

B 3813

PhD értekezés tézisei

Labordiagnosztikai eljárások bevezetése
a klinikai kémiai gyakorlatban



Dr. Bariska János

Országos Reumatológiai és Fizioterápiás Intézet

Központi Laboratóriuma

Budapest

1998

Előzmények, célkitűzés

A humán gyógyító , megelőző ellátásban egyre nagyobb hangsúlyt kapnak a klinikai kémia módszerei . Ezek állandó fejlesztése és elterjesztése a betegeket gyógyító intézmények klinikai laboratóriumai-ban egyaránt szolgálja az egészségügyi ágazat-, valamint a gyógyulásra váró betegek érdekeit.

A modern orvosi együttműködésben két veszedelmes résztvevő van, az egyik az a laboratóriumi szakorvos, aki keveset tud az orvoslásról, a másik az a gyógyító orvos, aki a laboratóriumi eredmények értékeléséről tud keveset.

Bármelyik oldalról vizsgáljuk a kérdést alapvető feltétel, hogy a klinikai kémiai módszerek megbízhatóak legyenek és ebből adódóan segítséget nyújtsanak a diagnózis felállításához, valamint a célzott terápia megtervezéséhez.

Ismert az a tény is, hogy az infláció sokszorososan sújtja az egészségügyet. A vizsgálatokhoz szükséges készülékek, vegyszerek árai-, a gyógyítás során használt gyógyszerek költségei „világszínvonaluk”.

Amit ma egy klinikai kémiai laboratóriumban tevékenykedő szakember a gyógyítás költségeinek „visszaszorítása” érdekében tenni tud az az, hogy megpróbál új eljárásokat bevezetni vagy már ismert módszereket úgy alkalmazni /esetleg átalakítani/, hogy azok az adott klinikai kémiai laboratórium lehetőségeinek mind költségekben, mind egyéb feltételekben /műszerezettség, helyben elkészíthető reagensek stb./ megfeleljenek.

A fenti szempontokat figyelembevéve - a laboratóriumi diagnosztika területén eltöltött közel három évtized tapasztalata alapján - a klinikai kémia három területén vezettem be új eljárásokat.

Ezen új, már bevezetésre került módszerek egyaránt szolgálták a klinikus orvosok munkájának segítségét, valamint a laboratóriumok számára biztosított anyagi terhek csökkentését.

A szérumfehérjék elektroforézise területén célul tűztem ki a saját összetételű agarózalapú gélelektroforézis megvalósítását, amely - miután a gélöntés technológiáját is kidolgoztam - egyszerre szolgáltatta a klinikusok számára a keresett diagnózis megerősítését, valamint az olcsóbb - de minőségében nem rosszabb - eljárás megvalósítását.

Ugyancsak célul tűztem ki - a diagnózis minél előbb történő felállítása érdekében - az alkalikus foszfatáz-, a laktát dehidrogenáz-, valamint az amiláz izoenzimek elektroforézises módszerrel történő elválasztását saját összetételű és általunk kidolgozott gélöntési technológia segítségével.

Összeállítottam egy az agarózgél elektroforézis képének megfelelő - abból leolvasható - fehérjeanyagcsere zavarokkal járó betegségek csoportosítását.

Célként a vizelet - és a cerebrospinalis folyadék agarózalapú elektroforézisének - saját módszerrel történő - kidolgozása is szerepelt.

A szérumproteinek vizsgálata körében megoldandó feladatként szerepelt a szérumban található chylomikron-, a HDL-, az LDL-, a VLDL lipoproteinek saját összetételű agarózgélen történő elválasztása.

A klinikus orvosok munkájának segítése érdekében terveztem összeállítani egy a zsíryanagycsere-zavarokat csoportosító TÁBLÁZATOT, amely jelöli az egészséges-, ill. a zsíryanagycsere betegségek során kapott elektroforetogram eltéréseit és ajánlást tartalmaz a gyógyszerválasztást illetően.

A gyógyszerfogyasztás hatásosságának vizsgálatára-, valamint a gyógyszermonitorozási vizsgálatok elvégzése lehetőségének érdekében célul tűztem ki egy Gyógyszerszintmérési Laboratórium megszervezését. Ezáltal a gyógyszerkinetikai vizsgálatok elvégzésére is sor kerülhetett.

Anyag és módszer

Az elektroforézishez humán szérumot, vizeletet, synoviát és cerebrospinalis folyadékot használtunk.

Az agarózalapú gélrétreg anyagai: agaróz, agar, nátrium-azid, káciumlakát és Veronal-puffer. Festéshez amido-feketét alkalmaztunk.

A cellulózacetát elektroforézis esetén a festék Ponceau S volt.

Az agarózalapú elektroforézist Beckman rendszerű elektroforézises rendszerrel végeztük. A kiértékelés Appraise Densitometer System /Beckman/ segítségével történt.

A cellulózacetát elektroforézis a Sartorius Sartophor 3000 jelzésű készülékével történt.

A szérumlipoproteinek vizsgálatához használt agarózalapú gél összetevői megegyeztek a szérumfehérjék elektroforézisénel használtakkal, csak a mennyiségi összetétel különbözött. Festéshez Sudan Red 7 B került alkalmazásra.

Az elektroforézis a Beckman elektroforézises rendszerrel, a kiértékelés az Appraise Densitometer Systemmel történt.

A gyógyszer szintmérsnél használt minták: humán szérum, vizelet, synovia nyál. A minták előkészítéséhez leggyakrabban használt anyagok: metanol, etanol, izo-propil-alkohol, foszfát-puffer, hidrogénklorid, TRIS.

A vizsgálatokhoz használt készülék a High Performance Liquid Chromatography /HPLC/. A leggyakrabban használt oszlop: Nucleosil C-18 5 ill. 10 μ szemcseméretű, 25 cm X 4,6 mm hosszú.

Eluensként főként metanolt, tetrahidrofuránt, acetonitril fordult elő.

A folyadékkromatográfiás rendszer fordított fázisú, izokratikus.

Legfontosabb eredmények

1. Az agarózgél elektroforézishez használt agarózalapú lemezek öntési technológiáját kidolgoztam, az agarózgélréteg összetételét beállítottam.
2. Összeállítottam egy TÁBLÁZATOT, amelyben a különböző fehérjeanyagcsere zavarral járó betegségekhez hozzárendeltem az elektroforézis képe alapján a megfelelő fehérje frakciókat.
3. Megoldottam az alkalikus foszfatáz-izoenzimek agarózgélen történő elektroforézises szétválasztását.
4. Kidolgoztam a laktátdehidrogenáz-izoenzimek elektroforézises elkülönítését.
5. Bevezettem az amiláz-izoenzimek cellulózacetát-, valamint agarózgélrétegen történő elektroforézises elkülönítését.
6. Saját öntésű és összetételű agarózalapú gélrétegen a szérumlipoproteinek elektroforézissel történő elkülönítését megoldottam. /Chylomicron HDL-, LDL-, VLDL-lipoproteinek, Lp/a//.
7. Összeállítottam egy TÁBLÁZATOT, amely a lipidanyagcsere zavarokhoz tartozó elektroforetogram képét adja meg a normális értékekhez viszonyítva.
8. Ajánlást fogalmaztam meg arra vonatkozóan, hogy kiknél szükséges a szérum koleszterin, triglicerid, valamint a HDL-, LDL-, VLDL-koleszterin laboratóriumi meghatározása.
9. A primer hyperkoleszterinaemiás betegek diétás kezelésére tettem ajánlatot.
10. Kidolgoztam a hyperlipidaemiás betegek gyógyszeres kezelésének követendő lépéseit.
11. Kialakítottam és működőképessé tettem a GYÓGYSZERSZINTMÉRÉSI LABORATÓRIUMOT.
12. Gyógyszermonitorozási paneleket állítottam össze.
13. A reumás betegségek vonatkozásában gyógyszermonitorozási lehetőségeket dolgoztam ki.

Az értekezéshez kapcsolódó közlemények, előadások

1. Bariska J., Schorm J., Juhász P.:
Fehérje elektroforézisre alkalmas agarózalapú gélréteg összetételének kidolgozása és a gélréteg öntési technológiájának beállítása
ORFI Újítási Tanusítvány , Naplósám: 3/1988. Bp. 1988.
2. Bariska J., Schorm J., Juhász P.:
Szérumfehérjék agarózzgél elektroforézise ORWO ET 100 hordozófolia felhasználásával.
Laboratóriumi Diagnosztikai Társaság 38. Nagygyűlése Kiadványa,
Sopron, 1988. Okt. 20 - 22.
3. J.Bariska:
Modified Lipoproteins /Radicals, ions and tissue damage, Matkovic,B.
Karmazsin,L. and Kalász,H. eds/, Bpest Akadémia Kiadó /4/ 29-33./1990/
4. J.Bariska.,T.Bender:
Determination of Diclofenac /Voltaren/ concentrations in human serum
and synovial fluid by High Performance Liquid Chromatography.
Laboratóriumi Diagnosztika /3/174-175./1992/
5. T.Bender.,J.Bariska et. al.
Diclofenac -Absorption from Voltaren Emulgel through Iontophoresis
and Phonophoresis
Eur. J. Physical Med. Rehabil. /5/ 130-132./1995/
6. Darnót Gábor dr.,Nemesánszky Elemér dr., és Bariska János dr.:
A koffein elimináció vizsgálatának diagnosztikus értéke a krónikus máj-
betegségekben
Orvosi Hetilap /18/ 927-931.1995/
7. Bariska J.:
Biokémia tankönyv
Szociális és Egészségügyi Minisztérium Kiadó Budapest 1989.

8. Bariska J., Schorm J.:
Alkalikus foszfatáz izoenzimek szétválasztása ORWO ET 100 hordozófólián
Laboratóriumi Diagnosztikai Társaság 41. Nagygyűlése Kiadványa Szombathely, 1991. Szempember 22-26.
9. Bariska J., Zaka J.:
HDL-koleszterin és a Miocardiális Infarctus
ORFI Tudományos Ülése 1984. Március 13.
10. Bariska J.:
A szérumfehérjék elektroforézisének értékelése a reumás betegségek tükrében
Beckman Instruments /Ausztria/ Tudományos Ülése Bp. 1984.Dec.06.
11. Bariska J., Romics L., Szollár L.:
Lipidanyagcsere és a laboratóriumi diagnosztikája
ORFI Tudományos Ülése 1986. Február 24.
12. Bariska J., Judák A., Poór Gy., Mituszova M.:
Lipoproteinek vizsgálata köszvényes betegeken
MRE Vándorgyűlés Gyula, 1986. Október 27-29.
13. J.Bariska.,M.Mituszova:
Investigation of Lipid Metabolism in Gout
Moscow, 19-26. November 1986.
14. J.Bariska:
Labordiagnostik der Fettstoffwechselstörungen
Minisymposium in Piestany 21-23. November 1988.
15. J.Bariska , A.Judák:
Investigation of Lipid Metabolism in Gout
Joint Symposium on Microcirculation and Gout.
Bpest, 1987. Március 28-29.
16. Az alkalikus foszfatáz izoenzimek és a laktátdehidrogenáz izoenzimek elektroforetikus szétválasztása
Zala Megyei Kórház Tudományos Ülése Zalaegerszeg, 1991.Október 11

17. Bariska J.:
Lipidanyagcsere és a reumás betegségek
Hévízi Gyógyfürdőkórház Tudományos Ülése Hévíz, 1992.Szept. 11.
18. Gyógyszermonitorozási lehetőségek az ORFI-ban
ORFI Tudományos Ülése 1992. Január 13.
19. Bariska J.,Bender T.:
Diclofenac /Voltaren/ koncentráció meghatározása emberi szérumból
és synoviális folyadékból HPLC-vel
MLDT 42. Nagygyűlése Veszprém, Szeptember 24-26.
20. Bariska J.:
A lipidanyagcsere zavarok laboratóriumi diagnosztikája
Állami Szanatórium Tudományos Ülése Sopron, 1992. November 14.
21. Bariska J.:
Szabad gyökök hatása a synovialis folyadék biokémiai paramétereire
Rheumatoid Arthritisben és Osteoarthrosisban
Állami Kórház Tudományos Ülése Balatonfüred 1993. Július 13.
22. J.Bariska:
High Resolution Protein Electrophoresis
Electrophoresis Symposium Issy-les Moulineaux, Paris 3-5.Nov.1993.
23. Bariska J.:
A lipidanyagcsere zavarok laboratóriumi diagnosztikája
Budai Gyermekkórház Tudományos Ülése 1995. Február 13.
24. Bariska J.:
Lipidanyagcsere betegségek és az alapellátás
Dunakeszi Rendelőintézet 1996. Március 13.