

LabForum

*NT-**pro**BNP: Pewność
w diagnozie niewydolności
mięśnia sercowego*

ISSN 1644-8448

nakład: 1000 egz.

Nr
18



Dokładny pomiar – pewne trafienie

Elecsys® *pro*BNP

Profesjonalizm informacji kardiologicznej



Profesjonalizm testu
Elecsys® **proBNP**:

- **P**rognozowanie ryzyka uszkodzenia mięśnia sercowego.
- **R**ealne wykluczenie uszkodzenia mięśnia sercowego u pacjentów z objawami klinicznymi.
- **O**ptymalizacja leczenia uszkodzenia mięśnia sercowego poprzez monitorowanie terapii.

NT-**pro**BNP: Test laboratoryjny rozpoznający z dużym prawdopodobieństwem niewydolność mięśnia sercowego



Diagnostics

Szanowni Państwo,

Oddając w Państwa ręce 18 numer „LabForum” chciałbym zwrócić uwagę na międzynarodową kampanię edukacyjną skierowaną do lekarzy, poświęconą nowoczesnemu parametrowi diagnostyki uszkodzeń mięśnia sercowego, jakim jest NT-**pro**BNP, o którym wspominaliśmy na łamach naszego kwartalnika już niejednokrotnie.

Peptyd natriuretyczny typu-B jest wydzielany w komorach serca w odpowiedzi na rozciąganie mięśnia sercowego wywołane jego nadmiernym obciążeniem. We krwi można stwierdzić obecność między innymi N-końcowych fragmentów prohormonu. Podwyższone stężenie NT-**pro**BNP jest związane z obniżeniem sprawności funkcji mięśnia sercowego, a wartości znajdujące się w zakresie prawidłowym mają bardzo wysoką ujemną wartość predykcyjną (bliską 100%) wykluczając z dużym prawdopodobieństwem jego dysfunkcję. Wartość NT-**pro**BNP wykazuje korelację z zaawansowaniem chorób serca i dlatego może także mieć znaczenie prognostyczne, pozwalając na stratyfikację ryzyka pacjentów z przewlekłą niewydolnością serca i ostrym zespołem wieńcowym. Ponadto wartości NT-**pro**BNP mogą być również wykorzystane do optymalizacji terapii.

Jednocześnie pragnę poinformować, że test diagnostyczny naszej firmy – Elecsys® **pro**BNP – został zatwierdzony przez FDA (Food and Drug Administration) do stosowania nie tylko w diagnostyce niewydolności mięśnia sercowego, ale również do oceny ryzyka w ostrych zespołach wieńcowych (ACS) oraz zastoinowej niewydolności serca (CHF). Test ten szybko i z dużą precyzją oznacza poziom NT-**pro**BNP w surowicy i osoczu, odpowiadając potrzebom klinicznym. Dlatego też polecając uwadze jego zalety liczę, iż zarekomendują go Państwo do szerokiego stosowania w rutynowym procesie diagnostycznym.

Z poważaniem,

Andrzej Banaszkiewicz

Dyrektor Generalny

Roche Diagnostics Polska Sp. z o.o.

Spis treści:

NT- pro BNP: Test laboratoryjny rozpoznający z dużym prawdopodobieństwem niewydolność mięśnia sercowego	2
Terapeutyczne monitorowanie leków, cz. I	3-5
Białko C-reaktywne – zastosowane w prewencji i leczeniu chorób naczyniowo-sercowych, cz. II	6-7
Przenośne koagulometry CoaguChek® przeznaczone do diagnostyki przy łóżku pacjenta	7-10
Białko S-100B w diagnostyce biochemicznej	10-11
MagNA Pure Compact	12

Nasz adres:

Roche Diagnostics Polska Sp. z o.o.;
Centrum Biurowe „Klif”
ul. Okopowa 58/72, 01-042 Warszawa

centrala: tel. 0-22/531 48 00
faks 0-22/531 48 22

serwis: tel. 0-22/531 48 45
faks 0-22/531 48 53
dział zamówień: tel. 0-22/531 48 30-35
faks 0-22/531 48 37

internet: www.rochediagnostics.pl

Terapeutyczne monitorowanie leków, cz. I

Bogdan Solnica, Katedra Biochemii Klinicznej, Collegium Medicum UJ, Kraków

Terapeutyczne monitorowanie leków (TML) (*Therapeutic Drug Monitoring, TDM*) można zdefiniować jako wykorzystywanie stężeń leków oznaczanych we krwi do tworzenia, realizacji i kontroli skutecznych i bezpiecznych schematów farmakoterapii. Teoretyczne podstawy dla TML stworzyła farmakokinetyka, nauka badająca przebieg w czasie (kinetykę) procesów, jakim podlega wprowadzony do organizmu lek. Substancja lecznicza ulega najpierw uwolnieniu z formulacji farmaceutycznej (tabletki, zawiesiny i in.) i wchłonięciu z miejsca podania. Następnie, po dostaniu się do krwi, cząsteczki leku wiążą się z białkami przenośnikowymi w stopniu będącym własnością leku, zależnym również od stanu białek osocza. Wolna frakcja leku ulega dystrybucji w tkankach organizmu, docierając też do miejsca swojego działania. Ostatecznie lek ulega eliminacji drogą metabolizmu wątrobowego i/lub wydalania przez nerki. Oznaczanie stężenia leku we krwi daje wgląd w środkowy etap jego przemian w organizmie i pozwala na oszacowanie kinetyki tych procesów (Rys. 1). U podstaw TML leży zatem założenie, że istnieje istotna zależność pomiędzy stężeniem leku oznaczanym we krwi a efektem farmakologicznym, i jest ona silniejsza od zależności pomiędzy dawką leku a efektem jego działania.

Zadaniem TML jest zwiększenie skuteczności i bezpieczeństwa farmakoterapii oraz obniżenie jej globalnych kosztów. Te ostatnie obejmują również koszty nieskutecznego leczenia i koszty leczenia zatruc lekiem. Osiągnięcie tych celów wymaga optymalizacji postępowania w zakresie:

- doboru leków, których stężenie ma być monitorowane z uwzględnieniem kryteriów spełnianych przez leki oraz potrzeb użytkowników wyników;
- klinicznych wskazań do podejmowania TML;
- standaryzacji fazy przedanalizycznej;

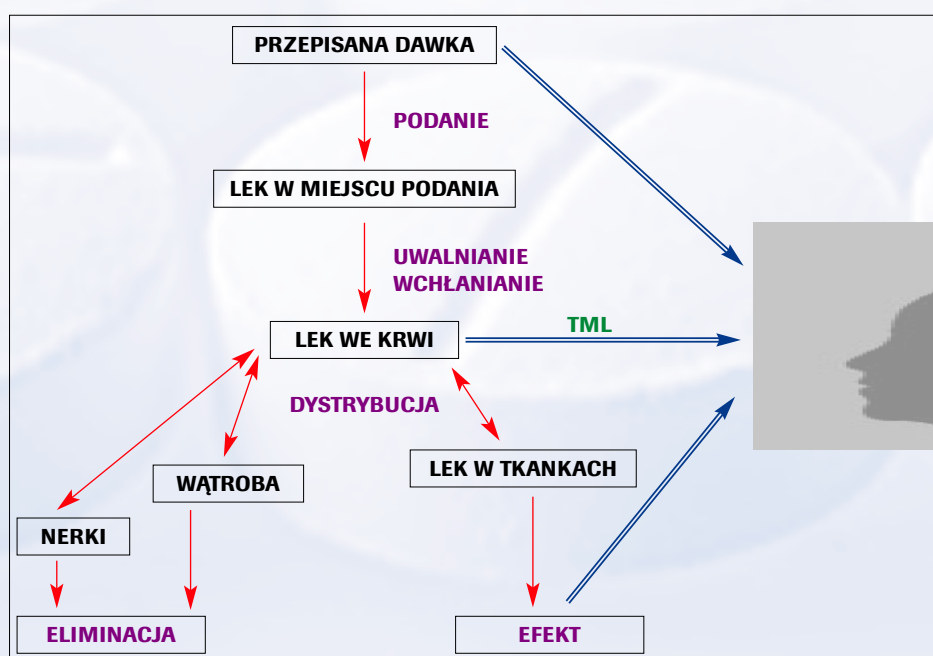
- wyboru metody oznaczania stężenia leków, stosownej do potrzeb, spełniającej standardy jakości analitycznej;
- właściwej interpretacji i wykorzystania wyników oznaczeń.

Podstawowym kryterium warunkującym przydatność monitorowania stężenia leku jest udowodniony związek pomiędzy stężeniem leku we krwi, jego stężeniem w tkankach i efektem farmakologicznym. Wykazanie takiego związku umożliwia określenie zakresów terapeutycznych i toksycznych stężeń leku we krwi. Leki, których stężenie jest monitorowane charakteryzują się odwracalnością efektu farmakologicznego. Oznacza to, że lek działa tak długo, jak długo można wykryć jego obecność we krwi. Cechą tych leków jest także niski wskaźnik terapeutyczny, co oznacza, że dawka leku zapewniająca działanie lecznicze jest zbliżona do dawki mogącej wywołać objawy toksyczne. O przydatności TML decyduje też znaczna międzysobnicza zmienność farmakokinetyki lub farmakokinetyka nieliniowa. Kolejnym kryterium jest charakterystyka



działań toksycznych leku, szczególnie gdy są one trwałe lub bezpośrednio zagrażające życiu oraz gdy ich objawy są podobne do objawów choroby leczonej danym lekiem. Bardzo istotny jest wreszcie brak jednoznacznych wskaźników skutecznego działania, jak np. w przypadku leków przeciwaritmicznych lub immunosupresyjnych. Kryteria te spełniane są przez stosunkowo niewielką liczbę leków, w przypadku których monitorowanie ich stężenia we krwi jest uzasadnione i przydatne w praktyce klinicznej (Tab. 1).

Racjonalne wykorzystanie TML wymaga podejmowania go wyłącznie w obec-



Rys. 1. Schemat przemian leku w organizmie. Rola TML jako źródła informacji o prowadzonej farmakoterapii

Tabela 1. Zakresy stężeń terapeutycznych i biologiczne okresy półtrwania monitorowanych leków.

Lek	Zakres stężeń terapeutycznych	Okres półtrwania (średni, godz.)*
Leki nasercowe		
Digoksyna	0,5–1,2 ng/ml	40
Digitoksyna	10–25 ng/ml	150
Leki przeciwaritmiczne		
Chinidyna	2–5 µg/ml	6
Lidokaina	1,5–5 µg/ml	2
Dyzopiramid	2–5 µg/ml	7
Prokainamid	4–10 µg/ml	4
N-acetyloprokainamid	6–20 µg/ml	8
Amiodaron	1–2,5 µg/ml	70 dni
Leki rozszerzające oskrzela		
Teofilina	8–20 µg/ml (dorośli) 6–11 µg/ml (wcześniaki)	7 (dorośli) 30 (wcześniaki)
Leki przeciwpadaczkowe		
Fenytoina	10–20 µg/ml	<i>Farmakokinetyka nieliniowa</i>
Karbamazepina	4–10 µg/ml	17
Kwas walproinowy	50–100 µg/ml	14
Fenobarbital	10–40 µg/ml	80
Prymidon	5–15 µg/ml	14
Antybiotyki		
Gentamycyna	Maks. 5–10 µg/ml Min. <2 µg/ml	2
Tobramycyna	Maks. 5–10 µg/ml Min. <2 µg/ml	2
Amikacyna	Maks. 20–30 µg/ml Min. <5 µg/ml	2
Netylmycyna	Maks. 5–12 µg/ml Min. <3 µg/ml	2
Wankomycyna	Maks. 20–40 µg/ml Min. 5–10 µg/ml	7
Leki cytostatyczne		
Metotreksat**	<10 µmol/L po 24 godz. <0,5–1 µmol/L po 48 godz. <0,05–0,1 µmol/L po 72 godz.	
Leki immunosupresyjne		
Cyklosporyna A	100–300 ng/ml	7
Tacrolimus	10–20 ng/ml	30
Leki przeciwdepresyjne		
Lit	0,3–1,3 mmol/L	24

* Przy prawidłowej czynności wątroby i nerek.

** Progowe (krytyczne) stężenia metotreksatu po zakończeniu wlewu dożylnego.

Maks. – maksymalne stężenie w przedziale dawkowania, próbka pobrana 0,5 do 1 godz. po podaniu leku.

Min. – minimalne stężenie w przedziale dawkowania, próbka pobrana bezpośrednio przed podaniem kolejnej dawki leku.

ności wskazań klinicznych. Optymalny efekt terapeutyczny u wielu chorych uzyskuje się stosując standardowe schematy dawkowania, dostosowane do populacyjnych wartości parametrów farmakokinetycznych opisujących przemianę leku w organizmie. Uogólniając można stwierdzić, że wskazania do TML dotyczą chorych, u których dawkowanie leku musi być dobrane indywidualnie. Wskazania te mogą się pojawić już w trakcie stosowania

leku, jak brak oczekiwanego efektu terapeutycznego pomimo podawania leku w standardowych dawkach lub wystąpienie objawów wskazujących na toksyczne działanie leku. Inne wskazania do TML można określić *a priori* jeszcze przed rozpoczęciem leczenia. Należą do nich schorzenia narządów odpowiedzialnych za eliminację leku (nerki, wątroba). W takim przypadku można oczekiwać zwolnionej eliminacji leku, co wiąże się z ryzykiem je-

go kumulacji w organizmie i zatrucia. Należy wtedy odpowiednio zmodyfikować dawkowanie leku i monitorować jego stężenie we krwi. Innym wskazaniem do TML są interakcje z innymi lekami w fazie farmakokinetycznej (wpływ jednych leków na wchłanianie lub eliminację innych). Np. lek przeciwaritmiczny, amiodaron, podany choremu zażywającemu digoksynę powoduje zwolnienie jej eliminacji i zwiększenie stężenia we krwi, co

również wymaga modyfikacji dawkowania pod kontrolą stężenia leku. Listę klinicznych wskazań do TML zamyka brak wiarygodnych informacji o wcześniejszym zażywaniu leku, albo podejrzenie braku współpracy pacjenta (*noncompliance*), szczególnie w leczeniu ambulatoryjnym.

Stężenie leków oznacza się w surowicy lub osoczu krwi żyłnej (heparyna, EDTA). Cyklosporynę A i *tacrolimus* oznacza się w pełnej krwi żyłnej pobranej na EDTA. Najczęstszym błędem przedlaboratoryjnym w TML jest niewłaściwy czas pobierania próbek krwi. Powinien on być dostosowany do schematu dawkowania leku. Monitorowanie stężenia leku powinno się rozpocząć dopiero po osiągnięciu stanu stacjonarnego (*steady state*). W stanie stacjonarnym stężenia leku we krwi i w tkankach korelują ze sobą najlepiej, a stężenia leku we krwi oznaczone w tych samych punktach czasowych przedziału dawkowania powinny być takie same (uwzględniając zmienność analityczną). Wtedy można zatem oczekiwać najsilniejszego związku między stężeniem leku we krwi i efektem farmakologicznym. Stan stacjonarny jest osiągany po upływie czasu równego 4–5 biologicznym okresom półtrwania leku (Tab. 1). Zgodnie z tym np. monitorowanie stężenia digoksyny powinno się rozpocząć w drugim tygodniu leczenia, a netylmycyny – już w drugiej dobie. Stężenia leku oznaczane przed osiągnięciem stanu stacjonarnego są zwykle niskie, co może prowadzić do błędnej interpretacji wyników i nieadekwatnej modyfikacji dawkowania. Próbkę krwi powinny być ponadto pobierane po zakończeniu wchłaniania i dystrybucji w tkankach poprzedniej dawki leku. Stężenia leku oznaczane w czasie jego wchłaniania są zwykle wysokie, ale nie odzwierciedlają jego stężenia w tkankach. Wyniki takich oznaczeń mogą również być źle interpretowane i być przyczyną zmniejszenia dawek leku lub nawet odstawienia go. Przyjęto ogólnie, że dla większości leków oznacza się ich minimalne stężenie w przedziale dawkowania (*trough concentration*), pobierając próbkę krwi bezpośrednio przed podaniem kolejnej dawki leku. Niekiedy istnieje potrzeba oznaczenia stężenia maksymalnego (*peak concentration*). Czas po-



brania próbki krwi jest wtedy zależny od formulacji farmaceutycznej leku i drogi jego podania. W przypadku monitorowania stężenia cyklosporyny A oznacza się jej stężenie również w 2 i 4 godzinie po podaniu.

Leki występują we krwi w stężeniach rzędu $\mu\text{g/L}$ do mg/L . Są one oznaczane przy użyciu metod chromatograficznych i immunochemicznych. Z metod chromatograficznych zastosowanie w TML znajduje chromatografia gazowa z ciekłą fazą stacjonarną (GLC) oraz wysokosprawną chromatografię cieczową (HPLC). Dzięki automatyzacji metod chromatograficznych mogą one być stosowane nie tylko w placówkach naukowo-badawczych lecz również w laboratoriach diagnostycznych. Najszersze zastosowanie w TML mają jednak niezotopowe homogenne metody immunochemiczne – enzymoimmunologiczne (EMIT, MEIA), immunofluorescencyjne (FIA), immunofluorescencyjno-polarizacyjne (FPIA), immunoluminometryczne (LIA), immunoturbidymetryczne i in. Dopuszczalna zmienność analityczna w TML jest wiązana z zakresami stężeń terapeutycznych poszczególnych leków. Akceptowalne wartości współczynnika zmienności nieprecyzji wynoszą w zależności od leku i przyjętych kryteriów od 0,6% do 11,5%. Przy użyciu powszechnie stosowanych metod immunochemicznych oznacza się całkowite stężenie leku we krwi. W przypadku leków o wysokim stopniu wiązania z białkami przenośnikowymi (np. fenytoina, kwas walproinowy) przydatne może być oznaczanie stężenia wolnej frakcji leku we krwi. Jeśli bowiem z jakiegokolwiek powodu stopień wiązania cząsteczek leku z białkami zmniejszy się np. z 98% do 96%, to stężenie wolnej frakcji leku podwoi się. Może to być przyczyną wystąpienia objawów

toksycznych przy prawidłowym (terapeutycznym) całkowitym stężeniu leku we krwi. Ze względu na trudności metodyczne oznaczenia wolnej frakcji leku, nie są jednak szeroko dostępne w laboratoriach diagnostycznych.

Istotnym problemem analitycznym w TML jest występowanie metabolitów leków, które mogą mieć strukturę mniej lub bardziej zbliżoną do substancji macierzystej oraz zachowywać w mniejszym lub większym stopniu jego aktywność farmakologiczną. Np. spośród kilkunastu metabolitów cyklosporyny A niektóre z nich zachowują aktywność immunosupresyjną. Przeciwciała przeciwko cząsteczkom leków stosowane w metodach immunochemicznych mogą wykazywać krzyżową reaktywność z ich metabolitami. Ilościowe oznaczanie niektórych metabolitów wymaga stworzenia odrębnej metody immunochemicznej (np. do oznaczania N-acetyloprokainamidu lub MEGX – metabolitu lidokainy) lub posługiwania się metodami chromatograficznymi.

cd. w następnym numerze

Piśmiennictwo

1. Oellerich M. *Therapeutic Drug Monitoring*, w: Thomas L. (red.): *Clinical Laboratory Diagnostics Use and Assessment of Clinical Laboratory Results*. TH-Books Verlagsgesellschaft GmbH, Frankfurt/Mein 1998: 1145–1157
2. Hallworth M., Capps N. *Therapeutic Drug Monitoring & Clinical Biochemistry*. ACB Venture Publications, London 1993
3. Solnica B. *Terapeutyczne monitorowanie leków*, w: Dembińska-Kieć A., Naskalski J.W. (red.): *Diagnostyka laboratoryjna z elementami biochemii klinicznej*. Urban & Partner, Wrocław 2002: 907–932
4. Steele B.W., Wang E., Palomski G.E., Klee G.G., Elin R.J., Soldin S.J. et al. *An Evaluation of Analytic Goals for Assays of Drugs*, A College of American Pathologists *Therapeutic Drug Monitoring Survey Study*. *Arch Pathol Lab Med* 2001; 125:729–735
5. Rathore S.S., Curtis J.P., Wang Y., Bristow M.R., Krumholz H.M. *Association of serum digoxin concentration and outcomes in patients with heart failure*. *JAMA* 2003; 289:871–878

Białko C-reaktywne – zastosowane w prewencji i leczeniu chorób naczyniowo-sercowych, cz. II

Wiesław Piechota, Wiktor Piechota, Zakład Diagnostyki Laboratoryjnej i Klinika Chorób Wewnętrznych i Kardiologii Wojskowego Instytutu Medycznego w Warszawie

cd. z poprzedniego numeru

Wybrane aspekty analityczne

Najczęściej stosowanymi dzisiaj rutynowymi metodami do oznaczeń CRP są metody immunoturbidymetryczne lub immunonefelometryczne ze wzmocnieniem lateksowym w celu zwiększenia czułości. Istnieją również czułe metody ELISA i RIA (rzadko dziś wykorzystywana do oznaczania CRP), w których czułość jest rzędu 0,2 mg/L. Metody legitymujące się taką czułością nazywamy metodami o wysokiej czułości (*high sensitivity*). Dawniej, kiedy wykorzystywano CRP jako białko ostrej fazy, w którym stężenia wzrastały od kilku do 1000 razy, czułość nie była parametrem krytycznym. Czułość analityczna nabrała znaczenia w momencie stwierdzenia przydatności stężeń CRP nie wyższych niż 10 mg/L do określania prawdopodobieństwa przyszłych incydentów sercowo-naczyniowych.

Istnieją dzisiaj także metody o podwyższonej czułości (ale nie ultraczułe), które mogą jednak wykazywać przydatność do prognozowania ryzyka chorób układu krążenia. Przykładem takiej metody może być immunoturbidymetryczna metoda oznaczania CRP za pomocą analizatora COBAS Integra firmy Roche o nominalnej czułości 0,7 mg/L. Przydatność takich metod zależy w głównej mierze od precyzji oznaczeń stężeń stanowiących punkty odcięcia dla zwiększonego ryzyka.

Postanowiliśmy określić precyzję pomiarów CRP za pomocą analizatora COBAS Integra 800 na poziomie stężeń zbliżonych do opisanych wcześniej poziomów ryzyka, tj. pomiędzy 1 i 3 mg/L. Ponadto określiliśmy stopień korelacji oznaczeń CRP uzyskanych za pomocą analizatora COBAS Integra i oznaczeń otrzymanych przy wykorzystaniu meto-

dy o wysokiej czułości i nefelometru firmy DADE-Behring. Precyzję określono stosując zmodyfikowany schemat NCCLS i wykorzystując trzy próbki od pacjentów (takie, które pobrano w odpowiedniej objętości i z odpowiednimi stężeniami CRP) i jedną komercyjną próbkę kontrolną. W każdej próbce oznaczano codziennie CRP czterokrotnie przez 5 dni uzyskując po 20 pomiarów. Wyniki zestawiono w tabeli 2. Badania korelacyjne dwóch metod wykonano oznaczając CRP w próbkach 110 pacjentów, u których nie przekraczało ono 5 mg/L.

oceny ryzyka incydentów sercowo-naczyniowych.

Jeszcze bardziej utwierdza w tym przekonaniu praktycznie idealna korelacja wyników oznaczeń CRP z oznaczeniami hsCRP (*high sensitivity* – o wysokiej czułości) przedstawiona na rycinie 4. O znakomitej zgodności obu metod świadczy zarówno współczynnik korelacji (w zaokrągleniu $r = 0,99$), jak i współczynnik kierunkowy prostej regresji bliski jedności. Ponadto wydaje się, że deklarowana czułość testu CRP firmy Roche została niedoszacowana i jest w rzeczywistości lepsza, co należałoby jeszcze sprawdzić

Tabela 2. Precyzja oznaczeń CRP za pomocą analizatora COBAS Integra 800 firmy Roche

Material	Średnie stężenie mg/L	Odchylenie standardowe	Współczynnik zmienności (%)
Surowica pacjenta 1	1,26	0,095	7,5
Surowica pacjenta 2	2,81	0,083	3,0
Surowica pacjenta 3	3,80	0,101	2,6
Surowica kontrolna	2,98	0,155	5,2

Precyzja oznaczeń przy stężeniu w pobliżu 1 mg/L wynosi 7,5%, a dla stężeń w pobliżu punktu odcięcia 3 mg/L od 3% do 5,2%. Oznacza to, iż precyzja ta jest bardzo dobra – spełnia lub przekracza rozmaite kryteria oceny łącznie z klasycznym kryterium Tonksa. Współczynnik zmienności dla najniższego stężenia wynosi około połowy zmienności wewnętrznej, a więc metoda nadaje się również do monitorowania zmian CRP zachodzących u określonej jednostki w czasie (w tym pod wpływem ewentualnego leczenia). Według Tietza współczesne metody pomiarów białek swoistych występujących w niewielkich stężeniach powinny odznaczać się precyzją wyrażoną współczynnikami zmienności od 5% do 10%. Z punktu widzenia potrzeb precyzji test CRP firmy Roche nadaje się w pełni do



empirycznie. Nadal jeszcze wysoka korelacja z hsCRP ($r = 0,86$) utrzymuje się bowiem dla niskich poziomów (< 1 mg/L).

Można zatem ponad wszelką wątpliwość stwierdzić, że test CRP wykonywany za pomocą analizatorów COBAS Integra nadaje się do szacowania ryzyka chorób sercowo-naczyniowych.

Podsumowanie

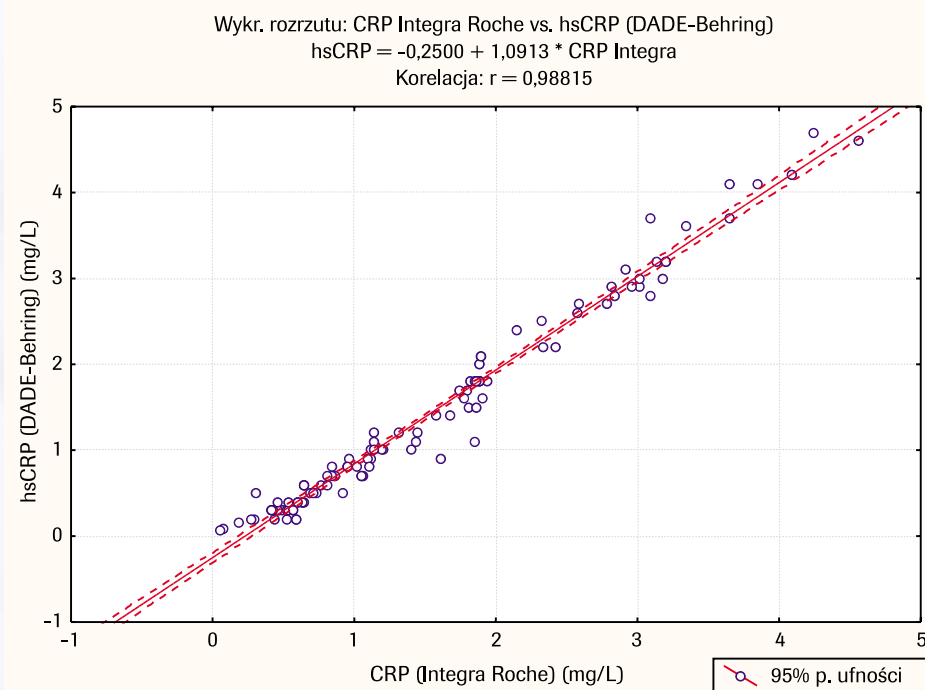
Przewlekłe zapalenie o niskiej intensywności toczące się w śródbłonku naczyniowym jest jednym z nieodłącznych zjawisk w patogenezie miażdżycy. Miara tego zjawiska są umiarkowanie podwyższone stężenia CRP (powyżej 75–80 percentyla rozkładu wartości stężeń w populacji).

CRP jest wskaźnikiem prognostycznym incydentów sercowych (zawał, zgon z przyczyn sercowych, restenoza po angioplastyce wieńcowej i nawracające incydenty niedokrwienne) zarówno u osób początkowo zdrowych jak i pacjentów z chorobą wieńcową. Ryzyko to określa się jako niskie dla stężeń CRP poniżej

1 mg/L, pośrednie dla stężeń od 1–3 mg/L i wysokie powyżej 3 mg/L. W profilaktyce pierwotnej wskazane jest oznaczanie CRP przy okazji pomiaru cholesterolu w celu określenia całosciowego profilu ryzyka i ewentualnego ustalenia wskazań do modyfikacji innych czynników ryzyka lub leczenia statynami.

W profilaktyce wtórnej oznaczanie CRP ma szczególne znaczenie w ostrych zespołach wieńcowych, zazwyczaj w połączeniu z troponiną, w celu określenia ryzyka niekorzystnych powikłań. Jeśli troponina jest w normie, a podwyższone jest jedynie CRP, oznacza to także wzrost ryzyka. W ostrych zespołach wieńcowych nie uzgodniono punktu odcięcia, od którego ryzyko wyraźnie narasta lecz sugeruje się, że może to być stężenie 10 mg/L. Nowe zastosowania pomiarów CRP wykraczają już poza ramy tylko kardiologii, np. mają potencjalne znaczenie w prognozowaniu zespołu metabolicznego, a nawet cukrzycy.

Rycina 4. Korelacja wyników oznaczeń CRP za pomocą analizatora COBAS Integra oraz hsCRP (DADE-Behring)



Piśmiennictwo

1. Silverman L.M., Christenson R.H.: *Aminoacids and proteins*. w: Burtis C.A., Ashwood E.R. (red.): *Tietz textbook of clinical chemistry*. W.B. Saunders Company, Philadelphia, London 1994, 625-734.

Ocena użytkownika

Przenośne koagulometry CoaguChek® przeznaczone do diagnostyki przy łóżku pacjenta

Marian Zembala, Jacek Kaczmarski, Śląskie Centrum Chorób Serca w Zabrzu

W artykule przedstawiono własne doświadczenia próbnej eksploatacji przenośnych koagulometrów z serii CoaguChek® firmy Roche Diagnostics. Ocena użytkownika zawiera opis koagulometrów z podkreśleniem różnic występujących w poszczególnych typach urządzeń oraz własne doświadczenia eksploatacyjne od strony laboratoryjnej, jak i zastosowań diagnostycznych.

Koagulometry CoaguChek® S oraz CoaguChek® Pro DM były sprawdzane w Śląskim Centrum Chorób Serca w Zabrzu, na Oddziale Kardiologii oraz na Oddziale Intensywnej Opieki Medycznej przez 3 miesiące. Koagulometry te są małymi, podręcznymi i nowoczesnymi analizatorami do oznaczeń czasu protrombinowego (PT) wyliczanego (INR), czasu

kaolinowo-kefalinowego (APTT) oraz aktywowanego czasu krzepnięcia (ACT). Pomiary, dzięki ocenianym koagulometrom, mogą być wykonywane przez samych pacjentów w domu, w podróży, w karetce pogotowia i na oddziale szpitalnym.

Model CoaguChek® S z paskiem pomiarowym o krótkiej kapilarze wiskozymetrycznej jest najprostszym koagulometrem tej ro-

dziny przeznaczonym tylko do pomiaru PT. Model Pro to podstawowa wersja koagulometru nowej generacji wyposażonego w kostkę analityczną o długiej, bardzo precyzyjnej ścieżce wiskozymetrycznej. Model Pro nie jest nadmiernie wyposażony w elektronikę i zbędne przyciski numeryczne. Najbardziej rozbudowanym modelem jest wersja Pro DM o uniwersalnym zastosowaniu w gabinecie lekarza pierwszego kontaktu, karetkę pogotowia, izbie przyjęć, jak i na oddziale przy łóżku pacjenta podczas współpracy z siecią komputerową szpitala. Szczegóły dotyczące poszczególnych modeli zostały przedstawione w tabeli 1.

Wspólne cechy

1. Zastosowania pozalaboratoryjne (np. samokontrola czy diagnostyka przy łóżku pacjenta).
2. Koagulometry przystosowane są do pomiarów we krwi pełnej bez stosowania antykoagulantów i koagulantów.
3. Krew pełna może pochodzić z nakłucia skóry (krew włośniczkowa) lub z pobrania z żyły za pomocą strzykawki.
4. Koagulometry mogą być zasilane z sieci 230 V lub baterii.
5. Czas protrombinowy (PT) może być wyrażany jako wartość w sekundach lub przeliczany na iloraz wg Quicka oraz wskaźnik INR.
6. Koagulometr CoaguChek® S wyposażony jest w:

- torbę umożliwiającą transport i przechowywanie,
- zasilacz niskonapięciowy z możliwością stosowania w krajach, w których obowiązuje inny system zasilania,
- nakłuwacz wraz z lancetami,
- instrukcję obsługi,
- baterie w zastosowaniach bezprzewodowych, co pozwala na wykorzystanie koagulometru w podróży lub przy łóżku chorego.

7. Analiza przeprowadzana w koagulometrach posiada wspólne pochodzenie instrumentalne. Czas powstawania skrzepu jest mierzony metodą wiskozymetryczną w rurce kostki analitycznej (paska).

Instrumentalna procedura analityczna

W koagulometrach CoaguChek® serii S i Pro firmy Roche zastosowano kostki analityczne jednorazowego użytku wyposażone w kapilarę wiskozymetryczną zawierającą odpowiednie dla parametru odczynniki i cząsteczki tlenku żelaza. Po wprowadzeniu kostki do szczeliny pomiarowej koagulometru, program przy pomocy promienia lasera i reflektometrycznego detektora sprawdza kinetykę przesuwania się czoła słupa krwi w kapilarze wiskozymetrycznej. Detektor refleksyjności wykrywa zatrzymanie się słupa krwi w kapilarze. W celu poprawienia parametrów dynamiki pomiaru proces analityczny prowadzony jest w temperaturze 37°C oraz w dwóch strumieniach magnetycznych.

Stały magnes przyciąga cząsteczki tlenku żelaza, a elektromagnes o częstotliwości pulsu 2 Hz miesza próbkę i poprawia dynamikę przepływu kapilarnego. Tak wystandaryzowane warunki pozwalają na uzyskiwanie bardzo dobrych precyzji pomiaru, nawet przy obsłudze nie przeszkolonej laboratoryjnie. Instrumentalna analiza wiskozymetryczna jest, po metodach optycznych, najczęściej stosowaną procedurą w koagulologii.

Własne doświadczenia

Ocenie poddano zarówno funkcjonalność koagulometrów, jak i dokładność pomiarową, precyzję w postaci powtarzalności jednoczasowej oraz odtwarzalności w czasie wielu dni. Badania wykonano z zastosowaniem ocenianych koagulometrów w odniesieniu do analizatora koagulologicznego STA Compact, będącego na wyposażeniu Pracowni Krzepnięcia Krwi naszego szpitala. Część pacjentów poddanych badaniom analitycznym (wartości INR), leczona była acenokumarolem.

Obok przykładowo przedstawiono graficzny zapis oceny precyzji w postaci wykresów Waltera A. Shewharta w modyfikacji Leveya i Jenningsa.

Wyniki oceny odtwarzalności przedstawiono w tabeli 3.

Wyniki oceny korelacji, w odniesieniu do analizatora stosowanego w laboratorium, przedstawiono w tabeli 4.

Uzyskane wyniki oceny precyzji, w tym powtarzalności w serii jednoczasowej i odtwarzalności w czasie wielu dni, jak wynika z tabeli 2 i 3 są bardzo dobre i porównywalne w większości przypadków z ilościowymi metodami laboratoryjnymi. Jedynie w czterech przypadkach na jedenaście przekroczony został pułap 5% Wz (współczynnika zmienności). Współczynniki zmienności w większości przypadków są lepsze od tych, które deklaruje firma.

Ocena błędów systematycznych, przedstawiona w tabeli 2, potwierdza dobrą opinię innych autorów o dokładności wyników uzyskiwanych przy pomocy koagulometrów CoaguChek® S. We wszystkich seriach kontrolnych (prócz ACT-1) nie przekroczono 5% błędów względnego, a wartości współczynników skośności i kurtozy wykluczają istotny wpływ błędów

Tabela 1. Ważniejsze parametry koagulometrów rodziny CoaguChek®

CECHY	CoaguChek® S	CoaguChek® Pro	CoaguChek® Pro DM
Parametry	PT	PT, APTT i ACT	PT, APTT i ACT
Kalibracja	U producenta oraz z zastosowaniem kostki elektronicznej	U producenta oraz z zastosowaniem kostki elektronicznej	U producenta oraz z zastosowaniem kostki elektronicznej
Kontrola jakości	Elektroniczna i chemiczna	Elektroniczna i chemiczna	Elektroniczna i chemiczna L&J
Ekran LCD	2 linijki po 20 znaków	4 linijki po 20 znaków	4 linijki po 20 znaków
Zarządzanie	X	RS 232 jednokierunkowy do drukarki	RS dwukierunkowy, drukarka zewnętrzna, skaner kodu kreskowego ID+ Program zarządzający
Pamięć kodów	X	150 kodów	150 kodów
Pamięć	60 wyników	30 wyników	1000 wyników i kontroli jakości
Masa	< 0,454 kg	< 0,7 kg	< 0,7 kg
Objętość próbek	(PT) 10 µl/25 µl	(APTT, ACT) 45 µl	(APTT, ACT) 45 µl

asymetrii rozkładów w poszczególnych seriach pomiarowych na ocenę dokładności.

Dla lepszego zilustrowania stanu precyzji i dokładności przedstawiono graficzny obraz tych parametrów dla PT serii 2, na załączonym wykresie Leveya i Jenningsa.

Podobnie wybiórczo dla APTT przedstawiono graficzny obraz korelacji pomiarów wykonanych przy pomocy ocenianych koagulometrów (oś – y), w odniesieniu do wyników uzyskanych z laboratorium (oś – x). Szczegółowe dane oceny korelacji dla ocenianych parametrów analitycznych przedstawiono w tabeli 4. We wszystkich przypadkach dostateczna wartość współczynnika korelacji „r” (> 0,95) była istotnie różna od zera po sprawdzeniu testem T-Studenta. Dodatkowa kontrola różnicy średnich porównywanych par wyników oceny regresji tylko w ACT nie różniła się istotnie od zera.

Analiza statystyczna stanu pomiarowego koagulometrów wyrażona w niniejszej ocenie oraz wnioski z badań klinicznych pokrywają się z wynikami uzyskanymi przez dr. Wolfganga Tritsclera, dr. Rainerta Zerbacka i dr. Winfrieda Plescha podczas kontroli koagulometrów, której wyniki zostały opublikowane i wydrukowane przez firmę Roche Diagnostics w Niemczech.

Oceniane koagulometry są propozycją firmy Roche Diagnostics upraszczającą kontrolę parametrów hemostazy podczas leczenia pacjentów ze wszczepionymi sztucznymi zastawkami, migotaniem przedsionków, zakrzepicą żylną itp. z zastosowaniem doustnych leków antykoagulacyjnych. Parametrem zalecanym do ciągłej kontroli przy podawaniu tych leków jest wskaźnik INR (*International Normalized Ratio*). Wartość INR jest jedynym wskaźnikiem, który można porównywać niezależnie od miejsca wykonania badania. Pacjenci z koniecznością ciągłej kontroli INR skazani byli dotąd na regularne, comiesięczne lub (zależnie od potrzeb) częstsze wizyty w laboratorium, bowiem utrzymanie INR na właściwym poziomie zmniejsza możliwość powikłań zakrzepowo-zatorowych i krwotocznych. Firma Roche Diagnostics proponuje samokontrolę za pomocą przenośnego koagulometru CoaguChek® S, który może być użyty w każdych warunkach poza laboratorium, co zabezpiecza pacjenta przed nagły-

Tabela 2. Uzyskane wyniki oceny powtarzalności i dokładności

Parametr	N	X _{śr}	S	Skośność	Kurtoza	BB	BW%	Wz%
PT-Q1	10	12,2	0,61	0,91	1,20	0,20	1,66	5,06
INR-Q1	10	1,01	0,07	-0,16	-0,73	0,01	1,00	7,30
PT-Q2	10	21,6	0,26	-0,45	-2,02	0,45	2,12	1,21
INR-Q2	10	3,27	0,04	-1,03	-1,22	-0,03	-0,90	1,47
APTT2Q1	10	55,7	2,10	0,49	-0,58	0,88	1,60	3,76
APTT1Q2	10	124,8	1,50	-1,36	0,93	5,35	4,50	1,21
PT-laser*	5	12,76	0,16	-1,08	0,53	0,06	0,47	1,31
INR-laser*	5	1,04	0,05	0,60	-3,33	0,04	4,00	5,26
APTT-laser*	5	33,1	0,07	0,00	-1,20	-0,20	-0,60	0,47
ACT-1	10	137,3	2,49	-1,13	1,05	-8,67	-5,93	1,81
ACT-2	10	344,5	22,43	0,55	0,46	-6,97	-1,98	6,51

Opis tabeli 2. **N** = liczebność próby losowej; **X_{śr}** = wartość średnia – arytmetyczna; **S** = odchylenie standardowe; **Skośność** rozkładu próby; **Kurtoza** rozkładu próby; **BB** = błąd bezwzględny w jednostkach danego parametru; **BW** = błąd względny w %; **Wz** = wskaźnik zmienności w %; **PT, INR, APTT-laser** = próbki krwi włósniczkowej pobierane po nakłuciu laserem LASETTE-1; **Q1, Q2, 1, 2** – oznaczenia w dwóch seriach.

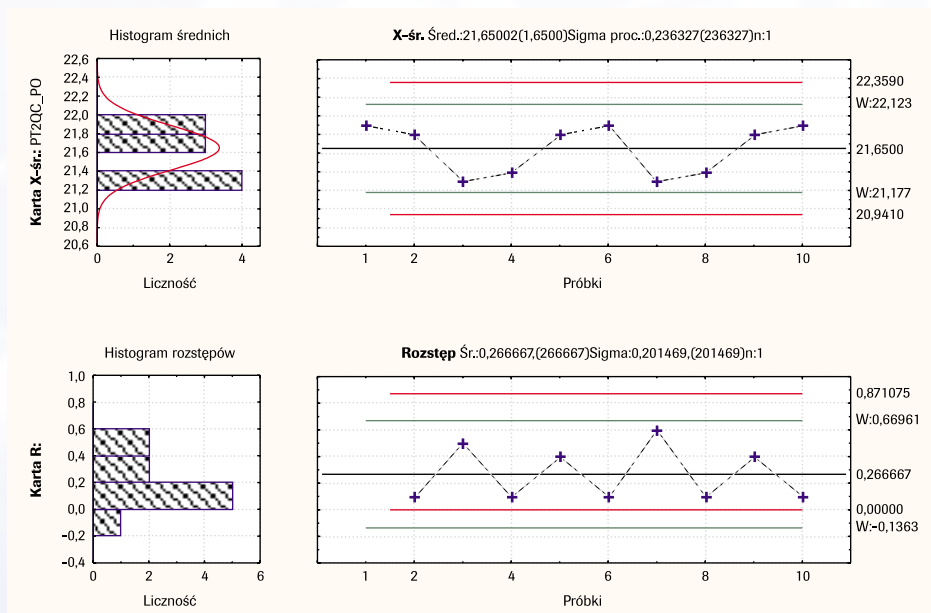


Tabela 3. Odtwarzalność koagulometrów serii CoaguChek®

Lp.	Parametr	Jednostka	Σ xy	Σ Ru	XY _{śr}	R _{śr}	2,5*R _{śr}	W _{ru} %	N
1.	INR	iloraz	167,3	3,47	3,34	0,14	2,35	9,01	25
2.	APTT	sek.	2787,4	45,60	53,60	1,75	4,38	8,17	25
3.	ACT	sek.	9607,6	141,2	165,64	4,86	12,17	7,35	25

Opis tabeli oceny odtwarzalności metodą dubletów: Σxy = suma wszystkich pomiarów obu par; ΣRu = suma różnic par; $XY_{\text{śr}}$ = średnia z par; $R_{\text{śr}}$ = średnia różnic; $2,5R_{\text{śr}}$ = Decyzyjny, maksymalny poziom błęd; $W_{ru}\%$ = wskaźnik zmienności dubletów w %; **N** = liczebność.

Tabela 4. Parametry oceny korelacji koagulometrów serii CoaguChek® S

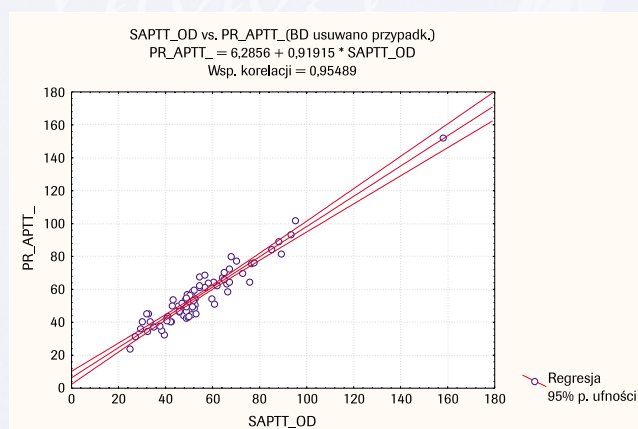
ANALIT	X _{śr}	Y _{śr}	wsp. „r”	T-S	P – „r”	N	t – xy	P – xy	różnica
INR	2,98	3,20	0,951	27,0	0,00	79	-3,09	0,002	-0,22
APTT	54,8	56,6	0,954	27,1	0,00	73	-2,68	0,008	-1,85
ACT	172,3	169,0	0,968	34,1	0,00	40	1,53	0,132	3,27

Opis tabeli 4. **wsp. „r”** = współczynnik korelacji; **T-S** = wartość testu T-Studenta dla istotności ws. korelacji; **P – „r”** = poziom istotności dla wsp. „r”; **N** = liczebność; **t – xy** = wartość testu T-Studenta dla różnicy między średnimi X i Y; **P – xy** = poziom istotności dla różnic średnich x i y.

mi krwawieniami lub zakrzepicą. Rygorystyczne przestrzeganie diety oraz utrzymywanie INR we właściwym przedziale normy odgrywa bardzo istotną rolę w zminimalizowaniu powikłań zakrzepowo-zatorowych i krwotocznych.

Istotnym udogodnieniem proponowanym przez firmę Roche Diagnostics jest możliwość wykonywania pomiarów koagulologicznych jedynie z kropli krwi pełnej, uzyskiwanej po nakłuciu lancetem opuszki palca, bez konieczności pobierania krwi z żyły. Sposób ten nie ma negatywnego wpływu na jakość uzyskiwanych wyników INR.

Przykładowy wykres korelacji dla APTT (CoaguChek Pro DM/STA Compact):



Po wykonaniu szeregu badań porównawczych w grupie 75 pacjentów, u których czas protrombinowy (INR) oznaczany był za pomocą metod laboratoryjnych (analyzer i odczynniki firmy Diagnostica Stago oferowane przez firmę Roche Diagnostics Polska Sp. z o.o.) i dodatkowo za pomocą ocenianych koagulometrów CoaguChek® S, możemy stwierdzić, iż jakość analiz, jest bardzo wysoka, wykonane pomiary wykazują lepsze wartości wskaźników zmienności niż deklarowane przez producenta, co świadczy o bardzo dobrej powtarzalności wyników badań i potwierdza tezę o dużej przydatności ocenianych koagulometrów w warunkach domowych w czasie długotrwałej terapii doustnymi antykoagulantami. W oparciu o uzyskane wyniki, wartość INR może być utrzymywana w pożądanym zakresie terapeutycznym, a w razie potrzeby pacjent może w porozumieniu z lekarzem szybko reagować na wszelkie zmiany wartości INR oraz pozostałych wskaźników koagulolo-

gicznych, odpowiednio dobierając dawkę leku. Poprawia to efekt leczenia, bezpieczeństwo pacjenta, a także zwiększa komfort życia, pozwalając na uniknięcie pobrań krwi z żyły oraz ograniczając konieczność uciążliwego dojazdu do laboratorium i oczekiwania na wynik. Powyższe stwierdzenie nie zwalnia pacjenta z badań okresowych wykonywanych w laboratoriach. Pamiętać również należy o konieczności okresowej kontroli aparatów polegającej na wykonywaniu oznaczeń za pomocą dostępnych u producenta materiałów kontrolnych. Pacjenci używający w domu koagulometry CoaguChek® S powinni stosować się do wszelkich zaleceń lekarza prowadzącego.

Na podstawie naszych dotychczasowych obserwacji i doświadczeń, możemy koagulometrom CoaguChek® S udzielić rekomendacji w klasie przyrządów służących do samokontroli pacjentów, podkreślając zarazem, iż jest to pierwszy tego typu zestaw koagulometrów na polskim rynku. Oceniane koagulometry są niewątpliwie przykładem postępu w diagnostyce hemostazy, podobnie jak w diagnostyce diabetologicznej było wprowadzenie możliwości pomiaru stężenia glukozy we krwi włośniczkowej przez samego chorego.

Białko S-100B w diagnostyce biochemicznej

Jan Kulpa, Zakład Analityki i Biochemii Klinicznej, Centrum Onkologii

– Instytut im. M. Skłodowskiej-Curie, Oddział w Krakowie

Od szeregu lat użyteczność wyników oznaczeń stężenia białka S-100B w diagnostyce laboratoryjnej zarówno różnych chorób i stanów patologicznych centralnego układu nerwowego jak i niektórych nowotworów jest przedmiotem badań, dyskusji i czasami kontrowersyjnych opinii.

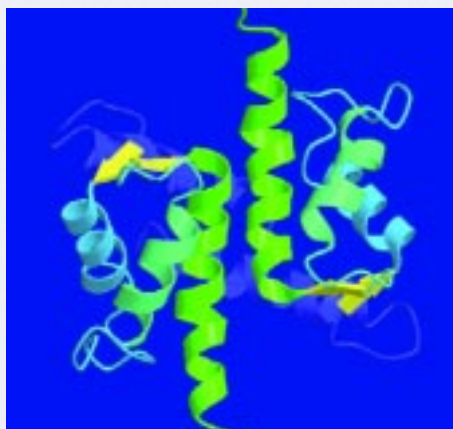
Termolabilne białko S-100B należy do liczącej 19 przedstawicieli rodziny niskocząsteczkowych kwaśnych białek (S-100) wiążących wapń, kodowanych przez szereg genów. Symbol „S-100” odnosi się do zdolności jego rozpuszczania w nasyconych roztworach siarczanu amonowego przy pH równym 7,00. Białko to zbudowane

jest z dwóch podjednostek α i β (współczesna terminologia – podjednostki A i B), różniących się własnościami immunologicznymi, spotykanych w krążeniu w postaci homo- lub heterodimerów S-100A1A1, S-100A1B i S-100BB o ciężarze cząsteczkowym 21 000, których występowanie wykazuje istotne zróżnicowanie narządowe i komórkowe. Podjednostka S-100B spotykana jest głównie w centralnym układzie nerwowym – komórkach glejowych i komórkach Schwanna – w postaci izoform S-100BB (80–93%) i S-100A1B (7–20%). Natomiast izoforma S-100A1A1 dominuje w komórkach mię-

śni serca i szkieletowych, w których podjednostka S-100B spotykana jest jedynie w śladowych ilościach. Obecność podjednostki S-100B, w postaci homo- i heterodimerów, wykazano ponadto w zróżnicowanych ilościach w adipocytach, komórkach tkanki chrzęstnej i niektórych komórkach nabłonkowych. Metodami histochemicznymi wykazano ekspresję białka S-100B w komórkach brunatnej i białej tkanki tłuszczowej, komórkach tkanki chrzęstnej, nabłonkach i skóry, gruczołu mlecznego, mięśni gładkich, ślinianek, dróg żółciowych, woreczka żółciowego, trzustki, żołądka, jelita cienkiego, jelita

grubego, nerek, gruczołu krokowego, węzłów chłonnych, śledziony, a także w ziarnistościach szpiku kostnego. Stąd wcześniej postulowana swoistość izoformy S-100BB w odniesieniu do tkanki mózgowej jest obecnie w znacznym stopniu kwestionowana, jakkolwiek stężenie podjednostki S-100B w komórkach nie należących do centralnego układu nerwowego jest niskie, wręcz śladowe. Jednak obok uszkodzeń mózgu również wielonarządowe, uszkodzenia tkanek, rany (zniszczenie błon komórkowych adipocytów, chondrocytów) mogą być przyczyną wzmożonego uwalniania białka S-100B do krążenia.

Funkcja fizjologiczna białka S-100B podobnie jak całej rodziny białek S-100 nie została w pełni poznana, jednak uważa się, że działają one jako białka sensorowe, których aktywność biologiczna jest modulowana wiązaniem wapnia. Należy zwrócić uwagę, że aktywność biologiczna niektórych z tych białek może być w większym stopniu regulowana przez wiązanie dwuwartościowych jonów cynku lub miedzi aniżeli jonów wapniowych. Uważa się, że wydzielane przez astrocyty, jako cytokina, białko S-100B w stężeniach fizjologicznych (nmol) wykazuje działanie neurotroficzne, zarówno podczas rozwoju, jak i regeneracji nerwów, natomiast w wysokich stężeniach mikromolarnych może charakteryzować się działaniem neurotoksycznym. Za taką sugestią może przemawiać również fakt, że białko to jest kodowane przez gen zlokalizowany na długim ramieniu chromosomu 21 (21Q22.3), którego zmiany obserwowane są w rozwoju zespołu Downa.



Budowa białka S-100B

Elecsys S-100, nr kat. 3 175 243	
Materiał:	Surowica (20 µl)
Czas oznaczania:	18 min
Zakres pomiarowy:	0,005–39,0 µg/l
Wartości prawidłowe:	do 0,105 µg/l
Precyzja oznaczeń:	< 2,8% CV
Oznaczenie: analizatory	Elecsys 1010 Elecsys 2010 Modular E170
<i>Test dostępny w II kwartale 2004 r.</i>	

W warunkach fizjologicznych, białko S-100B uwalniane jest do krążenia w śladowych ilościach, a jego stężenie w surowicy krwi zdrowych ludzi kształtuje się poniżej 200 ng/l. Półokres zaniku S-100B jest krótki i wynosi wg różnych źródeł od 1 do 2 godzin. W pomiarach stężenia białka S-100B stosowane są metody immunoradiometryczne i enzymoimmunologiczne, wykorzystujące przeciwciała monoklonalne skierowane przeciwko podjednostce B. Przez długi czas dla oznaczeń białka S-100B metodami enzymoimmunologicznymi, dostępne były zestawy odczynnikowe tylko dwóch firm (metoda immunofluorymetryczna i metoda immunoluminometryczna), obecnie ta sytuacja ulega stopniowo zmianie, na rynku pojawiły się zestawy odczynnikowe przygotowane w innych technologiach. Próbkę surowicy krwi do chwili wykonania badań należy przechowywać zamrożone w temperaturze 20°C. Zwraca się uwagę, że stosowanie antykoagulantów może być przyczyną znacznych różnic w uzyskiwanych wynikach, w porównaniu do pomiarów w surowicy, przy czym ich nasilenie zależne jest w znacznym stopniu od rodzaju użytego antykoagulantu.

Szereg badań klinicznych dokumentuje użyteczność wyników oznaczeń stężenia tego białka w surowicy krwi lub płynie mózgowo-rdzeniowym w różnych stanach patologicznych, związanych z uszkodzeniem tkanek układu nerwowego, w reaktywnej glezjzie, uszkodzeniach astrocytów i/lub zaburzeniach funkcjonowania bariery krew – mózg. Wysokie stężenie białka S-100B w płynie mózgowo-rdzeniowym i/lub we krwi jest uznawane za wiarygodny wskaźnik, m.in. w ostrych i przewlekłych urazach mózgu, udarach mózgu, ropniakach nadtwardówkowych, schizofrenii, demencji, szeregu chorób metabolicznych, guzach mózgu. Zazwy-

czaj proponowane jest w różnych stanach krytycznych wykonywanie oznaczeń białka S-100B komplementarnie do innych wskaźników uszkodzeń mózgu, takich jak: nowa swoista enolaza (NSE), izoenzym BB kinazy kreatynowej (CK-BB). Zalecenie to wynika z faktu, że żaden z tych wskaźników nie jest swoisty dla tkanki mózgu, ale do wzrostu ich stężenia w płynach ustrojowych dochodzić może w następstwie uszkodzenia, innych aniżeli centralny układ nerwowy, tkanek i komórek.

Sugeruje się celowość oznaczeń białka S-100B podczas operacji tętnicy szyjnej w aspekcie hypoperfuzji mózgu i/lub dla oceny klinicznie nie stwierdzalnych zaburzeń bariery krew – mózg, do jakich może dochodzić w trakcie tego rodzaju zabiegów. Osobną dziedziną, w której sugeruje się celowość wykorzystania wyników oznaczeń tego białka są badania prenatalne lub okołoporodowe prowadzone dla wykrycia zaburzeń neurologicznych u płodu. W drugim i trzecim trymestrze prawidłowej ciąży stężenie S-100B w płynie owodniowym wykazuje istotną tendencję wzrostową, a we krwi pępowinowej tendencję spadkową wraz z wiekiem ciąży. Stężenie S-100B w płynie owodniowym w trisomii-21 jest ok. 1,5-krotnie wyższe aniżeli u prawidłowych płodów.

Badania białka S-100B znajdują również wykorzystanie w diagnostyce chorych na niektóre nowotwory, w tym szczególnie na czerniaka złośliwego. Jakkolwiek czułość i swoistość diagnostyczna wyników oznaczeń stężenia białka S-100B w całej grupie chorych na czerniaka kształtuje się w granicach 37% i 75%, to u chorych w stadium IV zaawansowania z obecnymi odległymi przerzutami wielkości te wynoszą odpowiednio: 58,5% i 100%. Stąd w opinii szeregu ośrodków białko S-100B jest markerem przerzutów u chorych na czerniaka, ekspozuje się również wyraźną zależność czasu przeżycia bezobjawowego i całkowitego chorych od wyjściowego stężenia tego białka.

W podsumowaniu można wyrazić nadzieję, że poszerzenie dostępności zestawów i metod oznaczeń stężenia białka S-100B pozwoli na podjęcie szeroko zakrojonych badań weryfikujących użyteczność wyników jego oznaczeń w kontroli i monitorowaniu leczenia chorych na czerniaka złośliwego.

Biologia Molekularna

MagNA Pure Compact

Od ponad piętnastu lat Roche Applied Science jest dostawcą szerokiego spektrum nowoczesnych odczynników do badań w dziedzinie biologii molekularnej, w tym reakcji PCR. Dzięki połączeniu szerokiej wiedzy biochemicznej, chemicznej i technicznej, w firmie Roche możliwe jest tworzenie uniwersalnych, niezawodnych systemów i narzędzi badawczych.

Wprowadzenie na rynek systemu LightCycler otworzyło nowe możliwości wykorzystania reakcji PCR w czasie rzeczywistym (RT-PCR). Przede wszystkim pozwoliło na bardzo szybkie przeprowadzanie ilościowych reakcji PCR, analizę i ocenę wyników dla identyfikacji produktów i genotypowania.

Z początkiem 2004 roku firma Roche wprowadziła do sprzedaży nowe, innowacyjne urządzenie, pozwalające na zautomatyzowanie najtrudniejszego etapu w badaniach molekularnych – izolacji kwasów nukleinowych. Urządzenie MagNA Pure Compact pozwala na całkowicie automatyczną izolację i oczyszczanie kwasów nukleinowych, w wolnym od kontaminacji układzie, przy zastosowaniu techniki szklanych kulek magnetycznych. Połączenie urządzeń LightCycler i MagNA Pure Compact oraz odpowiednich zestawów i odczynników umożliwia tworzenie bardzo wydajnych, automatycznych systemów do przeprowadzania reakcji PCR. Takie układy w ogromnym stopniu oszczędzają czas i minimalizują czynności manualne.

Krytycznym etapem w przeprowadzaniu reakcji PCR, RT-PCR i analizie mikromacierzy jest jakość wykorzystanej matrycy RNA lub DNA. MagNA Pure Compact pozwala na szybką i niezawodną izolację i oczyszczanie kwasów nukleinowych. Urządzenie to jest przystosowane do w pełni automatycznej izolacji kwasów nukleinowych z krwi ssaków, surowicy, hodowli komórkowych i innych materiałów, używanych w badaniach na-

ukowych i diagnostyce. System MagNA Pure Compact składa się ze stosunkowo niedużego urządzenia i gotowych do użycia zestawów odczynnikowych do izolacji kwasów nukleinowych. Urządzenie jest przeznaczone do przeprowadzania od jednej do ośmiu izolacji w czasie od 20 do 35 minut, w zależności od wybranego programu. Do uzyskania wysokiej jakości oczyszczonych kwasów nukleinowych wystarczy od 100 µl do 1000 µl materiału wyjściowego. Urządzenie posiada zintegrowany komputer z ciekłokrystalicznym ekranem dotykowym i czytnik kodów kreskowych. W celu zapewnienia poprawności przeprowadzonego procesu na każdym jego etapie, zarówno wyjściowa próbka, jak i używane odczynniki oraz materiały są monitorowane w oparciu o kody kreskowe. Czas poświęcony czynnościom manualnym podczas stosowania MagNA Pure Compact System jest ograniczony do niezbędnego minimum. Wszystkie stosowane odczynniki i mieszaniny są gotowe do użycia i pakowane oddzielnie w zamkniętych, zafoliowanych

wkładach, co zapobiega kontaminacji. Pojedynczy wkład zawiera wszystkie niezbędne odczynniki do przeprowadzenia jednej izolacji, statyw z wymaganą ilością odpowiednich końcówek i urządzenie do usuwania zamykającej folii.

Pracę rozpoczyna się od wprowadzenia kodu kreskowego wkładu z odczynnikami. Następnie wkład jest umieszczany w statywie i urządzeniu. Na podstawie informacji z wprowadzonego kodu kreskowego system automatycznie wdraża odpowiedni protokół, przy czym użytkownik musi określić: rodzaj materiału do izolacji, pojemność wprowadzanej próbki i objętość końcową izolatu. Badane próbki są pipetowane do właściwych probówek i umieszczane w statywie, a następnie w urządzeniu. Nazwę próbki można wpisać samodzielnie lub posługiwać się kodem kreskowym. Kod kreskowy umieszczony jest również na probówkach do izolatów i po umieszczeniu probówek w statywie i urządzeniu, jest wprowadzany do komputera.

Po zakończeniu izolacji wyniki i dane wpisane przy wprowadzaniu próbek, dane z kodów kreskowych wyświetlają się na ekranie. Następnie mogą być zachowane w bazie, drukowane lub przesyłane. Urządzenie oprócz niezaprzeczalnych cech ułatwiających pracę naukową w dzied-

nie biologii molekularnej, posiada również szerokie zastosowanie w nowoczesnej diagnostyce molekularnej. Pełna automatyzacja procesu izolacji daje pewność powtarzalności wyników, a system kodów kreskowych pozwala na bieżący wgląd w historię próbki od wejścia do laboratorium aż do otrzymania wyniku. Wszystkie wymienione cechy MagNA Pure Compact pozwalają przypuszczać, iż urządzenie może stać się rutynowym narzędziem pracy w wielu laboratoriach.



System MagNA Pure Compact