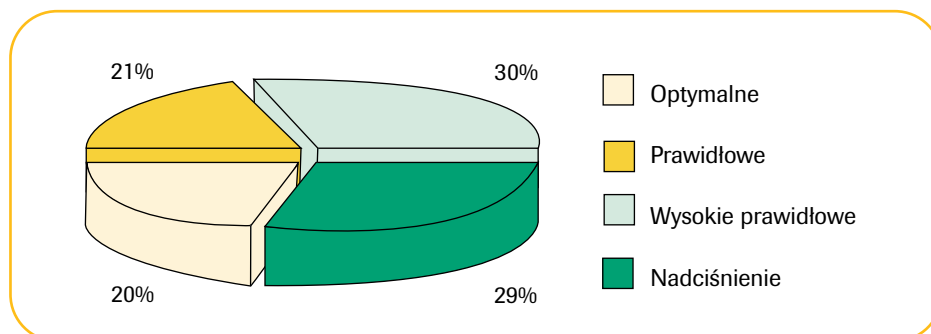
Nadciśnienie – zabija powoli ale skutecznie! cz. I

Zalecenia Polskiego Towarzystwa Nadciśnienia Tętniczego

Nadciśnienie tętnicze jest niezależnym czynnikiem ryzyka chorób układu sercowo-naczyniowego i jego wykrywanie, skuteczna kontrola oraz leczenie powikłań składają się na jedno z najbardziej kosztownych i najważniejszych zadań współczesnej medycyny. Mimo ogromnych nakładów, coraz większej świadomości i wiedzy lekarzy, a także chorych, wykrywalność nadciśnienia jest nadal niedostateczna, a jego leczenie mało skuteczne. Dane z badania NATPOL III PLUS wskazują, że rozpowszechnienie nadciśnienia

tętniczego wśród populacji dorosłych Polaków w 2002 roku wynosiło 29%, natomiast u 30% badanych stwierdzono wysokie prawidłowe ciśnienie tętnicze, u 21% ciśnienie prawidłowe, a tylko u 20% optymalne (Rycina 1.). Wykrywalność nadciśnienia tętniczego w Polsce w 2002 roku wynosiła 67%, a jego prawidłowa kontrola wśród wszystkich chorych – zaledwie 12,5%. Konsekwencjami niedostatecznej kontroli nadciśnienia tętniczego są: wysoka zachorowalność na chorobę niedokrwienną serca, niewydolność serca i nerek oraz udar mózgu i nagłe zgon. Ma to istotne następstwa dla populacji i poszczególnych chorych oraz ich rodzin, gdyż zwiększa zarówno koszty leczenia, jak i odsetek inwalidztwa, co pogarsza w znacznej mierze jakość życia i sytuację ekonomiczną chorego oraz jego rodziny. Skutki dla populacji to przede wszystkim wzrost przedwczesnej umieralności. Należy przy tym pamiętać, że zależność ryzyka powikłań narządowych od podwyższonego ciśnienia tętniczego (z ang. BP, *blood pressure*) ma charakter ciągły, począwszy już od jego niskich wartości, uznawanych przez klinicystów za prawidłowe.

Choroby układu krążenia pozostają główną przyczyną zgonów w Polsce u progu XXI wieku (Tabela I). Podsumowując, należy stwierdzić, że częstość nadciśnienia tętniczego w polskiej populacji, mimo obserwowanych tendencji spadko-



Rycina 1. Rozpowszechnienie nadciśnienia tętniczego w Polsce w roku 2002

wych, nadal jest duża, a skuteczność jego leczenia, mimo widocznej poprawy, nadal niedostateczna. Zwraca uwagę fakt, że w ostatnich latach wyraźnie zmniejsza się wiedza na temat własnego ciśnienia w populacji polskiej (z 71% w 1994 r. do 59% w 2002 r.), a zjawisko to jest szczególnie widoczne wśród mieszkańców wsi i małych miast. Należy równocześnie podkreślić, że u osób z nadciśnieniem tętniczym

często współistnieją inne czynniki zagrożenia, które zwiększają ogólne ryzyko (Tabela II).

Definicja i klasyfikacja nadciśnienia tętniczego

Nadciśnienie tętnicze powinno się rozpoznawać, jeśli wartości BP w trakcie 2 wizyt (średnia z co najmniej 2 pomiarów w trakcie jednej wizyty) są wyższe lub

Tabela I. Przyczyny zgonów w Polsce w latach 1996 i 2000 (wg danych GUS)

Przyczyny zgonów	1996	2000		
		Ogółem	Mężczyźni	Kobiety
Choroby układu krążenia (%)	50	48	40	53
Nowotwory (%)	21	23	25	21
Inne (%)	29	29	35	26

Tabela II. Rozpowszechnienie czynników ryzyka chorób sercowo-naczyniowych u osób z nadciśnieniem tętniczym w Polsce w roku 2002 na podstawie badania NATPOL PLUS

	Odsetek chorych (%)
Cholesterol całkowity > 200 mg/dl	67
Cholesterol frakcji LDL > 115 mg/dl	72
Cholesterol frakcji HDL < 40 mg/dl	14,5
Triglicerydy > 150 mg/dl	42
Cukrzyca	14
Wskaźnik masy ciała > 25 kg/m ²	78,5
Palenie tytoniu	27

równe 140 mm Hg dla ciśnienia skurczowego (z ang. SBP, *systolic blood pressure*) lub 90 mm Hg dla ciśnienia rozkurczowego (z ang. DBP, *diastolic blood pressure*). Za optymalne należy uznać wartości ciśnienia poniżej 120/80 mm Hg. Rozbieżności w nazewnictwie dotyczą wartości BP znajdujących się w przedziale 120–139/80–89 mm Hg. Siódmy Raport JNC (rządowy komitet amerykański przygotowujący od 1977 roku wytyczne postępowania w nadciśnieniu) definiuje je jako stan przednadciśnieniowy (*prehypertension*). Sugeruje to nie tylko następstwo czasowe, ale też przyczynowo-skutkowe

(stan przednadciśnieniowy może prowadzić do nadciśnienia tętniczego). Biorąc pod uwagę brak danych oceniających wyniki interwencji w tej grupie osób, a równocześnie uznając wyniki obserwacji epidemiologicznych wskazujących na liniowy wzrost ryzyka wraz ze wzrostem ciśnienia tętniczego, obecne stanowisko PT-NT stosuje klasyfikację BP zaproponowaną przez Europejskie Towarzystwa Nadciśnienia Tętniczego i Kardiologiczne (ESH/ESC), czyli uznaje za optymalne ciśnienie tętnicze poniżej 120/80 mm Hg, za wartości prawidłowe 120–129/80–84 mm Hg, a za wysokie prawidłowe zakres

130–139/85–89 mm Hg. Szczegółową klasyfikację przedstawia Tabela III.

Ocena ryzyka

Ocenę ryzyka wystąpienia epizodu sercowo-naczyniowego w ciągu najbliższych 10 lat przeprowadza się, zestawiając wartości ciśnienia tętniczego, obecność innych niż nadciśnienie czynników ryzyka, występowanie powikłań narządowych i chorób współistniejących, które przedstawiono w Tabelach IV i V. Interpretacja poziomu ryzyka (w stosunku do przeciętnego, czyli osób bez nadciśnienia i czynników ryzyka – zwiększone: nieznacznie, umiarkowanie, znacznie lub bardzo znacznie) według modelu Framingham oznacza, że 10-letnie, całkowite ryzyko wystąpienia chorób układu sercowo-naczyniowego wynosi odpowiednio: < 15%, 15–20%, 20–30% i > 30%. Natomiast według europejskiej skali SCORE 10-letnie, całkowite ryzyko chorób układu sercowo-naczyniowego zakończonych zgonem wynosi przy poszczególnych poziomach ryzyka odpowiednio: < 4%, 4–5%, 5–8% i > 8%. Oszacowanie poziomu globalnego ryzyka jest podstawową wytyczną rozpoczęcia i intensywności postępowania terapeutycznego.

Tabela III. Klasyfikacja ciśnienia tętniczego [mm Hg]*

Ciśnienie skurczowe	Ciśnienie rozkurczowe	Kategoria
< 120	< 80	Ciśnienie optymalne
120–129	80–84	Ciśnienie prawidłowe
130–139	85–89	Ciśnienie wysokie prawidłowe
140–159	90–99	Nadciśnienie stopień 1 – łagodne
160–179	100–109	Nadciśnienie stopień 2 – umiarkowane
≥ 180	≥ 110	Nadciśnienie stopień 3 – ciężkie
≥ 140	< 90	Nadciśnienie izolowane skurczowe

* Dotyczy osób nieprzyjmujących leków przeciwnadciśnieniowych; w przypadku gdy wartości SBP i DBP należą do różnych kategorii, należy przyjąć kategorię wyższą

Tabela IV. Czynniki ryzyka, powikłania narządowe i choroby współistniejące wpływające na stratyfikację ryzyka

Czynniki ryzyka	Powikłania narządowe	Choroby współistniejące
Wiek (M > 55 rż., K > 65 rż.)	LVH (kryterium Sokołowa-Lyons > 38 mm, Cornell > 2400 mm x ms)	Cukrzyca
Palenie tytoniu	LVMI (M = 125, K = 110 g/m ²)	Choroba naczyniowa mózgu (udar, TIA)
Zaburzenia lipidowe*	USG tętnicy szyjnej: zgrubienie kompleksu – intima-media tętnicy szyjnej ≥ 0,9 mm – lub obecność blaszki miażdżycowej	Choroba serca (zawał, choroba wieńcowa, stan po plastyce naczyń wieńcowych lub CABG, niewydolność serca)
Przedwczesne powikłania sercowo-naczyniowe w rodzinie (M < 55 rż., K < 65 rż.)	Nieznaczne podwyższenie stężenia kreatyniny – M: 115–133 µmol/l, 1,3–1,5 mg/dl; – K: 107–124 µmol/l, 1,2–1,4 mg/dl	Niewydolność nerek
Otyłość brzuszna (obwód pasa M > 102 cm, K > 88 cm)		Nadciśnienie stopień 2 – umiarkowane Choroba naczyń obwodowych
Białko C-reaktywne > 1 mg/dl	Mikroalbuminuria 30–300 mg na dobę lub stosunek – albumina/kreatynina (M ≥ 22 mg/g, K ≥ 31 mg/g)	Zaawansowana retinopatia (wysięki, wybroczyny, obrzęk tarczy n. II)

*Zaburzenia lipidowe: cholesterol całkowity ≥ 5,0 mmol/l (190 mg/dl); LDL, *low-density lipoprotein*, lipoproteiny o małej gęstości > 3,0 mmol/l (115 mg/dl); HDL, *high-density lipoprotein*, lipoproteiny dużej gęstości: M < 1 mmol/l (40 mg/dl), K < 1,2 mmol/l (46 mg/dl); triglicerydy > 1,7 mmol/l (150 mg/dl); LVH, *left ventricular hypertension*, przerost lewej komory; LVMI, *left ventricular mass index*, wskaźnik masy lewej komory; TIA, *transient ischemic attack*, przejściowe niedokrwienie mózgu; CABG, *coronary artery by-pass grafting*, pomostowanie aortalno-wieńcowe

Tabela V. Stratyfikacja globalnego ryzyka sercowo-naczyniowego dla oceny rokowania

Grupy	Prawidłowe	Wysokie Prawidłowe	Stopień 1 (nadciśnienie tętnicze łagodne)	Stopień 2 (nadciśnienie tętnicze umiarkowane)	Stopień 3 (nadciśnienie tętnicze ciężkie)
I Bez czynników ryzyka sercowo-naczyniowego	Przeciętne	Przeciętne	Nieznacznie podwyższone	Umiarkowanie podwyższone	Znacznie podwyższone
II 1 lub 2 czynniki ryzyka sercowo-naczyniowego	Nieznacznie podwyższone	Nieznacznie podwyższone	Umiarkowanie podwyższone	Umiarkowanie podwyższone	Bardzo znacznie podwyższone
III 3 lub więcej czynników ryzyka sercowo-naczyniowego lub powikłania narządowe, lub cukrzyca	Umiarkowanie podwyższone	Znacznie podwyższone	Znacznie podwyższone	Znacznie podwyższone	Bardzo znacznie podwyższone
IV Choroby współistniejące	Znacznie podwyższone	Bardzo znacznie podwyższone	Bardzo znacznie podwyższone	Bardzo znacznie podwyższone	Bardzo znacznie podwyższone

Badanie chorego z nadciśnieniem tętniczym

Ocena kliniczna chorych, u których stwierdzono nadciśnienie tętnicze, powinna dotyczyć trzech zagadnień:

- określenia przyczyny podwyższonego ciśnienia (nadciśnienie pierwotne czy nadciśnienie wtórne);
- wykrycia ewentualnych powikłań narządowych i innych chorób układu sercowo-naczyniowego, a także stopnia ich zaawansowania;
- wykrycia innych czynników ryzyka sercowo-naczyniowego. Dane do takiej oceny powinny pochodzić z dokładnie zebranego wywiadu, badania przedmiotowego, badań laboratoryjnych i innych badań diagnostycznych (zależnie od potrzeby).

Badanie przedmiotowe

W wywiadzie należy zwrócić uwagę na wiek chorego, czas trwania nadciśnienia tętniczego, dotychczasowe wartości ciśnienia, stosowane leki przeciwnadciśnieniowe (dawki, skuteczność, objawy niepożądane). Istotne jest wykluczenie obecności objawów mogących skłaniać do podejrzenia nadciśnienia objawowego (tzn. wtórnego). Wywiad chorobowy powinien zawierać informacje dotyczące obecności objawów choroby niedokrwiennej serca, chorób naczyniowych mózgu, chorób naczyniowych, cukrzycy, chorób ne-

rek oraz leczenia tych schorzeń. Ważna jest ocena występowania wymienionych chorób w rodzinie pacjenta.

Konieczne jest uzyskanie danych dotyczących sfery płciowej (przebieg ciąży, przyjmowanie doustnych środków antykoncepcyjnych, stosowanie hormonalnej terapii zastępczej, zaburzenia miesiączkowania, u mężczyzn zaburzenia potencji).

Wywiad powinien zawierać informacje na temat stylu życia pacjenta, sposobu jego odżywiania się (spożycie tłuszczów nasyconych i soli), nałogów (palenie tytoniu, picie alkoholu, zażywanie narkotyków), aktywności fizycznej, stosowania innych leków.

Badanie przedmiotowe

Standardowy pomiar ciśnienia tętniczego – zasady

- Pomiar BP powinien się odbywać w cichym pomieszczeniu, pacjent w pozycji leżącej i/lub siedzącej powinien wcześniej przez 5–10-minut odpocząć; ciśnienie należy zmierzyć co najmniej dwa razy w odstępach 2 minut (wynik = średnia arytmetyczna).
- Należy używać sfigmomanometru ręcznego lub aparatu innego typu (dokładność tych aparatów musi być jednak udokumentowana i okresowo kontrolowana).
- Mankiet powinien mieć poduszkę gumową o szerokości 12–13 cm i długości

35 cm, jednak u osób otyłych, a także u dzieci, powinno się stosować mankiety o odpowiednich dla nich wymiarach.

- Ramię, na którym dokonuje się pomiaru, powinno się znajdować na wysokości serca, bez względu na pozycję ciała.
- Za ciśnienie skurczowe przyjmuje się pojawienie się tonów, a za rozkurczowe – zniknięcie tonów (odpowiednio faza I i V Korotkowa).
- Podczas pierwszej wizyty pomiar powinno się wykonać na obu ramionach, a w trakcie następnych wizyt na kończynie, na której stwierdzono wyższe ciśnienie.
- Pomiaru tętna powinno się dokonać po drugim pomiarze ciśnienia.
- U osób w starszym wieku, po udarze mózgu, chorych na cukrzycę oraz inne choroby mogące wywoływać hipotonię ortostatyczną należy dokonywać pomiaru także w 1 i 5 minucie od przyjęcia pozycji stojącej.

Domowe pomiary ciśnienia

Pomiar ciśnienia w warunkach domowych zmniejsza możliwość wystąpienia „reakcji białego fartucha”, częściej podczas pomiaru w gabinecie lekarskim, i wykazuje dużą zgodność z wynikami obserwowanymi w automatycznym monitorowaniu ciśnienia (z ang. ABPM, *ambulatory blood pressure monitoring*). Wartości BP rejestrowane w domu lepiej korelują z ryzykiem ser-

cowo-naczyniowym niż obserwowane w gabinecie lekarskim. Za wartości nieprawidłowe w pomiarach domowych przyjmuje się średnią z kilku pomiarów równą lub przekraczającą 135/85 mm Hg.

To stosunkowo łatwe do wykonania przez pacjenta badanie może przyczynić się do poprawy współpracy i efektywności leczenia nadciśnienia przez zaangażowanie chorego w proces terapeutyczny. Warunkiem jest dokładne zapoznanie pacjenta z techniką pomiaru. Trudność może stanowić fakt, że jedynie nieliczne aparaty spośród dostępnych w Polsce spełniają kryteria jakości.

Zalecenia dla pacjenta dotyczące pomiaru ciśnienia w domu:

- Pomiar ciśnienia należy przeprowadzić po 5-minutowym odpoczynku, z mankietem założonym na ramieniu (na poziomie serca), na którym stwierdzono wyższe wartości ciśnienia.
- Optymalna liczba pomiarów dla celów diagnostycznych – 2 pomiary rano i 2 wieczorem, przez co najmniej 3 dni robocze (wyników z 1 dnia nie uwzględnia się w rozpoznawaniu nadciśnienia). Liczbę pomiarów powinno się rozpatrywać również indywidualnie, uwzględniając stopień nadciśnienia, stan pacjenta.
- Pacjent powinien zapisywać pomiary w dzienniczku samokontroli. Można również wykorzystywać wydruki z aparatów wyposażonych w drukarkę.
- Do samodzielnego, domowego pomiaru ciśnienia tętniczego zaleca się używanie w pełni zautomatyzowanych aparatów spełniających ustalone kryteria dokładności, z mankietem zakładanym na ramię.

Automatyczne monitorowanie ciśnienia tętniczego

Całodobowe monitorowanie ciśnienia wykazuje przewagę nad pomiarami tradycyjnymi w zakresie zarówno rozpoznawania nadciśnienia tętniczego, jak i przewidywania przyszłych epizodów sercowo-naczyniowych. Mimo niewątpliwej przydatności klinicznej, ABPM ma również pewne ograniczenia, między innymi wysoki koszt badania i nie do końca określona powtarzalność wyników (choć większą

niż w pomiarach tradycyjnych). W rezultacie stosowanie ABPM powinno być ograniczone do następujących sytuacji klinicznych:

- podejrzenie reakcji białego fartucha;
- nadciśnienie odporne na leczenie;
- ocena objawów sugerujących hipotonię;
- ocena nocnego spadku ciśnienia lub podejrzanego wzrost ciśnienia w nocy;
- określenie wskazań do leczenia przeciwnadciśnieniowego;
- pacjenci w podeszłym wieku;
- chorzy na cukrzycę typu 1.;
- nadciśnienie w ciąży;
- dysfunkcja układu autonomicznego.

W celu uzyskania wiarygodnych wyników konieczne jest korzystanie z aparatów spełniających kryteria jakości pomiarów oraz prawidłowe założenie aparatu.

Uwagi techniczne – założenie rejestratora:

- 15–30-minutowy odpoczynek w komfortowych warunkach; – pomiar ciśnienia na obu ramionach:
 - a) jeśli różnica < 10 mm Hg (SBP) – założenie mankieta na rękę niedominującą,
 - b) jeśli różnica > 10 mm Hg – założenie mankieta na rękę o wyższym ciśnieniu;
- dobranie odpowiedniego mankieta;
- wyznaczenie odstępu między pomiarami (preferowane 15 min w dzień i 30 min w nocy, maksymalnie 30 min w dzień i 60 min w nocy);
- wydanie pacjentowi dzienniczka aktywności życiowej (oraz udostępnienie kontaktowego numeru telefonu).

Podziału na dzień i noc dokonuje się arbitralnie, określając godziny dzienne i nocne (zazwyczaj od 6.00 do 22.00 i od 22.00 do 6.00), albo opierając się na dzienniczku aktywności życiowej prowadzonym przez pacjenta podczas rejestracji BP. W ciągu ostatnich lat obserwuje się skłonność do obniżania granicy rozpoznawania nadciśnienia według pomiarów ABPM. Obecnie zalecane wartości ciśnienia w ABPM to wartości średnie BP poniżej: 125/80 mm Hg dla całej doby, 135/85 mm Hg w ciągu dnia i 120/70 mm Hg w czasie snu.

Badanie przedmiotowe

U każdego pacjenta należy przeprowadzić pełne badanie przedmiotowe, ze szczególnym zwróceniem uwagi na następujące elementy:

- pomiar wzrostu i masy ciała oraz obwodu talii;
- szyja – ocena tętnic szyjnych (obecność szmeru naczyniowego), stanu wypełnienia żył oraz badanie tarczycy;
- serce – charakter i lokalizacja uderzenia koniuszkowego, rytm serca, szmery oraz obecność III i IV tonu;
- płuca – obecność trzeszczeń, rzężeń oraz objawów bronchospastycznych;
- jama brzuszna – obecność szmerów naczyniowych, nieprawidłowych tętnień aorty oraz guzów w rzucie nerek;
- kończyny dolne – ocena tętna i ewentualnych szmerów nad tętnicami udowymi oraz obręzków;
- ocena stanu neurologicznego.

Badania podstawowe i dodatkowe u chorych z nadciśnieniem tętniczym

U wszystkich pacjentów z nadciśnieniem należy wykonać następujące badania: hematokryt, hemoglobina, stężenie sodu, potasu, glukozy (na czczo), kreatyniny, kwasu moczowego, lipidogram (cholesterol całkowity, frakcji HDL, frakcji LDL, triglicerydy), badanie moczu, elektrokardiogram.

Badania dodatkowe – zalecane

Badanie dna oka, RTG klatki piersiowej, echokardiogram, USG nerek i tętnic szyjnych, mikroalbuminuria, stężenie wapnia, stężenie białka C-reaktywnego, test doustnego obciążenia glukozą (OGTT, *oral glucose tolerance test*). Badania zalecane powinno się wykonać u chorych, u których potencjalnie pozytywny wynik może zmienić zasady postępowania lub istnieją inne wskazania (np. w przypadku obciążenia glukozą, jeśli glikemia na czczo wynosi 6,0–7,0 mmol/l [110–126 mg/dl]). Obecnie nie ma wskazań do rutynowego wykonywania u chorych z nadciśnieniem tętniczym badań genetycznych, oceny dysfunkcji śródbłonna lub sztywności dużych tętnic bądź innych badań laboratoryjnych.

cd. w następnym numerze

Zakresy referencyjne dla badania układu krzepnięcia u dzieci

Jak wiadomo wyniki badań koagulologicznych zależą w dużym stopniu od stosowanych odczynników oraz od rodzaju koagulometru.

Prawidłowa interpretacja wyników badań pacjentów wymaga opracowania zależnych od wieku zakresów referencyjnych przy użyciu tego samego odczynnika i tego samego co w przypadku próbek ba-

danych aparatu. Opublikowane wyniki badań pokazują, że istnieją znaczące różnice pomiędzy wartościami zakresów norm wykonanych na różnych odczynnikach i koagulometrach.

Poniższa tabela przedstawia zakresy norm opracowane w Królewskim Szpitalu Pediatricznym w Melbourne, w Australii, na podstawie wyników badań wykona-

nych z próbek krwi pobieranych na 3,2% cytrynian (prof. Paul Monagle), analizowanych przy użyciu aparatu STA Compact i opisanych w tabeli odczynników.

Dla każdego testu/odcynnika pierwszy wiersz pokazuje średnią i zakresy norm dla 95% populacji natomiast drugi wiersz liczbę próbek i proporcje obu płci w każdej z badanych grup.

Odczynnik Diagnostica Stago	WIEK Dzień 1	Dzień 3	1 miesiąc – 1 rok	1–5 lat	6–10 lat	11–16 lat	Dorośli
PT (sek./INR)							
STA Neoplastine	15,6 (14,4–16,4)	14,9 (13,5–16,4)	13,1 (11,5–15,3)	13,3 (12,1–14,5)	13,4 (11,7–15,1)	13,8 (12,7–16,1)	13,0 (11,5–14,5)
CL Plus	N=21 (10F/11M)	N=25 (13F/12M)	N=35 (8F/27M)	N=43 (23F/20M)	N=53 (22F/31M)	N=23 (7F/16M)	N=51
INR	1,26 (1,15–1,35)	1,20 (1,05–1,35)	1,00 (0,86–1,22)	1,03 (0,92–1,14)	1,04 (0,87–1,20)	1,08 (0,97–1,30)	1,00 (0,80–1,20)
	N=21 (10F/11M)	N=25 (13F/12M)	N=35 (8F/27M)	N=43 (23F/20M)	N=53 (22F/31M)	N=23 (7F/16M)	N=51 (43F/8M)
APTT (sek.)							
STA-PTT-A	38,7 (34,3–44,8)	36,3 (29,5–42,2)	39,3 (35,1–46,3)	37,7 (33,6–43,8)	37,3 (31,8–43,7)	39,5 (33,9–46,1)	33,2 (28,6–38,2)
	N=21 (10F/11M)	N=25 (13F/12M)	N=33 (3F/30M)	N=56 (26F/30M)	N=71 (27F/44M)	N=54 (12F/42M)	N=42
STA – APTT	brak danych	brak danych	34,4 (31,1–36,6)	32,3 (29,8–35,0)	32,9 (30,8–34,8)	34,1 (29,4–40,4)	29,1 (25,7–31,5)
Kaolin			N=20 (3F/17M)	N=22 (11F/11M)	N=22 (12F/10M)	N=39 (8F/31M)	N=40
FIBRYNOGEN (g/l)							
STA-Fibrinogen 5	2,80 (1,92–3,74)	3,30 (2,83–4,01)	2,42 (0,82–3,83)	2,82 (1,62–4,01)	3,04 (1,99–4,09)	3,15 (2,12–4,33)	3,1 (1,9–4,3)
	N=22 (10F/12M)	N=21 (10F/11M)	N=34 (7F/27M)	N=43 (23F/20M)	N=52 (22F/30M)	N=21 (7F/14M)	N=55 (47F/8M)
CZYNNIKI KRZEPNIĘCIA (%)							
STA-Deficient II	54 (41–69)	62 (50–73)	90 (62–103)	89 (70–109)	89 (67–110)	90 (61–107)	110 (78–138)
	N=23 (13F/10M)	N=22 (11F/11M)	N=22 (7F/15M)	N=67 (26F/41M)	N=64 (23F/41M)	N=23 (6F/17M)	N=44
STA-Deficient V	81 (64–103)	122 (92–154)	113 (94–141)	97 (67–127)	99 (56–141)	89 (67–141)	118 (78–152)
	N=22 (13F/9M)	N=22 (11F/11M)	N=20 (6F/14M)	N=67 (26F/41M)	N=64 (23F/41M)	N=20 (5F/15M)	N=44
STA-Deficient VII	70 (52–88)	86 (67–107)	128 (83–160)	111 (72–150)	113 (70–156)	118 (69–200)	129 (61–199)
	N=22 (12 F/10M)	N=22 (11F/11M)	N=20 (6F/14M)	N=66 (25F/41M)	N=64 (23F/41M)	N=22 (6F/16M)	N=44
STA-Deficient VIII	182 (105–329)	159 (83–274)	94 (54–145)	110 (36–185)	117 (52–182)	120 (59–200)	160 (52–290)
	N=20 (9F/11M)	N=25 (12F/13M)	N=21 (6F/15M)	N=45 (26F/19M)	N=52 (20F/32M)	N=24 (6F/18M)	N=44
STA-Deficient IX	48 (35–56)	72 (44–97)	71 (43–121)	85 (44–127)	96 (48–145)	111 (64–216)	130 (59–254)
	N=24 (11F/13M)	N=23 (11F/12M)	N=21 (5F/16M)	N=44 (25F/19M)	N=51 (19F/32M)	N=25 (6F/19M)	N=44
STA-Deficient X	55 (46–67)	60 (46–75)	95 (77–122)	98 (72–125)	97 (68–125)	91(53–122)	124 (96–171)
	N=22 (12 F/10M)	N=22 (11F/11M)	N=21 (6F/15M)	N=66 (25F/41M)	N=49 (20F/29M)	N=24 (7F/17M)	N=44
STA-Deficient XI	30 (7–41)	57 (24–79)	89 (62–125)	113 (65–162)	113 (65–162)	111 (65–139)	112 (67–196)
	N=20 (10F/10M)	N=22 (11F/11M)	N=22 (6F/16M)	N=41 (24F/17M)	N=50 (18F/32M)	N=24 (5F/19M)	N=44
STA-Deficient XII	58 (43–80)	53 (13–97)	79 (20–135)	85 (36–135)	81 (26–137)	75 (14–117)	115 (35–207)
	N20 (9F/11M)	N=21 (11F/10M)	N=11 (7F/14M)	N=39 (20F/19M)	N=45 (17F/28M)	N=22 (7F/15M)	N=44
INHIBITORY KRZEPNIĘCIA (%)							
Antytrombina	76 (58–90)	74 (60–89)	109 (72–134)	116 (101–131)	114 (95–134)	111 (96–126)	96 (66–124)
STA-Stachrom AT III	N=21 (9F/12M)	N=22 (10F/12M)	N=41 (8F/33M)	N=49 (26F/23M)	N=59 (25F/34M)	N=26 (8F/18M)	N=43
Białko C							
met. chromogenna	36 (24–44)	4 (28–54)	71 (31–112)	96 (65–127)	100 (71–129)	94 (66–118)	104 (74–164)
STA-Stachrom							
Protein C	N=22 (9F/13M)	N=21 (10F/11M)	N=25 (5F/20M)	N=42 (21F/21M)	N=53 (21F/32M)	N=25 (8F/17M)	N=42
Białko C							
met. krzepnięciowa	32 (24–40)	33 (24–51)	77 (28–124)	94 (50–134)	94 (64–125)	88 (59–112)	103 (54–166)
STA-Staclo							
Protein C	N=20 (9F/11M)	N=22 (11F/11M)	N=24 (4F/20M)	N=39 (16F/23M)	N=50 (17F/33M)	N=20 (6F/14M)	N=44
Białko S							
met. krzepnięciowa	36 (28–47)	49 (33–67)	102 (29–162)	101 (67–136)	109 (64–154)	103 (65–140)	75 (54–103)
STA-Staclo Protein S	N=22 (13F/9M)	N=24 (11F/13M)	N=41 (8F/33M)	N=49 (26F/23M)	N=59 (25F/34M)	N=27 (9F/18M)	N=44
D-DIMERY (mg/ml)							
STA-Liatest D-Di	1,47 (0,41–2,47)	1,34 (0,58–2,74)	0,22 (0,11–0,42)	0,25 (0,09–0,53)	0,26 (0,10–0,56)	0,27 (0,16–0,39)	0,18 (0,05–0,42)
	N=20 (10F/10M)	N=23 (12F/11M)	N=20 (7F/13M)	N=40 (19F/21M)	N=39 (12F/27M)	N=21 (6F/15M)	N=32 (19F/13M)

M=pleć męska F=pleć żeńska

Wybitne osiągnięcia w dziedzinie diagnostyki laboratoryjnej w 2005 roku

Nagroda Specjalna im. prof. dr. Jana Sznajda dla dr Mirosławy Pietruczuk

Dr hab. n. med. Mirosława Pietruczuk w 1983 roku ukończyła z wyróżnieniem studia na Wydziale Farmaceutycznym z Oddziałem Analityki Medycznej Akademii Medycznej w Białymstoku i podjęła pracę jako asystent w Zakładzie Chemii Ogólnej AMB, a następnie w Instytucie Diagnostyki Laboratoryjnej AMB. W 1987 roku uzyskała I stopień specjalizacji, a trzy lata później tytuł specjalisty z diagnostyki laboratoryjnej. W 1992 roku awansowała na stanowisko adiunkta Zakładu Diagnostyki Hematologicznej AMB, w którym pracuje do dziś.

Jest członkiem Zarządu Białostockiego Oddziału Polskiego Towarzystwa Hematologów i Transfuzjologów, członkiem Polskiego Towarzystwa Diagnostyki Laboratoryjnej oraz Polskiego Towarzystwa Cytometrii.

Działalność naukowa dr hab. n. med. Mirosławy Pietruczuk dotyczy następujących kierunków badań: oceny stanu czynnościowego limfocytów u osób przewlekle nadużywających alkoholu, oceny immunofenotypu limfocytów u noworodków eutroficznych i hipotroficznych, badań czynników regulujących apoptozę komórek nowotworowych.

W 1991 roku uzyskała stopień doktora nauk medycznych w zakresie biologii medycznej na Wydziale Lekarskim Akademii Medycznej w Białymstoku.

W latach 1990–1994 odbyła szereg szkoleń z zakresu technik cytochemicznych, cytoenzymatycznych i cytofluorymetrycznych. W 1994 roku ukończyła *The Third Central European Summer School of Immunology* w Koszycach na Słowacji.

W 2005 r. uzyskała tytuł dr. hab. n. med. w zakresie biologii medycznej na Wydziale Lekarskim AMB.

Dorobek naukowy dr hab. n. med. Mirosławy Pietruczuk obejmuje 90 publikacji

(42 prace oryginalne i 48 komunikatów zjazdowych), opublikowanych w czasopiśmie naukowych i materiałach zjazdowych. 23 oryginalnych prac zostało wydrukowanych w czasopiśmie indeksowanych w bazie Medline, a 7 w Current Contents. Łączna punktacja KBN wynosi 201 punktów, zaś sumaryczny Impact Factor jest równy 7,63. 48 komunikatów zjazdowych przedstawiono na 13 kongresach międzynarodowych oraz 35 zjazdach krajowych. Za pracę naukową otrzymała w 1994 roku nagrodę zespołową I-go stopnia Jego Magnificencji Rektora AMB oraz nagrody zespołowe II stopnia Jego Magnificencji Rektora AMB w 1995 i 2004 roku.

Od początku swojej pracy zawodowej dr hab. n. med. Mirosława Pietruczuk uczestniczy w prowadzeniu wykładów i ćwiczeń z *Laboratoryjnej diagnostyki hematologicznej* na Wydziale Lekarskim oraz z *Hematologii laboratoryjnej* w Oddziale Medycyny Laboratoryjnej. Od czterech lat jest opiekunem studentów IV roku kierunku *analityka medyczna*. Jest promotorem 11 prac magisterskich. Od 2004 roku dr hab. n. med. Mirosława Pietruczuk jest opiekunem Studenckiego Koła Naukowego Diagnostów Laboratoryjnych przy Zakładzie Diagnostyki Hematologicznej AMB.

Prowadzi wykłady i ćwiczenia na dwóch ogólnopolskich kursach doskonalących z zakresu: *Wybrane zagadnienia z diagnostyki hematologicznej niedokrwistości* oraz *Wybrane zagadnienia z diagnostyki chorób rozrostowych i niedoborów immunologicznych*.

Pod jej kierunkiem 21 osób uzyskało I° specjalizacji z zakresu analityki klinicznej, a 6 osób uzyskało tytuł specjalisty diagnostyki laboratoryjnej.

Jako ekspert techniczny PCA i kandydat na audytora wiodącego PCA prowadzi szkolenia dotyczące procedur akredyta-

cyjnych i wdrażania systemu zarządzania jakością w medycznych laboratoriach diagnostycznych, zlecane przez Krajową Izbę Diagnostów Laboratoryjnych.

Od 1985 roku pełni funkcję kierownika Pracowni Cytologii ZDH AMB, w której prowadzi diagnostykę niedokrwistości i chorób rozrostowych układu krwiotwórczego. W 1994 roku wprowadziła cytometrię przepływową do rutynowej diagnostyki hematologicznej w SPSK AMB. Jest członkiem Polskiej Grupy Białaczkowej (PALG) do spraw immunofenotypizacji białaczek.

Dr hab. n. med. Mirosława Pietruczuk pełni na rzecz środowiska diagnostów laboratoryjnych liczne funkcje organizatorsko-społeczne, m.in.:

- Od 2003 roku v-ce prezesa Krajowej Izby Diagnostów Laboratoryjnych i
- przewodniczącej Zespołu Wizytatorów Medycznych Laboratoriów Diagnostycznych
- W 2004 i 2005 roku została powołana przez Ministra Zdrowia na członka Zespołu Ekspertów do opracowania programu specjalizacji w zakresie laboratoryjnej diagnostyki medycznej oraz członka Zespołu Ekspertów ds. opiniowania podmiotów ubiegających się o możliwość prowadzenia staży kierunkowych określonych programem specjalizacji.
- W 2004 roku uzyskała status eksperta technicznego laboratorium badawczego, eksperta technicznego jednostki certyfikującej wyroby, eksperta technicznego jednostki certyfikującej systemy Seria norm ISO 9000 oraz eksperta technicznego jednostki kontrolującej Polskiego Centrum Akredytacji, a także status kandydata na audytora wiodącego laboratorium badawczego i kandydata na audytora technicznego laboratorium badawczego.

Ciągły podskórny wlew insuliny w leczeniu cukrzycy typu 1.

Ciągły podskórny wlew insuliny jest alternatywną formą podawania insuliny. Leczenie metodą klasyczną, opartą na wielokrotnych wstrzyknięciach wciąż jest skazane na niepowodzenia, uwarunkowane istniejącymi różnicami między wydzielaniem i stężeniem insuliny endogennej, a farmakokinetyką i farmakodynamiką stosowanych preparatów tego leku. Przede wszystkim dochodzi do hiperinsulinizmu obwodowego i niedoboru insuliny w krążeniu wrotnym. Dodatkowo czynniki zewnętrzne, takie jak grubość tkanki podskórnej, głębokość iniekcji, miejsce wstrzyknięcia, czy temperatura ciała wpływają na czas i szczyt działania podawanych podskórnie insulin. Jedną z przyczyn złej kontroli metabolicznej jest niechęć pacjentów do zastrzyków, lęk przed igłą lub niski próg bólowy. Wstrzykiwanie insuliny egzogennej związane jest również z wysokim ryzykiem ciężkich hipoglikemii. Szukając wciąż nowych rozwiązań, wprowadzono do praktyki klinicznej nowe cząsteczki – analogi insuliny (Lispro, Aspart, Glargin, Apidra, Detemir). Poszukuje się również alternatywnych dróg podania leku, np. drogi oddechowej i przewód pokarmowy, czy ciągły podskórny wlew insuliny.

Historia leczenia pompami infuzyjnymi sięga przeszło 25 lat. W metodzie tej zastrzyki z insuliny zastąpione są ciągłym wlewem, podczas którego jest ona podawana przez pompę.

Pompa insulinowa jest urządzeniem ważącym ok. 100 gram, składającym się z silnika, programatora, zbiornika z insuliną i drenu. Zbiornik z insuliną łączony jest z drenem, którego koniec wprowadzany jest do tkanki podskórnej. Końcówki drenu są wykonane z teflonu lub z metalu, mają różną długość, tak aby indywidualnie dopasować je do potrzeb pacjenta. Dawkowaniem insuliny zajmuje się elektroniczny programator, ustawiany przez pacjenta do każdego posiłku, lub automatycznie w ciągłym wlewie, niezależnie od posiłków. Pompa zawiera funkcje związa-

ne z dawkowaniem insuliny, takie jak: bolus, baza, zatrzymanie i uruchomienie pompy, napełnianie drenu, oraz funkcje pomocnicze, służące do ustawiania dodatkowych parametrów. Bolus oznacza jednorazową dawkę podawaną w sposób programowany i uwalniany do posiłku, oraz jako korektę przy hiperglikemii. Baza oznacza ciągły wlew insuliny, podczas którego insulina jest uwalniana w równych odstępach, według indywidualnie wprowadzonego programu. Baza imituje podstawowe wydzielanie insuliny, a bolus – pierwszą i drugą fazę wyrzutu insuliny przez komórki β .

W leczeniu metodą ciągłego podskórnego wlewu stosuje się tylko jeden rodzaj insuliny i z wyboru są to preparaty insulin monomerycznych – analogowych (Lispro i Aspart). Jeżeli zachodzi konieczność użycia insuliny ludzkiej krótkodziałającej, musi być ona buforowana, w innym przypadku odkłada się na ściankach drenu, przyczyniając się od jego niedrożności.

Podczas wielu badań przeprowadzonych w ostatnich latach wykazano, że insulina Lispro w porównaniu do insuliny ludzkiej jest efektywniejsza w kontroli glikemii poposiłkowej i wartości HbA_{1c}, oraz w zmniejszeniu częstości epizodów hipoglikemii. Podobnie insulina Aspart, która w wielu krajach rejestrowana jest do

stosowania w terapii z zastosowaniem pompy infuzyjnej.

Najczęściej terapię przy użyciu pompy insulinowej stosuje się u pacjentów leczonych intensywną insulinoterapią, w której zasady dawkowania insuliny posiłkowej i podstawowej są podobne, jak przy ciągłym podskórnym wlewem. Pacjenci leczeni konwencjonalnie wymagają dodatkowego szkolenia w zakresie zasad terapii. Zmiana metody leczenia może być przeprowadzona w warunkach szpitalnych lub ambulatoryjnych, zależnie od doświadczenia ośrodka diabetologicznego i stopnia współpracy pacjenta z ośrodkiem. Powszechnie leczenie ciągłą infuzją wprowadzane jest u pacjentów z co najmniej rocznym stażem choroby, jednak wiele klinik diabetologicznych rozpoczyna leczenie z użyciem pompy w pierwszych tygodniach po rozpoznaniu cukrzycy.

Pompy oferowane przez Roche Diagnostics charakteryzują się bardzo dużą precyzją: insulina jest podawana co 3 minuty, co naśladuje fizjologię wydzielania insuliny przez zdrową trzustkę. Dostępne modele to: H-TRONplus, Accu-Chek D-TRONplus i Accu-Chek Spirit.

Piśmiennictwo:

„Cukrzyca typu 1.” pod redakcją prof. Ewy Otto-Buczkowskiej.



Pompa insulinowa Accu-Chek Spirit



CoaguChek® XS

Samokontrola wskaźnika INR jest prosta

CoaguChek®
Because it's my life

Wybierz własną drogę

Jesteś w trakcie długookresowego leczenia doustnymi lekami przeciwzakrzepowymi?
Mamy dla Ciebie dobrą wiadomość!

Dzięki **CoaguChek XS** przyjaznemu i bezpiecznemu analizatorowi samokontrola wskaźnika INR jest bardzo prosta.
Ten wysokiej jakości aparat, nie większy niż dłoń, precyzyjnie oznacza wskaźnik INR w ciągu minuty.

Częsta samokontrola wskaźnika INR pomaga utrzymać właściwy zakres terapeutyczny i uniknąć ryzyka powikłań.
Poczucie bezpieczeństwa i niezależność! Po prostu ciesz się życiem!

Spytaj lekarza specjalistę lub przedstawiciela Roche Diagnostics, w jaki sposób można nabyć system **CoaguChek XS**.
Więcej informacji na stronach internetowych (adresy poniżej).

COAGUCHEK and BECAUSE IT'S MY LIFE
są znakami towarowymi należącymi do Roche.

Roche Diagnostics Polska Sp. z o.o., 01-531 Warszawa
Wybrzeże Gdyńskie 6 B, tel. (0-22) 481 55 55

www.coaguchek.pl www.rochediagnostics.pl



Diagnostics