

## TRINDEROVA REAKCE V KLINICKÉ BIOCHEMII – PŘÍNOSY A LIMITY

ONDŘEJ WIEWIORKA<sup>a,b,c</sup>, MILAN DASTYCH<sup>a,b</sup> a ZDEŇKA ČERMÁKOVÁ<sup>a,b</sup>

<sup>a</sup> Oddělení klinické biochemie, Fakultní nemocnice Brno, Jihlavská 20, 625 00 Brno, <sup>b</sup> Katedra laboratorních metod, Lékařská fakulta, Masarykova univerzita, Kamenice 5, 625 00 Brno, <sup>c</sup> Biochemický ústav, Lékařská fakulta Masarykova univerzita, Kamenice 5, 625 00 Brno  
wiewiorka.ondrej@fnbrno.cz, dastych.milan@fnbrno.cz, cermakova.zdenka@fnbrno.cz

Došlo 16.6.16, přijato 7.7.16.

Klíčová slova: klinická biochemie, Trinderova reakce, diagnostické testy, interference

## Obsah

1. Úvod
2. Vznik a vývoj Trinderovy reakce
3. Využití Trinderovy reakce v klinické laboratorní praxi
  - 3.1. Glukosa
  - 3.2. Cholesterol
  - 3.3. Triacylglycerol
  - 3.4. Kyselina močová
  - 3.5. Kreatinin
4. Modifikace Trinderovy reakce
5. Interference v Trinderově reakci
6. Závěr

## 1. Úvod

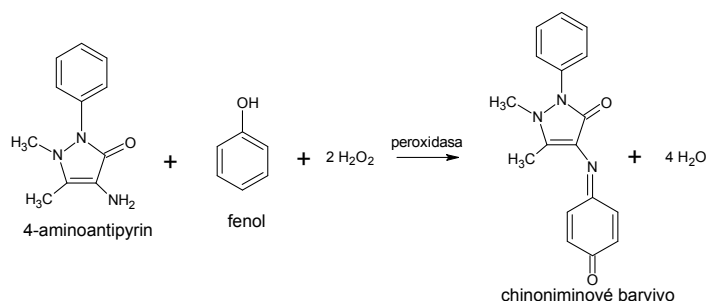
Dr. Paul Trinder, narozený roku 1919, byl významným laboratorním vědcem a pracovníkem na poli klinické biochemie. Jeho pracovištěm byla laboratoř Královské

Sunderlandské nemocnice ve Velké Británii<sup>1</sup> a jeho výzkumná práce se týkala především návrhů a zavádění nových metod nebo jejich vylepšení pro stanovení klinických analytů. K jeho nejvýznamnějším objevům patří rychlý test pro stanovení salicylátů v případě akutní otravy<sup>2</sup>, dále publikoval metody pro stanovení sodíku<sup>3,4</sup>, cholesterolu<sup>5,6</sup>, vápníku<sup>7</sup>, karbonylovaného hemoglobinu<sup>8</sup>, fenylnalaninu<sup>9</sup>, železa<sup>10</sup>, aktivity AST<sup>11</sup>, xylosy<sup>12</sup>. Ve výčtu jeho přínosů biochemické analýze ovšem nemůžeme opomenout metodu nesoucí jeho jméno.

Trinderova reakce, jež byla poprvé publikována téměř před padesáti lety, patří hned po Wartburgově optickém testu a metodách zahrnujících *p*-nitrofenol mezi nejuniverzálnější chromogenní spektrofotometrické metody v klinické biochemii. Její potenciál spočívá především ve využití peroxidu vodíku, produktu řady enzymových oxidačních reakcí, jako signální molekuly. Nejčastěji se dnes v klinické biochemii využívá pro stanovení kreatininu, kyseliny močové, triacylglycerolů, laktátu, glukosy, celkového cholesterolu a také jeho LDL a HDL frakcí. Jejím hlavním nedostatkem je ovšem riziko nežádoucích interferencí oxidoredukčního charakteru v biologickém materiálu.

## 2. Vznik a vývoj Trinderovy reakce

Dr. Paul Trinder publikoval chemickou reakci nesoucí jeho jméno v roce 1969 (cit.<sup>13</sup>). Navázal na práci Edgara Emersona<sup>14</sup>, který se zabýval stanovováním organických sloučenin – především derivátů fenolu, naftofenolu, hydroxypyridinu a dalších – pomocí oxidační kopulace s 4-aminoantipyrinem. Proto se někdy reakce popisuje jako Trinderova-Emersonova. Dr. Trinder použil tuto reakci s tím rozdílem, že organická sloučenina sloužila jako reagenční činidlo a limitujícím faktorem v reakci byla právě molekula peroxidu vodíku (obr. 1). Ten může být produkován enzymovým rozkladem řady organických sloučenin pomocí oxidoreduktas. Následující léta prováděl



Obr. 1. Původní Trinderova reakce. Fenol reaguje s peroxidem vodíku a 4-aminoantipyrinem za katalýzy peroxidasou. Vzniká 4-(*p*-benzochinon-monoimino)-fenazon detegovaný spektrofotometricky při 515 nm

Dr. Trinder drobné úpravy své metody, aby získal ještě lepší analytické vlastnosti<sup>15</sup>.

### 3. Využití Trinderovy reakce v klinické laboratorní praxi

Na základě často citovaných článků Dr. Trindera uplatnili mnozí odborníci tuto reakci pro stanovení dalších analytů a dnes její rutinní využití zahrnuje i stanovení cholesterolu<sup>16</sup>, kyseliny močové<sup>17</sup>, triglyceridů<sup>18</sup>, kreatininu<sup>19</sup> a jiných.

#### 3.1. Glukosa

Trinderova reakce byla poprvé uplatněna ke stanovení glukosy v krevním séru<sup>13</sup>. Výzkum Dr. Trindera navázal na odborné doporučení<sup>20</sup> nepoužívat *o*-tolidin a několik dalších sloučenin v laboratorní praxi pro jejich prokázané kancerogenní účinky. Trinder *o*-tolidin původně nahradil epinefrinem, který se po oxidaci peroxidem vodíku barví červeně<sup>21</sup>. Nicméně ve výzkumu pokračoval a epinefrin dále nahradil kombinací 4-aminoantipyrinu a fenolu v reakci katalyzované peroxidasou. Výsledkem byla ještě citlivější dvoureagenční metoda pro stanovení glukosy vyžadující pouze 100  $\mu$ l vzorku pro desetiminutové stanovení.

#### 3.2. Cholesterol

Významným milníkem bylo využití Trinderovy reakce pro stanovení cholesterolu v séru a plazmě. O cholesterolu jako významném parametru spojovaném s aterosklerotickým onemocněním se psalo už od 40. let minulého století, ovšem pro jeho lipofilní charakter bylo stanovení v krvi obtížné. K nejužívanějším v té době patřila Liebermannova-Burchardova metoda<sup>22</sup>, kde probíhala reakce cholesterolu s Burchardovým činidlem – koncentrovanou kyselinou sírovou, anhydridem kyseliny octové a ledovou kyselinou octovou – při které vzniká velká řada produktů modrého až zeleného zbarvení<sup>23</sup>. Práci Abella-Kendalla<sup>24</sup> byla tato metoda vylepšena o extrakci cholesterolu ze séra pomocí hydroxidu draselného v ethanolu do petrolejového etheru a tato modifikace je dnes používána jako referenční metoda pro stanovení cholesterolu. Ovšem použití silných kyselin a zásad, nutnost pravidelné přípravy čerstvých reagentů, chlazení probíhající reakce a potřeba velkého objemu vzorku značně omezuje použití této metody v rutinní praxi a téměř znemožňuje její automatizaci. Proto byla enzymová reakce s Trinderovou reakcí v roce 1974 velmi vítanou změnou<sup>25</sup>. V prvním kroku stanovení jsou estery cholesterolu hydrolyzovány cholesterolesterasou, v druhém kroku je cholesterol oxidován cholesteroolidasou, přičemž je molekula kyslíku redukována na peroxid vodíku, který se uplatní při oxidačně-kopulační Trinderově reakci. Pro své příznivé analytické vlastnosti

a snadnou automatizaci se stala tato metoda dnešním standardem v klinické laboratorní praxi.

#### 3.3. Triacylglyceroly

Chemické stanovení triacylglycerolů v biologické matrici bylo zatížené podobnými problémy jako stanovení cholesterolu. Poměrně rozšířená chemická metoda dle Van Handela<sup>26</sup> a její drobné modifikace začaly být nahrazovány na přelomu 60. a 70. let minulého století enzymovým stanovením s využitím Wartburgova optického testu jako chromogenní koncovky<sup>27</sup>. Reakce ovšem trpěla určitými nedostatky, např. kinetika reakce nebyla lineární a byla značně ovlivněna výkyvy pH, absorbance NADH při 340 nm byla silně interferována turbiditou vzorku, takže vyšší koncentrace triacylglycerolů bylo potřeba ředit. Tyto neduhy byly po téměř desetiletém používání a rozšíření v laboratorní praxi vyřešeny záměnou Wartburgova testu za Trinderovu reakci s barevným produktem měřeným při 510 nm (cit.<sup>18</sup>).

#### 3.4. Kyselina močová

Tento katabolický produkt purinů lze v biologickém materiálu stanovit několika spektrofotometrickými metodami<sup>28</sup>. Chemická cesta s použitím kyseliny fosfowolframové v alkalickém prostředí produkuje wolframovou modř oxidoredukční reakcí, měřenou obvykle při 700 nm. Enzymové stanovení kyseliny močové zahrnuje použití urikasy, která ji degraduje na allantoin. Referenční metodou je dle doporučení IFCC<sup>29</sup> výpočet koncentrace přímým měřením úbytku kyseliny močové při 293 nm. V laboratoři se ovšem daleko častěji setkáme s nepřímým stanovením pomocí peroxidu vodíku v Trinderově reakci, který vzniká jako vedlejší produkt enzymové reakce<sup>30</sup>.

#### 3.5. Kreatinin

Tento parametr patří k základním ukazatelům funkce ledvin, pro jehož stanovení byla dosud naprosto dominantní metoda dle Jaffého<sup>31</sup> využívající reakci kreatininu s kyselinou pikrovou v alkalickém prostředí. Již od svého uvedení však tato metoda trpěla nespecificitou reakce s dalšími sloučeninami v séru, plazmě i moči, v literatuře nazývanými jednoduše pseudokreatinin<sup>32</sup>. Na základě doporučení IFCC z roku 2008 (cit.<sup>33</sup>) vyžadujícího zpřesnění stanovení kreatininu pro spolehlivý odhad glomerulární filtrace se v klinických laboratořích rapidně rozšiřuje použití specifitější enzymové metody pro stanovení kreatininu, která využívá Trinderovy reakce<sup>19</sup>.

## 4. Modifikace Trinderovy reakce

V literatuře se uvádí použití 4-aminoantipyrinu (4-amino-2,3-dimethyl-1-fenyl-3-pyrazolin-5-on) i 4-amino-fenazonu (4-dimethylamino-2,3-dimethyl-1-fenyl-3-pyrazo-

lin-5-on) neboli 4-aminopyrinu jakožto jednoho z reaktantů Trinderovy reakce. U druhého z uvedených se ovšem jedná o nesprávné označení. 4-Aminofenazon má totiž v molekule dvakrát methylovanou aminoskupinu a tento terciární amin by se u uvedené reakce za daných podmínek neúčastnil. Toto špatné označení je ovšem hojně rozšířeno i v materiálech výrobců diagnostických prostředků a dodavatelů chemikálií, přestože světové databáze organických molekul obě tyto sloučeniny rozlišují.

Fenol jakožto druhý reaktant byl časem nahrazován jeho deriváty nebo N-deriváty anilinu nebo toluidinu za účelem zvýšení citlivosti<sup>15</sup>. Díky tomu také došlo ke zvýšení absorpční škály vznikajícího chinon-iminového chromoforu, takže barevné produkty absorbují v rozmezí 500 až 660 nm. Mohou se tedy jevit jako modré až fialovočervené.

V praxi neexistují žádná pravidla pro použití specifických činidel Trinderovy reakce pro konkrétní analyty. Dodavatelé diagnostických testů využívající Trinderovu reakci často ani nespecifikují vznikající produkt a zákazník se musí spokojit s obecným označením jako např. chinoniminový komplex, chromogen, nachově modré barvivo atd. Přehled variant rozdělených dle měřených parametrů v portfoliu firem Abbott, Beckman Coulter, Biovender, Erba Lachema, Roche a Siemens jsou uvedeny v tab. I.

## 5. Interference v Trinderově reakci

Jako interferenci definujeme účinek sloučeniny ve vzorku, která mění pravdivou hodnotu koncentrace či aktivity výsledku měření<sup>34</sup>. Aplikace Emersonovy-Trinderovy reakce pro klinickou biochemii vyžadovala optimalizaci metod pro biologický materiál, včetně prevence nejobvyklejších interferentů, jako jsou kyselina askorbová a bilirubin<sup>35</sup>.

Interference bilirubinem je způsobena přesahem absorpčního spektra v rozsahu 400–540 nm s chromoforem Trinderovy reakce a také jeho redukujícími vlastnostmi. K prevenci ovlivnění výsledků bilirubinem se do reakce začal přidávat hexakynoželeznatý draselný<sup>36</sup>. Ten slouží jako intermediátor pro přenos elektronů v oxidační kopulaci Trinderovy reakce. Místo oxidace aminoantipyrinu<sup>14</sup> je hexakynoželezitanem draselným oxidován fenol či jeho derivát<sup>37</sup>, přičemž tento meziprodukt není tak náchylný k redukci bilirubinem.

Kyselina askorbová je významným antioxidačním prvkem v organismu. Současně také ruší Trinderovu oxidoredukční reakci svými redukčními vlastnostmi<sup>38</sup>. Proto je do reakčních směsí přidávána askorbát oxidasa v takovém množství, aby spolehlivě rozložila i maximální koncentrace askorbátu v krevní plazmě. Při zvýšeném příjmu vitamínu C se ovšem askorbát vylučuje močí v nezměněné formě a ve vysoké koncentraci, takže může dojít k interferenci u analýz prováděných v moči.

Větším problémem jsou interference způsobené léky. V tab. II je uveden přehledný seznam interferujících látek u diagnostických setů pro analýzu cholesterolu a jeho

HDL a LDL frakcí, glukosy, laktátu, kreatininu, kyseliny močové a triacylglycerolů u dodavatelů reagentů – Abbott, Beckman Coulter, Thermo Fisher Scientific QY, Erba Lachema, Roche a Siemens.

V tab. II je vidět, že se informace u jednotlivých dodavatelů různí. Dle nařízení Evropské komise 98/79/EC pro *in vitro* diagnostické prostředky jsou dodavatelé diagnostických testů pro EU povinni validovat své metody, včetně zvládnutí známých rušivých vlivů<sup>39</sup>. Uvedené firmy ve svých příbalových letáčích popisují často pouze interference způsobené různou mírou hemolýzy, ikteru a lipémie vzorku a případně se odkazují na práci Younga a spol.<sup>40</sup>, ve které autoři uvádějí soubornou databázi interferujících léků a činidel. Tato práce ovšem nezahrnuje míru interference jednotlivých sloučenin, která se může lišit u jednotlivých dodavatelů reagentů, jak prokázal např. Genzen a spol.<sup>41</sup>, ani nerozlišuje jejich terapeutické a toxické koncentrace. Proto by bylo vhodné, aby dodavatelé reagentních souprav provedli individuální testování svých výrobků na látky a léky uvedené v databázi, kterou sami citují.

Nových léků a jejich kombinací je ovšem takové množství, že jsou to obvykle uživatelé, kteří oznamují a případně publikují neshody tohoto typu. U Trinderovy reakce byly v praxi prokázány interference u  $\alpha$ -methylpopy, 3,4-dihydroxyfenylactové kyseliny, dihydroxybenzoové kyseliny<sup>36</sup>, etamsylátu<sup>42</sup>, *n*-acetylcysteinu<sup>41</sup>, dopaminu a dobutaminu<sup>43</sup>, dobesilátu vápenatého<sup>44</sup>, acetoaminofenu a katecholaminů<sup>45</sup>. Prevenci lékové interference lze zajistit pouze správným použitím reagentního setu, informovaností lékařů předepisujících léky a laboratorní testy a porovnáním plausibility výsledků vzhledem k diagnóze a stavu pacienta. Laboratorní testy se podílejí na většině terapeutických rozhodnutí a nesprávná analýza, v tomto případě z důvodu lékové interference, může někdy poškodit zdraví pacienta.

## 6. Závěr

Zavedení Trinderovy reakce do rutinní laboratorní praxe přineslo v klinické biochemii dramatické změny. Nahradila zdlouhavé metody s nespecifickou reakcí, s použitím vysoce agresivních chemikálií a velkým objemem vzorku. V kombinaci s použitím substrátově specifických enzymů se výrazně zvýšila specifita stanovení. Byla předpokladem pro automatizaci řady stanovení v automatických biochemických analyzátozech. Všichni světoví výrobci laboratorních diagnostik ji mají již dlouhá léta zařazenu, byť v různých modifikacích, ve svých portfoliích.

Slabinou Trinderovy reakce je její náchylnost k pozitivním i negativním interferencím. Mohou tak působit endogenní látky a celá řada exogenních substancí, zvláště léků. Lékové interference při současné polypragmazi představují riziko nesprávného výsledku. To musí být sníženo na minimum funkčním a kvalitním systémem supervize a validace laboratorních nálezů, případně zavedením efektivního software s databází interferujících slou-

Tabulka I

Rozpis činidel Trinderovy reakce pro vybrané analyty u dodavatelů diagnostických testů Abbott, Beckman Coulter, Thermo Fisher Scientific QY, Erba Lachema, Roche a Siemens tak, jak je uvádí v příbalových letáčích

Parametr	Dodavatel diagnostických testů					
	Abbott	Beckman Coulter	Erba Lachema	Roche	Siemens	Thermo Fisher Scientific QY
<i>Cholesterol</i>						
Signální molekula	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	2H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	2H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	2H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	2H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>
Činidlo 1	4-AAP	4-AAP	4-AAP	4-AAP	4-AAP	4-AAP
Činidlo 2	k. hydroxy- benzoová	fenol	fenol	fenol	fenol	k. hydroxy- benzoová
Detekce [nm]	500	540	505	505	505	500–550
<i>Kreatinin</i>						
Signální molekula		H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>
Činidlo 1		4-AAP	4-AAP	4-aminofenazon	4-AAP	4-aminofenazon
Činidlo 2		HMMPS	ESPMT	HTIB	HMMPS	HTIB
Detekce [nm]		600	546	546	596	540
<i>Kyselina močová</i>						
Signální molekula	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	2H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	2H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	2H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	2H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>
Činidlo 1	4-AAP	4-aminofenazon	4-AAP	4-aminofenazon	4-aminofenazon	4-AAP
Činidlo 2	HMMPS	MADB	TOOS	TOOS	TOOS	TOOS
Detekce [nm]	604	660	498	545	545	540
<i>Glukosa</i>						
Signální molekula			H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	neuvádí	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	2H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>
Činidlo 1			4-AAP	4-aminofenazon	4-aminofenazon	4-AAP
Činidlo 2			3-methylfenol	fenol	fenol	fenol
Detekce [nm]			600	505	505	510
<i>HLD-cholesterol</i>						
Signální molekula	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	2H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	2H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>
Činidlo 1	4-AAP	4-AAP	4-AAP	4-AAP	4-AAP	4-AAP
Činidlo 2	DSBmT / TODS	F-DAOS	F-DAOS	HDAOS	HDAOS	HDAOS
Detekce [nm]	604	540	593	600	596	600
<i>LDL-cholesterol</i>						
Signální molekula	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	2H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	2H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>
Činidlo 1	4-AAP	4-AAP	4-AAP	4-AAP	4-AAP	4-AAP
Činidlo 2	DSBmT / TODS	HDAOS	HDAOS	HDAOS	TOOS	HDAOS
Detekce [nm]	548	600	546	600	596	–
<i>Triacylglyceroly</i>						
Signální molekula	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	2H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	2H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>
Činidlo 1	4-AAP	4-aminofenazon	4-AAP	4-aminofenazon	4-aminofenazon	4-AAP
Činidlo 2	4-chlorfenol	MADB	4-chlorfenol	4-chlorfenol	4-chlorfenol	4-chlorfenol
Detekce [nm]	500	660	550	500	505	510
<i>Laktát</i>						
Signální molekula		H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>		2H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	
Činidlo 1		4-AAP		4-AAP	4-AAP	
Činidlo 2		TOOS		TOPS	TOOS	
Detekce [nm]		570		660	545	

## Tabulka II

Lékové interference diagnostických setů využívající Trinderovu reakci pro stanovení cholesterolu a jeho HDL a LDL frakcí, kreatininu, kyseliny močové, glukózy, laktátu tak, jak je uvádějí výrobci v příbalových letáčích

Interference	Lékové interference u metod využívajících Trinderovu reakci podle výrobce:					
	Abbott	Beckmann Coulter	Erba Lachema	Roche	Siemens	Thermo Fisher Scientific QY
Pozitivní interference	–	–	–	glykolát, metabolity ethylenglykolu, glycerol	etyl-glycin	–
Negativní interference	–	<i>N</i> -acetylcystein	<i>N</i> -acetylcystein, acetoaminofen, metamizol	rifampicin, levodopa, dobesilát vápenatý, <i>N</i> -ethylglycin, DL-prolin, fenindion, dicynone, kyselina askorbová, <i>N</i> -acetylcystein, acetaminofen, metamizol, kyselina homogentisová	kyselina askorbová, cefoxitin, dipyrón, dobesilát, dobutamin, dopamin	dobesilát vápenatý, $\alpha$ -methyl-dopa

čenin. V takovém klinickolaboratorním prostředí představuje Trinderova reakce velmi užitečnou aplikaci, a to i po téměř padesáti letech od svého vzniku.

*Tato práce vznikla na Masarykově univerzitě v rámci projektu „Příspěvek chemických a biochemických metodik ke studiu molekulární podstaty vybraných patologických stavů a onemocnění“ číslo MUNI/A/1056/2015 podpořené z prostředků účelové podpory na specifický vysokolský výzkum, kterou poskytlo MŠMT v roce 2016.*

## Seznam zkratk

4-AAP	4-aminoantipyrin
AST	aspartátaminotransferasa
DSBmT/TODS	<i>N,N</i> -bis(4-sulfobutyl)- <i>m</i> -toluidin disodný
ESPMT	<i>N</i> -ethyl- <i>N</i> -sulfopropyl- <i>m</i> -toluidin
F-DAOS	<i>N</i> -ethyl- <i>N</i> -(2-hydroxy-3-sulfopropyl)-3,5-dimethoxy-4-fluoroanilin sodný
HDAOS	<i>N</i> -(2-hydroxy-3-sulfopropyl)-3,5-dimethoxyanilin sodný
HDL	vysokodenzitní lipoprotein
HMMPS	<i>N</i> -(3-sulfopropyl)-3-methoxy-5-methylanilin
HTIB	kyselina 2,4,6-trijodo-3-hydroxybenzoová
IFCC	mezinárodní federace klinické chemie a laboratorní medicíny
LDL	nízkodenzitní lipoprotein
MADB	<i>N,N</i> -bis(4-sulfobutyl)-3,5-dimethylanilin
NADH	nikotinamidadenindinukleotid (redukovaná forma)
TOOS	<i>N</i> -ethyl- <i>N</i> -(2-hydroxy-3-sulfopropyl)- <i>m</i> -toluidin

TOPS *N*-ethyl-*N*-(3-sulfopropyl)-3-methylanilin

## LITERATURA

1. <http://chsft.nhs.uk/>, staženo 9.6.2016.
2. Trinder P.: *Biochem. J.* 57, 301 (1954).
3. Trinder P.: *Analyst* 76, 596 (1951).
4. Trinder P.: *Analyst* 78, 180 (1953).
5. Trinder P.: *Analyst* 77, 321 (1952).
6. Trinder P.: *Ann. Clin. Biochem* 18, 64 (1981).
7. Trinder P.: *Analyst* 85, 889 (1960).
8. Trinder P., Harper F.: *J. Clin. Pathol.* 15, 82 (1962).
9. Trinder P.: *Ann. Clin. Biochem.* 17, 26 (1980).
10. Trinder P.: *J. Clin. Pathol.* 9, 170 (1956).
11. Trinder P., Kirkland J.: *Clin. Chim. Acta.* 16, 287 (1967).
12. Trinder P.: *Analyst.* 100, 12 (1975).
13. Trinder P.: *J. Clin. Pathol.* 22, 246 (1969).
14. Emerson E.: *J. Org. Chem.* 8, 417 (1943).
15. Barham D., Trinder P.: *Analyst* 97, 142 (1972).
16. Meattini F., Prencipe L., Bardelli F., Giannini G., Tarli, P.: *Clin. Chem.* 24, 2161 (1978).
17. Kabasakalian P., Kalliney S., Westcott A.: *Clin. Chem.* 19, 522 (1973).
18. Fossati P., Prencipe L.: *Clin. Chem.* 10, 2077 (1982).
19. Fossati P., Prencipe L., Berti G.: *Clin. Chem.* 29, 1494 (1983).
20. Heggie J. F.: *J. Clin. Pathol.* 19, 524 (1966).
21. Trinder P.: *J. Clin. Pathol.* 22, 158 (1969).
22. Liebermann C., Ilinski M.: *Berichte Dtsch. Chem. Ges.* 18, 3193 (1885).
23. Xiong Q., Wilson W. K., Pang J.: *Lipids* 42, 87 (2007).
24. Abell L. L., Levy B. B., Brodie B. B., Kendall F. E.: *J. Biol. Chem.* 1, 357 (1952).

25. Allain C. C., Poon L. S., Chan C. S., Richmond W., Fu P. C.: *Clin. Chem.* *20*, 470 (1974).
26. Vanhandel E., Zilversmit D.: *J. Lab. Clin. Med.* *50*, 152 (1957).
27. Bucolo G., David H.: *Clin. Chem.* *19*, 476 (1973).
28. Zhao Y., Yang X., Lu W., Liao H., Liao F.: *Microchim. Acta* *164*, 1 (2009).
29. Elin R. J., Johnson E., Chesler R.: *Clin. Chem.* *28*, 2098 (1982).
30. Prencipe L., Fossati P., Vanzetti G.: *Quad. Sclavo Diagn.* *15*, 382 (1978).
31. Jaffé M.: *Z. Physiol. Chem.* *10*, 391 (1886).
32. Owen J. A., Iggo B., Scandrett F. J., Stewart C. P.: *Biochem. J.* *58*, 426 (1954).
33. Panteghini M.: *Clin. Chem. Lab. Med.* *46*, 567 (2008).
34. Kroll M. H., Elin R. J.: *Clin. Chem.* *11*, 1996 (1994)
35. Witte D. L., Brown L. F., Feld R. D.: *Clin. Chem.* *24*, 1778 (1978).
36. Fossati P., Prencipe L., Berti G.: *Clin. Chem.* *26*, 227 (1980).
37. Jones P. F., Johnson K. E.: *Can. J. Chem.* *51*, 2860 (1973).
38. Whitehead T. P., Bevan E. A., Miano L., Leonardi A.: *Clin. Chem.* *37*, 879 (1991).
39. Evropský parlament a rada Evropské Unie: Směrnice rady Evropského parlamentu a Evropské Unie, 98/79/ES o diagnostických zdravotnických prostředcích *in vitro* (EU 1998).
40. Young D., Pestaner L., Gibberman V.: *Clin. Chem.* *21*, D1 (1975).
41. Genzen J. R., Hunsaker J. J., Nelson L. S., Faine B. A., Krasowski M. D.: *Clin. Biochem.* *49*, 100 (2016).
42. Dastych M., Wiewiorka O., Benovska M.: *Clin. Lab.* *60*, 1373 (2014).
43. Karon B. S., Daly T. M., Scott M. G.: *Clin. Chem.* *44*, 155 (1998).
44. Guo X., Hou L., Cheng X., Zhang T., Yu S., Fang H., Xia L., Qi Z., Qin X., Zhang L., Liu Q., Liu L., Chi S., Hao Y., Qiu L.: *Medicine (Baltimore)* *94*, e905 (2015).
45. Saenger A. K., Lockwood C., Snozek C. L., Milz T. C., Karon B. S., Scott M. G., Jaffe A. S.: *Clin. Chem.* *55*, 1732 (2009).

**O. Wiewiorka<sup>abc</sup>, M. Dastych<sup>ab</sup>, and Z. Čermáková<sup>ab</sup>**

*(<sup>a</sup> Department of Clinical Biochemistry, University Hospital Brno, <sup>b</sup> Department of Laboratory Methods, Faculty of Medicine, Masaryk University, Brno, <sup>c</sup> Department of Biochemistry, Faculty of Medicine, Masaryk University, Brno):* **Trinder Reaction in Clinical Biochemistry – Benefits and Limits**

This article reviews the Trinder chromogenic reaction and describes its discovery, further development, current state and use in practice. It has been known for nearly half a century as a universal and analytically specific chromogenic method that is abundantly used in clinical biochemistry tests. The article provides information on the benefits and shortcomings of the Trinder reaction in comparison to alternative methods. It also reviews substances interfering in this reaction. This may be particularly helpful for a biochemical analyst or a physician in determination the cause of discrepant laboratory results, and thus prevent an application of improper patient treatment.