

Oddělení laboratorní medicíny nemocnice Šternberk

Jívavská 20, 78516, Česká Republika

Tel 585087308 fax 585087306 E-mail olm@nemstbk.cz info: www.nemstbk.cz/olm

Zdroj: Clin Chem, Jan 2004

Měření celkového homocysteinu (Hcy) v krvi (plasmě nebo v séru) patří v současné době mezi standardní vyšetřovací metody. Vysoké hodnoty homocysteinu v krvi souvisí z celou řadou nemocí a jsou považovány za závažný RF manifestní aterosklerózy.

Úvod

Vyšší koncentrace celkového Hcy v krvi je citlivý ukazatel deficitu folátu (Vit B8) a kobalaminu (vit B12) a je to nezávislý RF kardiovaskulárních onemocnění. Koncentrace tHcy je spojována s defekty při narození, s komplikací v těhotenství, s psychickými poruchami, s pokročilejším věkem. Měření tHcy je proto velmi důležité.

Měření tHcy je zavedeno od počátku 80. let. Nicméně, až z příchodem imunoanalýzy v polovině 90 let se mění toto stanovení z výzkumného k rutinnímu, tedy k široce užívanému chemickému testu. Následkem toho, vzrostl zájem jak na poli výzkumu tak na poli rutinní diagnostiky.

Doporučení pro stanovení tHcy

Hcy je prostředníkem v metabolismu sirných AMK a spojuje cyklus methioninu s cyklem folátu.

Hcy je tvořen z methioninu cestou četných adenosylmethionin přenosů, které jsou závislé na metylu (jeden z enzymů guanidinoacetát metyltransferáza, katalyzuje tvorbu kreatinu a kreatininu). Metabolismus Hcy závisí na některých vitamínech typu B, včetně folátu, kobalaminu (Vit B12), B6- pyridoxinu a B2-riboflavinu.

Nevyváženost mezi tvorbou a vylučováním tHcy se projeví v plazmatické koncentraci.

Hcy je v plasmě okysličován a proto existuje v rozmanitých formách. Nejčastěji se vyskytuje v kombinaci disulfidu s albuminem, zbytek je volná forma disulfidu. Jen malý podíl zůstává v sulfhydrylové formě.

Analytika

Metody stanovení

tHcy v plasmě je poměrně nestabilní, ale problémy s tím spojené jsou víceméně překonány.

Ve vzorcích krve (plasma, sérum) se všechny formy tHcy přeměňují na redukovanou formu.

Analytické metody na stanovení tHcy mohou být rozděleny do dvou skupin

a) chromatografické metody

b) enzyimoimunoanalýzy

c) enzymatické metody

V rutině i ve výzkumu je velmi široce používané stanovení FPIA (ABBOTT ImX nebo AxSym) nebo LEIA (Immolute 2000 DPC). Chromatografické stanovení zahrnují analýzu AMK HPLC s UV, fluorescencí a elektrochemickou detekcí, kapilární elektroforézu s fluorescenční detekcí, plynovou chromatografii s hmotnostní spektrometrií a kapilární chromatografii s tandem MS.

Chromatografické stanovení vyžaduje zručný personál a pracovní výkonnost může být nízká. Výhody chromatografického stanovení jsou především široký analytický rozsah, současná detekce ostatních separátů (stanovení jiných simých kyselin a metylmalonové kyseliny) a nižší cena než komerčně dostupné soupravy.

Různé metody stanovení tHcy dávají srovnatelné výsledky, ale rozdíly mezi metodami a mezi laboratořemi jsou značné. **V ideálním případě** by měl být **bias < 10% a CV < 5%**. Mnoho metod však tato kritéria nesplňuje.

Zatím chybí standardizace stanovení tHcy. Chybí kvalifikovaný referenční materiál, je problém v rozdílných typech kalibrátorů, které často přinášejí rozdílné hodnoty. V posledních letech je kvalita stanovení Hcy lepší, ale problém se standardizací zůstává nevyřešen.

Doporučení pro rutinní provoz

- stanovení by mělo být ekonomické, rychlé, robustní, snadno proveditelné a stabilní
- bias < 10% a CV < 5%
- analytický rozsah by měl být 0.5 - 99.5 percentil populačního rozmezí (3-40 umol/l) (2-50 umol/l)
- tyto podmínky nejlépe splňují enzymatická a imunostanovení, které se hodí do rutinní laboratoře
- protože přesnost tHcy se liší mezi metodami a mezi laboratořemi, měly by být laboratoře obezřetné v porovnávání svých výsledků s výsledky s jiné laboratoře
- je nezbytná účast v externí kontrole kvality

Preanalýtika

Náběr vzorků a manipulace s nimi

Běžný příjem potravin neovlivňuje koncentraci tHcy u zdravých lidí; nadměrný příjem jídla bohatého na proteiny může však koncentraci zvýšit o 10-15% (po 6-8h). To je pravděpodobně příčinou denní variability měření. Ráno a dopoledne bývá koncentrace nejnižší a večer je nejvyšší. Koncentrace tHcy nevykazuje sezónní variace.

Optimum: náběr nalačno po 12 hod lačnění, v ranních, ev. dopoledních hodinách. Na ročním období nezáleží.

Provedení odběru

Koncentrace tHcy se s dobou ani intenzitou zatažení paže nemění.

Vzorky krve nabírané vleže mívají koncentraci tHcy cca o 10% nižší, než jsou koncentrace tHcy nabírané v sedě. Tento poznatek možná přispívá k vysvětlení skutečnosti, že nižší koncentrace tHcy nacházíme v akutní fázi po infarktu myokardu, než u vzorku odebraného 2-3 měsíce později.

Optimum: náběr v polosedě (ne v leže)

Plasma versus sérum

Tradičně je doporučováno měření tHcy v plazmě, protože použití antikoagulancií dovoluje okamžité zpracování vzorku. Sérum (i když optimálně připravené) má nižší analytický výnos než plazma.

Optimální je EDTA nebo heparinizovaná plazma; tyto dávají stejné výsledky, kdežto v citrátové plazmě jsou hodnoty o 5-15% nižší. Použití antikoagulancia závisí také na užívané metodě.

Např. u EDTA je vhodná u fluorescence (ABBOTT), ale není vhodná u GC-MS. U Imm 2000 (DPC) je doporučena EDTA nebo heparinizovaná plazma jako nejlepší odběr.

Optimum: EDTA plasma nebo sérum

Vyplavení Hcy z krevních buněk a použití stabilizátorů

Po odběru krve, před centrifugací se popisuje časová a teplotní závislost zvyšování tHcy. tHcy je uvolňován z ery. Při pokojové teplotě je zvýšení „tHcy 1umol/l = 1hod“; toto zvýšení ale není závislé na počáteční koncentraci tHcy (toto zvýšení odpovídá 10% za hodinu v typickém vzorku s koncentrací 10umol/l tHcy, ale jen 3% zvýšení u vzorku s koncentrací 30umol/l tHcy). V séru je koncentrace tHcy o 5-10% vyšší než v plazmě, protože sérum se ponechává 30-60min stát při pokojové teplotě.

Falešnému zvýšení tHcy se může předejít okamžitou centrifugací a oddělením od krevních buněk, nebo udržováním vzorku v chladu dokud nebude centrifugován.

Používáním separačních gelů se také předejde zvyšování koncentrace tHcy v séru nejméně 48h. Některé stabilizátory zabraňují přechodu Hcy z ery. (např. Fluorid sodný – NaF – zdá se, že zamezuje zvýšení, pravděpodobně osmotickým účinkem na ery.)

Citrát stabilizuje koncentraci tHcy na několik hodin; jeho používání vede však obvykle k malým, ale konzistentním změnám v koncentraci tHcy. Stanovovat tHcy v plné krvi bylo navrženo jako alternativa k plazmě, ale to bude vyžadovat nové odkazy na referenční intervaly.

Optimum: stanovení z EDTA plasmy nebo séra (hodnoty vyšší o 5-10%, což lze ještě z hlediska kliniky akceptovat). Po náběru vzorku ihned do 60 min zpracovat, vhodné umístit do chladné vodní lázně 4°C.

Stabilita tHcy plazma/sérum

Po centrifugaci (odstranění krevních buněk) je koncentrace tHcy v plazmě nebo v séru stabilní. Stabilita při pokojové teplotě je minimálně 4dny.

Stabilita v lednici při 4°C je několik týdnů. Stabilita při -20°C je několik let

Zamrazení vzorku je dobře tolerováno, nicméně po rozmrazení je problém s nehomogeností vzorku. Z toho důvodu je nutné během rozpouštění vzorek důkladně promíchat.

Optimum: analýza bezprostředně po separaci, lze ale akceptovat i vyšetření do 4 dnů při uchování vzorku v pokojové teplotě (nebo v chladnici)

Hemolýza

Hemolýza obvykle nemění koncentraci tHcy v plazmě. Hemolýza musí být masivní, aby jen malým procentem změnila koncentraci tHcy.

Doporučení pro rutinní provoz

- laboratoř by měla podávat instrukce o odběru vzorku a manipulaci s ním. U komerčních stanovení jsou instrukce poskytovány výrobcem
- laboratoř by měla dát striktní instrukce o možném posledním jídle (12 hod před odběrem), o doporučené pozici během odběru krve (polosedě) a o vlivu zatažení končetiny (nehraje roli, protože tyto faktory jsou nezbytné ke správnému výkladu výsledku)
- laboratoř by měla doporučovat jeden typ odběru. Nejpoužívanější jsou náběry do EDTA; pro klinickou praxi lze tolerovat i použití séra nebo citrátové plasmy, přičemž je potřeba vědět, že sérové hodnoty bývají obvykle o 5-10% vyšší.
- vzorek krve má být centrifugován během do 60 min od odběru nebo uchováván v chladné lázni, dokud nebude centrifugován (do 8 hod)
- plazma/sérum může být zaslaná do laboratoře při pokojové teplotě. Mohou se používat i zkumavky se separačním gelem.

Biologické determinanty

Zahrnují faktory genetické, fyziologické, životní styl, různé nemoci a léky. Mnohé z těchto faktorů způsobí změny v koncentraci tHcy. Změny v koncentraci tHcy způsobí i změny koncentrace vitamínu B, zvláště kobalaminu (Vit B12) a folátu (Vit B8). Vliv na koncentraci tHcy mají i renální poruchy

U jedinců s nízkou koncentrací folátu nebo kobalaminu nebo při zhoršení funkce ledvin nacházíme ve většině případů zvýšenou koncentraci tHcy.

V populaci se doporučuje potrava s přidavkem kyseliny listové, proto jsou z hlediska hyperhomocysteinemie nejvýznamnější nedostatek kobalaminu a renální poškození.

Nejběžnější genetickou determinantou, která je spojena se zvýšením Hcy je polymorfismus pro MTHFR 677C-T. Jedinci s genotypem MTHFR 677 TT mají obvykle o 2 $\mu\text{mol/l}$ vyšší hodnoty tHcy než jedinci s polymorfismem 677CC. Většina jiných genetických polymorfismů nemá příliš vliv na koncentraci tHcy.

Léky zvyšující koncentraci Hcy:

- 1) antagonisté folátů (metotrexát, trimetoprim, antikonvulziva, cholestyramin)
- 2) antagonisté kobalaminu (NO, biquanidy, H₂ antagonisté, omeprazol)
- 3) antagonisté vitB6 (niacin, azauridin, misoniazid, teofylin)
- 4) produktoři Hcy (L-Dopa)
- 5) Pohlavní steroidy (androgeny, aminoglutetimid)
- 6) Jiné (betain, simvastatin)

Léky snižující koncentraci Hcy:

- 1) produktoři Hcy (analogy adenosinu, kreatin)
- 2) Sulhydrolé komponenty (D-penicilamin, N –acetylcystein, Mesna)
- 3) Pohlavní steroidy (estrogeny, tamoxifen)
- 4) Jiné (cyklosporin A, fibráty, diuretika)

Doporučení v rutinní praxi

- jedinci s hyperhomocysteinemií: u těchto jedinců je zapotřebí počítat se všemi výše zmíněnými faktory - B12, B8, renální poruchy
- faktory, které mají vliv na koncentraci tHcy by měly být vzaty do úvahy k interpretaci výsledků.

Referenční intervaly

Obvykle je za referenční interval považována škála hodnot, které se vyskytují u 95% zdravé populace (2,5.-97,5. percentil). Referenční intervaly mohou být stanovené pro různé populace a tak vykazovat značné rozdíly, včetně faktorů vázajících se k věku, pohlaví, etniku, výživě, životnímu stylu a onemocněním.

Věk, pohlaví a těhotenství

tHcy se zvyšuje během života, od dětství do stáří roste jeho hodnota asi dvojnásobně. Během puberty, mají muži vyšší Hcy než ženy. Rozdíl pohlaví činí asi 2 $\mu\text{mol/l}$, ale tento rozdíl se snižuje se stoupajícím věkem.

Během těhotenství je koncentrace Hcy značně nižší a tento nálezn je jen částečně vysvětlen hemodilucí a zmenšenou koncentrací plazmatické bílkoviny během těhotenství.

Renální funkce a kreatinin

tHcy je závislý na renálních funkcích a syntéze kreatininu. Obvykle jsou referenční hranice vypočítány po vyloučení osob se zvýšenou hodnotou kreatininu nebo po vyloučení osob s poruchami renálních funkcí

Výživa a životní styl

Většina dospělých má dostatečný přísun kyseliny listové. Použití kyseliny listové jako doplněk zdravého životního stylu snižuje koncentraci tHcy o 10-30%.

Etnikum

koncentrace tHcy v plazmě je různá u různých etnických skupin. V některých regionech, zvláště v rozvojových zemích, je koncentrace tHcy v plazmě velmi vysoká u většiny populace. Například ve skupině předpokládaných zdravých asijských indiánů, má 95% obyvatel > 50umol/l; toto je jen částečně vysvětleno sníženou koncentrací kobalaminu.

Doporučení pro klinickou praxi

- každá laboratoř by měla mít své referenční intervaly pro svůj region
- referenční populace by neměla obsahovat jedince s deficitem folátu nebo kobalaminu, nebo se zvýšeným kreatininem, právě tak jedince kteří jsou nemocní nebo léčeni a tak mají koncentraci tHcy vyšší.
- Měly by existovat jiné referenční intervaly pro děti, dospělé, geriatrickou populaci a pro těhotné ženy.
- V případě, že je potrava v populaci fortifikována kyselinou listovou bývá horní interval asi o 20-25% nižší než v populaci, která je folát deficitní.
- horní hranice by se neměla striktně požívat, ale měla by se interpretovat s věkem a pohlavím. U mladé ženy nekuřačky je 14umol/l považována za vysokou hodnotu, u 90letého muže je koncentrace 20umol/l běžná a nemusí nutně indikovat žádnou poruchu.

Intraindividuální variabilita

Existuje vztah mezi opakovaným testováním jednoho jedince v různých časových intervalech. V klinické medicíně odráží intraindividuální variabilita spolehlivost jednoho měření a určuje velikost změny mezi dvěma měřeními.

Celková intraindividuální variabilita je suma intraindividuální biologické a analytické variability a je obvykle daná SD nebo CV. Intraindividuální variabilita tHcy u zdravých dospělých je 8%. U opakovaných měření by hodnota koncentrace tHcy měla být mezi 9,2 a 10,8 umol/l v 70% a 8,4-11,6umol/l u 95% testů.

Hyperhomocystinémie je spojená s vyšší intraindividuální variabilitou. U jedinců s koncentrací tHcy > 40umol/l je intraindivid. variabilita 25% v období 4-8 měsíců a 35% v období 2 let.

Pro rozhodnutí zda je významná změna v koncentraci tHcy mezi dvěma měřeními z jednoho vzorku, se musí zvážit jak analytická CV tak intraindividuální variabilita.

To určuje tzv. kritická difference, která se počítá jako $2,77 \times (CV_{analytická}^2 + CV_{biologická}^2)^{1/2}$. Kritická difference bude přinejmenším 20% a u většiny laboratoří ještě podstatně vyšší. Velikost kritické difference může být snížena větším počtem testováním jednou vzorku.

Doporučení pro klinickou praxi

- jediné měření koncentrace tHcy obvykle odráží střed koncentrace tHcy a ve většině případech je adekvátní.
- Je-li změna koncentrace tHcy mezi vzorky odebranými ve dvou odběrech více než 25-30% je tato změna pravděpodobně velmi významná.

Zátěžový test methioninem

Zátěžový test metioninem byl původně určený test pro diagnostiku heterozygotů pro deficit cystation β -syntetázy (CBS). V současné době, se tento test používá pro jedince s mírným zhoršením metabolismu Hcy. Význam má zvláště u osob s kardiovaskulárními chorobami, kteří mají nalačno Hcy normální ale po jídle mají koncentraci Hcy zvýšenou.

Provedení: příjem methioninu 100mg/kg tělesné hmotnosti a měření Hcy obvykle 4-6hod po příjmu methioninu.

Interpretace: v dospělém věku se pohybuje Hcy po přidavku methioninu za 4-6 hod kolem 30umol/l. (tj zvýšení o 20umol/l nalačno, nebo 3x vyšší hodnota než hodnota nalačno).

Faktory které jsou spojovány se zvýšením koncentrace tHcy po podání methioninu jsou vyšší věk, mužské pohlaví, špatná funkce ledvin, nízká koncentrace folátu, kobalaminu a vitaminů skupiny B, genotyp MTHFR 677TT a heterozygoti deficitu CBS. Nicméně, kromě heterozygotů pro CBS se většinou zvyšuje koncentrace i bez methioninového testu.

Doporučení pro klinickou praxi

- zátěžová zkouška methioninem je nepraktická, a její výpovědní hodnota nejistá.
- tento test je vyhrazen spíše pro vědecké studie

Indikace stanovení Hcy:

a) diagnóza homocystinurie

b) poznání jedinců, kteří jsou ohroženi deficitem kobalaminu (Vit B12) a folátu (Vit B8)

c) stanovení tHcy jako rizikového faktoru kardiovaskulárních chorob

d) nefropatie

e) psychiatrická onemocnění

f) komplikace v graviditě, porod plodu s defektem (ev. chromosomální aberací)

Existují práce kdy se měření tHcy používá i v mnoha dalších případech (např. odhad saturace vitaminem B6, vitaminy skupiny B obecně, u jedinců s Ca, psoriázou, revmatoidní artritidou, u fibromyalgií), ale důkazy studií nejsou dostačující pro měření tHcy v těchto případech v rutinní praxi.

Homocystinurie

Jakou populaci vyšetřit

Testovaná populace zahrnuje pacienty, zvláště děti a mládež, se symptomy homocystinurie, včetně tromboembolismu, dislokace čočky, progresivní krátkozrakosti, osteoporózy, neobjasněné duševní retardace, psychických poruch, megaloblastické anémie. Testují se i sourozenci nebo děti těchto pacientů s homocystinurií.

Příčinou homocystinurie je vzácná vrozená metabolická vada - porucha exkrece homocysteinu do moče. Bývá spojena se zvýšenou koncentrací tHcy v plazmě (obvykle > 100 umol/l). Nejčastější příčinou tohoto onemocnění je CBS deficit, ale i vadná remetylace Hcy, která vede k defektům v syntéze methioninu, dále v MTHFR, nebo v enzimech nebo v jiných faktorech, které jsou spojeny s metabolismem kobalaminu. Nezávisle na defektu, tito pacienti mají vysoké riziko předčasné a často fatální tromboembolické příhody (embolie, CMP, AIM, atp). Deficit CBS je autosomálně recesivní choroba. V populaci je prevalence této choroby 1/300.000; prevalence je vyšší v Irsku a Jižním Walesu.

Data ze Skandinávie, která jsou založená na genetických rozbořech novorozenců a v rozsáhlém testování tHcy v populaci ukazují, že CBS může být častější – 1/20.000 narozených dětí.

Deficit CBS bývá často dělen na pyridoxin vnímavé a nevnímavé varianty, v závislosti na účinku pyridoxinu na koncentraci tHcy.

Pacienti „pyridoxin nevnímaví“ mají často závažný klinický fenotyp s ranným příznakem, ale obě skupiny „vnímavá“ i „nevnímavá“ mohou trpět vážnými komplikacemi. Mezi první příznaky patří krátkozrakost a dislokace čočky; někteří pacienti však mají málo typických syndromů a jako prvním příznakem je u nich kardiovaskulární onemocnění.

Časná diagnóza a léčba pyridoxinem nebo kyselinou listovou (nebo vitaminy skupiny B), nejlépe od dětství, často zabraňuje časným výskytům kardiovaskulárních chorob. Snižování koncentrace tHcy má prospěšný účinek, který je nezávislý na citlivosti pyridoxinu.

Většina heterozygotů pro CBS deficit má normální tHcy nalačno, ale jejich koncentrace Hcy v moči může být zvýšená. Někteří (ale ne všichni) odpovídají na podání methioninu zvýšením koncentrace tHcy.

Zvýšení koncentrace po podání methioninu je také rizikovým faktorem pro vznik defektu neurální trubice u plodu, ale heterozygoti pro deficit CBS nejsou často v populaci nalezeni a heterozygotní jedinci se projevují až manifestací některých kardiovaskulárních chorob

Ve srovnání deficitem CBS jsou méně známé vrozené vady založeny na chybné nebo nedostatečné remetylaci Hcy. Tento defekt se obvykle (ale ne vždy) projevuje již při narození a spojen se zpožděním psychického i fyzického vývoje, objevuje se katabolismus, megaloblastická anemie a myelopatie.

U jedinců s polymorfismem MTHFR se nevyskytuje megaloblastická anemie.

Hcy v dg homocystinurie

Kromě členů rodiny a pacientů s homocystinurií, jsou za příčinu hyperhomocystinemie málokdy považovány genetické defekty způsobující homocystinurii.

Nicméně u jednotlivců se zvýšeným Hcy > nad 100 umol/l by se mělo o této dg uvažovat.

Různé varianty příčiny vyššího tHcy

Vysoký methionin (10-50) kombinovaný s cystioninem svědčí pro deficit CBS; nízký nebo normální metionin ukazuje na defekt remetylce Hcy.

Jedinci s MTHFR mutací mají koncentraci folátu v ery v referenčních mezích, kdežto ti s deficitem methionin syntázy nebo defektem mají deficit B12 a B8 v ery a megaloblastickou anemii.

Zvýšení Hcy a MMA (metylmalonové kyseliny) jsou u pacientů s defektem transportu kobalaminu a jeho metabolismu.

Doporučení v klinické praxi

- tHcy by měl být měřen u dětí a mládeže s nevysvětlitelnou trombembolickou komplikací, tam kde je nedostatečné prospívání, mentální retardace, psychická choroba, dislokace čočky, krátkozrakost nebo poruchy v pojivové tkáni
- homocystinurie by měla být suspektní u osob s vysokou homocysteinemií, která není vysvětlena deficitem vitamínu B nebo ledvinovým selháním

- U homocystinurie bude pravděpodobně přítomen defekt (genetická příčina), který bývá možné poté identifikovat.
- Měření a další sledování homocystinurie závisí na typu metabolického defektu.
- heterozygoti pro deficit CBS mají zřídka změny v koncentraci Hcy a souvisejících metabolitů. Identifikace nosičů je zřejmá z DNA analýzy.

Deficit folátu a kobalaminu

Jakou populaci vyšetřit

Testovaná populace zahrnuje jedince s klinickými symptomy, kteří se vyznačují deficitem folátu nebo kobalaminu a jedince, kteří patří do rizikové skupiny pro rozvoj tohoto deficitu.

Deficit folátu je většinou důsledek diety, malabsorbce, alkoholismu, nebo používáním určitých léčiv. Prevalence u dospělých byla 20% (před fortifikací kyselinou listovou) nyní se popisuje nižší - v USA i 2%.

Deficit kobalaminu je častěji pozorován u starších jedinců (prevalence 10-15%) kde je to téměř vždy způsobeno maloabsorbčním sy, nedostatkem vnitřního faktoru (perniciozní anémie), žaludeční atrofií, jinou chorobou tenkého střeva nebo terapií biguanidy.

Diagnóza deficitu folátu nebo kobalaminu nebývá přímá. Neexistuje diagnostický gold standard. Megaloblastické změny nacházíme obvykle až v pozdních stádiích, často jim předchází neuropsychické poruchy. Mimoto, chronicky nízké koncentrace B12 a folátu souvisí s výskytem ICHS, rakovinou, těhotenskými komplikacemi, defektem vývoje plodu, s psychiatrickými chorobami. Z toho důvodu je důležitá časná diagnóza v preklinickém stavu. Použití tHcy a MMA měření pro odhad metabolismu vitamínu B8 a B12 je velmi důležitá, protože tyto metabolity se začínají zvyšovat u nízkých koncentrací kobalaminu (MMA a Hcy); u nízkých koncentrací folátu se zvyšuje pouze Hcy. Zvýšení MMA nebo Hcy nejčastěji plyne ze špatné funkce vitamínů a koncentrace se obvykle vrací k normálu během 1-2 týdnů po dostatečném přísunu příslušného vitamínu.

Koncentrace tHcy v plazmě se začíná zvyšovat při nízké koncentraci obou vitamínů. Hranice pro kobalamin je 150pmol/l a pro folát 5nmol/l.

Porovnávání diagnostických krevních testů

Žádná samostatně provedená krevní zkouška použitá pro odhad metabolismu vitamínů skupiny B neposkytne jistou diagnózu, ale každé stanovení má své výhody a omezení. K dalším testům, které využíváme pro dg. avitaminózy patří vyšetření periferního hemogramu, vyšetření kostní dřeně, stanovení gastrinu, vyšetření autoprotilátek, Schillingův test a deoxyuridin supresní test. Měření vitamínů B v krvi je lehce proveditelné, ale není to vyšetření dostatečně citlivé ani specifické.

Navíc měření folátu (především v ery) má nízkou analytickou spolehlivost. Tyto faktory vysvětlují skutečnost, proč až 50% jedinců s nízkou koncentrací vitamínu B nemá žádné další biochemické nebo klinické nálezy a proč na druhé straně jedinci s nízkou koncentrací vitamínu B mohou mít symptomy které odpovídají.

V posledních letech jsou k dispozici nová vyšetření ke stanovení holotranskobalaminu. Význam: dg. ranného deficitu kobalaminu. Nedávné studie přinesly slibné výsledky, ale klinická užitečnost tohoto testu zatím není dokumentována.

Mezi metabolity je MMA často lepší než Hcy pro odhad deficitu vitamínu B12, protože je více specifický a méně citlivý k preanalytickým chybám než Hcy.

U osob s normální funkcí ledvin a nízkým kobalaminem je považováno stanovení MMA za důkaz poruchy funkce kobalaminu. Nevýhodou je skutečnost, že měření MMA je drahé a není široce dostupné.

Argumentem proti měření Hcy je skutečnost, že nejde o specifický test a jeho koncentrace je ovlivněná početnými faktory. Nicméně, Hcy je levnější, široce dostupný a odráží stavy (zásoby) obou vitamínů - kobalaminu i folátu.

Diagnostická použitelnost stanovení Hcy a MMA v deficitu kobalaminu a folátu je dobře zdokumentovaná, chybí však srovnání s gold standardem, který neexistuje.

Doporučení pro rutinní praxi

- Dg deficitu folátu nebo kobalaminu vyžaduje buď typické symptomy doprovázené nízkou koncentrací vitamínu, nebo kombinaci zvýšení Hcy a nízkou koncentrací vitamínu.
- Pro biochemický odhad stavu vitamínu se využívá měření Hcy a následně měření vitamínu (nebo naopak)
- U pacientů s žádnými nebo nejasnými symptomy je lepší nejprve analyzovat koncentraci tHcy a teprve poté, v případě nejasností stanovit koncentraci vitamínů B
- tHcy (nebo MMA) by měl být používán pro monitorování léčby jako odpověď na doplnění vitamínů skupiny B.

Kardiovaskulární onemocnění

Jakou populaci vyšetřit

Testovaná populace zahrnuje jednotlivce, kteří mají, nebo jsou vysoce riziková z hlediska vzniku kardiovaskulárních komplikací.

Homocystinurie, bez ohledu na enzymatický defekt, vede ke zvýšenému Hcy a vysokému dopadu na výskyt arteriálních a žilních tromboembolických atak. Tito pacienti mají rovněž cévní změny. V roce 1969 navrhl McCully teorii o vlivu Hcy v patogenezi aterosklerózy. Od té doby byla souvislost mezi Hcy a ICHS doložena v mnoha epidemiologických studiích. Je ověřeno, že jedinci s arteriální i žilní tromboembolickou chorobou mívají často mírné zvýšení Hcy.

Byl ověřen experimentální efekt zvýšených hodnot Hcy u myši na vznik cévních komplikací.

U lidí má zvýšená koncentrace Hcy škodlivé účinky na endoteliální i vaskulární funkci srážení krve. Zvýšený Hcy je považován za prognostický faktor v určitých skupinách s vysokým rizikem ICHS a CMP.

Výsledky s léčbou vitaminem B jsou diskutabilní. Některé studie ukazují, že snižování koncentrace Hcy vede k pomalejšímu průběhu aterosklerózy věnčitých a periferních tepen.

Doporučení pro klinickou praxi

- měření koncentrace Hcy jako screening pro riziko ICHS se zatím nedoporučuje
- u mladých pacientů s komplikacemi ATS (mladších 40-ti let), by měření koncentrace tHcy mohlo vyloučit/potvrdit homocystinurii
- u pacientů s ICHS či CMP či jejich vysokým rizikem by měla být zvýšená koncentrace tHcy použita jako prognostický faktor z hlediska vzniku ICHS či mortality.
- pacienti s vyšší hodnotou $>15\mu\text{mol/l}$ náleží do rizikové skupiny, je důležité u nich sledovat zdravý životní styl a přijmout optimální léčbu a znát další rizikové faktory
- Zvýšená koncentrace tHcy s nízkou koncentrací folátu by měla být potenciálně zkoumaná na deficit vitamínu B12

Renální poškození

Jakou populaci vyšetřit

Testovanou skupinu představují pacienti s renálním poškozením, zvláště pacienti dialyzovaní.

Většina dialyzovaných pacientů má hyperhomocysteinemii. Vhodné je u nich doplnění stanovení folátu, jehož podávání snižuje Hcy u pacientu s renální insuficí.

ICHHS je hlavní příčinou úmrtí těchto pacientů. Zvláště tam kde je koncentrace Hcy > 30 μmol/l. Zvýšená koncentrace tHcy také souvisí se vznikem trombóz u hemodialyzovaných pacientů. Důkazy o prospěšnosti snížení koncentrace tHcy u renálních pacientů zatím chybí, nejsou hotovy studie.

Doporučení pro klinickou praxi

- měření tHcy u pacientů s renální poruchou je kontroverzní, ale hodnota > 30 μmol/l může být použita jako prognostický rizikový faktor pro mortalitu a riziko vzniku ICHS či CMP
- neobjasněné mírné hyperhomocysteinémie, které nejsou vysvětleny metabolismem vitamínu B by měli být výzvou ke stanovení renálních funkcí (počítačem).

Psychiatrická onemocnění

Jakou populaci vyšetřit

Testovaná populace zahrnuje pacienty, včetně dětí, s psychiatrickými nemocemi nebo se zhoršeným poznáváním, zvláště nad >75 let věku.

Doporučení v klinickou praxi

- Pacienti s psych poruchami, s kognitivní poruchou, nebo demencí by měli mít stanoveny koncentrace B12 a B8
- Pacienti s biochemickým nálezem deficitu B8 a B12 by měli být příslušně ošetřeni (dodány vitaminy)
- U těchto pacientů by se měl sledovat metabolismus (koncentrace) vitaminů 1x za 3-5 let
 - změny v koncentraci vitaminů mohly být způsobeny dietou nebo v léčbě různými léky.

Komplikace v těhotenství a defekty při narození

Jakou populaci vyšetřit

Testovaná populace zahrnuje těhotné ženy s nebezpečím vzniku deficitu folátu nebo kobalaminu a také ženy, které porodily dítě s defektem nebo které měly komplikace v těhotenství.

Gravidní ženy mají nižší koncentraci tHcy v plazmě než negravidní. Zvýšená koncentrace tHcy je spojena se zvýšeným rizikem placentárního onemocnění cév, s předčasným porodem, s nízkou porodní hmotností, a placentární odtržení nebo postižení infarktem.

Doporučení pro klinickou praxi

- rutinní měření tHcy před nebo během těhotenství není aktuálně doporučeno.
- Měření koncentrace tHcy by mělo být provedeno u gravidních žen, které trpí komplikacemi v rané fázi těhotenství.
- U žen, které měly v předchozím těhotenství komplikace nebo se jim narodilo dítě s defektem by měl být tHcy stanoven
- U žen, které mají riziko vzniku nedostatku vitamínu B by se měla koncentrace tHcy měřit pravidelně, raději před a jednou během těhotenství a zabezpečit optimální přísun vitaminů skupiny B

Řada otázek týkající se Hcy zůstala nezodpovězena...