

# **A Laboratóriumi Medicina Intézet hírlevele**

## **6. szám 2015. október**

Tisztelt kollégák!

Hírlevelünk hatodik számában egy hematológiai és egy lipid paraméterrel kapcsolatos újdonságot, valamint a fehérje-elektroforézis eredményét befolyásoló tényezőket mutatjuk be. Reméljük, sikerül hasznos információkat közvetíteni az érdekelteknek.

dr.Papp Enikő szerkesztő

**Szerző: dr. Szalay Balázs**

**Szaklektor: Bíró Edina részlegvezető**

### **Preanalitikai nehézségek a fehérjék elektroforetikus elválasztásánál:**

A fehérje elektroforézis a szérumban és a vizeletben előforduló kóros fehérjék jelenlétének vagy fehérjék hiányának a kimutatására használt laboratóriumi eljárás. A fehérjéket 5 fő frakcióra választjuk szét: albumin, alfa-1 globulinok, alfa-2 globulinok, béta globulinok, gamma globulinok. Mint minden laboratóriumi mérésnél, a fehérje elektroforézis során is fontos odafigyelni a preanalitikára, mely az eredményt jelentős mértékben befolyásolhatja. Az alábbi szempontokat kell figyelembe venni:

- ha szérumot használunk, normál esetben nem kell semmivel mérés előtt kezelni. Fontos, hogy higítatlan legyen a mintánk
- a szérumintákat azonban elő kell kezelni az alábbi esetekben:
  - viszkózus vagy zavaros szérumok
  - polimerizálódott IgM-et tartalmazó minták
  - alacsony intenzitású elektroforetikus mintázatot adó szérumminták
- nem szabad hemolizált szérumot használni, ugyanis a hemolízis hatására nő az alfa-2 és a béta frakció aránya.
- plazma szintén nem alkalmas fehérje elektroforézisre, mert a fibrinogén megjelenik a gamma frakcióban és monoklonális gammopáthiát utánozhat.
- vizeletminták esetében egészséges személyeknél csak kis mennyiségű fehérje található a vizeletben, így a mérés előtt a vizeletet koncentrálni kell, általában centrifugálással. Ehhez 2 ml vizeletre van szükség. Ennél kevesebb minta erre a vizsgálatra alkalmatlan.
- A vizelet tartalmazhat különböző sókat, sejteket illetve nagyobb részecskéket, melyek a kiértékelést pontatlanná teszik. A centrifugálás (és a szűrés) ezeket a hibaforrásokat minimalizálja, de fokozott turbiditású minták okozhatnak pontatlanságokat.
- az állott, túl sokáig és nem megfelelő módon (hűtés nélkül) tárolt vizeletminták használata nem javasolt, ugyanis ilyenkor a fehérjék degradálódhatnak.

**Szerző: dr. Papp Enikő**  
**Szaklektor: Dr Kocsis Ibolya részlegvezető**

## **Módosított Lp(a) teszt és a direkt lipoprotein tesztek jelentősége a lipidanyagcsere zavarok diagnosztikájában**

Az Lp(a) egy LDL-t és apo(a)-t tartalmazó molekula. Az apo(a) igen heterogén méretű molekula, mert változó számban tartalmaz „kringle”-nek nevezett hurkokat. A hurkok számát az egyének genetikai diszpozíciója határozza meg. Az apo(a) kovalensen kötődik az apoB 100-hoz. Az Lp(a) megköti és szállítja az oxidált foszfolipid molekulákat a plazmában. A részecske tartalmaz egy lipoprotein asszociált foszfolipáz A2-t (Lp-PLA2) is, ami hasítja az oxidált zsírsavakat. Az Lp(a) strukturálisan plazminogén homológ, atherogén hatású és fibrinolízist gátló anyag. Atherogenitásban szerepet játszik az Lp(a) eredetű koleszterin felhalmozódás az intimában, a gyulladós reakcióban részt vevő sejtek aktiválása, és a proinflammatorikus hatású oxidált foszfolipidek kötése. is. Táplálkozás nem befolyásolja, lipidcsökkentő gyógyszerekkel nem mérsékelhető a szintje. Mivel szív érrendszeri betegségben független kockázati tényező, ezért rizikóbecslésre alkalmas a veszélyeztetett betegekben. Nagy prediktív értékű az Lp(a) és LDL együttes emelkedése.

Az Lp(a) meghatározása immunturbidimetriával történik. Referenciatartománya 0-0,3 g/l kaukázusi populációban.

Az Lp(a) heterogenitása miatt nagy kihívás a humán plazma Lp(a) mérés pontos kivitelezése. A standardizáció a kétezres évek eleje óta többször is változott. 2004-ben az IFCC referencia anyag a részecskeszámot tekintette meghatározónak és nmol/l-ben fejezte ki a mértékegységet. Ez gyakorlatilag az Lp(a) részecskék számával ekvivalens mérést jelent és független a részecskemérettől. A 2013-as restandardizálás során a legtöbb assay mértékegysége mg/dl-re változott. Ez az Lp(a) térfogatra viszonyított össztömegét méri („total mass”).

Az Lp(a) mérése azért is nehezen egységesíthető, mert a különböző izoformák különböző mérettartományúak és a gyártók által kifejlesztett antitestek is különböző epitópokat észlelnek. Ezért reagensváltásnál, pl. új antitest alkalmazásánál gondos összemérés szükséges a régi és az új módszerrel kapott eredmények összehasonlításával és a referenciatartomány felülvizsgálatával. Az intézetünkben használt teszt képes az Lp(a) mennyiségi meghatározására és egyidejűleg a részecskeszám megadására is. Így a különböző gyártók által használt tesztek bármelyikével összehasonlítható eredményeket generál. A méréshez használt kalibrátor az IFCC legújabb referencia anyagához viszonyított, részecske mérettől független értéket alkalmaz. A teszt további előnye, hogy nem interferál a mintában egyéb analitokkal, pl. reuma faktorral, nem keresztreakál plazminogénnel és az apoB-vel, valamint megbízhatóan mér magas mérésstartományokban is (l. prozone effektus).

A legújabb fejlesztések az Lp-PLA2 enzim meghatározását vették célba. Ez a makrofágok által termelt és LDL-asszociált enzim főként az atherosclerotikus léziókban található.

Legfontosabb szerepe, hogy a plakk instabilitás biomarkereként használható paraméter, főként az alacsony rizikójú csoportba sorolt betegeknél az egyik legjobb prediktív marker.

Jelenleg a direkt, klinikai kémiai automatán meghatározható lipoprotein assay-k közé tartozik az LDL-C meghatározás, a HDL-C mérés, az Apo A és Apo B meghatározás. Korábban a különböző lipoprotein alosztályokba tartozó koleszterint csak ultracentrifugálással, vagy a Friedewald képlet segítségével történő számítással lehetett meghatározni. Mivel normális összkoleszterin érték mellett is lehet kóros a koleszterin profil, ezért fontos a megoszlás ismerete. Ehhez nyújt segítséget a direkt lipoprotein meghatározás. Az LDL koleszterin mérés két lépésben történik. Az első lépésben a reagens megvédi az LDL-t a reakcióban való részvételtől, a többi lipoprotein részecske enzimatikusan metabolizálódik. Ezután az LDL koleszterint alakítják kolesztenonná és a képződő hidrogén peroxid színreakciót indukál. A HDL-C direkt mérése során pedig antitestekkel vonják ki a nem HDL partikulumokat komplexképzés módszerével, majd a megmaradó HDL részecskék koleszterinjét határozzák meg. Az apoproteinek immunturbidimetriával specifikus antitest segítségével vizsgálhatók. Mivel a számítós meghatározást több körülmény (pl. a plazma triglicerid tartalma) is befolyásolja, a direkt mérés pontosabb meghatározást tesz lehetővé. Így a koronáriabetegség kockázata pontosabban felbecsülhető illetve a koleszterincsökkentő terápia hatása jobban követhetővé vált.

**Szerző: dr. Szabó Tamás**

**Szaklektor: Dr Fehér Adrienne részlegvezető**

### **Reticulált thrombocyták (rP%) jelentősége a klinikumban.**

A vérlemezkék a megakaryocyták által képzett mini-sejtek, melyek képesek ugyan reagálni a környezeti stimulusokra ioncsatornák és foszforilációs jelátviteli útvonalak segítségével; saját örökítő anyagot nem tartalmaznak, így új fehérjék előállítására sem képesek. Sem DNS- sem pedig RNS nem található meg tehát egy érett vérlemezkében. Életük nagyon korai szakaszában a vérlemezkék mégis tartalmaznak némi RNS-t, ami aztán nagyon hamar lebomlik és DNS hiányában új nem is tud képződni. Azokat a fiatal, az érett alakoknál valamivel nagyobb vérlemezkéket, amelyek még tartalmaznak mRNS-t, a reticulocyták (fiatal vörösvértestek) mintájára reticulált vérlemezkéknek hívjuk. Kimutatásukra alkalmas például egy metilénkéssel festett kenet is, de legmegbízhatóbbak az áramlási citometrián alapuló módszerek, illetve a megfelelően beállított hematológiai automaták. A reticulált vérlemezkék tehát a vérlemezkék nagyon korai, éretlen formái, melyek normális esetben az összes vérlemezkének csupán 1-2%-át alkotják. Ha azonban a vérlemezkék képződése fokozódik, akkor az éretlen alakokból is több jelenik meg a keringésben. A korai alakok aránya tehát felvilágosítást adhat arról, hogy milyen intenzíven zajlik a vérlemezkék képződése a megakariopoézis. Ez különösen fontos lehet akkor, amikor az alacsony vérlemezkeszám okát kívánjuk felderíteni. Ha alacsony vérlemezkeszám mellett nem nő a reticulált vérlemezkék aránya, az arra utal, hogy a thrombocytopaenia oka a csökkent képződés. Ha a reticulált

vérlemezkek aránya viszont nő alacsony vérlemezkeszám mellett, akkor az alacsony értéket a vérlemezkek "elfogyása" okozta.

A paraméter ugyan nem része a rutin vérképnek, viszont hasznos lehet a klinikus számára. Lehetővé teszi ugyanis a csontvelői megakariocyta-aktivitás monitorozását anélkül, hogy invazív csontvelő aspirációra lenne szükség. Ezáltal még szorosabban, gyakoribb mintavétellel lehet monitorozni a beteg állapotát és el lehet kerülni a szükségtelen vérlemezke-transzfúziót. Ha viszont transzfúzióra került sor, az eredmények értékelése során figyelembe kell venni, hogy a reticulált vérlemezkek aránya normálisan is csökken a következő 24 órában.

Érdeemes figyelni a reticulált vérlemezkeszám változását kemoterápiában részesülő betegek esetén és csontvelő transzplantáció után, amikor a beteg visszatérő vérképzését kell figyelemmel kísérni. Ilyenkor a reticulált vérlemezkek számának követése a vérképzés megindulását segítő, növekedési faktor alapú kezelés értékelésében is szerepet kap. Ez a paraméter ugyanis előbb kezd el emelkedni, mint a teljes vérlemezkeszám. A vérlemezkeképzést jelző emelkedett reticulált vérlemezkeszám esetén 24-48 óra múlva várható, hogy az érett vérlemezkek száma is emelkedni kezd. Azoknál a kemoterápiás kezeléseknél, ahol fennáll a csontvelő károsodásának lehetősége, a korai vérlemezke alakok arányának követése korán felhívhatja a figyelmet a káros mellékhatás bekövetkeztére. A vérlemezkek képződésének lassulása és így a reticulált vérlemezkek arányának csökkenése megerősítheti továbbá a vérlemezke gátló terápia megfelelő szintjét kardiovaszkuláris betegek esetében.

További információ:

<http://www.archivesofpathology.org/doi/pdf/10.5858/arpa.2012-0624-OA>

<http://www.archivesofpathology.org/doi/pdf/10.5858/arpa.2012-0624-OA>

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11961244>

<http://ajcp.ascpjournals.org/content/115/5/656.full.pdf>

<http://content.onlinejacc.org/article.aspx?articleid=1139161>