

Jelena Culej

Vitamin D u ekstravaskularnim tjelesnim tekućinama

Ekstravaskularne tjelesne tekućine (EVT) – općenito ali vrijedi i za vitamin D

- Sve ono što nije krv, a nije ni voda
- Analitički izazov
 - Metode primarno namijenjene za serum/plazma (izuzetak mokraća i likvor)
 - Utjecaj matriksa?
 - Referentni intervali?
 - Validacija/Verifikacija (ponovljivost, unutarlaboratorijska preciznost)?

Gdje to sve ima vitamina D?

1.

Sustav kvalitete u analizi
ekstravaskularnih tjelesnih uzoraka

Nora Nikolac Gabaj, Lara Milevoj Kopčinović

2.

Mokraća

Nora Nikolac Gabaj, Alen Vrtarić

3.

Likvor

Ines Vukasović

4.

Pleuralna tekućina

Lara Milevoj Kopčinović

5.

Perikardijalna tekućina

Lara Milevoj Kopčinović

6.

Peritonealna tekućina

Jelena Culej

7.

Kondenzat izdahnutog zraka

Alen Vrtarić

8.

Bronhoalveolarni lavat

Jelena Culej

9.

Znoj

Jelena Culej, Marijana Miler

10.

Stolica

Milena Njegovan, Petra Pozaić

11.

Želučani sok

Adriana Unić

13.

Slina

Andrea Tešija Kuna, Milena Njegovan

17.

Dijalizat

Adriana Unić

18.

Plodova voda

Andrea Tešija Kuna, Alen Vrtarić

19.

Pupkovina

Ivana Čelap

12.

Zglobna (sinovijalna) tekućina

Nada Vrkić

14.

Kosa

Marija Božović, Ivana Čelap

15.

Očna vodica

Ivana Čelap

20.

Majčino mlijeko

Milena Njegovan, Petra Pozaić

21.

Ejakulat

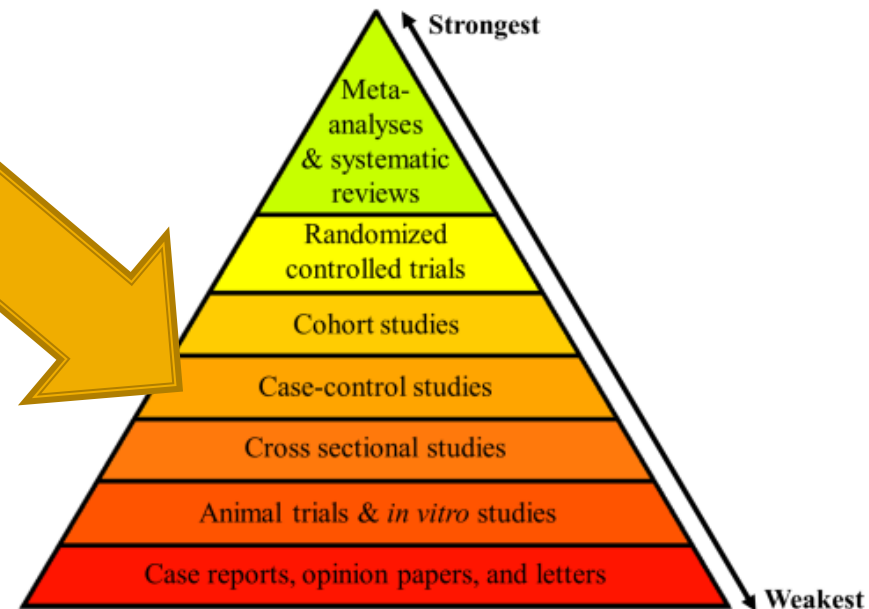
Lara Milevoj Kopčinović

Istraživanja vitamina D u EVT – što vas čeka

- Opažajna (Case control)
- Mali broj uzoraka
- Metabolizam vitamina D
- Regulacija imunološkog sustava
- Praktična
- Zašto?
- Koji oblik vitamina D?
- Kojom metodom?



Hierarchy of Scientific Evidence



Podsjetnik na vitamin D

- **Izoforme:**

kolekalciferol (D₃) proizvodi tijelo

ergokalciferol (D₂) unosi se hranom i suplementima

- 25(OH) vitamin D; 1,25(OH)₂ vitamin D

- **Transport:** VDBP, albumin

- **Metaboliti:** 24,25(OH)₂D₃ glukuronid – glavni; 25(OH)D glukuronid

- Djelovanje preko receptora za vitamin D (VDR)

85-90% vezano na VDBP

10-15% albumin

<0,03% slobodno

} Biološki dostupan

Mokraća

■ Zašto?

Oštećenje tubula – gubi se VD vezan na VDBP

Niska koncentracija VD česta kod CKD i pacijenata na hemodijalizi

Ima smisla određivati biološki dostupni i/ili slobodni VD u serumu

■ Što? Kako?

VDBP

- korelira sa proteinurijom, nema dokaza da se povezuje sa deficitom VD

- metode: imunokemijske (monoklonoalno vs. poliklonoalno At.???)

25(OH)D_{2/3}

- LC-MS

Pozicija glukuronidacije

- LC/ESI-MS/MS liquid chromatography electro-spray ionization tandem MS

Likvor (Multipla skleroza)

■ Zašto?

- Loš status povezuje se sa rizikom i lošijim tijekom MS
- VD modulator T limfocita
- $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ suprimira B-limfocite
- Imunološke stanice sintetiziraju CYP 27B1 ($25(\text{OH})\text{D}$ u $1,25(\text{OH})_2\text{D}$)

■ Što? Kako?

- Povezanost VD sa IgG – nema
- $25(\text{OH})\text{D}$ – LC-MS
- Što bi bilo kada bi određivali $1,25(\text{OH})_2\text{D}$?



Likvor (Alzheimerova bolest - AB)

■ Zašto?

- **VDR** rasprostranjen po mozgu, niža ekspresija kod oboljelih od AB
- VD preko VDR regulira Ca^{2+} kanale (nedostatak regulacije – neurotoksičnost)
- u mozgu se događa konverzija 25(OH)D u $1,25(\text{OH})_2\text{D}$

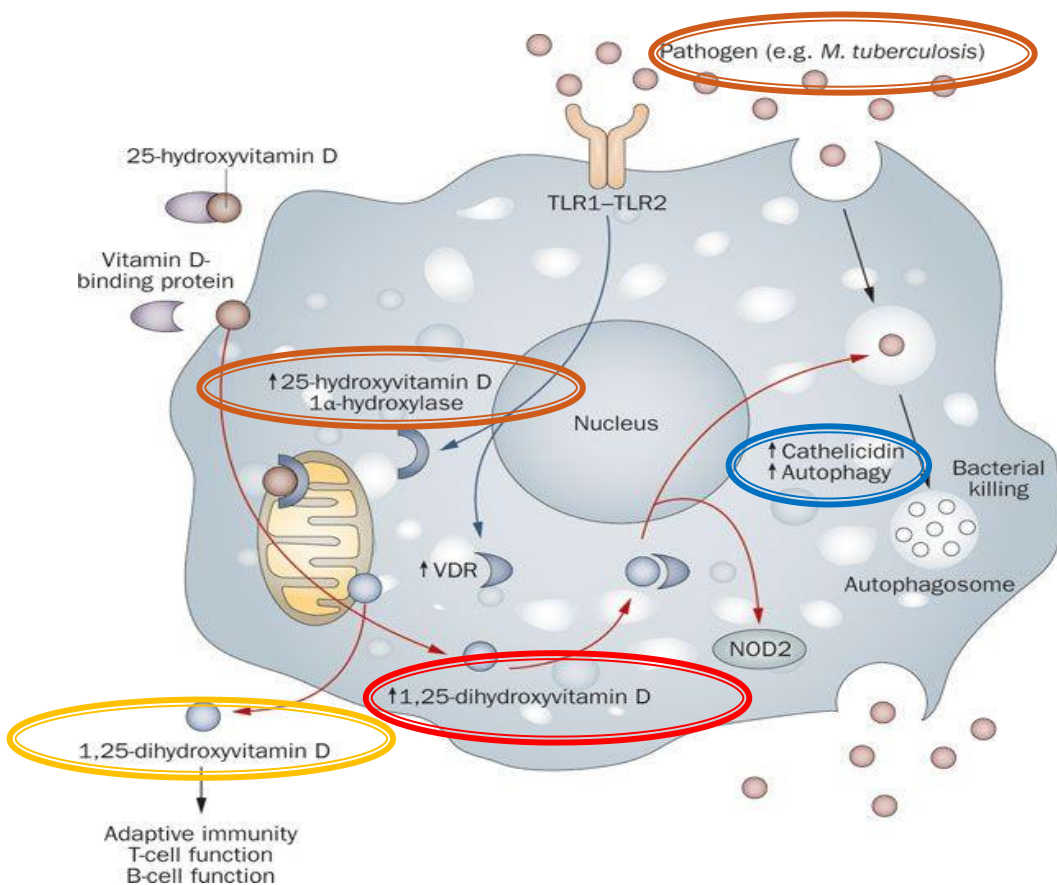
■ Što? Kako?

25(OH)D –imunokemijski test

25(OH)D – niži kod pacijenata sa AB u odnosu na druge demencije i kontrolu - mali broj uzoraka!!!

Pleuralna tekućina

Autokrina aktivacija
imunološkog odgovora



■ Zašto?

- sazrijevanje, proliferacija i funkcija stanica urođene i stečene imunosti
- Infektivni izljevi bi trebali imati više konc VD u odnosu na serum
- Transudati vs. eksudati (viši 25(OH)D)
- Infektivni izljevi, maligni izljevi (viši 25(OH)D) vs. zatajenje srca)

■ Što? Kako?

- $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ – RIA (radioimmunoassay)
- 25(OH)D – kemiluminiscencija

Peritonealna tekućina

■ Zašto?

- Uloga u imunološkom odgovoru
- Serum – hipovitaminoza,
Ascites – porast VD



- Odnos VD u serumu-ascitesu



- dijagnostika spontanog bakterijskog peritonitisa (SBP)

■ Što? Kako?

- 25(OH)D u serumu i ascitesu
- $SADG = VD_{(serum)} - VD_{(ascites)}$
- niži kod SBP – “pomak” VD u peritonealnu tekućinu/ascites



- imunološki odgovor.

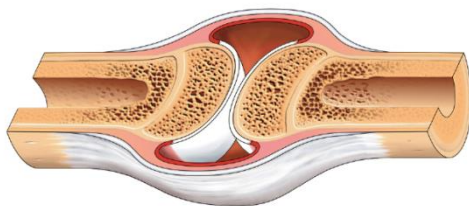
Zglobna (sinovijalna) tekućina

■ Zašto?

- Uloga u regulaciji imunološkog sustava
- Upalni artritis: sinovijalni makrofagi proizvode VD- 1α hidroksilazu, nastaje $1,25(\text{OH})_2\text{D}$
- Fibroblasti: 24 hidroksilaza sudjeluje u katabolizmu VD

■ Što? Kako?

- Kulture stanica (sinovijalni makrofagi i fibroblasti)
- Aktivnost VD- 1α hidroksilaze
- Aktivnost 24 hidroksilaze
- Različiti metaboliti ($25(\text{OH})\text{D}_3$; $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$; $24,25(\text{OH})_2\text{D}_3$)
LC-MS/MS



Slina

■ Zašto?

- Praktični razlozi – slina je dostupnija od seruma
- Procjena vitaminskog statusa



■ Što? Kako?

- 25(OH)D LC-MS/MS
- Ovisi o prikupljanju uzorka (pasivno- najbolje)
- Odnos serum/slina?

Majčino mlijeko

■ Zašto?

- Procjena nutritivne vrijednosti za dojenče ("prvo" mlijeko i "zadnje" mlijeko)
- Ovisnost o godišnjem dobu i upotrebi suplemenata
- Dnevne potrebe dojenčadi za vitaminom D nisu zadovoljene

■ Što? Kako?

- Kolekalciferol (D₃)
- Ergokalciferol (D₂)
- 25(OH)D
- Izotopna dilucija LC-MS/MS

Zaključak

- Nitko nije beskoristan, uvijek se može iskoristiti kao loš primjer!

Nepoznatí autor sa školske klupe



Vampires suck your blood for Vitamin D because they can't go out in the sun themselves.

You ever think about that?
No. You only think about yourself.

