

# LIPIDOVÁ SLOŽKA UŠNÍHO MAZU

## METODIKA KVALITATIVNÍ A KVANTITATIVNÍ ANALÝZY

Karel Pokorný, Alexander Čegan, Jiří Skalický, Milan Meloun

Složení ušního mazu se věnují vědecké práce již téměř 100 let. Počáteční výsledky byly limitovány možnostmi laboratorního zpracování, avšak i většina pozdějších prací končí pouhým konstatováním kvalitativně zjištěných látek, ale neuvádí jejich kvantitativní obsah. V této práci je uveden popis použité metodiky a první analytické výsledky množství jednotlivých frakcí lipidů ušního mazu. Ve vzorcích vlhkého typu ušního mazu bylo stanoveno 55% extrahovatelných lipidů. Za pomocí tenkovrstevné chromatografie byly lipidy rozděleny dle vztuštajícího RF na fosfolipidy (průměrně 1,11 g/l; 18,2 váhových % všech lipidů), diacylglyceroly (průměrně 0,60 g/l; 9,64 váhových %), volné mastné kyseliny (průměrně 0,38 g/l; 6,63 váhových %), triacylglyceroly (průměrně 1,59 g/l; 26,04 váhových %) a estery cholesterolu (průměrně 2,45 g/l; 39,48 váhových %). První výsledky jsou srovnatelné s dosud publikovanými pracemi. Popsanou modifikaci tenkovrstevné chromatografie lze využít k analýze lipidů ušního mazu.

**Klíčová slova:** ušní maz, složení, lipidy, lipoproteiny, tenkovrstevná chromatografie

### CERUMEN LIPID FRACTIONS

### METHODS OF QUALITATIVE AND QUANTITATIVE ANALYSIS

The composition of earwax has been investigated for more than 100 years. Early studies have been limited by possibilities of laboratory equipment. Later on, the investigations have only stated qualitative constitution without mentioning the quantitative composition. This paper describes used methodology and first analytic outcomes of amount of cerumen lipid fractions. In specimens of wet earwax 55% of soluble lipids have been established. Using thin-layer chromatography, the lipid fraction was separated into five sub fractions with increasing RF: phospholipids (average 0.60 g/l; 9.64 weight %), diacylglycerols (average 0.6 g/l; 9.64 weight %), free fatty acids (average 0.38 g/l; 6.63 weight %), triacylglycerols (average 1.59 g/l; 26.04 weight %) a cholesterol esters (average 2.45 g/l; 39.48 weight %). First outcomes are comparable with other till now published papers. It is possible to take advantage of this described modification of thin layer chromatography in evaluation of cerumen lipids.

**Key words:** ear wax, composition, lipids, lipoproteins, thin-layer chromatography

Otorinolaryngol. chir. hlavy krku 2007; 1 (1): 37-42

### Úvod

Ušní maz vzniká smícháním produktů žlázek přítomných v zevním zvukovodu s oloupanými epitelii, vypadápnými chloupky a do zvukovodu zanesenými nečistotami. Již počátkem 20. století byly na základě typického vzhledu popsány dva základní typy ušního mazu, suchý a vlhký. Řada autorů se zaměřila na studium složení cerumina a jeho odlišnosti v závislosti na jeho typu.

Bыло zjištěno, že ušní maz obsahuje řadu rozličných látek, jako jsou lipidy, proteiny, volné aminokyseliny, sacharidy a minerály<sup>(1,2,3,4,5,6)</sup>. Při chemických rozborech lipidové frakce se ukázalo, že vlhký typ obsahuje více lipidů (50%) než typ suchý (20%), při podrobnějším studiu složení ale již není shoda<sup>(2,5)</sup>. Bylo též srovnáváno složení ušního mazu v závislosti na dalších možných faktorech. Byly popsány změny v obsahu proteinů a lipidů v závislosti na věku, ale rozdíl mezi dětmi a dospělými nebyl statisticky významný<sup>(4)</sup>. Rovněž tak nebyl zjištěn vliv pohlaví<sup>(7)</sup>. Cipriani a spol.<sup>(7)</sup> pozorovali změny v obsahu triacylglycerolů v závislosti na ročním období. Bylo sledováno složení mazu i v závislosti na četnosti zánětu zvukovodu při hledání složky zodpovědné za baktericidní působení ušního mazu<sup>(9,10)</sup>, zjištěné rozdíly však nebyly statisticky významné.

Při detailních studiích lipidové frakce ušního mazu byla opakován identifikována přítomnost squalenu, triacylglycerolů, volných mastných kyselin nasycených i nenasycených, cholesterolu a jeho esterů, ceramidů a dalších látek<sup>(2,5)</sup>. Vzhledem k tomu, že cholesterol, triacylglyceroly a volné mastné kyseliny jsou přítomny též v krevním séru, vyvstává otázka, zda existuje závislost mezi složením lipidů ušního mazu a krevního séra. V literatuře byly vyhledány postupy, které používali ostatní autoři k vyšetření složení lipidové frakce.

První práce byly limitovány omezeným technickým vybavením laboratoří a také potřebou velkého množství vzorku o několika gramech, které muselo být získáno postupně od desítek osob<sup>(8)</sup>. S rozvojem metod jako tenkovrstevná chromatografie, plynová chromatografie a plynová chromatografie/hmotnostní spektrometrie, které nyní umožňují zpracování vzorků již od jednotlivých osob, se zpracovává množství v řádu miligramů.

Z používaných metod byla vybrána tenkovrstevná chromatografie. Publikované postupy<sup>(2,5,11)</sup> byly modifikovány na stávající laboratorní možnosti a ověřeny u šesti osob. Sdělení přináší popis v této práci použitých postupů a srovnání výsledků s dosud publikovanými údaji.

**Materiál a metodika**

Vzorky byly získány od pacientů hospitalizovaných na Klinice ORL a chirurgie hlavy a krku Krajské nemocnice Pardubice. Výběr byl prováděn náhodně mezi muži s vlnkým typem ušního mazu bez použití jakéhokoli dalšího kliče výběru. Vyloučeni byli všichni jedinci se známou patologií v oblasti zevního a středního ucha, jako jsou záněty a nádory zvukovodu a středního ucha, exostózy apod., percepční poruchy sluchu, zvláště presbyakuse a poruchy sluchu z hluku, nebyly vyloučovacím kritériem. Věkové rozložení, váhu, výšku a vypočtený body mass index (BMI) u osob, kterým byl odebrán vzorek krve i ušního mazu, uvádí **tabulka 1**.

Většině pacientů (1 - 6 v **tabulce 1**) byl, po jejich předchozím informovaném souhlasu, odebrán vzorek ušního mazu, a to háčkem či štětičkou, bez použití ceruminolytik nebo výplachu, a vzorek krve do standardní zkumavky systému Vacuette k biochemickému zpracování (odber krve byl vždy prováděn ráno nalačno). Stanovené hodnoty byly určeny k následnému porovnání složení lipidů krevního séra a ušního mazu. Dvěma pacientům (7 a 8 v **tabulce 1**) byl odebrán pouze vzorek ušního mazu k posouzení možné variability lipidů v rámci naakumulovaného ušního mazu. Studie byla schválena etickou komisí Krajské nemocnice Pardubice.

Odebrané vzorky ušního mazu byly zmraženy na -10 °C a uchovány při této teplotě až do zpracování v laboratoři. Vzorek krve byl tentýž den odeslán do laboratoře Oddělení klinické biochemie a diagnostiky Krajské nemocnice Pardubice (OKBD), kde byly standardním způsobem zpracovány na přítomnost lipidů krevního séra. Zbytek krevního séra byl rovněž zmražen na -10 °C do dalšího laboratorního zpracování.

Během standardního zpracování užívaného k určení krevních lipidů v OKBD byly měřeny:

**Triacylglyceroly:**

Referenční meze: 0,45 - 1,70 mmol/l

Stanovení: Kvantitativní stanovení triacylglycerolů v séru spektrofotometricky na biochemickém analyzátoru DIMENSION firmy DADE BEHRING. Používané chemikálie firmy DADE BEHRING.

**Celkový cholesterol:**

Referenční meze: 2,72 - 5,20 mmol/l

Stanovení: Kvantitativní stanovení cholesterolu v séru spektrofotometricky na biochemickém analyzátoru DIMENSION firmy DADE BEHRING. Používané chemikálie firmy DADE BEHRING.

**HDL-cholesterol:**

Referenční meze: muži 1,10 - 1,40 mmol/l  
ženy 1,30 - 1,60 mmol/l

Stanovení: Přímé kvantitativní stanovení HDL-cholesterolu v séru spektrofotometricky na biochemickém analyzátoru DIMENSION firmy DADE BEHRING. Používané chemikálie firmy DADE BEHRING.

**LDL-cholesterol:**

Referenční meze: 0,00 - 3,50 mmol/l

Stanovení: Přímé kvantitativní stanovení LDL-cholesterolu v séru spektrofotometricky na biochemickém analyzátoru COBAS MIRA firmy ROCHE. Používané chemikálie firmy DIALAB.

**Lipoprotein a (Lpa):**

Referenční meze: 0 - 300 mg/l

Stanovení: Kvantitativní stanovení Lpa v séru imuno-turbidimetricky s latexem na biochemickém analyzátoru COBAS INTEGRA 400 firmy ROCHE. Používané chemikálie firmy ROCHE.

**Chylósita, chylomikra:**

Stanovení: Semikvantitativní hodnocení zakalení séra a tvorby chylomikronů po ochlazení v lednici (24 hod, +4 °C).

Zmražené vzorky byly převezeny ke zpracování na Katedru biologických a biochemických věd Chemicko-technologické fakulty Univerzity Pardubice, kde byly zpracovány metodou tenkovrstevné chromatografie:

**Extrakce lipidů**

Do centrifugační zkumavky byly válečkem odměřeny 4 ml směsi chloroform-metanol (1:1) a přidáno 0,2 ml séra. Směs byla protřepána, uzavřena a centrifugována na stolní centrifuze při 3000 otáčkách/min. po dobu 5 minut. Horní vrstva (3,5 ml) byla opatrně odsáta pomocí pipety do jiné zkumavky. Bylo zapnuto odsávání v digestoři a při 60 °C bylo během 15 min. provedeno odpaření pod dusíkem do sucha. Dále bylo do jiné centrifugační zkumavky naváženo 2,5 mg ušního mazu, extrahováno a odpařeno stejným způsobem.

**Chromatografie a identifikace kyselinou fosfomolybdenou****Příprava mobilní fáze:**

160 ml Hexan, 40 ml Diethylether, 6 ml kyselina octová (cca 98 %). Tato směs byla v odměrném válci rádně promíchána a opatrně nalita do chromatografické vany. Vana byla uzavřena a ponechána 30-45 minut nasytit.

**Příprava chromatografické desky:**

Na TLC desky Silikagel 60 (bez fluorescenčního indikátoru) firmy Merck spol.s.r.o. byl obyčejnou tužkou označen rámeček: dolní okraj 2,5 cm, horní okraj a strany 1 cm. Vnitřní plocha byla rozdělena na 5 polí po 3,6 cm a nahoře byly jednotlivé dráhy označeny. Tužkou s tupým hrotom byla deska opatrně popisována tak, aby se zejména startovací čára neproškrábla.

**Tabulka 1.** Věk, váha, výška a vypočtená hodnota body mass indexu (BMI) jedinců zařazených do souboru

vyšetření	jednotky	číslo pacienta							
		1	2	3	4	5	6	7	8
věk	rok	28	66	58	44	39	53	48	26
váha	kg	93	90	97	77	58	93	100	75
výška	cm	179	180	175	178	162	180	175	163
BMI		29,03	27,78	31,67	24,30	22,10	28,70	32,65	28,23

**Tabuľka 2.** Hodnoty lipidov namiešané pomocí tenkovrstevnej chromatografie provedené v laboratórii Katedry biologických a biochemických vied Univerzity Pardubice

vyšetrení	g/l	číslo pacienta						průměr ± sm. odchylka
		1	2	3	4	5	6	
fosfolipidy sérum	0,570	0,570	0,680	0,430	0,639	0,513	0,567±0,089	
fosfolipidy maz	1,498	2,022	0,649	0,555	0,943	0,987	1,109±0,556	
diacylglyceroly sérum	0,660	0,681	0,618	0,560	0,744	0,682	0,658±0,063	
diacylglyceroly maz	0,471	0,629	0,534	0,440	0,982	0,528	0,597±0,119	
volné mastné kys. sérum	0,136	0,126	0,241	0,198	0,136	0,320	0,193±0,077	
volné mastné kys. maz	0,283	0,430	0,262	0,630	0,210	0,470	0,381±0,158	
triacylglyceroly sérum	0,974	1,026	2,252	0,848	1,194	1,278	1,262±0,509	
triacylglyceroly maz	0,576	0,880	2,063	1,592	2,671	1,775	1,593±0,769	
estery cholest. sér.	1,928	1,833	1,194	0,974	2,242	2,797	1,828±0,671	
estery cholest. maz	2,493	2,598	1,812	1,446	3,274	3,058	2,447±0,705	

**Postup chromatografie:**

Odpařený extrakt byl rozpuštěn v 75 µl směsi chloroform-metanol (2:1). Tento celý objem byl nanesen postupně ve 3 dávkách pasteurovou pipetou na chromatografickou desku a po každém nanesení se nechalo rozpuštělo odparit. Potom byla chromatografická deska vložena do nasycené vany, rychle uzavřena a přibližně 60 min. nechána vyvijet do doby, až čelo mobilní fáze dosáhlo 1 cm od horního okraje desky. Poté byla deska vyjmota z vany a nechána v digestoři vysušit.

**Příprava detekčního činidla** - kyselina fosfomolybdenová 0,05 mol/l:

Z 20 % zásobního roztoku firmy Aldrich bylo odměřeno 5 ml a přidáno 5 ml ethanolu p.a.

Detekční činidlo bylo nalito do rozprašovače a rovnomořně jím bylo postříkáno pole se standardem na chromatografické desce. Deska byla vložena na 5-10 min. do sušárny vyhřáté na cca 60 °C.

**Izolace jednotlivých složek lipidů:**

Lipidy byly chromatograficky rozděleny na 5 složek seřazených podle vzhledového RF: fosfolipidy, diacylglyceroly, volné mastné kyseliny, triacylglyceroly a estery cholesterolu. Podle standardu byly označeny jednotlivé složky obyčejnou tužkou tak, aby horní okraj místa obsahujícího označovanou složku byl 0,5 cm nad skvrnou standardu a dolní okraj rovněž 0,5 cm pod skvrnou standardu. Označené složky byly vyškrabány z chromatografické desky pomocí špachtle a přeneseny do předem označených zkumavek s uzávěrem.

**Extrakce lipidů z jednotlivých vrstev a stanovení jejich koncentrace:**

Ke každé složce lipidů byly přidány do zkumavky 4 ml směsi chloroform-metanol (1:1). Uzavřené zkumavky byly 2 min. intenzivně třepány, ponechány 2 min. stát a centrifugovány 5 min. při 3000 rpm. Z každé zkumavky byly odpipetovány 2 ml supernatantu do čistých zkumavek a při pokojové teplotě byly asi 20 minut odpařovány do sucha pod dusíkem v uzavřené digestoři.

**Stanovení koncentrace jednotlivých složek sérových lipidů:**

Pro toto stanovení byla použita souprava pro stanovení celkových lipidů od firmy Lachema.

**Stanovení se standardem:**

Do všech zkumavek s odparkem bylo přidáno po 1,5 ml koncentrované kyseliny sírové. Standard byl připraven smícháním 0,02 ml činidla 1 (standard s koncentrací lipidů 8 g/l) s 1,5 ml koncentrované  $H_2SO_4$ . Jako blank bylo použito 1,5 ml konc.  $H_2SO_4$ .

Všechny zkumavky (blank i standard) byly promíchány a 15 minut zahřívány na vroucí vodní lázně. Po ochlazení zkumavek v proudu studené vody bylo z každé odpipetováno do nových zkumavek 0,1 ml hydrolyzátu a přidáno 1,5 ml činidla 2 (fosfovanilinové činidlo). Vše bylo ponecháno reagovat 50 minut při laboratorní teplotě. Pak byla do 10 minut změřena absorbance (AVZ) vzorků a standardu (AST) proti blanku, při vlnové délce 530 nm.

**Výpočet:**

$$\text{Celkové lipidy (g/l)} = 8 \cdot (\text{AVZ} / \text{AST}) \cdot F$$

Kde F je zředovací faktor = 0,4375 pro cerumen a 0,4167 pro sérum (bylo bráno zanedbatelné množství ušního mazu nebo 0,2 ml séra, rozpuštěno ve 4 ml a odpipetováno pouze 3,5 ml a dále rozpuštěno ve 4 ml a odebráno pouze 2 ml).

**Výsledky****A. Zpracování tenkovrstevnou chromatografií:**

Průměrná hmotnost odparku séra byla  $2,51 \pm 0,28$  mg, tedy 1,23 váhových % za předpokladu hustoty séra 1,02 kg/l. Průměrná hmotnost odparku mazu byla  $1,38 \pm 0,83$  mg, což tvoří 55 váhových % z 2,5 mg ušního mazu odvažovaných k vyšetření.

Průměrná zjištěná koncentrace (v g/l) fosfolipidů byla v séru  $0,57 \pm 0,09$  a v mazu  $1,109 \pm 0,56$ , diacylglycerolů v séru  $0,66 \pm 0,06$  a v mazu  $0,60 \pm 0,20$ , volných mastných kyselin v séru  $0,19 \pm 0,08$  a v mazu  $0,38 \pm 0,16$ , triacylglycerolů v séru  $1,26 \pm 0,50$  a v mazu  $1,59 \pm 0,77$ , estery cholesterolu v séru  $1,83 \pm 0,67$  a v mazu  $2,45 \pm 0,71$ . Podrobný přehled výsledků získaných tenkovrstevnou chromatografií je uveden v tabulce 2.

Udávání koncentrace lipidů v ušním mazu v g/l není v literatuře běžně používáno, ale rozhodli jsme se pro jeho použití při porovnání s výsledky zjištěnými v OKBD, kde jsou výsledky udávány v mmol/l.

Větší vzorky mazu získané od 2 osob byly rozděleny do tří dílů. Oba krajní byly následně zpracovány stejným postupem jako ostatní vzorky, aby bylo možno posoudit, zda v rámci jednoho vzorku množství lipidů výrazněji nekolidá (tabulka 3).

### B. Zpracování v OKBD

Při zpracování v OKBD byly zjištěny průměrné hladiny celkového cholesterolu  $5,77 \pm 1,01$  mmol/l, HDL cholesterolu  $1,00 \pm 0,31$  mmol/l, LDL cholesterolu  $4,01 \pm 1,11$  mmol/l, triacylglyceroly  $2,52 \pm 1,50$  mmol/l, lipoproteinu a  $528,33 \pm 435,80$  mmol/l, chylosita a chylomikra nebyly téměř pozorovány, index aterogenity byl v průměru  $5,07 \pm 1,57$ . Podrobný přehled výsledků získaných při zpracování v OKBD je uveden v tabulce 4.

### Diskuze

Složením ušního mazu se zabývají autoři po řadu desetiletí. Při kritice prvních publikovaných výsledků je nutno si uvědomit omezení instrumentálně analytických metod, které umožňovaly zpracování až množství, která lze získat

**Tabulka 3.** Hodnoty lipidů naměřené pomocí tenkovrstevné chromatografie provedené v laboratoři Katedry biologických a biochemických věd Univerzity Pardubice, vzorky 7A a 7B (respектив 8A a 8B) vznikly dělením vzorku jedince č. 7 (resp. 8) tabulka 1. U diacylglycerolů u vzorku 7A chybí hodnota - zkumavka se vzorkem se rozbila v centrifuzě

vyšetření	vzorek				
	7A	7B	8A	8B	
fosfolipidy	g/l	2,600	1,625	3,775	3,838
diacylglyceroly	g/l	-	0,988	0,925	1,063
volné mastné kys.	g/l	1,050	0,825	0,313	0,413
triacylglyceroly	g/l	2,962	3,063	1,063	0,488
estery cholest.	g/l	5,063	4,325	1,713	1,250

**Tabulka 4.** Hodnoty lipidů naměřené v laboratoři Oddělení klinické biochemie a diagnostiky Krajské nemocnice Pardubice

vyšetření	jednotky	číslo pacienta						průměr ± sm. odchylka
		1	2	3	4	5	6	
cholesterol celkový	mmol/l	6,40	7,10	6,00	4,20	5,80	5,10	$5,767 \pm 1,013$
HDL cholesterol	mmol/l	0,84	1,57	1,06	1,06	0,78	0,71	$1,003 \pm 0,313$
LDL cholesterol	mmol/l	5,54	5,04	3,58	2,60	4,02	3,26	$4,007 \pm 1,108$
triacylglyceroly	mmol/l	2,52	2,63	5,31	0,93	1,67	2,07	$2,522 \pm 1,500$
chylosita	arb.j.	0	0	1/1	0	0	0	
chylomikra	arb.j.	0	0	0	0	0	0	
lipoprotein a	mmol/l	283,0	872,0	1251,0	133,0	284,0	347,0	$528,3 \pm 435,8$
index aterogenity	arb.j.	6,6	3,5	4,7	3	6,4	6,2	$5,067 \pm 1,567$

**Tabulka 5.** Množství lipidů naměřené v ušním mazu převedené na váhové procento celkových lipidů

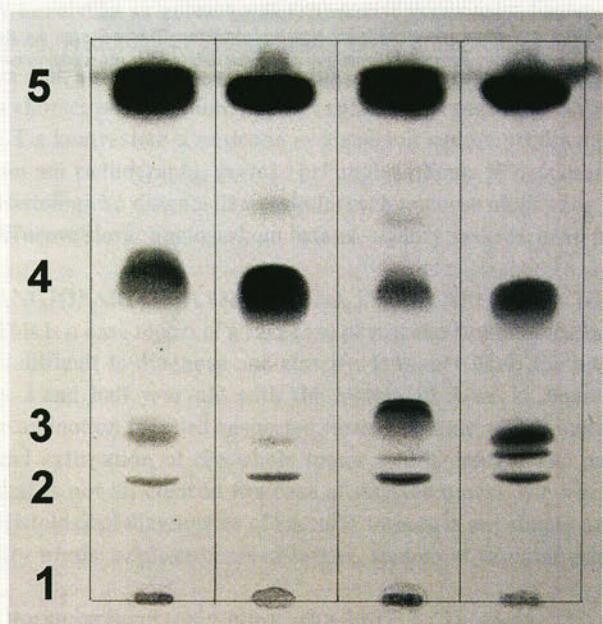
vyšetření	číslo pacienta						průměr ± sm. odchylka
	1	2	3	4	5	6	
fosfolipidy	28,15	30,83	12,20	11,90	11,67	14,48	$18,20 \pm 8,84$
diacylglyceroly	8,85	9,59	10,04	9,44	12,15	7,74	$9,64 \pm 1,47$
volné mastné kys.	5,32	6,56	4,92	13,51	2,60	6,89	$6,63 \pm 3,70$
triacylglyceroly	10,83	13,42	38,78	34,14	33,06	26,03	$26,04 \pm 11,56$
estery cholesterolu	46,85	39,61	34,06	31,01	40,52	44,85	$39,48 \pm 6,09$

odběrem od několika jedinců. Teprve pozdější práce zpracovávají vzorky i jednotlivých osob. Výsledky se shodují na celkovém podílu lipidů v mazu, který je asi 50 % u vlhkého typu ušního mazu. Naše výsledky (55 %) je třeba chápát jako v souladu s tímto zjištěním.

Velká část prací posuzujících složení ušního mazu sice vypisuje kvalitativně zjištěné látky (squalen, triacylglyceroly, volné mastné kyseliny atd.), avšak bez udání kvantity. Podrobněji nalezené množství lipidových frakcí popisuje ve své publikaci Bortz a spol.<sup>(2)</sup>. Autoři uvádějí celkové množství lipidů  $52\% \pm 3\%$  (váhového procenta). Dále zjistili, že lipidy vlhkého ušního mazu jsou tvořeny průměrně 6,4 % squalenu, 9,6 % esterů cholesterolu, 9,3 % esterů vosku, 3,0 % triacylglycerolů, 22,7 % mastných kyselin, 20,9 % cholesterolu, 18,6 % ceramidů, 2 % sulfátů cholesterolu a 7 % neurčených polárních komponent. Námi zjištěné hodnoty přepočtené na váhová procenta, jak uvádí tabulka 5, jsou již na první pohled odlišné od výsledků Bortze a spol.

Dělení složek lipidů ušního mazu tenkovrstevnou chromatografií podobně jako v naší práci použili Inaba a spol.<sup>(5)</sup>. Srovnáme-li záznam denzitometrického vyšetření výsledku tenkovrstevné chromatografie publikovaný Bortzem a spol.<sup>(2)</sup> a fotografii chromatografické desky publikované Inabou a spol. s našimi výstupy (obrázek 1), zjišťujeme, že rozložení jednotlivých složek lipidů ušního mazu je podobné. Od použití většího množství určených sloučenin ve standardu se odvíjí podrobnější dělení lipidové frakce v práci Bortze a spol., což může vysvětlit odlišné členění jednotlivých skupin lipidů. Přičinou zjištěného rozdílného zastoupení jednotlivých frakcí by mohla být výrazná variabilita v zastoupení jednotlivých složek pozorovaná - na rozdíl od našich výsledků - Bortzem a spol. Na rozdíl od krevního séra, kde jsou jednotlivé složky v celém vzorku rovnoměrně rozptýleny, nelze u tuhého ušního mazu vyloučit odlišné

**Obrázek 1.** Fotografie chromatografické desky po vizualizaci jednotlivých složek lipidů kyselinou molybdenovou, provedené po ukončení mobilní fáze. Pro názornost bylo detekční činidlo aplikováno na všechny sloupce, první tři sloupce zleva tvoří vyšetřované vzorky, čtvrtý pak standard. Zespadu nahoru jsou oddělené jednotlivé frakce podle vztřstajícího RF: 1 - fosfolipidy, 2 - diacylglyceroly, 3 - volné mastné kyseliny, 4 - triacylglyceroly, 5 - estery cholesterolu



zastoupení v různých částech odebraného vzorku, což by rovněž mohlo být důvodem rozdílných výsledků. Pro tuto skutečnost však nesvědčí vyšetření ušního mazu odebraného u téhož jedince rozděleného do samostatných porcí (tabulka 3), kdy je patrná jen mírná odlišnost mezi vzorky.

Správnost metodiky zvolené pro separaci lipidových frakcí podporuje časté využívání tenkovrstevné chromatografie při oddělování jednotlivých skupin lipidů krevní plasmy<sup>(11,12,13)</sup>. Pouze další rozbory mohou však ukázat, zda je mezi vzorky mazu opravdu takový rozptyl, jaký prokázali Bortz a spol.<sup>(2)</sup>, či zda zastoupení jednotlivých frakcí odpovídá spíše našim výsledkům.

Při porovnání hodnot celkových lipidů krevního séra a ušního mazu jsou v ceruminu hodnoty v průměru o 35,9 % vyšší (4,51 g/l v séru oproti 6,13 g/l v mazu). Pokud srovnáme zastoupení jednotlivých frakcí na celkových lipidech cerumina a séra, zjistíme, že v mazu jsou více zastoupeny fosfolipidy (18,2 % lipidů mazu ale 12,8 % séra) a volné mastné kyseliny (maz 6,63 %, sérum 4,34 %) a naopak jsou oproti séru méně zastoupeny diacylglyceroly (maz 9,64 %, sérum 14,96 %). Triacylglyceroly a estery cholesterolu mají zastoupení obdobné. Zatím zůstává nejasné, zda se na větším zastoupení fosfolipidů v ceruminu nepodílí složky buněčných membrán, které se do ušního mazu uvolňují z epidermálních buněk zvukovodu po jejich apoptóze.

#### Literatura

- Ballachanda, B.B.: The Human Ear Canal. Theoretical Considerations and Clinical Applications Including Cerumen Management. Singular Publishing Group, Inc., San Diego, London, 1995.
- Bortz, J.T., Wertz, P.W., Downing, D.T.: Composition of Cerumen Lipids. *J Am Acad Dermatol*, 1990; 23:845-9.

#### Závěr

Studie ukázaly, že ušní maz je směsicí řady rozdílných látek - lipidů, proteinů, volných aminokyselin, sacharidů minerálů. Zatím existuje omezené množství prací zabývajících se podrobným složením lidského ušního mazu, které navíc většinou pouze vyjmenovávají nalezené látky bez kvantitativního stanovení.

V této studii je popsán příspěvek k metodice určení lipidových frakcí ušního mazu a krevního séra tenkovrstevnou chromatografií. Výsledné rozdělení jednotlivých frakcí je odlišné od metodiky běžně užívané při vyšetřování lipidů krevního séra. Obě metodiky jsou však ověřené opakováním užitím při zpracování krevního séra.

Při porovnání výsledků ušního mazu s dalšími publikovanými pracemi bylo získáno obdobné složení. I přes jiný poměr jednotlivých frakcí lze výsledky považovat jako srovnatelné. Při porovnání množství lipidů krevního séra a ušního mazu bylo pozorováno vyšší celkové množství lipidů, fosfolipidů a volných mastných kyselin a naopak nižší množství diacylglycerolů v mazu.

Popsanou modifikaci tenkovrstevné chromatografie považujeme za vhodnou k rozboru lipidové frakce ušního mazu. Bude využita při dalším studiu faktorů ovlivňující její skladbu.

Práce byla finančně podpořena Výzkumným záměrem

MSM0021627502.

#### Adresa pre korešpondenciu

MUDr. Karel Pokorný  
Klinika ORL a chirurgie hlavy a krku  
Kyjevská 44  
530 02 Pardubice  
Česká republika  
e-mail: k.pokorny@centrum.cz

doc. Ing. Alexander Čegan, CSc  
Katedra biologických a biochemických věd  
Fakulta chemicko-technologická, Univerzita Pardubice

prim. PharmDr. Jiří Skalický  
Oddělení klinické biochemie a diagnostiky  
Krajská nemocnice Pardubice

prof. RNDr. Milan Meloun, DrSc.  
Katedra analytické chemie  
Fakulta chemicko-technologická, Univerzita Pardubice

3. Burkhardt, C.N., Burkhardt, C.G., Williams, S., Andrews, P.C., Adappa, V., Arbogast J.: In Pursuit of Ceruminolytic Agents: A Study of Earwax Composition. *American Journal of Otology*, 2000; 21 (2):157-60.

4. Chiang, S.P., Lowry, O.H., Senturia, B.H.: Microchemical Studies on Normal Cerumen. I. The Lipid and Protein Content of Normal Cerumen as Affected by Age and Sex. *Laryngoscope*, 1955; 65:927-934.

5. Inaba, M., Chung, T.H., Kim, J.C., Choi, Y.C., Kim, J.H.: Lipid Composition of Ear Wax in Hiroismus. *Yonsei Med J*, 1987; 28:49-51.
6. Roeser, J.R., Ballachanda, B.B.: Physiology, Pathophysiology, and Anthropology/Epidemiology of Human Earcanal Secretions. *J Am Acad Audiol*, 1997; 8:391-400.
7. Cipriani, C., Taborelli, B., Gaudia, G., Melagrana, A., Rebora, A.: Production Rate and Composition of Cerumen: Influence of Sex and Season. *Laryngoscope*, 1990; 100:275-276.
8. Matsunaga, E.: The Dimorphism in Human Normal Cerumen. *Ann Hum Genet*, 1962; 25: 273-286.
9. Driscoll, P.V., Ramachandrala, A., Drezner, D.A., Hicks, T.A., Schaffer, S.R.: Characteristics of Cerumen in Diabetic Patients: a Key to Understanding Malignant External Otitis? *Otolaryngol Head Neck Surg*, 1993; 109 (4):676-679.
10. Osborne, J.E., Baty, J.D.: Do Patients with Otitis Externa Produce Biochemically Different Cerumen? *Clin Otolaryngol*, 1990; 15:59-61.
11. Chedid, A., Haux, P., Natelson, S.: Use of Thin-Layer Chromatography on Silica Gel for Serum Lipid Fractionation and Measurement in the Routine Clinical Laboratory. *Clinical Chemistry*, 1972; 18 (4):384-390.
12. Rodriguez, M., Funke, S., Fink, M., Demmelmair, H., Turini, M., Crozier, G., Koletzko, B.: Plasma Fatty Acids and [<sup>14</sup>C]linoleic Acid Metabolism in Preterm Infants Fed a Formula with Medium/chain Triacylglyceroles. *J Lipid Res* 2003; 44 (1):41-48.
13. Kikec, J.: Einfluss des euglykämisch-hyperinsulinämischen Glukose-Clamps auf die Fettsäurezusammensetzung der Serumlipide. Inaugural Dissertation der Medizinischen Universitätsklinik und Poliklinik Tübingen 2005; 17-19.

# Xorimax®

cefuroxim axetil

Spoľahlivý a bezpečný

- účinný na liečbu infekcií vyvolaných najčastejšími pôvodcami bakteriálnych ochorení
- malé riziko vzniku rezistencie
- nízky výskyt nežiaducích účinkov
- jednoduché a pohodlné dávkovanie dvakrát denne

**Zloženie:** Tablety Xorimax obsahujú účinnú látku cefuroxim axetil a pomocné látky. **Indikácie:** infekcie horných a dolných dýchacích ciest, nekomplikované infekcie dolných močových ciest, infekcie kože a mäkkých tkániv, nekomplikovaná kvapavka, liečba počítadelného štadia Lymnskej choroby (1. štadiu). **Dávkovanie a spôsob podávania:** Xorimax tablety sú obalené a nesú sa hryz. Pre dosiahnutie optimálnej absorpcie sa maju užívať krátko po jede. Dospelí a deti od 12 rokov: infekcie horných dýchacích ciest: 250-500 mg dvakrát denne, infekcie dolných dýchacích ciest: 500 mg dvakrát denne, nekomplikované infekcie dolných močových ciest: 125-250 mg dvakrát denne, počítadelné štadio Lymnskej choroby: 500 mg dvakrát denne počas 20 dní, nekomplikovaná kvapavka: jednorázová dávka 1000 mg v prípade potreby sa môže pridať perorálne 1000 mg probenecidu. Deti vo veku od 5 do 12 rokov: vyššie spomennuté indikácie relevantné pre túto skupinu detí: 125-250 mg dvakrát denne, akútny zápal stredného ucha: 250 mg dvakrát denne. **Kontraindikácie:** Pre citlivosť na cefuroxim, iné céfalošporiny alebo na niektorú z pomocných látok. Predchádzajúca okamžitá a/alebo zárazná hypersenzitivita reakcia na penicilín alebo na iné beta-laktámové liečivo. **Balenie:** Tablety 10x500 mg, 10x250 mg a 10x125 mg.

Liek je na lekársky predpis. Pred jeho predpisaním si pozorne prečítajte súhrn charakteristických vlastností lieku, ktorý ziskate na adrese:

Sandoz d.d. – organizačná zložka, Ružinovská 42, 821 03 Bratislava, tel.: 02 / 48 200 600, fax: 02 / 48 200 650

[www.sandoz.sk](http://www.sandoz.sk)

 **SANDOZ**  
Zdravé rozhodnutie