

Význam činnosti referenčných laboratórií

v národnom referenčnom centre Národného ústavu reumatických chorôb v Piešťanoch s celoslovenskou pôsobnosťou

J. Rovenský, O. Greguška, F. Mateička, V. Bošák, S. Blažičková, D. Kozáková, M. Stančíková

Súhrn:

Na pracoviskách NÚRCH Piešťany sú zriadené národné referenčné laboratóriá, a to pre diagnostiku autoprotilátok, imunogenetiku reumatických ochorení, diagnostiku a monitorovanie sekundárnych imunodeficiencií pri zápalových reumatických chorobách, diagnostiku reaktívnych artritíd, komplexnú analýzu synoviálnej tekutiny a diagnostiku kryštálkami indukovaných artritíd a komplexnú analýzu markerov metabolizmu kostí pri diagnostike osteoporózy a iných kostných chorôb. Činnosť referenčných laboratórií sa rozvíjala najmä z pohľadu vývoja nových metód, zabezpečovala nadstavbovú a cieľenú laboratórnu diagnostiku a overovanie laboratórnych výsledkov. Referenčné laboratóriá vykonávali aj expertízu, metodickú a publikačnú činnosť pre reumatologické ambulancie na Slovensku.

Referenčné laboratóriá zabezpečujú svoju činnosť komplexne, garantom výsledkov je lekár, resp. iný zdravotnícky pracovník so špecializáciou vo vyšetrovacích laboratórnych metódach. Špecialisti sú schopní nielen správne interpretovať výsledky laboratórnych vyšetrení, ale aj indikovať ďalší diferenciálno-diagnostický postup. Činnosť referenčného laboratória vyžaduje viacdrojové financovanie, ktoré umožní podporu uvedených činností s dosahom na kvalitnú a špecializovanú vyšetrovaciu, liečebnú zdravotnú starostlivosť pre reumatických pacientov.

Kľúčové slová:

autoprotilátky – imunogenetika – HLA-antigény – sekundárne imunodeficiencie – markery kostného metabolizmu – synoviálny výpotok – kryštalické prímesi – reaktívne arthropatie

Summary:

The National Institute for Rheumatic Diseases runs national reference laboratories for diagnosis of auto-antibodies, immunogenetics of rheumatic diseases, diagnosis and monitoring of secondary immunodeficiencies in inflammatory rheumatic diseases, diagnosis of reactive arthritis, comprehensive analysis of synovial liquid and the diagnosis of crystal-induced arthritis and comprehensive analysis of bone metabolism markers in the diagnosis of osteoporosis and other bone diseases. The principal focus of the reference laboratories has been on the development of new methods, on follow-up and specific laboratory diagnostics, and on validation of laboratory results. The reference laboratories have been an expertise, methodological and publishing service provider for rheumatology centres in Slovakia.

The reference laboratories carry out their activities in a comprehensive manner, the results obtained are guaranteed by doctors or health care staff specialised in diagnostic laboratory methods. The institute's specialists assure both correct interpretation of laboratory tests and indication of further differential diagnostic procedure. The activities of the reference laboratory requires multi-resource financing which allows for support to be given to the above activities with relevant implications for quality and specialised diagnostic treatment health care for rheumatic patients.

Key words:

Auto-antibodies – immunogenetics – HLA-antigens – secondary immunodeficiency – markers of bone metabolism – synovial exsudate – crystal admixtures – reactive arthropaty

ÚVOD

Klasifikácia reumatických chorôb je založená na kombinácii klinických vyšetrení, röntgenologického nálezu a laboratórnych vyšetrení. Laboratórne vyšetrenia prispievajú k diagnostike, posúdeniu závažnosti ochorenia, prognóze, odhaleniu pridružených ochorení infekcií. Veľmi dôležitú časť laboratórnych vyšetrení pred-

stavuje pomoc pri voľbe správnej terapie a monitorovanie terapie.

Národné referenčné laboratóriá pre reumatické choroby sú zriadené pri Národnom ústave reumatických chorôb v Piešťanoch, ktoré je národným centrom SR pre choroby pohybového ústrojenstva a pre sieť reumatologických ambulancií v rámci celého Slovenska.

STRUČNÁ CHARAKTERISTIKA ČINNOSTÍ NÁRODNÝCH REFERENČNÝCH CENTIER PRI NÚRCH V PIEŠŤANOCH

Po transformácii Výskumného ústavu reumatických chorôb na Vysokošpecializovaný odborný ústav reumatických chorôb a následne na Národný ústav reumatických chorôb so sídlom v Piešťanoch (ďalej ústav)

sa činnosť referenčných laboratórií rozvíjala najmä z pohľadu vývoja nových metód a zabezpečovala nadstavbovú a cieleňú laboratórnu diagnostiku a overenie laboratórnych výsledkov. Referenčné laboratóriá vykonávali expertízu, metodickú a publikačnú činnosť, zameranú na výnimočné postavenie v odbore Reumatológia pre celé územie Slovenska. Ich činnosť je možné charakterizovať nasledovne:

1. Vzhľadom na vysokošpecializovaný charakter takýchto vyšetrení a skutočnosť, že viaceré z uvedených vyšetrení (s dôrazom na ich špecifickosť a senzitivnosť), sa v súčasnosti vykonávajú iba v našom ústave, predpokladáme pretrvávajúci záujem požiadaviek na laboratórne vyšetrenie zo strany viacerých zdravotníckych pracovísk SR.
2. Niektoré z uvedených vyšetrení nie je možné nateraz z viacerých dôvodov (spravidla pre nedostatočné technické vybavenie) zabezpečovať vo viacerých regiónoch (napr. imunofenotypizácia periférnych buniek krvi na skrining imunodeficientných stavov, dôkaz kryštálikov v synoviálnej tekutine, jednotlivé ANA protilátky, biochemické markery kostného metabolizmu a pod.).
3. Racionálna centralizácia niektorých vyšetrení v našom ústave, ktorý je schopný zabezpečiť spoľahlivosť a validitu výsledkov, tak napomôže odfiltrovať množstvo falošne pozitívnych, eventuálne falošne negatívnych výsledkov a tak druhotne prispieť aj k racionalizácii nákladov na diagnostiku a terapiu v rámci celej SR, čo bude predstavovať v dlhodobom meradle nesporný finančný prínos a úsporu v oblasti diferenciálnej diagnostiky a terapie.
4. V ústave sú vytvorené špecializované referenčné laboratóriá s celoslovenskou pôsobnosťou pre niektoré oblasti laboratórnych vyšetrení (napr. špecifickosť ANA protilátok, antimikrobiálne vyšetrenia pre diagnostiku reaktívnych artropatií, pre diagnostiku kryštálikmi indukovaných artritíd).

Vzhľadom na dlhoročné skúsenosti, medzinárodnú akreditáciu vyetrovacích metód, podporné stanoviská hlavných odborníkov, používanie vlastných metódik a vlastných algoritmov, technologických postupov, substrátov a pod. so zameraním na rozvoj nových špeciálnych postupov majú referenčné laboratóriá svoje opodstatnenie a výnimočné postavenie s celoslo-

venskou pôsobnosťou. Zabezpečujú epidemiologický dohľad a uschovávajú vzorky biologického materiálu, ktorý obsahuje pôvodcu ochorenia, ktorý bol získaný z potvrdeného prípadu ochorenia.

1. REFERENČNÉ LABORATÓRIUM PRE DIAGNOSTIKU AUTOPROTILÁTOK

Stanovenie autoprotilátok je neodmysliteľnou súčasťou laboratórnych vyšetrení v reumatológii.

- Laboratórium sa koncentruje na detekciu širokej palety protilátok prítomných pri rôznych reumatických chorobách. V diagnostike autoimunitných ochorení si základné postavenie zachováva stanovenie antinukleárných protilátok, resp. protilátok proti intracelulárnym antigénom. Všetky dôležité bunkové antigénne terče týchto protilátok sa v zmysle platných diagnostických kritérií bežne identifikujú (nRNP/Sm, Sm, SSA, Ro-52, SSB, Scl-70, PM-Scl, Jo-1, centroméry, cyklín/PCNA, ribozomálny P-proteín, anti-mitochondriálne protilátky, nukleozómy, históny a mnohé ďalšie).
- Veľká pozornosť sa venuje detekcii protilátok, ktoré signalizujú vzplanutie ochorenia, rozlišujú jeho podskupiny, predvídajú prognózu, reagujú na terapeutický zásah, ako i výskytu charakteristických protilátok pri jednotlivých chorobných jednotkách. Sú to najmä anti-CCP protilátky pri reumatoidnej artritíde, anti-Sm a anti-rib RNP protilátky pri systémovom lupus erytematózus, anti-Scl-70 (topoizoméráza I) pri progresívnej systémovej skleróze, anti-Ro/SSA a anti-La/SSB pri Sjögrenovom syndróme, anti-Jo-1 (histidyl-tRNA syntetáza) pri polymyozitíde/dermatomyozitíde a anti-U1 RNP protilátky pri zmiešanej chorobe spojiva.
- Laboratórium popri bazálnej imunologickej diagnostike zabezpečuje nadstavbovú a konečnú analýzu sér, vykonáva odbornú expertízu, preveruje sporné laboratórne výsledky. Konfirmácie stanovenia autoprotilátok proti intracelulárnym antigénom realizuje využitím firemných dotových súprav a „house made“ imunoblotu (Western blot), ktorý laboratórium zaviedlo a využíva ako jediné pracovisko v republike. Jeho využitie je opodstatnené najmä pri identifikácii protilátok v polyšpecifických sérach. Analýzy tohto typu sú žiadané a nedajú sa riešiť na pracoviskách základného vybavenia.

- Vykonáva konzultačnú, metodickú i publikačnú činnosť.
- Úspešne kooperuje s výrobcami diagnostických súprav a má tradične dobrú spoluprácu so zahraničnými pracoviskami (Kodaň, Tel Hashomer, laboratóriá v Českej republike).
- Periodicky zabezpečuje metodickú výučbu pre potreby Slovenskej zdravotníckej univerzity, domáce i zahraničné zdravotnícke zariadenia.
- V laboratóriu sa v roku 2003 celkovo analyzovalo 10 136 sér pacientov s reumatickými chorobami v cca 50 680 výkonoch, z toho 23 % sér (2 331 sér v cca 6 993 výkonoch) zaslaných spádovými reumatológmi z celého Slovenska.
- V roku 2004 sa vyšetřilo 11 681 sér s počtom výkonov cca 58 405, z toho viac ako 25 % sér (3 018 sér v 9 054 výkonoch) z terénnych ambulancií.

Finančné prostriedky poskytnuté poisťovňami len čiastočne pokryli náklady potrebné na jednotlivé analýzy, zvyšná časť nákladov sa hradila z fondu určeného pre referenčné laboratórium.

DIAGNOSTICKÝ A PROGNOŠTICKÝ VÝZNAM PROTILÁTOK PROTI ANTIGÉNU RO/SSA

Výskyt protilátok proti antigénu Ro/SSA je častý najmä u pacientov s primárnym Sjögrenovým syndrómom (60 - 85 %), systémovým lupus erytematózus (50 %), ale i ďalšími systémovými reumatickými chorobami.

Antigén Ro/SSA je dobre charakterizovaná ribonukleoproteínová častica (komplex kyseliny ribonukleovej a špecifických proteínov, scRNP), ktorá je autoantigénom pre anti-Ro a anti-La protilátky. Asociácia Ro a La proteínov s RNA a často pozorovaná koexistencia anti-Ro a anti-La protilátok v sérach pacientov so SLE a Sjögrenovým syndrómom potvrdzuje spoločný generačný mechanizmus týchto protilátok.

Častica La je jadrový fosfoproteín s molekulovou hmotnosťou približne 50 kD, ktorý plní funkciu terminačného faktora RNA-polymerázy III a na jej transkriptoch sa nachádza len dočasne.

Na rozdiel od La, intracelulárna lokalizácia proteínu Ro v bunkách nie je celkom jasná; anti-Ro reaktivita sa určila v cytoplazme i v jadre. Rušiacimi faktormi stanovenia presnej lokalizácie je heterogenita Ro RNP, spôsobená jeho dvomi izoformami rozlišovanými podľa molekulovej hmot-

nosti - Ro60 kD a Ro52 kD. Funkcia antigénu nie je presne známa, predpokladá sa jeho účasť v cykle kontroly kvality a odstraňovania defektnej ribozómovej RNA.

Antigény Ro/SSA a La/SSB, spolu s antigénmi nRNP, Sm, Scl-70 a Jo-1, patria do skupiny tzv. extrahovateľných nukleárných antigénov (ENA). Možno ich identifikovať nepriamym imunofluorescenčným testom, precipitáciou, imunoblotom/imunodotom alebo ELISA metódami.

V niektorých prípadoch (1 - 2 %) sa neprejaví prítomnosť anti-Ro/SSA v imunofluorescenčnom či precipitačnom teste (tzv. ANA - negatívny SLE). Značná časť anti-Ro protilátok rozpoznáva konformačné epitopy, ktoré sa počas reakcií strácajú a vedú k negatívnemu výsledku, rovnako ako nízka koncentrácia antigénu či jeho denaturácia počas spracovania buniek. V týchto situáciách sa autoprotilátky dokazujú inými, špecifickými metódami, ktoré bežné, rutinné laboratóriá nemajú k dispozícii. Špecializované pracoviská sú schopné tieto autoprotilátky a ich jednotlivé typy (Ro60, Ro52) určiť na molekulej úrovni, čo je obzvlášť dôležité najmä z hľadiska podrobnejšieho spoznania etiológie ochorení i z hľadiska vylepšenia diagnostických testov.

Prítomnosť anti-Ro/SSA a anti-La/SSB protilátok v sérach chorých je relatívne častá a klinicky významná. Pri SLE sú tieto autoprotilátky asociované s fotosenzitivitou, pneumonitídou, renálnymi zmenami, zvýšenou alergiou na niektoré lieky, príležitostne s neurologickými poruchami. Určujú tiež jednotlivé podtypy SLE: subakútny kožný lupus, lupus s neurologickými poruchami, lupus s deficienciou C2 a C4 zložky komplementu či neonatálny lupus, pri ktorom riziko kongenitálneho srdcového bloku novorodencov súvisí práve s prítomnosťou anti-Ro/La v sére matky a pravdepodobne i s tvorbou protilátok proti proteínu Ro52.

Pri Sjögrenovom syndróme sa dokázala asociácia týchto protilátok s neurologickým postihnutím, vaskulitídou, anémiami, lymfopéniou a hypergamaglobulinémiou. Z uvedených dôvodov má včasné určenie protilátok a ich charakterizácia značný praktický i prognostický význam. Dôkaz autoprotilátok je však potrebné hodnotiť vždy v kontexte s klinickým obrazom choroby.

S produkciou protilátok anti-Ro/La súvisia antigény HLA-DR3 a HLA-DR2, ktoré

sú súčasťou HLA-haplotypov obsahujúcich alely HLA-DQA1*0501, DQB1*0201 a DQB1*0601. Vyšetrenie antigénov HLA-DR3 a HLA-DR2 je možné využiť pri posúdení genetického rizika tvorby týchto protilátok i pri objasnení podstaty vzniku autoimunitných reakcií a následnom rozvoji autoimunitného ochorenia.

Z klinického hľadiska prítomnosť týchto autoprotilátok (anti-Ro, anti-La) môže byť spojená aj s ťažkým orgánovým postihnutím (pľúc, kože, CNS, obličiek). Diagnostické ohraničenie ochorenia je však veľmi ťažké, pretože môže ísť o vývoj SLE alebo Sjögrenovho syndrómu. Nozografické ohraničenie však musí brať do úvahy klinický priebeh a klinické kritériá choroby. Náročné je diagnostické ohraničenie pri stavoch, ktoré sú svojím priebehom podobné SLE, ale bez prítomnosti anti-dsDNA, anti-DNP, anti-Sm alebo protilátok proti PCNA a rRNP. Prikláňame sa k názoru, že v týchto prípadoch ide obvykle o vývoj SLE iba s prítomnosťou autoprotilátok proti Ro/SSA, resp. La/SSB. Včasná diagnostika takýchto stavov je dôležitá z dôvodu potreby rýchleho zavedenia imunopresívnej liečby, ktorá pomôže potlačiť klinickú aktivitu a zabrániť ťažkému orgánovému poškodeniu. Spolupráca klinického reumatológa s pracovníkmi referenčného laboratória nepochybne vedie ku kvalitnej diagnostike, účinnej včasnej liečbe a v neposlednom rade k úprave závažného stavu u jej nositeľa.

2. REFERENČNÉ LABORATÓRIUM PRE IMUNOGENETIKU REUMATICKÝCH OCHORENÍ

- Zabezpečuje imunogenetickú laboratórnu diagnostiku - vyšetrenie antigénov HLA systému pre potreby klinickej reumatológie pri diagnóze a prognóze reumatických chorôb a posúdení genetického rizika.
- Vyšetrenie je zamerané na určenie antigénov HLA-A,B,C a HLA-DR,DQ, asociovaných s reumatickými chorobami, modernými sérologickými metódami (imunomagnetická izolácia lymfocytov CD8+, DR+, fluorescenčné techniky mikrolymfocytotoxického testu), ktoré sú porovnateľné s nízkorozlišovacími metódami molekulej genetiky a vyhovujú požiadavkám klinickej praxe - dostupnosť a početnosť vyšetrení, časová a finančná náročnosť, výpovedná hodnota.

- Zabezpečuje overovanie výsledkov laboratórnych vyšetrení antigénov HLA systému.
- Prezentuje výsledky populačných štúdií v oblasti imunogenetiky reumatických chorôb, ktoré slúžia ako referenčné hodnoty genetickej epidemiológie pre populáciu Slovenska pri ich využití v klinickej reumatologickej praxi.
- Vykonáva expertízu, konzultačnú, metodickú a publikačnú činnosť v oblasti imunogenetiky reumatických chorôb.

V referenčnom laboratóriu pre imunogenetiku reumatických chorôb sa v rokoch 2003 - 2004 realizovali nasledovné vyšetrenia:

- vyšetrenie HLA-antigénov triedy I - HLA-A,B,C - 2 197 pacientov
- vyšetrenie HLA-antigénov triedy II - HLA-DR,DQ - 186 pacientov
- vyšetrenie lymfocytotoxických autoprotilátok IgG a IgM- auto-LCA- 247 pacientov
- spolu: 2 630 pacientov (z toho mimoustavnych - 256 pacientov)

Vyšetrenie HLA-A,B,C bolo zamerané na určenie antigénu HLA-B27 pri diagnostike a prognóze séronegatívnych spondartritíd, najmä ankylozujúcej spondylitídy, reaktívnych artritíd, psoriatickej artritídy a enteropatických artritíd, vyšetrenie antigénov HLA-B13, B17, B38, Cw6 pri psoriatickej artritíde, antigénov HLA-A1,B8 pri autoimunitných chorobách, najmä SLE a Sjögrenovom syndróme, HLA-A2 pri juvenilnej idiopatickej artritíde, HLA-B51(B5) pri Behcetovom syndróme a HLA-B60(B40) pri ankylozujúcej spondylitíde. DR, DQ-typizácia bola nápomocná najmä pri reumatoidnej artritíde (antigény HLA-DR4, DR1 a DR11) a pri SLE a Sjögrenovom syndróme (antigén HLA-DR3). Vyšetrenie auto-LCA našlo uplatnenie u chorých so SLE a systémovou sklerodermiou s výskytom leukopénie a lymfopénie.

Všetky vyšetrenia sa realizovali primárne pre NÚRCH Piešťany ako národné centrum pre choroby pohybového aparátu. Poskytli sa taktiež širokej sieti reumatologických ambulancií v rámci celého Slovenska. V rokoch 2003-2004 to bolo 26 ambulancií, pre ktoré sa realizovalo dovedna 94 vyšetrení.

HLA-A,B,C,DR - typizácia sa robila aj pre nereumatologické pracoviská. Spolu sa realizovalo 162 vyšetrení najmä pre:

- očné oddelenia (kliniky) so zameraním na vyšetrenie HLA-B27 pri uveitídach
- kožné, resp. dermatovenerologické odd. so zameraním na antigén HLA-Cw6 pri psoriáze
- detské oddelenia - vyšetrenie HLA-B27 pri séronegatívnych spondaritídach, HLA-DR3, DR4 pri juvenilnom diabete a HLA-typizácia pri juvenilných idiopatických artritídach
- imunologické a alergologické ambulancie - HLA pri autoimunitných stavoch
- interné oddelenia.

3. REFERENČNÉ LABORATÓRIUM PRE DIAGNOSTIKU A MONITOROVANIE SEKUNDÁRNYCH IMUNODEFICIENCIÍ PRI ZÁPALOVÝCH REUMATICKÝCH CHOROBÁCH

Intenzívna imunosupresívna liečba na potlačenie autoagresívnych reakcií imunitného systému a zápalu môže mať za následok vážne narušenie imunologickej homeostázy organizmu, vývoj sekundárnych imunodeficiencií následným vznikom infekcií až sepsy.

Laboratórium prietokovej cytometrie vyšetrením subpopulácií buniek, ich aktívnych znakov a vykonaním funkčných imunologických testov výraznou mierou napomáha pri odhaľovaní skrytých sekundárnych imunodeficiencií a pri výbere a monitorovaní správnej terapie pre daného pacienta.

Cieľom cytometrických vyšetrení pri zápalových reumatických ochoreniach je:

- Vyšetrenie podrobnejšieho bunkového profilu pacienta s cieľom presnejšie charakterizovať aktuálny stav jeho imunitného systému.
- Priebežné monitorovanie imunosupresívnej a imunomodulačnej liečby.
- Včasnú odhalenie sekundárnej imunodeficiencie, predchádzanie sekundárnych infekcií.
- Odhalenie nonrespondentov, ktorí na danú imunosupresívnu liečbu nereagujú.
- Správna voľba imunomodulačnej terapie pre daného pacienta.
- Diagnostika HIV pozitívneho pacienta.

Zdravotné poisťovne hradia iba časť laboratórnych výkonov použitých pri tejto vyšetrovacej zložke (5 základných CD znakov, t.j. T a B lymfocyty, NK bunky a rozdelenie T lymfocytov na CD4 a CD8 lymfocyty), ktoré nestačia na posúdenie aktuálneho stavu imunitného systému pacienta tak, aby sa odhalila prítomnosť

skrytej infekcie, resp. určil vhodný terapeutický postup. Laboratórium prietokovej cytometrie na základe doterajších vlastných a literárnych poznatkov rozšírilo vyšetrovací postup o ďalšie vyšetované znaky: aktívované pomocné a cytotoxické T-lymfocyty a aktívované monocyty.

Ročne vyšetrujeme cca 400 - 500 pacientov s reumatickými chorobami čo predstavuje ročne 2 800 000 bodov.

Referenčné laboratórium poskytovalo konzultačnú a pedagogickú činnosť pre terénnych reumatológov a imunológov.

4. REFERENČNÉ LABORATÓRIUM PRE DIAGNOSTIKU REAKTÍVNYCH ARTRITÍD

Počtom a kvalitou vyšetrení ústav t. č. predstavuje jedno zo špičkových pracovísk pre sérologickú diagnostiku kĺbových ochorení vyvolávaných infekciou. Podporné stanovisko vyjadriala aj predsedníčka MES SLS a hlavný odborník MZ pre klinickú mikrobiológiu.

- Oddelenie mikrobiológie má k dispozícii vlastnú metódu na stanovenie boréliových protilátok s použitím kliešťového izolátu, izolovaného z regiónu západného Slovenska, s vysokou špecifickosťou a senzitivnosťou stanovenia, resp. komerčnú metódu, ktorá vyhovuje séroepidemiologickej situácii v eurokarpackom regióne.
- Oddelenie mikrobiológie ústavu je navyše schopné zabezpečovať kvalitnú sérologickú diagnostiku vyvolávateľov ostatných reaktívnych arthropatií (salmonelové, yersíniové a chlamýdiové) v sére aj v synoviálnej tekutine a je pripravené zabezpečiť aj priamu diagnostiku relevantných vyvolávateľov v synoviálnej tekutine molekulovo-genetickými metódami.

V priebehu rokov 2003 - 2004 sa laboratórium podieľalo na vyšetrení viac ako 8 000 vzoriek pri diferenciálnej diagnostike boréliových arthropatií (z toho viac ako 100 vyšetrení metódou imunoblotu, 3 000 vzoriek pre diferenciálnu diagnózu yersíniovej reaktívnej arthropatie, 2 000 vzoriek pre diferenciálnu diagnózu salmonelovej reaktívnej arthropatie a 6 000 vzoriek pre diferenciálnu diagnózu chlamýdiovej arthropatie. Referenčné pracovisko funguje komplexne, pod vedením lekára, ktorý je schopný nielen správne interpretovať výsledky laboratórnych vyšetrení, ale aj indikovať ďalší diferenciálno-diagnostický postup.

5. REFERENČNÉ LABORATÓRIUM PRE KOMPLEXNÚ ANALÝZU MARKEROV METABOLIZMU KOSTÍ PRI DIAGNOSTIKE, PROGNÓZE A TERAPII OSTEOPORÓZY A INÝCH KOSTNÝCH CHORÔB

Nevyhnutnou súčasťou každého osteologického pracoviska je stanovenie markerov kostného metabolizmu, ktoré charakterizujú aktuálny stav skeletu a vhodne dopĺňajú denzitometrické meranie kostnej hustoty. Laboratórium pre kostné markery pri NÚRCH ako prvé začalo stanovovaním markerov osteoresorpcie a osteoformácie na Slovensku a disponuje dlhoročnými skúsenosťami.

Náplňou referenčného laboratória bolo:

- Zavedenie a štandardizácia metód merania biochemických markerov kostného metabolizmu pre osteoformáciu (osteokalcín) a pre osteoresorpciu (N-koncový telopeptidický fragment kolagénu typu I - NTx, C-koncový telopeptidický fragment kolagénu typu I - CTx). Medzinárodné štandardy nie sú prístupné, preto je nutné vytvoriť interval normálnych hodnôt.
- Vyhľadávanie pacientov výrazne vystupňovanou osteoresorpciou, eventuálne nízkou osteoformáciou.
- Využitie kostných markerov na identifikáciu postmenopauzálnych žien, tzv. fast losers, ženy s rýchlym úbytkom kostnej hmoty.
- Využitie markerov na sledovanie účinnosti terapie osteoporózy.
- Stanovenie parathormónu pre diferenciálnu diagnózu hyperparatyreózy.

V priebehu rokov 2003 - 2004 sme vytvorili interval normálnych hodnôt pre osteokalcín, NTx a CTx, čo je základnou požiadavkou pre určenie pacientov s patologickými hodnotami markerov. Stanovenie markerov umožnilo určiť pacientov s extrémne vystupňovanou osteoresorpciou, eventuálne so zníženou osteoformáciou. Identifikovať postmenopauzálnu ženu s rýchlou stratou kostnej hmoty, ktoré potrebujú včasnú a adekvátnu terapiu. Biochemické markery sme ďalej použili na sledovanie terapie osteoporózy (bisfosfonáty, raloxifén, kalcitonín). Tieto merania nám umožnili sledovať odpoveď pacienta na liečbu už po 6 mesiacoch, identifikovať pacientov, ktorí na liečbu neodpovedajú predpokladaným spôsobom, čo znamená, že pacient liek neberie, nepoužíva podľa predpisu alebo bola nesprávne stanovená diagnóza. Lieky na osteoporózu

sú drahé, preto monitorovanie terapie pomocou biochemických markerov kostného metabolizmu môže ušetriť značné finančné prostriedky. Stanovenie parathormónu sa využilo pri diferenciálnej diagnóze hyperparatyreózy.

Referenčné centrum zároveň poskytovalo konzultačnú činnosť pre terénnych reumatológov a vo viacerých odborných článkoch prezentovalo najnovšie výsledky týkajúce sa markerov kostného metabolizmu a ich klinického využitia.

6. REFERENČNÉ LABORATÓRIUM PRE KOMPLEXNÚ ANALÝZU SYNOVIÁLNEJ TEKUTINY SO ŠPECIÁLNYM ZAMERANÍM NA DIAGNOSTIKU KRYŠTÁLIKMI INDUKOVANÝCH ARTRITÍD

Referenčné laboratórium patofyziológie kĺbu je jediným integrovaným pracoviskom v celej SR schopným zabezpečiť komplexnú analýzu synoviálnej tekutiny. V súčasnosti laboratórium slúži pre pacientov zo spádových reumatologických ambulancií, ako aj spádových ortopedických oddelení.

Referenčné pracovisko slúži na:

- Komplexnú analýzu synoviálneho výpotku.

- Vyšetrenie synoviálnej tekutiny so špeciálnym zameraním na hľadanie kryštálov rôzneho chemického zloženia (kryštály natrium urátové, dihydrátu kalcium pyrofosfátu a iných).

- Súčasťou referenčného pracoviska je aj morfológická diagnostika vzoriek synoviálnej membrány. Ide o vysoko špecializované odborné vyšetrenie pre diferenciálnu diagnostiku zápalových reumatických chorôb.

Vyšetrenie synoviálneho výpotku na kryštáliky, ktorý je špeciálny parameter s diagnostickou hodnotou pri postihnutí synoviálnych kĺbov u reumatických pacientov, má v ústave dlhoročnú tradíciu a vysokú validitu. Pracovníci NÚRCH sú nositeľmi prvenstva dôkazu kryštálov dihydrátu kalcium pyrofosfátu v svetovom meradle a na analýzu týchto kryštálov, kryštálov natrium urátu, ako aj ďalších kryštálov rôzneho chemického zloženia sme vybavení prístrojovo aj personálne.

Referenčné pracoviská zabezpečujú svoju činnosť komplexne, t. j. pod vedením lekára, resp. iného vysokoškolsky vzdelaného pracovníka v zdravotníctve, ktorý je schopný nielen správne interpretovať výsledky laboratórných vyšetrení, ale aj

indikovať ďalší diferenciálno-diagnostický postup, a má byť napojené na ambulanciu s realizáciou klinického vyšetrenia a záverečného zhodnotenia vrátane stanovenia diagnózy a diferenciálnej diagnózy.

Činnosť referenčného laboratória vyžaduje viacdrojové financovanie. Finančné prostriedky pridelené MZ SR sa použili na podporu uvedených činností referenčných laboratórií, pretože prostriedky poskytnuté poisťovňami na hradenie výkonov vyšetrení v rámci SVALZ pokrývajú len časť nákladov - chemikálie, séra, prístroje, energie, poštovné, odvody, mzdy a pod.

Prof. MUDr. J. Rovenský, DrSc.
RNDr. Ondrej Greguška, Ph.D.
Prof. MUDr. František Mateička, CSc.
Doc. RNDr. Vladimír Bošák, Ph.D.
Doc. Ing. Stanislava Blažičková, Ph.D.
RNDr. Darina Kozáková, Ph.D.
Ing. Mária Stančíková, CSc.

Národný ústav reumatických chorôb,
Piešťany