

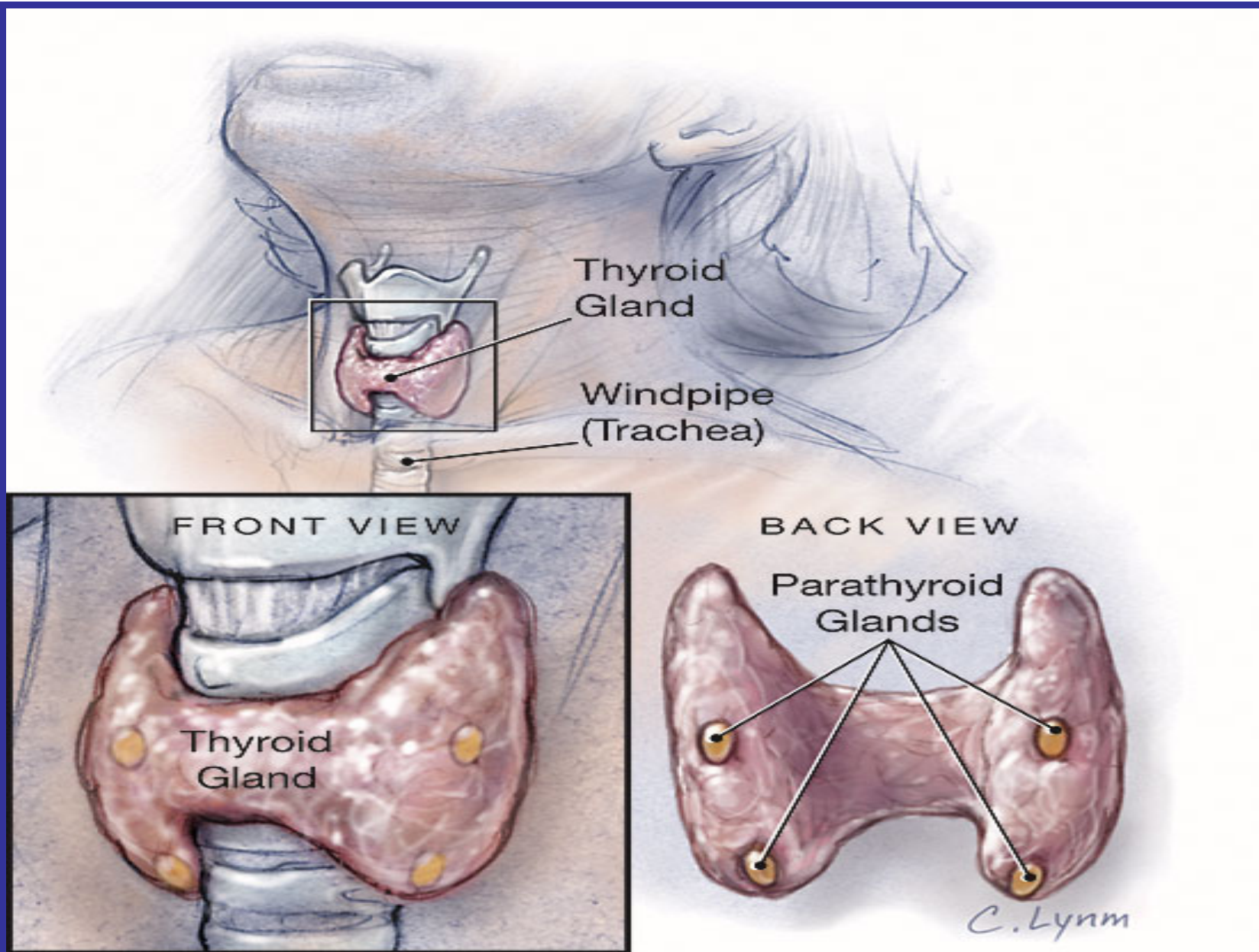
Stanovení PTH na přístroji Beckman Unicell 800 Dxl

Polívková V., Zehleová J., Nováková J. ,
Topolčan O.

ONM úsek imunodiagnostiky Plzeň

Charakteristika

- Parathormon je polypeptidický řetězec tvořený 84 aminokyselinami s molekulovou hmotností přibližně 9,43 kilodaltonů. Ve své intaktní formě je uvolňován příštítnými tělísky. Biologická aktivita je spojena s prvými 34 aminokyselinami N-terminální části molekuly. Odstraněním serinového zbytku lidského hormonu je aktivita eliminována.



Proteolýza PTH

- Po sekreci prochází PTH rychlou proteolýzou v játrech a v ledvinách.
- Je štěpen:
 - N-terminální fragmenty (1-34),
 - C-terminální fragmenty(35-84)
 - Středové fragmenty

Cirkulující PTH tvoří:

- 25% - biologicky aktivní PTH (1-84)
poločas 4 min.
- 70% - C-terminální fragmenty
poločas 30 min

Receptory PTH

- Na příštítných těliscích jsou Ca –senzitivní receptory, které registrují koncentraci kalcia v krvi. Vysoká senzitivita těchto buněk jim umožňuje centrální regulaci hospodaření s vápníkem.
- Receptory na osteoblastech-PTH stimuluje v nich tvorbu RANKL a tím rekrutování nových osteoklastů

Mechanismy regulace koncentrace kalcia a fosfátů v plasmě

- Stimulací kostní resorpce (vápník a fosfáty se uvolňují)
- Aktivací syntézy vitamínu D3 dochází ke zvýšené intestinální absorpci vápníku a fosfátů
- Snížením reabsorpce kalcia a fosfátů v proximálním tubulu ledvin

Metody

- Prvá generace – PTH a fragmenty – klinické využití bylo limitováno (RIA)
- Druhá generace – IRMA , jedna protilátka obvykle proti N-terminální oblasti, druhá se specifitou pro C-terminální oblasti (vázaná na pevné fázi)– cílem je stanovovat pouze intaktní(neporušený) PTH

METODY IRMA

- Prvá generace IRMA – na pevné fázi navázané protilátky proti C-terminální části PTH(39-84), značená detekční protilátka proti N-terminální části (1-34)
- Druhá generace IRMA druhá protilátka je proti aminoterminální části (1-4)

ACCESS Immunoassay System INTACT PTH

- Chemiluminiscenční koncovka
- Na pevné fázi – paramagnetických částicích je vázána prvá protilátka, (polyklonální) proti N-terminální části PTH (1-34)
- Druhá, alkalickou fosfatázou, značená protilátka je monoklonální proti C-terminální části molekuly PTH (53-68)

ACCESS Immunoassay Systém INTACT PTH

- Souprava pro 100 stanovení , dvě kazety po 50 testech v soupravě
- doba stanovení v rutinním režimu je 30 min.
- doba stanovení v intraoperativním režimu je 15 min.
- 6-tibodová kalibrační křivka
- Analytický rozsah cca 3500 pg/ml
- Do hodnoty 25 000 pg/ml metoda nevykazuje hook efekt

Název soupravy	Jedn	Level (průměr hodn.)			Jedn.	Level (průměr hodn.)		
		1	2	3		1	2	3
Intact PTH ELSA CIS Bio International	pg/ml	6	149	406	pmol/l	0,63	15,8	43
C-Termil PTH RIA DiaSorin	pg/ml	<0,31	<0,31	<0,31	pmol/l	<0,03	<0,03	<0,03
PTH-MM II RIA DiaSorin	pg/ml	1009	768	962	pmol/l	107	81	102
PTH IRMA Intact Beckman Coulter	pg/ml	4	173	488	pmol/l	0,46	18,4	52
PTH, Intact Diag. Produkt Immulite	pg/ml	11	212	648	pmol/l	1,17	22,5	68,7
PTH, intact, BAYER ADVIA CENTAUR	pg/ml	11	209	622	pmol/l	1,11	22,2	65,9
PTH, Intact, Beckman, UNICEL 800, DxI	pg/ml	6	189	399	pmol/l	0,64	20,0	42,3

Závěr

- Stanovení intaktního PTH v plasmě soupravou ACCESS představuje moderní metodické řešení, nevykazuje hook efekt ani v extrémně vysokých koncentracích, analytický rozsah je cca do 3500 pg/ml, doba trvání analýzy 15-30 min., dle zvoleného režimu
- Kontrolu provádíme kontrolním sérem Lymphocheck Immunoassay Plus (t.č.šarže 40180)
- klinické hodnocení výsledků získaných touto soupravou bude součástí přednášky na 27. IAD, kam vás tímto srdečně zveme