

**Ústav klinické biochemie a patobiochemie  
UK 2. lékařská fakulta a Fakultní nemocnice Motol**



## **Kazuistiky a stručné kapitoly z klinické biochemie**

**Richard Průša a kolektiv**

Praha 2009

## **Kazuistiky a stručné kapitoly z klinické biochemie**

Učební text pro studenty 5. ročníku lékařských fakult

Autoři: © Richard Průša a kolektiv

Vydal: Ústav klinické biochemie a patobiochemie,

UK 2. lékařská fakulta a Fakultní nemocnice Motol

Praha 2009

Tato publikace vznikla za podpory společnosti ROCHE Diagnostics.

První vydání.

Neprodejné.

**ISBN 978-80-87347-01-0**

## **Kazuistiky a stručné kapitoly z klinické biochemie**

**Richard Průša a kolektiv**

Seznam autorů:

MUDr. Helena Brodská

MUDr. Jiří Bronský, Ph.D.

MUDr. Ivana Hadačová

Prof. MUDr. Antonín Kazda, DrSc.

Ing. Karel Kotaška, Ph.D.

Doc. MUDr. Jaromír Křemen, CSc.

Ing. Jiří Kukačka, Ph.D.

Prof. MUDr. Jaroslav Masopust, DrSc.

MUDr. Kateřina Mrázová

Prof. MUDr. Richard Průša, CSc.

Ing. Drahomíra Springer

MUDr. Hundie Tesfaye, Ph.D.

RNDr. Jiří Zadina, CSc.

## Obsah

Preanalytická fáze laboratorního vyšetření	5
Principy imunochemických metod	13
Vyšetření vnitřního prostředí	17
Diseminovaná intravaskulární koagulopatie	34
Ledviny, močové cesty	37
Urolitiáza	48
Lipidy	51
Laboratorní vyšetření štítné žlázy	55
Markery stavu výživy, albumin, stopové prvky	60
Malabsorpční syndrom a celiakie	62
Funkční vyšetření v gastroenterologii	65
Likvorologické kazuistiky	68
Kardiální markery	70
Biochemické markery zánětu	79
Nádorové markery	85
Laboratorní vyšetření zneužívaných a návykových drog	97
Terapeutické monitorování léčiv	106
Point-of care testing (POCT)	119
Možnosti instrumentální analýzy v klinické biochemii	122
Komplexní kazuistika – diabetické koma	124
Soubor kazuistik	128
Přílohy	145

# Preanalytická fáze laboratorního vyšetření

## Karel Kotaška

Množství faktorů preanalytické fáze může významným způsobem ovlivnit výsledek vyšetření. Vlastní preanalytický proces začíná indikací požadovaného vyšetření a přípravou pacienta k odběru. Po odběru je vzorek biologického materiálu dopraven do laboratoře, kde je buď přímo analyzován, nebo je nejprve před vlastní analýzou vhodně upraven (např. centrifugace vzorku sloužící k oddělení séra nebo plazmy) tak, aby jej bylo možné analyzovat. Řada těchto kroků obsahuje velké množství faktorů, které mohou ovlivnit konečný výsledek vyšetření.

Zdroje preanalytické variability lze charakterizovat jako zdroje ovlivnění výsledků vyšetření, které se vyskytují:

### **před odběrem biologického materiálu**

- biologické faktory ovlivnitelné  
hmotnost, životní styl, dietní návyky, fyzická zátěž, vliv léků, kouření, mechanické trauma, stres
- neovlivnitelné  
etnikum, pohlaví, věk, gravidita, intraindividuální variabilita, biorytmy

### **při odběru biologického materiálu**

načasování odběru krve, poloha při odběru, výběr místa odběru, použití turniketu, vliv cvičení paží, vliv lokálního metabolismu, hemolýza, vliv protisrážlivých činidel, kontaminace dezinfekčním činidlem, intersticiální tekutinou či infuzí

### **mezi odběrem biologického materiálu a analýzou**

vliv srážení, vliv konzervačních látek, vliv gelových separátorů, vliv materiálu odběrové nádoby, vliv separace elementů, transport a skladování materiálu, vliv chladových protilátek

## **Zdroje preanalytické variability před odběrem**

### **Neovlivnitelné biologické faktory preanalytické variability**

#### **Etnikum, pohlaví, věk, genetické faktory, gravidita**

Různé etnické skupiny mají odlišné některé metabolické cesty, ale také množství svalové hmoty (např. černoši až dvojnásobná aktivita kreatinkinázy, asiáté vyšší aktivita slinné amylázy).

Odlišné hodnoty u různých pohlaví se projevují především od nástupu puberty. Jsou popisovány nejen rozdíly v koncentracích pohlavních hormonů a jejich metabolitů (testosteron, estrogeny), ale i rozdíly v koncentracích jaterních enzymů (ALT, AST, ALP), kreatinkinázy, močoviny, hemoglobinu, ferritinu, železa, kyseliny močové, imunoglobulinu M, haptoglobinu, ceruloplasminu, lipoproteinů. Všeobecně jsou u řady analytů o něco vyšší normální hodnoty u mužů.

Rozdíly v koncentracích, aktivitách či počtech komponent se mění s věkem. Koncentrace IgM a IgA lineárně stoupá od narození v souvislosti s jejich syntézou v organismu novorozence. Koncentrace bilirubinu se zvyšuje po porodu v důsledku rozpadu erytrocytů a k následné normalizaci hladin dochází během několika týdnů. Aktivita alkalické fosfatázy je vysoká v dětství (maximum mezi 10 – 16 rokem), pak prudce klesá. Vysoké hodnoty ALP v pozdějším věku mohou znamenat výrazně patologický nález.

Genetické faktory mohou ovlivnit koncentrace některých analytů. Heterozygotní nosiči některých genů mohou mít hladiny některých analytů zvýšeny nebo sníženy, i když se u nich neprojevuje žádné klinické onemocnění (např. heterozygoti fenylketonurie mají zvýšené hladiny fenylalaninu při dietě bohaté na bílkoviny).

Těhotenství znamená výraznou změnu biochemických dějů. V graviditě dochází ke zvýšení koncentrací hormonů (hCG, estriol, lidský placentární laktogen) a plazmatických transportních proteinů (tyroxin, ceruloplasmin, měď), zvýšení tělesného objemu (clearance kreatininu), zvýšení proteinů akutní fáze, zvýšení sedimentace erytrocytů. Jsou popsány i změny v hladinách koagulačních faktorů a markerů fibrinolýzy (zvýšení hladiny fibrinogenu, faktorů VII, VIII, X, XII a snížení hladiny faktorů XI a XIII a proteinu S).

#### **Biorytmy, intraindividuální variabilita**

Stanovení řady parametrů vykazuje pravidelné cyklické změny v průběhu dne (cirkadiánní variace), v průběhu týdnů (menstruační cyklus) i v průběhu roku (cirkanuální, sezónní variace). AST, ALT a triglyceridy mají v průběhu roku svá maxima a minima s výchytkou více než 5 %. Cirkadiánním změnám podléhají i běžné

analyty (železo – koncentrace Fe v séru může být odpoledne až o 30 % nižší než dopoledne, kolísání hodnot cholesterolu, K<sup>+</sup>, fosfátu v séru je větší v průběhu dne než ze dne na den). Celková bílkovina a koncentrace albuminu se v delších časových úsecích mění asi o 30 %. Významnými cirkadiánními změnami procházejí zejména některé hormony. Maximální sekrece růstového hormonu je ve spánku (krátce po půlnoci). Hladiny kortizolu jsou maximální v ranních hodinách (mezi 5. a 8. hodinou) a minimální večer (mezi 21. – 3. hodinou) s výchylkou až 250 %. Jiné analyty (ALT, AST, LD, ALP, T4, prolaktin) vykazují denní odchylky v řádu desítek procent.

## **Ovlivnitelné biologické faktory preanalytické variability**

### **Hmotnost, životní styl, fyzická zátěž, dieta, kouření**

Nadměrná hmotnost organismu pozitivně ovlivňuje koncentrace LDL cholesterolu, kyseliny močové, kortizolu a inzulinu. Při prolongovaném lačnění (více než 24 hodin) může dojít u pacientů s Gilbertovým syndromem ke zvýšení hladin sérového bilirubinu až o 240 %, hladovění až 72 hodin může vyvolat pokles hladiny krevní glukózy až na 2,5 mmol/l a výrazný vzestup hladin triacylglycerolů, mastných kyselin a volného glycerolu.

Bezprostřední přívod potravy se projeví na zvýšení koncentrací glukózy, železa, lipidů a ALP. Strava bohatá na proteiny zvyšuje koncentraci močoviny v krevním séru, dieta bohatá na tuky sníží pool dusíku a kyseliny močové a zvýší koncentraci triacylglycerolů, strava bohatá na cukry zvýší hladiny ALP a LD a sníží cholesterol a celkovou bílkovinu.

Kouření ovlivňuje hladinu analytů především v důsledku působení nikotinu na některé metabolické děje (metabolismus glukózy, lipidů). Kouření zvyšuje hladinu cholesterolu, triacylglycerolů, olova, kadmia, CEA, karboxylhemoglobinu a thiokyanátu a snižuje koncentraci imunoglobulinů a vitamínu B12.

Při akutním abúzu alkoholu dochází ke zvýšení hladin triacylglycerolů, aldosteronu, snižují se hodnoty prolaktinu, antidiuretického hormonu a kortizolu. Při chronickém abúzu alkoholu se zvyšují hladiny ALT, GMT, AST, kortizolu, estradiolu a adrenalinu, při dlouhodobém abúzu alkoholu se projevuje hypoglykemie, laktátová acidóza a stoupají koncentrace kyseliny močové.

### **Mechanické trauma, stres, léky**

Příkladem ovlivnění výsledků mechanickým traumatem mohou být zvýšené plazmatické koncentrace PSA po digitálním vyšetření prostaty, po jízdě na kole či při obstipaci, nebo zvýšené hodnoty myoglobinu, CK, AST, ALT při svalových traumatech. Při mechanických traumatech dochází ke zvýšení hladin fibrin/fibrinogen degradačních produktů (FDP, D-dimery).

Stresové situace zvyšují hladiny reninu, aldosteronu, somatotropinu, katecholaminů, glukagonu, prolaktinu, paratyriu a dalších hormonů. Pooperační stres snižuje tyreoidální hormony, transferin, a zvyšuje hladiny ferritinu, faktoru VIII, von Willebrandova faktoru.

Léky mohou výrazně ovlivnit výsledky biochemických testů buď svým specifickým účinkem na organismus (indukce jaterních enzymů barbituráty a fenytoinem, glukokortikoidy naopak snižují produkci bílkovin a tím i hladiny jaterních enzymů), nebo interferencí při chemické analýze (amiodaron ovlivňuje stanovení tyreoidálních hormonů, acylpyrin dává pozitivní Benediktovu reakci na glykosurii), některé léky mají hepatotoxické či neurotoxické účinky a mohou tak ovlivnit výsledek příslušného vyšetření.

## **Zdroje preanalytické variability při odběru biologického materiálu**

### **Načasování odběru, poloha pacienta, použití turniketu, vliv cvičení paží, výběr místa odběru**

Odběr krve je nejčastěji zatížen chybami, které mohou významným způsobem ovlivnit výsledky stanovení. Vlastní odběr může být ovlivněn dobou odběru (vliv chronobiologických cirkadiánních rytmů), polohou pacienta při odběru nebo typem odběrových zkumavek a technikou odběru.

Načasování odběru patří vzhledem k cirkadiánním rytmům některých analytů k velmi důležitým faktorům správného preanalytického postupu. Při monitorování léků je nutné určit čas odběru s ohledem na eliminační poločas. U léků s delším poločasem (více hodin až dnů) stačí odběr před další dávkou, u léků s krátkým poločasem (aminoglykosidová antibiotika) je nutné provést několik odběrů (čas peaku a čas před další dávkou, případně více odběrů pro určení plochy pod křivkou).

Poloha při odběru je významná a může ovlivnit koncentraci řady látek. Při poloze vstoje je koncentrace některých vysokomolekulárních látek – bílkovin asi o 10 % vyšší, dochází i k vzestupu koncentrací látek vázaných na proteiny – cholesterol, TCa, lipoproteiny, kortizol, tyroxin, léky. Některé hormony (aldosteron, renin, adrenalin) mají až o 50 % vyšší koncentraci při odběru vstoje, proto pro vyšetření těchto parametrů je nutný noční odpočinek vleže bez jakékoli změny polohy před odběrem.

Použití turniketu či nadměrné cvičení paží při odběru může mít za následek ovlivnění kvality vzorku. Při dlouhém

přiložení turniketů může docházet ke zvýšení koncentrací proteinů a látek na proteiny vázaných a k aktivaci hemostázy. Při výraznějším cvičení může dojít až k 10% zvýšení aktivity nebo koncentrace ALT, CK, bilirubinu, albuminu, cholesterolu, AST, vápníku, kreatininu, glukózy a dalších. Odběr krve by neměl být prováděn na místech z hematomem, velkými jizvami či z paže se zavedenou infuzí.

### **Vliv lokálního metabolismu, hemolýzy, protisrážlivých činidel, kontaminace dezinfekčním činidlem či infuzí**

Lokální metabolismus v místě odběru ovlivňuje zejména ukazatele acidobazické rovnováhy. Hypoxie zvyšuje koncentraci laktátu, snižuje pH a zvyšuje pCO<sub>2</sub>.

Mírná hemolýza má malý efekt na laboratorní testy, avšak střední až masivní hemolýza ovlivní koncentrace řady analytů (zvýšení K<sup>+</sup>, LD, AST, Mg, HDL-cholesterol, CK, ACP, snížení GMT, ALP, amylázy). Uvolněný hemoglobin interferuje zejména u fotometrických stanovení.

Pro základní laboratorní vyšetření se nejčastěji využívá krevní sérum, plazma či plná krev. Mezi těmito biologickými materiály jsou určité rozdíly ve složení, a proto je nutné vzhledem k jejich charakteru a prováděným vyšetřením používat v odběrových nádobkách různá antikoagulační činidla. Mezi běžně používaná antikoagulační činidla patří heparin, EDTA, citrát sodný, oxaláty. Je nutné správně používat poměr antikoagulačního činidla a množství odebrané krve. Častým zdrojem chyb je i volba nevhodného protisrážlivého činidla (heparin nelze použít při vyšetření koagulace a může mít vliv na stanovení Na<sup>+</sup>, Li a amoniaku, protože se užívá ve formě sodné, lithné či amonné soli, citrát sodný není vhodný ke stanovení vápníku, EDTA může mít vliv na některé metody stanovení vápníku a železa, fluorid sodný se používá jako stabilizační činidlo ke stanovení glukózy).

Ke kontaminaci dezinfekčním činidlem či intersticiální tekutinou může docházet zejména při odběru kapilární krve, je-li plocha kontaminované kůže v kontaktu s kapkou kapilární krve. Při podávání infuzí se nedoporučuje odběr krve z katétru ani z paže, do které je infuze vedena. Příčinou kontaminace může být zředění vzorku aplikovanou infuzí, což se může projevit často několikanásobným zvýšením koncentrací analytů, které jsou přítomny v infuzi ve vysoké koncentraci, dilucí analytů s typickou koncentrací v plazmě, či interferencí s analytickou metodou, což se týká zejména interference podávanými léky. Je proto doporučeno provádět odběr z druhé končetiny nebo z opačné strany, než je infuze zavedena.

## **Zdroje preanalytické variability mezi odběrem a vlastní analýzou**

### **Vliv srážení, konzervačních látek, vliv gelových separátorů**

Vliv srážení a konzervačních látek se uplatňuje zejména při provádění koagulačních vyšetření. Může docházet zejména k interferencím s analytickou metodou, ke změnám matrice vzorku. Pro odběr materiálu na koagulační vyšetření je nutno použít odběrové nádoby s nesmáčivým povrchem (plast, silikonové sklo).

Gelové separátory jsou tvořeny inertním silikonovým nebo polyesterovým gelem, který po centrifugaci v důsledku stoupající viskozity vytvoří nepropustnou bariéru mezi sérem a sraženinou s krevními elementy. Gely jsou neúčinnější při teplotách 20 – 25 °C, při nižších teplotách mohou být separační vlastnosti gelu porušeny. Hlavním možným způsobem interference gelových separátorů je adsorpce specifických analytů (tricyklická antidepresiva, antiarytmika, peptidové hormony, progesteron, lidokain, karbamazepin, fenytoin, pentobarbital), které mohou způsobit falešně nižší koncentrace v séru či plazmě. Problémem gelů je také nestabilita šarží.

### **Vliv materiálu odběrové nádoby, vliv separace elementů, transport a skladování materiálu, vliv chladových protilátek**

Některé látky (léky, kortikotropin) se vážou na sklo, proto je nutné jejich odběr provádět do plastových odběrových nádobek.

Nedostatečná separace elementů centrifugací může vést zejména u vyšetření hemostázy k falešně negativním výsledkům.

Transport materiálu by měl být šetrný, rychlý a měl by probíhat při optimální teplotě. Po odběru je nutné materiál co nejrychleji dopravit do laboratoře při pokojové teplotě. Některé analyty (kyselá fosfatáza, amoniak, homocystein, ACTH, analyty acidobazické rovnováhy) musí být transportovány při teplotě 4 °C na ledové tříšti, některé analyty musí být transportovány v tmavých nádobách, aby se zabránilo přístupu světla (porfyriny, vitamín E, beta-karoten).

Skladování materiálu při různých teplotách závisí na stabilitě analytu a době provedení analýzy. Pokud je vzorek zpracován do 24 – 48 hodin po odběru, maximálně do týdne, postačí jeho skladování při teplotě 4 °C. Pro dlouhodobé skladování proteinů je vhodná teplota -20 °C až -80 °C. Materiál je nutno důkladně uzavřít, aby nedocházelo k jeho odpařování a eventuální mikrobiální kontaminaci. Pro dlouhodobý sběr moči se často používá konzervačních činidel.

<b>Vzestup</b>	<b>(%)</b>	<b>Pokles</b>	<b>(%)</b>
Celková bílkovina	4,9	K <sup>+</sup>	6,2
Železo	6,7		
Lipidy	4,7		
Celkový cholesterol	5,1		
AST	9,3		
Bilirubin	8,4		

Tabulka 1: Změna složení séra při venózní okluzi prodloužené z 1 minuty na 3 minuty

<b>Vyšší koncentrace v plazmě</b>	<b>(%)</b>	<b>Stejně koncentrace v séru i plazmě</b>	<b>Nižší koncentrace v plazmě</b>	<b>(%)</b>
Vápník	0,9	Bilirubin	Albumin	1,3
Chloridy	0,2	Cholesterol	ALP	1,6
LD	2,7	Kreatinin	AST	0,9
Celková bílkovina	4,0		CK	2,1
			Glukóza	5,1
			Fosfáty	7,0
			K <sup>+</sup>	8,4

Tabulka 2: Rozdíly ve složení plazmy a séra

<b>Vyšší koncentrace v kapilární krvi</b>	<b>(%)</b>	<b>Stejně koncentrace v séru i kapilární krvi</b>	<b>Nižší koncentrace v kapilární krvi</b>	<b>(%)</b>
Glukóza	1,4	Urea	Bilirubin	5,0
K <sup>+</sup>	0,9	Fosfáty	Vápník	4,6
			Chloridy	1,8
			Na <sup>+</sup>	2,3
			Celková bílkovina	3,3

Tabulka 3: Rozdíly ve složení kapilární a venózní krve

<b>Analyt</b>	<b>Vzrůst v %</b>
ALT	7
Albumin	9
ALP	7
AST	5
Vápník	3
Cholesterol	7
IgA, IgG	7
IgM	5
Tyroxin	11
Triacylglyceroly	6
Erytrocyty	15
Hematokrit	12
Adrenalin	50
Renin	60
Noradrenalin	75

Tabulka 4: Rozdíly u vybraných analytů při změně polohy z lehu do sedu



<b>Pokles</b>	
Do 40 %	Lp (a), ACE
Do 20 %	Prolaktin
Do 10 %	selen, HDL, cholesterol
<b>Vzestup</b>	
Do 15 %	fibrinogen, měď
Do 20 %	triacylglyceroly
Do 30 %	kadmium, olovo, monocyty, lymfocyty, volné mastné kyseliny monocyty, lymfocyty
Do 60 %	CEA
Až 10násobné zvýšení – růstový hormon*	

**Tabulka 5: Změny složení séra kuřáků**

\* během 30 minut po vykouření jedné cigarety

<b>Enzym</b>	<b>Změna v %</b>
CK	76
AST	50
Izoenzymy LD	10 – 20

**Tabulka 6: Změny vybraných enzymů po traumatu (chirurgický výkon)**

<b>Analyty</b>	<b>Maximum</b>	<b>Minimum</b>	<b>Odchylka v %</b>
ACTH	6 – 10 h	0 – 4 h	150 – 200
Kortizol (v séru i moči)	5 – 8 h	21 – 3 h	180 – 200
Somatotropin	21 – 23 h	1 – 21 h	300 – 400
Prolaktin	5 – 7 h	10 – 12 h	80 – 100
Aldosteron	2 – 4 h	12 – 14 h	60 – 80
Renin	0 – 6 h	10 – 12 h	120 – 140
Adrenalin (v séru)	9 – 12 h	2 – 5 h	30 – 50
Noradrenalin (v séru i moči)	9 – 12 h	2 – 5 h	50 – 120
Na <sup>+</sup> (v moči)	4 – 6 h	12 – 16 h	60 – 80
Fe (v séru)	14 – 18 h	2 – 4 h	50 – 70
Fosfáty (v moči)	18 – 24 h	4 – 8 h	30 – 40
<b>Sezónní variace</b>			
ALT	zima	jaro, léto	5
AST	jaro	podzim	12
Triacylglyceroly	jaro	podzim	5
Kreatinin	léto	zima	5

**Tabulka 7: Významné cirkadiánní a sezónní rozdíly vybraných analytů**

Test	Ovlivnění	Poznámky
ACP	↓/↑	hemolytická séra nelze použít
ALT	↑	hemolýza vadí, v erythrocytech 7krát vyšší aktivita
AST	↑↑	nelze použít hemolytické sérum, v erythrocytech 40krát vyšší aktivita
ALP	↑	hemolytická séra nelze použít, uvolnění fosfomonoesteráz z erythrocytů
AMS	(↓)	nevadí do koncentrace 2,5 g/l sérového hemoglobinu, vyšší koncentrace inhibují
Amoniak	↑	nelze použít, uvolňuje se NH <sub>3</sub>
Bilirubin	↓/↑	hemolýza vadí, Hb reaguje s NO <sub>2</sub> při tvorbě diazočinidla (snižuje)
CK	(↑)	interferuje svým zbarvením (zvyšuje), neruší do 2 g/l sérového hemoglobinu
CHS	↑/0	nelze použít při substrátu acetylcholin
Cholesterol	(↑)	neruší při použití enzymové metody do 2,0 g/l sérového hemoglobinu
Glukóza	(↑)	neruší do 1,0 g/l sérového (plazmatického) hemoglobinu, silnější hemolýza zvyšuje (glukózaoxidázová reakce bez deproteinace), při použití deproteinace naopak snižuje
GMT	↓	hemolýza vadí, aktivita v erythrocytech 7krát vyšší
Kreatinin	(↑)	hemolýza může uvolnit Jaffé-pozitivní chromogeny
Urát	(↓/↑)	při enzymové metodě neruší do 3,5 g/l sérového hemoglobinu
K <sup>+</sup>	↑↑	nelze použít hemolytické sérum, 23krát vyšší koncentrace v erythrocytech
Laktát	0	do 1 hodiny oddělit krevní koláč, nevadí do koncentrace plazmatického hemoglobinu 2,0 g/l
LD	↑↑↑	nelze použít, 160krát vyšší aktivita v erythrocytech
LPS	(↓/↑)	neruší do 2,0 g/l sérového hemoglobinu
Fosfát	(↓)	malý vliv
Protein	↑	žádný vliv do 0,5 g/l sérového hemoglobinu, vyšší koncentrace hodnoty zvyšují (zbarvením), použít slepou zkoušku
Triacylglyceroly	(↑)	nevadí do 2,0 g/l sérového hemoglobinu při použití enzymových metod
Urea	↓/↑	nepoužívat hemolytická séra při metodách ureáza-Berthelot
Vápník	0	neruší do 2 g/l sérového hemoglobinu
Železo	(↓/↑)	při metodě s bathofenanthrolinem bez deproteinace malý vliv (do 3,0 g/l sérového hemoglobinu), (Fe z hemoglobinu zde neruší reakci)
NSE	↑↑	nelze použít hemolytické sérum

Tabulka 8: Vliv hemolýzy na vybrané analyty

#### Vysvětlivky

Hemolýza hodnoty ↑ – zvyšuje, ↑↑ – výrazně zvyšuje, (↑) – má jen malý vliv, 0 – neruší, ↓ – snižuje výsledky, ↓/↑ – možné zvýšení i snížení hodnot

## Kazuistiky

### Interference antikoagulačním činidlem

Pacient, 5letý chlapec, byl přijat k rutinní preventivní prohlídce. Velmi malé množství vzorku (1 ml) odebráno do 10 ml zkumavky s antikoagulačními činidly, po stočení nebylo sérum hemolytické, ikterické ani chylózní.

#### Výsledky vyšetření:

Sérum	
Ca celkový	nelze změřit (velmi nízký výsledek pod detekčním limitem 0,01 mmol/l)
Tyreoglobulin	15,85 ug/l
Fosfáty	1,47 mmol/l
PTHi	7,03 pmol/l
K <sup>+</sup>	> 10 mmol/l – výsledek nelze vydat
Kalcitonin	34 ng/l

Podle informací lékaře se jednalo o klinicky zdravého pacienta a není tedy důvod pro tak nízkou hodnotu celkového Ca a vysokou hladinu kalia.

Pro vyloučení laboratorní chyby bylo v laboratoři provedeno i vyšetření hladiny celkového Mg<sup>2+</sup> v séru, které nebylo lékařem požadováno. Hodnota Mg<sup>2+</sup> byla stanovena jako velmi nízká (pod detekčním limitem).

#### Hodnocení:

Pravděpodobným důvodem falešně nízkých koncentrací Ca celkového Mg<sup>2+</sup> a vysoké koncentrace K<sup>+</sup> byla interference těchto analytů s antikoagulačním činidlem. Nejčastěji používaná antikoagulační činidla heparin, EDTA, citrát a oxalát vážou ionty (Na<sup>+</sup>, Ca<sup>2+</sup>, Mg<sup>2+</sup>) prostřednictvím chelátové vazby, což může mít za následek falešně nižší výsledky stanovení vápníku a hořčíku při fotometrickém stanovení v séru či plazmě. EDTA se nejčastěji využívá ve formě draselné soli K<sub>2</sub>-EDTA. V našem případě pravděpodobně došlo v důsledku nesprávné koncentrace K<sub>2</sub>-EDTA připravené výrobcem k uvolnění K<sup>+</sup> z vazby na EDTA a tím k falešnému zvýšení koncentrace K<sup>+</sup> v séru.

### Vliv dlouhodobého skladování na hladinu sérového kalia

Pacient bez klinických příznaků ambulantně léčen pro hypotyreózu.

#### Výsledky:

U pacienta byla stanovena hladina sérového kalia K<sup>+</sup> = 8,2 mmol/l. Vyšetření bylo provedeno opakovaně ze stejného vzorku. Bylo zjištěno, že vzorek byl odebrán ve středu ve 14:00 hodin, do laboratoře byl vzorek doručen ve čtvrtek v 8:45 hodin, sérum nebylo hemolytické.

#### Hodnocení:

Vysoká koncentrace sérového kalia vznikla jako důsledek uvolnění K<sup>+</sup> z erytrocytů, trombocytů a koagula (intracelulární koncentrace je 160 mmol/l) při úpadku energetického metabolismu vlivem skladování odebraného vzorku přes noc při pokojové teplotě.

### Vliv trombocytózy na hladinu sérového kalia

#### Výsledky vyšetření:

Sérum: K<sup>+</sup> = 6,9 mmol/l, stanovení bylo provedeno opakovaně ze stejného vzorku, nebyla prokázána hemolýza. Odběr proveden do zkumavky bez antikoagulačních činidel a bez separačního gelu v 7:40 hodin, do laboratoře doručen v 8:10 hodin a v 8:30 bylo vyšetření provedeno. Hematologickým vyšetřením byla zjištěna výrazná trombocytóza (1,15 x 10<sup>6</sup> částic).

#### Hodnocení:

Trombocytóza významně falešně zvyšuje koncentraci sérového K<sup>+</sup>. Bylo doporučeno provést stanovení K<sup>+</sup> z plazmy. Hladina plazmatického K<sup>+</sup> byla 4,6 mmol/l.

### **Interference léků**

73letý muž po levostranné nefrektomii před 10 lety byl přijat do nemocnice s bolestmi v břiše. Vzorek jeho séra byl odeslán do laboratoře a byla stanovena diagnóza akutní pankreatitidy. Biochemické vyšetření provedená na analyzátoru Vitros 750 dále prokázala hyperuremii (S-urea = 22,5 mmol/l) a nízkou hodnotu sérového kreatininu (S-kreatinin = 22 umol/l). Diuréza byla 2600 ml.

Vzhledem k významné diskrepanci hodnot urey a kreatininu v séru bylo provedeno stanovení kreatininu na analyzátoru IL Monarch Jaffého reakcí a koncentrace kreatininu byla 176 umol/l.

Pacientovi bylo v rámci léčby podáváno intravenózně spasmolytikum Algifen ve vysokých dávkách, obsahujících 500 mg metamizolu v 1 ml.

Bylo vysloveno podezření na interferenci metamizolu při stanovení kreatininu enzymatickou metodou (kreatináza, sarkosinoxidáza, peroxidáza) využívající principu suché chemie na analyzátoru Vitros 750.

### **Ověření hypotézy:**

Byla připravena řada vzorků s různou koncentrací metamizolu 0 – 1000 mg/l a hladina sérového kreatininu byla měřena paralelně Jaffého reakcí a enzymatickou metodou. Koncentrace kreatininu stanovená Jaffého reakcí byla ve všech vzorcích stejná (95 umol/l), zatímco koncentrace kreatininu stanovená enzymatickou metodou významně klesala s rostoucí koncentrací metamizolu přidaného do vzorku (pokles hladiny sérového kreatininu až na hodnotu 29 umol/l při přidání koncentrace metamizolu 1000 mg/l).

### **Hodnocení:**

Byla prokázána interference metamizolu při stanovení sérového kreatininu enzymatickou metodou.

# Principy imunochemických metod

## Karel Kotaška

### Základní charakteristiky imunochemických reakcí

Imunochemická reakce je specifická reakce založená na interakci mezi antigenem a protilátkou. Specifita vazby antigenu s protilátkou je důsledkem komplementarity povrchových struktur antigenu a protilátky v místě kontaktu. O specifitě interakce mezi antigenem a protilátkou rozhoduje protilátka. Polyklonální protilátky jsou protilátky s různou specifitou, afinitou a intenzitou reakce zaměřené proti různým vazebným místům (epitopům) antigenu. Při obsazování vazebných míst na protilátce je podstatné, jak jsou si jednotlivé antigeny navzájem podobné. Polyvalentní antigeny mohou mít stejné antigenní determinanty a způsobovat křížovou reakci, která je dána poměrem velikosti asociačních konstant protilátky s interferujícím antigenem a protilátky s měřeným antigenem. Monoklonální protilátky jsou produkty jednoho klonu plazmatické buněčné linie, které jsou zaměřeny proti jedinému epitopu antigenu, mají vyšší specifitu a afinitu ke studovanému antigenu než polyklonální protilátky.

Jsou popsána dvě základní uspořádání imunochemických reakcí. V prvním uspořádání se protilátka chová jako reakční činidlo, které detekuje specifický antigen, ve druhém uspořádání je reakčním činidlem antigen sloužící k detekci a kvantifikaci specifické protilátky.

### Imunochemické metody

Výběr metody sloužící ke stanovení protilátky či antigenu záleží na řadě charakteristik (velikost, tvar, počet, struktura antigenních determinant, koncentrace). Obecně nejpoužívanější imunochemické metody využívají 3 základní principy: přímé stanovení, nepřímé stanovení a stanovení založené na specifickém značení antigenu či protilátky.

#### Přímé stanovení

Imunochemické metody využívající přímého stanovení antigenů a protilátek jsou založeny na tvorbě imunitního komplexu (precipitátu) vzniklého reakcí mezi antigenem a nadbytkem protilátky. Tvorba imunitního komplexu u přímých stanovení probíhá dle Heidelberger-Kendallové křivky (viz obrázek 1). Při nadbytku protilátek se vytvářejí rozpustné imunitní komplexy a koncentrace komplexu (precipitátu) měřitelná jako intenzita odraženého světla (imunonefelometrie) nebo intenzita rozptýleného světla (imunturbidimetrie) je pak úměrná koncentraci stanovovaného antigenu. Při dosažení zóny ekvivalence se vytvářejí nerozpustné imunitní komplexy. Při velkém nadbytku antigenu klesá tvorba imunitních komplexů a tedy i intenzita měřeného signálu, což může mít za následek podhodnocení skutečné koncentrace stanovovaného antigenu, a původní vzorek je nutné naředit tak, aby koncentrace antigenu byla v oblasti před zónou ekvivalence precipitační Heidelberger-Kendallové křivky (viz obrázek 1). Mezi imunochemické metody využívající přímé stanovení patří precipitační techniky (radiální imunodifuze, imuno elektroforéza), a techniky pro měření odraženého nebo rozptýleného světla (imunonefelometrie, imunturbidimetrie).

#### Nepřímé stanovení

Metody využívající nepřímého stanovení jsou založeny na aglutinační reakci antigenu s protilátkou vázanou na latexových mikročasticích. Mezi imunochemické metody využívající nepřímé stanovení patří např. metody latexové aglutinace nebo hemaglutinace.

#### Metody založené na specifickém značení antigenu nebo protilátky

Metody založené na specifickém značení antigenu nebo protilátky se využívají zejména pro stanovení velmi malých koncentrací antigenů. Antigeny nebo protilátky jsou značeny fluoroforem (imunofluorescenční metody), radioaktivním substrátem (radioimunoanalytické metody) nebo chemiluminiscenčně (luminiscenční metody).

## Další dělení imunochemických metod

### Heterogenní a homogenní imunoanalytické metody

Imunochemické metody lze rozdělit na heterogenní metody, které vyžadují separaci volné a vázané frakce analytu a homogenní (nevyžadující tuto separaci).

Heterogenní imunoanalýzy lze rozdělit na kompetitivní a nekompetitivní:

#### Heterogenní

##### Kompetitivní

- se značeným antigenem
- se značenou protilátkou

##### Nekompetitivní (sendvičová)

- se značenou protilátkou

#### Homogenní

- pro stanovení malých molekul
- pro stanovení makromolekul

### Heterogenní kompetitivní metody se značeným antigenem

Hlavním principem heterogenních kompetitivních metod se značeným antigenem je soutěživá reakce mezi stanoveným množstvím různě značeného antigenu (konjugátu) a antigenu ve vzorku o omezený počet vazebných míst na protilátce. Po separaci volné a na protilátku vázané frakce proběhne detekční enzymatická reakce. Změřením koncentrace vzniklého produktu (nebo úbytku substrátu) lze stanovit hladinu analytu. Odezvový signál může být přímo ale také nepřímě úměrný koncentraci analytu (záleží na tom, zda se měří volná nebo vázaná frakce, a rovněž záleží na povaze substrátu).

Nejčastějším formátem kompetitivních metod jsou metody radioizotopové analýzy (RIA), ve kterých je antigen značen některým radioaktivním izotopem (viz obrázek 2).

### Heterogenní kompetitivní metody se značenou protilátkou

V případě heterogenních kompetitivních metod se značenou protilátkou musí být antigen navázán na pevnou fázi. Při kompetitivní reakci s antigenem v neznámém vzorku se ustaví rovnováha. Nenavázaný konjugát je odstraněn z reakční směsi promytím a konjugát vázaný na pevné fázi je inkubován s enzymovým substrátem. Je možné měřit i volnou frakci nenavázaného konjugátu. Detekce může být podle typu substrátu fotometrická, fluorometrická nebo luminometrická.

### Heterogenní nekompetitivní (sendvičová) imunoanalýza

Hlavním principem heterogenní sendvičové imunoanalýzy je využití dvojice protilátek proti dvěma různým antigenním determinantám analytu. Na jednu z protilátek je kovalentně navázán enzym. Druhá protilátka bývá navázána na pevnou fázi. Po ustavení rovnováhy se vytváří sendvič a následuje odstranění nenavázaného konjugátu. Po přidání substrátu je výsledný produkt kvantifikován. Podle toho, kterou frakci konjugátu použijeme k měření a o jaký substrát se jedná, je koncentrace analytu přímo nebo nepřímě úměrná odezvěovému signálu (fotometrie, luminometrie, fluorometrie).

Metody heterogenní nekompetitivní imunoanalýzy nejsou univerzálně použitelné, protože vyžadují analyt se dvěma odlišnými antigenními determinantami, ale jsou citlivější a specifitější než metody kompetitivní. Nejčastějším formátem nekompetitivních sendvičových imunoanalýz jsou metody enzymové imunoanalýzy (ELISA – enzyme linked immunosorbent assay) (viz obrázek 3).

## Interference v imunochemických analýzách

Interference ovlivňující vazbu antigen - protilátka u kompetitivních metod mohou způsobit falešně zvýšené hodnoty analýz, zatímco u sendvičových metod způsobují falešně negativní hodnoty výsledků.

### Hook efekt

Hook efekt je nejčastějším problémem řady sendvičových imunoanalýz. Je důsledkem saturace vazebných míst značené protilátky vysokými koncentracemi antigenu. Přebytný antigen se váže na volnou značenou protilátku, která se tak nemůže vázat na komplex antigen-protilátka a vytvořit tak sendvičové uspořádání. V důsledku saturace vazebných míst značené protilátky dochází k poklesu signálu a výsledek stanovení je nižší, než je skutečná koncentrace antigenu ve vzorku. Hook efekt tedy způsobuje pokles signálu při zvýšení koncentrace antigenu. Hook efekt může být odstraněn odpovídajícím ředěním vzorku. Nejčastěji je Hook efekt popisován při stanovení hCG.

### Heterofilní protilátky

Heterofilní protilátky jsou protilátky proti imunoglobulinům různých živočišných druhů. Pacienti, u nichž byla užitá k diagnostickým nebo terapeutickým účelům myši (eventuálně i jiná zvířecí) protilátka, mohou mít v séru

specifické heterofilní protilátky např. HAMA (Human Anti-Mouse Antibodies). Tyto protilátky mohou reagovat s myšími monoklonálními protilátkami v některých imunochemických analýzách. V sendvičových testech se dvěma monoklonálními protilátkami se heterofilní protilátky vážou do jiného vazebného místa, než kam se váže sledovaný analyt, vytvářejí křížovou reakci se značenou protilátkou a tím ovlivňují výsledný signál a zkreslují výsledek stanovení. Problém interference heterofilních protilátek je obvykle řešen na úrovni výrobce, odstranění jejich vlivu lze např. dosáhnout přidávkem myšího IgG nebo nespecifických imunoglobulinů do reakce.

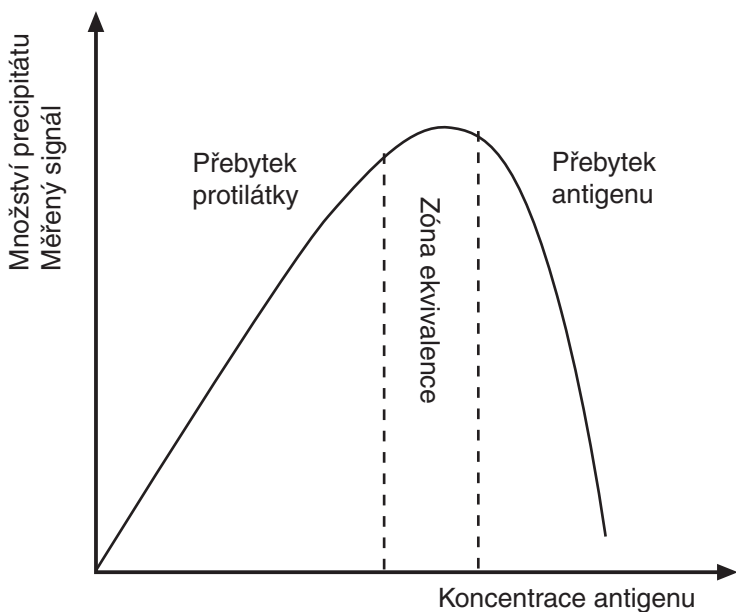
### Autoprotilátky

Autoprotilátky proti hormonům štítné žlázy významně interferují při stanovení tyroidálních hormonů. Značený hormon se specificky váže na protilátku a dochází k falešnému poklesu či vzestupu změřených koncentrací tyroidálních hormonů. Falešně nižší hodnoty jsou zaznamenány u přímých kompetitivních imunoanalýz využívajících jednu protilátku, falešně vyšší hodnoty jsou zaznamenávány u kompetitivních imunoanalýz využívajících dvě protilátky. U homogenních nekompetitivních imunoanalýz se interference protilátkami neuplatňuje, neboť v průběhu reakce jsou před přidáním značeného hormonu všechny možné interferující látky odmyty.

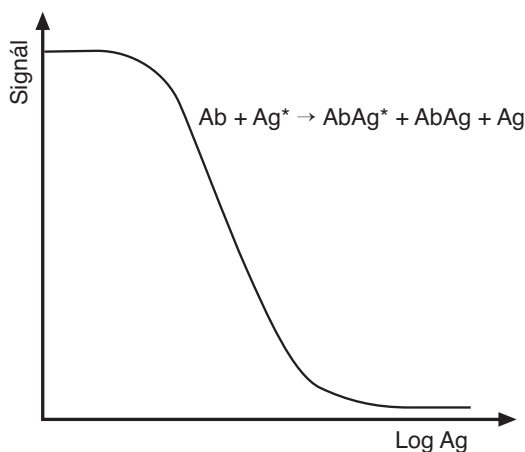
### Interference revmatoidního faktoru

Revmatoidní faktor je protilátka podobná IgM, která se může vázat na Fc fragment IgG. U některých imunoanalýz se může revmatoidní faktor chovat stejně jako heterofilní protilátky. Revmatoidní faktor může být eliminován ze vzorku přidáním reagentie, která jej může vyvázat z komplexu s IgG, a odstraněn odstředěním.

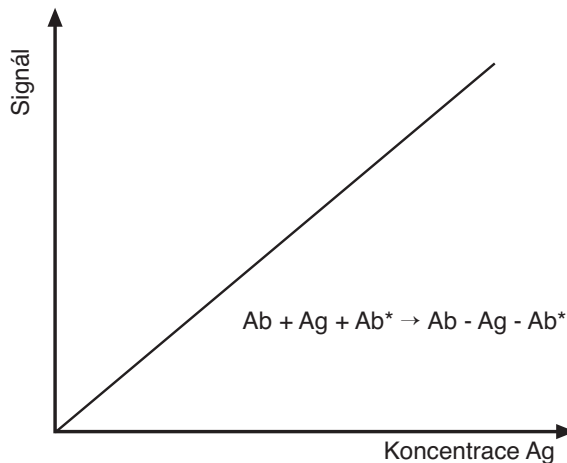
Obrázek 1: Precipitační Heidelberger-Kendalova křivka



Obrázek 2: Kompetitivní imunochemická reakce (RIA)



Obrázek 3: Nekompetitivní imunochemická reakce - sendvičový formát (ELISA)



## Kazuistiky

### Adenom přístítných tělísek

41letá žena odeslána obvodním lékařem do metabolické ambulance pro déletrvající bolesti kostí a páteře. V osobní anamnéze zlomenina v oblasti lokte. Trpí dlouhodobými bolestmi v zádech, otoky levé paže, bledostí. Velký váhový úbytek -13 kg/2 měsíce, často zvýšená teplota. Fyzikální vyšetření: suspektní exoftalmus, lehce hmatná štítná žláza, z rehabilitačního hlediska bolesti páteře bez výrazného objektivního nálezu, bez známek radikulární iritace, TK 135/85 mmHg.

### Výsledky vybraných biochemických vyšetření:

Sérum:		Moč	
Ca-celk.	2,28 mmol/l	U-urea	334,3 mmol/l
Ca <sup>++</sup>	1,23 mmol/l	U-kreatinin	21,7 mmol/l
TSH	1,600 mIU/l	U-CB	420 mg/l
Osteokalcin	13,30 ug/l	U-Ca	11,3 mmol/l
CTx	686,3 ng/l	U-DPD	9,60 nM/mM Cr
ALP kostní	9,31 ukat/l		
AST	0,24 ukat/l		
ALT	0,20 ukat/l		
GMT	0,16 ukat/l		
CK	2,30 ukat/l		
KM	193 umol/l		
kreatinin	63 umol/l		

### Hodnocení výsledků:

V séru normální hladina osteokalcinu stanovená chemiluminiscenční imunoanalýzou: S-osteokalcin – 13,3 ug/l (normální hodnoty 3,1 – 13,7 ug/l), normální hladina TSH (chemiluminiscenční imunoanalýza) = 1,6 mIU/l, (normální hodnoty 0,35 – 4,8 mIU/l).

V moči zvýšené hodnoty vápníku U-Ca – 11,3 mmol/l (normální hodnoty 2,4 – 7,2 mmol/l), zvýšené hodnoty celkové bílkoviny U-CB – 420 mg/l (normální hodnoty 20 – 80 mg/l), zvýšené hodnoty kreatininu U-krea – 21,7 mmol/l (normální hodnoty 5,7 – 14,7 mmol/l), a snížené hodnoty deoxypyridinolinu U-DPD – 9,6 nmol/mmol kreatininu (normální hodnoty 15 – 60 nmol/mmol kreatininu).

Indikováno vyšetření parathormonu (chemiluminiscenční imunoanalýza) – hladina parathormonu výrazně zvýšená – S-PTHi – 35 pmol/l (referenční meze 1,3 – 7,6 pmol/l).

### Diagnóza:

Jedná se pravděpodobně o primární hyperparatyreózu. Její příčinou by vzhledem k věku a průběhu onemocnění mohl být adenom přístítných tělísek. Další terapie je chirurgická.

V pooperačním období následuje úprava kalciumfosfátového metabolismu v metabolické ambulanci a event. léčba sekundární osteoporózy.

### Hook efekt

Muž 49 let, stěžující si na nedoslýchavost na levé ucho byl přijat na ORL. Biochemická vyšetření prokázala normální hodnoty nádorových markerů, prolaktinu a hormonů hypofýzy. Klinické vyšetření pomocí magnetické rezonance prokázalo masivní, invazivně rostoucí mozkový nádor, který byl histologicky potvrzen jako invazivní prolaktinom. Falešně nízká normální hodnota prolaktinu při vstupním biochemickém vyšetření byla způsobena poklesem signálu v důsledku přebytku antigenu. Tento jev může být odstraněn opakovaným ředěním vzorku. Biochemické vyšetření bylo provedeno opakovaně v sérii zředěných vzorků a byla stanovena hladina sérového prolaktinu 89700 ug/l.

Po chirurgické, onkologické a medikamentózní terapii (dopamin) došlo k poklesu hladin sérového prolaktinu pod horní referenční mez.



# Vyšetření vnitřního prostředí

## Richard Průša, Jaroslav Masopust

### Vyšetření pH, krevních plynů a met- a karbonyl-hemoglobinu

#### Vyšetřovaný materiál:

plná krev odebraná za anaerobních podmínek

#### Odběr:

Pro kapilární odběr se používá kapilára, která je uvnitř potažená heparinem. Po naplnění krví se do kapiláry vloží ocelový drátek, konce kapiláry se uzavřou a magnetem se krev důkladně promíchá. Přítomnost vzduchových bublin zcela znehodnocuje vyšetření.

Pro arteriální nebo venózní odběr se používá heparinizovaná injekční stříkačka. Po odběru je nutné okamžitě odstranit veškeré vzduchové bubliny, převrácením stříkačky krev důkladně promíchat a dobře vzduchotěsně uzavřít.

Pokud má pacient zavedenou kanylu nebo katétr, je nutné před odběrem nechat odtéci trojnásobné množství krve, aby nedošlo ke znehodnocení výsledků kontaminací infuzním roztokem.

#### Manipulace s materiálem (transport):

Vzorek je třeba okamžitě po odběru dopravit do laboratoře, transport při teplotě 2 – 6 °C (ledová tříšť), během přepravy nesmí dojít ke zmrznutí vzorku.

#### Referenční rozmezí:

Věk	pH	pCO <sub>2</sub> [kPa]	pO <sub>2</sub> [kPa]	akt. HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup> [mmol/l]
0 - 6 týdnů	7,330 - 7,490	3,56 - 5,37	8,00 - 10,10	7,2 - 23,6
6 týdnů - 1 rok	7,340 - 7,460	3,51 - 5,48	9,50 - 14,00	19,0 - 24,0
1 rok - 15 let (muži)	7,360 - 7,440	4,80 - 6,14	9,50 - 14,00	21,0 - 26,0
1 rok - 15 let (ženy)	7,360 - 7,440	4,40 - 5,73	9,50 - 14,00	21,0 - 26,0
15 let a více (muži)	7,360 - 7,440	4,80 - 6,40	9,50 - 14,00	20,1 - 26,0
15 let a více (ženy)	7,360 - 7,440	4,40 - 5,73	9,50 - 14,00	18,4 - 26,0

Věk	BE [mmol/l]	BBs [mmol/l]	sat. HbO <sub>2</sub>
0 - 6 týdnů	-10,0 - -2,0		0,40 - 0,90
6 týdnů - 1 rok	-6,6 - 0,2		0,92 - 0,98
1 rok - 15 let (muži)	-2,3 ± 2,3	42,1 - 53,9	0,92 - 0,98
1 rok - 15 let (ženy)	-2,3 ± 2,3	42,1 - 53,9	0,92 - 0,98
15 let a více (muži)	-2,3 ± 2,3	44,0 - 53,0	0,92 - 0,98
15 let a více (ženy)	-2,3 ± 2,3	44,0 - 53,0	0,92 - 0,98

#### Referenční rozmezí karbonylhemoglobinu a methemoglobinu:

karbonylhemoglobin: 0 – 0,020 rel.j. (podíl z celkového hemoglobinu)

methemoglobin: 0 – 0,015 rel.j. (podíl z celkového hemoglobinu)

#### Omezení a interference:

sražená krev, aerobní podmínky, zmrznutí vzorku

#### Indikace:

Poruchy kardiovaskulární, poruchy plicní, renální insuficience, diabetes mellitus, koma, intoxikace, poruchy gastrointestinálního traktu, poruchy elektrolytů (Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>, chloridů), poruchy funkce kůry nadledvin, peroperačně, dlouhodobá umělá plicní ventilace, hemodialýza, transfuze, dlouhodobá parenterální výživa.

#### Interpretace:

Respirační alkalóza: hyperventilace (strach, hysterie, sepse, horečka, úrazy hlavy a mozku)

Metabolická alkalóza: ztráty tekutin a elektrolytů (zvracení, diuretika, drenáže), nadměrný přísun alkalických látek (bikarbonátu), hyperaldosteronismus

Respirační acidóza: akutní a chronická respirační tíseň, obstrukce dýchacích cest cizím tělesem, bronchitida, bronchopneumonie, bronchospasmus při asthma bronchiale, intoxikace, úrazy hlavy a mozku, poliomyelitida, poruchy neuromuskulárního přenosu, svalové dystrofie, cystická fibróza, plicní edém, extrémní obezita

Metabolická acidóza: diabetická ketoacidóza, ketoacidóza z hladovění, laktátová acidóza (seps, šok, vrozené metabolické vady), intoxikace (kysličník uhelnatý, salicylát, metanol, etylenglykol), renální selhání, hypoaldosteronismus, průjem, ileostomie

## Ionizované kalcium

Ionizované kalcium je fyziologicky aktivní formou vápníku a jeho homeostáza je regulována příštitnými tělisky, kostmi, střevem a ledvinami. Je vhodnějším markerem než celkové kalcium.

### Referenční rozmezí:

Pro obě pohlaví	
0 – 6 týdnů	1,2 – 1,48 mmol/l
6 týdnů – 1 rok	1,2 – 1,38 mmol/l
1 – 15 let	1,2 – 1,38 mmol/l
15 – 60 let	1,13 – 1,32 mmol/l
60 – 90 let	1,16 – 1,29 mmol/l
> 90 let	1,20 – 1,32 mmol/l

### Indikace:

hraniční celkové kalcium, hypo- a hyper- kalcemie, dysproteinemie

### Interpretace:

Zvýšení: acidóza, hypoalbuminemie (při celkové normokalcemii), hyperparatyreóza (25 % pacientů má celkové kalcium v normě).

Snížení: respirační a metabolická alkalóza, při zvýšené hladině volných mastných kyselin (heparin, intravenózní podání lipidů, adrenalin, noradrenalin, alkohol, akutní pankreatitida, diabetická ketoacidóza, seps, akutní infarkt myokardu, hemodialýza), hypoparatyreóza, hypovitaminóza D, tuková embolie. Hypokalemie chrání pacienta před hypokalcemickou tetanií. Korekce hypokalemie bez korekce hypokalcemie může vyprovokovat tetanické křeče.

## Sodné ionty

Sodné ionty jsou hlavní extracelulární ionty, mají hlavní vliv na osmolalitu plazmy. Adjustace je řízena ADH a receptory žízně, aldosteron zajišťuje renální reabsorpci, ANP působí opačně. Změny v koncentraci Na<sup>+</sup> velmi často reflektují změny v rovnováze metabolismu vody, nikoliv sodných iontů. Hypernatremie většinou svědčí pro depleci vody, hyponatremie pod 130 mmol/l často svědčí pro hyperhydrataci.

### Referenční rozmezí:

Sérum		Moč (dU) (za 24 hodin)	
do 6 týdnů	136 – 146 mmol/l	0 – 6 měsíců	0 – 10 mmol
6 týdnů – 1 rok	137 – 146 mmol/l	6 měsíců – 2 roky	10 – 30 mmol
1 – 60 let	137 – 146 mmol/l	2 – 8 let	20 – 60 mmol
60 – 90 let	137 – 144 mmol/l	8 – 15 let	50 – 120 mmol
nad 90 let	132 – 146 mmol/l	15 – 60 let	120 – 220 mmol

### Indikace:

diagnostika, monitorování a léčba dehydratace a hyperhydratace

### Interpretace:

Hypernatremie: dehydratace, excesivní přívod (infuze, intoxikace kuchyňskou solí u kojenců, event. syndrom týraného dítěte), hyperaldosteronismus, hyperkortikalismus (iatrogenní, Cushingův syndrom a C. nemoc), jaterní insuficience, trauma lebky (mozku – poškození hypothalamu).

Hyponatremie: (ke snížení Na<sup>+</sup> v séru dochází u dospělých až po ztrátě minimálně 350 mmol), zvracení, průjem, ileostomie (ztáty až 600 mmol/den), polyurická fáze renálního selhání, diuretika (furosemid, thiazidy), adrenální insuficience, kongenitální adrenální hyperplazie, kongenitální adrenální hypoplazie, autoimunní adrenalitida, tuberkulóza nadledvin, hypoaldosteronismus, excesivní ztráty pocením při hrazení tekutin bez minerálů, intoxikace vodou, SIADH, CSWS, městnavé srdeční selhání.

## Draselné ionty

Draselné ionty jsou primárně intracelulární ionty, extracelulárně je méně než 2 %. Hladinu K<sup>+</sup> v séru je nutné posuzovat vždy vzhledem k pH krve, přibližně 0,6 mmol/l K<sup>+</sup> na 0,1 jednotky pH odchýlené od pH 7,4. Při aplikaci K<sup>+</sup> je nutno brát v úvahu funkci ledvin, schopnost ledvin vylučovat K<sup>+</sup>. Je třeba rozlišovat depleci draselných iontů v organizmu od snížení koncentrace v séru. Nedostatek tělového K<sup>+</sup> může být i při normokalemii, dokonce u přechodné hyperkalemie (diabetická ketoacidóza).

### Referenční rozmezí:

	Sérum	Moč (dU) (za 24 hodin)
do 6 týdnů	4,7 – 7,5 mmol/l	0 – 25 mmol
6 týdnů – 1 rok	4,0 – 6,2 mmol/l	15 – 40 mmol
1 – 15 let	3,6 – 5,9 mmol/l	20 – 60 mmol
15 – 60 let	3,8 – 5,0 mmol/l	35 – 80 mmol
60 – 90 let	3,9 – 5,3 mmol/l	
nad 90 let	3,6 – 5,5 mmol/l	

### Omezení a interference:

K analýze nelze brát hemolytické sérum, protože koncentrace kalia v erythrocytech je přibližně 20krát vyšší než v séru nebo plazmě a výsledek je zkreslený. Bilirubin do 513 umol/l a triacylglyceroly do 7,8 mmol/l neinterferují.

### Indikace:

Diagnostika a monitorování hyper- a hypo- kalemie za různých podmínek např. diabetické koma, renální selhání, těžká dehydratace, účinek různých léků. Diagnostika familiární hyperkalemické periodické paralýzy a hypokalemické paralýzy.

### Interpretace:

Hyperkalemie: pseudohyperkalemie (leukocyty více než 10<sup>5</sup>/ul, trombocyty více než 10<sup>6</sup>/ul), iatrogenní (draslík šetřící diuretika, draselné soli léků – penicilin, transfuze krve), diabetes mellitus, akutní renální selhání, hemolýza, poškození tkání (trauma), Addisonova choroba, hypoaldosteronismus, hypokortikalismus, kongenitální adrenální hyperplazie.

Hypokalemie: nadměrné ztráty trávicím ústrojím (průjmy, zvracení), renální tubulární acidóza, diuretika, chronické selhání ledvin v polyurické fázi, hyperaldosteronismus, hyperkortikalismus (Cushingův syndrom a nemoc, iatrogenní), infuze glukózy s inzulínem, terapie anaboliky (testosteronem), metabolická alkalóza (včetně Bartterova syndromu), excesivní pocení, excesivní ztráty slin pliváním (neurotici), bulimie a mentální anorexie, rozsáhlé popáleniny, familiární hyperkalemické periodické paroxysmální křeče (paralýza).

## Chloridy

Chloridy patří k hlavním extracelulárním iontům. Ačkoliv je známa velká skupina chloridových kanálů, tak sérové hladiny nejsou aktivně regulovány, reflektují změny sodných iontů s výjimkou některých poruch acidobazické rovnováhy.

### Referenční rozmezí:

	Sérum
do 6 týdnů	96 – 116 mmol/l
6 týdnů – 1 rok	95 – 115 mmol/l
1 – 15 let	95 – 110 mmol/l
15 – 60 let	97 – 108 mmol/l
60 – 90 let	98 – 107 mmol/l
nad 90 let	98 – 111 mmol/l

### Odpad močí (24 hod.):

do 6 týdnů	0 – 1 mmol
6 týdnů – 2 roky	3 – 17 mmol
2 – 8 let	22 – 73 mmol
8 – 15 let	51 – 131 mmol
15 – 60 let	110 – 270 mmol

### Indikace:

Společně s ostatními parametry k hodnocení rovnováhy vnitřního prostředí. Změny chloridů jsou obvykle shodné se změnami sodných iontů kromě metabolické acidózy s deplecí bikarbonátů a metabolické alkalózy s nadbytkem bikarbonátů, kdy v obou případech je normonatremie.

**Interpretace:**

Zvýšení v séru: dehydratace, metabolická acidóza s prolongovaným průjmem, hyperchloremická renální acidóza, respirační alkalóza, primární hyperaldosteronismus, primární hyperparatyreóza, po některých léčích (fenylbutazon, acetazolamid, intoxikace salicyláty a jiné), falešné – bromidy a jiné halogeny.

Snížení v séru: prolongované zvracení nebo odsávání žaludečního obsahu, těžké průjmy (cholerové), excesivní pocení, renální poruchy se solnými ztrátami, SIADH, intoxikace vodou, městnavé srdeční selhání, popáleniny, diuretika (furosemid, thiazidy), chronické užívání laxativ, adrenokortikální insuficience.

**Hořčík (Mg)**

Význam hořčíku spočívá především v tom, že je aktivátorem více než 300 enzymů v organizmu, např. Na-K-ATPázy. Hořčík má významnou roli v glykolýze, buněčné respiraci a transmembránovém transportu vápníku. Ve svalové buňce působí jako antagonist vápníku, má velký význam pro neuromuskulární přenos. Je po draselných iontech druhým nejvýznamnějším intracelulárním iontem (koncentrace).

**Referenční rozmezí:**

	Sérum	Moč dU (za 24 hodin)
do 6 týdnů	0,75 – 1,16 mmol/l	
6 týdnů – 1 rok	0,66 – 0,95 mmol/l	0,1 – 1,2 mmol
1 – 15 let	0,78 – 0,99 mmol/l	
1 – 60 let		1,7 – 8,2 mmol
15 – 60 let	0,66 – 0,91 mmol/l	
60 – 90 let	0,66 – 0,99 mmol/l	
více než 90 let	0,7 – 0,95 mmol/l	

**Indikace:**

Tremor, křeče, tachykardie, arytmie, změny na EKG, parenterální výživa, malabsorpční syndrom, renální insuficience, intoxikace hořčíkem.

**Interpretace:**

Zvýšení: akutní a chronické renální selhání, intoxikace antacidy nebo projímadly s obsahem hořčíku. Klinické příznaky se objevují u sérových koncentrací nad 2,5 mmol/l, svalová paralýza u koncentrací nad 5 mmol/l.

Snížení: renální ztráty (po nefrotoxických léčích, forsírovaná diuréza), alkoholismus a malnutrice, malabsorpce, hyperaldosteronismus, hyperparatyreóza. Snížení hořčíku v séru pod 0,5 mmol/l je velmi závažné. Sérové koncentrace nekorelují dostatečně s celotělovou (intracelulární) deplecí hořčíku. Přesnější informaci o stavu zásob hořčíku podává stanovení ve sběru moče za 24 hodin. Stanovení ionizovaného hořčíku má význam pouze u pacientů s hypoproteinemií k vyloučení pseudohypomagnesemie.

**Osmolalita**

Osmolalita je látková koncentrace osmoticky aktivních částic v 1 kg vody, vyjadřuje osmotický tlak roztoku, v séru se dominantně podílejí na osmolalitě sodné ionty, chloridy, urea, glukóza a další.

**Vyšetřovaný materiál:**

sérum, moč, plazma

**Referenční rozmezí:**

<b>sérum:</b>	0 – 60 let	285 – 295	mmol/kg H <sub>2</sub> O pro obě pohlaví
	60 – 90 let	280 – 301	mmol /kg H <sub>2</sub> O pro obě pohlaví
	nad 90 let	277 – 301	mmol /kg H <sub>2</sub> O pro obě pohlaví
<b>moč:</b>	0 – 6 měsíců	377 – 547	mmol/24hod. pro obě pohlaví
	6 – 12 měsíců	597 – 1163	mmol/24hod. pro obě pohlaví
	1 – 60 let	50 – 1400	mmol/24hod. pro obě pohlaví

**Indikace:**

Bezvědomí, posouzení stavu hydratace, acidobazické a elektrolytové rovnováhy, křeče, posouzení funkce antidiuretického hormonu, u hepatopatií, intoxikace, ketoacidóza.

**Interpretace:**

Zvýšení v séru: dehydratace, hypernatremie, hyperglykemie, hyperuremie, terapie manitolem, intoxikace etanolem, metanolem, etylenglykolem, izopropanolem.

Snížení v séru: hyperhydratace, hyponatremie, syndrom neadekvátní sekrece antidiuretického hormonu (např. paraneoplastická produkce maligním nádorem).

**Kazuistiky****Pacient 1**

Žena, 65 let, s chronickým plicním onemocněním (bronchiektazie, emfyzém). Dva dny před přijetím bolesti v epigastriu s opakovaným silným zvracením (údajně krev). Při přijetí výrazná dyspnoe, hepatomegalie (játra 6 cm přes oblouk). Pro dyspnoe podán kyslík; dále byla podána diuretika (furosemid) a digitalisové preparáty.

**Vyšetření ABR:** (hned při přijetí, arterializovaná kapilární krev)

pH	7,38
pCO <sub>2</sub>	9,3 (kPa)
pO <sub>2</sub>	6,8 (kPa)
BE	+15 mmol/l

**Vyšetření elektrolytů:**

S-Na <sup>+</sup>	136 mmol/l
S-K <sup>+</sup>	2,8 mmol/l
S-Cl <sup>-</sup>	71 mmol/l

**Otázky:**

1. O jakou poruchu v ABR jde?
2. Jak rozlišíme kompenzační mechanismus od přidružené další primární poruchy?
3. Jak rozpoznáme metabolickou poruchu v kombinované poruše ABR?
4. Jaká bude terapie akutního stavu pacientky?
5. Jakou udělal lékař při nasazení úvodní terapie chybu a proč?

**Odpovědi:**

ad 1/ Jde o smíšenou poruchu ABR: chronickou respirační a metabolickou (laktátovou) acidózu, na kterou nasadila metabolická alkalóza (hypochloridemická a hypokalemická) pro ztrátu kyselé žaludeční šťávy (HCl) zvracením. Současně je pacientka v izonatremické dehydrataci a začínající „prerenální uremii“ (pro hypovolemii z dehydratace).

ad 2/ Základem pro rozpoznání smíšené poruchy je zhodnocení a rozbor příčin klinické situace, v které se pacientka nalézá: chronické plicní onemocnění (bronchiektazie a emfyzém), které snižuje plochu, na níž dochází k výměně plynů (CO<sub>2</sub> a O<sub>2</sub>) v plicích, nutně vede k retenci CO<sub>2</sub> (hyperkapnie) a z toho resultující respirační acidóze a současně k nedostatku O<sub>2</sub> a z toho plynoucí metabolické acidóze (hypoxické laktátové acidóze). Obě poruchy jsou kompenzovány resp. korigovány ledvinovým kompenzačním mechanismem (retence bazí, tj. HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> a vylučování protonů ve formě H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub><sup>-</sup> a NH<sub>4</sub><sup>+</sup>). Tuto mírnou ustálenou poruchu ABR pacientka snáší celkem dobře. Do těžkého stavu ji však přivedla další přidružená primární porucha, tj. metabolická alkalóza navozená úporným zvracením kyselé žaludeční šťávy. Acidemie, která provázela obě průvodní poruchy (RAC+MAC) a která se pohybovala kolem B-pH ~ 7,30, se rozvojem další poruchy (MAL) směřující proti oběma předcházejícím jakoby upravuje (pH = 7,38). Nastupující hypovolemie z dehydratace snižuje prokrvení tkání. Snížená perfuze plic vede jak k prohloubení hyperkapnie (RAC) (pCO<sub>2</sub> stoupá na nebezpečné hodnoty 9,3 kPa), tak k prohloubení tkáňové hypoxie a zvýšené produkci laktátu. Hyperventilací organismus nemůže situaci vylepšit, naopak ji zhoršuje (další ztráta vody ve vydechovaném vzduchu). Snížení glomerulární filtrace z hemodynamických příčin (snížené prokrvení ledvin pro hypovolemii) celkovou situaci pacientky ještě více zhoršuje.

ad 3/ Pro správné rozpoznání této kombinované poruchy nám pomůže výpočet:

(a) Reziduálních aniontů (RA) respektive tzv. „anion gap“ (AG = [Na<sup>+</sup> + K<sup>+</sup>] - [Cl<sup>-</sup> + HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>] = 15,2 + 1,6 mmol/l). U této pacientky [136 + 2,8] - [71 + 39] = 28,8 mmol/l; zvýšení AG značí přítomnost MAC v kombinované poruše ABR.

(b) Pufrových bazí séra – BBs =  $[Na^+ + K^+] - Cl^- = 42$  mmol/l.

U této pacientky  $[136 + 2,8] - 71 = 67,8$  mmol/l. Zvýšení BB svědčí pro přítomnost MAL ve smíšené poruše.

(c) Dále nám pomůže „křížový“ nomogram poruch ABR, který hodnoty pCO<sub>2</sub> a BE v tomto případě umísťuje do pole mezi maximálně kompenzovanou RAC a maximálně kompenzovanou MAL.

ad 4/ Je třeba léčit současně jak hypovolemii (izonatremickou dehydrataci), tak i nebezpečnou hyperkapnii a hypoxemii. Tedy řízená ventilace se současnou infuzí 2/3 fyziologického roztoku a jakmile pacientka začíná močit, přidat i KCl.

ad 5/ Lékař nasazením pouze kyslíkové terapie (nebo řízené ventilace) bez současné rehydratace a remineralizace zmírnil sice laktátovou acidózu, ale tím prohloubil metabolickou alkalózu, která je pro organismus velmi nebezpečná, protože se proti ní organismus nedokáže bránit. Kromě toho disociační křivka oxygenovaného hemoglobinu (HbO<sub>2</sub>) se posouvá doleva (Bohrův efekt), a tím se zvyšuje afinita Hb k O<sub>2</sub>. Znamená to, že v tkáních není odevzdáván kyslík buňkám v potřebné míře, i když pO<sub>2</sub> v cirkulaci stouplo. Podání furosemidu prohloubí dehydrataci a ještě sníží už nebezpečnou hypokalemii; myokard na podávané digitalisové preparáty při hypokalemii nereaguje adekvátně.

## Pacient 2

Chlapec, 10 roků (30 kg), přijat na anesteziologicko-resuscitační oddělení s výrazně omezeným dýcháním (paralýza dýchacích svalů pro poliomyelitis anterior acuta).

### Vyšetřeny hodnoty ABR:

Hodnoty ABR	před řízeným dýcháním (A)	10 min. po ventilaci (B)	60 min. po ventilaci (C)
pH	7,06	7,26	7,47
pCO <sub>2</sub> (kPa)	9,6	7,7	4,0
BE (mmol/l)	-13	-3	-1

### Otázky:

1. O jakou poruchu v ABR se jedná v situaci A, B, C?
2. Čím je způsobeno výrazné snížení BE?
3. Je vhodné pacientovi (situace A) podat též v infuzi hydrogenuhličitan (NaHCO<sub>3</sub>)?
4. Je nutné situaci C korigovat?

### Odpovědi:

ad1/ Před nasazením řízeného dýchání (A) šlo o smíšenou poruchu ABR:

Smíšená těžká akutní respirační a metabolická acidóza; v situaci (B) jde už pouze o středně těžkou respirační acidózu; situace (C) svědčí pro mírnou respirační alkalózu.

ad2/ Příčinou akutní metabolické acidózy je hypoxická laktátová acidóza způsobená nedostatkem kyslíku. Organismus může získávat jen energii z anaerobní glykolýzy, která znamená hromadění mléčné kyseliny.

ad3/ Podání koncentrovaného roztoku NaHCO<sub>3</sub> (1 molární roztok) v množství 1 – 2 mmol/kg hmotnosti není u toho případu indikováno. Naopak dávka vypočtená dle vzorce:

$[mmol HCO_3^- = BE \cdot 0,3 \text{ kg (hmotnosti)} = 13 \cdot 0,3 \cdot 30 = 117 \text{ mmol}]$ , čímž by se mělo teoreticky upravit pH na hodnotu 7,40, by způsobila po odstranění laktátové acidózy přívodem kyslíku (řízené dýchání) nebezpečnou metabolickou alkalózu (BE = +10 mmol/l). Podání hydrogenuhličitanu by bylo indikováno, jen když by pro hroživě nízké pH (kolem 7,0) byla narušena kontraktibilita myokardu. Dávku by však bylo nutno upravit tak, aby cílové pH nepřekročilo hodnotu 7,15.

ad4/ Mírná respirační alkalóza po řízeném dýchání za 60 min (situace C) je pro pacienta výhodná (prevence edému mozku).

## Pacient 3

Chlapec, 15 roků s diagnózou inzulin-dependentní diabetes mellitus (IDDM) onemocněl těžkou pneumonií. Při přijetí v kómatózním stavu; z dechu cítit ovocný pach; v moči nalezena značná glykosurie (++++) a ketonurie (+++).

### Hodnoty ABR:

pH	7,10
pCO <sub>2</sub>	7,7 (kPa)
BE (mmol/l)	-13,5

### Otázky:

1. Jaký je charakter poruchy ABR a vnitřního prostředí?
2. Jakou hodnotu pCO<sub>2</sub> byste očekávali, kdyby pacient byl dekompenzován z jiné příčiny než je těžká pneumonie?
3. Jaký je principiální přístup k léčení tohoto stavu?

### Odpovědi:

ad1/ Jde o smíšenou poruchu, kombinaci 2 druhů metabolické acidózy (diabetická ketoacidóza a hypoxická laktátová acidóza) způsobená nahromaděním ketokyselin (acetocetová a 3-hydroxymáselná) a kyseliny mléčné (vystupňovaná anaerobní glykolýza pro hypoxii) s respirační acidózou (pro retenci CO<sub>2</sub> při pneumonii).

ad2/ Diabetická ketoacidóza u pacienta s normální funkcí plic (respiračního aparátu) navodí kompenzaci této metabolické acidózy vystupňováním respirace (hyperventilace), která vede k výraznému poklesu pCO<sub>2</sub> v alveolárním vzduchu a tím i v plicním oběhu; nacházíme hodnoty i pod 2,5 kPa. Snížení pCO<sub>2</sub> v krvi zásobující dýchací centrum způsobí útlum dýchacího centra a tím výrazné snížení respirace až na fázi apnoe. Tato vede opět k retenci CO<sub>2</sub> a následuje hyperventilace. Střídání hyperventilace s fázemi apnoe je podstatou Kussmaulova dýchání.

ad3/ Při léčení diabetické ketoacidózy musíme léčit jak ketoacidózu, tak průvodní dehydrataci a demineralizaci organismu způsobenou vystupňovanou osmotickou diurézou pro hyperglykémii. Tedy podávání inzulinu (mikrodávky v kontinuální infuzi) současně se solnými roztoky (později též s glukózou).

Podání pouze inzulinu (v jedné nebo několika dávkách) neumožní obnovení nebezpečné hypovolemie a může dále způsobit i nebezpečnou hypokalemii (K<sup>+</sup> vstupuje z ECT do ICT spolu s utilizovanou glukózou).

### Pacient 4

Muž, 38 roků, byl přeložen na chirurgickou kliniku z interního oddělení, kam byl přijat s diagnózou Ménériérova choroba hyperplazie žaludeční sliznice s hypoproteinemickým syndromem následkem exudace krevních bílkovin do žaludku. Pacient má hematémézu, melénu a je v šokovém stavu.

### Biochemické vyšetření:

S-urea	10,6 mmol/l
S-Na	148 mmol/l
S-K <sup>+</sup>	2,8 mmol/l
S-Cl <sup>-</sup>	102 mmol/l
S-Ca	1,8 mmol/l
S-Mg	0,7 mmol/l
S-protein	31 g/l
B-hemoglobin	40 g/l

Acidobazická rovnováha		Další vyšetření	
pH	7,50	B-laktát	10,2 mmol/l
pCO <sub>2</sub>	3,5 (kPa)	BB	48,3 mmol/l
BE	-3 mmol/l	RA	26,8 mmol/l
pO <sub>2</sub>	6,8 (kPa)	AG	28,3 mmol/l

### Otázky:

1. O jakou poruchu ABR se jedná?
2. Jak poznáme metabolickou acidózu ve smíšené poruše ABR?
3. Jaký je patobiochemický mechanismus klinického stavu, v kterém se pacient ocitl?
4. Jaká je bezprostřední terapie a proč?

**Odpovědi:**

ad1/ Díváme-li se pouze na hodnoty parametrů ABR naměřené v krvi, mohli bychom říci, že jde o nekompenzovanou respirační alkalózu (výrazná hypokapnie s alkalemií). Toto hodnocení však neodpovídá klinickému stavu. Zvracení → (ztráta kyselé žaludeční šťávy) → MAL.

Krvácení do žaludku → (meléna + hemateméza) → hypoxemie → MAC.

Jde tedy o smíšenou poruchu: metabolickou alkalózu, metabolickou acidózu (hypoxická laktátová acidóza) a respirační alkalózu (pro hypoxemii dýchacího centra).

ad2/ Na přítomnost metabolické acidózy (MAC) ve smíšené poruše ABR upozorní zvýšená hodnota AG nebo RA

$$AG = [Na^+ + K^+] - [Cl^- + HCO_3^-] = [148 + 2,8] - [102 + 21] = 27,8 \text{ mmol/l}$$

$$RA = [Na^+ + K^+ + Ca + Mg] - [Cl^- + HCO_3^- + \text{proteinát}] = [148 + 2,8 + 1,8 + 0,7] - 102 + 21 + 5,4 = 24,8 \text{ mmol/l}$$

$$\text{proteinátový anion} = [S\text{-protein}] \cdot 0,175$$

Zvýšená hodnota ukazuje na zvýšenou hodnotu některého z běžně nestanovovaných aniontů; zde je to laktát (pro přítomnost hypoxemie z nedostatku hemoglobinu pro krevní ztráty).

Potvrzuje to výsledek stanovení B-laktátu (10,2 mmol/l; horní hranice: 1,8 mmol/l).

ad3/ Základem patobiochemického mechanismu těžké situace pacienta je hemorhagický šok pro velké ztráty krve do zažívacího traktu. Výrazné snížení erytrocytů (hemoglobinu) neumožňuje dostatečné zásobení tkání kyslíkem (hypoxemie → hypoxie), z čehož vyplývá hypoxická laktátová acidóza. Zvracení (pro naplnění žaludku krví) vede nejen ke ztrátě kyselé žaludeční šťávy, ale i k hypovolemii: ta snižuje perfuzi orgánů a prohlubuje tkáňovou hypoxii. Nedostatek kyslíku je stimulem pro dýchací centrum; hyperventilace však nemůže více oksylčit nedostatečné množství hemoglobinu; zatěžuje však organismus zvýšeným odvětráváním nejen CO<sub>2</sub> (= hypokapnie → respirační alkalóza), ale i nadměrnou ztrátou vody ve vydechovaném vzduchu (= prohloubení hypovolemie a hyperosmolární dehydratace). Deficit K<sup>+</sup> v organismu je způsoben zvýšenými renálními ztrátami pro sekundární hyperaldosteronismus navozený hypovolemií (tedy nikoliv, jak by se na první pohled zdálo ztrátami K<sup>+</sup> v žaludečním obsahu; ten obsahuje relativně malé množství K<sup>+</sup>). Zvýšená hodnota S-urey svědčí pro prerenální uremii z hemodynamických příčin (snížené prokrvení ledviny pro hypovolemii).

ad 4/ Základem okamžité pomoci pacientovi je:

(a) Normalizace cirkulujícího krevního objemu.

(b) Doplnění chybějícího množství erytrocytů, tedy nejlépe krevní transfuze.

**Pacient 5**

Žena, 43 roků, byla přijata na chirurgickou kliniku s diagnózou akutní pankreatitida, stav po biliární kolice. Opakovaně zvracela; na plicích oboustranné diseminované zastřešení; pacientka je dušná, není v šokovém stavu.

**Laboratorní vyšetření:**

Biochemická vyšetření		Hodnoty ABR	
S-urea	9,1 mmol/l	pH	7,438
S-Na <sup>+</sup>	141 mmol/l	pCO <sub>2</sub>	4,9 (kPa)
S-K <sup>+</sup>	4,4 mmol/l	BE	+0,5 mmol/l
S-Cl <sup>-</sup>	97 mmol/l	RA	16,1 mmol/l
S-Ca	1,9 mmol/l	AG	23 mmol/l
S-Mg	0,7 mmol/l	BBs	48 mmol/l
S-protein	52 g/l		

**Otázky:**

- Jde u této pacientky o poruchu v ABR?
- Vysvětlíte patobiochemický mechanismus a jeho důsledky u klinické situace této pacientky.
- Jaká by měla být terapie?
- Proč infuzí fyziologického roztoku navodíme acidifikaci organismu?

**Odpovědi:**

ad 1/ Naměřené hodnoty ABR ani hodnoty elektrolytů nevybočují z referenčního rozmezí, které nacházíme u zdravých jedinců. Přesto je pacientka ve vážné poruše acidobazické rovnováhy a elektrolytového a vodního



metabolizmu. Vysvětlení nutno hledat v kombinaci protichůdně působících poruch: metabolické acidózy (ketoacidóza z hladovění + hypoxická laktátová acidóza) a metabolické alkalózy (ze ztráty kyselých žaludečních šťáv); k tomu přistupuje normonatremická (izoosmolární) dehydratace a akutní respirační insuficience.

ad2/ Východiskem pro objasnění patobiochemických mechanismů je klinická situace:

\* Akutní pankreatitida, stav po biliární kolice → hladovění (pro nechuť k jídlu) → ketoacidóza.

\* Opakované zvracení (ztráta kyselých žaludečních šťáv) → metabolická alkalóza.

(Poznámka: při zvracení však nemusí vždy jít o kyselou žaludeční šťávu; při achlorhydrii jde o tekutinu s pH i vyšším než 7; alkalózu pak je nutno přičíst na vrub hypovolemii → kontrakční alkalóza).

\* Ztráta tekutin (zvracení) + nedostatečný příjem tekutin v potravě → dehydratace; ztráta vody a solí je stejnoměrná → izonatremická dehydratace → hypovolemie → snížené prokrvení orgánů (u ledvin → snížená glomerulární filtrace + antidiuréza → retence urey → prerenální uremie). Hypovolemie též vede k sekundárnímu hyperaldosteronismu → zvýšené ztráty  $K^+$  a  $HCO_3^-$  močí pro zvýšenou zpětnou resorpci NaCl → deficit  $K^+$  v organizmu + metabolická alkalóza.

(Poznámka: deficit  $K^+$  se nemusí projevit na hladině  $K^+$  v séru; urychlený buněčný katabolismus vede k vyplavení  $K^+$  z buněk do ECT, kde hladina může být i proto zvýšená).

\* Akutní respirační insuficience: hypoxie pro nedostatečnou výměnu plynů v nefunkčních alveolech navodí hyperventilaci → tendence k hypokapnii + zvýšené ztráty vody ve vydechovaném vzduchu. Hypoxie se však neupraví → zvýšený podíl anaerobní glykolýzy → hromadění mléčné kyseliny → metabolická acidóza.

ad3/ Terapie vychází z ujasnění si příčin klinického stavu:

\* dehydratace (hypovolemie): nutno ihned upravit nedostatečný cirkulující objem infuzí fyziologického roztoku s 5% glukózou („poloviční“ fyziologický roztok); když pacientka začne močit, přidat KCl. Upraví se tak nejen hypovolemie, ale začne se tím upravovat metabolická alkalóza, která je pro pacientku nejvíce nebezpečná; podáním glukózy se odstraní ketoacidóza z hladovění. Zavodněním se upraví též prerenální uremie.

\* inhalace  $O_2$ : nesmí předcházet infuzní terapii nebo být dokonce jediným terapeutickým zákrokem (ve snaze odstranit pouze dušnost); došlo by k prohloubení metabolické alkalózy (pro rychlé odstranění protichůdně působí hypoxické laktátové acidózy). Zmírní se tak respirační insuficience a upraví se metabolická acidóza (laktátacidóza). Zároveň nutno pátrat po příčině diseminovaného zastření obou plicních polí (bronchopneumonie, sukcesivní embolizace plicnice, ev. další příčiny).

ad4/ Podání fyziologického roztoku (tedy roztoku z chemického hlediska neutrálního - sůl silné kyseliny a silné zásady) navozuje acidifikaci ECT tím, že fyziologický roztok obsahuje ve srovnání s ECT „nefyziologické“ množství chloridů (150 mmol/l oproti 100 mmol/l). Z hlediska elektroneutality, pokud „přebytek“ nestačí vyloučit ledviny, musí dojít k úbytku jiného aniontu a tím je  $HCO_3^-$ , který s  $H^+$  dává  $H_2CO_3$  a ta po hydrolýze se štěpí na  $CO_2$  a  $H_2O$ ; ty jsou pak vyloučeny snadno plicemi. Další vysvětlení spočívá v navození tzv. diluční acidózy (opak kontrakční alkalózy), která vzniká, zvyšuje-li se objem ECT tekutinou, která neobsahuje  $HCO_3^-$  (nebo anion z něhož může  $HCO_3^-$  v organizmu vzniknout, jako je citrát, laktát, acetát) v množství 24 mmol/l. Ředí se tak koncentrace  $HCO_3^-$  i  $H_2CO_3$  v ECT (tedy hydrogenkarbonátového nárazníku); plicní ventilací se však ve velmi krátké době upraví  $pCO_2$ , tedy  $H_2CO_3$ , ale ledviny nedokážou tak rychle upravit koncentraci  $HCO_3^-$  a v  $[HCO_3^-]/[H_2CO_3]$  podílu má pak převahu  $HCO_3^-$ , což vede k alkalemii.

(Podle Henderson-Hasselbalchovy rovnice pH odvisí od logaritmu podílu koncentrace  $HCO_3^-/H_2CO_3$ )

$$pH = pK' + \log \frac{[HCO_3^-]}{[H_2CO_3]}$$

tedy (vyjádřeno číselně – hodnoty pro zdravého jedince):

$$pH = 6,1 + \log \frac{24}{1,2} = 6,1 + 1,3 = 7,4$$

## Zásady pro určení poruchy ABR

1. Mnohem častější jsou poruchy kombinované (až 80 %) než poruchy jednoduché, tj. 4 základní: MAC, MAL, RAC, RAL.
2. Kombinovat se mohou 2 i více základních poruch; přitom jedna základní porucha může mít i více příčin.
3. Hodnoty naměřených základních parametrů ABR tj. pH,  $pCO_2$  a hodnota  $HCO_3^-$  vyjadřují aktuální situaci (kvantitu) těchto biochemických veličin ve vzorku odebrané krve. Mohou vyjít i ve fyziologických mezích, i když pacient je v těžké poruše ABR; v těchto případech jde o kombinaci protichůdně působících poruch.
4. Pro rozpoznání poruchy ABR je nutné znát:
  - naměřené hodnoty ABR: pH,  $pCO_2$ , dále aktuální hydrogenkarbonát (nebo hodnotu BE = exces bazí)

nebo standardní hydrogenuhličitan

- klinickou situaci (s anamnézou) pacienta tj. především stav respirační funkce (hyperventilace, hypoventilace, možné příčiny retence  $\text{CO}_2$  a nedostatek oxygenace nebo možné příčiny pochodů opačných), příznaky akutní nebo chronické plicní nedostatečnosti
- stav kardiovaskulárních funkcí (tachykardie, bradykardie, známky akutního nebo chronického kardiovaskulárního selhání)
- stav cirkulujícího objemu (hypovolemie, hypervolemie, tedy stav hydratace organismu a příčiny, které by mohly vést k poruše: zvracení, průjem, horečka s hyperventilací, ztráta tekutin do třetího prostoru, jako je ascites, pleurální výpotek, ztráty tekutin kůží)
- stav funkce ledvin (polyurie, oligoanurie, snížená glomerulární filtrace, poruchy tubulárních funkcí, pH moče zejména trvale nad 5,8)
- celkový momentální stav pacienta: šok, sepse, popáleniny, bezvědomí, kóma, těžké poranění a otravy (alkohol, glykoly, léky)

Určitá klinická situace nutí předpokládat určitou poruchu ABR:

- \* omezení ventilace → retence  $\text{CO}_2$  → RAC → hypoxie → MAC (hypoxická laktátová acidóza)
- \* hyperventilace → odvětrání  $\text{CO}_2$  → RAL
- \* zvracení → ztráta HCl → MAL
- \* průjem → ztráta bazí → MAC
- \* hladovění → zvýšená ketogeneze → MAC (ketoacidóza)
- \* otrava:

etanol → mléčná kyselina + 3-hydroxymáselná kys. → MAC

metanol → mléčná a mravenčí kys. → MAC

etylenglykol (Fridex) → mléčná, glykolová, oxalová kys. → MAC

salicyláty → různé organické kyseliny → MAC

\* diuretika → osmotická diuréza → MAC

\* laxantia (abúzus) → ztráta bazí → MAC

\* uremie → retence aniontů organických a anorganických kyselin → MAC

\* hyperhydratace → diluční acidóza → MAC

\* dehydratace → kontrakční alkalóza → MAL

\* podávání  $\text{Na}^+$  nebo  $\text{K}^+$  solí antibiotik → MAL

\* výrazná hypoproteinemie → MAL

(pokles proteinátového aniontu způsobuje úměrný vzestup  $\text{HCO}_3^-$ ; pokles S-albuminu o 10 g/l znamená vzestup P- $\text{HCO}_3^-$  o 3,4 mmol/l)

\* výrazná hyperproteinemie → MAC

\* infuze nebo parenterální výživa:

nadbytek bazí → MAL

nadbytek kyselin → MAC

5. Pro rozpoznání smíšených poruch napomáhá:

(a) "křížový" nomogram

(b) výpočet:

$\text{BBs} = [\text{HCO}_3^-] + [\text{proteinát}]$

Norm.: 41,7 mmol/l

$\text{AG (anion gap)}: [\text{Na}^+ + \text{K}^+] - [\text{Cl}^- + \text{HCO}_3^-]$

Norm.:  $15,2 \pm 1,6$  mmol/l

Je-li hodnota vyšší než 18 mmol/l, jsou přítomny ve zvýšené míře anionty některých běžně neměřených kyselin jako mléčné, octové, hydroxymáselné, též fosforečné, sírové apod.

Zvýšení AG tedy svědčí pro přítomnost MAC.

RA (reziduální anionty):

$[\text{Na}^+ + \text{K}^+ + \text{Ca} + \text{Mg}] - [\text{Cl}^- + \text{HCO}_3^- + \text{proteinát}]$

Norm.:  $7,08 \pm 2,41$  (3,2 - 10,9) mmol/l

Má stejný význam jako AG; nevýhoda je v nutnosti měření všech kationtů; výhoda je však v tom, že zahrnuje vliv S-proteinu na ABR.

Proteinátový anion =  $[\text{S-protein}] : 0,104 \cdot (\text{pH} - 5,08)$

Norm.: ~ 17,1 mmol/l

6. Pro posuzování ABR nutno vždy znát hodnoty elektrolytů v plazmě (v séru) i v moči:

S-Na<sup>+</sup>; S-K<sup>+</sup>; S-Cl<sup>-</sup>; S-osmolalita

U-Na<sup>+</sup>, U-K<sup>+</sup>; U-Cl<sup>-</sup>; U-osmolalita

Nutno rozlišit metabolickou acidózu:

(a) se zvýšeným AG

(b) se zvýšenými Cl<sup>-</sup> (hyperchloremická) a norm. AG

(i) - hyperkalemická

(ii)- hypokalemická

Dále nutno vyšetřit pO<sub>2</sub> a vypočíst saturaci HbO<sub>2</sub>:

(snížení pO<sub>2</sub> → hypoxie → laktátová acidóza)

Dále je třeba znát hodnoty:

S-urea, S-kreatinin, P-glukóza

Výpočet S-osmolality:

1,8 [Na<sup>+</sup>] + urea + glukóza (porucha funkce ledvin, retence nebo zvýšení osmoticky aktivních látek)

Liší-li se výpočet osmolality a hodnoty naměřené osmolality o více než +10 mmol/kg, znamená to přítomnost malých molekul (závažná katabolická situace).

7. Nejčastější kombinace základních poruch ABR

MAC + RAC - vede k výrazné acidemii (pH ~ 7,00)

Příčiny: srdeční zástava; chronická obstrukční plicní choroba + septický šok; těžké renální a plicní selhání; edém plic a léčení inhibitory karbonátlyázy + beta-blokátory

Léčení: řízené dýchání, je-li nutné, alkalizace k pH = 7,15 – 7,20

MAL + RAL - vede k výrazné alkalemii

Příčiny: chronické jaterní onemocnění + zvracení kyselé šťávy; městnavá srdeční vada + + diuretická terapie; stimulace dýchacího centra + diuretická terapie; úspěšné léčení kompenzované MAC + intenzivní alkalizace

Léčení: acidifikace, ev. řízené dýchání

MAL + RAC - pH většinou normální

Příčiny: chronické obstrukční plicní onemocnění + diuretika ev. zvracení; je nutné rozlišit primární RAC od sekundární kompenzace (kupř. inhalace 100% O<sub>2</sub> vede u primární RAC k dalšímu vzestupu pCO<sub>2</sub>)

Léčení: řízené dýchání + ev. acidifikace (NaCl)

MAC + RAL - vede k mírnému poklesu pH

Příčiny: septický šok; hepatorenální syndrom; renální selhání + sepse; otrava salicyláty a městnavá srdeční vada a renální selhání

Léčení: monitorování situace a zásah dle aktuální situace

MAC + MAL - pH je posunuto na stranu převládající poruchy, ale často normální

Příčiny: intoxikace alkoholem + zvracení; uremie + zvracení nebo diuretika; ketoacidóza + + zvracení nebo diuretika; laktátacidóza + zvracení; těžká hypoproteinemie (zvýšení HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>) + různé příčiny MAC

Diagnóza: přispívá výpočet BBs a AG (zvýšení BBs u MAL a zvýšení AG u MAC)

Léčení: nutno léčit obě poruchy současně

MAC + MAL + RAL - pH lehce alkalické

Příčiny: hypoxie (systémová nebo v oblasti dýchacího centra) → hyperventilace a další příčiny jako sub MAC + MAL

MAC + MAL + RAC - pH většinou normální až lehce nižší

Příčiny jako sub MAC + MAL a k tomu příčiny RAC

Chronická RAC s náhlou změnou pCO<sub>2</sub>

(snížení pCO<sub>2</sub> → zvýšení pH pro přetrvávající kompenzanční hyperbazemii)

MAC (hyperchloremická) + MAC (zvýšení AG)

Příčiny: průjem + laktátacidóza nebo ketoacidóza; renální tubulární acidóza + uremická acidóza

8. Výpočet přiměřené kompenzace pro čistou respirační acidózu nebo alkalózu

Srovnává se vypočtená hodnota HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> pro pH = 7,40 s hodnotou stanoveného HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>.

Rozdíl by neměl být větší než ± 2 mmol/l.

[HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>]pH 7,4 = [HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>] - 10 (7,40 - pH stanovené)

**Příklad:**

$[\text{HCO}_3^-]_{\text{pH } 7,4} = 18 - 10(7,40 - 7,48) = 18 - 10(-0,08) = 18 + 0,8 = 18,8 \text{ mmol/l}$  - pro čistou metabolickou acidózu nebo alkalózu

Hodnotí se dle odezvy v  $\text{pCO}_2$  s  $\text{pCO}_2$  vypočteným (odchylka nemá být větší než 0,27 kPa).

$\text{pCO}_2(\text{vypočt.}) = 0,2 \cdot \text{pCO}_2(\text{naměř.}) + 1,06$

**Příklad:**

$\text{pCO}_2(\text{vypočt.}) = 0,2 \cdot 2,5 + 1,06 = 0,5 + 1,06 = 1,56 \text{ kPa}$

**Kazuistiky****Hypokalemie**

Pacientka, 28 roků, mírně obézní byla v posledním roce 3krát hospitalizována s nálezem mírné až střední hypokalemické alkalózy (2,5 – 3,1 mmol/l, P-HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>: 34 – 36 mmol/l). Nebyla stanovena přesně diagnóza; hodnoty K<sup>+</sup> a HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> se však zvýšily po perorálním podání KCl.

**Současný stav:**

Únava, letargie, generalizované svalové křeče; pacientka váží 70 kg menší než 160 cm.

**Biochemické vyšetření:**

S-Na <sup>+</sup>	137 mmol/l
S-K <sup>+</sup>	2,7 mmol/l
S-Cl <sup>-</sup>	95 mmol/l
P-HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	35 mmol/l
S-urea	6,3 mmol/l
S-kreatinin	98 mmol/l

**Otázky:**

1. Jaké jsou nejdůležitější příčiny hypokalemické metabolické alkalózy?

- A. zvracení
- B. terapie diuretiky
- C. nadbytek mineralokortikoidů
- D. abúzus projímadel
- E. chloridová diarhea
- F. vilózní adenom tlustého střeva

2. Jaké jsou možné příčiny hypokalemie?

**Odpovědi:**

ad 1/ všechny (A – F)

ad 2/

(a) snížený příjem (P-HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> přítom normální, U-K<sup>+</sup> pod 20 mmol/l)

**Příklady:**

nevhodná infuzní terapie; chronický alkoholizmus; anorexia nervosa

(b) přesun z ECT do ICT (přítom bývá P-HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> normální, U-K<sup>+</sup> pod 20 mmol/l)

**Příklady:**

terapie inzulinem (utilizace glukózy), salbutamolem; familiární periodická paralýza; intoxikace Ba-solemi

(c) extrarenální ztráty (U-K<sup>+</sup> pod 20 mmol/l)

- snížený P-HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>

**Příklady:**

akutní průjem, pankreatická píštěl

- zvýšený P-HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>

**Příklady:**

chronický průjem, abúzus projímadel; předcházející terapie diuretiky, vilózní adenom tlustého střeva

(d) renální ztráty (U-K<sup>+</sup> nad 20 mmol/l)

- snížený P-HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>: respirační alkalóza; renální tubulární acidóza; překroucení ureteru

- zvýšený P-HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>: současná diuretická terapie, nadbytek mineralokortikoidů primární i sekundární (Bartterův syndrom, Liddleho syndrom; metabolická alkalóza; zvracení, chloridová diarrhea)

(e) různé: terapie gentamicinem, leukemie, osmotická diuréza, post-obstrukční nefropatie, stav po akutní tubulární nekróze, deplece Mg

#### Další průběh hospitalizace pacienta:

##### Byly vyšetřeny elektrolyty v moči:

U-Na <sup>+</sup>	76 mmol/l
U-K <sup>+</sup>	52 mmol/l
U-Cl <sup>-</sup>	98 mmol/l

Tyto výsledky spolu s klinickým obrazem a předcházejícím vyšetřením ukazují na tyto diagnostické varianty:

- nadprodukce kortizolu (Cushingova choroba nebo ektopická produkce ACTH)

- nadbytek mineralokortikoidů (Bartterův syndrom)

- požívání diuretik

##### Provedena další speciální vyšetření:

(a) dexamethazonový supresní test

Po podání 0,5 mg dexamethazonu (o půlnoci) vyšetřena hladina P-kortizolu (v 9 h):

115 nmol/l (Normálně: snížení pod 140 nmol/l)

(b) stanovení P-reninu (zvýšený) a P-aldosteronu (zvýšený)

##### Závěr:

Normální výsledek supresivního dexamethazonového testu nesevčí pro hyperkortizolizmus; zvýšený aldosteron a renin v plazmě ukazují na sekundární hyperaldosteronizmus.

Možné příčiny sekundárního normotenzního hyperaldosteronizmu:

\* deplece cirkulujícího objemu (dehydratace, hemorhagie, diuretická terapie, renální tubulární acidóza)

\* edém (měštnavá srdeční vada, nefrotický syndrom, jaterní cirhóza)

\* Bartterův syndrom

##### Závěrečná diagnóza a její zdůvodnění:

Z výše uvedených možných příčin normotenzního sekundárního hyperaldosteronizmu můžeme na základě klinických a laboratorních dat vyloučit edém, hemorhagii, dehydrataci, renální tubulární acidózu (normální P-HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>). Zbývá tedy Bartterův syndrom a terapie diuretiky.

Bartterův syndrom je méně pravděpodobný, protože tento syndrom začíná už v dětství; pacientka však měla příznaky teprve před 6 měsíci. I když nejprve popírala užívání diuretik, později se (po naléhání) přiznala, že užívá thiazidy, aby snížila tělesnou hmotnost.

##### Závěr:

Pseudo-Bartterův syndrom (nadměrné užívání diuretik)

#### Hyperkalemie

Muž 70 roků byl přijat do zdravotnického zařízení pro srdeční arytmie. Několik měsíců (asi 4) si stěžoval na nevolnost a svalové bolesti po celém těle. Neužíval žádné léky a jeho rodinná i osobní anamnéza byla bezvýznamná. Jeho krevní tlak byl přiměřený věku.

##### Laboratorní vyšetření ukázalo následující výsledky:

S-Na <sup>+</sup>	138 mmol/l
S-K <sup>+</sup>	6,1 mmol/l
S-Cl <sup>-</sup>	105 mmol/l
P-HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	25 mmol/l
anion gap	14,1 mmol/l
S-urea	17,0 mmol/l
S-kreatinin	182 umol/l
P-glukóza	4,7 mmol/l

**Otázka:**

1. Které výsledky jsou patologické?

**Odpověď:**

- Zvýšená kalemie (předpokládáme-li, že pH krve vzhledem k hodnotě  $P\text{-HCO}_3^-$  je normální).  
 - Zvýšení urey i kreatininu (u obou analytů zvýšení asi dvojnásobné nad horní hranici za předpokladu, že pacient má dietu dosti bohatou na proteiny).

**Otázka:**

2. Jaké jsou hlavní příčiny hyperkalemie?

**Odpověď:**

A. zvýšený přísun do krevní plazmy

- exogenní: podáváním K-solí perorálně nebo intravenózně (Pozor: hyperkalemii mohou způsobit vysoké dávky penicilinu aplikovaného jako draselná sůl)

- endogenní: nekrotický proces (crush syndrom, rozsáhlejší popáleniny; náhlý rozpad nádorových buněk = tumorolýza). Hemolýza: intravaskulární (hemolytická anemie; toxická hemolýza).

- změna intra-/extra- celulárního gradientu: acidóza; nedostatek inzulínu, podání léků jako sukcinylcholin, intoxikace digoxinovými preparáty, hyperosmolalita: hyperglykemie, hypernatremie, hyperkalemická periodická paralýza.

B. snížená renální exkrece  $K^+$

- renální insuficience:

akutní (chronická)

- aplikace léků:

diuretika šetřící  $K^+$  (spironolakton, amilorid, triamteren)

inhibitory prostaglandinů (indomethacin, ibuprofen)

captopril i heparin

- syndromy z nedostatku mineralokortikoidů:

hypokortizolismus a hypoaldosteronismus (vysoký plazmatický renin): Addisonova choroba; deficit C-21 hydroxylázy v nadledvinkové kůře

- selektivní deficit aldosteronu (při nízké hladině reninu):

syndrom hyporeninemického hypoaldosteronizmu; inhibice prostaglandinů

- selektivní deficit aldosteronu (při vysoké hladině reninu):

terapie heparinem, deficiencie kortikosteron-metyl-oxidázy

- syndrom rezistence na mineralokortikoidy (vysoký plazmatický renin + vysoký aldosteron):

intersticiální nefritida; obstruktivní nefropatie; amyloidóza; systémový lupus erythematosus; srpkovitá anemie; pseudohypoaldosteronismus; chloridový shunt

C. Hyperkalemie jako artefakt

- nesprávný odběr (hemolytické sérum; nesprávný odběr po infuzi roztoků s  $K^+$ ; „stará nestažená krev“ = delší kontakt s krvinkami)

- pseudohyperkalemie (výrazná trombocytóza nebo leukocytóza):  $K^+$  pochází z trombocytů a leukocytů; nutno odebrat nesrážlivou krev a rychle oddělit plazmu)

**Další klinický vývoj:**

Opakované vyšetření v průběhu 2 dní ukázalo, že S- $K^+$  kolísá od 5,7 do 6,5 mmol/l; krevní obraz ukazoval normální počet leukocytů a krevních destiček. Pacient byl dobře hydratován. Proveden test stimulace pomocí ACTH: Podáno 250 ug „Synacthenu“ i. v., byla odebrána krev na stanovení P-kortizolu před podáním a 30 a 60 min. po podání.

**Výsledek:**

bazální hodnota - 640 nmol/l (N:140 – 690), za 30 min - 960 nmol/l, za 60 min - 1150 nmol/l

[Normální odpověď: vzestup P-kortizolu větší než 200 nmol/l nad bazální hodnotu].

Test stanovení P-reninu a P-aldosteronu

(a) po nočním klidu vleže

(b) v průběhu dne při běžné činnosti

**Výsledek:**

	<b>P-renin (ug/l)</b>	<b>P-aldosteron (ug/l)</b>
<b>vleže</b>	0,3 (N: 0,1 – 0,4)	60 (N: 10 – 1500)
<b>při činnosti</b>	0,3 (N: dvojnásobek hodnoty vleže)	55 (N: dvojnásobek hodnoty vleže)

### Diferenciálně diagnostická úvaha:

Z výsledků vyšetření můžeme dospět k následujícím závěrům:

- Můžeme vyloučit pseudohyperkalemii nebo artefakt způsobený nesprávným odběrem.

- Vzestup S-urey i S-kreatininu není výrazný (hodnota S-kreatininu je hluboko pod 350  $\mu\text{mol/l}$  – kdy je možno hovořit o zřejmém renálním selhání; také normální krevní tlak a dobrá hydratace vylučují prerenální selhání), takže hyperkalemie z důvodů akutního renálního selhání nebo náhlého zhoršení chronické renální insuficience není pravděpodobná; S-urea i S-kreatinin však ukazují na mírnou renální nedostatečnost neznámé etiologie.

- Test stimulace pomocí ACTH nesevčí pro Addisonovu chorobu (chybí též hyponatremie a mírná metabolická acidóza).

- Chybí však odpovídající rozdíl (žádné zvýšení) v hladině reninu a aldosteronu mezi klidovou polohou vleže a vstoje při běžné práci. Tento nálezní svědčí pro syndrom hyporeninemického hypoaldosteronizmu. Po podání fluorohydrokortizonu v množství 0,1 mg třikrát denně se hladina kalemie normalizovala do 10 dnů.

### Konečná diagnóza:

Syndrom hyporeninemického hypoaldosteronizmu.

Objevuje se hlavně u starších lidí obvykle sdružen s diabetes mellitus nebo intersticiální nefritidou. Většina (70 %) má mírnou až střední ledvinovou nedostatečnost. Etiologie je nejasná.

### Hyponatremie

Pacientka 72 roků byla nalezena ve svém bytě, kde žila sama, v bezvědomí. Při vyšetření při převozu do nemocnice byla napůl v bezvědomí, měla levostrannou hemiparézu po mozkové cévní příhodě. Krevní tlak: 18,7/12,0 kPa (=140/90 torr), puls: 84/min; stav hydratace přiměřený; pro předcházející hypertenzi užívala chlorothiazid (3krát denně 500 mg) po dobu 18 měsíců.

### Laboratorní vyšetření: (při přijetí)

S- $\text{Na}^+$	128 mmol/l
S- $\text{K}^+$	2,4 mmol/l
S- $\text{Cl}^-$	83 mmol/l
B- $\text{HCO}_3^-$	36 mmol/l
S-osmolalita	265 mmol/kg
S-urea	11,6 mmol/l
S-kreatinin	120 $\mu\text{mol/l}$
U- $\text{Na}^+$	45 mmol/l
U- $\text{K}^+$	55 mmol/l
U-kreatinin	11,8 mmol/l
U-osmolalita	650 mmol/kg

### Otázka:

1. Které hodnoty jsou patologické?

### Odpověď:

Pacientka má výraznou hyponatremii, hypokalemii, hypochloridemii a hypoosmolalitu séra při zvýšeném hydrogenkarbonátu. Hladina sérového kreatininu a urey mírně zvýšena.

### Otázka:

2. Jaké jsou příčiny hyponatremie?

### Odpověď:

A. Hypotonická hyponatremie (snížená P-osmolalita)

Hypovolemie

- extrarenální (U- $\text{Na}^+$  < 20 mmol/l)

gastrointestinální ztráty (průjem, zvracení), ztráty kůží (nadměrné pocení)

- renální (U- $\text{Na}^+$  > 20 mmol/l)

diuretická terapie, nefritis ztrácející sůl, Addisonova choroba

Euvolemie - s U- $\text{Na}^+$  < 20 mmol/l (akutní vodní nálož)

zvýšený přívod + hypovolemie (hemorhagie, popáleniny, podávání léků), stres (po chirurgickém zákroku), psychogenní, endokrinní příčina (hypotyroidizmus, hypokortizolizmus, renální insuficience)

Euvolemie - s  $U\text{-Na}^+ > 20$  mmol/l (chronické předávkování vodou).  
syndrom neadekvátní sekrece ADH po léčích  
chronické renální selhání, hypothyreoidismus, hypokortizolismus

Hypervolemie - s  $U\text{-Na}^+ < 20$  mmol/l (edematózní stav)  
srdeční selhání  
jaterní cirhóza  
nefrotický syndrom

B. Hypertonická hyponatremie (S-osmolalita zvýšená), hyperglykemie

C. Pseudohyponatremie (plazma „naředěná“ vysokým obsahem solutů: lipidy, proteiny - aktivita  $\text{Na}^+$  ve vodě plazmy normální – rozdíl mezi stanovením plamenovou fotometrií a analyzátozem s iontově selektivními elektrodami), hyperlipidemie, hyperproteinemie

#### Další průběh:

Ošetřující lékař posoudil situaci pacientky jako euvolemickou hyponatremii způsobenou neadekvátní sekrecí ADH pro mozkovou mrtvici. Omezil příjem tekutin na 500 ml/24 hod, a současně podal  $\text{K}^+$ , nejprve i. v. pak perorálně (100 mmol za 24 hod.).

#### Laboratorní testy po této terapii:

S- $\text{Na}^+$	128 mmol/l
S- $\text{K}^+$	3,4 mmol/l
S- $\text{Cl}^-$	86 mmol/l
S- $\text{HCO}_3^-$	32 mmol/l
S-urea	17,8 mmol/l
S-kreatinin	142 $\mu\text{mol/l}$
S-osmolalita	269 mmol/kg

Stav hydratace se zhoršil (snížení kožního turgoru, suché sliznice, TK: 18,7/11,3 kPa; puls: 90 min. Tedy původní diagnóza opravena na hyponatremii při hypovolemii. Byl zvážen i další nález snížené hodnoty S- $\text{HCO}_3^-$  hypokalemiická alkalóza. Zvýšení hodnoty S-urea a S-kreatininu byla nyní posuzována jako mírná renální insuficience. Hypokalemie má asi příčinu pro ztráty  $\text{K}^+$  močí ( $U\text{-K}^+ > 20$  mmol/l). Z toho bylo usouzeno, že se nejedná o neadekvátní sekreci ADH, ale že hyponatremie a hypokalemie byla způsobena terapií diuretiky (chlorothiazid). Deplece  $\text{Na}^+$  (močové ztráty + nedostatečný přívod) navodily určitý stupeň hypovolemie, která vedla k stimulaci sekrece ADH.

#### Nová terapie:

Pacientce byl podán v infuzi fyziologický roztok (154 mmol/l NaCl), nejprve 3000 ml v prvních 24 hod. a pokračováno 2000 ml v dalších 24 hod. Současně byl podán roztok obsahující ionty  $\text{K}^+$  (80 mmol/24 hod).

#### Laboratorní vyšetření za 48 hod.:

S- $\text{Na}^+$	137 mmol/l
S- $\text{K}^+$	3,9 mmol/l
S- $\text{Cl}^-$	102 mmol/l
S- $\text{HCO}_3^-$	25 mmol/l
S-urea	4,8 mmol/l
S-kreatinin	65 $\mu\text{mol/l}$

Pacient dobře hydratován bez známek hyperhydratace.

#### Pacient s plicní insuficiencí a hypokalemií

Pacient, 55 let, s chronickou plicní obstrukční chorobou, který byl léčen delší dobu thiazidovými preparáty (jako diuretikum).



**Laboratorní vyšetření:**

pH	7,42
pCO <sub>2</sub>	11,6 (kPa)
HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	55 mmol/l
PO <sub>2</sub>	84 kPa
S-K <sup>+</sup>	2,6 mmol/l

**Otázka:**

O jakou poruchu v ABR se jedná?

**Odpověď:**

Chronické plicní onemocnění vede ke snížení výměny plynů: retence CO<sub>2</sub> → respirační acidóza, nedostatek O<sub>2</sub> → hypoxie → hypoxická laktátová acidóza.

Dlouhodobé užívání thiazidových preparátů vede ke ztrátám K<sup>+</sup> močí → hypokalemická metabolická alkalóza.

**Pacient s diabetem a srdeční vadou**

Pacient, 52letý muž, diabetik na inzulínové terapii, měl současně městnavou srdeční vadu, pro kterou užíval dlouhodobě digoxin a thiazidy.

**Laboratorní vyšetření:**

B-PH	7,41
S-K <sup>+</sup>	2,8 mmol/l
B-pCO <sub>2</sub>	4,3 (kPa)
S-Na <sup>+</sup>	132 mmol/l
B-HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	19 mmol/l
S-Cl <sup>-</sup>	83 mmol/l
anion gap	32,8 mmol/l
B-glukóza	85 mmol/l

**Otázka:**

Jaká porucha ABR u tohoto pacienta vznikla?

**Odpověď:**

Jde o smíšenou poruchu: metabolickou acidózu (diabetická ketoacidóza ev. laktátová acidóza typ B) a metabolickou alkalózu (hypokalemická, hypochloridemická alkalóza) při dlouhodobé diuretické terapii thiazidy.

**Poznámka:**

Kdyby pacient neměl metabolickou acidózu, pak by hodnota jeho B-HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> byla kolem 38 mmol/l (tj. 24 + [33 - 19]); a na druhé straně jeho metabolická diabetická acidóza by způsobila pokles B-HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> (kdyby neměl současnou metabolickou alkalózu) na hodnotu asi 14 mmol/l.

# Diseminovaná intravaskulární koagulopatie

## Ivana Hadačová

Diseminovaná intravaskulární koagulopatie (DIC syndrom) je vždy komplikací jiných závažných klinických stavů. Výrazně ovlivňuje jejich průběh a prognózu. Podkladem DIC je generalizovaná aktivace koagulačního systému s nadprodukcí trombinu v cirkulující krvi. To vede ke vzniku intravaskulárních trombóz a tkáňové hypoxii. Souběžně se aktivuje fibrinolytický systém, dochází k nadměrné spotřebě koagulačních faktorů s následným krvácením (viz obr. 1).

### Patofyziologie

Klíčovým momentem vzniku DIC je nadprodukce trombinu. Trombin vedle své hlavní funkce, tedy přeměny fibrinogenu na fibrin, aktivuje také faktory V, VIII a XIII a má aktivační efekt na krevní destičky. Zasahuje rovněž do aktivace proteinu C a S a přes tkáňový aktivátor plazminogenu (t-PA) i do fibrinolýzy.

Trombin je nejčastěji aktivován zevní cestou, tedy působením tkáňového faktoru (TF) na faktor VII. Tkáňový faktor je v malém množství exprimován na subendoteliálních buňkách. Zvýšení produkce s následným uvolňováním TF do oběhu může vyvolat např. infekce. Zdrojem TF může být i rozpad blastů, např. u akutní promyelocytární leukemie. Při rozsáhlých traumatech se uvolňuje TF z poškozených tkání. Bohatým zdrojem TF

je zejména mozková tkáň. Expresi TF na leukocytech a endoteliích posiluje endotoxin, tumor necrosis faktor (TNF) a interleukin-1 (IL-1).

Přirozeným inhibítorem TF je inhibitor tkáňového faktoru (TFPI). Nerovnováha mezi TF a TFPI hraje významnou úlohu při rozvoji DIC.

Přestože při rozvoji DIC se častěji uplatňuje aktivace zevní cestou, není vyloučena ani aktivace cestou vnitřní, tedy přes faktor XII. Na aktivaci faktoru XII se mohou účastnit komplexy antigenu a protilátky, endotoxin, mastné kyseliny. Touto cestou je rovněž startován DIC při popáleninách a při mimotělním oběhu. Aktivovaný faktor XII zasahuje do systému komplementu a generace bradykininu. Zvýšená hladina bradykininu je pak odpovědná za vznik hypotenze.

Důležitou roli u DIC hrají antikoagulační proteiny – antitrombin (AT), protein C (PC) a protein S (PS). Homozygotní formy vrozené deficiencie PC a PS mohou vést k rozvoji DIC u novorozence. Pacienti s heterozygotním nosičstvím těchto deficitů mají větší riziko DIC při infekci nebo po traumatu.

Neregulovaná tvorba trombinu a depozita fibrinu v cirkulaci jsou stimulem pro aktivaci fibrinolytického systému. Podílí se na ní aktivace t-PA a současně tlumení aktivity přirozených inhibítů fibrinolýzy, jako je inhibitor aktivátoru plazminogenu-1 (PAI-1) a inhibitor trombinem aktivované fibrinolýzy (TAFI). Vystupňovaná fibrinolýza spolu s nízkou hladinou faktorů spotřebovaných při aktivaci koagulačního systému vede ke krvácení.

### Etiologie

DIC může komplikovat různá akutní i chronická onemocnění. Nejčastější stavy spojené s rozvojem DIC uvádí tab. 1.

### Klinický obraz

DIC se vyskytuje v akutní i chronické formě. Jeho klinické projevy jsou velmi pestré, od asymptomatické formy po obraz šoku a smrti. Přitom na včasném rozpoznání této komplikace nejednou závisí prognóza základního onemocnění.

Akutní forma DIC se rozvíjí během minut až hodin. Krvácení může být od mírného, z čerstvých vpichů a ran, i dramatické, život ohrožující. Známkou aktivované fibrinolýzy, tedy pokročilého stadia DIC, je krvácení ze starších ran a vpichů. Časté je krvácení do kůže. Jeho nejtěžší forma, purpura fulminans, je rozsáhlé krvácení do kůže spojené s horečkou a hypotenzí. Nejčastěji ji vídáme u meningokokové sepsy a u deficitu proteinu C. S rozvojem trombóz v mikrocirkulaci souvisí poškození ledvin, jater, plic a CNS, projevující se poruchou jejich funkcí až multiorgánovým selháním. Okluze větších cév končetin může vyústit do gangrény. To, zda převládne složka krvácivá nebo trombotická, ovlivňuje charakter základního onemocnění a předchodí koagulační status pacienta. Obě složky se mohou objevit současně. Celkově máme vždy před sebou obraz závažně až kriticky nemocného pacienta.

Chronická forma DIC se rozvíjí během dní až týdnů. Provází např. velké vaskulární malformace, chronická zánětlivá a imunitní onemocnění, malignity. Klinicky bývá asymptomatická a dá se na ni usuzovat jen z podrobného hemokoagulačního vyšetření. Tato forma pak za určitých okolností může přejít ve formu akutní s velmi rychlým průběhem, protože již nasedá na stávající koagulační poruchu s nedostatkem kompenzačních mechanismů.

## Laboratorní vyšetření

Screeningové testy by měly být dostupné ve statimovém režimu na každém oddělení, kde bude pacient s DIC hospitalizován. Patří k nim kompletní krevní obraz (KO) včetně zhodnocení nátěru, protrombinový čas (PT), aktivoaný parciální trombotoplastinový čas (APTT), fibrinogen, D dimer a antitrombin (AT). Výhodné je použít některý z testů prokazujících aktivaci koagulačního systému - etanol gelifikační test, protaminsulfátový test aj. V KO hodnotíme počet trombocytů a zejména dynamiku jejich poklesu (např. trombocyty  $150 \times 10^9/l$  jsou ještě v normálním rozmezí, ovšem při vstupních hodnotách  $500 \times 10^9/l$  jde o významný pokles). V nátěru pátráme po fragmentovaných erytrocytech.

APTT a PT se u rozvinuté fáze DIC prodlužují. Hladina fibrinogenu v této fázi klesá, hraniční hodnoty ale DIC nevyklučují.

D dimer je markerem tvorby fibrinu a jeho odbourávání plazminogenem. Jde o citlivý, ale nespecifický test. Jeho pozitivita u rozsáhlých zánětů, traumat a v pooperačním období ještě neznamená rozvoj DIC.

AT klesá v důsledku konsumpce při aktivaci koagulačního systému. U chronické formy DIC může být i zvýšen jako jeden z kompenzačních mechanismů.

Testy k průkazu aktivace systému jsou důležité v iniciálních fázích DIC, popř. u jeho chronické formy, kde mohou představovat jediný dostupný marker.

Doplňující testy je s výhodou použít u některých specifických situací (PC u meningokokové sepse), při minimálních změnách na začátku rozvoje DIC a u jeho chronické formy. Patří k nim vyšetření hladin faktorů (V, VII, VIII), aktivity plazminogenu, PAI-1, PS.

Obecně lze říci, že žádný z laboratorních testů není stoprocentně specifický pro DIC. Všechny výsledky je nutné posuzovat celkově a nejdůležitější je jejich dynamika v souvislosti s klinickými známkami.

## Diagnóza

Na DIC je nutné myslet u pacientů se závažným onemocněním, u nichž se objeví neočekávané krvácivé projevy (petechie, krvácení z ran, gastrointestinální krvácení aj.), příznaky orgánového poškození (renální selhávání, poškození jater, plic, CNS, kožní nekrózy) anebo známky cytokinové reakce (tachykardie, hypotenze, šok). Diagnózu podpoří výše uvedená laboratorní vyšetření.

## Diferenciální diagnóza

Od DIC musíme odlišit fulminantní jaterní selhání, mikroangiopatické hemolytické anemie (hemolyticko-uremický syndrom, trombotická trombocytopenická purpura), ITP, stavy po mimotělním oběhu, vrozené a získané deficiencie faktorů. Vzácná, ale klinicky a laboratorně velmi podobná, je katastrofická forma APS. Pozor na laboratorní chyby, způsobené nesprávným odběrem vzorku!

## Léčba

Při léčbě DIC je vždy nutno mít na paměti, že jde o sekundární poruchu. V první řadě se tedy snažíme zvládnout základní onemocnění - léčba koagulační poruchy je jen podpůrná. Nepodaří-li se odstranit základní příčinu, nemůže být terapie DIC trvale úspěšná. Samozřejmě by měla být stabilizace oběhových parametrů, přiměřená ventilační podpora a diuréza. Pacient s podezřením na DIC vždy patří na jednotku intenzivní péče, která

je schopna takovou péči poskytnout. Nezbytná je návaznost na koagulační laboratoř, krevní banku event. další specializované obory podle základního onemocnění. Výhodná je spolupráce s klinickým hematologem.

Léčba koagulační poruchy se skládá z přerušení aktivace a doplnění chybějících součástí systému.

Heparinem se snažíme zabránit nadměrné tvorbě trombinu. Tato léčba je účinná u chronické formy DIC, u akutní formy jen v iniciálních fázích. Lze volit standardní heparin v dávce  $5 - 10 \text{ U/kg/h}$  i.v., bez aplikace úvodního bolusu. Užití nízkomolekulárního heparinu (LMWH) je dle některých studií výhodnější, podává se preventivní dávka doporučená výrobcem, nejlépe rozděleně po 12 hodinách. LMWH má přednost zejména u chronické formy DIC.

Substituce AT není sice obecně přijímána, podle našich zkušeností však má u DIC svůj význam. Snažíme se udržet aktivitu AT nad 80 %, u DIC při sepsi nad 100 %. Vycházíme z výpočtu, že podaná jedna U/kg hmotnosti pacienta zvýší aktivitu o 1 %. AT lze podávat po 8 hodinách nebo v kontinuální infuzi. Vzhledem k běžící konsumpci je nutné dávkování upravit dle aktuálních hodnot

Čerstvě zmrazená plazma (FFP) je indikována při výraznějším poklesu hladin koagulačních faktorů (při poklesu PT pod 50 % nebo INR nad 1,5). Obvyklá dávka  $10 - 15 \text{ ml/kg}$  zvýší hladinu koagulačních faktorů cca o 10 - 20 %. Substituce mrazenou plazmou by měla být podána jen při dostatečné hladině AT.

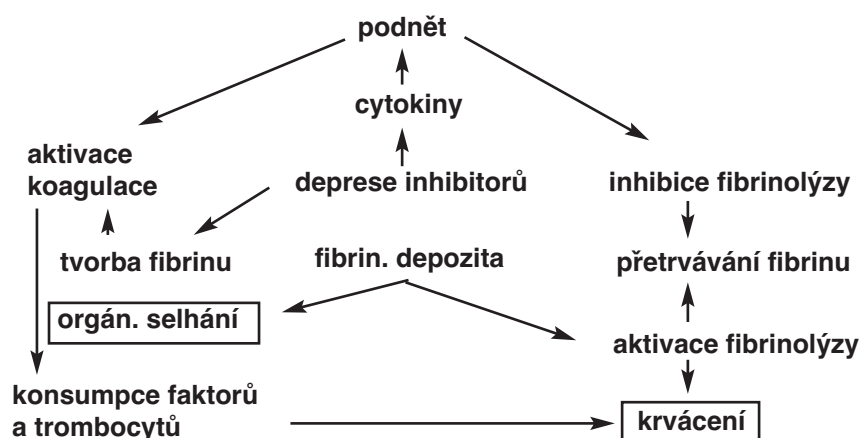
Trombocytární koncentrát - podáváme při poklesu trombocytů pod  $50 \times 10^9/l$ . Předpokládáme, že trombocytární náplav od 1 dárce zvýší počet trombocytů o  $10 - 12 \text{ tis./m}^2$ , u novorozenců cca o 30 tis. (1 TU destiček z aferézy odpovídá dávce od cca 6 dárců).

Substituce PC je indikována u jeho významného poklesu. Její dobrý efekt je popisován u pacientů s meningokokovou sepsí. U nás zatím této léčbě brání špatná dostupnost preparátu a v neposlední řadě i jeho vysoká cena.

V některých situacích je vhodné zvážit i další alternativy (antifibrinolytika, koncentráty faktorů). Jejich indikaci konzultujeme vždy s klinickým hematologem a vycházíme z výsledků speciálních vyšetření. V opačném případě mohou celý proces posunout nežádoucím směrem.

## Prognóza

Prognóza DIC záleží na základním onemocnění. Rozvinutá forma DIC je vždy pro pacienta závažným rizikem, podle některých studií mortalita DIC převyšuje 60 %. Vysokou úmrtností je zatížen DIC u meningokokové sepse (10 – 40 %), septický DIC u novorozenců (90 %), DIC u nádorových onemocnění (60 %) a polytraumat (30 – 60 %).



Obrázek 1: Schéma rozvoje DIC

<b>Akutní forma DIC</b>
- infekce, sepse
- polytraumata
- popáleniny
- hemolytické transfuzní reakce
- těžká jaterní onemocnění
- rozsáhlé tkáňové nekrózy
- porodnické komplikace
- hadí uštknutí
<b>Chronická forma DIC</b>
- nádorová onemocnění
- rozsáhlé cévní malformace
- autoimunitní choroby

Tabulka 1: Etiologie DIC

## Ledviny, močové cesty

### Richard Průša, Jaroslav Masopust

#### Urea

Urea (močovina) je konečným produktem metabolismu bílkovin, vzniká v cyklu močoviny v hepatocytech. Hodnoty v séru jsou závislé na množství bílkovin ve stravě. 40 – 50 % močoviny je v tubulech zpětně resorbováno. S uremickými symptomy koreluje lépe než kreatinin.

#### Referenční rozmezí:

		sérum	moč
0 – 2 týdny			2,5 – 3,3 mmol/24 hod.
2 – 6 týdnů			10 – 17 mmol/24 hod.
0 – 6 týdnů		0,7 – 5,0 mmol/l	
6 týdnů – 1 rok		0,4 – 5,4 mmol/l	29 – 123 mmol/24 hod.
1 – 15 let		1,8 – 6,7 mmol/l	67 – 333 mmol/24 hod.
15 – 60 let	muži ženy	2,8 – 8,0 mmol/l 2,0 – 6,7 mmol/l	
15 – 60 let			167 – 583 mmol/24 hod.
60 – 90 let		2,9 – 8,2 mmol/l	
nad 90 let		3,6 – 11,1 mmol/l	

#### Indikace:

K diagnostice renálního selhání, krvácení do horní části gastrointestinálního traktu, hodnocení výživy u pacientů s excesivním katabolizmem (popáleniny, maligní tumory).

#### Interpretace:

Zvýšení: snížené vylučování ledvinou, prerenální hyperuremie (např. šokové stavy, městnavé srdeční selhání, dehydratace – zvracení, průjem, pocení), postrenální hyperuremie (obstrukce močových cest – zvýšená hodnota indexu urea/kreatinin), zvýšená produkce při katabolizmu bílkovin – krvácení do GIT, akutní infarkt myokardu, stres.

Snížení: těžké poškození jater, hyperhydratace (včetně SIADH), malnutrice, těhotenství, anabolické hormony, dědičné hyperamonemie, někdy u nefrotického syndromu.

#### Kreatinin

Kreatinin je tvořen hydrolýzou z kreatinu a z kreatinfosfátu ve svalech, nebo pochází ze stravy (z masa a výrobků z masa). Je volně filtrován glomerulem, secernován v proximálním tubulu, částečně též resorbován.

#### Referenční rozmezí:

Děti	sérum	moč	dU krea/24 hod.
0 – 7 dní	53 – 97 umol/l	1,2 – 4,4 mmol/l	0,4 – 0,6 mmol
7 – 31 dní	27 – 62 umol/l	1,2 – 4,4 mmol/l	0,4 – 0,6 mmol/l
1 měsíc – 1 rok	4 – 35 umol/l	0,4 – 5,4 mmol/l	0,5 – 1,2 mmol/l
1 rok – 5 let	4 – 40 umol/l	5,7 – 14,7 mmol/l	1,0 – 4,2 mmol/l
6 let – 9 let	18 – 46 umol/l	5,7 – 14,7 mmol/l	3,3 – 9,2 mmol/l
10 – 11 let	19 – 52 umol/l	5,7 – 14,7 mmol/l	3,3 – 9,2 mmol/l
12 – 18 let	19 – 62 umol/l	5,7 – 14,7 mmol/l	3,3 – 9,2 mmol/l
Dospělí			
muži	55 – 96 umol/l	5,7 – 14,7 mmol/l	7,1 – 17,7 mmol/l
ženy	44 – 66 umol/l	5,7 – 14,7 mmol/l	5,3 – 15,9 mmol/l

**Omezení a interference:**

Hemolýza do 5 g/l, bilirubin do 427 umol/l a triacylglyceroly do 5,65 mmol/l neinterferují. Interference: Jaffého reakce není specifická pro kreatinin, pozitivní reakci poskytují i pyruvát, acetacetát, oxalacetát, kyselina askorbová, glukóza, ketolátky. U některých onemocnění (např. diabetes mellitus) jsou zvýšeny i další Jaffé pozitivní látky, které mohou ovlivnit výsledek měření. Specifitu stanovení je možno zvýšit kinetickým nebo enzymatickým měřením.

**Indikace:**

Sérový kreatinin je používán k diagnostice renálního selhání. Je mnohem senzitivnější a specifitější indikátor renálních chorob než vyšetření močoviny. Simultánní stanovení poskytuje dodatečné informace. Vyšetření močoviny a kreatininu v séru nejsou užitečná pro odhalení časného stadia renálního selhání, protože patologických hodnot dosahují teprve tehdy, až je glomerulární filtrace snížena pod 50 %. Sérový kreatinin má tedy nízkou senzitivitu, ale vysokou specifitu. Zvýšení kreatininu se objevuje až u 20 % pacientů užívajících aminoglykosidy nebo methicilin. Clearance kreatininu je používána pro hodnocení glomerulární filtrace ledvin.

**Interpretace:**

Zvýšení: dieta (maso), gigantismus, akromegalie, prerenální, renální a postrenální hyperuremie (renální selhání), polytraumata, operační poškození svalů

Snížení: těhotenství, terapie některými léky (cimetidin, trimethoprim), úbytek svalové hmoty (atrofie svalstva, dlouhodobá imobilizace)

**Cystatin C**

Nízkomolekulární inhibitor cysteinových proteáz produkovaný všemi jadernými buňkami a secernovaný do krve. Je volně filtrován do moči, metabolizován v proximálním tubulu. Je nezávislý na pohlaví, věku, množství svalové hmoty, jaterní cirhóze. Netřeba korekce na výšku a hmotnost. Je vhodnějším markerem než sérový kreatinin.

**Referenční rozmezí:** (pro obě pohlaví)

0 – 1 měsíc	1,64 – 2,59 mg/l
1 měsíc – 1 rok	0,73 – 1,38 mg/l
1 – 50 let	0,55 – 1,15 mg/l
nad 50 let	0,63 – 1,44 mg/l

**Indikace:**

Hodnocení renální funkce (odhad glomerulární filtrace podle rovnice Larssonovy nebo Grubbovy), senzitivní marker funkce štěpu po transplantaci.

**Interpretace:**

Zvýšení: snížení glomerulární filtrace (renální selhání), léčba glukokortikoidy (nevýhoda)

**Osmolalita**

Vyšetřovaný materiál: sérum, moč, plazma

**Referenční rozmezí:**

sérum	0 – 60 let	285 – 295 mmol/kg H <sub>2</sub> O pro obě pohlaví
	60 – 90 let	280 – 301 mmol/kg H <sub>2</sub> O pro obě pohlaví
	nad 90 let	277 – 301 mmol/kg H <sub>2</sub> O pro obě pohlaví
moč	0 – 6 měsíců	377 – 547 mmol/kg H <sub>2</sub> O pro obě pohlaví
	6 – 12 měsíců	597 – 1163 mmol/kg H <sub>2</sub> O pro obě pohlaví
	1 – 60 let	50 – 1400 mmol/kg H <sub>2</sub> O pro obě pohlaví

**Metody stanovení:**

kryoskopicky

**Indikace:**

Hodnocení renální funkce (koncentrační schopnost ledvin), event. koncentrační pokus s ADH.

**Interpretace:**

Při restrikci tekutin normální hodnota je více než 800 mOsm/kg, hodnoty pod 400 mOsm/kg značí těžké poškození ledvin. Velmi užitečné je vyšetření u pacientů s diabetes mellitus, esenciální hypertenzí, latentní pyelonefritidou. Užitečný je také poměr osmolality v moči a v séru (náhodný vzorek moči: 1,0 – 3,0; při restrikci tekutin: více než 3,0).

**NAG (N-acetyl-beta-D-glukosaminidáza)****Vyšetřovaný materiál:**

moč

**Referenční rozmezí:**

0 – 15,7 nkat/umol kreatininu

**Indikace:**

Stavy, které vedou k akutnímu poškození tubulů (nefrotoická antibiotika – např. gentamicin, cytostatika, imunosupresiva apod.).

**Interpretace:**

Důležité je dynamické sledování v moči, náhlý vzestup je známkou nástupu nefrotoické poruchy, pokles známkou odeznívání.

**Beta-2-mikroglobulin**

Jedná se o bílkovinu s velmi malou molekulovou hmotností, která snadno přechází do glomerulárního filtrátu. Většina je pak zpětně resorbována proximálními tubuly a degradována v lysosomech. Při poruše tubulární zpětné resorpce a degradace vzniká zvýšené vylučování beta-2-mikroglobulinu močí. V kyselém moči se však rozkládá (nevýhoda).

**Vyšetřovaný materiál:**

sérum, moč

**Referenční rozmezí:**

sérum: 1 – 2,3 mg/l pro obě pohlaví, moč: 20 – 120 ug/den

**Indikace:**

poškození tubulární funkce ledvin

**Interpretace:**

U glomerulonefritidy a cystitidy jsou normální hodnoty, u pyelonefritidy, nefrotického syndromu, a chronického renálního selhání zvýšení v moči cca 10x, u nefrotoického poškození ledvin např. aminoglykosidy je zvýšení v moči až 100x, zvýšení v moči nastává 2 – 7 dnů před zvýšením S-kreatininu. Zvýšení beta-2-mikroglobulinu v séru a snížení v moči je známkou rejekce trasplantovaného štěpu ledviny. Někdy je vhodné stanovit clearance beta-2-mikroglobulinu.

**Alfa-1-mikroglobulin**

Jde o část molekuly glykoproteinu produkovaného v játrech, který tvoří v plazmě komplex s IgA. V moči je stálý i při kyselém pH, proto se hodí lépe pro diagnostiku tubulárních lézí než beta-2-mikroglobulin.

**Vyšetřovaný materiál:**

moč

**Referenční rozmezí:**

15 – 60 let: 2 – 12 mg/l pro obě pohlaví

**Indikace:**

tubulární poškození ledvin

**Interpretace:**

Zvýšení v moči při nefrotoxickém účinku cyklosporinu, aminoglykosidů, cytostatik, olova, kadmia, u intersticiální nefritidy, u ischemie ledvin, diabetické nefropatie. Snížení koncentrace je u odloučení transplantované ledviny.

**Mikroalbuminurie**

Mikroalbuminurie je projevem generalizovaného patologického procesu, který poškozuje cévní systém, jedná se o zvýšení transkapilární pasáže albuminu. Mikroalbuminurie tak představuje velmi vhodný marker, který ukazuje na generalizovanou cévní hyperpermeabilitu.

**Vyšetřovaný materiál:**

moč

**Referenční rozmezí:**

pro obě pohlaví 15 – 60 let: 2,5 – 26 mg/24 hodin

**Indikace:**

diabetes mellitus, preeklampsie, esenciální hypertenze

**Interpretace:**

U většiny zdravých dospělých nepřekročí vylučování albuminu močí 15 ug/min, tj. 20 mg/den (normoalbuminurie). Velká variabilita ve vylučování albuminu (až do 30 mg/den) závisí na prokrvení ledvin, na svalové námaze, na změně polohy těla, na prochlazení apod. Rozmezí 20 – 200 ug/min se označuje jako mikroalbuminurie.

**Sodné ionty v moči****Referenční rozmezí:**

	<b>moč (dU) (za 24 hodin)</b>
0 – 6 měsíců	0 – 10 mmol
6 měsíců – 2 roky	10 – 30 mmol
2 – 8 let	20 – 60 mmol
8 – 15 let	50 – 120 mmol
15 – 60 let	120 – 220 mmol

**Indikace:**

Hodnocení renální funkce, diferenciální diagnostika akutní prerenální a renální hyperuremie.

**Interpretace:**

U prerenální hyperuremie bývá koncentrace U-Na<sup>+</sup> pod 15 mmol/l, u renální hyperuremie nad 30 mmol/l.

**Clearance kreatininu****Vyšetřovaný materiál:**

moč, sérum

**Odběr:**

Do skla nebo plastu bez úpravy nebo se separačním gelem (sérum), plast bez úpravy (moč), moč sbírat do plastových lahví bez konzervačních přísad, pokud nedodáte do laboratoře celý objem moče, moč důkladně promíchejte, změřte objem s přesností na 10 ml a odlijte vzorek. Na žádanku vyznačte přesně dobu sběru a objem moče. Před vyšetřením je nevhodná dieta s vyšším obsahem masa nebo větší fyzická zátěž.



### Manipulace s materiálem (transport):

Do laboratoře musí být vzorek transportován v den odběru, materiál musí být zpracován do 8 hodin po odběru. Pro delší skladování lze vzorky skladovat při -20°C. Po rozmrazení se už nesmí znovu mrazit. Moč lze skladovat 6 dnů při 4 – 8°C.

### Referenční rozmezí:

(ml/s korigované na standardní tělesný povrch 1,73 m<sup>2</sup>)

Pro obě pohlaví	0 – 2 týdny	0,25 – 0,75 ml/s
	2 týdny – 6 měsíců	0,583 – 1,43 ml/s
	6 měsíců – 1 rok	1,05 – 1,52 ml/s
	1 – 3 roky	1,23 – 1,97 ml/s
	3 – 13 let	1,57 – 2,37 ml/s

Muži	13 – 50 let	1,63 – 2,6 ml/s	Ženy	13 – 50 let	1,58 – 2,67 ml/s
	50 – 60 let	1,2 – 2,4 ml/s		50 – 60 let	1 – 2,1 ml/s
	60 – 70 let	1,05 – 1,95 ml/s		60 – 70 let	1,05 – 1,95 ml/s
	nad 70 let	0,7 – 1,8 ml/s		nad 70 let	0,7 – 1,8 ml/s

### Omezení a interference:

Hemolýza do 5 g/l, bilirubin do 427 umol/l a triacylglyceroly do 5,65 mmol/l neinterferují. Interference: Jaffého reakce není specifická pro kreatinin, pozitivní reakci poskytují i pyruvát, acetacetát, oxalacetát, kyselina askorbová, glukóza, ketolátky. U některých onemocnění (např. diabetes mellitus) jsou zvýšeny i další Jaffé pozitivní látky, které mohou ovlivnit výsledek měření. Specifitu stanovení je možno zvýšit kinetickým měřením, nebo lépe enzymatickým stanovením kreatininu.

### Indikace:

Hodnocení glomerulární filtrace, zejména pro potřeby úpravy dávkování léků při farmakokinetickém monitorování pacientů.

### Interpretace:

Pokud je S-kreatinin méně než horní referenční mez dle věku a pohlaví, je stanovení clearance kreatininu senzitivním vyšetřením glomerulární filtrace. U diskrétních nebo velmi rychlých změn renální funkce je vhodné vyšetření frakcionované clearance kreatininu (eliminace kompenzačního mechanismu) po 8, 6, 4 event 3 hodinách. Při hodnotách S-kreatininu vyšších než horní referenční mez, je hodnota clearance kreatininu ovlivněna významně také tubulární sekrecí kreatininu (až 80 % kreatininu vyloučeného močí).

Pro přesnější odhad glomerulární filtrace v případě, kdy koncentrace S-kreatininu jsou vyšší než horní referenční mez, jsou vhodné následující postupy: 1. vyšetření S-cystatinu C a výpočet dle rovnice Grubbovy nebo Larssonovy, 2. vyšetření S-kreatininu a výpočet dle rovnice Schwartzovy u dětí nebo dle MDRD u dospělých. Odhad GFR dle cystatinu C je vhodné omezit pro hodnoty vyšší než 0,5 ml/s, naopak odhad GFR dle Schwartzovy nebo MDRD na hodnoty nižší než 1,0 ml/s.

## Moč chemicky

### Vyšetřovaný materiál:

moč

### Referenční rozmezí:

pH 5,5 – 7,0, specifická hmotnost 1,002 – 1,030, urobilinogen pozitivní, ostatní negativní

## Omezení a interference vyšetření moče chemicky:

Parametr	falešně pozitivní výsledky	falešně negativní výsledky
glukóza	oxidační látky (chlor, chlornany); kyselina močová s pH < 4	kyselina askorbová
protein	vysoká koncentrace hemoglobinu, vysokomolekulární látky, dezinfekční roztoky, alkalická moč s pH > 8	kyselina močová s pH < 3
bilirubin		kyselina askorbová, kyselina močová, nitrity
urobilinogen	karbapeny	
pH	s časem stoupá pH moče	
specifická hmotnost	nízké pH moče, koncentrace proteinů vyšší než 5 g/l	vysoce alkalické pufrы
krev	oxidační látky (chlor, chlornany)	zvýšené hodnoty specifické hmotnosti, zvýšená koncentrace proteinů, kyselina askorbová
ketolátky	L-Dopa, BSP, PSP, fenyketony, cefalosporin, inhibitor redukcujících aldóz	
nitrity		kyselina askorbová, zvýšené hodnoty specifické hmotnosti
leukocyty	formaldehyd	glukóza > 28 mmol/l, protein >3g/l, zvýšené hodnoty specifické hmotnosti, nízké pH moče

BSP-bromsulfoftalein, PSP-fenolsulfoftalein

## Celková bílkovina v moči

### Referenční rozmezí:

Odpad moči: (za 24 hodin)

do 4 týdnů	9 – 200 mg
4 týdny – 8 let	3 – 80 mg
8 – 15 let	3 – 100 mg
15 - 60 let	20 – 150 mg

Odpad moči na m<sup>2</sup> (za 24 hodin): 0 – 96 mg/m<sup>2</sup>

### Indikace:

Fyziologické a patologické proteinurie (zvýšené vylučování bílkoviny moči – více než 150 mg/den).

### Interpretace:

Jen podle ztrát bílkoviny moči nelze usuzovat na závažnost onemocnění. K odlišení glomerulární proteinurie selektivní od neselektivní je vhodné stanovit v moči albumin a IgG. Pro tubulární proteinurie je typické zvýšení např. alfa-1-mikroglobulinu v moči, pro tubulointersticiální infekce vzestup IgG bez výraznějšího vzestupu albuminu. Postrenální proteinurii je možné prokázat stanovením alfa-2-makroglobulinu nebo apolipoproteinu AI v moči. Prerenální proteinurie je přítomnost proteinů v moči, které se normálně v plazmě nevyskytují (nebo jen ve velmi malých koncentracích): Bence Jonesova bílkovina, hemoglobin, myoglobin.

## Močové elementy

### Referenční rozmezí:

erytrocyty	< 10 částic/ul
leukocyty	< 20 částic/ul
dlaždicové epitelie	< 15 částic/ul
bakterie	negativní
kvasinky	negativní

### Omezení a interference:

Všechny výsledky jsou posuzovány a případně editovány operátorem na obrazovce. V případě nejasností je třeba vyšetřit močový sediment ve světelném mikroskopu.

Vzorky s velkým počtem částic (silná hematurie nebo zákal) by mohly ovlivnit výsledky dalších vzorků, takový materiál je třeba analyzovat ve světelném mikroskopu.

Metody stanovení: automatizovaná počítačem řízená mikroskopie

### Biochemické vyšetření při urolitiáze

#### 1. Vyšetření metabolických rizikových faktorů urolitiázy

Za rizikové lithogenní faktory považujeme hyperkalcemii, hyperkalciurii (více než 6,25 mmol/den, Nordinův index více než 0,592), hyperurikosurii (U-urát/kreatinin více než 0,300), hyperoxalurii (U-oxalát/kreatinin více než 0,030), hypnatriurii (více než 200 mmol/den), hyperfosfaturii (více než 35 mmol/den), hypersulfaturii (více než 30 mmol/den), hypercystinurii (více než 1,7 mmol/den). Rizikovým faktorem je trvale nízké pH moči pod 5,5, které zvyšuje podíl nedisociované močové kyseliny, nebo naopak trvale zvýšené pH moči více než 7,0, které podporuje vylučování kalciumfosfátu (u RTA distálního typu). Mezi inhibitory litogeneze patří magnesiurie, citraturie a dostatečná diuréza, proto rizikovým faktorem je hypomagnesiurie (U-Mg/kreatinin méně než 0,020, nebo méně než 2,5 mmol/den, nebo index U-Ca/Mg větší než 2,0), hypocitraturie (méně než 1,7 mmol/den) a diuréza menší než 2 l/den.

#### 2. Vyšetření močového konkrementu

Celkem je známo asi 40 látek, které se mohou vyskytovat v lidských močových kamenech. Konkrementy se nejčastěji vyskytují ve formě směsí. Nejvhodnější vyšetření jsou polarizační mikroskopie, infračervená spektroskopie a event. rentgenová difrakce. K označení konkrementu je nejspříhodnější používat mineralogickou nomenklaturu.

#### 3. Monitorování průběhu léčby urolitiázy

Vyšetření při sledování průběhu dietní a medikamentózní léčby zahrnuje vyšetření litogenních faktorů v séru a v moči (v moči též kvantitativně ze sběru za 24 hodin), dále acidobazické rovnováhy v krvi, kvalitativní vyšetření moči chemicky, mikroskopické vyšetření močových elementů, mikrobiologické vyšetření moči. Vyšetření se provádí ambulantně zpočátku každých 6 týdnů po nasazení léčby, při úpravě každých 6 měsíců.

### Kazuistiky

#### Pacient s náhlým renálním selháním

Muž 50 roků, byl přijat na JIP pro hrozící rupturu aneurysmatu aorty. Krevní tlak: 14,6/8 kPa (110/60 torr), puls 100/min. Vyšetření před 4 dny ukázalo normální nález hladin elektrolytů; S-urea = 5,8 mmol/l, S-kreatinin = 98 umol/l.

#### Současný stav:

Biochemická vyšetření		Moč	normální nález
S-Na <sup>+</sup>	147 mmol/l	Sediment	normální nález
S-K <sup>+</sup>	42 mmol/l	Na <sup>+</sup>	46 mmol/l
S-Cl <sup>-</sup>	108 mmol/l	Cl <sup>-</sup>	20 mmol/l
P-HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	28 mmol/l	urea	370 mmol/l
S-urea	22 mmol/l	kreatinin	64 mmol/l
S-kreatinin	202 umol/l	osmolalita	540 mmol/l
S-osmolalita	317 mmol/kg		
		Indexy	
		FE <sub>Na+</sub>	0,98 %
		FE <sub>Cl-</sub>	0,57 %
		U/S kreatinin	32
		U/S osmolalita	1,7
		U/S urea	16,8
		S urea/kreatinin	110

**Otázka:**

1. O jakou formu akutního renálního selhání se jedná (prerenální nebo renální)?

**Odpověď:**

Jde pravděpodobně o prerenální formu akutního renálního selhání. Svědčí pro to  $FE_{Cl^-}$  negativní močový sediment; naproti tomu  $FE_{Na^+}$  by ukazovalo spíše na akutní tubulární nekrózu, tedy renální formu akutního renálního selhání. Ostatní indexy nejsou jednoznačné.

**Diferenciálně diagnostická poznámka:**

Příčinou akutního renálního selhání může být:

1. snížený průtok krve ledvinou - prerenální uremie (funkční porucha)
2. poškození parenchymu - renální uremie (vazomotorická nefropatie = akutní tubulární nekróza)
3. obstrukce v močovém traktu - postrenální uremie

Akutní renální selhání je možno definovat jako náhlé, často přechodné snížení glomerulární filtrace. Je charakterizováno rychlým vzestupem urey a kreatininu v plazmě a je obvykle (ne vždy) spojeno s oligurií (pod 400 ml/den). Je naprosto nezbytné provést správné rozlišení formy (prerenální, renální, postrenální), aby bylo možno zavést adekvátní terapii.

**Biochemické vyšetření zahrnuje:**

- (a) stanovení S-urey a S-kreatininu
- (b) stanovení S- $K^+$ , S- $Na^+$ , S- $Cl^-$ , S-osmolalita
- (c) vyšetření moče a močového sedimentu na patologické součásti
- (d) vyšetření acidobazické rovnováhy
- (e) vyšetření elektrolytů a osmolality v moči
- (f) výpočet indexů

**Stav hydratace (krevní tlak):**

Prerenální uremie je obvykle spojena s dehydratací nebo hypovolemií, která vede k hypoperfuzi. Je současně i hypotenze. Vylučování látek močí je sníženo (urea,  $Na^+$ ). Nedojde-li však k úpravě prokrvení ledvin a tím k pokračující ischemii, vzniká trvalé poškození (kupř. „šoková“ ledvina). Je proto nutná rychlá rehydratace a remineralizace. Tato terapie rychle napraví stav oligurie.

**Diuréza:**

Oligurie při normálním krevním tlaku u dobře hydratovaného jedince je obvykle spojena s organickým poškozením ledvin (renální tubulární nekróza). V moči je zvýšený odpad kupř.  $Na^+$ , urey.

**Diferenciálně diagnostická tabulka:**

Test	Jednotka	Hodnoty	
		Prerenální uremie	Renální uremie
U- $Na^+$	mmol/l	5 – 35 (při zvracení 50 – 120)	20 – 130
$FE_{Na^+}$	%	0,2 – 1,0	1,0 – 8,0
U- $Cl^-$	mmol/l	5 – 25	25 – 140
$FE_{Cl^-}$	%	0,10 – 1,0	1,0 – 9,0
U/S osmolalita		1,0 – 3,0	0,9 – 2,6
U/S urea		0,5 – 90 (odvisí od příjmu bílkovin v dietě event. rozpadu tkáňových proteinů)	0,5 – 30
U/S-kreatinin		20 – 130	1 – 55
S-urea/kreatinin		30 – 140	15 – 140

S- $K^+$  je většinou normální u funkční uremie, u akutní tubulární nekrózy je většinou hyperkalemie.

ABR odvisí od charakteru a doby trvání akutní tubulární nekrózy; je-li těžká a déle trvající, je provázena metabolickou acidózou se zvýšeným anion-gap; u prerenální uremie není obvykle ABR patologické, i když opět odvisí od příčiny, která sama primárně ovlivní ABR (diabetická ketoacidóza, metabolická alkalóza při zvracení - oba stavy jsou sdruženy s dehydratací, která vede k hypovolemii → snížení GFR → prerenální uremie).

**Močový sediment:**

Nález granulovaných válců, hematurie, svědčí spíše pro akutní tubulární nekrózu; nekomplikovaná prerenální uremie má negativní nález v močovém sedimentu.

**Léčení:**

Prerenální uremie vyžaduje především úpravu hypovolemie (fyziologický roztok u dehydratace, krev u krvácení). Renální poškození vyžaduje obvykle hemodialýzu nebo peritoneální dialýzu.

**Pacient s chronickým renálním selháním**

Pacientka, 48 roků, si stěžovala na trvalé bolesti hlavy, svalovou slabost, únavu, ztrátu hmotnosti a nedostatek energie.

**Klinické vyšetření:**

Žena dobře hydratovaná, hubená, úzkostlivá, bledá, bez specifických příznaků; krevní tlak: 20/12,6 kPa (=150/95 torr). Před 6 lety údajně měla infekci močového ústrojí. V době přijetí užívala léky proti psychické depresi.

**Laboratorní vyšetření:**

S-Na <sup>+</sup>	142 mmol/l	U-Na <sup>+</sup>	69 mmol/l
S-K <sup>+</sup>	5,4 mmol/l	U-K <sup>+</sup>	38 mmol/l
S-Cl <sup>-</sup>	114 mmol/l	U-kreatinin	5,0 mmol/l
P-HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	18 mmol/l	clearance kreatininu	0,70 ml/s
S-urea	15 mmol/l	FE-Na <sup>+</sup>	2,6 %
S-kreatinin	275 umol/l	FE-K <sup>+</sup>	37 %
S-osmolalita	306 mmol/l	U-osmolalita	430 mmol/kg
S-Ca	2,30 mmol/l		
S-fosfát	0,94 mmol/l		
P-parathyrin	11,5 U/l (Norma: 2,0 – 6,0 U/l)		

Poznámka: FE = frakční exkrece (v %)

Kupř.:  $FE_{Na^+} = (U-Na^+/S-Na^+) / (S-kreatinin/U-kreatinin) \times 100$

**Otázka:**

1. Jaká je diagnóza?

**Odpověď:**

Hyperkalemická, hyperchloridemická (normální anion gap) metabolická acidóza sdružená s chronickou renální insuficiencí.

2. Co přichází diferenciativně diagnosticky v úvahu jako příčina hyperkalemické metabolické acidózy s normálním AG?

**Odpověď:**

- (a) začínající uremická acidóza
- (b) obstrukční uropatie
- (c) insuficience mineralokortikoidů

3. Jaké základní biochemické vyšetření se použije při diferenciativní diagnostice?

**Odpověď:**

- (a) vyšetření moče a močového sedimentu
- (b) v séru: kreatinin, urea, Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>, Cl<sup>-</sup>, anorg. fosfát, Ca, osmolalita, v moči: kreatinin, urea, Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>, Cl<sup>-</sup>, osmolalita
- (c) v krvi: parametry ABR (pCO<sub>2</sub>, pH, HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>)

**Výpočty:**

S-urea/kreatinin, clearance kreatininu,  $FE_{Na^+}$ ,  $FE_{Cl^-}$ , anion gap

### **Diferenciálně diagnostická úvaha:**

Vzestup hladiny sérového kreatininu může mít 2 příčiny:

- snížení glomerulární filtrace (=GFR) pod 50 %

- analytický artefakt způsobený ne-kreatininovými Jaffé-pozitivními chromogeny (acetoacetát při ketóze nebo některé léky jako cefoxitin)

Vyloučíme-li analytickou interferenci, pak je příčinou snížení GFR, které může mít následující důvody:

(a) prerenální: (šok/hemorhagie, dehydratace, kongestivní srdeční vada – tedy příčiny vedoucí ke sníženému prokrvení ledvin)

(b) renální: akutní a chronické renální selhání

(c) postrenální: (obstrukční léze močového ústrojí)

Důležité je rozlišit prerenální od renální formy ledvinové nedostatečnosti. Rozlišovacím kritériem bývá považován poměr mezi sérovou ureou a kreatininem: hladina urey roste mnohem rychleji než hladina kreatininu. Souvisí to s rozdílem chování urey v renálních tubulech po filtraci v glomerulech: zpětná resorpce močoviny je asi 40% v případě, že diuréza je vyšší než 1 – 2 ml/min; poklesne-li pod 0,5 ml/min kupř. dehydratací (snížení cirkulujícího objemu), pak zpětná resorpce stoupne na 60 %; naproti tomu kreatinin nepodléhá tubulární zpětné resorpci, ale tubulární exkreci (asi 10 % profiltrovaného; toto množství se však zvyšuje při zvyšování kreatininemie). Z výše uvedených důvodů je při poklesu GFR zvýšena výrazněji S-urea u prerenální uremie ve srovnání s S-kreatininem. Poměr S-urea/kreatinin (obojí vyjádřené v mmol/l) je vyšší než 50 u prerenální formy, zatímco u renální příčiny, kdy je snížen počet fungujících nefronů, se pohybuje tento index mezi 30 – 50. Validita tohoto indexu je však omezena v situacích, kdy počáteční hladina urey je ovlivněna příjmem v dietě; při nízké dodávce proteinu, kde S-urea je nízká (pod 2 - 3 mmol/l), a naopak při vysoké dodávce, kdy je hladina na horní hranici normálu, je tento index zkreslen. Hodnota S-kreatininu závisí zase na celkové hmotnosti svalstva.

### **U-Na<sup>+</sup>**

Vylučování Na<sup>+</sup> močí vyjádřené jako exkreční frakce (=FE) za normálních okolností při fungujících renálních tubulech je pod 1 % (stejně jako u pacientů s prerenální formou uremie). U progresivního renálního selhání stoupá nad 1 %, až dosáhne maximální hodnotu 20 %; při nepřiměřeném příjmu pak dochází k pozitivní Na-bilanci. Porucha vylučování Na<sup>+</sup> se však projevuje až u značně omezeného počtu fungujících nefronů (GFR pod 0,1 ml/s).

### **S-K<sup>+</sup>**

Pacienti s progresivním chronickým renálním selháním udržují bilanci K<sup>+</sup> normální, a tedy mají obvykle normokalemii (schopnost ledvin zvýšit FE<sub>K<sup>+</sup></sub> je 10 – 20násobná). Proto S-K<sup>+</sup> začne stoupat nad 4,9 mmol/l, až když klesne GFR pod 0,5 – 0,33 ml/s (odpovídá hodnotě S-kreatininu nad 350 umol/l). Je-li hyperkalemie už při hodnotách S-kreatininu pod 300 – 350 umol, pak se k tomu druží ještě nějaký jiný důvod: (léčení diuretiky šetřícími K<sup>+</sup> a hypoaldosteronizmus, zvýšený příjem K<sup>+</sup> v potravě, distální tubulární dysfunkce).

### **ABR**

Při poklesu GFR pod 0,5 ml/s dochází k retenci H<sup>+</sup> a snižování P-HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> (na hodnoty kolem 12 – 15 mmol/l) a vzniká metabolická hyperchloridemická (normální anion-gap) acidóza.

### **Ca, fosfát**

Progresivní renální selhání má tendenci k negativní Ca-bilanci (defekt renální hydroxylace vitamínu D a tedy snížení hladiny 1,25-dihydroxykalciferolu, který je nutný pro adekvátní resorpci Ca ve střevě a v ledvinách); ta navodí hypokalcemii (pod 2,0 mmol/l), hyperfosfatemii, zvýšení ALP, zvýšení cirkulujícího parathyrinu) (sekundární hyperparatyroidizmus).

### **Komentář k laboratorním výsledkům pacienta:**

Zvýšená S-urea a současně i úměrně zvýšený S-kreatinin, nepřítomnost dehydratace, nepřítomnost obstrukce močových cest a především zvýšená hodnota FE<sub>Na<sup>+</sup></sub> ukazují na mírné až střední chronické renální selhání z renální příčiny (organické poškození ledviny).

Další nález je hyperkalemie a metabolická acidóza s normálním anion-gap. Hyperkalemii nemůže vysvětlit nedostatečné vylučování močí pro renální insuficienci (ta není v tomto případě ještě tak závažná). Příčina je tedy jiná.

V úvahu by přicházel:

(a) vysoký přívod K<sup>+</sup>

(b) diuretika šetřící K<sup>+</sup>

(c) deficiencie mineralokortikoidů (kupř. M. Addison, enzymový defekt, syndrom hyporeninového hypoaldosteronizmu)

(d) rezistence na mineralokortikoidy (především intersticiální nefritida, obstrukční nefropatie, amyloidóza, systémový lupus erythematosus)

(e) léčení indomethacinem

**Závěr:**

Všechny uvedené příčiny byly postupně vyloučeny a zůstala možnost chronické intersticiální nefritidy, jejíž přítomnost byla potvrzena intravenózní pyelografií (ulcerace na papile). Příčina byla v poškození ledvinového parenchymu dlouhodobým užíváním analgetik s fenacetinem (fenacetinová nefropatie). K abuzu analgetik se pacientka posléze přiznala.

# Urolitiáza

## Jiří Zadina

### Charakteristika močových konkrementů

Urolitiáza představuje onemocnění, které je charakterizováno tvorbou konkrementů v ledvinách a močových cestách. Na vznik konkrementů mají podstatný vliv biochemické a fyziologické faktory (dlouhodobě nedostatečný přívod tekutin, složení stravy), faktory genetické zejména u mladých jedinců, v řadě případů je tvorba močových kamenů ovlivněna infekcí močových cest nebo některými onemocněními (hyperparatyreóza, nádorová onemocnění).

Proces litogeneze je výsledkem interakce řady faktorů:

- vysoká koncentrace kamenotvorných látek v moči: hyperkalciurie, hyperaxalurie, hyperurikosurie, hyperfosfaturie, cystinurie
- přítomnost organických složek vytvářejících krystalizační jádra
- pH moči
- koncentrace inhibitorů litogeneze: především hořčík a citrát

Látky, které se vyskytují v močových konkrementech jsou uvedeny v tab. 1. Vzhledem ke krystalické povaze konkrementů se používá mineralogické názvosloví.

sloučenina:	mineralogický název:
kyselina močová	uricit
kyselina močová . 2H <sub>2</sub> O	
urát amonný	
urát sodný . H <sub>2</sub> O	
šfavelan vápenatý . H <sub>2</sub> O	whewellit
šfavelan vápenatý . 2H <sub>2</sub> O	weddellit
fosforečnan vápenatý (čistý)	whitlockit
fosforečnan vápenatý (struktura apatitu)	apatit
„karbonátapatit“	dahllit
hydrofosforečnan vápenatý . 2H <sub>2</sub> O	brushit
fosforečnan hořečnato-amonný . 6H <sub>2</sub> O	struvit
bílkovina	
xanthin	
cystin	
2,8-dihydroxyadenin	
artefakt / podvrh neznámého původu	

**Tabulka 1: Složky močových konkrementů a jejich mineralogické názvy**

Močové konkrementy se většinou vyskytují ve formě směsi. Převažují konkrementy dvousložkové, kterých je okolo 50 %, méně je konkrementů jednosložkových (asi 30 %) a tříložkových (zhruba 20 %).

Močové konkrementy třídíme do několika skupin:

- kalciumoxalátové konkrementy jsou nejčastějším typem konkrementů (v naší populaci okolo 60 %). Jsou tvořeny směsí whewellitu a weddellitu (40 %), samotným whewellitem (15 %) nebo směsí oxalátu a kyseliny močové (5 %). Mezi příčiny jejich tvorby patří hyperkalciurie, hyperoxalurie, hyperurikemie, hyperurikosurie, hypocitraturie a primární hyperparatyreóza.

- kalciumfosfátové konkrementy (asi 10%) se většinou vyskytují v kombinaci apatitu s oxaláty Čisté apatitové nebo brushitové konkrementy se vyskytují ojediněle. Příčinou tvorby těchto kamenů může být hyperkalciurie, hyperfosfaturie, primární hyperparatyreóza nebo renální tubulární acidóza.

- urátové konkrementy (zhruba 15 %) jsou složeny především z kyseliny močové (anhydrid a dihydrát), vzácně se vyskytují další uráty. Jsou důsledkem hyperurikemie a hyperurikosurie, nízké diurézy a kyselého pH moči.

- infekční konkrementy (okolo 15 %) jsou tvořeny struvitem, dahllitem a ojediněle urátem amonným. Vyskytují se u vleklých infekcí močových cest způsobených bakteriemi štěpícími močovinu a s tím spojenou alkalizací moči.



cystinové konkrementy (méně než 1 %) se vyskytují u homozygotních pacientů s cystinurií. Cystin krystalizuje zejména v kyselé moči.

- zastoupení jednotlivých typů litiázy se liší v různých geografických oblastech. Podobně jako u nás jsou v Německu převažujícím typem kalciumoxalátové konkrementy, proti tomu ve Francii, Švédsku a USA jsou nejvíce rozšířeny kalciumfosfátové konkrementy.

## Laboratorní diagnostika při urolitiáze

Biochemická vyšetření jsou zaměřena na vyhledávání rizikových faktorů tvorby konkrementů, dále slouží ke sledování lékové a dietní terapie a stanovení rizika recidiv. V séru jsou vyšetřovány tyto analyty: Ca, Mg, anorganický fosfát a kyselina močová. Prvním krokem vyšetření moči je hodnocení močového sedimentu a moče chemicky. Kvantitativní analýza odpadů v moči zahrnuje tyto analyty: Ca, Mg, anorganický fosfát, kyselinu močovou, kreatinin, oxalát, případně citrát. Vzorky moči pro analýzu Ca, fosfátů, oxalátů a citrátů je třeba okyselit přidáním HCl, aby nedošlo k vysrážení solí a tím k nesprávně nižším nebo negativním nálezům. Ze stejných důvodů je nutno alkalizovat vzorky moči určené ke stanovení kyseliny močové. Podle typu zjištěné poruchy se provádějí další speciální vyšetření na hyperparatyreózu, na renální tubulární acidózu nebo zátěžový test na rozlišení hyperkalcurií.

## Analýza močových konkrementů

Pro zjištění metabolického podkladu urolitiázy je důležitá znalost složení konkrementu. Dříve používané metody chemické analýzy byly nahrazeny přesnějšími fyzikálními metodami - infračervenou spektroskopií, rentgenovou difrakcí a polarizační mikroskopií. Vyšetření v polarizačním mikroskopu je založeno na rozdílných optických vlastnostech různých krystalických látek v polarizovaném světle. Metodou infračervené spektroskopie se identifikují sloučeniny podle spekter, která se kvantitativně vyhodnocují porovnáváním s knihovnou známých spekter močových konkrementů za pomoci počítačového programu. K analýze stačí velmi malé množství konkrementu (30 mg). Přesnost stanovení je zatížena chybou přibližně 10%, přitom analytická chyba 10 – 15% je mimo klinickou závažnost. V odůvodněných případech je třeba analyzovat jednotlivé vrstvy konkrementu, aby bylo možno objasnit genezi konkrementu.

## Kazuistiky

### 1. kazuistika

Pacientka, 61letá žena, dlouhodobě hospitalizovaná na LDN s anamnézou etylické encefalopatie, polyneuropatie a hepatomegalie; inkontinentní. Gynekologické vyšetření indikované pro výtok prokázalo, že se jedná o výtok primárně urologické etiologie. Pacientka našla ráno v posteli předmět velikosti a tvaru malého slepičího vejce, který byl odeslán na biochemické oddělení k vyšetření močového konkrementu.

#### Výsledek vyšetření:

Močový konkrement šedobílé barvy, hladký povrch, oválný tvar, velikost 47 x 36 x 29 mm, tvrdost značná. Celkové složení: struvit 100 %.

#### Hodnocení:

Jedná se o močový konkrement infekčního původu, který byl lokalizován v močovém měchýři. Ochablost svěrače a močové trubice umožnily samovolný průchod a vypuzení předmětu značné velikosti. Vzhledem k anamnéze a nepohyblivosti se u pacientky neprojevovaly potíže.

### 2. kazuistika

Pacient, 57letý muž, první nález cystinového konkrementu ve 23 letech v pravé ledvině, kámen byl odstraněn operativně pyelolitomií. Později recidiva konkrementu vlevo, ale pacient nešel na operaci, ani neměl zavedenou metafylaxi litiázy. V současnosti komplikovaná odliťková litiáza vlevo. Pacient absolvoval opakované perkutánní extrakce konkrementu. Odstraněné konkrementy byly analyzovány na biochemickém oddělení.

#### Výsledek vyšetření:

1. analýza: Velké množství podobných kousků světle hnědé barvy, mírně krystalický povrch, nepravidelný tvar, velikost od 10 x 8 x 3 do 5 x 4 x 2 mm, tvrdost značná. Celkové složení: dahllit 80 %, whitlockit 20 %.

2. konkrement: Velký počet kousků světle hnědé barvy, místy krystalický povrch, nepravidelný tvar, velikost od 10 x 7 x 7 do 3 x 3 x 3 mm, tvrdost střední. V polarizačním mikroskopu jasně patrné jednotlivé krystaly cystinu. Celkové složení: dahllit 40 %, whitlockit 30 %, cystin 30 %.

**Hodnocení:**

Cystinová metabolicky podmíněná litiáza. Při nedodržování vhodného dietního a pitného režimu došlo k recidivě, kdy rezidua cystinových krystalků byla zárodkem pro krystalizaci dalších složek. Na tvorbě konkrementu se podílela též přítomnost infekce.

Při prvním instrumentálním zásahu se nepodařilo odstranit oblast s cystinovými krystaly, takže cystin nemohl být detekován.

**3. kazuistika**

Pacientka, 63 letá žena, silně obézní. Mnohaleté potíže s urolitiázou, první konkrement byl diagnostikován v levé ledvině před 15 lety. Opakovaně absolvovala litotrypse extrakorporální rázovou vlnou. Pacientka je v dlouhodobé péči na metabolické jednotce pro urolitiázu, dodržuje metafylaxi, má dostatek pohybu, ale přejídá se.

**Výsledek vyšetření:**

Hodnoceno 5 fragmentů, které odpovídají původně oválnému konkrementu o velikosti cca 14 x 9 x 8 mm, který byl zřetelně vrstevnatý. Pomocí polarizačního mikroskopu byly analyzovány jednotlivé vrstvy:

- a) jádro: 5 x 4 x 3 mm, šedo-oranžové, složení uricit (možná s příměsí whewellit – nelze rozlišit)
- b) střední vrstva: cca 2 – 3 mm, tmavě hnědá až černá, po rozdrčení oranžová, značná tvrdost, složení whewellit
- c) obal: cca 1 mm, oranžový, tvrdost nízká, složení uricit

Celkové složení: whewellit 50 %, uricit 50 % (vyjadřuje průměrné zastoupení v celém konkrementu).

**Hodnocení:**

Oxalátový konkrement vzniklý přesycením moče litogenními látkami následkem nadměrného přívodu potravou, což potvrzují výsledky doplňujících biochemických vyšetření:

Sérum – glykemie 7,0 mmol/l, ostatní analyty vyhovují.

Moč – diuréza 1840 ml/d, pH 5,1, hyperkalciurie 9,35 mmol/d (norma do 7,2), hypernatriurie 364 mmol/d (norma do 220), vyšší odpady chloridů 381 mmol/d (norma do 270), mírná hyperoxalurie 546 umol/d (norma do 500), přítom korigovaná clearance kreatininu 1,86 ml/s/1,73 m<sup>2</sup> je v normě.

Podrobná analýza jednotlivých vrstev může přispět k objasnění vzniku a průběhu tvorby konkrementu, zde pravděpodobně odráží změny dietních zvyklostí pacientky.

# Lipidy

## Richard Průša

### Cholesterol

Cholesterol a estery cholesterolu jsou základní složkou lipoproteinových komplexů, je zdrojem mastných kyselin, zdrojem pro syntézu steroidních hormonů. Jeho poločas je 58 – 100 dní. Intraindividuální biologická variabilita je až 10 %, v zimě jsou hodnoty vyšší než v létě až o 8 %, fyziologické hodnoty jsou závislé na věku, etniku a na pohlaví.

#### Referenční rozmezí:

do 6 týdnů	1,3 – 4,3 mmol/l
6 týdnů – 1 rok	2,6 – 4,2 mmol/l
1 – 15 let	2,6 – 4,8 mmol/l
15 – 70 let	3,4 – 5,0 mmol/l
Nad 70 let muži	2,9 – 6,6 mmol/l
ženy	3,8 – 7,0 mmol/l

#### Indikace:

Poruchy intermediárního metabolismu, posouzení rizika atherosklerózy, monitorování léčby hypolipidemiky

#### Interpretace:

Cílové hodnoty při léčbě hypercholesterolemie se liší od fyziologických referenčních mezí.

Zvýšení: exogenní hypercholesterolemie (nadměrný přívod v potravě), familiární hypercholesterolemie (defekt LDL receptoru nebo apolipoproteinu B100), familiární kombinovaná hyperlipoproteinemie, familiární dys-beta-lipoproteinemie, nefrotický syndrom, obstrukční ikterus, cholestáza, některé hepatopatie a pankreatopatie, hypotyreóza, Wolmanova choroba a choroba ze stádání esterů cholesterolu, mentální anorexie, longevity syndrom (familiární hyper-alfa-lipoproteinemie)

Snížení: těžké hepatopatie, hladovění, malnutrice a malabsorpce, terminální stadium uremie, septické stavy, hypertyreóza, abetalipoproteinemie, některé anemie, Tangierská nemoc, kachexie při maligních tumorech

### Triacylglyceroly

Jsou především významným zdrojem mastných kyselin pro energetický metabolismus. Vyskytují se hlavně ve formě lipoproteinových komplexů.

#### Referenční rozmezí: (pro obě pohlaví)

do 6 týdnů	0,8 – 1,2 mmol/l
6 týdnů – 1 rok	0,9 – 2,2 mmol/l
1 – 15 let	1,2 – 1,6 mmol/l
15 – 60 let	0,7 – 1,7 mmol/l
60 – 90 let	0,40 – 1,98 mmol/l

#### Indikace:

Poruchy intermediárního metabolismu, posouzení rizika atherosklerózy, monitorování léčby hypolipidemiky.

#### Interpretace:

Falešné zvýšení (dle metody stanovení) interferencí glycerolu (např. defekt glycerolkinázy).

Zvýšení: familiární hyperchylomikronemie (defekt lipoproteinové lipázy nebo apolipoproteinu C-II), familiární hypertriacylglycerolemie, familiární kombinovaná hyperlipoproteinemie, familiární dys-beta-lipoproteinemie, diabetes mellitus, alkoholismus, pankreatitida, cholestáza, nefrotický syndrom, Gierkeho glykogenóza, hypotyreóza, chronické renální selhání, po akutním těžkém infarktu myokardu, po některých léčích (orální kontraceptiva, estrogeny)

Snížení: Tangierská nemoc, deficit lecithin:cholesterolacyltransferázy, po některých léčích, malnutrice, abetalipoproteinemie

## HDL cholesterol

Jedná se o cholesterol, který je součástí HDL lipoproteinových komplexů. Má anti-atherogenní efekt, ale také vlastnosti antioxidační, protizánětlivé a antikoagulační. Intraindividuální biologická variabilita je přibližně 7 % (4 – 12 %).

### Referenční rozmezí:

0 – 6 týdnů	0,73 – 1,17 mmol/l		
6 týdnů – 1 rok	0,94 – 1,26 mmol/l		
1 – 10 let	1,11 – 1,83 mmol/l		
10 – 15 let	1,27 – 1,71 mmol/l		
		Muži	Ženy
15 – 60 let		0,4 – 1,42 mmol/l	1,16 – 1,68 mmol/l
60 – 90 let		0,72 – 2,53 mmol/l	0,72 – 2,69 mmol/l
nad 90 let		0,72 – 2,12 mmol/l	0,83 – 2,15 mmol/l

### Indikace:

Hodnocení rizika atherosklerózy, primární a sekundární metabolické poruchy lipoproteinů.

### Interpretace:

Zvýšení: familiární hyper-alfa-lipoproteinemie (longevity syndrom), biliární cirhóza, chronická hepatitida, alkoholismus, vytrvalostní sport

Snížení: familiární hypoalfalipoproteinemie, Tangierská nemoc, nemoc rybího oka, familiární deficit LCAT, familiární deficit CETP, metabolický syndrom, cholestáza, nefrotický syndrom, obezita, malignity, chronické renální selhání

## LDL cholesterol

Jedná se o cholesterol, který je součástí LDL lipoproteinových komplexů. Za určitých okolností má přímý atherogenní efekt, ale fyziologicky je významným zdrojem mastných kyselin a cholesterolu pro intracelulární metabolismus. Největší hustotu LDL receptorů mají jaterní a svalové buňky.

### Referenční rozmezí:

0 – 5 let	0,5 – 1,5 mmol/l		
5 – 19 let	1,6 – 3 mmol/l		
19 – 70 let	1,5 – 3 mmol/l		
		Muži	Ženy
nad 70 let		1,6 – 5,3 mmol/l	1,5 – 5,4 mmol/l

### Indikace:

Hodnocení rizika atherosklerózy, primární a sekundární metabolické poruchy lipoproteinů, ICHS.

### Interpretace:

Cílové hodnoty při léčbě hypercholesterolemie se liší od fyziologických referenčních mezí.

Zvýšení: exogenní hypercholesterolemie (nadměrný příjem v potravě), familiární hypercholesterolemie (defekt LDL receptoru nebo apolipoproteinu B100), familiární kombinovaná hyperlipoproteinemie, familiární dys-beta-lipoproteinemie, nefrotický syndrom, obstrukční ikterus, cholestáza, některé hepatopatie a pankreatopatie, hypothyreóza

Snížení: těžké hepatopatie, hladovění, malnutrice a malabsorpce, terminální stadium uremie, septické stavy, hypertyreóza, abetalipoproteinemie, kachexie při maligních tumorech

## Apolipoprotein AI

Apolipoprotein AI je významnou regulační součástí lipoproteinových komplexů (kromě LDL). Snížené hodnoty jsou sdružené s vyšším rizikem atherosklerózy a ischemické choroby srdeční.

**Referenční rozmezí:**

0 – 6 týdnů	0,23 – 0,53 g/l		
6 týdnů – 1 rok	1,24 – 1,42 g/l		
1 – 15 let	1,28 – 1,76 g/l		
		Muži	Ženy
nad 15 let		1,19 – 1,6 g/l	1,39 – 1,8 g/l

**Indikace:**

Hodnocení rizika atherosklerózy, primární a sekundární metabolické poruchy lipoproteinů, ICHS.

**Interpretace:**

Zvýšení: familiární hyper-alfa-lipoproteinemie (longevity syndrom), těhotenství, vytrvalostní sport, alkoholizmus, léčba estrogeny

Snížení: familiární hypo-alfa-lipoproteinemie, Tangierská nemoc, nemoc rybího oka, familiární deficit LCAT, familiární deficit CETP, metabolický syndrom, cholestáza, nefrotický syndrom, obezita, malignity, chronické renální selhání, hemodialýza, některé léky (diuretika, cyklosporin)

**Apolipoprotein B**

Apolipoprotein B100 je významnou regulační součástí lipoproteinových komplexů (zejména LDL). Zvýšené hodnoty jsou bezprostředně sdružené s vyšším rizikem atherosklerózy a ischemické choroby srdeční. Intraindividuální biologická variabilita je přibližně 8 %.

**Referenční rozmezí:**

0 – 6 týdnů	0,64 – 1,02 g/l		
6 týdnů – 15 let	0,61 – 0,94 g/l		
		Muži	Ženy
nad 15 let		0,7 – 1,3 g/l	0,65 – 1,05 g/l

**Indikace:**

Hodnocení rizika atherosklerózy, primární a sekundární metabolické poruchy lipoproteinů, ICHS. Stanovení koncentrace apolipoproteinu B je zejména cenné u pacientů s vysokým množstvím malých denzních LDL částic, u kterých může být normální koncentrace LDL cholesterolu a celkového cholesterolu, ale zvýšené riziko ICHS.

**Interpretace:**

Zvýšení: familiární hypercholesterolemie (defekt LDL receptoru nebo apolipoproteinu B100), familiární kombinovaná hyperlipoproteinemie, familiární dys-beta-lipoproteinemie, nefrotický syndrom, hemodialýza, obstrukční ikterus, kouření cigaret, některé léky (diuretika, glukokortikoidy, cyklosporin)

Snížení: těžké hepatopatie, septické stavy a těžké infekce, abetalipoproteinemie, kachexie při maligních tumorech, vytrvalostní sport, hypolipidemika

**Lipoprotein (a)**

Lipoproteinový komplex, který má obdobnou funkci jako LDL, ale je určen pro endotel. Obsahuje apolipoprotein B100 a apolipoprotein (a). Jeho sérové koncentrace jsou individuálně stabilní, geneticky podmíněné, medikamentózně neovlivnitelné. Hodnoty vyšší než 300 mg/l jsou prokazatelně sdružené s vyšším rizikem atherosklerózy a ICHS.

**Referenční rozmezí:**

muži: 50 – 338 mg/l, ženy 50 – 312 mg/l

**Indikace:**

Hodnocení rizika atherosklerózy, ICHS, trombofilní stavy.

**Interpretace:**

Zvýšení hodnot nad 300 mg/l je považováno za varovný rizikový faktor atherosklerózy a ICHS, hodnoty nad 600 mg/l jsou považovány za velmi rizikové. Vzhledem k vysoké homologii apolipoproteinu (a) s plazminogenem působí tyto vysoké koncentrace antifibrinolyticky a trombogenně.

## Elektroforéza lipoproteinů

Lipoproteiny jsou komplexní makromolekuly, které umožňují transport lipidů vodním prostředím plazmy. Elektroforéza lipoproteinů má omezený význam na identifikaci vzácných dyslipoproteinemií nebo časnou identifikaci dědičných dyslipoproteinemií v dětství.

**Referenční rozmezí:** (obě pohlaví)

Frakce	Rozmezí [rel.j.]	Rozmezí [%]
Chylomikrony	0 – 0,001	0 – 0,1
Beta	0,420 – 0,630	42 – 63
Prebeta	0,003 – 0,180	0,3 – 18
Alfa	0,230 – 0,460	23 - 46

### Indikace:

Lipemické (chylózní) sérum nalačno, hypertriacylglycerolemie, hyperurikemie, akutní infarkt myokardu u osob mladších 40 let.

### Interpretace:

Nález abnormální přítomnosti vyšších koncentrací lipoproteinů (a) nebo IDL, dále nález deficitu některého lipoproteinů (např. Tangierská choroba), dále nález abnormálně zvýšené některé regulární frakce (např. vyšší beta u pacientů s familiární hypercholesterolemií). Toto vyšetření musí být vždy doplněno vyšetřením ostatních parametrů lipidového metabolismu.

## Laboratorní vyšetření štítné žlázy

### Drahomíra Springer

Onemocnění štítné žlázy patří mezi nejčastější endokrinopatie se stoupající frekvencí, postihují 5 – 7 % populace s výrazně nerovnoměrným rozložením. Ženy jsou postiženy častěji než muži (poměr 4 – 6 : 1), většinou prevalence stoupá s věkem, např. ženy nad 45 – 50 let jsou postiženy v 15 – 20 %. Funkční postižení, především hypotyreóza, však probíhá velmi často nepozorovaně. Pacienti postižení poruchou funkce štítné žlázy mají řadu nespecifických projevů, jako je únava, snížená výkonnost, spavost, sklon k depresím. Důsledky neléčené hypotyreózy jsou závažné: jsou spojeny s poruchami lipidů, krvevorbou, obtížemi gastrointestinálního traktu, ale i depresemi a předčasným stárnutím. Včasná diagnóza a adekvátní léčba omezují výrazně vliv dlouhodobých komplikací, zkvalitní a zlevní léčbu základního onemocnění a významnou měrou přispějí ke kvalitě života.

Při stanovení správné diagnózy je vhodné provést nejprve podrobné somatické vyšetření, ze zobrazovacích technik je nejužívanější ultrazvukové vyšetření. Cytologické vyšetření materiálu odebraného při aspirační biopsii štítné žlázy tenkou jehlou (FNAB) je již naprosto pravidelnou součástí komplexního tyreoidologického diagnostického postupu. Velmi významnou součástí je i laboratorní vyšetření, které slouží nejen ke stanovení diagnózy, ale také ke kontrole léčby. Výsledky laboratorních vyšetření mají sloužit k orientaci a k hodnocení stavu pacienta. U mnoha látek je významná dynamika jednotlivých vyšetření. Vzhledem k tomu, že referenční meze se u jednotlivých metod mohou lišit, je vhodné pro sledování dynamiky využívat služeb jen jedné laboratoře. Odběr krve ke stanovení tyreoidálních hormonů lze provést i v průběhu dne, pokud je vyšetřovaný bez medikace. Pokud pacient léky užívá, má být krev odebrána až za 24 hodin od poslední aplikace léku. Stanovení je prováděno v séru nebo v plazmě a to v naprosté většině imunochemickými metodami. Nejrozšířenější je v posledních letech využití automatické luminiscenční imunoanalýzy, význam radioizotopových imunoanalytických metod klesá.

### Parametry funkce štítné žlázy

#### Tyreoliberin (TRH)

TRH je tripeptid (GluHisPro), je to neurosekreční hormon (thyreotropin releasing hormon) uvolňovaný hypotalamem, jehož sekrece je tlumena vysokými hladinami trijodtyroninu a tyroxinu v krvi. Stanovení sérového nebo plazmatického tyreoliberinu se neprovádí vzhledem k jeho velmi krátkému biologickému poločas. Je spolu se svými analogy užíván ke stimulačním testům.

#### TRH-test

Je metoda, která ověřuje reaktivitu tyreotropních buněk hypofýzy. Při snížených (0,1 – 0,3 mU/l) případně zvýšených (3,5 – 10 mU/l) hladinách TSH je možné pro odhalení latentní funkční poruchy provést TRH stimulační test. Ten spočívá v aplikaci TRH (orálně nebo nasálně) a vyšetření hladin TSH v příslušných časových intervalech podle způsobu aplikace TRH. Koncentrace TSH by měla vzrůst na 2 – 20 mU/l. Pokud je nárůst vyšší než 25 mU/l, jedná se o poruchu využití jódu, hypotyreózu či o extrémní alimentární nedostatek jódu.

#### Hodnocení testu

Provedením stimulačního TRH testu je možné odlišit od sebe primární a sekundární hypotyreózu. Při primární hypotyreóze není štítná žláza schopna zabezpečit dostatečnou produkci hormonů, nacházíme proto patologicky zvýšené hladiny TSH. Při sekundární hypotyreóze vážne hypofyzární produkce TSH a štítná žláza má malé množství podnětů k dostatečné produkci  $T_3$  a  $T_4$ . Test je dnes využíván spíše vzácně, je nahrazen jinými typy vyšetření. Není vhodné ho provádět v těhotenství.

#### Tyreotropní hormon (TSH)

TSH neboli thyreotropin je glykoprotein, syntetizovaný a vylučovaný thyreotropními buňkami adenohypofýzy. Stanovení TSH má v diagnostice poruch funkce štítné žlázy klíčovou úlohu. Syntéza a sekrece TSH je inhibována přes TRH vysokými hladinami tyreoidálních hormonů a naopak stimulována jejich nízkou hladinou. TSH se váže na specifické receptory TSH-receptory (TSH-R) na membráně tyreocyty, usměrňuje jejich růst a také syntézu a sekreci hormonů štítné žlázy. Vztah mezi koncentrací  $FT_4$  a produkcí TSH je logaritmicko-lineární, pokles  $FT_4$  na polovinu způsobí vzrůst TSH 160x. TSH má diurnální variabilitu s pulzní sekrecí, odběry krve je vhodné provádět vždy ráno. Denní hodnoty mohou být až poloviční proti nejvyšší noční koncentraci.

#### Kongenitální hypotyreóza

Screening kongenitální hypotyreózy u novorozenců byl v České republice zaveden v roce 1985. Incidence

permanentní vrozené hypotyreózy je v ČR udávána v poměru 1 : 4230 narozených plodů. Screening se provádí pátý den po narození ze suché kapky krve odebrané z paty novorozence. U hodnot vyšších než 20 mIU/l je nutné provést kontrolní náběr a opakovat stanovení, koncentrace vyšší než 100 mIU/l svědčí pro kongenitální hypotyreózu.

#### **Interpretace:**

Stanovení TSH se zvýšenou citlivostí a specificitou je důležité pro hodnocení funkce štítné žlázy a je zvláště užitečné v diferenciální diagnostice primárních (tyreoidních), sekundárních (hypofyzárních) a terciálních (hypotalamických) hypotyreoidizmů. U primárních hypotyreóz je TSH významně zvýšeno, zatímco u sekundárních a terciálních hypotyreóz je koncentrace TSH nízká.

#### **Referenční meze:**

sérum: 0,35 – 5,5 mIU/l

#### **Tyreoidální hormony**

Štítná žláza produkuje tyroxin ( $T_4$ ), trijodtyronin ( $T_3$ ) a reverzní trijodtyronin ( $rT_3$ ) a to v poměru 5 : 1 : 0,5. Tyreoidální hormony obsahují 59 – 65 % stopového prvku jódu, který je jejich základním stavebním kmenem. Všechny tyto hormony jsou v plazmě vázány na transportní proteiny, a tudíž jsou biologicky inaktivní. Biologickou aktivitu vykazuje jen malá část hormonů, která se v krvi vyskytuje ve volné formě ( $FT_4$  a  $FT_3$ ). Stanovení celkových koncentrací hormonů štítné žlázy ( $TT_3$  a  $TT_4$ ) má diagnostickou hodnotu pouze v případě, že není změněna vazebná kapacita transportních proteinů. Proto se doporučuje stanovit přímo hladiny volných frakcí tyreoidálních hormonů ( $FT_3$  a  $FT_4$ ).

#### **Tyroxin, $T_4$ (celkový – $TT_4$ , volný – $FT_4$ )**

Tyroxin je hlavní hormon secernovaný a syntetizovaný štítnou žlázou v množství asi 80  $\mu$ g denně. Je prohormonem, protože je ve tkáních dejodázami přeměňován na trijodtyronin, který je 3 – 5x biologicky účinnější než  $T_4$ . V séru se tyroxin váže ze 70 % na TBG, zbytek se dělí mezi albumin a prealbumin. Pouze 0,04 % celkového tyroxinu tvoří volná frakce ( $FT_4$ ), která může bezprostředně vstupovat do buněk.

#### **Indikace, interpretace:**

Stanovení tyroxinu používáme k potvrzení hypotyreózy či hypertyreózy, které byly diagnostikovány z vyšetření TSH. Měření hladiny  $FT_4$  umožňuje diagnostiku centrální hypotyreózy v těch případech, kde není zvýšeno TSH. Při diagnostice hypertyreózy, v případě zcela snížených hodnot TSH, znamenají zvýšené hladiny  $FT_4$  a  $FT_3$  potvrzení diagnózy. Při izolované  $T_3$  hypertyreóze může být koncentrace  $FT_4$  mírně zvýšená, přestože koncentrace  $TT_4$  je ještě v referenčním rozmezí. Při začínající hypotyreóze klesají hladiny  $FT_4$  dříve než  $TT_4$ . K potvrzení diagnózy hypotyreózy při snížených hladinách  $FT_4$  a  $TT_4$  slouží nález zvýšené koncentrace TSH nebo přehnaná odpověď TSH na TRH stimulaci. Účinek léčby hyperfunkce štítné žlázy tyreostatiky se sleduje pomocí  $FT_4$ , protože tyroxin se normalizuje dříve než trijodtyronin.

#### **Referenční meze: (sérum)**

$TT_4$  58,1 – 155 nmol/l

$FT_4$  9,1 – 24,0 pmol/l

#### **Trijodtyronin, $T_3$ (celkový – $TT_3$ , volný – $FT_3$ )**

$T_3$  ovlivňuje především tělesný růst a významně se podílí na energetickém, výživovém i iontovém metabolismu.

Většina  $T_3$  vzniká dejodací  $T_4$  vlivem dejodáz a méně než 20 % vniká přímo ve štítné žláze. V séru se vyskytuje ve volné, biologicky aktivní formě ( $FT_3$ ) v 0,1 – 0,3 %, zatímco asi 99,8 % je vázáno na transportní proteiny. Stejně jako tyroxin je vázán na plazmatické bílkoviny, ale oproti  $T_4$  je jeho vazba 10x slabší. Koncentrace  $TT_3$  je tedy závislá na změnách vazebné kapacity transportních proteinů, proto je ze stejného důvodu jako u  $T_4$  preferováno stanovení  $FT_3$ .

#### **Indikace, interpretace:**

Stanovení  $FT_3$  je indikováno při diagnostice tzv.  $T_3$  toxikózy, hypertyreózy s převážnou sekrecí trijodtyroninu (asi 5% hypertyreóz), kdy je sice suprimován TSH, ale  $FT_4$  je normální. Je také využíváno ke kontrole adekvátní léčby u centrálních hypotyreóz spolu s  $FT_4$ . Koncentrace  $TT_3$  a  $FT_3$  jsou závislé také na periferní konverzi  $T_4$  na  $T_3$ . Pokud je tato konverze snížena, snižují se i hladiny  $TT_3$  a  $FT_3$  například vlivem věku nebo léků. Při diagnóze hypotyreózy mohou hladiny  $TT_3$  a  $FT_3$  po dlouhou dobu setrávat na spodní hranici normálu, protože zvýšená periferní konverze z  $T_4$  na  $T_3$  je kompenzačním mechanismem při snížené produkci  $T_4$ . Dále je hladina do určité míry ovlivněna věkem. Hned po narození se zvyšuje do 3. – 4. dne, v dětství mírně stoupá



a u starších lidí nalézáme hladiny  $T_3$  asi o 10 – 50 % nižší než u mladší populace. Při nedostatku jódu zaznamenáváme kompenzační zvýšení koncentrací  $TT_3$  a  $FT_3$ .

Stanovení celkového  $T_3$  není využíváno k základním diagnózám a samotné posouzení jeho hladiny není spolehlivým testem, takže se od jeho stanovení upouští.

**Referenční meze:** (sérum)

$TT_3$  0,7 – 2,8 nmol/l

$FT_3$  2,2 – 6,5 pmol/l

**Reverzní  $T_3$  ( $rT_3$ )**

Reverzní  $T_3$  vzniká v plazmě stejně jako  $T_3$  deiodací z  $T_4$ . Při těžkých extratyroidálních onemocněních mohou koncentrace  $T_3$  poklesnout a koncentrace  $rT_3$  prudce stoupnout. Pro běžnou diagnostiku funkčních poruch štítné žlázy nemá stanovení  $rT_3$  význam.

**Autoprotilátky**

Stanovení hladin autoprotilátek patří vedle vyšetření TSH a  $FT_4$  k nejdůležitějším diagnostickým parametrům autoimunního onemocnění štítné žlázy. Mezi tyreoidální autoprotilátky patří jednak protilátky proti TSH-receptoru, protilátky proti tyreoidálním hormonům a protilátky proti některým dalším povrchovým strukturám tyreocytů. Tyto autoprotilátky mají přímý patogenický význam v rozvoji autoimunitních tyreopatií. Druhou skupinu tvoří protilátky proti tyreoglobulinu a tyreoidální peroxidáze, jejichž význam je podle převažujících současných názorů především diagnostický, a nemají přímý patogenický vliv. Z tohoto důvodu nemusí být přítomna korelace mezi hladinou těchto protilátek a aktivitou autoimunitního tyreoidálního procesu. Tyto protilátky nemají 100% senzitivitu ani specifitu, takže autoimunitní tyreoditida může probíhat bez jejich positivity, a naopak se tyto protilátky mohou vyskytovat i u zdravých jedinců. Často se toto zvýšení vyskytuje u nemocných s jinými autoimunitními chorobami bez známek postižení štítné žlázy.

**Protilátky proti TSH receptoru (TSH-R-Ab, TRAK)**

Autoimunní protilátky proti TSH receptorům obsaženým v buněčných membránách buněk štítné žlázy, označované souhrnně TRAK, mohou podle účinku na TSH receptor blokovat nebo stimulovat činnost štítné žlázy. Vlivem prvního typu protilátek dochází k vazbě části protilátky na TSH receptor a k imitaci funkce TSH. Pokud mají autoprotilátky vyšší afinitu vůči receptoru než TSH, dojde k déletrvajícím stimulaci buněk štítné žlázy a tím ke zvýšené produkci  $T_3$  a  $T_4$ . Protilátkami může být ovlivněna také další funkce TSH, která spočívá ve stimulaci růstu buněk. Poslední skupinu tvoří autoprotilátky, které po navázání na receptor blokují jeho funkci.

**Indikace, interpretace:**

Stanovení TRAK se indikuje při diferenciální diagnostice hypertyreózy (autoimunního a neautoimunního původu a vzniklé na podkladě rezistence vůči tyreoidálním hormonům) a sledování její léčby. Tyto protilátky poukazují na riziko opakovaného rozvoje Gravesovy-Basedowovy choroby, je to vhodné vyšetření při podezření na endokrinní oftalmopatii, nebo při komplikovaných formách chronické lymfocytární tyreoditidy a při všech abnormálních klinických nálezech s podezřením na přítomnost blokujících nebo stimulujejších protilátek.

**Referenční meze:**

sérum: 0 – 2 U/l

**Protilátky proti tyreoidální peroxidáze (antiTPO, TPOAb)**

AntiTPO odpovídají mikrozomálním protilátkám a ve starší literatuře je můžeme pod tímto názvem najít. Tyreoidální peroxidáza je glykoproteinový enzym štítné žlázy, který zabezpečuje jodaci tyrosinu na tyreoglobulin.

**Indikace, interpretace:**

Hodnoty antiTPO protilátek jsou zvýšeny u více než 90 % pacientů s aktivní autoimunitní tyreoditidou a u začínající Hashimotovy tyreoditidy. U Gravesovy-Basedowovy choroby jsou antiTPO přítomny asi u 3/4 nemocných a jejich stanovení má vysokou prognostickou hodnotu při léčbě tohoto onemocnění. Mírné zvýšení bývá také přechodně pozorováno u subakutní tyreoditidy a u papilárního folikulárního karcinomu štítné žlázy. U 5 % zdravých mužů a asi 10 % zdravých žen ve věku pod 50 let byly nalezeny protilátky proti tyreoidální peroxidáze.

**Těhotenství:**

Je doporučováno, aby se v 1. trimestru těhotenství vyšetřovaly kromě TSH a  $FT_4$  i antiTPO protilátky, jejich zvýšení může upozornit na nebezpečí rozvoje post-partum tyreoditidy. Vysoká hladina antiTPO protilátek souvisí také s vyšší možností abortu a neúspěšnými pokusy in vitro fertilizace.

**Referenční meze:**

sérum: dle metody do 60 nebo do 12 kU/l

**Protilátky proti tyreoglobulinu (antiTg, TgAb)**

Tyreoglobulin je silně glykosylovaný a jodovaný protein, který je velmi silným autoantigenem. Zvýšené hladiny antiTg protilátek se nacházejí ve 20 – 30 % u Gravesovy-Basedowovy choroby a vysoké hodnoty se vyskytují v 70 % u nemocných s chronickou tyreoiditidou.

Mírně zvýšené hladiny antiTg se nacházejí asi u 7 % zdravé populace a jejich výskyt se zvyšuje s věkem, jsou přítomny asi u 15 % zdravých žen po 60. roce života.

**Referenční meze:**

sérum: dle metody do 60 nebo do 34 kU/l

**Tyreoglobulin (Tg)**

Lidský tyreoglobulin je jodovaný glykoprotein o molekulové hmotnosti 660 kDa skládající se ze dvou peptidických řetězců. Jeho syntéza probíhá ve folikulárních buňkách štítné žlázy. Za účinku TSH je tento prohormon jodován do stupně trijodtyroninu ( $T_3$ ) a tyroxinu ( $T_4$ ). Do oběhu se Tg dostává v poměrně malém množství.

**Indikace, interpretace:**

Hladiny tyreoglobulinu se zvyšují u strumy, v graviditě a v adolescenci. Tyreoglobulin se užívá jako nádorový marker vhodný pro sledování terapie u dobře diferencovaných folikulárních a papilárních nádorů štítné žlázy. Indikací k vyšetření je přítomnost plicních a kostních metastáz z nejasného zdroje a také existence patologických zlomenin - v těchto případech jsou hodnoty výrazně zvýšené. Při vyšetření tyreoglobulinu je vhodné zároveň stanovit i antiTg protilátky, které mohou interferovat při stanovení. Další využití má i v pediatrii endokrinologii při diagnóze úplného kongenitálního chybění štítné žlázy a při diagnostice předávkování tyreoidálními hormony, kde jsou jeho hodnoty potlačené.

**Referenční meze:**

sérum: 0 – 70 ug/l

**Tyroxin vázící globulin (TBG)**

TBG je kvantitativně nejvýznamnějším přenašečem tyroxinu v krvi. Tento glykoprotein váže až 70 % celkového  $T_3$  a  $T_4$  v plazmě, přičemž vazba na  $T_4$  je desetinasobně vyšší než vazba na  $T_3$ . Je tvořen v hepatocytech, při interpretaci jeho zvýšených hladin je nutno brát v úvahu možnost poškození jater.

**Indikace:**

Stanovení TBG slouží především k vyhledávání vrozených odchylek v koncentracích TBG, ať geneticky zvýšených či snížených.

**Referenční meze:**

sérum: 12,0 – 26,0 mg/l

**Kalcitonin**

Kalcitonin je peptidový hormon, který působí jako fyziologický antagonist parathormonu v regulaci hladiny kalcia v krvi. Kalcitonin snižuje aktivitu osteoklastů a zabraňuje osteoresorpci a stimuluje biosyntézu 1,25 dihydrovitaminu D. Zvýšená hladina vápníku je fyziologickým stimulem sekrece kalcitoninu. K sekreci hormonu přispívají rovněž jiné faktory gastrointestinálního a neuroendokrinního původu jako např. gastrin, alkohol a glukagon.

**Indikace, interpretace:**

Hladiny kalcitoninu se liší podle použité metody, v séru jsou vyšší než v plazmě. Snižují se s věkem a stoupají v graviditě a při laktaci. Klinicky se stanovení kalcitoninu využívá v diagnostice a při vyhledávání medulárního karcinomu. Stanovuje se proto u všech podezřelých a nejasných uzlů štítné žlázy při cytologickém vyšetření. Zvýšená hladina kalcitoninu se nachází u autoimunního onemocnění štítné žlázy (Hashimoto, Graves).

**Referenční meze: (sérum, plazma)**

Muži 3 – 26 ng/l

Ženy 2 – 17 ng/l

## Jód

Jód je významnou stavební součástí molekul tyreoidálních hormonů a při jeho nedostatku dochází k závažným poruchám a onemocněním štítné žlázy.

### Metodika:

Stanovení koncentrace jodidového aniontu v moči (jodurie) je vhodným biomarkerem pro stanovení saturace jodem v populaci. Nejužívanější laboratorní metodou je fotometrické stanovení, kterému předchází mineralizace vzorku v kyselém prostředí. Metoda je časově náročná a nepříliš vhodná do současných klinických laboratoří. Nově byla vypracována metoda pro stanovení koncentrace jodu v moči pomocí iontově výměnné chromatografie s elektrochemickou detekcí jodidového aniontu. Ke stanovení se užívá moč bez konzervace.

### Interpretace:

Závislosti koncentrace jodu v moči na pohlaví, stáří, sezónních variacích a regionálních variacích nejsou významné, jodurie je vyšší u mužů v porovnání se ženami, snižuje se stářím, a její nižší hodnoty jsou nacházeny v létě. Se zvyšující se koncentrací TSH se zvyšuje hladina jodurie.

### Referenční meze:

moč 80 – 300 mg/l

moč za 24 h 100 – 400 mg/24 h

## Kazuistiky

Žena, 50 let, při preventivní prohlídce v roce 2006 si u závodního lékaře stěžuje na únavu, celkovou vyčerpanost a nechů k práci a životu vůbec. Spojení s potížemi klimakteria odmítá.

V biochemickém nálezu vše v normě, jen cholesterol je zvýšený (7,6 mmol/l).

Doplněno základní vyšetření štítné žlázy – TSH a FT<sub>4</sub>. Od minulého vyšetření před 3 lety došlo ke změně v hladině TSH. Po pozitivním nálezu zahájena terapie a doplněno vyšetření o T<sub>3</sub> a protilátky.

	15.3.03	9.7.06	17.7.06	27.11.06	4.2.07	25.5.07	29.11.07	14.2.08
T <sub>3</sub> (nmol/l)			1,51					
FT <sub>4</sub> (nmol/l)		9,6	12,9	11,5	19	10,5	30,5	16,5
TSH (mU/l)	2,24	36,44	19,5	13,06	0,049	18,7	0,041	1,48
antiTg (kU/l)			23,5					
antiTPO (kU/l)			3871					

Tabulka 1: Laboratorní výsledky

Sledování terapie pomocí laboratorního vyšetření. Nastavení vhodného léku a správné dávkování může trvat více než rok. Kontroly jsou nezbytné i vzhledem k možnosti dalších výkyvů.

Protilátky stačí vyšetřovat maximálně 1x ročně, jejich hladina se časem příliš nemění.

Žena 26 let, od 13 let sledována – dg. struma s hypotyreózou (lymfocytární tyreoiditis - Hashimotova tyreoiditis), hypotyreózu měla její matka i bratr, spolupráce byla dobrá, na kontroly docházela, po 18. roce věku přestala docházet. Znovu přišla do ordinace ve 28. týdnu gravidity, nedostatečná substituce, naměřeny nízké hladiny FT<sub>4</sub>. Přes úpravu terapie se narodilo dítě s mozkovou dysfunkcí, navštěvuje zvláštní školu.

Negativní důsledky neléčených tyreopatií mají dopad nejen na průběh gravidity, ale i na plod. Do doby vlastní tyreoidální sekrece na konci prvního trimestru gravidity je plod zcela závislý na dodávce tyroxinu matkou, hypotyroxinémie matky v časném stadiu embryonálního vývoje může mít za následek poruchu psychomotorického vývoje.

# Markery stavu výživy, albumin, stopové prvky

Jiří Bronský

## Význam biochemického vyšetření stavu výživy

Laboratorní vyšetření ukazatelů stavu výživy je důležité z několika důvodů. U hospitalizovaných pacientů je zvýšené riziko a vysoká prevalence poruch nutričního stavu. Mezi malnutricí a závažností průběhu onemocnění existuje kauzální vztah a závažnost malnutrice je důležitým prediktorem komplikací léčby. Moderní široké možnosti enterální a parenterální výživy vyžadují stanovení markerů výživy pro správnou indikaci a následný monitoring.

## Limitace laboratorních vyšetření

Neexistuje žádný laboratorní test, který by byl obrazem celkového stavu výživy jedince. Laboratorní vyšetření tvoří spolu s fyzikálním a antropometrickým vyšetřením jednotný celek. Stejně jako jiná laboratorní vyšetření, mohou být markery stavu výživy ovlivněny řadou proměnných:

### inter-individuální variabilita

- věk – nutno používat referenční rozmezí dle věku
- vliv onemocnění na koncentrace některých analytů (kalcium, měď)
- pohlavní rozdíly (nižší hladiny sérového železa u menstrujících žen)
- genetické predispozice (cholesterol, triacylglyceroly)
- fyziologické faktory (korelace hladin vitamínu E s cholesterolem)

### intra-individuální variabilita

- diurnální variabilita (sérové železo, růstový hormon)
- sezónní variabilita (vitamin C)
- postprandiální elevace (triacylglyceroly, některé aminokyseliny)
- fyzická aktivita (lipidové spektrum, volné mastné kyseliny, urea, kreatinin)

### preanalytická fáze

- technika odběru (zvýšení kalcemie při prolongovaném zaškrcení končetiny)
- poloha při odběru (vestoje zvýšená koncentrace všech plazmatických proteinů)
- stres při odběru (zvýšení hladiny glukózy, růst. hormonu, laktátu)
- odběr stopových prvků za zvláštních podmínek (měď do plastových nádob, vitaminy A, E chránit před světlem) transport na ledu (amoniak, laktát, pyruvát)

## Jaké testy jsou v praxi používány?

Laboratorní vyšetření stavu výživy sestává ze stanovení sérových hladin makronutrientů (lipidové spektrum, volné mastné kyseliny, glykemie, laktát, pyruvát, albumin, transferin, prealbumin, proteiny akutní fáze, cholinesteráza, imunoglobuliny), mikronutrientů (vitamíny, minerály, stopové prvky) a pomocných vyšetření (index kreatinin/výška, bilance dusíku, celkový počet cirkulujících T-lymfocytů, prognostické nutriční indexy).

## Albumin

V praxi je nejdůležitější stanovení albuminu, který je dlouhodobým markerem stavu výživy (poločas 20 dnů). Transferin je střednědobým markerem (poločas 7,5 dnů) a hladina prealbuminu klesá již po čtyřdenním hladovění (poločas 1,9 dnů). Sérové hladiny uvedených analytů jsou odrazem jaterní proteosyntézy, která je v katabolismu porušena.

## Stopové prvky

Stopové prvky jsou kofaktory enzymů v metabolických reakcích. Nejčastěji jsou laboratorně stanovovány měď, zinek a selen. Jejich deficit bývá nejčastěji na podkladě nedostatečného příjmu ve stravě nebo doprovází některé střevní malabsorpční syndromy. K přesnému stanovení stopových prvků je nejvhodnější metodou atomová absorpční spektrofotometrie.

## Kazuistiky

### Nesprávný odběr vzorku

Chlapec, 16 let, byl přijat k celkovému vyšetření pro přetrvávající elevaci jaterních transamináz nejasné etiologie.

### Výsledky vyšetření:

AST 1,72 ukat/l, ALT 2,51 ukat/l, GMT 1,48 ukat/l, celkový bilirubin 26,1 umol/l, přímý bilirubin 10,3 umol/l, cholesterol 6,6 mmol/l, albumin 49,0 g/l, ceruloplasmin 0,28 g/l, alfa-1-antitrypsin 1,9 g/l, AFP 5,6 ug/l, S-Cu 13,7 umol/l, U-Cu 1,582 umol/24 hod, sérologie infekčních hepatitid – vše negativní

### Hodnocení:

Po konzultaci s ošetřujícím lékařem se zdá Wilsonova nemoc jako příčina hepatopatie nepravděpodobná. Tomuto onemocnění neodpovídá normální hladina ceruloplasminu v séru a pozitivita autoprotilátek zjištěná při imunologickém vyšetření. Při kontrolním vyšetření byla již hladina mědi v moči zcela normální. Při podrobném zkoumání okolností prvního vyšetření se zjistilo, že pacient sbíral moč během víkendu do skleněné nádoby, ze které byl vzorek v pondělí ráno odeslán do laboratoře. Pravděpodobnou příčinou hyperkupriurie byl nevhodný odběr a skladování vzorku, při kterém se měď do moči vyloučila ze skleněných stěn nádoby. U chlapce se jednalo o autoimunní hepatitidu.

### Významná hypalbuminemie při zvýšené tělesné hmotnosti

6letý chlapec byl urgentně přijat k hospitalizaci pro bronchopneumonii. V rámci celkového vyšetření byla zjištěna významně snížená hladina celkové bílkoviny a albuminu v séru při zvýšené tělesné hmotnosti a body mass indexu. Matka udává u pacienta nárůst tělesné hmotnosti v posledních několika týdnech, i přes celkovou únavu a nechutenství.

### Výsledky vyšetření:

sérum: CRP 116 mg/l, celková bílkovina 44 g/l, albumin 28 g/l, cholesterol 6,1 mmol/l  
moč: ery, leu, keto, nitrity, urobilinogen - vše negat., bílkovina +++

### Hodnocení:

U chlapce bylo vysloveno podezření na nefrotický syndrom, které se potvrdilo na základě doplňujících klinických (biopsie ledviny) a laboratorních vyšetření (kvantitativní proteinurie z 24hodinového sběru). Zvýšená tělesná hmotnost byla v důsledku hypoproteinemických otoků.

### Falešně nízké hladiny vitamínu A

U 17leté pacientky s cystickou fibrózou byla dlouhodobě podávána substituce vitamínem A. Při kontrolním ambulantním vyšetření po léčbě byla stanovená sérová hladina vitamínu A ještě nižší než při zahájení léčby.

### Výsledky vyšetření:

vitamin A před léčbou – 1,74 umol/l, vitamin A po léčbě – 1,56 umol/l

### Hodnocení:

Při podrobnějším dotazu na způsob odběru a transportu vzorku bylo zjištěno, že zkumavka byla zabalena do neprůsvitného obalu až bezprostředně před zasláním do biochemické laboratoře následující den. Stanovené hladiny vitamínu A byly falešně nízké v důsledku rozkladu působením slunečního světla během skladování vzorku.

# Malabsorpční syndrom a celiakie

Jiří Bronský

## Malabsorpční syndrom

Malabsorpční syndrom (MS) je soubor příznaků, které se vyskytují u poruch trávení, vstřebávání, sekrece nebo motility tenkého střeva. U primárního MS je porucha na úrovni resorpčního epitelu (celiakie, alergie na bílkovinu kravského mléka, deficit sacharázy atd.). Sekundární MS vzniká např. u onemocnění pankreatu, syndromu krátkého střeva apod. Postenteritický MS je přechodný a následuje často po akutní infekční gastroenteritidě.

## Celiakie

Celiakie (glutensenzitivní enteropatie) je trvalá nesnášenlivost lepku, který u vnímavých jedinců působí atrofii sliznice tenkého střeva. Prevalence onemocnění je až 1 : 300 a často je sdruženo s jinými autoimunitními onemocněními (tyreoiditida, diabetes mellitus 1. typu atd.). V dětském věku se projevuje zejména gastrointestinálními obtížemi (průjmy, bolesti břicha, nadýmání), neprospíváním, poruchou růstu a anemií. Na celiakii je třeba pomyslet nejen při gastrointestinálních obtížích, ale také u pacientů sledovaných pro onemocnění štítné žlázy, neplodnost či osteoporózu. Diagnóza celiakie je postavena na základě klinických příznaků, pozitivivity autoprotilátek (proti endomysiu a tkáňové transglutamináze) a nálezu slizniční atrofie při enterobiopsii.

## Význam biochemického vyšetření u malabsorpčního syndromu

Laboratorní vyšetření mají význam v průkazu základního onemocnění (pankreatitida, cystická fibróza, Crohnova nemoc), průkazu snížených sérových hladin některých analytů při malabsorpci (vitaminy, stopové prvky) a v analýze stolice na přítomnost nevstřebaných látek (tuky) a enzymů (elastáza). Zvláštní kapitolou jsou funkční vyšetření gastrointestinálního traktu, která jsou uvedena v samostatné stati.

## Jaké testy jsou v praxi používány?

### Testy střevní funkce

#### Vyšetření stolice na pH a redukující látky

Hodnota pH stolice má velkou variabilitu v závislosti na dietě. Hodnoty pH < 5 značí fermentaci neresorbovaných cukrů na organické kyseliny při malabsorpci sacharidů. Při testu na redukující látky jsou v čerstvé stolici prokazovány redukující monosacharidy (glukóza, maltóza) vzniklé štěpením nestrávených disacharidů bakteriální flórou. Průkaz je možný chromatograficky nebo bed side testem (tablety, roztok). Hodnoty nad 0,5 % redukujících látek poukazují na možnou malabsorpci v důsledku deficitu disacharidáz.

#### Alfa-1-antitrypsin (AAT)

Odpady AAT ve stolici jsou zvýšené při exsudativní enteropatii (nejčastěji na podkladě střevních lymfangiektazií), při střevních zánětech a krvácení. AAT ve je ve stolici poměrně stabilní a je odrazem proteinových ztrát. Měří se v čerstvém jednorázovém vzorku a patologické hodnoty jsou nad 0,2 mg/g. Také je možno stanovit sérové hladiny AAT a vypočítat clearance ve sběru stolice.

#### Osmolalita stolice

U sekrečního průjmu odpovídá měřená osmolalita stolice vypočtené hodnotě ( $2 \times ([Na] + [K])$  mmol/l). U osmotického průjmu je měřená osmolalita významně vyšší (osmotický gap až 100 mosmol/kg). Pro měření osmolality musí být vzorek stolice dostatečně tekutý. Delší skladování vede ke zvýšení osmolality v důsledku bakteriálního rozkladu složek stolice.

Při podezření na abúzus některých laxativ je možno stanovit jejich složky v moči (fenolftalein, Rheon) nebo ve stolici (magnesium).

#### Pankreatické testy

Elepace sérové amylázy (lépe pankreatického izoenzymu) a lipázy je známkou akutní pankreatitidy, při níž je malabsorpce přechodná a méně závažná. Naopak u chronického deficitu exokrinní funkce pankreatu provázeného klinicky významnou sekundární malabsorpcí mohou být sérové hladiny pankreatických enzymů v normě. Při exokrinní dysfunkci je snížený obsah pankreatických enzymů ve stolici. Nejspolehlivějším testem je průkaz elastázy I v jednorázovém vzorku stolice metodou ELISA. Test není ovlivněn perorální substitucí pankreatickými enzymy. Normální hodnoty se liší dle metodiky. Obvykle je hladina nad 200 ug/g známkou dobré

exokrinní pankreatické funkce. Průkaz trypsinu a chymotrypsinu je negativně ovlivněn degradací při dlouhém střevním transit-time, naopak falešně normální hodnoty mohou být při antibiotické terapii.

### **Tuk ve stolici ze sběru**

Test je abnormální při pankreatické hypofunkci, ale i jiných malabsorpčních (celiakie). Pacient by měl 2 dny před testem a v jeho průběhu dodržovat dietu s dostatečným obsahem tuku (dospělí – více než 70 g/den). Sběr stolice musí probíhat po dobu 3 – 5 dnů. Abnormální ztráty jsou nad 3,5 g/24 hod. u dětí a více než 7 % tuku přijatého per os u dospělých.

### **Steatokrit**

Steatokrit se počítá z jednorázového vzorku stolice po homogenizaci. Normální jsou hodnoty do 2 % tukové vrstvy vzhledem k netukové vrstvě.

### **Vyšetření u cystické fibrózy (CF)**

V diagnostice CF hraje hlavní úlohu pozitivní potní test (chloridy > 60 mmol/l) a nález mutace při genetickém vyšetření. U novorozenců je zaváděn screeningový test na průkaz imunoreaktivního trypsinu (IRT) v suché kapce. U dětí s CF jsou koncentrace IRT opakovaně zvýšené. Při postižení exokrinního pankreatu se stanovuje elastáza -1 ve stolici a sérové hladiny vitaminů rozpustných v tucích.

### **Další vyšetření při malabsorpci**

Při podezření na malabsorpci je možno stanovit sérové hladiny jednotlivých vitaminů (A, D, E, B<sub>12</sub>, kys. listová), minerálů a stopových prvků (Fe, Se, Zn). Nepřímo na malabsorpci mohou upozornit i jiná laboratorní vyšetření (anemie).

## **Kazuistiky**

### **Pseudomalabsorpce tyroxinu**

Žena, 49 let, léčena levotyroxinem po tyreoidektomii pro Hashimotovu tyroiditidu. Laboratorní vyšetření bylo provedeno pro klinicky persistující hypotyroidismus i přes podávání vysokých dávek tyroxinu (600 ug/den).

### **Výsledky - sérum:**

TSH 351 mIU/l  
T<sub>3</sub> 0,3 nmol/l  
fT<sub>4</sub> 2,1 pmol/l

### **Hodnocení:**

Pacientka byla přijata k hospitalizaci a při podávání tyroxinu na lůžku se neprokázala malabsorpce tyroxinu, laboratorní výsledky se rychle upravily. Pseudomalabsorpce levotyroxinu u pacientky byla v důsledku záměrného sebepoškozování při Münchhausenově syndromu.

### **Myopatie u pacienta s celiakií**

42letý muž byl přijat k celkovému vyšetření pro únavu, průjmy, úbytek na váze a anemii. Ambulantní neurologické vyšetření prokázalo příznaky myopatie, polyneuropatie a ataxii.

### **Výsledky:**

Imunologie: EMA pozit., anti-tTG > 200 U/ml  
Krevní obraz: leukocyty 5,0 x 10<sup>9</sup>/l, Hgb 97 g/l, MCV 68 fl, MCH 22 pg, trombocyty 420 x 10<sup>9</sup>/l  
Biochemie séra: CRP negat., AST 1,05 ukat/l, ALT 1,28 ukat/l, bili 15 umol/l, Fe 2,1 umol/l, Vitamin E 3,2 umol/l

### **Hodnocení:**

Svalová biopsie prokázala zánětlivý infiltrát. Příčinou myopatie byla významná hypovitaminóza E při malabsorpci v rámci základní diagnózy celiakální sprue. Na bezlepkové dietě a vitaminové suplementaci došlo k rychlému spontánnímu ústupu obtíží, normalizaci neurologického nálezu i regresi svalových změn při kontrolní svalové biopsii.

### **Neobvyklá příčina výrazné trombocytózy**

83letá pacientka byla přijata pro únavu, výraznou trombocytózu a anemii s podezřením na hematologické maligní onemocnění. Fyzikální vyšetření prokázalo bledost a mírně subnormální tělesnou hmotnost, nebyly přítomny známky krvácení do gastrointestinálního či močového traktu.

**Výsledky:**

Krevní obraz: leukocyty  $7,2 \times 10^9/l$ , Hb 40 g/l, MCV 62 fl, MCH 21 pg,  
trombocyty  $1400 \times 10^9/l$

Punkce kostní dřeně: normální nález, bez známek malignity

Endoskopické vyšetření s biopsií: totální vilózní atrofie duodenální sliznice

**Hodnocení:**

Těžká anemie a trombocytóza byly příznaky celiakie s pozdní manifestací potvrzené imunologickým vyšetřením (pozitivní protilátky proti endomysiu i tkáňové transglutamináze). Po opakovaných transfusích ERY masy a 2 měsících bezlepkové diety se parametry krevního obrazu zcela upravily.



# Funkční vyšetření v gastroenterologii

## Jiří Bronský

### Vyšetření žaludeční funkce

#### Pentagastrinový test

Principem testu na hypo/achlorhydrii je stanovení koncentrace HCl a množství žaludečního sekretu získaného nasogastrickou sondou před a po stimulaci pentagastrinem. 24 hodin před testem se nesmí podávat léky ovlivňující žaludeční sekreci, spasmolytika a antacida.

#### Sekretinový test

Principem je stanovení sérové koncentrace gastrinu před a 20 min. po intravenózní stimulaci sekretinem. Rozdíl koncentrací o více než 200 pg/ml svědčí pro Zollinger-Ellisonův syndrom (gastrinom).

#### Dechový test na H.pylori (UBT-urea breath test)

UBT se provádí nalačno. Stanovuje se poměr  $^{13}\text{CO}_2 : ^{12}\text{CO}_2$  ve 3 vzorcích vydechaného vzduchu před testem a 30 minut po vypití roztoku s ureou značenou  $^{13}\text{C}$ , který je působením ureázy na povrchu H.pylori odštěpen. Nejčastěji se test používá 4 – 6 týdnů po eradikační terapii k posouzení úspěšnosti léčby. K dispozici je i POCT varianta dechového testu a rychlá in vitro varianta z bioptického vzorku (jatrox).

### Vyšetření střevní funkce

#### D-xylózový test

Test slouží k posouzení střevní absorpce a provádí se nalačno. Po perorálním podání 5 g D-xylózy následuje pětihodinový sběr moči, během kterého by mělo být vyloučeno minimálně 25 % podaného množství xylózy. Při poruše renálních funkcí má větší výpovědní hodnotu sérová koncentrace za 1 hodinu po podání, která má být minimálně 0,7 mmol/l/1,73m<sup>2</sup>.

#### Testy střevní permeability

Při některých střevních onemocněních se zvyšuje střevní propustnost pro disacharidy (laktulóza) a větší molekuly (Cr-EDTA). K posouzení permeability se vztahuje jejich absorpce a následná močová exkrece vzhledem k manitolu, pro nějž je propustnost postižené střevní stěny snížena.

#### Dechový test s H<sub>2</sub>

Za fyziologických okolností dochází asi za 2 hodiny po podání laktulózy k jejímu štěpení bakteriemi v tlustém střevě za uvolnění H<sub>2</sub>, který je možno měřit ve vydechaném vzduchu. Zvýšení H<sub>2</sub> dříve než za 2 hodiny poukazuje na zrychlený transit time nebo bakteriální přerůstání v tenkém střevě (tzv. syndrom slepé klíčky). Obdobou je H<sub>2</sub> test s glukózou nebo značenými žlučovými solemi.

#### Testy na deficit disacharidáz

- Laktóзовый toleranční test funguje na stejném principu jako oGTT.
- U dechového laktóзовého H<sub>2</sub> testu je při deficitu laktázy H<sub>2</sub> uvolňováno v tlustém střevě působením bakterií a následně vydechováno.
- Vyšetření stolice na pH a redukující látky je uvedeno v kapitole „Malabsorpční syndrom a celiakie“.

#### Test na absorpci vitamínu B<sub>12</sub> (Schillingův test)

Perorálně je podán samotný  $^{57}\text{Co}$ -cyanokobalamin a následně i v komplexu s vnitřním faktorem. Při deficitu vnitřního faktoru je snížená radioaktivita moči z 24hodinového sběru pouze v prvním případě. Při postižení terminálního ilea v obou případech.

#### Test na okultní krvácení

Test se provádí ze čtyř různých míst stolice ve třech různých dnech (celkem 12 vzorků). Za 24 hodin je na zaschlý vzorek aplikován hydrogenperoxid. Principem je oxidace guajakové pryskyřice působením peroxidázové aktivity hemu. Testační destička se při pozitivním vzorku zbarví modře. Tři dny před testem a v jeho průběhu by neměl pacient užívat vitamin C, který může způsobit falešně negativní výsledek.

## Vyšetření exokrinní funkce pankreatu

### Invazivní stimulační testy (přímé)

Principem je stanovení množství pankreatického sekretu a koncentrace hydrogenuhličitanu v duodenálním obsahu získaném sondou po intravenózním podání sekretinu. Při současném podání cholecystokininu lze stanovit v sekretu i koncentraci pankreatických enzymů.

### Pankreolaurylový test

Principem testu je perorální podání fluorescein dilaurátu, který je u zdravého jedince rozštěpen ve střevě pankreatickou lipázou za uvolnění fluoresceinu, který lze stanovit v séru nebo moči.

### Test s paraaminobenzoovou kyselinou (PABA)

Test je na podobném principu jako pankreolaurylový test. Porovnává se poměr močové exkrece PABA po podání N-benzoyl-1-tyrosyl-PABA (BT-PABA), která se štěpí vlivem chymotrypsinu, s exkrecí po podání nekonjugované PABA.

Stanovení elastázy-1 a chymotrypsinu ve stolici je uvedeno v kapitole „Malabsorpční syndrom a celiakie“.

## Vyšetření jaterních funkcí

Statickými funkčními vyšetřeními je možno sledovat proteosyntetické (např. sérový albumin, prealbumin, retinol vázající protein atd.) a eliminační (např. sérový bilirubin) funkce jater. Principem dynamických testů je výpočet clearance dané látky, která je odrazem průtoku krve játry, reziduální hmoty nebo metabolické schopnosti jater. Intravenózně podaný lidokain (1 mg/kg) je v játrech metabolizován na monoetylglycinylidid (MEGX), jehož sérové koncentrace za 0, 15 a 30 minut jsou ukazatelem extrakce, metabolismu a clearance lidokainu. Test je dobrým ukazatelem prognózy jaterního onemocnění a je využíván i po transplantaci jater. Mezi další dynamické testy patří např. test s indocyanovou zelení, kofeinový nebo aminopyrinový test.

## Kazuistiky

### Test na okultní krvácení

55letý muž byl ambulantně vyšetřen pro únavu, nechutenství, bledost a občasně bolesti břicha. Při laboratorním vyšetření byla nalezena anemie. Provedená doplňující vyšetření neobjasnila příčinu stavu.

### Výsledky:

Krevní obraz: erytrocyty  $3,82 \times 10^9/l$ , Hb 94 g/l, MCV 83 fl, MCH 29 pg, trombocyty  $380 \times 10^9/l$   
moč: ery 0, test na o.k. – 3x negativní

### Hodnocení:

Při podrobnější anamnéze lékař zjistil, že pacient denně užívá vitaminové preparáty s vysokým obsahem vitamínu C, které byly pravděpodobnou příčinou falešně negativního výsledku testu na okultní krvácení. S časovým odstupem po vysazení preparátu byl test opakovaně pozitivní. Endoskopické vyšetření s histologií potvrdilo diagnózu kolorektálního karcinomu.

### Dechový test na H.pylori

U 17leté dívky s dyspeptickými obtížemi byla zjištěna pozitivita antigenu H.pylori ve stolici. Následné endoskopické vyšetření prokázalo vředovou chorobu žaludku a pozitivní průkaz H.pylori v bioptickém vzorku. Byla zahájena eradikace kombinací omeprazol + amoxicilin + clarythromycin. Týden po ukončení léčby byl proveden kontrolní dechový test.

### Výsledek: negativní

Během měsíce dochází k recidivě obtíží, provedená endoskopie opět prokazuje H.pylori v bioptickém vzorku a makroskopické známky gastritidy.

### Hodnocení:

Příčinou falešně negativního dechového testu bylo nedodržení minimální doby od ukončení eradikační léčby (4 týdny). Eradikace H.pylori byla neúspěšná z důvodu rezistence k použitým antibiotikům.

### **Stanovení chymotrypsinu ve stolici**

U 17letého pacienta s chronickou pankreatitidou bylo při akutní exacerbaci onemocnění provedeno kontrolní vyšetření stolice na chymotrypsin s normálními hodnotami, což bylo v nesouladu s vyšetřením provedeným před 2 lety, kdy byl odpad chymotrypsinu výrazně snížen.

### **Výsledky:**

chymotrypsin ve stolici: 8,5 U/g

elastáza -1 ve stolici: 85 ug/g

Pro doplnění bylo provedeno i stanovení elastázy I, které prokázalo významně snížené hodnoty. Příčinou falešně normálních hladin chymotrypsinu byla perorální substituce pankreatickými enzymy, kterou pacient dlouhodobě užívá. Tato substituce nebyla vysazena s dostatečným předstihem před stanovením chymotrypsinu.

# Likvorologické kazuistiky

## Kateřina Mrázová

### Kazuistika č. 1

#### Anamnéza:

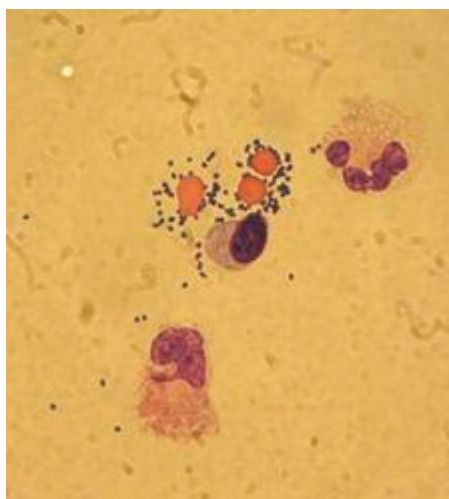
Pacientka 16 let, 15.3. febrilie, únava, bolesti hlavy a břicha, zvracení, 17.3. ráno vyšetřena u obvodního lékaře, stav hodnocen jako viróza. Večer zhoršení stavu. Na pohotovosti provedeno biochemické vyšetření, kde nalezen vysoký CRP. Pacientka hospitalizována na jednotce intenzivní péče dětského oddělení.

#### Stav při přijetí:

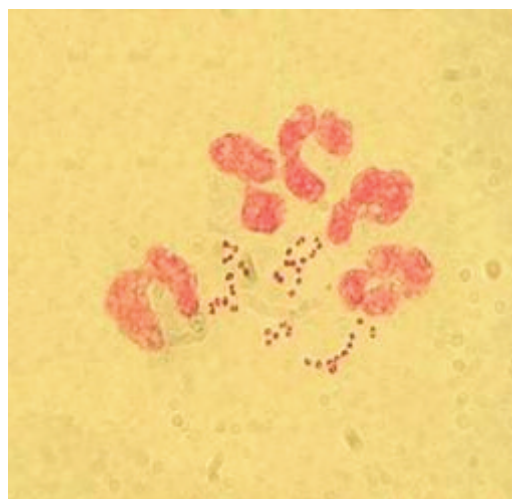
Teplota 36,5 °C, krevní tlak 95/55, dechová frekvence 28/min, meningeální, negativistická, nekoordinované obranné pohyby, bez kontaktu, kůže bez petechií, centralizace oběhu.

#### Lumbální punkce:

Elementy	1856/3 ul
Erytrocyty	164/3 ul
Celková bílkovina	3,6 g/l
Glukóza	0,8 mmol/l
Laktát	6,14 mmol/l



Barvení dle Papenheima, 100x imerse  
Obrázek 1: Cytologické vyšetření



Barvení dle Grama, 100x imerse

#### DNA diagnostika:

likvor – pozitivita Neisseria meningitidis skupiny C

krev – negativní

#### Komplikace:

oběhové a ventilační selhání, porucha vědomí, edém mozku, počínající konsumpční koagulopatie, akutní pankreatitida, endogenní endoftalmitida hospitalizace 45 dnů, diagnóza Meningoková meningitida

### Kazuistika č. 2

#### Anamnéza:

Pacientka, 16 let

RA: těžká autohavárie, pacientka bez úrazu

OA: bezvýznamná

NO: 4.8. večer febrilní, teplota do 40 °C, zvracení, bolesti hlavy, 5.8. ráno vyšetřena u obvodního lékaře – symptomatická terapie, odpoledne zhoršení stavu, porucha vědomí, teplota 40,5 °C. Lékařskou službou první pomoci odeslána do nemocnice. Porucha vědomí se prohloubila, akrálně se objevují petechie. Pacientka je zaintubována, jsou zajištěny 2 žilní vstupy, žaludeční sonda a močový katétr. Je podána první medikace:

Seduxen, Arduan, Manitol, Dexona, Ringer, Lendacin. Letecky transportována do fakultní nemocnice.

**Stav při přijetí:**

Teplota 37,2 °C, krevní tlak 80/44, pacientka na umělé plicní ventilaci. Eutrofická, petechie na DK, krvácivé projevy v nose a dutině ústní. Neurologické vyšetření ovlivněno léčbou.

**Lumbální punkce:**

Elementy	21760/3 ul
Erytrocyty	8192/3 ul
Celková bílkovina	6,74 g/l
Glukóza	0,1 mmol/l
Laktát	12,0 mmol/l

**Cytologické vyšetření:**

Polynukleární pleocytóza, nečetné mononukleáry.

**DNA diagnostika:**

likvor – pozitivita Neisseria meningitidis skupiny C  
krev – pozitivita Neisseria meningitidis skupiny C

**Diagnóza:** Meningokoková meningitida

**Otázka:**

V obou případech se jedná o bakteriální neuroinfekci. Podle čeho byste rozlišili bakteriální neuroinfekci od virové (např. klíšťové encefalitidy)?

**Cytologické vyšetření likvoru:**

bakteriální neuroinfekce: jasně převažují neutrofilní granulocyty  
virová neuroinfekce: převaha mononukleárů (aktivovaných lymfocytů a monocytů)

**Glukóza v likvoru:**

bakteriální neuroinfekce : značně snížená až nulová (nebo méně než 40 % sérové hladiny)  
virová neuroinfekce: normální hladiny

**Laktát v likvoru:**

bakteriální neuroinfekce: značně zvýšený  
virová neuroinfekce: spíše normální nebo jen mírné zvýšení

**Průkaz vyvolávajícího agens v likvoru:**

bakteriální neuroinfekce : pozitivní mikrobiologické vyšetření, PCR diagnostika  
virová neuroinfekce: serologické vyšetření – průkaz protilátek proti vyvolávajícímu agens

# Kardiální markery

## Karel Kotaška

### Kreatinkináza (CK)

#### Patobiochemické a klinické souvislosti, indikace vyšetření

Kreatinkináza (CK) je enzym obsažený v cytoplazmě a v mitochondriích buněk kosterního svalu, mozku a srdečního svalu. Skládá se ze 2 podjednotek: M (kosterní sval), B – (mozek), a jejich vzájemnou kombinací vytváří 3 typy izoenzymů CK-MM, CK-MB, CK-BB. V krevním séru zdravého člověka tvoří většinu aktivity CK izoenzym CK-MM. Izoenzym CK-MB je charakteristický pro myokard. CK se používá jako jeden z markerů infarktu myokardu – vzestup nastává za 4 – 8 hod po atace a to 2 – 25x, maximum je dosaženo za 16 – 36 hodin, návrat k normálním hodnotám nastává po 3 – 6 dnech. Poločas odbourávání je cca 15 hodin. Vzestup CK nastává také po zvýšené tělesné námaze a prudce stoupá za 8 – 16 hodin, nemusí se projevit u trénovaných sportovců. Plazmatická aktivita u žen je o 20 – 25 % nižší než u mužů a souvisí s objemem svalové hmoty a pravděpodobně také s rozdílnou stabilitou buněčných membrán (vyšší u žen). Černošky mohou mít vyšší aktivity než muži - běloši. Odpočinek na lůžku přes noc obecně snižuje aktivitu o 10 – 20 %. Zvýšení po fyzické zátěži. Snižování aktivity v graviditě, změny CK ve smyslu zvýšení jsou v porodním období. Fyziologicky zvýšené hodnoty CK mají novorozenci.

#### Zvýšené hodnoty CK v séru:

svalová onemocnění:

- traumata svalů včetně rhabdomyolýzy (např. po intoxikaci kokainem)
- muskulární dystrofie (Duchenaova choroba vykazuje zvýšení 20 - 200x nad horní referenční mez)
- myotonická dystrofie s defektem podjednotky M při genetickém polymorfizmu CK-MM
- po epileptickém záchvatu typu grand mal (zde může zvýšení sloužit jako zpětný průkaz proběhlého záchvatu)
- syndrom maligní hypertermie
- myozitidy, dermatomyozitidy
- hereditární deficit M-podjednotky laktátdehydrogenázy
- deficit myoadenylátdeaminázy
- syndrom myalgie s eozinofilií

onemocnění myokardu:

- akutní infarkt myokardu
- myokarditida
- po elektrické kardioverzi (zejména opakované)

nádorová onemocnění:

- hepatocelulární karcinom

jiné nádory tkání obsahujících libovolný izoenzym CK, zejména v pokročilém stavu

ostatní onemocnění:

- onemocnění prostaty (vlivem zvýšení BB izoenzymu)
- onemocnění GIT (vlivem zvýšení BB izoenzymu)
- hypotyreóza s myxedémem
- centrální mozková příhoda

#### Snížené hodnoty CK v séru:

- nízká svalová hmota
- u metastatických procesů
- pacienti na steroidech
- u alkoholického onemocnění jater
- onemocnění pojivových tkání

**Referenční rozmezí:**

do 6 týdnů	1,26 – 6,66 ukat/l		
6 týdnů – 1 rok	0,17 – 2,44 ukat/l		
1 – 15 let	0,19 – 2,27 ukat/l		
		muži	ženy
15 – 90 let		0,41 – 3,24 ukat/l	0,41 – 2,85 ukat/l
nad 90 let		0,36 – 3,38 ukat/l	0,37 – 1,65 ukat/l

**Kreatinkináza –izoenzym (CK-MB) a CK-MB hmotnostní****Patobiochemické a klinické souvislosti, indikace vyšetření**

Kreatinkináza (CK) je enzym obsažený v cytoplasmě a v mitochondriích buněk kosterního svalu, mozku a srdečního svalu. Skládá se ze 2 podjednotek: M (kosterní sval), B (mozek) a jejich vzájemnou kombinací vytváří 3 typy izoenzymů: CK-MM, CK-MB, CK-BB. V krevním séru zdravého člověka tvoří většinu aktivity CK izoenzym CK-MM.

**Zvýšení CK-MB se může projevit u:**

- poškození myokardu z různých příčin (akutní infarkt myokardu, myokarditida)
- muskulární dystrofie Duchennova typu
- maligní hypertermie
- polymyozitidy a dermatomyozitidy
- Reyova syndromu
- vzácně u revmatoidní artritidy s vysokým titrem revmatoidního faktoru
- invazivní vyšetřování srdce
- svalové trauma, degenerativní svalové onemocnění, šok, intoxikace, popáleniny

**CK-MB není obvykle zvýšeno:**

- u anginy pectoris, svalové zátěže
- myxedému (kde je zvýšení celkové CK cca v polovině případů)
- nitramuskulárních injekcí
- centrální mozkové příhody, perikarditidy, pneumonie
- plicní embolizace, epileptického záchvatu

Izoenzymy kreatinkinázy (CK) se vyskytují v řadě tkání. Subjednotky M (muscle) a B (brain) vytvářejí 3 izoenzymy cytosolové CK (tabulka 1):

- CK-MM, zastoupený v největší míře v kosterním svalstvu a myokardu,
- CK-BB, vyskytující se převážně v mozku, hladkém svalstvu GIT a močového měchýře
- CK-MB, převážně v myokardu a kosterním svalstvu

Tkáň	Aktivita CK (U/g vlhké tkáně)	CK-MM (%)	CK-MB (%)	CK-BB (%)
Kosterní svaly	2500 – 3000			
Rychlá (bílá) vlákna		97 – 99	1 – 3	pod 0,1
Pomalá (červená) vlákna		95	5	pod 0,1
Myokard	500 – 700			
Normální		95	5	
Patologicky alterovaný		70 – 80	20 – 30	
Mozek	200 – 300			100
Gastrointestinální trakt	120 – 150			100
Močový měchýř	85			100
Děloha mimo graviditu	165			100
Děloha v graviditě	245		6	94
Placenta	250	19	1	80
Prostata	85			100
Plíce	15	0 – 20		80 – 100

Tabulka 1: Přehled izoenzymů kreatinkinázy

Izoenzym CK-MB je charakteristický pro myokard.

CK – MB se používá jako jeden z markerů infarktu myokardu – vzestup nastává za 4 – 8 hod po atace a to 2 – 25x, maximum je dosaženo za 16 – 36 hodin, návrat k normálním hodnotám nastává po 3 – 6 dnech. Poločas odbourávání je cca 15 hodin.

Stanovování koncentrace CK-MB se využívá při zjišťování účinnosti trombolytické léčby nebo při sledování reinfarktu. Vyskytují se 4 izoformy CK-MB.

Poměr CK-MB<sub>2</sub>/CK-MB<sub>1</sub> > 1,5 svědčí pro akutní nekrózu a je-li zároveň hodnota CK-MB > 1 U/l, pak je vysoká specifická a senzitivita nálezu pro akutní infarkt myokardu. Detekce izoform je možná již 3 hodiny po začátku obtíží. Negativní nález má vysokou prediktivní hodnotu pro nepřítomnost nekrózy.

CK-MB mass v plazmě je označením pro stanovení plazmatické hmotnostní koncentrace CK-MB pomocí specifických protilátek, takže předmětem stanovení je hmotnostní koncentrace proteinu, nikoli jeho katalytická koncentrace. Na rozdíl od běžného principu stanovení katalytické koncentrace CK-MB je stanovení hmotnostní koncentrace CK-MB mass v plazmě specifické právě pro izoenzym CK-MB. Koncentraci CK-MB v krvi zdravých osob ovlivňuje (analogicky jako u CK) především objem svalové hmoty a její aktivita. Fyziologické rozmezí CK-MB je proto rovněž poměrně široké, hodnoty v oblasti horní hranice referenčního rozmezí mohou být sice již projevem poškození myokardu, stejně dobře však i odrazem rozsahu a aktivity kosterního svalstva. Hladiny CK-MB jsou detekovány během 3 – 8 hodin po infarktu a během 12 – 24 hodin je jejich nárůst maximální a po 24 – 48 hodinách se hladiny vrací na původní úroveň. Stanovení CK-MB mass se využívá také k monitorování pacientů s vrozenými srdečními vadami, svalovým traumatem, rbdomyolýzou a chronickou otravou alkoholem. Kvantifikace CK-MB v séru se využívá k diagnostice poškození myokardu. Zvýšené hodnoty CK-MB mass korelují s nekrózou myokardiálních buněk v průběhu akutního infarktu myokardu.

Koncentraci v plazmě lze využít pro stanovení velikosti infarktového ložiska.

Makrokreatinkináza je atypická forma kreatinkinázy tvořená komplexem enzymu a imunoglobulinů. Při elektroforéze izoenzymů CK migruje mezi MM a MB izoenzymem. Vzácně se nachází u starších žen a nemá klinický význam.

#### a) CK-MB

##### Referenční rozmezí:

pro obě pohlaví 15 – 60 let: 0 - 0,42 ukat/l

#### b) CK-MB hmotnostní

##### Referenční rozmezí:

muži 15 – 99 let: 0 – 7,2 ug/l

ženy 15 – 99 let: 0 – 3,4 ug/l

## Myoglobin

### Patobiochemické a klinické souvislosti, indikace vyšetření

Myoglobin je hemoprotein o molekulové hmotnosti přibližně 17800 Da, přenáší a reverzibilně váže kyslík ve svalových buňkách. Nachází se především v příčně pruhované svalové tkáni (kosterní a srdeční svalstvo). Myoglobin se uvolňuje z poškozeného srdečního svalu při akutním infarktu myokardu. Nárůst koncentrace myoglobinu v krvi lze zaznamenat již za 2 – 4 hodiny po nástupu bolesti a je časnější než ostatní kardiální markery - CK, CK-MB, troponin, maxima dosahuje za 4 – 12 hodin a pak relativně rychle klesá k normálním hodnotám renální eliminací, biologický poločas je přibližně 15 minut. Vzhledem k molekulové hmotnosti je rychle filtrován glomerulární filtrací, porucha filtrace zvyšuje významně koncentrace myoglobinu v plazmě. Velmi rychlý nárůst koncentrace myoglobinu se objevuje při úspěšném terapeutickém zákroku, gradient koncentračního nárůstu lze brát jako indikátor úspěšné trombolýzy. Při infarktu myokardu se myoglobin uvolňuje z kardiomyocytu velmi rychle a díky své nízké relativní molekulové hmotnosti proniká snadno do oběhu (na rozdíl od CK, resp. CK-MB, které mají významně vyšší relativní molekulovou hmotnost a z ložiska nekrózy v myokardu přecházejí do oběhu převážně lymfatickými cestami). Při překročení kapacity lymfatických odvodných cest dochází k přímému přestupu do krve. K vzestupu myoglobinu dochází již za 2 hodiny po začátku onemocnění, hladina kulminuje po 6 – 9 hodinách a do 36 hodin se obvykle vrací do referenčního rozmezí. Falešně vysoké hodnoty myoglobinu v séru však mohou být podmíněny paralelním poškozením kosterního svalstva (např. zhmožděním při manuální resuscitaci apod.) a jeho sníženou renální filtrací při renální insuficienci.

Stanovení myoglobinu má jen částečnou hodnotu při vylučování diagnózy infarktu myokardu – pokud do 6 hodin po nástupu bolesti nedojde ke zvýšení koncentrace myoglobinu a ani po dalším opakovaném vyšetření v průběhu 4 hodin, je možno infarkt myokardu vyloučit.



### Zvýšení myoglobinu se může projevit u:

- poranění svalů, rabdomyolýza, crush syndrom
- myopatie, šok
- selhání ledvin

V diferenciální diagnostice a rozhodovacím postupu u nemocných s bolestí na hrudi je stanovení myoglobinu jako časného markeru dnes metodou volby, rozhodujícím parametrem je jeho negativní prediktivní hodnota (40 % za 1 hodinu po začátku onemocnění, 60 % za 2 hodiny, 90 % za 3 hodiny, 96 % za 4 hodiny). Nezvýšená hodnota myoglobinu u nemocného s bolestí na hrudi mezi 2. – 12. hodinou po začátku onemocnění s vysokou pravděpodobností vylučuje akutní infarkt myokardu. Zvýšená hodnota má být doplněna vyšetřením kardiospecifického markeru, v praxi dnes vyšetřením cTn. U nemocných, kde nelze určit začátek onemocnění a v případech, kdy onemocnění začalo před více než 24 hodinami, může vzestup myoglobinu již odeznít; v těchto případech bývá ještě zvýšená hodnota CK-MB, metodou volby je však stanovení cTn. Při diagnostice poškození myokardu je dnes myoglobin nejčastěji doporučovaným a používaným kardiomarkerem v časně fázi onemocnění. Paralelním stanovením karboanhydrázy III, která se vyskytuje jen v kosterním svalstvu a ne v myokardu, lze kardiospecifickou hodnotu vyšetření myoglobinu zvýšit. Negativní prediktivní hodnota vyšetření myoglobinu (60 % za 3 hod. po začátku ischemie, 90 % za 4 hod.) je velmi cenná v rozhodovacím postupu při vyloučení akutní koronární léze.

### Referenční rozmezí:

0 – 15 let	8,1 – 50 ug/l		
		muži	ženy
nad 15 let		12,8 – 69,9 ug/l	7,2 – 36,7 ug/l

## Kardiální troponiny

### Patobiochemické a klinické souvislosti, indikace vyšetření

Troponiny jsou strukturální bílkoviny buněk příčně pruhovaného svalstva. Troponin C je vazebný protein pro vápníkový ion, troponin I je kalcium-dependentní inhibitor interakce tenkých a tlustých myofilament; v nepřítomnosti vápníkových iontů blokuje vazebná místa mezi aktinem tenkých myofilament a myosinem tlustých myofilament. Troponin T váže troponin C a I na tropomyosin.

Troponiny C, I a T tvoří s tropomyosinem troponin-tropomyosinový komplex, který kontroluje kontrakci a relaxaci buněk příčně pruhovaného svalstva.

cTnI se do krevního oběhu uvolňuje již během několika hodin po akutním infarktu myokardu nebo po ischemickém poškození. Zvýšené hladiny cTnI jsou v séru indikovatelné během 4 – 6 hodin do nástupu bolesti v hrudi, během 8 – 28 hodin dosáhnou maximálních koncentrací a zůstanou zvýšené přibližně 3 – 10 dní po akutním infarktu myokardu. cTnI není vhodný k diagnostice reinfarktu, ale přetrvávání jeho zvýšené hladiny umožní diagnostiku IM i při delším časovém odstupu mezi vznikem potíží a příchodem nemocného k vyšetření.

cTnI je užitečný také jako ukazatel rizika poškození srdce u pacientů s nestabilní anginou, kdy zvýšené hodnoty mohou tyto pacienty indikovat. cTnT v séru se zvyšuje za 4 – 6 hodin po nástupu ischemie, zvýšení hladiny přetrvává 10 dnů až 2 týdny.

### Porovnání cTnI a cTnT

Parametr	cTnT	cTnI
Relativní molekulová hmotnost	37 kD	24 kD
Koncentrace v myokardu g/vlhké tkáni	10,8 mg	4 – 6 mg
Poměr cTn/CK-MB	7,7	2,8 – 4,2
Cytosolový pool volného cTn (%)	6 – 8	2,8 – 4,0
Apoptotická koncentrace (přibližná) v krvi zdravých osob	0 – 0,0002 ug/l	17,2 – 23,6 ng/l
Formy cTn v krvi při uvolnění z myokardu	volný cTnT komplex cTnT-I-C framgmenty cTnT	komplex cTnI-C komplex cTnT-I-C framgmenty cTnI
Sekvenční homologie s sTnTf, resp. sTnIf	56,6 %	41,4 %
Sekvenční homologie s sTnTs, resp. sTnIs	58,3 %	46,2 %

Použitelnost při diagnostice a sledování akutního koronárního syndromu	není rozdílná	není rozdílná
Použitelnost při diagnostice a sledování neischemického poškození myokardu	chybí jednoznačné poznatky	chybí jednoznačné poznatky
Vzestup v krvi při STE infarktu myokardu (hod. po začátku onemocnění)	3 – 4	3 – 4
Maximální hodnota (hod.)	12	12
Diagnostické „okno,, (dny)	7 – 9	7 – 14
Bifázický průběh při úspěšné časné reperfuzi	zřetelný	méně zřetelný
Použitelnost pro hodnocení úspěšnosti trombolýzy	ano	ano
Účinnost při stratifikaci kardiovaskulárního rizika	zcela srovnatelná	, zcela srovnatelná
Vzestup hodnot v krvi nemocných v chronickém renálním selhávání	30 %	5 %
Predikce kardiovaskulární mortality u chronického renálního selhávání	méně účinná	účinnější
Predikce celkové mortality u chronického renálního selhávání	účinnější	méně účinná
Počet známých producentů	1	10

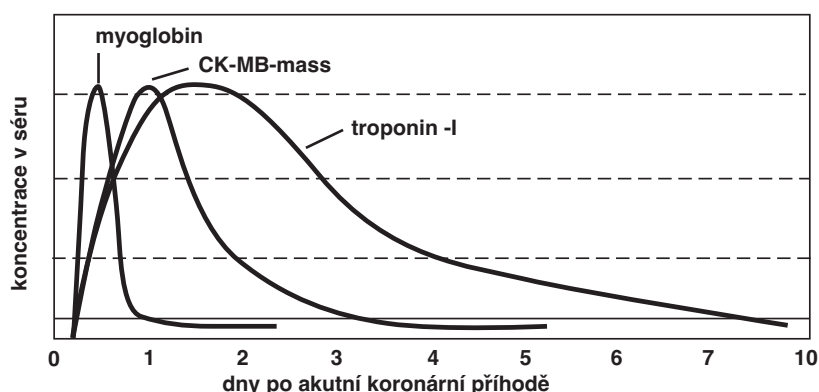
Tabulka 2: Porovnání cTnI a cTnT

Uvolňování troponinů (cTn) z kardiomyocytu do krve za fyziologických okolností prakticky nenastává. Fyziologické hodnoty cTnT v krvi zdravých dospělých osob se pohybují v oblasti 0 – 0,0002 mg/l, cTnI v rozmezí 17,2 – 23,6 ng/l a jsou velmi pravděpodobně důsledkem apoptózy kardiomyocytů. Maximální hodnota cTn v prvních 24 hodinách po začátku onemocnění u nemocných s AIM souvisí s rizikem morbidity a mortality. Čím je tato hodnota cTn vyšší, tím větší je i riziko kardiovaskulární morbidity a mortality v krátkém (zde je maximální) i dlouhém časovém horizontu (zde postupně klesá).

## Kardiální troponin I

### Referenční rozmezí:

0 – 1 rok: 0 – 4,8 ug/l, více než 1 rok: 0 – 0,3 ug/l (v závislosti na metodě)



Obrázek 1: Dynamika kardiálních markerů

## Laktátdehydrogenáza a izoenzymy

### Patobiochemické a klinické souvislosti, indikace vyšetření

Laktátdehydrogenáza (LD) je cytoplazmatický enzym, který se vyskytuje v celé řadě tkání organismu, především v játrech, ledvinách, srdečních a kosterních svalech, v nádorových buňkách a v erythrocytech. V krevním séru existuje 5 izoenzymů laktátdehydrogenázy a celková aktivita LD je dána jejich součtem. Tetramerické izoenzymy LD jsou tvořeny kombinací dvou podjednotek: H (srdeční svalstvo) a M (kosterní svalstvo). Podjednotky se liší pořadím aminokyselin a jejich kombinací vznikají následující izoenzymy:

LD1 = HHHH, LD2 = HHHM, LD3 = HHMM, LD4 = HMMM, LD5 = MMMM. Nejstabilnější je izoenzym LD1 (H4), který je charakteristický pro myokard a červené krvinky. Nejméně stabilní je izoenzym LD4 (M4), přítomný především v játrech a kosterním svalstvu, obdobně jako LD4. Pro myokard je charakteristický i izoenzym LD2 (H3M1). Izoenzym LD3 je obsažen především v játrech, uzlinách a leukocytech.

V organismu LD katalyzuje reverzibilní přeměnu pyruvátu na laktát, důležitou reakci anaerobní glykolýzy. Zvýšené hodnoty LD v séru se nacházejí při akutním infarktu myokardu, hodnoty LD se zvyšují v průběhu 6 – 12 hodin, vrcholu bývá dosaženo za 24 – 60 hodin od počátku bolesti, zvýšení může přetrvávat až 10 dní. Největší význam elektroforézy izoenzymů LD spočívá v diagnostice infarktu myokardu (IM). V séru zdravého člověka je poměr LD1/LD2 < 1, u srdečního infarktu stoupá především hodnota LD1 a v menší míře LD2 a poměr LD1/LD2 > 1. Během 12 – 24 hodin po IM se zvyšuje koncentrace celkové LD dvakrát až třikrát. Maxima aktivity celkové LD je dosaženo po dvou až třech dnech a ještě přibližně 14 dnů zůstává ve zvýšených hodnotách.

### a) Laktátdehydrogenáza

#### Referenční rozmezí:

0 – 4 dny	4,83 – 12,91 ukat/l
4 – 10 dní	9,08 – 33,3 ukat/l
10 dní – 24 měsíců	3,0 – 7,16 ukat/l
24 měsíců – 12 let	1,83 - 4,91 ukat/l
12 – 60 let	1,67 – 3,17 ukat/l
60 – 90 let	1,83 – 3,5 ukat/l
nad 90 let	1,65 – 4,73 ukat/l

### b) Izoenzymy laktátdehydrogenázy

#### Referenční rozmezí:

LD1	16,1 – 31,5
LD2	29,2 – 41,6
LD3	17,0 – 26,2
LD4	5,9 – 12,3
LD5	3,2 – 17,3

## Natriuretické peptidy

### Patobiochemické a klinické souvislosti, indikace vyšetření

Hlavním účinkem natriuretických peptidů je natriuréza a diuréza způsobená zvýšením glomerulární filtrace a zvýšením frakční exkrece sodného kationu v ledvinových tubulech. Natriuretické peptidy působí prostřednictvím receptorů v ledvinách, cévách, mozku a dalších orgánech. Cílovými buňkami pro natriuretické peptidy v ledvinách jsou svalové buňky vas afferens (vazodilatační efekt), svalové buňky vas efferens (ovlivnění vazokonstrikce), mezangiální buňky (relaxace, zvýšení filtrace), buňka proximálního tubulu (poměrně malý vliv, pouze za předpokladu vlivu systému renin-angiotenzin-aldosteron nebo městanavého srdečního selhání), buňky Henleho kličky, buňky distálního tubulu a buňky sběrného kanálku.

Natriuretické peptidy působí protektivně na kardiovaskulární systém. Působí vazodilatačně, zvyšují srdeční index, snižují centrální žilní tlak. V plicích snižují střední tlak a tlak po zaklínění v plicnici, působí bronchodilatačně. Jsou přirozenými antagonisty systému renin-angiotenzin-aldosteron. Prokazatelně snižují sekreci reninu a aldosteronu a v mozku vedou ke snížení uvolnění ADH. Kromě toho mají řadou dalších účinků, například snižují NF-κB, snižují TNF-alfa, inhibují aktivitu makrofágů a mohou vykazovat antimikrobiální efekt. Vlastnosti natriuretických peptidů jsou shrnuty v tabulce 3.

	<b>ANP</b>	<b>BNP</b>	<b>NT-proBNp</b>	<b>CNP</b>	<b>DNP</b>
Chromozóm	1p36.2	1p36.2	1p36.2	2	neznámý
Aktivní místo	28 Ak C-konec NT-proANP (98 AK)	32 AK	76 AK N-konec NT-proBNP (1-108AK)	22 AK 53 AK	DNP-like peptid 38 AK
Poločas		20 minut	120 minut		neznámý
Diagnostický cut off		100 pg/ml	< 75 let: 125 pg/ml > 75 let: 450 pg/ml		
Mechanismus clearance	endopeptidáza	endopeptidáza	renální clearance	renální clearance CRC-receptor	neznámý
Přítomnost v tkáních	síně a komory	mozek, myokard, srdeční komory	mozek, myokard, srdeční komory	mozek, cévní endotel	hadí jed

**Tabulka 3: Vlastnosti natriuretických peptidů**

#### **Význam stanovení natriuretických peptidů:**

- vyhledávání osob s klinicky nebo echokardiograficky dosud němým srdečním selháváním
- hodnocení rizika srdečního selhávání po akutním infarktu myokardu
- hodnocení rozsahu akutní ischemické léze
- posouzení stupně srdečního selhávání
- vyhledávání osob vhodných pro terapii inhibitory ACE (lze provádět i v populačním screeningu)
- monitorování efektivity léčby inhibitory ACE
- hodnocení výkonnosti myokardu při hypertenzní chorobě
- hodnocení rovnováhy mezi vodou a ionty u cirhózy chronického renálního selhávání, u stavů s rizikem oběhového přetížení (včetně SIADH)
- rozlišení dušnosti kardiálního a nekardiálního původu
- stratifikace rizika chronického srdečního selhání (NT-proBNP nad 125 pg/ml)
- význam pro stanovení diastolické dysfunkce (stanovení proBNP i BNP zvyšuje senzitivitu echokardiografického vyšetření)
- významný prognostický faktor (pokles NT-proBNP u AKS o 30 % oproti hodnotám po přijetí znamená významný pokles mortality)
- významný prediktor příznivého klinického vývoje po transplantaci (hodnoty NT-proBNP do 700 pg/ml)
- významný prognostický faktor i u pacientů s renálním selháním i u hemodialyzovaných pacientů
- významný diagnostický nástroj při sledování diastolického srdečního selhání a kardiomyopatií

Při interpretaci koncentrací natriuretických peptidů je nutné zohlednit tři faktory: věk, pohlaví a použitý diagnostický postup. Ve vyšším věku lze rovněž předpokládat nejen změnu syntézy natriuretických peptidů, ale také sníženou efektivitu signální dráhy. Může dojít k nižší syntéze cGMP po stimulaci receptoru hormonem a následná nižší odpověď na cirkulující koncentraci hormonu vyvolá nutnost zvýšené produkce BNP a ostatních peptidů obecně. Ve vyšším věku také jako alternativa přichází vyšší potřeba antagonistického působení proti zvyšující se aktivitě ACE, která je u starších osob. Zvýšené koncentrace natriuretických peptidů u žen se vysvětlují vyšší estrogenní aktivitou, tento fakt je podpořen zvýšením peptidů při substituci estrogenů.

Diagnostický význam natriuretických peptidů spočívá v posouzení rizika u osob se srdečním selháváním, případně u nemocných léčených inhibitory angiotensin-konvertujícího enzymu. U nemocných se srdečním selháváním jsou zvýšené koncentrace natriuretických peptidů součástí regulačního mechanismu, při kterém distenze stěny síní (v počátečním stadiu selhávání) a později komor (při výraznějším selhávání) stimuluje srdeční myocyty k syntéze ANP a BNP. Vztah natriuretických peptidů k srdečnímu selhávání je nepochybný jak pro ANP, tak pro BNP. Jejich korelace není lineární vzhledem k větší progresi růstu koncentrací BNP (v porovnání s ANP) u více vyjádřených forem srdečního selhávání. Přes relativně uspokojivou korelaci obou peptidů se ale udává, že BNP je lepší ukazatel než ANP pro diskriminaci normálních osob a nemocných s různým stupněm srdečního selhávání. Objektivizace role natriuretických peptidů se obvykle provádí posouzením vztahu k ejekční frakci levé komory (EFLK), kdy se s klesající hodnotou ejekční frakce levé komory očekává vzestup koncentrace natriuretických peptidů. V literatuře lze nalézt korelační koeficienty pro vztah mezi

natriuretickými peptidy a EFLK mezi -0,618 až -0,785 u ANP a v podobném pásmu (od -0,638 do -0,745) se pohybují údaje o korelaci mezi BNP a EFLK. Negativní korelace mezi BNP a LVEF se popisuje u nemocných s různými chorobami: po infarktu myokardu, u dilatační kardiomyopatie a u chlopenních chorob. Je však i práce zpochybňující závislost koncentrace BNP na LVEF. Vztah k zařazení nemocných podle klasifikace NYHA je popisován zejména u prekursoru ANP (proANP 31-67), který by měl být schopen odlišit zdravé osoby od osob s NYHA I., kde u části nemocných nemusí být ANP (nebo BNP) zvýšen. Prognostický význam zejména po akutním infarktu myokardu má především BNP. Významný je také vztah mezi zvýšením BNP v plazmě a velikostí infarktového ložiska. Přestože je závislosti nutné dále studovat, je pravděpodobně možné systolickou dysfunkci levé komory pomocí BNP velmi dobře odhadovat jak u hospitalizovaných, tak v populačním screeningu. Indikace a kontrola terapie inhibitory ACE je další významnou oblastí, kde se stanovení koncentrace BNP může uplatnit.

## NT-proBNP

### Referenční rozmezí:

	muži	ženy
< 50 let	5 – 84 ng/l	5 – 155 ng/l
50 – 75 let	5 – 94 ng/l	5 – 222 ng/l
> 75 let	5 – 450 ng/l	5 – 450 ng/l

## Glykogenfosforyláza BB

### Patobiochemické a klinické souvislosti, indikace vyšetření

Enzym glykogenfosforyláza existuje ve třech izoformách : BB (mozkový), MM (svalový), LL (jaterní). Enzym není specifický pro myokard. Glykogenfosforyláza se účastní zejména procesů anaerobní glykolýzy. Do cytoplazmy myocytu a cirkulace se dostává až po aktivaci, která závisí na dodávce kyslíku do myocytu. Izoenzym BB je vysoce senzitivní na ischemii a je velmi citlivým indikátorem koronární insuficience a akutního infarktu myokardu. Je senzitivnější a maxima dosahuje dříve než ostatní markery včetně troponinů, ale jeho specifita je srovnatelná s CK-MB. Zvýšené hladiny nalézáme u myokardiální ischemie. Glykogenfosforyláza slouží jako prognostický indikátor a ukazatel hodnocení nestabilní anginy pectoris a jako včasný indikátor infarktu

### Referenční rozmezí:

méně než 7 ug/l

## H-FABP srdeční izoforma proteinu vážícího mastné kyseliny

### Patobiochemické a klinické souvislosti, indikace vyšetření

H-FABP je malý protein o hmotnosti 15 kDa. Nekovalentně váže volné mastné kyseliny. Je známo 9 typů FABP. H-FABP je exprimován v myokardu. U nemocných s akutními koronárními syndromy bylo prokázáno významné zvýšení proteinu v časně fázi (v prvních 6 hodinách ) od vzniku obtíží. H-FABP ukazuje významnou senzitivitu pro detekci myokardiální nekrózy. H-FABP je významný ukazatel diagnostiky reinfarktu, marker ischemie přetížení pravé komory při plicní embolii, slouží jako ukazatel efektivity trombolýzy.

### Referenční hodnoty: (v závislosti na metodě)

plazma, sérum: cut off < 5 ug/l

moč: cut off < 10 ug/l

## Karboanhydráza III (CAIII)

Cytoplazmatický protein přítomný v myocytech kosterního svalstva, který není přítomen v kardiomyocytech.

Měření CAIII spolu s myoglobinem umožňuje diferenciální diagnostiku:

pozitivní myoglobin a negativní CAIII – myokardiální původ myoglobinu → kardiální nekróza

pozitivní myoglobin a CAIII – přítomnost nekardiálního myoglobinu → nekardiální myonekróza

## Lehké řetězce myosinu (MLC-1)

Heteropolymer obsahující dva páry lehkých a dva páry těžkých řetězců. Je součástí kontraktálních vláken myokardu. Zvýšenou hladinu MLC lze nalézt v cirkulaci během ischemie, apoptotických procesů (do 3 – 6 hod.), patří mezi ukazatele poškození myokardu. Zvýšené koncentrace byly nalezeny i u akutních koronárních syndromů.

Marker	Molekulová hmotnost (kDa)	Doba do počátečního zvýšení (h)	Maximální vzestup (průměr)	Normalizace	Plán odběrů od vzniku bolesti na hrudi
myoglobin	17,8	1 – 4	6 – 7 h	24 h	opakovaně, po 1–2 h
MLC	19,3	6 – 12	2. – 4. den	6 – 12 dní	1krát > 12 h
cTnl	23,5	3 – 12	24 h	5 – 10 dní	1krát > 12 h
CTnT	37	3 – 12	12 h – 2. den	5 – 14 dní	1krát > 12 h
CK-MB	86	3 – 12	24 h	48 – 72 h	3krát po 12 h
LD	135	10	24 – 48 h	10 – 14 h	1krát 24 h
MCH	400	48	5. – 6. den	14 dní	1krát > 2 dny

**Tabulka 4: Charakteristika některých markerů poškození myokardu**  
MCH – těžké řetězce myoglobinu

# Biochemické markery zánětu

## Karel Kotaška

### C-reaktivní protein (CRP)

#### Patobiochemické a klinické souvislosti, indikace vyšetření

C-reaktivní protein (CRP) je cyklický pentamerový sérový protein s relativní molekulovou hmotností 120 kD. Má pět identických nekovalentně vázaných podjednotek, každou o velikosti 206 aminokyselin. Je syntetizován v játrech a epiteliálních buňkách za stimulace zánětlivých lymfokínů (interleukin-6, interleukin-1, tumorového nekrotizujícího faktoru). C-reaktivní protein (CRP) je reaktantem akutní fáze, podílí se na přirozené imunitní odpovědi organismu. Patří do proteinové rodiny pentraxinů, jeho diskoidní struktura je tvořena pěti stejnými, nekovalentně vázanými, neglykosylovanými podjednotkami. V případě poškození organismu je při vypuknutí zánětlivé reakce produkován hepatocyty do krve. Podnětem k jeho syntéze je zvýšená hladina cytokinů, hlavně IL-6. Biologickou funkcí CRP je vazba na mnoho endogenních i exogenních ligandů. C-reaktivní protein je normálně přítomen v séru zdravých lidí v nízkých koncentracích - do 5 mg/l. Během zánětlivého procesu při bakteriální infekci, ve spojitosti s poškozením tkáně a po operaci koncentrace CRP výrazně stoupají, často až stonásobně. Zvýšené koncentrace CRP jsou detekovány již za 6 – 12 hodin po začátku zánětlivého procesu, maximální koncentrace bývá dosaženo za 24 – 48 hodin. Protože koncentrace CRP klesají rychle, přibližně 50 % za den, je možno CRP využít při monitorování účinnosti antibiotické léčby. Biologický poločas cirkulujícího CRP je kolem 19 hodin. Fyziologicky se zvýšené hodnoty vyskytují ve třetím trimestru těhotenství (do 20 mg/l) a při užívání orální antikoncepce, vyšší hodnoty mají také novorozenci (3. den až 15 mg/l) a kojenci (do 10 mg/l), zvýšení je někdy pozorováno u kuřáků (až 20 mg/l) a po nadměrné fyzické zátěži (maratón - až 60 mg/l). CRP vykazuje významnou cirkadiánní variabilitu, zvyšování hladiny v plazmě souvisí se stárnutím, vysokým krevním tlakem, užíváním alkoholu, nízkou fyzickou aktivitou, chronickou únavou, konzumací kávy, zvýšenou hladinou triacylglycerolů, inzulinovou rezistencí a diabetem, vysokoproteinovou dietou, poruchami spánku a depresí.

#### Zvýšené hodnoty koncentrace CRP v séru:

##### infekce

- těžká bakteriální infekce (seps) - hodnoty 200 – 300 mg/l; u bakteriálních infekcí dosahuje CRP nejvyšších hodnot: nejsilnějším podnětem reakce akutní fáze je bakteriální endotoxin - nejvyšší hodnoty CRP nalézáme u infekcí vyvolaných Gram-negativními bakteriemi (až 500 mg/l); infekce způsobené Gram-pozitivními bakteriemi a zamoření parazity doprovází hodnoty kolem 100 mg/l

- virová infekce - u 50 % není zvýšení, hodnoty nebývají vyšší než 50 mg/l (obvykle 5 – 20 mg/l); lze tak rozlišit např. virovou pneumonii od bakteriální

- perinatální infekce - bakteriální infekce může způsobit velmi vážný stav (hodnoty v pupečnickové krvi 10 – 20 mg/l); u perinatální těžší infekce (septikemie, meningitida, peritonitida) je CRP vždy zvýšen více než 50 mg/l

- meningitida - bakteriální původ (nad 100 mg/l; při úspěšné terapii normalizace do týdne), tuberkulózní původ (20 – 60 mg/l), virový původ (pod 20 mg/l, často normální hodnoty)

- pyelonefritida (na rozdíl od infekcí dolního močového traktu, kde nejsou hodnoty podstatněji zvýšené)

##### revmatologie

- zvýšená hladina CRP potvrzuje přítomnost organického onemocnění, normální hodnoty jej však nevylučují
- revmatická artritida - zvýšené hodnoty se nacházejí u více než 90 % dospělých postižených touto chorobou (hodnoty nad 15 mg/l, obvykle 50, někdy i 100 mg/l - míra zvýšení odráží vážnost poškození tkáně), výhodné je použít kombinaci stanovení CRP, FW a Fe/Cu (lepší informace o aktivitě procesu); osteoartritida nemá zvýšení
- revmatická horečka - koreluje s aktivitou procesu (15 – 100 mg/l); nastupuje rychle (FW reaguje pomaleji), rychle odpovídá na terapii; vzestup po normalizaci svědčí pro komplikaci

- polymyalgia rheumatica - obvykle nad 30 a více mg/l, vysoké hodnoty CRP odliší od jiných svalových bolestí; zvýšena i FW, koreluje s aktivitou; terapie hydrokortizonem rychle snižuje

- juvenilní chronická artritida - zvýšení koreluje s aktivitou, ale ne tak dobře jako u dospělých (5 – 50 mg/l)
- psoriatická artropatie, Reiterův syndrom - hodnoty nad 15 mg/l, zvýšení koreluje s aktivitou; pseudodna má jen malé zvýšení, dna zvýšení nemá

- Bechtěrevova nemoc - zvýšení ještě před klinickými obtížemi, koreluje s aktivitou (nad 15 mg/l, obvykle více)
- onemocnění pojivových tkání - odpověď akutní fáze je minimální (systémový lupus erythematodes, polymyozitida, systémová skleróza), stanovení CRP se používá k odlišení od ostatních revmatických onemocnění; př. lupus erythematodes - normální hodnoty, nebo lehké zvýšení; vysoké hodnoty jsou podezřelé z přidružené bakteriální infekce

- septická artritida - senzitivita 95 %, hladina CRP věrně odráží infekční proces

gastrointestinální onemocnění

- Crohnova choroba - hodnoty nad 15 mg/l (obvykle více), zvýšení koreluje s aktivitou; u vředové kolitidy nebývá zvýšení

další onemocnění spojená se zánětlivým procesem

- infarkt myokardu - po počátečním exponenciálním vzestupu je vrchol 5 – 50 mg/l, ale také 100 – 200 mg/l, dosažen kolem 50 hodin nebo 2 – 3 dnů od vzniku bolesti, pak hladina rychle klesá, maximální hladina a trvání vzestupu koreluje s velikostí ložiska, může indikovat reinfarkt

- nádorové onemocnění - obvykle méně výraznější zvýšení (5 – 100 mg/l) než je zvýšení haptoglobinu, kyselého alfa1-glykoproteinu nebo alfa1-antitrypsinu, výraznější zvýšení ukazuje na případné metastázy; asymptomatická forma M. Hodgkin má 5 – 20 mg/l, symptomatická 21 – 141 mg/l

- imunokompromitovaní pacienti - např. pacienti s akutní leukémií: pokud je do 48 hodin od vypuknutí horečky hladina CRP nižší než 40 mg/l, není infekce pravděpodobná; hodnoty nad 100 mg/l však musí být léčeny antibiotiky i bez potvrzení bakteriologického vyšetření; po transplantaci kostní dřeně jsou maximální hodnoty CRP vzácně vyšší než 40 mg/l, vyšší hodnoty silně naznačují výskyt infekce, hodnoty nad 100 mg/l vždy doprovázejí infekci

- stavy po chirurgických výkonech - vrchol 20 – 250 mg/l je dosažen za 2 až 3 dny po operaci a vrací se k předoperačním hodnotám 7 až 14 dnů po operaci; při komplikacích (infekce, trombóza, nekrózy) zvýšení přetrvává

- akutní pankreatitida - hodnoty až 100 mg/l; při přetrvávajícím zvýšení dva a více týdnů předzvěst komplikací (cysty, pseudocysty), nekrotizující pankreatitida: koncentrace 200 mg/l i více

- adnexitis - hodnoty obvykle nad 15 mg/l, při zánětu se zvýšení CRP vyskytuje vždy, FW jen u 80 %, leukocyty u 50 %

- chorioamnionitis u těhotných - při náhlé ruptuře vaku blan (hodnoty nad 15 mg/l)

### Použití pro klinické účely

Potvrzení přítomnosti zánětlivého procesu způsobeného:

- akutním organickým onemocněním (např. infarkt myokardu, hluboká žilní trombóza, infekce)

- chronickým stavem (např. malignita, revmatická onemocnění, zánětlivé střevní onemocnění)

Diagnostika a monitorování infekčního onemocnění (pokud není možné využití mikrobiologických testů):

- identifikace pooperačních infekčních komplikací

- rychlá identifikace infekce (intenzivní medicína, u novorozenců, při transplantaci kostní dřeně)

- diferenciaci mezi virovým a bakteriálním horečnatým onemocněním (např. meningitida, pneumonie); hodnoty CRP nad 100 mg/l výrazně indikují bakteriální původ

- monitorování léčby antibiotiky: úspěšná terapie vede k rychlému poklesu koncentrace, zatímco při neúspěšné léčbě zvýšené hodnoty přetrvávají

- indikace přítomnosti rekurentních infekcí u pacientů s některými onemocněními pojiva

Při léčbě revmatických onemocnění:

- časně prokázání synovitidy

- rychlé nalezení optimální protizánětlivé léčby (steroidní nebo nesteroidní) a zjištění minimální efektivní dávky

- sledování efektu imunosupresivní léčby - koncentrace CRP klesají k normě za 5 až 30 dnů po zahájení léčby

- diferenciální diagnostika bolesti v kloubech, svalové bolesti a atypické zádové bolesti

Diferenciální diagnostika gastrointestinálních symptomů:

- odlišení organického onemocnění od syndromu dráždivého tračníku

- odlišení Crohnovy nemoci od vředové kolitidy

Míra zvýšení CRP odpovídá množství nebo aktivitě zanícené tkáně:

- 10 – 50 mg/l indikuje mírný zánět - lokální bakteriální infekce (např. zánět močového měchýře, zánět průdušek, absces), poškození operací nebo úrazem, infarkt myokardu, hluboká žilní trombóza, klidové stadium revmatického onemocnění, malignity, většina virových infekcí

- do 100 mg/l indikuje těžší onemocnění a vyšší stupeň zánětu vyžadující zákrok

- nad 100 mg/l znamená těžký průběh onemocnění a obvykle indikuje přítomnost bakteriální infekce

### Prognostická hodnota

Přetrvávající zvýšení hladiny CRP v plazmě indikuje neustávající zánět a obvykle znamená neúspěšnou terapii a špatnou prognózu (např. u maligních onemocnění, infekce a infarktu myokardu).

Malé zvýšení CRP má predikční hodnotu pro výskyt kardiovaskulárních příhod u pacientů s koronárním srdečním onemocněním a stejně tak i u osob dosud zdravých. Ukazuje se, že má větší prognostický význam než hladina HDL a LDL. Uvádí se, že čím vyšší je hladina CRP, tím vyšší je riziko infarktu myokardu:

- nízké u osob s koncentrací CRP méně než 1,0 mg/l

- průměrné při koncentracích 1,0 – 3,0 mg/l



- vysoké u osob s koncentrací nad 3,0 mg/l

CRP v likvoru lze použít jako doplňkový test pro odlišení bakteriální meningitidy (kde jsou hodnoty nad rozhodovací mez) od jiných „aseptických“ meningitid. Stanovení je vhodné pouze pomocí metod s citlivostí pod rozhodovací mez. CRP je významný likvorový parametr, jehož stanovení je nezbytně nutné u zánětlivých onemocnění CNS. Normální hodnota v CSF činí 0 – 50 ug/l. Zvýšení koncentrace CRP v likvoru je vysoce specifické pro hnisavé neuroinfekce - bakteriální meningitidy, kdy jeho koncentrace v likvoru stoupá několikanásobně.

Koncentrace v likvoru je ovlivněna:

- přestupem přes hematoencefalickou bariéru (hlavní mechanismus)
- intratekální syntézou (není vyloučena)

#### **Referenční rozmezí:**

0 – 6,5 mg/l

### **Prokalcitonin**

#### **Patobiochemické a klinické souvislosti, indikace vyšetření**

Prokalcitonin je protein složený ze 116 aminokyselin s molekulovou hmotností 13 kDa. Syntetizuje se jako pre-prokalcitonin složený ze 141 aminokyselin. Po odštěpení signálního peptidu (25 aminokyselin) vzniká prokalcitonin. Prokalcitonin poskytuje 3 molekuly: N-prokalcitonin, kalcitonin a katakalcin. Pozice aminokyselin 60 – 91 odpovídá molekule kalcitoninu. Významná část zbývající na N-konci má 57 aminokyselin a označuje se jako N-prokalcitonin (N-proCT). Významná část zbývající na C-konci má 21 aminokyselin a označuje se jako katakalcin. Prokalcitonin se zvyšuje v plazmě při bakteriálních infekcích, při sepsi a multiorgánovém selhání. Hlavním stimulem jsou bakteriální endotoxiny. Zvýšení v plazmě nastává po 2 hodinách, jasně zvýšené koncentrace jsou 6 – 8 hodin a zůstávají zvýšené po dobu 72 hodin.

#### **Referenční rozmezí:**

pro obě pohlaví a všechny věkové skupiny: 0 – 0,5 ug/l

### **Sérový amyloid A**

#### **Patobiochemické a klinické souvislosti, indikace vyšetření**

Sérový amyloid A je sumární název pro skupinu plazmatických apolipoproteinů (molekulová hmotnost 12 kDa), je vázán na HDL. Je syntetizován makrofágy v játrech. Patří k významným pozitivním reaktantům akutní fáze, je prekurzorem amyloidu A.

Protein akutní fáze syntetizovaný v hepatocytech, při zátěži jeho hladina v plazmě vzrůstá, biologická funkce není spolehlivě známá, předpokládá se, že přispívá k indukci syntézy kolagenázové aktivity, k inhibici agregace trombocytů a že se podílí na transportu cholesterolu do jater.

Fyziologický katabolismus není dosud prostudován; předpokládá se, že probíhá působením sérových proteáz, zvláště elastinového typu a lysozomálního katepsinu B.

Biologický poločas SAA není spolehlivě znám, předpokládán je cca 1 hodina. SAA patří mezi významné časné markery zánětu, k jeho zvýšení dochází už do 8 hodin po začátku zánětu. Dlouhodobá zvýšená produkce SAA proteinů při trvající zátěži (osteomyelitis, kavernózní TBC, nádorové onemocnění aj.) vede ke vzniku anuloidózy. SAA slouží jako zánětlivý marker u řady infekčních onemocnění a jako marker rejekce štěpu.

#### **Referenční meze:**

0 – 10 mg/l v závislosti na metodě stanovení

### **Neopterin**

#### **Patobiochemické a klinické souvislosti, indikace vyšetření**

Neopterin (D-erytroneopterin, D-erytro-6-trihydroxypropyl-pterin) je nízkomolekulární látka, která patří mezi pteridiny. Pteridiny jsou pteridiny se strukturou 2-amino-4-oxo-, rozlišujeme 2 skupiny pterinů: konjugované a nekonjugované pteridiny. Neopterin se syntetizuje z guanozintrifosfátu za katalýzy enzymu GTP-cyklohydroxylázy. Stanovení koncentrace neopterinu v tělních tekutinách je možné použít ke sledování stimulace GTP-cyklohydroxylázy I cytokiny, a to především interferony. Interferon gama, syntetizován především během průběhu imunitní odpovědi T lymfocyty, stimuluje enzym GTP-cyklohydroxylázu I v lidských makrofágech, a má tedy za následek vzrůstající produkci neopterinu a jeho uvolnění. Neopterin a jeho redukováná forma se podílejí u člověka na modulaci cytotoxicity reaktivních forem kyslíku a chloru a nezávisle na kyslíkových radikálech vyvolávají apoptózu buněk.

### Zvýšené hodnoty neopterinu nacházíme u:

- virové a parazitární infekce (TBC, malárie)
- autoimunitních a jiných zánětlivých onemocnění (revmatoidní artritida, SLE, Crohnův syndrom, ulcerózní kolitida)
- maligních onemocnění (jaterní neoplasmata, ca.plic, prostaty, GIT)
- infekce (HIV)

### Další oblasti použití neopterinu

- diferenciální diagnostika bakteriálních a virových onemocnění
- monitorování potransplantační terapie

### Referenční interval:

	moč	sérum	likvor
	0 – 1500 nmol/l		
dospělí 19 – 75 let		0 – 10,6 nmol/l	
dospělí nad 75 let		0 – 19,7 nmol/l	
dospělí 20 – 60 let			2,2 – 6,2 nmol/l

## Alfa1-kyselý glykoprotein (orosomukoid)

### Patobiochemické a klinické souvislosti, indikace vyšetření

$\alpha$ 1-kyselý glykoprotein, je kyselý protein syntetizovaný v játrech. Obsahuje 45 % sacharidů s koncovou kyselinou sialovou. Fyziologická funkce není do detailů známa. Hladina  $\alpha$ 1-kyselého glykoproteinu kolísá podle věku i pohlaví. Předpokládá se, že orosomukoid ovlivňuje hemokoagulaci, a tlumí blastickou přeměnu lymfocytů.  $\alpha$ 1-kyselý glykoprotein se může vázat na lipofilní molekuly a bazická léčiva, jako je lidocain a propranolol, která se často užívají po infarktu myokardu. Poinfarktové zvýšení  $\alpha$ 1-kyselého glykoproteinu může tedy znamenat, že větší množství léku je vázáno na protein. Dochází tak k diskrepanci mezi hladinou v séru a farmakologickým efektem, kterou lze odstranit zvýšenou dávkou léčiva.

Zvýšené hodnoty se objevují při akutních nebo chronických zánětlivých procesech (akutní záněty – vzestup za 12 – 24 hod, maximum za 4 dny, normalizace za 3 týdny), infarktu myokardu, malignitách, autoimunitních chorobách, traumatech, hematologických abnormalitách, obezitě, renálním selhání a delším působení léků stimulujících enzymy. Hladina  $\alpha$ 1-kyselého glykoproteinu je snížena při chronických jaterních onemocněních, nefrotickém syndromu, gastro-enteropatiích se ztrátou bílkovin, účincích estrogenů a těhotenství.

Stanovení  $\alpha$ 1-kyselého glykoproteinu hraje významnou roli při odlišení reakce bílkovin akutní fáze (zvýšené hodnoty) od účinku estrogenů (snížené hodnoty). V obou případech se hladiny dalších reaktantů akutní fáze zvyšují. V kombinaci s haptoglobinem je  $\alpha$ 1-kyselý glykoprotein nejvhodnější protein k detekci hemolýzy (anemie). Hladiny obou proteinů normálně rostou, ale v tomto případě se rozcházejí. Proto v případě zvýšené hladiny  $\alpha$ 1-kyselého glykoproteinu a normální hodnoty haptoglobinu jde s velkou pravděpodobností o reakci akutní fáze se slabou hemolýzou in vivo.

### Referenční rozmezí:

obě pohlaví 0,55 – 1,4 g/l

## Haptoglobin

### Patobiochemické a klinické souvislosti, indikace vyšetření

Haptoglobin je sérový protein akutní fáze s funkcí transportní bílkoviny. Obsahuje 2 lehké řetězce  $\alpha$  a 2 lehké řetězce  $\beta$  spojené disulfidovými můstky. Projevuje genetický polymorfismus. Obecně jsou detekovatelné 3 subtypy (Hp 1-1, Hp 2-1 a Hp 2-2), které mohou být rozlišeny elektroforeticky. Všechny tři varianty vážou volný hemoglobin, který byl uvolněn z erytrocytů. K vazbě dochází mezi haptoglobinem a  $\alpha$ -řetězcem globinové části hemoglobinu A, T, S nebo C. Komplex haptoglobin-hemoglobin je pak vychytáván ze séra specifickými jaterními receptory. Haptoglobin tedy předchází ztrátám hemoglobinu a uchovává železo a má významný antiproteázový účinek. Celkové množství haptoglobinu v krevním oběhu je schopné vázat asi 3 g hemoglobinu. Jednotlivé případy hemolýzy však mohou všechny haptoglobin vyčerpat. Po takové spotřebě se hladina haptoglobinu vrací do normálních hodnot přibližně během jednoho týdne. Vzhledem k širokému rozsahu referenčních hodnot haptoglobinu umožňují pouze opakovaná vyšetření, možná i v kombinaci s ostatními bílkovinami séra jako např. kyselého  $\alpha$ -1-glykoproteinu, zjistit a monitorovat hemolytické stavy a reakce akutní fáze.

Zvýšené koncentrace haptoglobinu nalézáme u akutních a chronických zánětlivých infekcí a chorob, u biliární obstrukce, Hodgkinovy choroby, ulcerativní kolitidy, nefrotického syndromu a reakcí akutní fáze, traumatických

pooperačních stavů, infarktu myokardu. Nízké hladiny v séru jsou spojeny se zvýšenou intravaskulární hemolýzou, nedostatečnou erythropoézou, jaterními chorobami a nefrotickým syndromem u pacientů s fenotypem Hp 1.

**Referenční rozmezí:** (obě pohlaví)

0 – 2 týdny	0,2 – 0,5 g/l
2 týdny – 15 let	0,9 – 1,1, g/l
15 – 60 let	0,7 – 2,7 g/l
60 – 90 let	0,3 – 2,2 g/l
> 90 let	0,3 – 2,0 g/l

## Ceruloplasmin

### Patobiochemické a klinické souvislosti, indikace vyšetření

Ceruloplasmin je protein patřící mezi  $\rightarrow$  1-glykoproteiny o molekulové hmotnosti 132 kDa. Každá molekula může reverzibilně vázat 8 atomů mědi. Ceruloplasmin transportuje 95 % veškeré plazmatické mědi. Je syntetizován v játrech a působí jako protein akutní fáze. Podílí se na oxidačních procesech ( $Fe^{2+} \rightarrow Fe^{3+}$ , oxidace -SH skupin bílkovin). Zvýšené hladiny nacházíme u zánětlivých procesů a tumorů, retikuloendoteliální neoplázie, biliární obstrukce, při terapii estrogény a v těhotenství. Snížené hladiny se objevují při primární biliární cirhóze, primární biliární atrezii a u některých těžkých hepatitid. Snížené hladiny jsou způsobeny spíše omezením celkového jaterního metabolismu, než defektem ve specifické syntéze ceruloplasminu. Snížená hladina ceruloplasminu se vyskytuje u některých dědičných poruch jako např. Wilsonova choroba.

**Referenční rozmezí:**

		muži	ženy
0 – 6 týdnů	0,03 – 0,17 g/l		
6 týdnů – 1 rok	0,14 – 0,45 g/l		
1 – 15 let	0,18 – 0,45 g/l		
15 – 60 let		0,18 – 0,48 g/l	0,20 – 0,58 g/l
60 – 90 let	není definováno		
nad 90 let			0,24 – 0,46 g/l

## alfa-1-antitrypsin

### Patobiochemické a klinické souvislosti, indikace vyšetření

Alfa-1-antitrypsin je plazmatická bílkovina (54 kDa) s antiproteázovým účinkem tvořená v játrech. Zvýšené hodnoty nalézáme u akutních zánětů, nádorů, hepatopatií a cirhóz. Snížené hodnoty u glomerulonefritid a revmatoidních artritid.

## Cytokiny

### Patobiochemické a klinické souvislosti, indikace vyšetření

Cytokiny slouží v organismu jako mediátory komunikace mezi buňkami. Tvoří tzv. první systém odpovědi díky aktivaci receptorů na povrchu buňky. Podílejí se na stimulaci a dělení buněk a slouží jako regulátory buněčné a tkáňové diferenciaci. Cytokiny zprostředkovávají odpověď organismu na tkáňová poranění, hrají významnou roli při ovlivňování homeostázy pojivových a jiných tkání (IL-1 indukuje MMP  $\rightarrow$  degradace kolagenu). Významným způsobem se podílejí na regulaci zánětlivých procesů (IL-10 inhibuje syntézu prozánětlivých cytokinů). Cytokiny hrají významnou regulační úlohu při působení léků na zánětlivá onemocnění. Některé léky vyvolávají inhibici cytokinů (kortikosteroidy inhibují NF-kB, cyklosporin A inhibuje syntézu T-lymfocytárních cytokinů).

Cytokiny se dále podílejí na následujících procesech:

- vývoj a udržování humorální a buněčné imunitní odpovědi
- navození zánětlivé reakce
- regulace hematopoézy
- kontrola buněčné proliferace a diferenciaci
- indukce hojení ran

Cytokinové receptory slouží jako spouštěče syntézy dalších cytokinů a patří mezi přenašeče zodpovědné za přenos signálu do buněk. Tabulky 1 a 2 podávají základní přehled o rodinách cytokinů a cytokinových receptorů. Tabulka 3 shrnuje základní klinický význam nejčastěji vyšetřovaných cytokinů.

<b>Cytokinové rodiny</b>	
Interleukiny	IL-6 rodina: IL-6, IL-11
Interferony	IFN $\alpha$ , IFN $\gamma$ , IFN $\beta$
CSF faktory	M-CSF G-CSF, erythropoetin, trombopoetin
TNF faktory	TNF $\alpha$ , TNF $\beta$
Chemotaktické faktory	MCF, IL-8, eotaxin
Růstové faktory	P1GF, FGF, IGF

Tabulka 1: Cytokinové rodiny

<b>Cytokinové receptory</b>	
Nadrodina IL-1 receptorů	IL-R1I, IL-1-RII, IL-1RAcP, IL-18Ra, IL-18Rb; CSF-1R, PDGF-Rb
Třída I (pro hematopoetiny)	IL-2Rb, IL-2Rg, IL-3Ra,b, IL-4Ra, IL-5Ra, IL-6Ra, IL-7a, IL-9R, IL-11R(gp130), IL-12Rb1,b2, IL-13R, IL-15R, GM-CSF-Ra,b, G-CSF-R
Třída II (pro interferony)	IFN-g - Ra,b
Nadrodina TNF-receptorů (TNF-R)	TNF-RI, TNF-RII, CD40 (B buňky), NGF-R, Fas, CD27

Tabulka 2: Cytokinové receptory

<b>Cytokin (materiál)</b>	<b>Onemocnění</b>	<b>Komentář</b>
IL-8 (plazma/sérum)	Sepse, trauma	Monitorování systematických zánětů, marker novorozenecké sepse
IL-8 (bronchoalveolární laváž)	Srdeční selhání, multiorgánové trauma	Měření perierální hypoxie, včasná diagnostika ARDS
TNF@ (plazma, sérum)	Sepse, srdeční selhání	Monitorování systematických zánětů, prognostický ukazatel meningokokové sepse
TNF@ (likvor)	Roztroušená skleróza, meningitidy	Marker progresu onemocnění, ukazatel bakteriální meningitidy
IL-6 (plazma/sérum)	Traumatické stavy, sepse, srdeční selhání	Prognostický parametr lepší než CRP, sledování systémových zánětů a orgánového poškození, ARDS
IL-6 (moč)	Renální transplantace	Ukazatel odmítnutí nebo infekce štěpu
IL-6 (plazma)	Revmatoidní artritida	Nespecifický marker aktivity
sIL-2R (plazma, sérum)	Transplantace, sarkoidózy	Nespecifický marker aktivity, marker aktivity sarkoidózy
IL-10 (plazma, sérum)	Multiorgánové trauma, sepse	Marker imunosuprese, ukazatel rizika infekce

Tabulka 3: Základní charakteristiky nejčastěji vyšetřovaných cytokinů

## Nádorové markery

### Richard Průša

(Zpracováno dle Doporučení České společnosti klinické biochemie, České onkologické společnosti a České společnosti nukleární medicíny k využití nádorových markerů v klinické praxi, [www.cskb.cz](http://www.cskb.cz))

Monitorování - sledování průběhu choroby - je hlavní doménou indikace vyšetření nádorových markerů. Analýza hladin nádorových markerů v krvi bývá přínosná pro hodnocení remise, resp. podezření na reziduální nádor. Vzestup hladin nádorových markerů představuje včasné upozornění (předcházející klinickou diagnózu nezřídka o více než 6 měsíců) na návrat choroby. Je vhodné sledovat kinetiku nádorových markerů a hodnotit výrazné změny ještě v rámci referenčního rozsahu. Sledování efektu terapie pomocí nádorových markerů je velmi cenné.

Vzhledem k různým biologickým poločasům jednotlivých markerů je nutno správně volit intervaly odběrů krve k vyšetření tak, aby se skutečně postihl efekt terapie a nikoliv cytolytický fenomén. Při hodnocení dynamiky změn nádorových markerů ve vztahu ke klinickému průběhu choroby je vhodné dodržovat doporučenou frekvenci vyšetření.

### CEA

CEA (karcinoembryonální antigen) je onkofetální antigen (objeven v roce 1965), glykoprotein (641 aminokyselin, 45 % molekulové hmotnosti tvoří sacharidy) a silně imunogenní antigen. Patří do skupiny molekul, které ovlivňují buněčnou adhezi. Za fyziologických podmínek probíhá jeho intenzivní produkce u plodu, nejvyšší hodnoty bývají kolem 22. týdne. Vzhledem k možnému transplacentárnímu přechodu může být jeho sérová hladina zvýšená u malého procenta gravidních žen. Zvýšená hodnota v séru se může vyskytovat u kuřáků, při zánětlivých procesech gastrointestinálního traktu i plic, u hepatitid, cirhóz, pankreatitid i u autoimunitních chorob. Je schopný tvořit komplexy s imunoglobuliny třídy G i M. Má nepřímý imunopresivní vliv na T-lymfocyty. Metabolizuje se v Kupferových buňkách (desialylace), potom se eliminuje hepatocyty. Jeho poločas v cirkulaci je závislý na obsahu kyseliny sialové. Je velmi heterogenní, bylo popsáno více než 36 variant.

#### Referenční hodnoty:

obvyklá hodnota cut-off je kolem 5,0 ug/l

#### Indikace a interpretace:

Vyšetřování v rámci screeningu rizikových skupin nemocných sledovaných pro prekancerózu tlustého střeva (ulcerózní kolitida, vilózní adenomy) zatím jednoznačně nepotvrdilo korelaci stupně dysplazie a hodnot CEA. Vyšetřování CEA v rámci primární diagnostiky zejména dobře diferencovaných kolorektálních karcinomů, karcinomů plic a mléčné žlázy je vhodné. Hladiny CEA vyšetřené před zahájením terapie mohou být dobrým prognostickým ukazatelem. U nemocných II. a III. klinického stadia kolorektálního karcinomu byla prokázána korelace předoperačních hodnot CEA a doby přežití, podobně u karcinomu prsu. Na základě předoperačních hodnot je možno také posoudit možnost radikálního zákroku u kolorektálních karcinomů. Senzitivita CEA pro detekci relapsu choroby je při 90% specifitě udávána pro kolorektální karcinom kolem 61 %. Pokles hodnoty CEA asi ve 4. týdnu po chirurgickém zákroku může poskytnout informaci o úspěšnosti operace, podobně je užíván k hodnocení efektu chemo- a radioterapie. CEA bývá zvýšen také u karcinomu pankreatu a žlučových cest, nádorů pohlavních orgánů (vaječníky, děloha, prostata, testes), močového měchýře, ledvin, štítné žlázy, nádorů oblasti ORL, glioblastomů i meduloblastomů. Benigní zvýšení: benigní mamopatie (v 15 %), cirhóza jater (ve 40 %), ulcerózní kolitida (v 15 %), plicní emfyzém (ve 30 %), střevní polypy (v 5 %).

### AFP

AFP ( $\alpha$ -fetoprotein) je glykoprotein (4 % molekulové hmotnosti tvoří sacharidy) podobný albuminu, je jedním z prvních známých onkofetálních antigenů. Byl popsán v roce 1963. Je tvořen za fyziologických podmínek fetálními játry a žloutkovým váčkem a přechází do krve gravidních žen. Výrazné změny jeho koncentrace v séru během těhotenství mohou indikovat fetální malformace (Downův syndrom, rozštěpové vady). Předpokládá se vliv AFP na buněčný růst a diferenciaci, jeho transportní funkce i podíl na udržování osmotického tlaku, kdy nahrazuje albumin. Ve 14. týdnu gravidity dosahují embryonální sérové hodnoty 3 – 5 g/l. Sérové hodnoty klesají k referenčním hodnotám pro dospělé někdy až v 2. roce věku dítěte. Pozdější zvýšení mohou znamenat z benigních onemocnění hepatitidu, cirhózu, nekrózu jater, samozřejmě také graviditu. Po prodělané virové hepatitidě může zvýšení AFP přetrvávat 6 – 10 týdnů asi u 50 % nemocných. Ke zvýšené produkci tohoto markeru dochází při regeneračních pochodech v játrech.

**Referenční hodnoty:**

obvyklá hodnota cut-off je kolem 10 ug/l

**Indikace a interpretace:**

Z maligních příčin je AFP zvýšen především u primárních karcinomů jater, zvláště málo diferencovaných, dále u nádorů germinativního původu (testes, ovaria). Méně často je zvýšen u karcinomů zažívacího traktu včetně pankreatu. Tohoto vzestupu v séru se užívá v primární diagnostice hepatocelulárních karcinomů jater (senzitivita až 95 %), stejně jako při systematickém sledování nemocných s nádory varlat ze zárodečných buněk. Zvýšené hodnoty AFP vzácně nacházíme také u nemocných s jaterními metastázami jiných karcinomů. Zde však hodnoty nebývají tak vysoké, jako u primárních hepatomů. Naopak tyto metastázy do jater mívají vysoké hodnoty CEA. AFP pro svoji vysokou senzitivitu bývá užíván ve screeningu hepatocelulárního karcinomu u rizikových skupin. Nemocní s cirhózou, nosiči HBsAg, s deficiencí  $\alpha_1$ -antitrypsinu by měli být vyšetřováni 2x ročně. Zvýšení AFP v těchto případech je markantní na rozdíl od benigních afekcí. Hodnoty nad 200 ug/l jsou suspektní, hodnota cut-off 1000 ug/l určuje maligní nádorové jaterní onemocnění (s výjimkou hepatitidy u kojenců).

**PSA**

PSA (prostatický specifický antigen) je glykoprotein (z 237 aminokyselin, sacharidy tvoří 10 % molekulové hmotnosti) s enzymovou aktivitou serinových proteináz kallikreinového typu. Fyziologická tvorba PSA je charakteristická pro sekreční epitel prostaty, ale je tvořen všemi tkáněmi, které mají steroidní receptory (kromě estrogenových). Jeho koncentrace v seminální plazmě je vysoká. V séru se nachází ve formě volné nebo ve formě stabilních komplexů s  $\alpha_1$ -antichymotrypsinem a  $\alpha_2$ -makroglobulinem. Protilátky v různých komerčních PSA stanoveních mají různou afinitu k PSA vázanému v uvedeném komplexu. Některá PSA stanovení jsou ekvimolární – tj. detegují volný PSA i PSA vázaný, a to v molárním poměru. V jiných může převažovat záchyt především volné formy antigenu. Výhodné je stanovení současně volného PSA.

**Referenční hodnoty:**

cut-off se mění v závislosti na věku – do 50 let = 2,5 ug/l, do 60 let = 3,5 ug/l, do 70 let = 4,5 ug/l, starší = 6,5 ug/l. Frakce fPSA/PSA bývá u maligního nádoru 0 – 15 %, hraniční hodnoty jsou 15 – 20 %, u benigního onemocnění nad 20 %.

**Indikace a interpretace:**

Bylo prokázáno, že podíl volného PSA je výrazně vyšší v séru nemocných s benigním onemocněním prostaty (více než 25 %) než u pacientů s karcinomem. Vzhledem k tomu, že suspektní sérové hodnoty PSA mezi 4 – 10 ug/l jsou často nalézány u benigní hyperplazie, může poměr volného a celkového PSA zlepšit rozlišení mezi benigním a maligním postižením prostaty. Benigní hyperplazie prostaty tedy patří k onemocněním, u nichž se mohou nalézat zvýšené hladiny PSA v séru. Falešně pozitivní hodnoty však mohou být zjištěny i při retenci moče, po digitálním vyšetření per rectum, po cystoskopii a kolonoskopii, po jízdě na kole nebo na koni. Je tedy třeba odebírat krev na stanovení PSA nejdříve za dva dny (lépe až za týden) po některé z vyjmenovaných situací. Ejakulace snižuje hladinu PSA v séru. Význam PSA pro screening je stále diskutabilní. Důležitější je sledovat agresivitu nádoru v časných stádiích. PSA je markerem první volby pro sledování průběhu maligního onemocnění prostaty a sledování účinku terapie. PSA není výlučně tkáňově specifický pro prostatu, jeho gen může být exprimován i v jiných tkáních. Nověji se stanovuje koncentrace mRNA pro PSA v periferní krvi.

**CA 15-3**

CA 15-3 patří mezi markery diferenciačního typu. Je to onkofetální mucinový glykoprotein bez orgánové specificity. CA 15-3 bývá produkován především nádory žlázového epitelu a epitelu mléčné žlázy. Jeho intracelulární přítomnost koreluje se stupněm diferenciace maligních tkání. Alternativou stanovení CA 15-3 je stanovení antigenu CA 27-29; jde o detekci odlišného epitopu téhož epiteliálního mucinu (MUC1).

**Referenční hodnoty:**

obvyklá hodnota cut-off je kolem 35 kU/l

**Indikace a interpretace:**

Falešná pozitivita v séru je možná u hepatopatií, cholangitidy, plicních onemocnění, renálních poruch, gravidity, endometriózy, mastopatie; je poměrně častá, hodnoty bývají do 50 kU/l. Patologické zvýšení v séru v rámci primární diagnostiky je typické pro karcinom prsu, méně často bývá marker zvýšen u nádorů GIT (včetně pankreatu), bronchů a gynekologických nádorů. Je nejvhodnějším markerem pro sledování nemocných s karcinomem prsu vzhledem k možné další progresi i hodnocení terapeutických efektů. Bývá doplňován

sledováním CEA a proliferačního markeru TPA, zejména pro rozpoznání kostních metastáz. Senzitivita při progresi karcinomu prsu je až 75 % při specificitě 90 %. Zejména progres v měkkých tkáních (lymfatický systém, kožní lokalizace apod.) zvyšují hodnoty CA 15-3 v séru více než kostní rozsev. Senzitivita markeru také přímo koreluje se stadiem choroby. Je vhodný pro detekci relapsu vzhledem k časnému záchytu návratu choroby (predikční interval až 6 měsíců).

### CA 19-9

CA 19-9 je glykoproteinový antigen mucinózního typu příbuzný antigenu krevní skupiny Lewis H. Asi 5 – 10 % populace tento antigen neprodukuje, chybí enzym fukozytransferáza. Je eliminován výhradně žlučí, proto i mírná cholestáza může zvýšit jeho hodnoty v séru nad normu.

#### Referenční hodnoty:

obvyklá hodnota cut-off je kolem 40 kU/l

#### Indikace a interpretace:

Až 20 % nemocných s benigními afekcemi v oblasti hepatobiliární a pankreatické má zvýšenou hodnotu tohoto markeru, v případě obstrukční žloutenky až 40 %. U benigních onemocnění střeva, žaludku a ovarií bývá zvýšen v 5 – 10 %. Produkují jej dobře diferencované karcinomy pankreatu, žlučových cest, kolorekta i žaludku, podobně jako mucinózní karcinomy ovariální, vzácně též karcinomy endocervixu, plic i mléčné žlázy. V málo diferencovaných karcinomech se jeho produkce snižuje a úplně chybí u anaplastických nádorů.

### hCG (lidský choriový gonadotropin)

Jde o glykoprotein tvořený dvěma rozdílnými podjednotkami:  $\alpha$  (14,5 kDa) a  $\beta$  (22,2 kDa). In vivo může docházet k disociaci jednotek  $\alpha$  a  $\beta$ ,  $\beta$ -složka může být dále štěpena na močový gonadotropinový peptid ( $\beta$ -core fragment).

#### Referenční hodnoty:

obvyklá hodnota cut-off je kolem 10 IU/l

#### Indikace a interpretace:

V závislosti na použitém detekčním systému je stanovení specifické pro celkový  $\beta$ -hCG (tj. intaktní hormon-dimer + volná podjednotka  $\beta$ ), pro intaktní hCG (dimer bez volné podjednotky  $\beta$ ), pro volnou podjednotku  $\beta$  nebo pro  $\beta$ -core fragment (stanovení v moči). Screening maligního procesu pomocí hCG v séru lze provádět u symptomatických osob, např. při podezření na germinativní nádory varlat s retencí varlat v anamnéze. Stanovení má význam pro zhodnocení stadia onemocnění, pro potvrzení histologické charakterizace nádorů testes a choriokarcinomů a pro jejich monitorování. Senzitivita pro neseminomy je asi 50 %, pro seminomy 10 – 20 %, pro choriokarcinomy téměř 100 %, pro další lokalizace nádorů (pankreas, GIT, plíce, mléčná žláza, ledviny, močový měchýř) je do 20 %. Zvýšené hladiny hCG v séru mohou způsobovat fyziologické i patologické stavy v těhotenství, myomy a ovariální cysty.

### CA 125

Jde o heterogenní glykoprotein s vysokým obsahem sacharidů. Je produkován fetálními epiteliálními tkáněmi coelomového původu. V dospělém věku může být omezeně syntetizován v normálním epitelu tkáně vejcovodů, bronchů, endometria, cervixu, ale i v mezotelu pleury, perikardu a peritonea.

#### Referenční hodnoty:

obvyklá hodnota cut-off je kolem 35 kU/l

#### Indikace a interpretace:

CA 125 je exprimován u 80 % karcinomů ovarií serózního (nemucinózního) typu. Senzitivita v dalších gynekologických nádorech je nižší. Produkce CA 125 u karcinomů mléčné žlázy, pankreatu, plic, žlučových cest reflektuje obvykle postižení pleury a peritonea. Zvýšená hladina CA 125 byla prokázána u hepatocelulárního karcinomu. Screening CA 125 v séru nemocných s karcinomem ovarií je prováděn pouze v případě rodinné predispozice. Stanovení CA 125 je vhodné pro potvrzení stadia choroby. Nárůst koncentrace CA 125 může předcházet klinickou diagnózu o 1 – 8 měsíců. Po odstranění primárního tumoru klesá koncentrace CA 125 o 75 – 90 % během prvního týdne, do 2 – 3 týdnů se hodnoty normalizují. Přetrvávající vysoké hodnoty mohou být indikací k „second look“ operaci. Zvýšené hladiny CA 125 v séru způsobené nemaligním onemocněním obvykle zahrnují chronická onemocnění jater, peritonitidu, benigní onemocnění ovarií a endometria, leiomyom nebo selhání ledvin.

## CA 72-4

Antigen CA 72-4 (Tumor-asociovaný antigen, TAG 72) je definovaný jako epitop mucinu reagující se dvěma monoklonálními protilátkami. Za fyziologického stavu jej produkuje vyvíjející se plod v žaludku, jícnu a pankreatu.

### Referenční hodnoty:

obvyklá hodnota cut-off je kolem 7,0 kU/l

### Indikace a interpretace:

CA 72-4 se používá pro monitorování maligních nádorů horního GIT a mucinového typu ovariálního karcinomu. CA 72-4 je nevhodný pro screening a stanovení diagnózy maligního procesu horního GIT. Jeho hladina koreluje s přítomností vzdálených metastáz. Užívá se k monitorování průběhu onemocnění především u karcinomu žaludku. Příčiny zvýšení CA 72-4 v séru u nemaligních chorob obvykle zahrnují jaterní cirhózu, akutní pankreatitidu, chronickou bronchitidu, vředovou chorobu žaludku a zánětlivá onemocnění GIT.

## S-100 beta

Vyskytuje se jako homo- nebo heterodimer tvořený z podjednotek  $\alpha$  a  $\beta$ . S-100 betaprotein byl poprvé popsán v centrálním nervovém systému. V nervové tkáni (v gliálních a Schwanových buňkách) se nachází především S-100  $\beta$ - $\beta$  dimer. Složení ( $\alpha$ - $\alpha$ ) mají např. příčně pruhované svaly.

### Referenční hodnoty:

obvyklá hodnota cut-off je kolem 0,1 ug/l

### Indikace a interpretace:

Melanomy jsou charakteristické obsahem  $\beta$ -podjednotky tohoto proteinu. Přítomnost této formy S-100 beta v séru svědčí pro jeho invazivitu. V dysplastických névech je naopak prokazována především  $\alpha$ -podjednotka. Pro screening a diagnostiku se neuvádí, je vhodný pro monitorování nemocných s maligním melanomem. U metastatického onemocnění bývají přítomny vysoké koncentrace tohoto markeru, rovněž senzitivita při metastatickém procesu je až 80 %. Koncentrace měřené před primární terapií mají vysokou prognostickou hodnotu. Pozitivní hodnoty lze nalézt i u mozkových maligních nádorů ektodermálního původu. Zvýšené hladiny S-100 beta v séru mohou být způsobeny i akutním poškozením mozku, kostními zlomeninami, zánětlivým a infekčním onemocněním.

## NSE (neuron-specifická enoláza)

Jde o izoenzym enolázy (2-fosfo-D-glycerát hydrolyáza, EC 4.2.1.11), který katalyzuje přeměnu 2-fosfoglycerátu na fosfoenolpyruvát. Za fyziologického stavu jej produkuje nervová a plicní tkáň plodu, v dospělosti je jeho výskyt v normálním stavu vázán především na neurony.

### Referenční hodnoty:

obvyklá hodnota cut-off je kolem 15 ug/l

### Indikace a interpretace:

Vzhledem k obsahu NSE v červených krvinkách a destičkách je třeba provést oddělení krevních elementů do jedné hodiny od odběru. NSE není vhodná pro screening a stanovení diagnózy maligního procesu. Pro pacienty s neuroblastomy a malobuněčným karcinomem plic (SCLC) má stanovení NSE prognostický význam. Zvýšené hodnoty NSE u neléčených nemocných se SCLC se mohou vyskytovat až u 80 % případů. Monitorování průběhu onemocnění je vhodné především u SCLC, neuroblastomů, meduloblastomů, retinoblastomů, dále apudomů (karcinoidů, feochromocytomů), u nádorů ledvin, ev. i u seminomů, melanomu a prostaty. Nejvyšší hodnoty bývají popisovány u dobře diferencovaných ganglioneuroblastomů a ganglioneuromů. Senzitivita při rozsevu onemocnění u SCLC bývá až 80 %. Příčiny zvýšení NSE v séru nemaligních lézí zahrnují plicní onemocnění nebo jaterní choroby.

## Nádorový izoenzym pyruvátkinázy (Tumor M2-PK)

Izoenzym pyruvátkinázy (Tumor M2-PK) patří mezi klíčové enzymy glykolýzy (E.C.2.7.1.40). Nádorový izoenzym existuje jako homodimer na rozdíl od nemaligních forem, které tvoří homotetramery. Pro stanovení je nutno použít EDTA nebo citrátovou plazmu z důvodu možného uvolnění tohoto izoenzymu z lymfocytů.

### Referenční hodnoty:

obvyklá hodnota cut-off je kolem 30 kU/l



**Indikace a interpretace:**

Jde o marker nový, existuje o něm relativně málo dat v literatuře. O použití tohoto markeru lze uvažovat u těch lokalizací onemocnění, kde nejsou jiné vhodné solubilní markery k dispozici. Tumor M2-pyruvátkináza byla prokázána u nemocných s karcinomem varlat, ledvin, plic, prsu, pankreatu a tlustého střeva. Příčiny zvýšené hladiny Tumor M2-PK v séru zahrnují zánětlivá onemocnění, virové infekce nebo poruchy ledvin.

**SCCA (antigen skvamózních buněk)**

Je definován jako složka směsného antigenu TA-4, prokázaném v séru u pacientek s karcinomem děložního čípku. Byly identifikovány dva homologní proteiny SCC1 a SCC2. Tyto antigeny byly charakterizovány jako serin proteinázové inhibitory, tzv. serpiny. Marker je výrazně citlivý na kontaminaci slinami nebo potem v preanalytické fázi.

**Referenční hodnoty:**

obvyklá hodnota cut-off je kolem 1,5 ug/l

**Indikace a interpretace:**

Pro screening a stanovení diagnózy se neužívá. Vysoké hodnoty u neléčených nemocných s karcinomem cervixu jsou prognosticky významné pro odhad dalšího vývoje onemocnění. Monitorování průběhu onemocnění pomocí SCCA se provádí především u pacientů s nádory orofaciální oblasti, epidermoidních nádorů plic, děložního čípku, těla dělohy, endometria, vulvy a vaginy. Příčiny zvýšení SCCA v séru u nemaligních lézí zahrnují nemaligní gynekologická a plicní onemocnění nebo jaterní choroby.

**CYFRA 21-1 (fragment cytokeratinu 19)**

Jde o solubilní fragment cytokeratinu 19. Předpokládá se, že jeho výskyt v séru nemocných s maligními nádory může souviset se smrtí buňky apoptózou či nekrózou. Vzhledem ke specifickému výskytu tohoto cytokeratinu v epiteliálních buňkách skvamózního (epidermoidního) typu má CYFRA 21-1 vyšší orgánovou specifitu než ostatní cytokeratinové markery TPA nebo TPS.

**Referenční hodnoty:**

obvyklá hodnota cut-off je kolem 3,3 ug/l

**Indikace a interpretace:**

Pro screening a stanovení diagnózy maligního procesu nelze toto vyšetření použít. Jeho hladina obvykle koreluje se stadiem onemocnění. Monitorování průběhu onemocnění a především monitorování úspěšnosti terapie je hlavní oblastí využití tohoto markeru. Senzitivita u epidermoidních karcinomů plic se pohybuje kolem 55 %, u velkobuněčných karcinomů a adenokarcinomů plic je nižší (35 a 28 %). Význam má rovněž pro sledování nemocných s karcinomem močového měchýře (senzitivita asi 30 %) a epidermoidních nádorů cervixu (spolu s SCCA) a nádorů oblasti hlavy a krku. Příčin zvýšení hladiny CYFRA 21-1 z nemaligních příčin je celá řada a zahrnují jaterní cirhózu, chronické onemocnění ledvin, astma, infekce respiračního traktu a další.

**TPA, TPS (tkáňový polypeptidový antigen, tkáňový polypeptidový specifický antigen)**

TPA je polypeptid ze solubilních fragmentů cytokeratinů typu středních filament (cytokeratin 8, 18, a 19). Antigen s velice podobnou charakteristikou, definovaný na podkladě reaktivity s jinou monoklonální protilátkou byl nazván TPS (tkáňový polypeptidový specifický antigen odpovídající cytokeratinu 18).

**Referenční hodnoty:**

obvyklá hodnota cut-off TPS je kolem 140 U/l

**Indikace a interpretace:**

Jde o velmi nespecifické nádorové markery, jejichž užití v klinické praxi poslední dobou klesá. TPA/S měl být „univerzálním“ nádorovým markerem vhodným především pro monitorování a hodnocení účinnosti terapie. Je markerem s nejvyšší senzitivitou pro sledování nemocných s karcinomem močového měchýře. Vyšetření tohoto markeru nelze použít pro screening, diagnózu a staging onemocnění. Dále se užívá pro monitorování nemocných s nádory prsu, plic, GIT a ledvin. Dynamika jeho změn při terapii je obvykle rychlejší než u markerů diferenciatního typu. Nespecificky je TPA/S v séru zvýšen při některých onemocněních jater (cirhóza, hepatitida), rovněž tak u infekčních onemocnění.

## TK (thymidinkináza)

TK patří k enzymům syntézy DNA, charakteristickým pro proliferující tkáň. Jde o ATP: thymidin-5-fosfottransferázu (EC 2.7.1.21), která existuje v eukaryotických buňkách ve dvou izoenzymech: TK1 (fetální TK) a TK2 („dospělá“ TK). Fetální izoenzym je vázán na proces buněčného dělení a je lokalizován v cytoplasmě. Isoenzym TK2 je naopak přítomen v mitochondriích a jeho aktivita je stabilní v průběhu celého buněčného cyklu. TK katalyzuje přeměnu thymidinu na thymidinmonofosfát, čímž je umožněna syntéza DNA náhradní cestou. Za fyziologických podmínek je TK intenzivně syntetizována především v játrech během vývoje plodu, po porodu se syntéza zpomaluje. V séru převažuje fetální forma (95 % z celkového množství).

### Referenční hodnoty:

obvyklá hodnota cut-off je kolem 9 U/l

### Indikace a interpretace:

Některá cytostatika blokují základní („de novo“) syntézu DNA (metotrexát, 5-fluorouracil); následně je stimulována aktivita enzymů náhradní cesty a TK vykazuje falešnou pozitivitu. Vyšetření je třeba provádět před nasazením uvedené chemoterapie. Pro screening a stanovení diagnózy nelze stanovení TK použít. U hematologických malignit (především u akutní leukemie nebo nehodgkinských lymfomů) koreluje aktivita TK se závažností onemocnění. Monitorování průběhu onemocnění a úspěšnosti terapie je hlavní oblastí využití tohoto markeru. Zvýšení sérové TK bývá pozorováno rovněž u maligního melanomu, nádorů štítné žlázy, případně dalších solidních nádorů. Zvýšení hladiny TK v séru z nemaligních příčin zahrnuje respirační viroinfekce s lymfocytární aktivací, zánětlivá onemocnění plic a trávicího ústrojí, infekce EB virem, cytomegaloviry nebo herpesviry a revmatická onemocnění.

## NMP22

Stanovení proteinů nukleární matrix (NMP22) v moči. Tyto orgánově specifické proteiny, tvořící vnitřní strukturu jádra, hrají pravděpodobně úlohu při regulaci exprese genů. Jedná se o proteiny, které se uvolňují do krevního oběhu a vylučují do moči. Jejich hladiny v moči nemocných s karcinomem močového měchýře dosahují senzitivity 70 %, mohou také rychle signalizovat příznivou odpověď na terapii. Stanovení NMP22 pomáhá lépe indikovat cystoskopické vyšetření. Stanovení je možné také v séru.

## BTA

Jedná se o antigen nádorů močového měchýře. Jde o rychlý imuno-chromatografický test pro kvalitativní stanovení v moči. Senzitivita testu pro karcinom močového měchýře je 45 %, pro stadium T1 85 %, pro T2 – T4 asi 75 %. Test je citlivější než cytologické vyšetření čerstvé moče, pomáhá lépe indikovat cystoskopii.

## Chromogranin A (CgA)

Chromogranin A (CgA) je kyselý glykoprotein vyskytující se v sekrečních granulích normálních i neoplastických neuroendokrinních tkáních.

### Referenční hodnoty:

obvyklá hodnota cut-off je kolem 35 ug/l

### Indikace a interpretace:

CgA vykazuje nejvyšší senzitivitu u nemocných s neuroendokrinními malignitami při srovnání s dosud užívanými metodami stanovení NSE nebo 5-hydroxyindolactové kyseliny v moči. Senzitivita průkazu návratu choroby pro karcinoidy se pohybuje kolem 70 – 90 %. CgA vykazuje korelaci se změnami odpovídajícími vývoji onemocnění (progrese, stabilizace, kompletní remise). Cirkulující CgA byl prokázán i u sporadických gastro-enteropankreatických neuroendokrinních tumorů i u dědičných mnohočetných endokrinních neoplazií typu 1 (MEN), u dětských neuroblastomů i u neuroendokrinní diferenciaci karcinomu prostaty nereagujících na hormonální léčbu. Zvýšené hladiny chromograninu A v séru či plazmě najdeme při terapii kortikoidy, poruchách ledvin a jater.

## β2-mikroglobulin (B2M)

B2M tvoří extracelulární doménu lidského leukocytárního antigenu HLA I. třídy. Je přítomen téměř ve všech buňkách kromě erytrocytů a trofoblastických buněk.

### Referenční hodnoty:

obvyklá hodnota cut-off je kolem 2,4 mg/l

**Indikace a interpretace:**

Stanovení nelze použít pro screening a diagnostiku maligního onemocnění. B2M je zvýšen u systémového onemocnění B-lymfocytárního systému, u mnohočetného myelomu, chronické lymfocytární leukemie a ne Hodgkinských lymfomů B-lymfocytárního původu. K určitému zvýšení B2M v případě rozsevu onemocnění dochází i u solidních karcinomů. Zvýšené hladiny B2M v séru se vyskytují zejména u poruch funkce ledvin a chronických zánětlivých autoimunitních onemocnění.

**Ferritin**

Jde o protein podílející se na regulaci homeostázy železa. Za fyziologických podmínek je ferritin produkován retikuloendoteliálními buňkami sleziny, jater a kostní dřeně.

**Referenční hodnoty:**

cut-off pro premenopauzální ženy je 150 ug/l, pro muže a postmenopauzální ženy je 400 ug/l

**Indikace a interpretace:**

Jeho význam jako nádorového markeru v poslední době klesá. Koncentrace ferritinu v séru jsou závislé na věku a pohlaví. Snížení může indikovat anemii z nedostatku železa. U hematologických malignit koreluje obvykle jeho hladina se závažností onemocnění. Monitorování průběhu onemocnění a především monitorování terapie je hlavní oblastí využití tohoto markeru. Ferritin je zvýšen především u akutní myeloblastické leukemie, Hodgkinského i neHodgkinského lymfomu a mnohočetného myelomu, nespecifické zvýšení provází nádory mammy, maligní melanomy a testikulární nádory. Nemaligními příčinami zvýšení hladiny ferritinu v séru jsou zejména akutní onemocnění nebo poruchy metabolismu železa (hemochromatóza nebo předávkování železem), nespecifické jaterní léze.

**LD (laktátdehydrogenáza)**

Jde o enzym tvořený dvěma rozličnými polypeptidovými řetězci, které formují 5 izoenzymů. Na zvýšení LD u maligních onemocnění se podílí zejména izoenzym 1 a 2, u solidních nádorů i ostatní izoenzymy.

**Referenční hodnoty:**

Není jednotná hladina cut-off; nález je informativní při posouzení změny katalytické koncentrace LD mezi dvěma časově odlišenými odběry. U dětí je hodnota LD vyšší. Doporučuje se používat jako hodnotu cut-off hodnotu horní meze referenčního intervalu příslušné laboratoře.

**Indikace a interpretace:**

Je vhodným doplňkovým markerem zejména pro monitorování nemocných s diferencovanými lymfocytárními i histiocytárními typy neHodgkinských lymfomů, leukemií, ale i solidních nádorů (testikulárních a jiných).

**Kalcitonin**

Je produkován za normálních okolností C-buňkami (tj. parafolikulárními buňkami) štítné žlázy. Kalcitonin je odštěpen z velkého prekurzorového proteinu prokalcitoninu před sekrecí do extracelulárního prostředí. Stimulem pro sekreci je hyperkalcemie.

**Referenční hodnoty:**

obvyklá hodnota cut-off je kolem 19 ng/l

**Indikace a interpretace:**

Diagnosticky se stanovení kalcitoninu používá zejména u nádorů C-buněk štítné žlázy, tzn. při medulárním karcinomu štítné žlázy, včetně výskytu tohoto tumoru v rámci MEN syndromu. Stanovení kalcitoninu se rovněž využívá při pentagastrinovém testu, kdy osoby s medulárním karcinomem tyreoidy mají po aplikaci pentagastrinu větší vzestup kalcitoninu než osoby zdravé.

**Tyreoglobulin (TG)**

Tyreoglobulin je glykoprotein obsahující jód a asi 10 % sacharidů. Je tvořen 2 identickými podjednotkami. Molekula TG obsahuje přibližně 110 tyrozylových zbytků, které jsou jodovány do různých stupňů (mono, di, trijodtyroninu a tyroxinu) před jejich odštěpením do extracelulární tekutiny. Při stanovení tyreoglobulinu je třeba napřed zjistit přítomnost autoprotilátek proti TG, jež mohou způsobit falešně negativní výsledky.

**Referenční hodnoty:**

obvyklá hodnota cut-off v závislosti na použité metodě je kolem 33 ug/l

**Indikace a interpretace:**

Patologicky zvýšené hladiny TG jsou charakteristické pro různá maligní onemocnění štítné žlázy, především dobře diferencovaný folikulární a papilární karcinom. Metoda není vhodná pro screening a diagnostiku, ale pro monitorování průběhu onemocnění. Zvýšené hladiny TG v séru nalezneme u Graves-Basedowovy choroby, eufunkční nodózní strumy a zánětů štítné žlázy.

**Katecholaminy a metanefriny**

Katecholaminy a metanefriny je společný název pro dopamin, noradrenalin a adrenalin a jejich metabolity. Z chemického hlediska jde o alkylaminoderiváty o-dihydroxybenzenu (pyrokatecholu). Jsou syntetizovány hydroxylací z aminokyseliny tyrosinu. V organismu působí jako hormony a neurotransmitery.

**Referenční hodnoty:**

Závisí na konkrétním analytu, metodě a analyzovaném materiálu; indikující lékař se řídí hodnotami laboratoře, kam odeslal materiál k vyšetření. Referenční hodnoty jsou závislé na věku.

**Indikace a interpretace:**

Nevhodné pro screening maligního procesu, avšak mají místo v primární nebo diferenciální diagnostice možné maligní léze, jako např. hormonálně aktivních neuroektodermálních tumorů.

**ACTH a ACTH-like substance**

Kortikotropní hormon (ACTH, adrenokortikotropin), je jednoduchý polypeptid o 39 aminokyselinách. Sekvence prvních 24 aminokyselin je dostačující pro biologickou aktivitu hormonu. ACTH je syntetizován v bazofilních buňkách přední hypofýzy. Pro toto stanovení je vzhledem k cirkadiánnímu rytmu třeba provést odběr ráno mezi 06:00 – 10:00 hodinou do předchlazené zkumavky s EDTA (jako na pro krevní obraz), zkumavka se bezprostředně stočí v chlazené centrifuzě. Získaná plazma se oddělí a zamrazí, v tomto stavu ji lze odeslat k analýze.

**Referenční hodnoty:**

Obvykle 10 – 60 ng/l; jde o fyziologicky se vyskytující hormon, není proto definována hodnota cut-off pro návrat choroby.

**Indikace a interpretace:**

Stanovení plazmatického ACTH je užitečné při studiích abnormalit osy hypotalamus-hypofýza-nadledviny, a to jak při odhalování příčiny nadměrné produkce kortizolu (Cushingův syndrom), tak i jeho nedostatečné sekrece (např. Addisonova nemoc). Stanovení může být použito rovněž při výskytu neuroendokrinních nádorů, např. u malobuněčného plicního karcinomu, kde se často podílí na paraneoplastických jevech.

**Monoklonální imunoglobuliny**

Tyto abnormální imunoglobuliny, používá se i termín „paraproteiny“, jsou produkovány proliferujícím klonem plazmatických buněk, případně B-lymfocytů. Volné lehké řetězce přecházejí do moče glomerulární filtrací jako tzv. Bence Jonesova bílkovina, jež byla historicky prvním solubilním nádorovým markerem.

**Hodnocení:**

Screening a kvantifikace monoklonálních imunoglobulinů se provádí pomocí elektroforézy sérových bílkovin. Typ nově zachyceného monoklonálního proteinu se určuje pomocí imunofixace; identifikuje se těžký řetězec (IgG, IgA, IgM, IgD, IgE) a typ lehkého řetězce (kappa či lambda). Monoklonální proteiny se mohou vyskytovat ve formě celých imunoglobulinů, lehkých řetězců či méně často těžkých řetězců. Kvantifikaci paraproteinu a jeho typ laboratoř poskytuje lékaři spolu se slovní interpretací nálezu. Za výrazné zvýšení či snížení hladiny monoklonálního proteinu se považuje změna o více než 10 g/l. Změna do 5 g/l se považuje za nevýznamnou.

**Indikace a interpretace:**

Stanovení monoklonálního imunoglobulinu je hlavní indikací elektroforézy sérových bílkovin. Příčiny výskytu monoklonálních proteinů v séru či moči jsou mnohočetný myelom (nejčastěji IgG a IgA), Waldenstromova makroglobulinemie (IgM, více než 30 g/l), jiná B-lymfoproliferace (některé lymfomy či chronická lymfocytární leukemie), amyloidóza, tzv. MGUS (monoclonal gammopathy of undetermined significance) zahrnující

idiopatický benigní výskyt (zpravidla do 10 g/l ve vyšším věku) či preneoplastický výskyt paraproteinů, maligní tumory (klonální produkce proteinů), lymfotropní virózy (poly až oligoklonální přechodná lymfoproliferace). Zvýšená bílkovina v moči při vyloučení jiných příčin je indikací k elektroforéze moči. Při vyšetření moči na bílkovinu pomocí testacích proužků pracujících na principu tzv. „proteinové chyby“ indikátoru je třeba pamatovat na to, že výsledek může být falešně negativní v přítomnosti globulinů, tedy i jejich lehkých řetězců. Zvýšené hodnoty imunoglobulinů v séru při vyloučení jiných příčin jsou indikací k elektroforéze sérových bílkovin. Pro monitorování odpovědi na léčbu u myelomu nebo plazmocytomu se vyšetření séra a moče provádí každé 3 měsíce; po vymizení paraproteinu pak každých 6 – 12 měsíců, jeho nevymizení po léčbě ukazuje na reziduální chorobu. Záchyt paraproteinu v séru je vhodné doplnit vyšetřením moči a naopak a vyšetření opakovat v kontextu nálezu a klinického stavu. U pacientů mladších 50 let se doporučuje sledování dynamiky množství monoklonálního imunoglobulinu každé 3 měsíce, ve vyšším věku pak ročně.

Nové je kvantitativní imunonefelogramové vyšetření volných lehkých řetězců (FLC) kappa a lambda v séru a v moči a stanovení jejich poměru. Referenční hodnoty: sérum – kappa 3,3 – 19,4 mg/l, sérum - lambda 5,7 – 26,3 mg/l, moč – kappa 0,4 – 15,1 mg/l, moč – lambda 0,8 – 10,1 mg/l.

## **Estrogenový receptor a progesteronový receptor**

Steroidní receptory jsou doposud nejvýznamnějšími prognostickými markery karcinomu prsu. Prokazují se v homogenátu nádorové tkáně kvantitativní imunoanalýzou, ligandovou analýzou nebo dnes nejčastěji imunohistochemicky.

### **Hodnocení:**

Pomocí imunohistochemie se hodnotí procento pozitivity vyšetřované nádorové tkáně, pomocí ELISA je hodnota cut-off pro oba receptory do 15 fmol/mg proteinu.

### **Indikace a interpretace:**

Jejich pozitivita je indikací k terapii antiestrogeny. Vypovídá o větší diferenciaci nádorových buněk, menší invazivitě a lepší prognóze onemocnění. Stanovují se standardně u karcinomu prsu.

## **Amplifikace Her2**

Produkt genu HER2/neu (erbB2) je transmembránový receptor s tyrozin kinázovou aktivitou. Gen je lokalizován na dlouhém raménku chromozómu 17. Pomocí FISH se určuje amplifikace genu vzhledem k centromerickému markeru, pomocí imunohistochemie se určuje exprese již syntetizovaného proteinu na membráně vyšetřované nádorové tkáně. Extracelulární doménou tohoto receptoru se uvolňuje do krve, kde je detekovatelná pomocí kvantitativního testu.

### **Hodnocení:**

U metody FISH se hodnotí pozitivita jako počet kopií vzhledem k centromerickému markeru, pomocí imunohistochemie se hodnotí membránová pozitivita proteinu.

### **Indikace a interpretace:**

Nadměrná exprese HER2/neu je důležitým prognostickým a prediktivním faktorem invazivního karcinomu mléčné žlázy, je asociována s horší prognózou onemocnění. U pacientek s prokázanou amplifikací genu HER2/neu lze využít léčbu preparátem trastuzumab, monoklonální protilátkou proti extracelulární doméně proteinu HER-2/neu. Měření koncentrace extracelulární domény v séru se zatím jako prognostický nebo prediktivní marker ověřuje výzkumně.

## **DNA ploidie**

U nádorových buněk je možné pozorovat odchylky od normálního počtu chromozomů. Aneuploidii je možné stanovit na základě cytometrického vyšetření obsahu DNA v nádorové tkáni. Takto je možné vyšetřovat čerstvou, zamraženou nebo parafínovanou tkáň. DNA se barví propidium iodidem a analyzuje na průtokovém cytometru.

### **Hodnocení:**

Hodnotí se zastoupení buněk v G1/G0 fázi (2n), v G2/M fázi (4n) a buněk syntetizujících DNA v S-fázi, které je ukazatelem rychlejšího růstu nádorové populace. V některých případech je možné zachytit klon nádorových buněk, který má aneuploidní počet chromozomů. Toto vyšetření slouží k doplnění nálezu patologa/histologa.

**Indikace a interpretace:**

Aneuploidie a tetraploidie koreluje s horší prognózou u karcinomu prostaty. Aneuploidie je také asociována s kratším přežitím u karcinomu střeva a mozkových nádorů.

**Cirkulující nádorové buňky**

Maligní buňky cirkulují v periferní krvi pacientů se solidními nádory. Je možné je detekovat na základě přítomnosti nukleových kyselin; stanovení na základě průkazu DNA je vhodné především u nádorů se specifickými genetickými abnormalitami (detekce fúzních genů, mutace Ras, či p53) častěji se provádí stanovení na základě qRT-PCR mRNA, kdy je cílový transkript exprimován specificky v nádorových buňkách (gen pro CEA, AFP, tyrozinázu).

**Hodnocení:**

Cirkulující nádorové buňky je možné detekovat metodami molekulární biologie a pomocí průtokové cytometrie, většinou na základě exprese povrchových znaků epiteliálních buněk nebo adhezivních molekul (EpCAM). Před touto metodou je možné předřadit koncentrační krok založený na izolaci buněk pomocí paramagnetických částic.

**Indikace a interpretace:**

Jde o postupy nové, vhodné spíše pro specializovaná pracoviště. Množství nádorových buněk cirkulujících v periferní krvi se zdá být prognostickým faktorem a ukazatelem progresu a rozsahu onemocnění, především u melanomu, karcinomu prsu, prostaty a kolorekta.

Lokalizace nádoru		Doporučené markery
Žaludek		CA 72-4, CEA
Jícen	Horní třetina	SCC, CYFRA 21-1
	Dolní třetina	CA 72-4, CEA
Pankreas		CA 19-9, CEA
Játra - karcinom	Hepatocelulární	AFP, CEA
	Cholangiocelulární	CA 19-9
	Metastázy	CEA
Mléčná žláza		CA 15-3, CEA, TPS
Ovarium	Nemucinózní	CA 125, TPS
	Mucinózní	CA 19-9, CA 72-4
	Germinativní	AFP, HCG
Cervix	Epidermoidní	SCC, CYFRA 21-1
	Adenokarcinomy	CEA
Corpus uteri		CA 125
Vulva		SCC
Ledviny		TPS, CEA
Močový měchýř		TPS, NMP22, BTA
Prostata		PSA, fPSA
Testes	Seminomy	NSE, SP1, LD
	Neseminomy	HCG, AFP
Štítná žláza	Medulární	kalcitonin, CEA
	Anaplastické TG	TPS, tyreoglobulin
Melanom		NSE, S-100b, TK
Plíce - karcinom	malobuněčný	CEA, NSE, TPS
	nemalobuněčný	CYFRA 21-1, CEA
Neuroblastomy		NSE, VMA, HVA
Lymfom	Hodgkinský	B2M, ferritin, LD
	Non-hodgkinský	TK, B2M, LD
Mnohočetný myelom		B2M, paraproteiny, FLC

Tabulka 1: Doporučené nádorové markery vhodné pro monitorování průběhu choroby a účinnosti terapie

Parametr	Biologický poločas	Molekulová hmotnost	Jednotka	15 – 60 let	Nad 60 let
S- $\alpha$ 1 - fetoprotein (AFP)	5 dní	70 000	ug/l	0 – 2 M: 0 – 18700 3 – 12 M: 0 – 77 1 – 60 R: 0 – 10,5	
S- $\beta$ 2- mikroglobulin	0,5 – 2 hod.	11 800	mg/l	1,0 – 2,3	
S- $\beta$ -hCG volný	12 – 20 hod.	24 000	ug/l	0,0 – 0,1	
P-ACTH	15 min.	4 500	pmol/l	2 – 12	
S-CA 125	2 – 6 dnů	200 000	kU/l	0 – 17,2	
S-CA 15-3	5 – 7 dnů	300 000	kU/l	0 – 39,3	
S-CA 19-9	7 hod. – 2 dny	36 000	kU/l	0 – 18,4	
S-CA 195			kU/l	0 – 10	
S-CA 242			kU/l	0 – 22	
S-CA 27.29		500 000	kU/l	0 – 36,4	
S-CA 50			kU/l	0 – 16	
S-CA 549		500 000	kU/l	0 – 11	
S-CA 72-4	3 – 7 dnů	400 000	kU/l	0 – 5	
S-CA M26			kU/l	0 – 94,6	
S-CA M29			kU/l	0 – 23,7	
S-CASA			kU/l	0 – 15	
S-CEA	7 – 14 dnů (2 – 8 dnů)	180 000	ug/l	M: 0 – 3,4 Ž: 0 – 2,5 kuřáci: 0 – 6,2 kuřačky: 0 – 4,9	> 90 R 0,4 – 9,2
S-CYFRA 21-1	1 – 7 dnů	30 000	ug/l	0 – 3,3	
S-DU-PAN 2		100 000 – 500 000	kU/l	0 – 100	
S-ferritin		460 000	ug/l	0 – 2 M: 145 – 458 3 – 12 M: 52 – 200 1 – 60 R: 7 – 142 M: 17 – 304 Ž: 8 – 95	
S-kalcitonin	12 min.	3 400	ng/l	1 – 19	
S-kathepsin B		40 000	U/l	0,5 – 7,5	
S-kostní ALP			$\mu$ kat/l	M: 0,25 – 0,69 Ž: 0,19 – 0,51	Ž: 0,25 – 0,72
S-kys. sialová lipid.			mg/l	0 – 200	
S-kyselina sialová			mmol/l	0 – 2,26	
S-MCA		350 000	kU/l	0 – 14	
S-neopterin			nmol/l	2,5 – 7,5	
S-NSE	1 den	87 000	ug/l	0 – 12	
S-parathormon intaktní	5 min.	9425	pmol/l	1,3 – 7,6	
S-prostatická kyselá fosfatasa	1 – 3 hod.	100 000	ukat/l	M: 0,001 – 0,060 Ž: 0,006 – 0,029	

S-PSA	2 – 3 dny	34 000	ug/l	M: 15 – 40 R 0 – 1,3 M: 40 – 49 R 0 – 1,7	M: 50 – 59 R 0 – 2,7 M: > 60 R 0 – 5,3
S-PSA - 3. generace	2 – 3 dny	34 000	ug/l	M: 15 – 40 R 0 – 1,1 M: 40 – 49 R 0 – 1,5	M: 50 – 59 R 0 – 2,2 M: > 60 R 0 – 4,4
S-PSA volný	2 – 3 dny	34 000	ug/l	0,05 – 0,25	
S-PSA volný/PSA	–	–	% (poměr)	M: > 25	
S-S100b	1,0 hod.	21 000	ug/l	0 – 0,105	
S-SCCA	0,5 hod.	42 000	ug/l	0 – 1,5	
S-SP1		$\alpha$ 40 000 $\beta$ 40 000	ug/l	0 – 5	
S-TATI		6 000	ug/l	0 – 20	
S-thymidinkinasa	2 dny		U/l	0 – 5	
S-tyreoglobulin	1 den	660 000	ug/l	3 – 42	
S-TPA	7 dnů	22 000	ug/l	0 – 0,95	
S-TPS	7 dnů	22 000	U/l	0 – 80	

Tabulka 2: Nádorové markery - biologický poločas, molekulová hmotnost a referenční meze



# Laboratorní vyšetření zneužívaných a návykových drog

## Jiří Kukačka

Laboratorní vyšetření zneužívaných a návykových látek pro diagnostické a terapeutické účely je oblast toxikologie, která díky rozvoji analytických technologií pronikla v posledních letech do běžných klinických laboratoří i praxe lékařů různých specializací. Stále se však potýká s některými limitujícími faktory, které se odvíjejí od specifických vlastností zneužívaných a návykových látek. Patří sem např. rychlá eliminace těchto tox z organismu, biotransformace a vznik různě účinných metabolitů, nedostupnost vhodných screeningových metod pro rutinní nepřetržitý provoz a jiné. Nejběžnějším požadavkem lékaře na toxikologickou laboratoř je průkaz neznámé drogy, kdy se provádí časově, technologicky, ekonomicky i interpretačně náročná systematická analýza neznámé noxy. Indikující lékař požaduje cílenou analýzu určité drogy nebo skupiny drog, proto je věnována pozornost informacím o charakteru a účincích zneužívaných a návykových látek. Jejich znalost často efektivněji umožní zvolit správné vyšetření nebo sérii vyšetření. Je potřeba zdůraznit, že se zde jedná o vyšetření pro diagnostické nebo terapeutické účely. Vzhledem k citlivosti výsledků vyšetření je potřeba dbát zvláštní pozornosti legislativním a etickým podmínkám, za kterých může být prováděno (souhlas pacienta, informovanost, ochrana dat atd.). Indikací k vyšetření může např. být:

- úmyslné a neúmyslné akutní intoxikace
- poruchy vědomí
- poruchy chování
- poruchy spánku
- poruchy příjmu potravy
- změny na sítnici, poruchy zraku
- diferenciální diagnostika svalových křečí, závratí, bolestí hlavy
- halucinace
- sexuální dysfunkce
- záněty nosní sliznice, horních cest dýchacích, plic
- kardiomyopatie
- toxické poškození jater
- renální poškození
- kazivost zubů, záněty ústní sliznice
- kontrola odvykací terapie
- neznámé intoxikace těžkými kovy
- vyloučení abúzu před zahájením některých lékových terapií (inhibitory MAO)
- péče o drogově závislé matky a novorozence aj.

## Heroin

Heroin je jedním z nejúčinnějších analgetik na světě, patří do skupiny opiátů vyráběných z opiového máku. Chemicky jde o synteticky připravený derivát morfinu, 3,6-diacetylmorfin. Je 2x tak silnější než přírodní morfin. Z mnoha slangových názvů pro tuto drogu uvádíme: „H“, „háčko“, „herák“, „kůň“, „hošík“, „hejc“, „šmak“. Na rozdíl od jiných opiátů nemá heroin medicínské užití. Čistý heroin (hydrochloridová sůl) je bílý prášek, dobře rozpustný ve vodě, podle původu a obsahu nečistot (20 – 80 %) je však různě zbarvený, např. černě (black tar) nebo hnědě. Báze heroínu je nerozpustná ve vodě a před i.v. užitím se musí zahřát nebo se inhaluje z aluminiové fólie. Heroin často obsahuje množství aditiv, většinou pro zvětšení objemu (mastek, chinin, uhličitán amonný) nebo jiné (strychnin, kofein, barbituráty). Občas se vyskytuje abúzus tekutiny „Brown“, což je směs připravená z kodeinu s cílem vyrobit aktivnější složku hydrokodon, vedlejší produkty syntézy jsou dihydrokodein, zbytkový kodein a další neurčené opiátové báze. Heroin se může šňupat, kouřit nebo aplikovat intravenózně, intramuskulárně nebo subkutánně. Dávky se pohybují od miligramů po gramy v závislosti na vyvinuté toleranci, heroin se v organismu prakticky okamžitě mění na 6-monoacetylmorfin a postupně se deacetyluje na morfin, oba pak vytvářejí další metabolity glukosiduronáty, z nichž 6-glukosiduronát morfinu je velmi aktivní, ostatní jsou inaktivní. Heroin působí jako klasické opiáty fenantrenové struktury přes opiátové receptory, které jsou lokalizovány v CNS i v periferních tkáních. I.v. podání stejně jako kouření působí okamžitě, k mozku se po aplikaci dostane za 15 – 30 sekund, vrcholný prožitek trvá nejvýše několik minut, příjemný pocit se zdánlivě šíří z břicha; pocit tepla zaplavuje celé tělo, pak nastupuje období blaženého klidu (až 1 hodina). Zkušený uživatel si píchají heroin 2 – 4x denně. Člověk zpravidla při dávkách, které stačí vyvolat příjemné pocity, může komunikovat, myslet a jednat souvisle, po vyšších dávkách převažuje útlum a uživatel bývá somnolentní. První zkušenost s heroinem nebývá vždy příjemná, může se dostavit nevolnost, zvracení. Heroin nepoškozuje přímo orgány tak jako např. alkohol, jeho užívání (injekční) je však spojeno s celou řadou jiných zdravotních potíží - kožní abscesy, hepatitidy, HIV, záněty plic, toxické reakce na nečistoty (i bakteriální) aj. Letální předávkování je časté („speedballs“ – kombinace s crackem), příčinou je kombinace s jinými

tlumivými látkami, vymizení tolerance při abstinenci a nesnížení dávky. Fyzické následky dlouhodobého užívání samy o sobě bývají málokdy závažné. Chronické užívání vede ke snížení motility střev a zácpám, hypotonie cév a následná hypotenze, hypertonie močového měchýře a zadržování moče. Heroin je však vysoce návykový, po 2 – 3 týdnech vede k toleranci s nutností zvyšovat dávku, už po několika týdnech častého užívání vyšších dávek vede náhlé vysazení k potížím různého stupně. Objeví se po 8 – 12 hodinách od poslední dávky a zahrnuje bolesti, třes, pocení, zimnici, kýčání, zívání a svalové křeče. Zkušenost s příznaky po vysazení může být silným popudem k pokračování nebo návratu k droze, což nakonec vyústí ve fyzickou závislost, které však dnes není připisován takový význam jako závislosti psychické, která často souvisí se specifickým životním stylem uživatelů heroinu. Vyšetření heroinu a jeho metabolitů je možno provést z krve, plazmy, moče, ale i alternativních materiálů, jako jsou sliny (obrázek 1). Toxikologický důkaz užívání heroinu se opírá o nález specifického metabolitu 6-monoacetylmorfinu, který lze prokazovat v moči do 24 hodin, později se nachází jen morfin, který může vzniknout i z jiných opiátů. Heroin je v séru možno detekovat již 3 – 5 minut po aplikaci. Vhodný materiál pro průkaz požití opiátů je moč, zde metabolity přetrvávají 2 – 3 dny. Screeningové imunochemické metody jsou nastaveny na zachycení hlavních opiátů a jejich metabolitů, pro průkaz nebo stanovení koncentrace heroinu a jeho metabolitů je nutno použít jiné metody (GC). S imunochemickým stanovením často interferují látky z máku setého, z léků pak rifampin a rifampicin.

#### Referenční rozmezí:

- moč: < 300 ug/l (obvyklý cut-off screeningových testů)
- sliny: < 40 ug /l (obvyklý cut-off orientačních jednorázových testů)

#### Heroin a jeho metabolity v plazmě a krvi:

Heroin	< 100 ug /l
6-acetylmorfin	< 150 ug /l
Morfin	< 50 ug /l
Morfin-6-glukuronid	<100 ug /

#### Kanabionoidy

Kanabinoidy jsou farmakologicky aktivní bezdusíkaté fenolické lipofilní látky obsažené v marihuaně, listech a kvetoucí částech konopí. Konopí tvoří dva poddruhy, běžnější je *Cannabis sativa sativa*, které roste v mírném pásmu Země. Ve většině zemí je pěstování a zpracování této rostliny ilegální nebo omezené, nicméně využití kanabinoidů v medicíně se věnuje v poslední době mimořádná pozornost. Marihuana je známá také pod slangovými názvy jako „tráva“, „listí“, „kytky“, „joint“, „špek“, „skunk“, „hulení“ a mnoho dalších jmen. Nejčastějším způsobem užívání marihuany je její kouření v dýmce, vodní dýmce nebo ubalené v cigaretovém papíru (joint), v některých státech je hlavní užívanou formou marihuany hašiš (pryskyřice sebraná z rostlin, známá také pod slangovými názvy „haš“, „čokoláda“, „charas“), který se do cigaret míchá spolu s tabákem. Marihuana se dá také spařit do nápojů, přidat do jídel, namíchat do alkoholů apod. Nejvýznamnější farmakologicky účinná látka je  $\Delta^9$ -tetrahydrokanabinol (THC), další kanabinoidy obsažené v konopí jsou kanabinol, kanabidiol, kanabivarin, kanabichromen aj. THC působí specificky na vazebných kanabinoidních receptorech v CNS i periferních nervech ( $CB_1$  receptory) a v makrofágech a jiných imukompetentních buňkách ( $CB_2$  receptory). THC uvolňuje v mozku dopamin, má centrální sympatomimetickou aktivitu, působí na hippocampus, ovlivňuje krátkodobou paměť. Účinky většinou nastupují několik minut po kouření, mohou trvat 1 – 3 hodiny, po spolknutí mohou účinky trvat i 12 hodin. Marihuana navozuje zvýšení srdeční činnosti, později snížení krevního tlaku, podlité oči, sucho v ústech, posiluje chuť k jídlu a pití. Skutečná toxicita marihuany je velmi nízká a předávkování není známo. Jeden průměrný joint obsahuje 10 – 20 mg THC, ale zdokonalenými technikami kultivace byly vypěstovány rostliny, z nichž může připravený joint obsahovat až 150 mg THC. Účinky kanabinoidů jsou podobné stavům vyvolaným alkoholem, sedativy a ve vyšších dávkách i halucinogenními drogami. Marihuana se užívá k dosažení uvolnění, společenskosti, hovornosti, veselosti a chvíli introspektivních zážitků. Marihuanový kouř obsahuje vysoké koncentrace karcinogenního dehtu a jiných toxinů, to může obecně způsobit choroby dýchacích cest i rakovinu plic, kanabinoidy působí supresivně na imunokompetentní buňky v plicní tkáni. Pravidelné užívání marihuany ovlivňuje sexuální funkce, snižuje hladinu estrogeneru a progesteronu v těle. Užívání konopných látek je spojeno s tzv. syndromem chybějící motivace u chronicky závislých, mohou se objevit poruchy smyslového vnímání, poruchy paměti, zmatek, duševní nepohoda, úzkost, paranoia. Byl zaznamenán syndrom závislosti na marihuaně, který je spojován s neschopností vyrovnat se s užíváním drogy jako takové.

K průkazu akutního ovlivnění drogou je vhodná krev, prokazují se aktivní komponenty THC, které je možno prokázat jen krátce po dávce, asi 6 hodin. Kanabinoidy podléhají pomalé oxidaci i v odebraném vzorku in vitro, ztráty nastávají také sorpcí na stěny plastových nádob, průkaz metabolitu 11-nor- $\Delta^9$ -tetrahydrokanabinol-9-

karboxylové kyseliny (THCOOH) v krvi a zejména moči je možný podstatně déle ve srovnání s mateřskou látkou, screeningové testy jsou většinou nastaveny na detekci tohoto metabolitu, po jednotlivé dávce je možné THCOOH prokazovat v moči asi 3 dny, po chronické konzumaci řadu týdnů až měsíců (podle citlivosti metody). Příčinou je lipofilita kanabinoidů a jejich ukládání v tukách. U imunochemických metod (EMIT) interferují nesteroidní antiflogistika (ibuprofen).

#### Referenční rozmezí:

- moč: < 50 ug/l (obvyklý cut-off screeningových testů)
- sliny: < 12 ug/l (obvyklý cut-off orientačních jednorázových testů)
- sérum, plazma: < 10 ug/l (pasivní inhalace), < 200 ug/l (vykouření jednoho jointu)

## Amfetaminy

Amfetaminy jsou syntetické stimulační látky, skupina nekatecholových sympatomimetických aminů, které působí na centrální nervový systém podobně jako tělu vlastní adrenalin. Jejich účinkem je vybuzení a mobilizace energie. Existuje několik skupin amfetaminů, některým v této publikaci je věnována samostatná kapitola. Co do účinku se navzájem příliš neliší; rozdíly jsou spíše v technologii výroby a v míře účinku. Pouliční názvy pro tuto drogu (kde je převládající složkou samotný amfetamin) jsou např. „speed“, „uppers“, „black beauties“, „whites“, „bennies“ a jiné. Tyto látky byly určitou dobu ve volném prodeji jako léky na hubnutí a zvládání depresí, dnes je dostupnost těchto léků omezena, hojně se stále používá metylfenidát jako lék první volby u dětí s hyperaktivitou. V ulicích se droga nabízí uživatelům v podobě šedavého nebo růžového prášku, obvykle v malém papírovém psaníčku, v práškové podobě se může polykat, natáhnout nosem nebo rozpustit a aplikovat nitrožilně. Amfetamin je jednou z nejčastěji falšovaných drog, nelegálně vyráběný amfetamin poměrně silně páchne, zpravidla „rybinou“. Amfetaminy působí agonisticky na CNS jako endogenní ligandy dopamin, noradrenalin, serotonin. Amfetaminy uvolňují neurotransmitery na nervových zakončeních, popř. nahrazují tyto uvolněné neurotransmitery. Amfetamin je silné stimulantium, navozuje pocity veselí, rostoucí energie, pohody, sebevědomí, lepší schopnosti soustředění, potlačuje potřebu spánku a potravy. Po perorálním podání nastupuje účinek do ½ hodiny, přetrvává kolem 3 – 4 hodin. Vdechnutý amfetamin působí rychleji (do 20 minut), silnější účinek může vydržet 4 – 6 hodin, po injekci 10 – 20 mg do žíly (uživatelé opakovaně po 1 – 2 hodinách) se dostaví náhlý intenzivní prožitek („rauš“). Silní uživatelé mohou brát 250 – 300 mg denně. Malé dávky (5 – 10 mg) se projeví zrychlením dýchání a srdeční frekvence, snížením chuti k jídlu, průjemem, mydriázou, suchem v ústech, zvýšenou tvorbou moči. Vyšší dávky (do 20 mg během 24 hodin) mohou vést k zesílení popsanych účinků, a navíc způsobit návaly pocení, bolesti hlavy, skřípění a zatínání zubů, pocit bušení srdce, bledost, studené ruce a nohy. Uživatelé jsou mnohomluvní, mají dojem, že se lépe soustředí, obsedantně se zaměřují na jednoduché úkoly. Užívání drogy je doprovázeno tzv. amfetaminovou psychózou, tj. zvraty nálady, neklid, deprese, agresivní chování. Po vysazení drogy a odeznění účinků se dostaví extrémní únava a spánek. K příznakům předávkování patří svalové křeče, pádící puls a horečka. Injekční užívání je spojeno s celou řadou rizik infekcí a hepatotoxického poškození z nečistot. Chroničtí uživatelé ve vyšší frekvenci trpí změnou nálad, paranoidními iluzemi a halucinacemi zrakovými, sluchovými, čichovými i dotykovými. U osob s latentní schizofrenií je nebezpečí spuštění psychózy. Amfetamin vyplavuje z těla vápník, uživatelé mají často zkažené zuby. Vlivem častých hemodynamických změn dochází i k poškození kardiovaskulárního systému a k poškození sítnice. Tolerance na amfetaminy se vyvíjí rychle, typický fyzický abstinenční syndrom jako u opiátů tu není, psychická závislost je však vysoká. Toxikologický průkaz amfetaminu v krvi je možný zhruba do 24 hodin, v moči 2 – 3 dny po poslední dávce. Screeningové metody jsou konstruovány na detekci amfetaminu, racemických metabolitů (dextramfetamin, metamfetamin), popř. ilegálních analog (MDMA). Bohužel jiné stimulanty, anorektika a chemicky příbuzné látky (pseudoefedrin) způsobují falešně pozitivní výsledky.

#### Referenční rozmezí:

- moč: < 1000 ug/l (obvyklý cut-off screeningových testů)
- sliny: < 50 ug /l (obvyklý cut-off orientačních jednorázových testů)
- plazma: < 200 ug/l
- >1000 ug/l vážná intoxikace

## Metamfetamin

Metamfetamin je jedna z nejvíce zneužívaných drog v ČR a Evropě, patří do skupiny amfetaminů (viz. předchozí kapitola). Je spíše známý pod slangovými názvy „pervitin“, „péčko“, „perník“, „piko“, „peří“, „MA“, „crystal“, „meth“, „yabba“, „nazi crank“. Kromě obvyklého způsobu užívání jako u jiných amfetaminů se může krystalická forma kouřit (její volná báze). Denní dávky se pohybují od 10 mg do několika gramů. Účinky jsou silnější oproti amfetaminu, účinky se po šňupání projeví během 3 – 5 minut. Metamfetamin se metabolizuje na

amfetamin, který má podobné stimulační vlastnosti jako droga. Biotransformací vznikají další metabolity. V pozdější eliminační fázi se v moči zvětšuje zastoupení 4-hydroxymetabolitů metamfetaminu i amfetaminu, které jsou vylučovány částečně v konjugované formě. Kardiotoxicita je zde výraznější, při předávkování se projeví maligní hypertermie. Užívání metamfetaminu je doprovázeno často otravou těžkými kovy (Pb, Mn), které se tam dostávají při ilegální výrobě. Psychotické příznaky někdy přetrvávají celé měsíce nebo i roky po skončení užívání. Fyzická závislost se neobjevuje, psychická závislost je silná. Toxikologický průkaz metamfetaminu a jeho metabolitu amfetaminu v krvi je možný zhruba do 24 hodin, v moči 2 – 3 dny po poslední dávce. Screeningové metody jsou konstruovány na detekci amfetaminu, racemických metabolitů (dextramfetamin, metamfetamin), popř. ilegálních analog (MDMA). Bohužel jiné stimulanty, anorektika a chemicky příbuzné látky (pseudoefedrin) způsobují falešně pozitivní výsledky. Běžné analytické techniky také nedovedou rozlišit mezi biologicky aktivním pravotočivým izomerem (R) a levotočivým (S) izomerem se zanedbatelnými stimulačními účinky.

#### Referenční rozmezí:

moč:	< 1000 ug/l (obvyklý cut-off screeningových testů),
sliny:	< 50 ug /l (obvyklý cut-off orientačních jednorázových testů)
plazma:	< 100 ug/l
	>1000 ug/l vážná intoxikace

### MDMA (extáze)

3,4-metylendioxymetylamfetamin neboli MDMA je syntetická droga ze skupiny fenylalkyaminů, kam kromě některých dalších syntetických látek náleží i přírodní drogy (meskalin). Všechny tyto látky patří mezi tzv. psychedelické aminy, někdy jsou také nazývány jako „taneční drogy“. Extáze má různé slangové názvy odvozené od vzhledu a barvy tablet a od značek, které jsou na nich vytlačeny, jinak také „éčko“, „koule“, „pilule“, „XTC atd. V omezeném množství se MDMA používá v medicíně k terapeutickým účelům. MDMA se většinou vyskytuje ve formě tablet nebo kapslí, které se polykají, dají se i kouřit v jointu, šňupat nebo rozpustit v nápoji. Tablety extáze se liší výrazně v obsahu MDMA, častou příměsí jsou analogické deriváty, z nichž některé jsou obzvláště rizikové. MDMA působí na CNS jako agonista endogenního ligandu serotoninu. Vyvolaná sympatomimetická reakce se projevuje hyperaktivitou, mydriázou, pocením, hypertermií, zvýšenou salivací. Dochází k masivnímu vyplenění serotoninu v nervových zakončeních. MDMA vyvolává i uvolnění dopaminu, který je cytotoxický. Ten se dostává do serotonergních nervových zakončení po úbytku serotoninu a dochází k poškození buněk, může dojít ke spuštění kaskády nežádoucích reakcí. Extáze je účinná v jedné dávce kolem 75 – 100 mg. Účinky nastupují za 20 – 60 minut a mohou trvat několik hodin. Účinek často závisí na náladě, po aplikaci se dostaví většinou euforická špička následovaná pocitem vyrovnanosti a klidu. Droga podporuje empatii mezi uživateli, umocňuje sexuální prožitky. Při větších dávkách uživatelé mohou zažívat barvitě a dynamické halucinace. Výpadek drogy přináší deprese, úzkost, paranoii, nespavost, to se obzvláště projevuje u aplikací dávek vyšších než 200 mg jednorázově. Většina početných úmrtí na požití extáze souvisí s kombinováním s jinými drogami (ketamin, LSD, kokain, alkohol). K účinkům MDMA se vyvíjí tolerance, fyzická závislost nebyla prokázána, jistá psychická však ano. MDMA se v organismu metabolizuje analogicky jako metamfetamin N-demetylací, vzniká tedy MDA. Původní formu MDMA a metabolit MDA lze prokázat v krvi po poslední dávce zhruba do 24 hodin, v moči 2 – 3 dny. Běžné imunochemické metody pro screening se vyznačují malou senzitivitou pro MDMA, metody které využívají 3 protilátek proti amfetaminu, metamfetaminu a MDMA jsou vyvíjeny.

#### Referenční rozmezí:

moč:	< 500 ug/l (obvyklý cut-off screeningových testů)
plazma:	>1000 ug/l vážná intoxikace

### GHB (gamahydroxybutyrát)

$\gamma$ -hydroxybutyrát (GBH) neboli kyselina  $\gamma$ -hydroxymáselná je zneužíván jako rekreační (klubová, taneční) droga a je na ilegálním trhu dostupná pod názvy „tekutá extáze“, „fantazie“, „GBH“ (angl. zkratka pro těžké tělesné postižení). Je to anestetikum s převážně tlumivým účinkem na vědomí, které příliš neovlivňuje bolest, v USA je zakázána, v Evropě se stále používá k anestezii, k léčbě nespavosti a úzkosti a dokonce v některých stádiích porodu k ochraně dítěte před hypoxickým poškozením. GHB je endogenní látka považovaná za cerebrální neurotransmitter a inhibuje vychytávání dopaminu a působí jako slabý agonista GABA receptorů. GHB se v malém množství nachází v některém ovoci jako ve zralých plodech guávy. Také jiné syntetické legální nebo pololegální látky jsou v těle metabolizovány na GHB, patří mezi ně  $\gamma$ -hydroxybutyrolakton nebo butan-1,4-diol, součásti čistících přípravků.

GHB je bezbarvá kapalina bez zápachu s mírně slanou chutí, vyskytuje se také v prášku nebo kapslích. Typická dávka čisté práškové GHB je 1 – 3 g rozpuštěné ve vodě nebo ovocné šťávě, osoby s rozvinutou tolerancí zvyšují dávku na 4 – 5 g. Jeden z důvodů vzrůstající oblíbenosti GHB je snadná aplikace,

nebezpečnost spočívá v neodhadnutí koncentrace roztoku a dávky. Účinky se dostávají za deset minut až hodinu po požití, podobně jako alkohol GHB v malých dávkách uvolňuje společenské zábrany a zvyšuje libido. Dokonce i po menších dávkách se může objevit rozmazané vidění, horší koordinace pohybů a závratě. Někteří uživatelé mohou utrpět popáleniny rtů a ústní dutiny, pokud byla použita nevhodná směs rozpouštědel při výrobě drogy. Po vyšších dávkách nastává ztráta sebekontroly, euforii vystřídá mohutný sedativní účinek, popisuje se výskyt nevolnosti, zvracení, svalové ztuhlosti, zmatenosti, křečí, bezvědomí a respirační deprese. Droga působí velmi rychle a po velké dávce se může dostat bezvědomí do 30 minut, hloubku bezvědomí je možné stanovit pomocí GCS stupnice, hodnoty pod 9 jsou považovány za velmi vážný stav vyžadující okamžitou léčbu. Velmi nebezpečná je kombinace GHB s alkoholem nebo jinými tlumícími látkami. Je zde možnost rozvoje fyzické a psychické závislosti, příznaky přetrvávají až 2 týdny po vysazení drogy. Patří mezi ně závratě, bolesti hlavy, nevolnost, zvracení, třes, výpadky paměti a respirační potíže. Hladiny v krvi jsou obvykle nedekovatelné po 6 hodinách od užití drogy, hladiny v moči zachytíme 8 – 12 hodin po užití drogy, hladiny v moči závisí na požitých nápojích a obvykle nekorelují s hladinami v krvi. Rutinní testy nejsou běžně dostupné, analýza na specializovaných pracovištích využívá většinou chromatografické techniky s hmotnostní detekcí.

#### Referenční rozmezí:

sérum : <1 mg/l akutní intoxikace > 45 mg/l  
moč: akutní intoxikace > 430 mg/l

### Kokain a crack

Kokain je silná stimulační droga, která se vyskytuje v přírodě a vyrábí se z listů keře koky (Erytroxylon coca). Crack je volná báze kokainu vhodná ke kouření, je slisovaná do úlomků zvaných „rocks“, které jsou velké asi jako rozinky. Kokain a jeho metabolity se stále používají jako lokální anestetika a prostředky k podpoře mentálních pochodů (často u pacientů postižených rakovinou). Klubové názvy pro kokain jsou „koks“, „C“, „céčko“, „cukr“, „coke“, „blow“, „snow“ a jiné. Kokain působí agonisticky jako endogenní ligandy dopamin, noradrenalin, serotonin. Aktivuje sympatická nervová centra a působí stimulačně na CNS. Vedle toho účinkuje také jako lokální anestetikum, jak již bylo zmíněno. Kokain vytváří řadu metabolitů, jak patrně ze schématu. Aktivní metabolit nalézáný v krvi je norkokain. Hlavní metabolity nalézáné v moči jsou benzoylkonin a metylester ekgoninu. Po inhalaci báze kouřením lze nalézt anhydroekgonin, při souběžné konzumaci alkoholu s kokainem kokaethylen. Kokain je látka poměrně labilní. Hydrolyzou vzniká benzoylkonin částečně také jako artefakt při zpracování biologického vzorku a také samovolným rozpadem kokainu ve skladovaném vzorku. Nejběžnější formou k užívání je práškový hydrochlorid kokainu, který se nasrouhá (10 - 35 mg) žiletkou nebo platební kartou do tzv. „lajny“, které se pak šňupají nosem. Někdy se aplikuje i roztok nitrožilně. Crack se v současnosti připravuje v mikrovlnné troubě, kouří se pak v dýmkách, skleněných trubicích, plastických lahvích a někdy také smíchaný s tabákem nebo marihuanou v jointech. Když se kokain šňupá, vrcholí účinky od 15 – 40 minut, k udržení pocitu síly a euforie je potřeba dávku opakovat, nejlépe každých 20 minut, v případě cracku uživatel cítí euforii okamžitě, účinky vrcholí v intervalu 1 – 5 minut. Kokain ve všech svých formách navozuje pocit pohody, osvěžení, veselosti, snížené vnímavosti k únavě a bolesti a pocitu větší fyzické síly a duševních schopností, uživatelé kokainu jsou často velmi výřeční. Kokain má pověst drogy zlepšující sexuální výkonnost a vnímavost, nízké dávky mohou oddálit orgasmus, vyšší dávky naopak mohou vyvolat různé sexuální dysfunkce. Mezi nejčastější negativní fyzické účinky užívání kokainu nebo cracku patří sucho v ústech, pocení, ztráta chuti k jídlu a zvýšený srdeční tep, studené a pálivé pocity v nose nebo jeho znečistivění. Kokain stahuje krevní cévy v nose, po obnovení průtoku prožívají uživatelé příznaky těžkého nachlazení, rýmy, zánětů nosních dutin. Kuřáci cracku trpí chronickým kašlem, sípavým dechem a částečnou ztrátou hlasu. Větší dávky mohou vyvolat pocity úzkosti a paniky, v extrémních případech to vyústí v paranoiu a snad i halucinace. Není jasné, jakou dávku kokainu můžeme považovat za smrtelnou, smrt může nastat vstříknutím pouhých 20 mg do žíly, předávkování způsobuje srdeční zástavu nebo selhání dýchání. Užívání kokainu v kombinaci s amfetaminy nebo extází může ještě více zvýšit srdeční činnost i krevní tlak až k bodu, kdy začne být uživatel velice úzkostný, přehřívá se nebo se zhroutí. Zvláště nebezpečné je užívání kokainu ve směsi s heroinem, s drogami, které zvyšují krevní tlak, s antidepresivy, s inhibitory monoaminoxidázy. Při chronickém užívání se nepříjemné příznaky objevují stále častěji, jsou pocity neklidu, nauzea, mdloby, insomnie, ztráta hmotnosti, paranoia, zvýšená nervozita, zmátené vyčerpání z nedostatku jídla a spánku. Na kokain a crack nevzniká fyzická závislost, vyvíjí se však silná tolerance a tělo drogu začne potřebovat, aby zůstalo bdělé a fungující. Přerušování užívání je doprovázeno řadou nepříjemných prožitků a emočním dyskonfortem, který je příčinou psychické závislosti. Na rozdíl od kokainu je crack silně návykový a není možné ho užívat příležitostně nebo přerušovaně, uživatelé velmi rychle přecházejí od rekreačního užívání k „mejdánovému“. Imunochemické metody používané k analýze obvykle detekují kokain a jeho hlavní metabolit benzoylkonin, popř. ostatní metabolity jako kokaethylen a metylester ekgoninu. Benzoylkonin je v moči možné zachytit již 2 – 3 hodiny po užití drogy

a ještě další 2 – 3 dny, pomocí některých senzitivnějších analytických technik (GC/MS; LC/MS) je možné zachytit celé spektrum metabolitů v jedné analýze ještě 22 dnů po požití a zároveň posoudit např. konkurenční užívání etanolu nebo způsob aplikace, v slinách je možno zachytit kokain 10 minut – 24 hodin po užití. Kokain je možno zachytit v moči novorozenců 12 – 24 hodin po porodu, pokud matka užívala drogu 2 dny před porodem.

#### Referenční rozmezí:

sérum : < 5 ug/l (metoda GC/MS)  
moč: < 300 ug/l (obvyklý cut-off screeningových testů)  
sliny: < 20 ug/l (obvyklý cut-off orientačních jednorázových testů)

## LSD

Kyselina lysergová je součástí struktury všech alkaloidů obsažených v námelu. Sama o sobě je farmakologicky neúčinná. Její derivát diethylamid kyseliny d-lysergové (LSD) připravovaný synteticky je mimořádně silný halucinogen. Jeho alternativní názvy na ilegálním trhu jsou „trip“, „papír“, „tiket“ a mnoho dalších jmen odvozených od obrázků vytištěných na trhacích papírech napouštěných LSD jako například „Bart Simpson“, „Darth Maul“, „Easy Rider“, „Buddha“, „jahody“ a další. LSD je inhibitor periferního serotoninového neurálního systému, který reguluje emoce. Na určité subtypy serotoninových receptorů působí jako parciální agonista. Přes hojné užívání LSD v 60. letech v experimentální psychiatrii je jeho medicínské používání v současnosti poměrně omezené a názor na jeho klinickou užitečnost je rozpolcený dodnes. LSD se vyskytuje v různých formách. Nejčastější jsou papírové útržky neboli známky vyráběné tak, že se papír nechá nasáknout roztokem LSD v alkoholu. LSD se dá také poříditi jako mikrotečky (malá zrnka LSD dlouhá asi 2 mm) nebo jako roztok (v malých pipetových lahvičkách). LSD je mimořádně silná droga, účinná je již v obvyklé dávce 25 ug, dávka pro hluboký psychedelický zážitek se pohybuje mezi 100 – 150 ug. Trip (stav po požití drogy) začíná cca 30 minut po spolknutí drogy, vrcholí po 2 – 6 hodinách, mizí po 8 – 12 hodinách. To, co se přesně po užití drogy stane, je často ovlivněno tím, co uživatel od tripu očekává, a situací, při které LSD užil. Užití drogy je doprovázeno zrakovými efekty, objevují se deformace sluchových vjemů a vnímání prostoru a času. Pravé halucinace jsou poměrně vzácné, tělesné účinky (mydriáza, mírná hypertermie) mají nepatrný význam. Emocionální reakce se liší, často obsahují zvýšené sebevědomí a mystické nebo extatické prožitky, často se vyskytují pocity oddělení těla. Mezi nepříjemné prožitky patří úzkost, deprese, závratě, dezorientace, krátké psychotické epizody obsahující halucinace a paranoii. Během jednoho tripu je možné zažít příjemné i nepříjemné prožitky. Prožitky při užití LSD jsou ve srovnání s mnoha jinými drogami rozmanité a jsou také otevřenější přáním uživatele a vlivům dalších lidí. Sebevraždy nebo úmrtí v souvislosti s požitím LSD jsou vzácné, nejsou známa žádná tělesná nebezpečí, která by se dala připsat na účet dlouhodobému užívání LSD. Psychotické reakce na užití LSD se dostaví u uživatelů, kteří již dlouhodobý psychotický problém mají. Mnoho uživatelů popisuje krátkodobé jasné znovuprožití části tripu bez užití drogy, tzv. flashbacky. Na LSD nevzniká závislost, ale tolerance se vyvíjí rychle.

#### Referenční rozmezí:

závisí na použité metodě  
sérum i moč < 0,1 ug/l (RIA)

## Ketamin

Ketamin je silné anestetikum s halucinogenními účinky, navozuje pocit oddělení mysli a vnímání těla, na druhé straně působí jako stimulant a tlumí bolest opiátového typu, je znám pod názvy „K“, „vitamin K“, „ket“ a jinými. Ketamin se používá v humánní a veterinární medicíně jako disociativní anestetikum. Jeho hlavním metabolitem je norketamin. Ketamin se váže na PCP vazebná místa NMDA receptoru a působí jako nekompetitivní NMDA antagonist, resp. antagonizuje efekt glutamátu, aspartátu a glycinu. NMDA receptory se vyskytují na sensorických nervových vstupech na míšni, talamické, striatální a korové úrovni CNS. Ketamin tedy blokuje emocionální odpověď k příslušným smyslovým stimulům a ovlivňuje procesy učení a paměti. Ketamin je užíván nejčastěji ve formě tablet nebo prášku, bílý prášek se šňupá. Aplikace roztoku (1 – 10%) je možná i nitrožilně. Účinky se liší podle způsobu a užití dávky, dávka pro šňupání se většinou pohybuje v rozmezí 60 – 200 mg, tableta ke spolknutí obsahuje 350 – 500 mg, dávky pro injekční užití jsou kolem 75 – 150 mg. Při šňupání prášku se účinky projeví za pár minut, při polykání tablet za ¼ hodiny a trvají až 4 hodiny, při injekčním podání jsou účinky okamžité a trvají až 4 hodiny. Nepříliš velká dávka nabudí povzbuzení, pocit narůstající energie a euforie, pak následují účinky podobné jako u zklidňujících a halucinogenních drog. Požití ketaminu může provázet nauzea, zvracení, špatná artikulace řeči, zhoršená koordinace pohybů a znečitlivění. Při vyšších dávkách se mohou objevit halucinace s pocitem vznášení, ztrátou smyslu pro čas a pocity oddělení těla, mimotělní zážitky blízce smrti. Silné halucinace mohou být děsivé a dezorientující, anestetické účinky ketaminu nedovolují vnímat bolest, nebezpečné je zvracení v bezvědomí, které droga vyvolá. Při předávkování nastupuje riziko kardiovaskulárního selhání, nebezpečné jsou kombinace s alkoholem a sedativy, injekční užívání je

spojeno s přenosem infekčních hepatitid a HIV. Stejně jako u LSD se mohou objevit flashbacky. Dlouhodobé užívání může vést k poškození paměti, pozornosti a zraku, je spojeno s řadou psychóz, vidin, záchvaty paniky, depresi, nespavostí, sebevražednými sklony. Užívání ketaminu není spojeno s fyzickou závislostí ani abstinenčními příznaky, vyvíjí se tolerance na dávku a psychická závislost. Hladiny v krvi jsou obvykle nedetekovatelné po 2 – 3 hodinách od užití drogy, ketamin způsobuje falešně pozitivní výsledky rutinních testů pro fencyklidin.

#### Referenční rozmezí:

sérum : <detekční limit metody  
moč: <detekční limit metody letální intoxikace > 20 mg/l

### Fencyklidin (PCP)

Nazývaný také jako PCP, andělský prach, droga šílenství. Je to anestetikum s halucinogenními, stimulačními a uklidňujícími účinky. Chemicky je příbuzný ketaminu, je to disociativní anestetikum, v současné době nemá žádné medicínské využití. PCP je nekompetitivní antagonist N-metyl-D-aspartátového typu receptorů pro glutamát v cerebrálním kortexu a limbickém systému. Stimuluje alfa adrenergní receptory, má sympatomimetické účinky. Téměř všude dostupný fencyklidin je vyráběn ilegálně, ve své čisté formě je to bílý krystalický prášek, znečištěný má různé odstíny hnědé, je k dostání ve formě tablet, kapslí, roztoku či prášku, většinou se kouří spolu s tabákem, marihuanou nebo bylinami. Běžná dávka je 5 – 10 mg, přimícháváním do cigaret je možno přijmout i 2 – 3x více. Účinky nastupují po několika minutách, vrcholí kolem 30. minuty, v malých dávkách se dostaví euforie, příjemné povzbuzení, uvolnění, halucinace a poruchy vnímání času a prostoru. Tělesné účinky zahrnují vzrůst krevního tlaku, dýchání a srdeční činnosti. Dýchání je mělké, doprovázené zčervenáním a pocením. Končetiny znecitliví a zhorší se koordinace pohybu svalů. Při velkých dávkách (>10 mg) dochází k depresi dýchání, srdeční činnosti i krevního tlaku, může se dostavit nauzea, zvracení, rychlé pohyby očí, slinění, ztráta rovnováhy a závrať. Vysoké dávky mohou způsobit příznaky podobné schizofrenii, lidé pod vlivem PCP jsou agresivní. Dlouhodobé užívání vede k nespavosti, poruchám spánku a příjmu potravy. Dlouhodobí uživatelé PCP si stěžují na ztrátu paměti, problémy s řečí i s myšlením, deprese a ztrátu tělesné hmotnosti. Při dlouhodobém užívání se může vyvinout tolerance a psychická závislost. Metody jsou obvykle nastavené pro kvalitativní analýzu látky v biologickém materiálu, pro klinické účely jsou postačující rozhodovací hodnoty (cut-off), které umožní hodnotit analýzu s výsledkem negativní/pozitivní. Hladiny v moči jsou obvykle detekovatelné i 7 dní po užití, 2 – 4 týdny u chronických uživatelů, falešně pozitivní výsledky testů způsobuje ketamin.

#### Referenční rozmezí:

sérum : < 25 ug/l (obvyklý cut-off)  
moč: < 25 ug/l (obvyklý cut-off)  
sliny: < 10 ug/l (obvyklý cut-off orientačních testů)

### Psilocin a psilocybin (halucinogenní houby)

Existuje přes dvacet druhů hub obsahujících halucinogeny pojmenované psilocin a psilocybin. Nejhojnější jsou lysohlávka kubánská (*Psilocybe cubensis*) a lysohlávka kopinatá (*Psilocybe semilanceata*). Nejsilnější z těchto hub jsou lysohlávky české (*Psilocybe bohemica*, dříve *P.cyanescens*). Na světě rostou i houby z čeledi mochromůrkovitých s psychedelickými účinky, jako je například mochromůrka červená (*Amanita muscaria*), látky v nich obsažené se však výrazně liší od derivátů psilocybinu. Psilocybin a jeho méně stabilní metabolit psilocin jsou indolové sloučeniny odvozené od tryptaminu, tak jako jiné halucinogeny je jejich mechanismus působení připisován schopnosti napodobit endogenní neurotransmitery při vazbě na specifické receptory, psilocin upřednostňuje vazbu na 5-HT<sub>2A</sub> receptory, které jsou predominantně umístěny na apikálních dendritech pyramidálních buněk kůry.

Ve většině zemí je sběr hub legální, houby se dají jíst čerstvé, dají se vařit, připravuje se z nich čaj nebo se můžou sušit. Účinky se dostavují od 7 minut – 1 hodiny v závislosti na síle hub a metodě požití. Prožitky vrcholí po 3 hodinách, trvají 4 – 9 hodin. Po požití dochází ke zvýšení srdeční frekvence, tlaku a mydriáze. V nižších dávkách převládá euforie a odloučení, ve vyšších dávkách zrakové poruchy až pseudohalucinace. Účinky jsou nepředvídatelné v kombinaci s alkoholem nebo konopím. Největším zdravotním rizikem je záměna hub za jedovaté druhy. Na drogu se rychle vyvíjí tolerance, nejsou známy žádné významné abstinenční příznaky, psychická závislost je ale možná.

#### Referenční rozmezí:

závisí na použité metodě  
sérum i moč < 0,1 ug/l (RIA)

## Rozpouštědla a jiné inhalanty

Různá těkavá rozpouštědla, která jsou součástí komerčních výrobků jako lepidla, benzín, náplně do zapalovačů, barvy, laky aj., jsou záměrně vdechována s cílem ovlivnit psychiku. Seznam látek, které je možno čichat, a produktů, v kterých jsou tyto látky obsaženy, je uveden v následující tabulce:

Produkt	Hlavní těkavá látka
Adheziva	
Lepidla na dřevo	Etylacetát
Kontaktní adheziva („vteřinová“ lepidla)	Toluen, hexan, estery
Lepidlo na pneumatiky	Toluen a xyleny
PVC lepidla a cementy	Trichloretylen
Aerosoly	
Osvěžovače vzduchu	Halogenuhlovodíky, butan nebo dimethyléter
Deodoranty, antiperspiranty	Halogenuhlovodíky, butan nebo dimethyléter
Různé spreje pro hubení hmyzu	Halogenuhlovodíky, butan nebo dimethyléter
Laky na vlasy	Halogenuhlovodíky, butan nebo dimethyléter
Barvy	Halogenuhlovodíky, butan nebo estery
Anestetika/analgetika	
Plynná	Oxid dusný, cyklopropan
Kapalná	Diethyléter, halotan, enfuran, isofuran
Lokální	Halon 11 a 12, etylchlorid
Průmyslové a domácí čističe skvrn	1,1,1,-trichlorethan, tetrachloretylen, trichloretylen
Hasící přístroje	Bromchlordifluormetan, halon 11 a 12
Paliva	
Náplně do zapalovačů	n-butan, isobutan, propan
Butan	n-butan, isobutan, propan
Propan	Propan, butany
Laky na nehty a odstraňovače laků	Aceton, estery
Nátěrové barvy	Butanol, estery, hexan, toluen, xylen
Odstraňovače nátěrů	Dichlormetan, toluen
Medicínské náplastě/odstraňovače žvýkaček	trichloretylen
Kancelářské korekční laky	1,1,1,-trichlorethan

Tabulka 1: Komerční produkty s obsahem zneužívaných inhalantů

Některé výrobky je možno přímo čichat z obalů, kapaliny se vylévají na hadr nebo oděv, hustší látky se nalévají do plastového sáčku a odtud se vdechují, aerosoly se aplikují přímo do úst nebo se jimi nahradí náplň do plynových zapalovačů. Obecně rozpouštědla působí tlumivě na CNS v závislosti na dávce, podobně jako sedativa nebo alkohol. Jsou charakterizována rychlým nástupem účinku a rychlou regenerací. Menší dávky vedou k euforii, poruchám chování, vyvolávají pocit nezranitelnosti a mohou indukovat dezorientaci a halucinace. U chronických uživatelů se vyvíjí psychická závislost. Větší dávky ohrožují život, vedou ke křečím a kómatu. Smrt může nastat kardiotoxickým mechanismem, nebo útlumem CNS anebo nepřímo např. v souvislosti se vdechnutím zvratků. Chronické dlouhodobé užívání toluenu a chlorovaných uhlovodíků poškozuje mozek, játra, ledviny. Akutní útlum CNS a kardiotoxicita těkavých látek se více vztahují k jejich fyzikálně-chemickým vlastnostem než přímo k jejich molekulové struktuře. Rozdíl v hepatorenální toxicitě a periferní neuropatii podobných struktur souvisí s jejich specifickým metabolismem. Inhalované sloučeniny rychle dosahují vrcholové koncentrace ve vitálních dobře prokrvených orgánech, zatímco koncentrace v tukových tkáních jsou nižší. Jestliže pokračuje expozice, dochází k akumulaci noxy. Většina inhalovaných těkavých látek je zpětně vylučována dechem v původní formě, jen některé se částečně metabolizují v játrech a metabolity jsou vydýchány anebo vyloučeny močí. Některé metabolity jsou toxičtější než látky původní (hexan, halotan aj.). Analýza rozpouštědel a jiných inhalantů využívá jejich těkavost.



**Referenční rozmezí:**

Aceton	<10 mg/l
Hexan	< 10 ug/l (plasma)
2,5-hexandion	< 5mg/l (plasma)
Izofluran	20 mg/l (plná krev)

Vzhledem k velkému spektru látek, jejich metabolitů, charakteru analytické metody nejsou referenční meze obvykle uváděny, příslušné hodnoty cut-off vám sdělí vaše laboratoř.

**Organické nitrity**

Organické nitrity jsou těkavé látky, samotné nebo jejich různé směsi prodávány legálně nebo pololegálně v sexshopech, klubech, některých barech nebo po internetu, pod různými slangovými názvy, mezi nejznámější patří „Poppers“, „Oz“, „Jungle Juice“, „Rush“, „Amsterdam“ aj. Chemicky se nejčastěji jedná o amylnitrit, butylnitrit, etylnitrit, izopropylnitrit popř. jiné. Amylnitrit se stále používá jako antidotum při průmyslových otravách kyanidy. Jednotlivé organické nitrity se z toxikologického hlediska trochu liší, ale obecně jsou jejich účinky a následky užívání v podstatě stejné. Nitrity způsobují vasodilataci uvolněním NO, NO je přeměněn na deriváty S-nitrosothiolu, ty aktivují guanylycyklázu, která začne produkovat cGMP, mediátor relaxace hladkého svalstva cév. Následkem je zvýšený přívod krve do CNS, zvyšuje se prokrvení pohlavních orgánů a konečníku, organické nitrity usnadňují anální sexuální styk, oddalují ejakulaci, způsobují prodloužený pocit orgasmu, vyvolávají pocit zpomaleného času. Látka se aplikuje čicháním z lahvičky, účinek je okamžitý, přetrvává 3 – 5 minut. Mezi nežádoucí účinky užívání patří závratě, návaly krve v obličeji a na krku, pulzující bolest hlavy, nauzea, zvracení. Organické nitrity způsobují methemoglobinemii, zvyšují nitrooční tlak, nebezpečné jsou u osob s glaukomem, uživatelé mohou ztratit vědomí, zvláště pokud se věnují zvýšené fyzické aktivitě. Nitrity zesilují účinky extáze a LSD, nebezpečné je užívání s Viagrou. Při dlouhodobém užívání se po 2 – 3 týdnech rozvíjí tolerance, nejsou důkazy o fyzické ani psychické závislosti, ale pravidelné užívání často vede ke kožním potížím v okolí nosu a úst. Stanovení organických nitritů v biologickém materiálu nemá klinický význam, některé jiné testy však mohou potvrdit intoxikaci, jako např. vyšetření krevních plynů a methemoglobinu.

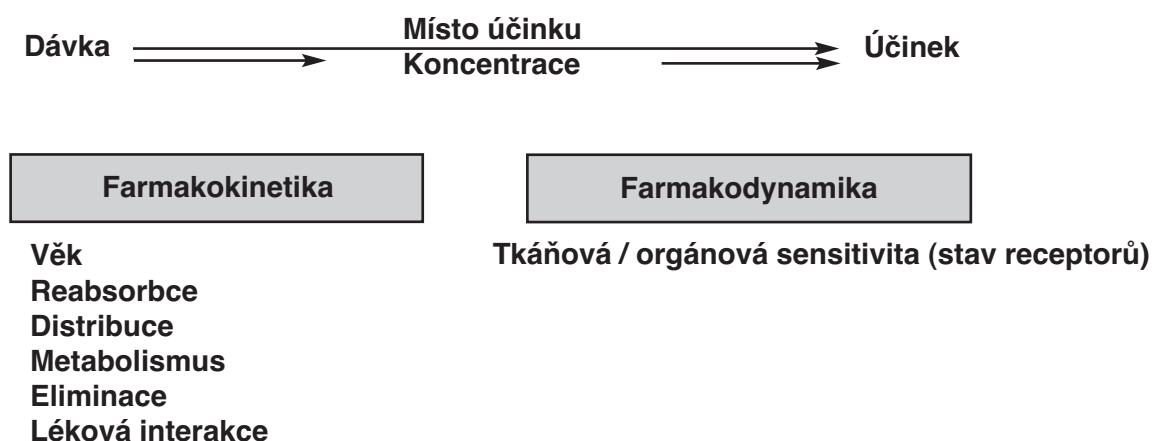
# Terapeutické monitorování léčiv

## Hundie Tesfaye

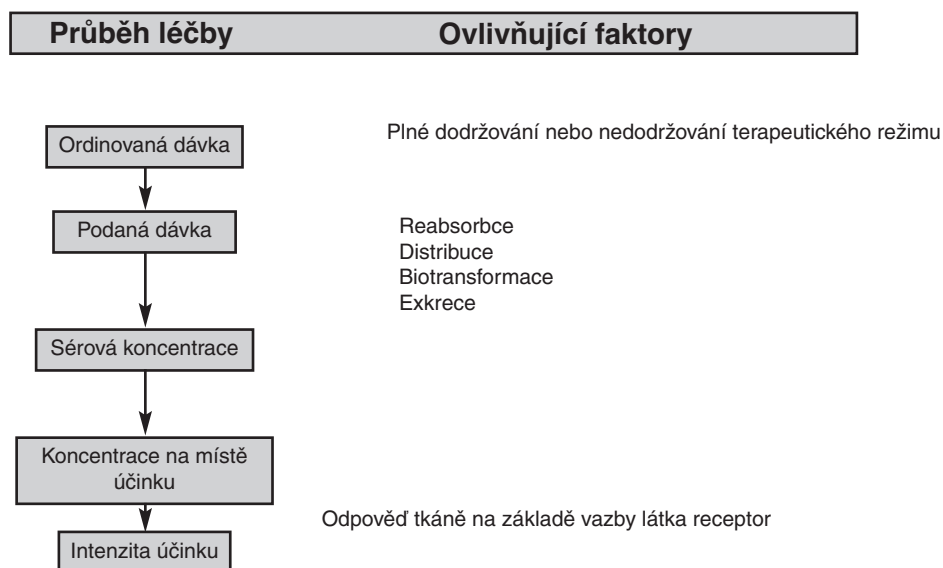
### Definice a význam TDM

Terapeutické monitorování léčiv, dále jen TDM (z anglického „therapeutic drug monitoring“ nebo moderněji „therapeutic drug management“) je praktická aplikace farmakokinetických a farmakodynamických principů k optimalizaci farmakoterapie u individuálního pacienta. Obecně lze TDM definovat jako kvalifikovaný, konziliární a interdisciplinární servis, při kterém se měří koncentrace léčiva (příp. jeho metabolitů) v krevním vzorku nemocného, odebraném v definovaném časovém intervalu od poslední podané dávky léčiva. Na základě naměřených hodnot, při zvážení klinického stavu nemocného a s přihlédnutím k farmakokinetice léčiva se optimalizuje další dávkování léku tak, aby jeho účinnost a bezpečnost byla co nejvyšší. Jinými slovy, cílem TDM je optimalizace dávkového režimu léku pro nemocného, tj. velikosti dávky léku (při zvolené aplikační cestě) a délky dávkového intervalu. TDM výrazně snižuje nebezpečí jak z předávkování, tak také z poddávkování lékem, a tím může ve svém důsledku snižovat náklady na léčbu.

Genetický polymorfismus podmiňuje odlišný fenotypický projev při metabolizaci léčiva a tím jeho biologickou dostupnost, eliminaci a následně i dynamiku jak z hlediska očekávaného efektu, tak z hlediska toxicity. Stav onemocnění může ovlivnit mnoho farmakokinetických a dynamických procesů, proto nelze často extrapolovat populační parametry při farmakoterapii individuálního pacienta. Proto je TDM, založené na principu měření koncentrace léčiv ve vhodném biologickém materiálu a komplexní farmakologické interpretaci, osvědčeným nástrojem k optimalizaci farmakoterapie a zároveň k minimalizaci potenciálních nežádoucích účinků léků.



Obrázek 1: Vztah dávky a účinku



Obrázek 2: Faktory ovlivňující vztah mezi dávkou léku a intenzitou účinku

Terapeutické monitorování léčiv (TDM) prošlo v průběhu desetiletí významným strategickým vývojem. V padesátých a šedesátých letech bylo primárním fokusem samotné kvantitativní měření koncentrace. Hodnocení dopadu TDM na blaho pacienta nebylo součástí kontextu vývoje analytických aktivit. Spektrum diagnostických kitů bylo k dispozici hlavně pro zajištění TDM jako rutinního servisu s hlavním cílem kontroly hladin vedoucích k neočekávanému efektu léčby („TDM engine was mostly toxicity driven“). TDM má své moderní základy až v letech sedmdesátých. Během minulých dvaceti až třiceti let prošlo převratným vývojem. S vývojem vysoce validních analytických metod se jeho klinické využití značně rozrostlo jak v rovině kvantitativní, tak také kvalitativní. Vývoj farmakoterapie ukázal, že populační modely velmi málo predikují osud léků u individuálních subjektů zejména z důvodů značných interindividuálních rozdílů. Individualizace terapie a zlepšení kvality života se proto stává základem filozofie zdravotní péče. V devadesátých letech dochází ke změnám v zaměření TDM od „drug (assay)-oriented“ k „patient-oriented“. Podstatou moderního TDM je „léčit pacienta, ne hladiny“ („treat the patient and not the level“).

## Podmínky a předpoklady TDM

- nelze bezprostředně měřit účinek podaného léčiva
- existence lineárních a reverzibilních vztahů mezi účinkem a měřenou koncentrací léčiva v analyzovaném vzorku (nejčastěji krevním séru/plazmě) nemocného
- úzké terapeutické rozmezí hladin léčiva a závažné toxické účinky
- významná interindividuální variabilita základních farmakokinetických parametrů (jako např. u nemocných v těžkých klinických stavech nebo při měnících se eliminačních funkcích)
- dostupnost příslušné analytické a vyhodnocovací metody (rychlé a specifické), personální a přístrojové vybavení, včetně interaktivního farmakokinetického programu (software)
- rychlá dostupnost výsledku pro ošetřujícího lékaře včetně doporučení optimálního dávkovacího režimu

## Zásady, rozsah a možnosti klinického použití TDM

Terapeutické monitorování není indikováno pro všechna léčiva paušálně. Bližší monitorování však vyžadují léčiva s tzv. úzkým terapeutickým indexem, která nevykazují velký rozdíl mezi konvenčně účinnou a potenciálně toxickou koncentrací. Sledování hladin těchto léků v klinickém kontextu je nezbytné zejména pro prevenci jejich potenciální toxicity a selhání léčby v důsledku nedostatečné koncentrace, např. z důvodu intenzity eliminace nebo jiných změn v organizmu. Dalšími důvody k indikaci TDM jsou významná inter- a intraindividuální variabilita farmakokinetických parametrů (často ovlivněná i lékovou formou) a potenciálně významné interakce současně podávaných léčiv (na úrovni farmakokinetiky i farmakodynamiky). Např. potenciálně nefrotoxické léky jako jsou aminoglykosidy, glykopeptidy, amfotericin B a platinové komplexy mohou riziko toxicity mnohonásobně zvýšit, jsou-li podávány současně. Při léčbě epilepsie jsme často nuceni přistoupit k polyterapii s vysokou pravděpodobností vzniku lékové interakce na úrovni metabolismu. Metabolismus je dynamický, s časem se měnící proces, který může ovlivnit i farmakodynamiku léčiva jako celku. Dalším problémem v terapii epilepsie jsou nepředvídatelné kinetické vlastnosti některých antiepileptických léčiv. Velmi malá změna v jejich dávce může znamenat nepredikovatelné změny v koncentraci s nečekanými následky. Typickým příkladem je fenytoin. Na začátku terapie sleduje kinetiku 1. řádu, která se však v průběhu terapie mění na kinetiku 0. řádu a původní predikce se tak stává irelevantní. K neposledním indikacím pro zahájení TDM patří podezření na toxicitu daného léčiva a tzv. non-compliance s následnou absencí očekávaného efektu.

TDM představuje účinný nástroj také z hlediska nákladové efektivity. Zkracuje délku hospitalizace a eliminuje výdaje vyvolané nežádoucím účinkem popř. jinou komplikací spojenou s podáváním daného léku.

V tabulce 1 jsou seřazeny charakteristiky léčiv u nichž je TDM servis plně indikován.

Pro provedení precizního a smysluplného TDM servisu je nezbytné pracovat s řadou informací nejen o samotném podávaném léku a důvodech k TDM, ale také o přesné charakteristice odběrů, historii dávkování, současně další terapii a v neposlední řadě i s informacemi o pacientu samotném a jeho klinickém stavu. Všechny informace nezbytné pro kvalitní TDM sumarizují tabulky 2 a 3.

Významná farmakokinetická variabilita
Existující vztah mezi koncentrací a efektem, včetně nežádoucích účinků
Úzký terapeutický index
Existence definované cílové („target“) nebo terapeutické koncentrace („therapeutic range“)
Obtížná klinická monitorace účinku

Tabulka 1: Souhrnná charakteristika léků požadujících TDM

Identifikace subjektů
Zařízení
Žadatel
Typ požadavku-urgence
Diagnóza/problém
Požadovaný test
Typ vzorku
Datum a přesný čas odběru
Relevantní léčba (včetně současné intervence)

**Tabulka 2: Relevantní klinické informace a detaily při požadavcích na TDM servis**

Čas odběru vzorku ve vztahu k času podání
Délka léčby definovanou dávkou
Schéma dávkování
Věk a pohlaví
Současně aplikované léky
Relevantní stav nemoci
Důvod požadavku

**Tabulka 3: Nezbytné údaje pro správnou interpretaci při TDM**

K tomu, abychom mohli provést individualizaci kinetických parametrů podaného léčiva a uvažovat o optimalizaci dávkování, potřebujeme vzorek biologického materiálu a nezbytné údaje o nemocném. Vzorek krve (z jiné žíly, než do které byl lék aplikován) odebíráme do správného kontejneru. Vzorek odebraný bezprostředně před další aplikací je obecně nazýván „trough“. Vzorek odebraný ½ – 2 hodiny po ukončení infuze nebo 2 – 8 hodin po perorální aplikaci (dle doby potřebné k distribuci) je nazýván „peak“ a vzorek odebraný kdykoli, je tzv. random. Pro mnoho léků je obvykle preferováno měření „trough“ a „peak“ koncentrace ke zjištění, zda je hladina v konvenčním terapeutickém rozmezí. V některých případech je určujícím vodítkem pro výběr tzv. target koncentrace v místě žádaného působení antibiotika (např. pro léčbu pneumonie je žádoucí vyšší „peak“ aminoglykosidů než pro léčbu infekce močových cest). Stanovení „peak“ koncentrace je mnohdy důležité i k odhalení úrovně toxicity. Např. novorozenec, který demonstruje tachykardii po každé dávce teofylinu, může být léčen efektivněji menší dávkou v kratším intervalu. V tomto případě, i když má citlivý pacient normální „trough“ koncentraci, neznamená to, že pacient je léčen bezpečně. Je ohrožen v průběhu vyššího „peak“.

„Trough“ koncentrace slouží jak k odhalení toxicity, tak také ke zjištění nedostatečné optimální koncentrace. Hodnota „trough“ koncentrace byla diskutována zejména v souvislosti s nefrotoxicitou aminoglykosidů a s monitorováním chronického podávání léků (profylaktická léčba epilepsie, udržovací dávka digoxinu a řady dalších relevantních léčiv k TDM).

Pro stanovení sledované látky musíme vždy vybrat ten nejvhodnější biologický materiál („matrix“):

- plazma
- sérum
- krev
- slina
- moč
- mozkomíšní mok
- žluč nebo peritoneální tekutina/dialyzát

### **Správný čas odběru vzorku**

Koncentrace léků se mění v průběhu dávkového intervalu a délky podání a v souvislosti s ustáleným stavem („steady state“). Pro léky s krátkým biologickým poločasem je nejméně variabilním časovým bodem „trough“ koncentrace. Pro léky s dlouhým poločasem, jako je fenytoin, fenobarbital a amiodaron, je odběr akceptovatelný v kterémkoli čase v průběhu dávkového intervalu. Nejméně variabilní časové body nesou opět označení „trough“. U digoxinu akceptujeme odběr kdykoli po ukončení distribuční fáze, tj. nejméně 6 hodin po aplikaci. Je-li odběr proveden před dosažením ustáleného stavu, je třeba vždy na tuto věc upozornit, aby nedošlo k chybné interpretaci a tím k neadekvátní intervenci.

lék	ustálený stav	okolnosti monitorování a čas odběru vzorku
aminoglykosidy	distribuce dané dávky 1 – 2 hodiny  dosažení ustáleného stavu u stabilní dávky 1 – 2 dny	pacienti demonstrující signifikantní změny v renálních funkcích a pacienti v režimu dialýzy vyžadují častější monitorování  „peak a trough“ hladiny okolo 3. dávky, popř. během 24 hodin po zahájení terapie, respektive „of the come“  „trough“: odběr bezprostředně před další dávkou nebo dialýzou „peak“: odběr 30–60 minut po ukončení infuze
karbamazepin	3 – 5 dní	„trough“: < 30 minut nebo bezprostředně před další dávkou
digoxin	5 – 7 dní	> 6 hodin po dávce
lithium	4 – 7 dní	„trough“: < 30 minut nebo bezprostředně před další dávkou
fenobarbital	8 – 25 dní	„trough“: < 30 minut nebo nejlépe bezprostředně před další dávkou
fenytoin	1 – 5 týdnů	„trough“: < 30 minut nebo nejlépe bezprostředně před další dávkou i.v. podání: 2 hodiny po ukončení infuze
teofylin	3 dny	„peak“: „Rapid release“ léková forma (orální): 1–2 hodiny po dávce. „Sustained release“ léková forma (orální): 3 – 7 hodin po dávce i.v. podání: 30 minut po dávce
valporát	2 – 4 dny	„trough“: < 30 minut nejlépe bezprostředně před další dávkou
vankomycin	20 – 30 hodin	„trough“: < 30 minut nejlépe bezprostředně před další dávkou „peak“: 1 – 2 hodiny po ukončení infuze

Tabulka 4: Předpokládaný čas dosažení ustáleného stavu a okolnosti monitorování

## Postanalytická fáze

Postanalytická fáze zahrnuje biologickou a klinickou validaci výsledků a způsob jejich konečné klinické utilizace. Při interpretaci získaných výsledků je třeba zodpovědět následující otázky:

- je výsledek normální?
- je významně rozdílný od předchozích výsledků?
- je výsledek konzistentní s klinickými nálezy?
- jaká opatření jsou relevantní pro další postup při řešení definovaného problému?

Klinická evaluace výsledků vyžaduje fundamentální, praktické, analytické a medicínské dovednosti a vzdělání. V tzv. numbers only TDM provozujících laboratořích často chybí interpretace požadavků v celém kontextu. Nová technologie umožní všem laboratořím měření hladiny léků automatizovanými metodami. Systém kontroly kvality garantuje správnost analytických výsledků, ale k interpretaci je nutné uvědomění FK/FD. Výsledky bez medicínské validace jsou nejen málo užitečné, ale mohou často vést ke zmatení a desinterpretaci. Postanalytická informace při hlášení výsledku musí obsahovat minimálně údaje uvedené na příkladu v tabulce.

název léků	metoda analýzy	referenční rozmezí	jednotky
amikacin - „peak“	FPIA	20 – 35	ug/ml
amikacin - „trough“	FPIA	1 – 8	ug/ml

Tabulka 5: Minimální údaje nutné při sdělování výsledků analýzy léků (příklad)

## Zásady interpretace výsledků v kontextu terapeutického rozmezí

Je třeba si uvědomit, že tzv. terapeutická rozmezí jsou pouze orientační a nelze je vždy brát za směrodatná a neměnná. Vhodnější termín je pro orientační požadavek na minimální účinnou a potenciálně toxickou hranici měřené koncentrace tzv. target (cílové) rozmezí, kterého chce klinik dosáhnout. Je důležité zdůraznit, že léčíme pacienta jako celek, nikoli laboratorní hodnoty, případně koncentrace.

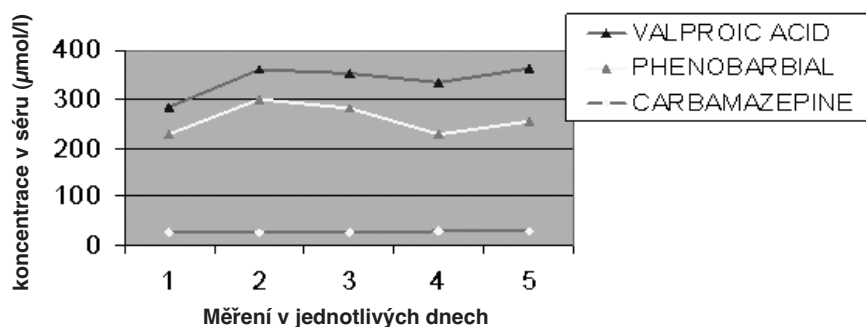
Terapeutické rozmezí je v mnoha případech odvozeno od pozorování terapeutických efektů a nežádoucích následků u malé skupiny pacientů nebo dokonce experimentálních modelů. Mohou existovat jedinci, kteří dosáhnou léčebného efektu již při mnohem nižší koncentraci nebo u nichž se naopak projeví nežádoucí účinek, aniž by byla překročena horní hranice terapeutické meze. Z toho vyplývá, že individuální pacienti požadují odlišné terapeutické rozmezí dané individuální farmakodynamickou variabilitou. Tabulka ilustruje často uvedené laboratorní rozmezí pro některé léky při TDM.

lék	čas dosažení ustáleného stavu (dny)	doporučený čas odběru vzorku	cílová rozmezí
amitriptylin (+ nortriptylin)	7 – 10	na konci dávkového intervalu	100 – 250 ug/l
nortriptylin	10 – 14	“	50 – 150 ug/l
karbamazepin	2 – 4	na konci dávkového intervalu	4 – 12 mg/l
digoxin	5 – 7	6 – 24 hodin po dávce	0,8 – 2,0 ug/l
etosuximid	7 – 14	na konci dávkového intervalu	40 – 100 mg/l
gabapentin	1 – 2	“	2 – 20 mg/l
lamotrigin	4 – 6	“	1 – 4 mg/l
fenobarbital	10 – 20	“	15 – 40 mg/l
fenytoin	7 – 35	“	10 – 20 mg/l
teofylin - dospělí	2	2 – 4 hodin po dávce	10 – 20 mg/l
teofylin-novorozenci	2	2 – 4 hodin	5 – 10 mg/l
valproát	2 – 3	na konci dávkového intervalu	do 100 mg/l
vigabatrin	5 – 10	“	5 – 35 ug/l

Tabulka 6: Předpokládaný čas ukončení distribuce, doporučený čas odběru vzorku a orientační referenční rozmezí některých často monitorovaných léků

### Vazba na plazmatické bílkoviny a jejich situační interpretace

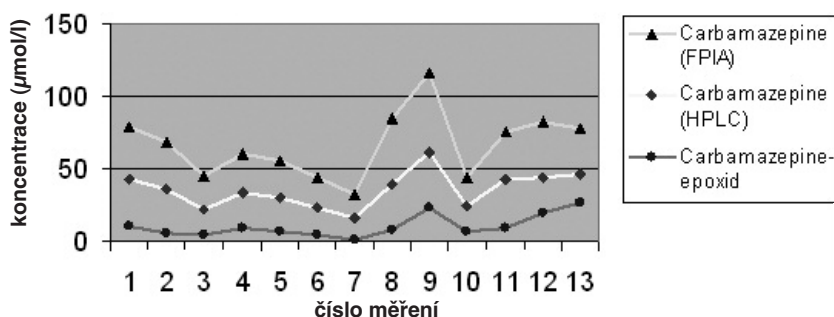
V biologickém materiálu (plazmě nebo krvi) jsou obvykle měřeny celkové koncentrace léčiva („bound + unbound drug“). Změna vazby léčiva na bílkoviny působením chorobného stavu, vytěsněním jiným lékem nebo non-lineární vazby na plazmatické bílkoviny musí vést k modifikaci vlastní interpretace měřené koncentrace. Např. terapeutické rozmezí fenytoinu měřeného jako celkový je 10 – 20 mg/l. Udávaná volná frakce fenytoinu je přibližně 0,1, což koresponduje s koncentrací 1 – 2 mg/l volného (unbound) fenytoinu. Dojde-li však ke změně ve vazbě fenytoinu na plazmatické bílkoviny a fenytoin se zvýší např. na 0,2 (renální onemocnění), potřebujeme pro dosažení cílové koncentrace volného léčiva (1 – 2 mg/l) snížit terapeutické rozmezí na 5 – 10 mg/l. Valproát a salicyláty vykazují non-lineární vazbu na plazmatické bílkoviny, a tím stěžují interpretaci celkových hladin těchto léků.



Obrázek 3: Typické farmakokinetické interakce antiepileptik u čtrnáctileté pacientky

### Otázka aktivních metabolitů a lékových interakcí při interpretaci výsledků TDM

Typickým příkladem existujících aktivních metabolitů a dalších lékových interakcí jsou antiepileptika, u nichž velmi často měříme celkové sérové koncentrace. U léků, kde je vazba na plazmatické bílkoviny výrazná, může být měřená hodnota disproporcionální s volnou frakcí v závislosti na stavu. Také metabolity, které nejsou determinovány, se mohou farmakodynamicky uplatnit (např. parentní karbamazepin vs. karbamazepin-10,11-epoxid nebo parentní prokainamid vs. N-acetylprokainamid) a ovlivnit významně interpretaci výsledků.



Obrázek 4: Karbamazepin-epoxid (metabolit) měřený HPLC

Metabolismus karbamazepinu (KBZ) je soubor reakcí, při nichž vzniká více než 30 metabolitů. Hlavními metabolity jsou 10,11-epoxid a jeho hydrolytický trans-dihydrodiol. Vedlejší metabolit, 2-hydroxy-KBZ, vznikající ztrátou karboxyamidu, je dále metabolizován na iminochinon, který může být díky své chemické reaktivitě odpovědný za idiosynkratické reakce. Karbamazepin je spojován s idiosynkratickými nepříznivými efekty (kožní vyrážky, krevní onemocnění, hepatitidy) u jedné třetiny až poloviny pacientů. Tyto nepříznivé efekty souvisí s tvorbou metabolitů KBZ.

Je tedy zřejmé, že TDM metabolitů má nesporný klinický význam. Při řešení lékových interakcí musíme mít také na zřeteli, že KBZ je významný enzymový induktor cytochromu P450.

Mezi běžné vedlejší účinky KBZ patří ospalost, zhoršení motorické koordinace, žaludeční nevolnost a mírné snížení počtu leukocytů a sodného iontu. Jako méně obvyklé vedlejší efekty jsou popisovány kardiální arytmie, rozostřené nebo dvojité vidění a/nebo dočasná ztráta krevních buněk a destiček. Ve výjimečných případech se může jednat o život ohrožující stav. Je proto nutné, zejména po nasazení preparátu, provádět 3 – 4x ročně kontrolu krevního obrazu a vzhledem k riziku zvýšení funkce štítné žlázy také minimálně jednou ročně její kompletní vyšetření. Při terapii KBZ byly popsány také sluchové poruchy. Pacienti vnímají jednotlivé tóny o půltón nižší, než jaká je jejich aktuální výška (střední C může být vnímáno jako B3). Karbamazepin může způsobovat SIADH (syndrom nepřiměřené sekrece ADH), kdy dochází ke zvýšenému uvolňování a účinku ADH (vasopressin). Může také zhoršovat juvenilní myoklonickou epilepsii, a proto je důležité referovat o jakýchkoli záskubech, zejména během rána, před dalším podáním léku.

Karbamazepin zvyšuje falešně pozitivní koncentrace tricyklických antidepresiv (TCA). Jsou popsány interference KBZ a TCA zejména při FPIA stanovení. Byla publikovaná práce, kdy došlo u tří pacientů k identifikaci intoxikace karbamazepinem v důsledku nálezu falešně pozitivních hodnot ve screeningu TCA. Při kvantitativním stanovení byly však hodnoty TCA nulové a vedly, vzhledem k možné zkřížené reaktivitě, k následnému stanovení koncentrace karbamazepinu. Ve všech případech byly hodnoty KBZ vysoko nad horní terapeutickou mezí a stav pacienta byl uzavřen jako intoxikace karbamazepinem.

Interference KBZ a TCA byly popsány u pacienta se subterapeutickou koncentrací KBZ 6,5 µg/ml (27,5 µmol/l), u něhož byla naměřena koncentrace TCA 50,7 ng/ml (180,8 nmol/l), i když nikdy TCA neužíval. U jiného pacienta s koncentrací KBZ 17,5 µg/ml (74,0 µmol/l) byla naměřena koncentrace TCA 124,6 ng/ml (444,3 nmol/l). Tyto hodnoty jsou klinicky signifikantní vzhledem k omezenému terapeutickému rozsahu TCA.

U parentního KBZ je při měření metodou FPIA popsáno více zkřížených reakcí s tricyklickými antidepresivy (TCA), než u jeho aktivního metabolitu karbamazepinu 10,11-epoxidu. Po přidání 40 µg/ml (169,2 µmol/l) karbamazepinu k alikvotu séra s nulovou hodnotou KBZ byla naměřena koncentrace TCA 176,8 ng/ml (630,5 nmol/l). V přítomnosti 40 µg/ml (158,4 µmol/l) karbamazepinu 10,11-epoxidu však byla zjištěna koncentrace TCA pouze 43,3 ng/ml (154,4 nmol/l). Zejména u pacientů se známkami toxicity po KBZ je velice užitečné využívat ke stanovení hladin metodu HPLC s možností identifikace metabolitů. Často se může stát, že dlouhodobě stabilní dávka s hladinami v tzv. terapeutickém rozmezí může způsobit projevy toxicity zejména v důsledku vysokých hladin epoxidu, který se běžnými imunochemickými metodami nedá stanovit. Interference s jinými antiepileptiky nejsou dosud podrobně studovány ani popsány.

Dalším úskalím při TDM antiepileptik je problém s generiky. Byl prvně pozorován v Brisbane, v Austrálii, kde se u epileptických pacientů vyskytla intoxikace fenytoinem. Důvodem byla změna ve výrobě, kde byl síran vápenatý nahrazen laktózou. Následkem byl značný nárůst biodostupnosti a zvýšení sérové koncentrace fenytoinu o 80 – 100 %. U 51 pacientů se objevily typické příznaky intoxikace fenytoinem jako jsou ataxie, dvojité vidění a zvracení. U 87 % z nich byla pozorována koncentrace fenytoinu okolo 20 mg/L. U všech pacientů, u kterých bylo znovu obnoveno podávání původní látky, byla pozorována kompletní remise. Pro stanovení bioekvivalence je používáno tzv. pravidlo zařazení, tzn. že při 90% intervalu spolehlivosti musejí

plochy pod křivkou testovaných přípravků spadat do intervalu 80 – 125 % AUC kontrolního přípravku. Zkouška bioekvivalence mezi referenčním a testovaným přípravkem neznamená, že jsou volně zaměnitelné. Testované přípravky s prokázanou bioekvivalencí mohou být použity např. na začátku léčby nebo u špatně kontrolovatelných pacientů s koncentrací léčiva v séru ve středním rozsahu. Bylo názorně dokázáno, že užití obvyklých pravidel pro bioekvivalenci a rozsah akceptovatelnosti je u karbamazepinu problematické.

U epileptických dětí vystavených oxidativnímu stresu a obvyklým antiepileptickým lékům se mění oxidační/antioxidační rovnováha. Oxidační a antioxidační stav v séru u epileptických dětí s monoterapií valproové kyseliny (VPA) je lépe regulován než u dětí s monoterapií karbamazepinem a fenobarbitalem. Valproová kyselina a valnoktamid interagují s karbamazepinem a inhibují mikrozomální enzym epoxid hydrolázu (mEH), který je zodpovědný za štěpení karbamazepin-10,11-epoxidu na neaktivní metabolit. Inhibicí enzymu způsobují valproová kyselina a valnoktamid zesílení aktivního metabolitu, prodlužují efekt karbamazepinu a zpožďují jeho exkreci. Stává se to zejména, pokud je KBZ přidán k VPA, ne opačně. VPA působí jako inhibitor také v kombinaci s fenobarbitalem (PB). Byla pozorována intoxikace PB po přidání PB/primidonu (PRM) k VPA.

Na počátku terapie může VPA nahradit protein vázající KBZ a zejména fenytoin (PHT). Vzhledem k tomu, že intoxikace PHT je způsobená jeho volnou frakcí, nedochází po přidání VPA ke zvýšení celkového PHT.

Pravděpodobně zvýšením koncentrace KBZ-epoxidu dochází k projevům předávkování KBZ (závratě, nauzea, dvojité vidění) také při kombinaci terapii KBZ a lamotriginu (LTG). V takových případech je nezbytné snížit dávku KBZ o 10 – 20 %. Často dochází ke snižování dávky KBZ již preventivně, zejména tam, kde je koncentrace KBZ vysoká již před přidáním LTG.

Teofylin se u novorozenců (nikoli u dospělých) biotransformuje na kofein, takže terapeutické rozmezí je u novorozenecké apnoe 6 – 12 mg/l, zatímco u dospělých 10 – 20 mg/l pro dosažení bronchodilatace.

Terapeutické rozmezí imipraminu a amitriptylinu je založeno na sumární koncentraci parentní látky a aktivního metabolitu (desipramin a nortriptylin).

Primidon, jeho metabolit fenobarbital a také další metabolit, fenylethylmalonamid, jsou farmakologicky aktivní.

## Obvyklé důvody indikace TDM

- optimalizace terapie na začátku léčby
- vyloučení toxicity a susp. předávkování léku
- optimalizace terapie při variabilních nebo měnících se základních farmakokinetických parametrech, zvláště u nemocného v život ohrožujícím klinickém stavu (ve vztahu k věku, hydrataci, hmotnosti, teplotě, hemo dynamice, funkci důležitých orgánů, tíži klinického stavu nemocného apod.)
- při hledání příčiny nedostatečného terapeutického efektu (např. non-compliance, tj. nedodržování pokynů o dávkovacím režimu pacientem)
- při možné lékové interakci u kombinované terapie
- ke zjištění rychlosti metabolismu léčiva

## Obvykle monitorovaná léčiva

- antibiotika (amikacin, gentamicin, netilmycin, tobramycin, vankomycin)
- antidepresiva (lithium)
- antiepileptika (etosuximid, primidon, fenobarbital, valproát, karbamazepin, fenytoin, lamotrigin, sulthiam)
- antimykotika (itakonazol, hydroxy-itakonazol, vorikonazol, posakonazol)
- bronchodilatancia (teofylin)
- cytostatika (metotrexát, busulfan, karboplatina)
- imunosupresiva (cyklosporin, mykofenolát, sirolimus, takrolimus)
- kardiotonika (digoxin)

## TDM antibiotik

Většina z běžně používaných antibiotik (ATB), betalaktamy, makrolidy a chinolony, má široký terapeutický index a nepotřebují v průběhu jejich podávání monitorování hladin. Existuje však celá skupina aminoglykosidů (AMG) a glykopeptidy vankomycin a teicoplanin, jejichž koncentrace se v biologických tekutinách při léčení infekčních chorob v indikovaných případech monitorují. Hladiny antibiotik se sledují na jedné straně pro nebezpečí nedostatečného účinku a možnosti vzniku bakteriální rezistence při nízkých hladinách léčiva a na straně druhé pro nebezpečí toxických poškození nemocného při předávkování.

V této kapitole se zaměříme pouze na terapeutické monitorování těch antibiotik, která se v našich podmínkách velmi dobře osvědčila z hlediska racionální farmakoterapie. Kritéria, podle kterých se doporučuje optimalizace terapie, nejsou neměnná. Již před lety bylo prokázáno, že:

1) Baktericidní účinek AMG závisí na dosažené maximální koncentraci léčiva (čím vyšší vrcholová koncentrace, tím větší účinek). Optimální účinnost AMG se dá očekávat při vrcholové koncentraci, která je

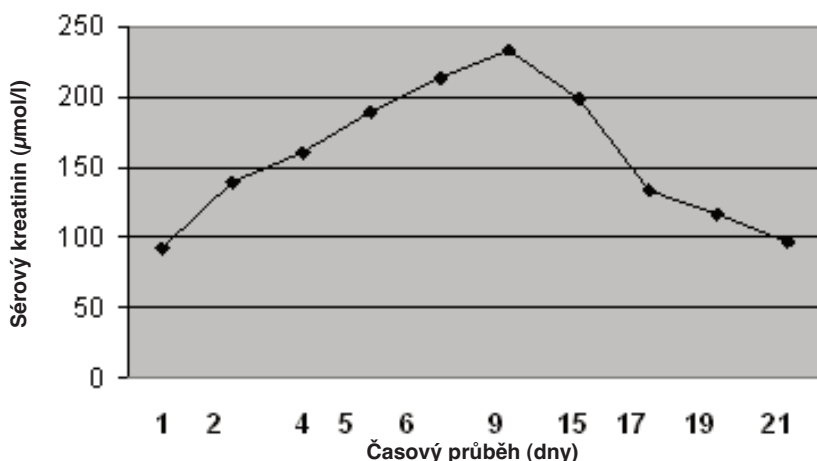


6 – 10násobkem minimální inhibiční koncentrace pro 90 % mikrobů (MIC90). Délka postantibiotického efektu AMG je přímo závislá na dosažené vrcholové koncentraci antibiotika. Hodnota MIC90 infekci vyvolávajícího mikroba je proto důležitá nejen při volbě antibiotik při empirické terapii, ale i při rozhodování o výši jednotlivé dávky a délce dávkového intervalu.

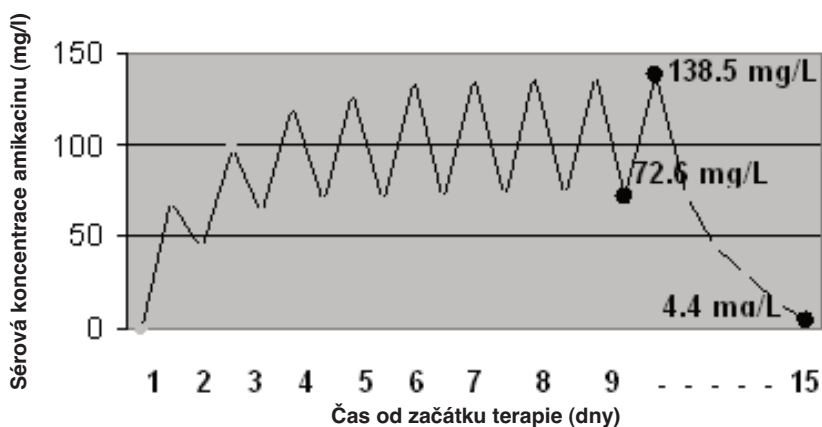
2) Znamé nefrotoxické a ototoxické působení AMG závisí na době expozice vysokých tkáňových koncentrací těchto látek, ke kterým dochází se zpožděním za koncentracemi v séru. Tento nálezn vedl před léty k přehodnocení názoru na optimální léčbu aminoglykosidy. Ani snaha o udržení se v terapeutickém rozmezí sérových koncentrací (např. gentamicin 2–10 mg/l, s důrazem nepřekročit 2 mg/l na konci dávkového intervalu) totiž nezaručila při terapeutickém režimu podávání aminoglykosidů po 8 hodinách absenci toxických následků terapie.

Nyní často používaný režim infuzní terapie AMG v jednodenní dávce („once daily“) vede k vysokým „peak“ sérovým, a tím i tkáňovým koncentracím, trvajícím však krátkou dobu (≈1 h), a poměrně dlouhým obdobím nízké sérové koncentrace antibiotika, ve kterém dochází k jakémusi „očišťování“ ledvinných tubulů a endolymfy vnitřního ucha od toxicky působících AMG. Díky dlouhému postantibiotickému účinku (PAE) AMG nejsou citlivé bakterie schopny dalšího růstu a dělení. Terapie aminoglykosidy „jednou denně“ má však svá omezení. Při opakovaném podávání léčiva samozřejmě koncentrace léčiva neustále kolísají mezi minimem (před podáním další dávky) a maximem (po jeho aplikaci). Posuzuje se i doba expozice sérovým koncentracím AMG nad terapeutickým rozmezím. Několikahodinové období toxických sérových koncentrací AMG u nemocných se snížením renálních funkcí, kteří nedovedou rychle eliminovat léčivo, je důvodem, proč se u těchto nemocných nedoporučuje režim „once daily“, ale redukce jednotlivých dávek.

Na obr. 5 a 6 je uveden případ sedmdesátiletého muže, kterému byl podán amikacin v „once-daily“ režimu s typickou kumulací léku, extrémně toxickými hladinami a evidentním stoupáním sérového kreatininu. Tento případ je důkazem toho, že ani „once-daily“ není bezpečné pro všechny, není-li možnost včasného monitorování.



Obrázek 5: Stoupající tendence sérového kreatininu v průběhu léčby amikacinem v režimu „once-daily“ a pokles až po vysazení léku



Obrázek 6: Počítačem asistovaná simulace oscilace a skutečné naměřené hladiny amikacinu při „once-daily“ režimu s rostoucí hladinou do vysazení (---)

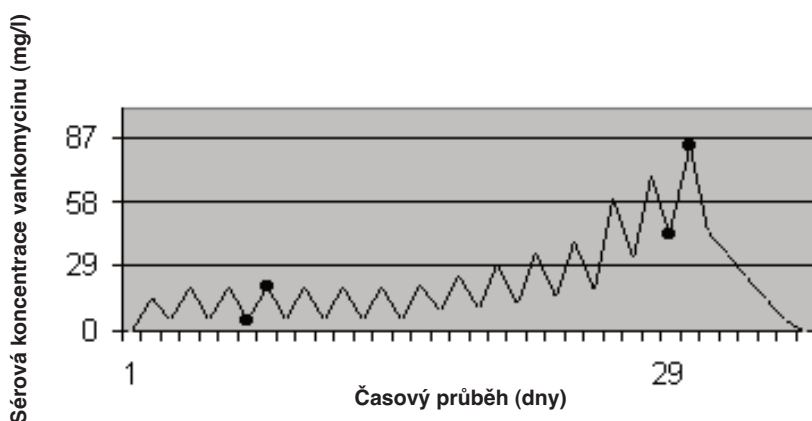
Předpoklad citlivosti původce infekce je hlavním, ale nikoli jediným faktorem, který ovlivňuje rozhodování o výši jednotlivé dávky a délce dávkového intervalu. Další problém přináší značná interindividuální variabilita kinetických parametrů AMG, např. u těžce nemocných osob. Zaske a spol. (1980, 1991) publikovali své zkušenosti s podáváním gentamicinu (GEN) chirurgickým pacientům. Podávání doporučené kodexové dávky GEN (3,5 mg/kg/den) vedlo k poddávkování u 45 % a předávkování u dalších asi 14 % nemocných. 59 % nemocných tedy potřebovalo úpravu dávky, aby se jejich sérové koncentrace nacházely v požadovaném terapeutickém rozmezí. Tyto rozdíly mezi jednotlivými nemocnými byly způsobeny obrovskými individuálními rozdíly v distribučním objemu léčiva (0,06 – 0,63 l/kg), při populačním průměru 0,25 l/kg. Velikost distribučního objemu AMG odpovídá zhruba objemu extracelulární tekutiny (ECV), mění se např. s věkem (vyšší u dětí, ve stáří klesá), ale především se mění za patologických stavů spojených s expanzí ECV (edémy nejružnějšího původu a lokalizace). Zvýšení distribučního objemu bylo pozorováno rovněž při umělé plicní ventilaci, zhoršeném žilním návratu a při léčbě kortikoidy.

Rychlost eliminace, další kinetický parametr AMG, velmi citlivě reaguje na sebemenší změny funkce ledvin. Hickling a spol. (1989, 1991) potvrdili, že při septických stavech nekorelují clearance kreatininu ani koncentrace sérového kreatininu spolehlivě s hodnotou clearance aminoglykosidů. Z uvedených faktů vyplývá nutnost individualizace kinetických parametrů samotného léčiva a nutnost využití možností TDM. K optimalizaci terapie AMG by mělo docházet již na počátku terapie nemocných, především pak nemocných v sepsi nebo s projevy polymorbidity, multiorgánového selhávání a nestabilního stavu. U této skupiny léků jsme svědky potlačení významu populačního terapeutického rozmezí hladin a naopak posílení vlivu optimalizace dávkování na základě individuálních hladin s použitím vhodného softwaru k výpočtu farmakokinetických parametrů.

Jiná situace je u dalšího monitorovaného antibiotika, vankomycinu, jehož postantibiotický účinek je relativně nevýznamný a při jehož monitorování se musíme řídit terapeutickým rozmezím po celou dobu dávkového intervalu. Správný postup TDM klade velký důraz na nezbytnost interpretace výsledků pro predikci optimálního dávkování antibiotik, kde by měl každý závěr vyšetření obsahovat doporučenou další dávku léku, doporučený dávkový interval a případné doporučení dalšího odběru vzorku ke kontrole hladin léčiva.

Farmakodynamika vankomycinu je v porovnání s AMG naprosto odlišná. Baktericidní efekt je závislý na setrvání hladin nad MIC90 příslušné bakterie. Jeho postantibiotický efekt (PAE) je kratší, pokud vůbec, a je obecná shoda v tom, že nemůžeme doporučit takové dávkovací schéma, které by vedlo k oscilacím sérových hladin klesajících byť i na krátkou dobu pod minimální účinnou hodnotu (obvykle 5 mg/l). Variabilita kinetických parametrů vankomycinu je značná a doporučuje se proto monitorovat jeho hladiny. Navíc se farmakokinetika vankomycinu může v průběhu terapie měnit i u individua, které mělo iniciálně normální eliminaci. Jen tak můžeme usuzovat na optimálnost terapie u konkrétního nemocného i při jeho variabilních nebo měnících se eliminačních schopnostech.

Na obr. 7 je uveden případ pacienta s iniciální přijatelnou hladinou vankomycinu, u kterého došlo po několika dnech ke kumulaci, následkem čehož musel být lék vysazen na několik dní. Je důležité monitorovat hladiny také v průběhu terapie, aby se dalo usuzovat na optimálnost terapie u konkrétního nemocného vzhledem k variabilním nebo měnícím se eliminačním funkcím.



**Obrázek 7:** Počítačem asistovaná ukázka kumulace vankomycinu u pacienta se závažnou infekcí v průběhu terapie dávkou 500 mg/6 hodin

Pro správný farmakokinetický odhad jsou obvykle potřeba minimálně dvě hladiny. Vždy na konci dávkovacího intervalu (tzv. trough) a za půl hodiny po ukončení infuze (tzv. peak) aminoglykosidů, popř. za hodinu po intravenózní infuzi vankomycinu.

Zvláštní pozornost je třeba při současném použití nefrotoxických léků jako jsou aminoglykosidy s vankomycinem, v důsledku zvýšeného rizika toxicity. Je třeba brát ohled na určitou populaci (geriatřičtí, pediatričtí pacienti), zvláštní stavy jako je sepse, popáleniny, neutropenie, endokarditida, cystická fibróza, u nichž je nutný individuální přístup.

Pro predikci dalšího dávkování považujeme vedle administrativních a identifikačních dat nemocného na žádance za nezbytné také další údaje:

- o nemocném - klinický stav, důvod požadavku TDM: (optimalizace dávkování, susp. toxicita, změny eliminace funkcí), hmotnost, výška, parametry renálních funkcí, příp. čas a trvání dialýzy
- o původci infekce, příp. jeho citlivost: (MIC90)
- o léku - název, aplikační cesta, dávka léku a čas poslední dávky, dávkový interval, současně podávané léky
- o času odběru vzorku biologického materiálu (datum a hodina)

Závěrečné výsledky TDM, samozřejmě včetně doporučení optimální další dávky léku a dávkového intervalu, sdělujeme ošetřujícímu lékaři co nejdříve, nejpozději před uvažovanou další dávkou. Zásadně nepovažujeme za užitečné sdělení pouhého číselného výsledku analýzy bez provedené predikce oscilací hladin v celém dávkovém intervalu. Bez kvalifikované interpretace a farmakokinetického zhodnocení nemá ošetřující lékař k dispozici prostředky k optimalizaci dávkování léku, neboť konvenční tzv. terapeutické rozmezí sérové koncentrace léčiva má jen hrubě orientační význam.

### **TDM antidepressiv**

Antidepressiva jsou skupinou léčiv, u kterých často dochází k projevům nežádoucích účinků mimo jiné i z důvodů zneužití a incidentálních předávkování. Ani selhání terapeutického efektu byť z důvodů non-compliance nebo tolerance není vzácností. Proto je užitečné intervalové monitorování terapie.

### **Amitriptylin**

Plazmatická koncentrace v ustáleném stavu je obvykle dosažena během 7 – 10 dnů po zahájení léčby, přesto optimální klinický farmakodynamický efekt se objeví opožděně, tj. za 4 – 6 týdnů. Hlavní aktivní metabolit, nortriptylin, by měl být taky monitorován pro relevantnější interpretaci a eventuální optimalizaci dávky.

### **Lithium**

Terapeutické rozmezí hladin pro lithium není spolehlivé z hlediska identifikace nežádoucích účinků. Např. při akutní intoxikaci může být hladina mnohonásobně překročena, avšak klinické symptomy přesto nemusejí být z počátku zřetelné. Nežádoucí účinek se projeví, až když dojde k nasycení nervových tkání po distribuci. Naopak po dialyzačním odstranění značného množství léků může stále přetrvávat vysoká hladina lithia v důsledku tzv. rebound fenoménu, kdy se látka vrací z tkáňové distribuce do plazmy. Proto má být i po hemodialyzační intervenci hladina stále sledována. Hladiny lithia je třeba interpretovat velmi komplexně a doporučovat intenzivní monitoring pacienta.

### **TDM antiepileptik**

TDM antiepileptik se provádí na tzv. trough hladinách, po dosažení ustáleného stavu a při správné indikaci. Vzorky mohou být zpracovány i v tzv. neustáleném stavu a to při vybraných zvláštních situacích (např. akutní interkurentní nemoc ovlivňující farmakokinetické a farmakodynamické parametry, podezření na intoxikaci nebo náhlé zhoršení záchvatů po dlouhodobě stabilizovaném stavu). Vzhledem k významné vazbě některých antiepileptik na bílkoviny je vhodnější monitorování hladiny volné frakce v séru, mimo jiné i z důvodu sledování kinetiky nultého řádu. Stanovovaná plazmatická koncentrace je celková, a zahrnuje tedy i frakce vázané na bílkoviny. V praxi to znamená, že při jakémkoli chorobném stavu, který ovlivňuje množství krevních bílkovin (např. hypoalbuminemie zejména v koincidenci s uremií) a při změně v kompetici léků vážících bílkoviny může docházet ke změnám stavu pacienta.

### **Etosuximid**

Předpokládá se, že existuje dobrá korelace mezi plazmatickou hladinou a dávkou tohoto léku. Terapeutický index je také relativně velký. Přesto toxicita je neprediktabilní při relativně delším čase potřebném k dosažení ustáleného stavu (5 – 7 dní u dětí a 10 – 14 dní u dospělých).

### **Fenobarbital**

Výsledky analýzy vzorku odebraného před dosažením ustáleného stavu (1 – 2 týdny u dětí a 2 – 4 týdny u dospělých) jsou obvykle nepoužitelné, leda k potvrzení diagnózy toxicity.

### **Fenytoin**

Monitorování fenytoinu je považováno za průkopníka v optimalizaci dávkování. Fenytoin má nejen úzký

terapeutický index, ale také vykazuje saturační kinetiku, tzn. že pouze malé zvýšení dávky může vést k značnému zvýšení koncentrace, a tím k nežádoucím a neočekávaným následkům.

### **Gabapentin**

Absorpce gabapentinu je velmi rapidní a „peak“ koncentrace je dosažena obvykle za 2 – 3 hodiny po aplikaci. Poločas eliminace je 5 – 7 hodin, ustálený stav se dosahuje během 1 – 2 dnů. Vzhledem k tomu, že se látka výlučně eliminuje ledvinami v nezměněné formě, údaj o stavu renálních funkcí je velmi relevantní informací pro interpretaci výsledku a eventuální optimalizaci dávky.

### **Karbamazepin**

Indukuje vlastní metabolismus a dosažení ustálené terapeutické hladiny tedy může trvat řadu týdnů (2 – 4) od začátku léčby. Proto musí být dávka, aplikovaná pro dosažení žádoucí koncentrace a optimálního efektu, zvyšována velice opatrně a pomalu.

### **Lamotrigin**

Současné podávání s jinými antiepileptiky má značný vliv na jeho clearance. Např. valproát může zdvojnásobit jeho poločas (25 – 48 hodin), karbamazepin a fenobarbital zkracují jeho poločas na cca 12 hodin. Jsou důkazy o tom, že toxicita lamotriginu je na koncentraci závislá.

### **Valproát**

Antikonvulzivní aktivita a toxicita valproátu nevykazuje jednoduchý vztah s jeho plazmatickou koncentrací. Rutinní měření koncentrace bylo obecně považováno za málo přínosné, mimo jiné i pro jeho relativně krátký plazmatický poločas způsobující velkou variabilitu mezi jednotlivými dávkami. Avšak vzhledem k jeho inhibičnímu vlivu na eliminaci jiných antiepileptik je jeho monitorování považováno stále za užitečné.

### **Vigabatrin**

Ireverzibilně inhibuje enzym GABA-transaminázu, a tím zvyšuje koncentraci GABA v mozku. Důsledkem je snížení propagace abnormálních excitačních aktivit. GABA účinek může být při kombinaci se synergicky působícími látkami extrémní a dochází k útlumu až k somnolenci. Monitorování tohoto antiepileptika proto není zbytečné, zvláště při polyterapii.

### **TDM bronchodilatancií (teofylin)**

Plazmatická koncentrace predikuje jak intenzitu bronchodilačního efektu, tak také hrozbu toxického účinku. Je důležité si uvědomit, že teofylin může být u novorozenců a u některých dospělých s poruchami jaterního metabolismu tohoto léku významně metabolizován na kofein. U těchto jedinců lze tedy očekávat veškeré účinky kofeinu. Hladina teofylinu může být u konzumentů kávy zvýšena jak skutečně (následkem částečné biotransformace kofeinu na teofylin), tak falešně (následkem interference s kofeinem při použití imunochemických metod k determinaci hladiny).

### **TDM cytostatik (metotrexát, busulfan, karboplatina)**

Utilizace TDM v oblasti cytostatik má bohužel mnoho úskalí. Není zcela jasná lineární souvislost s koncentrací v tělních tekutinách a efektem na nádorové buňky nebo na místo účinku. Přesto bližší monitorování hladin a farmakokinetické hodnocení má v několika případech své opodstatnění. Např. při myeloablativní indikaci busulfanu před plánovanou transplantací kostní dřeně se ukázalo, že predikce AUC je přínosná hlavně při předcházení nežádoucích účinků.

Monitorování hladiny metotrexátu je racionální při mimořádně vysokých dávkách zejména pro vedení tzv. rescue therapy (zachraňující léčba v případě předávkování) použitím antidota leukovorinu.

V poslední době se prokázalo, že karboplatinu lze aplikovat přesněji s použitím AUC v souladu s renálními funkcemi pacienta, a tak předcházet nebezpečí toxicity. Velmi nadějný je i fakt ukazující možnost chemoredukce solidních nádorů paralelně s terapeutickým monitorováním AUC pomocí limitovaných vzorků u karboplatiny. Přesto vzhledem k vlastnosti nádoru, hlavně s tzv. MDR expresí, jsou hladiny jako takové málo užitečné, až na potvrzení možné toxicity předávkováním.

### **TDM imunosupresiv (cyklosporin, mykofenolát, sirolimus, takrolimus)**

Imunosupresiva se prokazatelně podílejí na úspěchu transplantace. Tyto léky vyžadují bližší monitorování nejen pro svůj úzký terapeutický index, ale také pro vysokou interindividuální variabilitu farmakokinetických parametrů. TDM je nedílnou součástí transplantčního protokolu. V každodenní praxi jsou monitorovány hladiny cyklosporinu, takrolimu, sirolimu a mykofenolátu.

Přesnost a specifita měření v této oblasti jsou fundamentální pro správnou interpretaci. HPLC s UV detekcí

je považováno za zlatý standard pro stanovení hladin cyklosporinu A (CsA). Dosažení udržovací cílové hladiny C2 po transplantaci plic je spojeno s nižší incidencí akutního odhojení štěpu a bronchoobliteračním syndromem, zachováním renálních funkcí a výborným krátkodobým přežitím ve srovnání s historickými kontrolními případy monitorování pouze C0 hladiny.

„Trough“ hladiny kyseliny mykofenolové (MMF) vykazují v kombinaci s cyklosporinem pokles o 50 %. V kombinaci s takrolimem k tomuto poklesu nedochází.

Pacienti s cystickou fibrózou (CF) vyžadovali o 30 % vyšší dávku MMF k dosažení terapeutické hladiny ve srovnání s pacienty bez cystické fibrózy, kterým byla provedena transplantace plic. Pacienti s cystickou fibrózou vyžadovali také vyšší dávky takrolimu, než je běžné k dosažení podobné expozice u non-CF populace. Populační model pro pacienty s cystickou fibrózou by měl být proto proveden odděleně od pacientů bez cystické fibrózy.

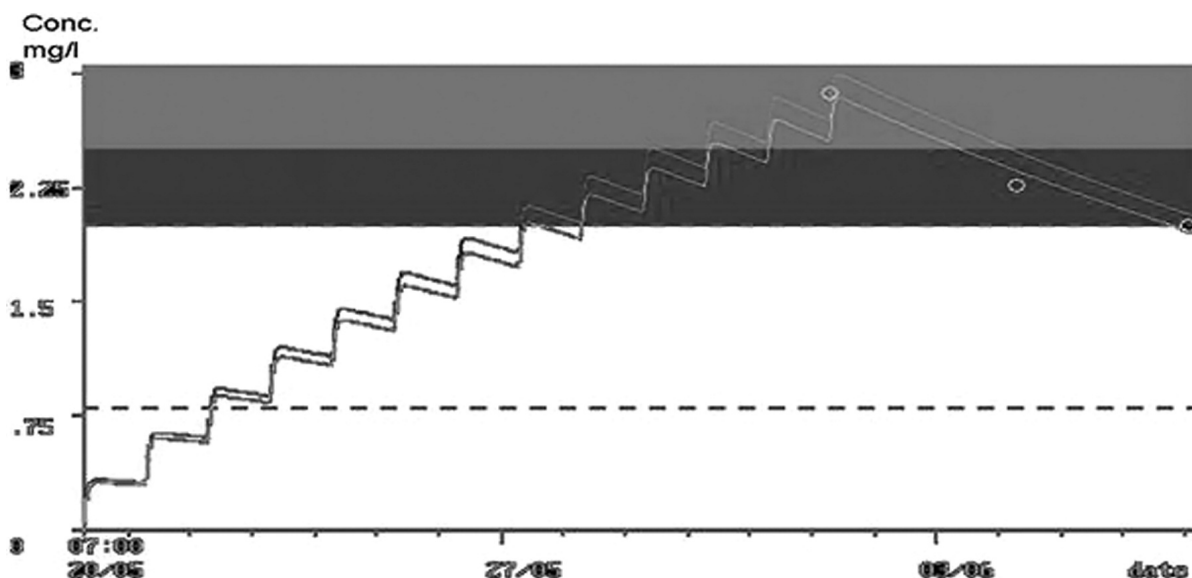
Výše uvedené okolnosti a fakt, že imunosupresiva jsou podávána jak profylakticky, tak terapeuticky, vymezuje jejich monitorování u transplantací jako obligátní a u jiných indikací jako mandatorní.

## TDM kardiotonik (digoxin) a antiarytmik (prokainamid, lidokain, quinidin, amiodaron)

### Digoxin

Má velmi úzký terapeutický index a vyžaduje pečlivou optimalizaci dávkového režimu. Měřené výsledky je možno správně interpretovat pouze za předpokladu, že odběr vzorku je proveden po ukončení distribuční fáze. Eliminace digoxinu je silně ovlivněna stavem renálních funkcí. Při současném podávání potenciálně nefrotoxických a výlučně renálně se eliminujících léčiv je třeba dostatek opatrnosti při léčbě digoxinem, protože může docházet ke kumulaci léčiva již při běžné dávce (obr. 8). Digoxin je velmi problematický lék, protože sérová koncentrace ne vždy odpovídá pozorovanému účinku. TDM tohoto léku má přesto své opodstatnění zejména v tom, že může určit intervenci včetně aplikace antidot dle měřené koncentrace. Toxicita digoxinu není závislá pouze na měřené hladině, ale také na jiných faktorech, jako jsou elektrolyty (zejména kalium a magnesium), věk, chorobný stav srdce a dále současně podávaná jiná léčiva. Sensitivitu myokardu na digoxin mohou zvýšit např. hypokalemie, hyperkalcemie, hypomagnesemie, hypoxemie, hypothyroidismus, a tím vést k toxicitě i při běžné hladině. Naopak sensitivitu na digoxin mohou snížit stavy jako hypokalcemie a hypertyroidismus. Starší věk zvyšuje riziko toxicity digoxinu i z důvodu vyšší sensitivity myokardu starších. Naopak myokard dětský je relativně méně senzitivní vůči digoxinu.

Kumulace sérové koncentrace digoxinu u pacienta s chronickým srdečním selháním



Obrázek 8: Ilustrace kumulující se koncentrace u staršího pacienta při obvykle podávané chronické dávce

Užitečnost TDM byla prokázána také u prokainamidu, lidokainu a quinidinu.

U modernějších antiarytmik, jako je amiodaron, nepanuje jednoznačný názor na monitorování, přesto klinické případy potvrzují nezbytnost TDM, zvláště pokud je podáván současně např. s digoxinem.

## **Nezbytné údaje pro správnou interpretaci hladin a optimalizaci dalšího dávkování**

Na žádance musejí být kompletně vyplněny detaily o pacientovi, lécích a analytické požadavky. K adekvátnímu zpracování a zhotovení klinicky užitečného výsledku musí být vzorek a čas odběru bez chyb popsán.

Údaje nutné pro přesný a validní TDM servis:

- identifikace nemocného, diagnóza, pojišťovna
- klinický stav nemocného a důvod požadavku TDM
- hmotnost, výška, parametry renálních funkcí, případně dialýzy (druh dialýzy a doba trvání)
- název léku, aplikační cesta, dávka léku, dávkový interval, čas aplikace léku
- čas odběru vzorku
- současně podávané léky
- administrativní údaje (oddělení, razítko, podpis lékaře, telefon)

## **Nezbytné informace konziliárního závěru**

Konziliární závěr vycházející z monitorovaných hladin léčiva musí obsahovat nezbytné údaje pro ošetřujícího lékaře:

- zda bylo dosavadní dávkování léku optimální či nikoli
- jakou doporučujeme dávku v případě nedostatku dosavadní dávky léku
- jaký doporučujeme dávkový interval
- kdy v případě nutnosti provést další odběr vzorku ke kontrole hladin léčiva

# Point-of care testing (POCT)

## Jiří Kukačka

Point-of care testing , neboli do češtiny nepřekládané „testování na místě péče“, představuje optimalizaci diagnostického procesu současnou integrací měření, monitorování a fyziologických pozorování v místě péče o nemocného, kdekoli je to potřebné (obecná definice). Zahrnuje používání techniky u lůžka včetně přenosných analyzátorů (bed-side testing), v ambulanci a nebo techniky vlastněné pacientem (near-patient testing a v nejširším pojmu i home-care testing) nebo technika používaná v mobilních zdravotnických zařízeních (tab.1). Mezi POCT se nezařazuje měření v satelitních laboratořích, i když je používaná technologie typická pro měření u lůžka pacienta (např. stripové metody). V užších definicích se do POCT nezahrnují měření prováděná pacienty v domácích podmínkách na zařízeních běžně dostupných laické veřejnosti (home-care testing). Z hlediska technologického uspořádání rozlišujeme základní 2 typy POCT přístrojů a zařízení:

- 1) Přenosné („handheld“) – např. glukometry
- 2) Stolní („benchtop“) – např. analyzátoři pro měření acidobazické rovnováhy

Benchtop přístroje nejsou většinou přímo umístěné u lůžka pacienta, jak by mohlo vyplynout z úvodní definice, ale na vyhrazeném místě klinického nebo jiného pracoviště, kde se provádí POCT vyšetření.

Místa uplatnění POCT:
domov
pracoviště
rekreační zařízení
lékárna
primární zdravotnické zařízení – obvodní (závodní, rodinný) lékař
diagnostické a léčebné centrum/ odborná abulance
sanitka/helikoptéra
mobilní nemocnice
urgentní příjem/příjmová ambulance
operační sál
jednotky intenzivní péče (pro dospělé a děti, neonatologické, koronární jednotky aj.)
nemocniční pokoj (jednotka)

Tabulka 1: Místa uplatnění POCT

## Výhody POCT

- optimalizace úvodního vyšetření pacienta včetně nasměrování anamnézy
- získání výsledku v době, kdy se lékař (mentálně) nejvíce pacientem zabývá
- zkrácení analytického času
- změna péče v případě časného získání výsledku, možnost větší klinické „agresivity“
- větší uspokojení lékaře
- zlepšení kvality života pacienta

## Nevýhody POCT

- vyšší náklady
- omezená paleta metod
- obtížně prokazatelný klinický efekt
- měření provádí nelaboratorní personál
- obtížně se zajišťuje kvalita výsledků

POCT tvoří nedílnou součást laboratorní diagnostiky a má pevné místo v organizačním uspořádání konsolidované laboratorní medicíny. Jako prvek péče o pacienta se prosadí v každém případě, optimální je však řízený proces zavádění a efektivního využívání POCT.

V budoucnu bude zřejmě POCT technika nejvíce nalézat uplatnění v ordinaci praktického (jiného primárního) lékaře, vzhledem k tomu, že jeho vztah k pacientovi je zde těsný a praktický lékař kromě role určitého

zdravotního edukátora je i zásadním filtrem v rozhodování, zda má být pacient převeden v případě potřeby do péče jiného zdravotnického zařízení nebo specialisty. Tento lékař bude muset v budoucnu provést daleko více laboratorních vyšetření aby:

- vyloučil nekomplikované situace, které dovede řešit sám
- odhalil urgentní situace, které musí řešit klinický specialista
- zpracoval počáteční informace o stavu pacienta, než bude předán do specializované péče
- byl schopen řízeně léčit chronické choroby

A to v případě, kdy nemá dostupný laboratorní servis po dobu 24 hodin, nemůže provést jinak než v rámci POCT. Zcela na opačném pólu stojí problematika zavádění POCT ve velkých zdravotnických lůžkových zařízeních terciálního typu (fakultní a oblastní nemocnice), kde funguje nepřetržitě centrální (nejlépe konsolidovaná) laboratoř. Zde by se zdálo, že POCT technika vzhledem k dostupnosti analýz nemá opodstatnění. Přesto je zde efektivně využívána, protože je schopna zajistit velmi rychle výsledky testů, vždy rychleji, než centrální laboratoř (např. odpadá problém s transportem materiálu, centrifugací, využívá se alternativní materiál atd.).

Rozvoj POCT analyzátorů byl možný až tehdy, kdy do laboratorní medicíny pronikly mikropočesory, stabilní reagentie, iontově selektivní elektrody, biosenzory a jiné. Přednostně se používá k analýze plná krev, moč nebo sliny. Výhodou jsou odběrové systémy, může to být přímo odběrová stříkačka, kapilára nebo dokonce žádný systém, pouze kapka krve přímo nanesená z prstu do přístroje. Většina současných POCT systémů dovede pracovat s objemem menším než 50 ml, u analyzátorů krevních plynů a iontů (kde se najednou analyzuje několik parametrů) je obvyklé množství 100 – 150 ml, čas analýzy je většinou kratší než 10 minut (u iontů a plynů 70 sekund). Přístroje jsou konstruované tak, aby s nimi dovedl pracovat nelaboratorní personál, mají odolné mechanické součásti, přátelský software, reagentie připravené k přímému použití, u většiny z nich jsou součástí systémy automatické kalibrace a kontroly.

## Hlavní oblasti vyšetřování v režimu POCT

- krevní plyny a elektrolyty  
pH, pO<sub>2</sub>, pCO<sub>2</sub>, HCO<sub>3</sub><sup>2-</sup>, K<sup>+</sup>, Na<sup>+</sup>, Ca<sup>2+</sup>, Mg<sup>2+</sup>, Cl<sup>-</sup>, saturace kyslíku, anion gap
- substráty a enzymy  
kreatinin, urea, bilirubin, ALT, AST, ALP, amyláza
- hemoglobin a parametry hemoglobinu  
Hb, HbCO, MetHb, HbSO<sub>2</sub>
- management diabetu  
glukóza, laktát, glykovaný hemoglobin, b-hydroxybutyrát, glykovaný albumin
- kardiální markery  
BNP, NT-pro BNP, myoglobin, TnI, TnT, CK-MB, CRP
- hematologie a koagulace  
hematokrit, FBC/CBC, ACT, PT, PTT, PT-INR, D-dimery
- močová analýza  
esteráza z leukocytů, nitrity, ketony, glukóza, bílkovina, albumin

## Nové trendy POCT

### Toxikologie - zneužívané látky, léky, alkohol

Vzhledem k tomu, že projevy otrav jsou velmi asymptomatické a je třeba rychlý terapeutický zásah, POCT systémy pro analýzu léků, drog a alkoholu nalézají uplatnění v ambulancích urgentních příjmů zdravotnických zařízení, zároveň se uplatňují alternativní, lépe dostupné materiály, jako jsou sliny.

### Techniky molekulové diagnostiky - čipové technologie

S rozvojem molekulové diagnostiky v posledních letech dochází k miniaturizaci molekulových technologií, miniaturizují se termocyklery pro PCR a rozvíjejí se DNA čipy (biočipy). Čipová technologie využívá reakcí protilátek nebo fragmentů DNA (nebo RNA) se specifickými ligandy s následnou velmi citlivou detekcí. POCT aplikace již našly uplatnění především v mikrobiologii (např. diagnostika *Helicobacter pylori*).

### Neinvasivní transkutánní monitorování

Je využíváno především k monitorování homeostázy glukózy, především u novorozenců a diabetiků s častým testováním, kde opakovaná flebotomie a odběr krve je již bolestivá. Technika, která se zdá být nejvíce nadějná, se zakládá na principu transkutánní spektrometrie v oblasti blízkého infračerveného záření. Specifická absorpce dovoluje analyzovat množství glukózy v přítomnosti jiných molekul, krve a tkáně. Jiný příklad neinvasivní POCT technologie je měření saturace hemoglobinu mozkové kůry jako index tkáňové oxygenace.



Technologie neinvazivní bilirubinometrie určená k monitorování novorozeneckého bilirubinu pracuje obecně na principu stanovení rozdílu intenzity odraženého světla od kůže při různých vlnových délkách nebo vybraném spektru vlnových délek. Interferující faktory jako je hemoglobin, melanin nebo různá tloušťka kůže jsou odfiltrovány konstrukcí přístrojové optiky nebo matematickým algoritmem přidruženého software. Přes nesčetné výhody tato technologie nemůže nahradit standardní laboratorní vyšetření sérového bilirubinu, zvláště pak u novorozenců s klinicky závažnou hyperbilirubinemií.

### **Pacientské sebetestování („Self-testing“)**

I když v užších definicích nezahrnujeme testování v domácích podmínkách do oblasti POCT, je oblast „sebetestování“ velmi rozšířená, zvláště u diabetiků a pacientů na antikoagulační léčbě. Zařízení pro tyto testy obvykle používají stejné technologie jako profesionálně používané systémy. Jsou vybavovány softwaerem, který dovede přes telefon nebo internet komunikovat s ošetřujícím lékařem a tak řídit domácí léčbu, kontrolovat stav pacienta, dávkovat léky. Do těchto systémů můžeme zahrnout i obyčejné těhotenské testy a v budoucnu budou zřejmě vyvíjeny rychlé screeningové testy na různé infekční choroby. V současné době jsou na trhu např. rychlé testy pro diagnostiku HIV a hepatitid (ze slin) nebo *Trichomonas vaginalis*.

# Možnosti instrumentální analýzy v klinické biochemii

## Jiří Kukačka, Richard Průša

### Historický vývoj

V začátcích klinicko-chemického vyšetřování biologických materiálů figurovaly především klasické kvantitativní analytické techniky. Jedinými přístroji v klinických laboratořích tak snad byly pH metry, refraktometry, polarimetry nebo jednoduché fotometry. K analýze iontů se používaly plamenové fotometry, rozvíjely se chromatografické techniky k analýze proteinů. Všechny operace vyžadovaly velké množství pipetování a práci s poměrně velkým množstvím materiálu k jednotlivým analýzám. Začátkem 60. let se začaly rozvíjet první multikanálové analyzátoři, v 70. letech byly do těchto analyzátorů integrovány první mikroprocesory, které dovedly převést analytický signál na koncentraci analytu. Koncem 70. let dovedly již některé analyzátoři pomocí jednoduchého protokolu komunikovat s laboratorním informačním systémem. Důležitým momentem bylo zavádění iontově-selektivních elektrod k analýze draslíku a sodíku. Skutečně „zlatou érou“ pro klinickou chemii byla léta osmdesátá minulého století, kdy se začaly objevovat první biochemické analyzátoři pro zpracování většího počtu vzorků. Tyto analyzátoři mohly provádět najednou až 30 různých analýz a operátor je mohl pro jednotlivé vzorky různě nakombinovat. Firma Kodak Ektachem přišla s novou výjimečnou technologií, která je dnes známá pod termínem „suchá chemie“. Podstatou této technologie je reakce analytu ve zkoumaném vzorku za současné difuze skrz několikavrstevný film se zapuštěnými reagensy. Výsledkem je barevná reakce, intenzita zabarvení je úměrná koncentraci analytu a je měřena fotometricky. Koncem 80. let se objevuje trend tzv. decentralizace laboratorního vyšetřování, biochemické analyzátoři se objevují u lůžka pacienta, na operačních sálech, v ordinacích lékařů (tzv. technologie POCT – „point of care testing“).

### Automatické analyzátoři

Právě automatické analyzátoři dovolují vyšetřit velké množství vzorků a provést stovky až tisíce různých analýz za hodinu. Zároveň se díky miniaturizaci snížily objemy biologického materiálu. Automatizovány jsou u analyzátorů především tyto kroky:

- 1) identifikace vzorku a pacienta
- 2) odměření a přidání reagensů
- 3) smísení vzorku a reagensů
- 4) inkubace směsi
- 5) kalibrace metody
- 6) měření výsledného analytického signálu
- 7) záznam, analýza a uložení dat

Automatizace napomohla tomu, že výsledky jsou přesné, srovnatelné a reprodukovatelné. Typy analyzátorů je možno rozdělit podle různých kritérií, základní dělení je na a) průtokové analyzátoři b) diskrétní. V průtokových protékají vzorky jednou reakční celou, v diskrétních má každý vzorek vyhrazenou jednu reakční celou (kyvetu). Analyzátoři je možné také rozdělit podle uspořádání analýzy vzorku.

- 1) sekvenční analýza – stanovení několika analytů je prováděno jedno po druhém tak, jak jsou vkládány vzorky do analyzátoru
- 2) sériová analýza – vzorky jsou vloženy do analyzátoru najednou, pak probíhá stanovení jednoho analytu
- 3) paralelní analýza – více analytů je stanovováno současně
- 4) analýza v libovolném výběru – jakýkoliv test může být zvolen v jakémkoliv pořadí z libovolného vzorku

Běžná spotřeba vzorku v analyzátoru obvykle nepřesahuje 5 ul (rozsah je 1 – 30) a celková spotřeba reagensů nepřesahuje 250 ul (rozsah 80 – 500 ul). Zpravidla jsou metody pro automatické analyzátoři navrženy jako 1 nebo 2 reagenční (ale i vícereagenční). Pro lékaře je užitečné znát technologie používané v laboratoři, kam posílá biologický materiál k vyšetření, a tedy i jeho množství. Pro přehled uvádíme tabulku č. 1 spotřeby séra u některých analyzátorů.

Analyzátor	Spotřeba séra v ul na 10 vyšetření	Mrtvý objem v ul
Integra 400	150	100
Advia 1650	120	80
Vitros 750	110	30
Aerosep	90	50
Hitachi 917	110	60
Synchron LX20	280	60
AU2700	120	50
Centaur	780	50
Architect i2000	525	50
AxSym	1130	50
Immolute 1000	410	100

**Tabulka 1: Srovnání mrtvého objemu a spotřeby séra pro 10 vyšetření u některých biochemických a imunochemických automatických analyzátorů (Biochemický soubor: Na, K, Ca, ALT, AST, bilirubin, celková bílkovina, urea, kreatinin, CRP. Imunochemický soubor: TSH, cTnI)**

## Automatizace v klinické laboratoři

Udržet dnes klinickou laboratoř v takové přístrojové konfiguraci, aby splňovala všechny požadavky, je organizačně a finančně velmi náročné. Laboratorní vyšetřovací technologie prožívají nebývalý rozvoj a při jejich zavádění nebo obnově je nutno zohlednit cenu, čas odezvy vyšetření a jeho klinickou potřebu. Po celá desetiletí pracovaly (a stále ještě většinou pracují) jednotlivé laboratorní obory odděleně a víceméně si pořízují přístroje a technologie jen pro svou potřebu, i když by mohly být využity efektivněji i jinými laboratořemi. Společnosti zabývající se laboratorní instrumentací v posledních letech vyvíjejí a dodávají do laboratoří takové automatické systémy, které v sobě kombinují několik analytických technologií. Na jednom přístroji nebo systému je pak možné stanovovat nejen např. základní metabolický panel, ale také hormony, vitamíny, léky, zneužívané léky atd. Tyto kombinované analyzátoři konstruované jako biochemické a imunochemické velmi rychle nahrazují jiné solitérní přístroje určené jen pro určitý analyt nebo používající jen jednu technologii. S tímto trendem vznikla i idea centralizované laboratoře, kde by se sdružily analytické technologie a strategie do skupiny přístrojů (tzv. konsolidace), společně by byly i systémy preanalytické a postanalytické (tzv. integrace). Každopádně je tento trend nejen ekonomický, ale i šetrný k samotnému pacientovi, vyšetření probíhá z méně odběrových zkumavek, z méně materiálu. Na druhé straně je zřejmé, že vždy v laboratořích zůstanou technologie, metody a přístroje neautomatizované, které potřebují specifický přístup v některé z fází analytického procesu.

Preanalytická fáze laboratorního vyšetřování je často zdoluhavá a zásadním zdrojem chyb. S cílem všechny tyto chyby (převážně vlivem lidského faktoru) minimalizovat byly vyvinuty různé preanalytické moduly, které většinou zvládají tyto funkce preanalytického procesu:

- 1) identifikace materiálu pomocí čárového kódu
- 2) třídění
- 3) transport
- 4) odstředění
- 5) odvíčkování primárních odběrových zkumavek
- 6) alikvotace materiálu
- 7) detekce množství materiálu a zhodnocení jeho integrity
- 8) uchování materiálu (archivace)

Zároveň tyto preanalytické moduly dovedou rozpoznávat několik typu odběrových zkumavek, různých stojánek, čárových kódů a minimalizují vystavení personálu biologickému nebezpečí a snižují opakovaná poranění související s manuálním zpracováním. Preanalytické moduly mohou být integrované k systému biochemických, hematologických nebo imunochemických analyzátorů. Pak se jedná o takzvané automatické laboratorní linky, které jsou určené pro laboratoře s velkým objemem zpracovávaných vzorků. Takovéto linky minimalizují ruční zacházení s biologickým materiálem, zvyšují efektivitu a produktivitu práce laboratoře. Kromě preanalytického modulu a samotných analyzátorů většinou obsahují dopravníkový pás a mechanická robotická ramena zajišťující samotnou manipulaci se vzorky.

Další vývoj směřuje k miniaturizaci laboratorního vyšetření pomocí mikrofluidové a nanochipové technologie.

# Komplexní kazuistika – diabetické koma

## Helena Brodská, Antonín Kazda, Jaromír Křemen

### A. Anamnéza:

25letý muž, přivezen RZP pro komatózní stav s neměřitelně vysokou glykemií. V 18 letech dg. DM 1. typu, léčen inzulinem. Před 3 dny alkoholický abúzus, který trval do dne přijetí, poté ztráta vědomí, nalezen rodiči.

### B. Objektivně:

Bradypnoický, bradykardický, puls hmatný jen na velkých tepnách, v šokovém stavu TK 50/20, silně dehydratovaný, mydriatické zornice. Reaguje postupně algicky na jakoukoli manipulaci, na sakru čerstvý dekubitus. Teplota 25 °C, oteplen během 12 – 18 hod., pak 1x febrilní špička 38 °C, dále bez teploty. Anurický, diuréza se objevuje po 4 hodinách masivní volumoterapie bez medikamentózní forsáže. Při přijetí v komatu, druhý den ráno reaguje na zvuky, večer téhož dne při vědomí, ale dezorientován, 3. den hospitalizace v plnohodnotném kontaktu, 9. den dimise v celkově dobrém stavu.

### C. Laboratorní nález:

viz tabulka

28.1. 2008,	13:00	13:54	16:18	18:16	21:32 29.1.	00:10	3:00	7:00	11:00	13:59	18:34	30.1.7: 00	13:18	4.2. 2008
NÁLEZ č.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
Na	127	139	149	157	162	162	161	161	159	159	157	159	155	133
K	4,8	3,8	4,1	4,2	4,5	4,2	4,1	5,1	4,6	4,9	4,6	4,1		4,8
Cl	87	92	97	106	115	114	114	117	117	116	116	120		102
Ca	2,18	1,85	1,69	1,8	2,17	2,23	2,15	2	1,8	1,7	1,94	1,9		2,2
P	4,06	4,02	2,15	0,8	0,71	1,21	1,36	1,1	0,8	1,1	1	1		1,12
osm			424						371					290
urea	33,9		30,1	27,6	23,6	21,7	21	20,4	18,3	17	13,9	10,1	9,3	5,8
krea	504		328	279	338	316	292	275	240	217	193	161	146	74
KM	1075							1611			875	569	447	
bili	28,5		7,3					24,8				7,5		9,7
ALT	0,53		0,4					1,5			2,21	2,17		1,6
AST	0,42		0,96					6,68			9,7	8,9		0,6
GGT	1,46		0,3					0,66			0,15	0,27		0,8
CK/CKMB	9,6/0,7													
Myo	9868		34144	26457	20867	21888	20662	21815		8643	5498	1591		98
LD	3,8								17,3		18,7	14,8		6,1
CB	68							50				41		60
alb	39							27				20		32
prealb	0,14							0,11				0,07		0,15
CRP								101			109	79		10
PCT	91,8								41,9			22,7		
chol	5,1													3,6
TAG	5,5													3,4
glykemie	107,6	91,7	69,8	49,8	39	29,6	24,7	20	24,6	21	21	5,8	11	15,2
laktat	3,5		3,1					3,72			3,4			2
pH	6,739	6,958	7,111	7,208	7,32	7,381	7,426	7,471			7,44	7,459		
pCO <sub>2</sub>	6,54	5,72	4,6	3,31	3,36	3,35	3,6	3,52			4,8	5,2		
Abc	6,3	9,1	10,5	9,5	12,6	14,6	17,4	19			24,2	27		
ABE	n	-23,7	-18,5	-17,1	-11,6	-8,5	-5	-2,7			0,9	3,8		
pO <sub>2</sub>	9,6	30	30	19,2	18,9	17,9	10,3	12			16	12,5		
SO <sub>2</sub>	84,5	99,6	99,5	98,9	99	98,9	95,6	97,3			98,6	97,5		
ketonurie				silně	pozit.									
troponin I	0,02						0,01							

## D. Diagnostické rozvahy

### Ionty

1. Vyhodnoťte natremii ( $S-Na^+$ ) a dynamiku jejího vývoje. Čím byla tato dynamika výrazně ovlivněna?
2. Vyhodnoťte závislost kalemie ( $S-K^+$ ) na pH, při prvních 4 vyšetřeních, v čem je riziko aktuálního nálezu kalemie?
3. Co zřejmě ovlivnilo snížené hladiny Ca v 8. a 12. nálezu?
4. A co je příčinou hyperfosfatemie v nálezech 1 – 3?

ad 1/ Počáteční hyponatremie souvisí s extrémně vysokou glykemií. Ta zvyšuje efektivní osmolalitu v ECT a vede k přesunu vody z ICT do ECT. Na každé zvýšení glykemie o 5,5 mmol/l nad referenční rozmezí klesne tímto vlivem  $S-Na^+$  o cca 1,5 mmol/l. V našem příkladu by vedla při prvním vyšetření glykemie 107,6 mmol/l k poklesu  $S-Na^+$  o 27 až 28 mmol/l. O tolik proti referenčním hodnotám ale  $S-Na^+$  sníženo není. Byl tedy vyvinut, nezávisle na uvedeném vlivu, již i nepoměr mezi zásobou  $Na^+$  a velikostí ECT ve prospěch  $Na^+$ . To se projevilo v dalším průběhu, kdy se  $S-Na^+$  nejen normalizuje, ale dostává do patologicky zvýšených hodnot. K tomu přispěla zřejmě nejen klesající natremie ale i terapie  $NaHCO_3$ .

ad 2/ Při acidemii se  $S-K^+$  zvyšuje pro uvolnění z fosfátových pufrů, na které se místo  $K^+$  váže  $H^+$ . Na každý pokles pH o 0,1 se  $S-K^+$  zvyšuje o cca 0,6 mmol/l. Při poklesu pH z hodnoty 7,4 na 6,8 by se tedy  $S-K^+$  mohlo z hodnoty 4,4 mmol/l zvýšit o  $6 \times 0,6$  mmol/l, tj. o 3,6 mmol/l, tedy na 8 mmol/l. Jestliže se  $S-K^+$  při extrémním poklesu pH pohybuje v referenčním rozmezí, upozorňuje to na těžký deficit v organismu. Při úpravě pH je nemocný při návratu  $K^+$  do buněk ohrožen vývojem těžké hypokalemie. Také při vyšetřeních č. 3 a 4 jsou hodnoty  $S-K^+$  stále nižší, než odpovídá uvedené relaci s pH.

ad 3/ Pokles kalcemie, zjištěný při vyšetřeních č. 8 a 12 souvisí s poklesem albuminemie.

ad 4/ Příčinou hyperfosfatemie je prerenální selhání, nemocný v prvních hodinách po příjmu vůbec nemočil.

### Acidobazická rovnováha (ABR)

1. Jaké metabolické změny ovlivnily ABR nálezy při vyšetření č. 1? Vyhodnoťte vývoj nálezu ABR!
2. Jak se odrazil nálezy těžké MAC při vyšetření č. 1 na hodnotě difference silných iontů (SID) a anion gap (AG)?
3. V nálezech č. 5 – 13 jsou vysoké hodnoty chloridemie ( $S-Cl^-$ ). Představují samostatnou složku ovlivňující ABR, anebo jsou úměrné změnám  $S-Na^+$ ? Jak to zjistíte?
4. Vyhodnoťte všechny parametry, které ovlivňují ABR nálezy ve vyšetření č. 8.
5. Jak si lze vysvětlit nálezy  $PaO_2$ ?

ad 1/ Základním nálezem je těžká metabolická acidóza při dekompenzaci diabetu, oběhovém a prerenálním selhání, hypotermii a hyperlaktatemii. Acidifikačně působí i hyponatremie. pH dále snižuje současná respirační acidóza. Během resuscitace se zlepšuje výkonnost respirační složky, takže se vyvíjí kompenzační hypokapnie a pH se dostává již při vyšetření č. 6 a 7 do referenčního rozmezí, i když deficit bazí ještě není zcela odstraněn.

ad 2/ Při 1. vyšetření je hodnota SID 24,5 mmol/l (referenční rozmezí 37 – 41) a AG 38,5 mmol/l (referenční rozmezí 14 – 18). Obě hodnoty jsou v souhlasu s těžkou metabolickou acidózou.

ad 3/ Hodnoty  $S-Cl^-$  jsou při vyšetřeních č. 5 až 13 vždy zvýšeny. Jejich korekce, tj. výpočet tzv. korigovaných chloridů, přihlížející k současné  $S-Na^+$ , však prokazuje, že jejich zvýšení pouze odpovídá současné hypernatremii. Nepředstavují tedy samostatnou acidifikační položku a nálezy obou iontů představují jediný vliv na ABR, tj. koncentrační alkalózu. Toto hodnocení můžeme získat alternativně také odečtením z grafu vztahu  $S-Na^+ : S-Cl^-$ .

ad 4/ Alkalizuje: hypernatremie a hypoalbuminemie. Acidifikuje: hyperlaktatemie a ustupující renální insuficience.

ad 5/ Zvýšení  $PaO_2$  je způsobeno inhalací směsí plynů s vyšší koncentrací kyslíku.

### Renální funkce

1. Zhodnoťte renální parametry a jejich vývoj.
2. Které biochemické parametry by vám pomohly rozlišit selhání prerenální od renálního?
3. Který další parametr, kromě urey a kreatininu, je v tabulce změněn v souhlasu se zhoršením renálních funkcí? A jaké je, alespoň orientačně, jeho referenční rozmezí?

ad 1/ Vysoké hodnoty kreatininu a urey se při dehydrataci a úpravě oběhu zcela normalizují. Šlo tedy o retenci vyvolanou dočasným zhoršením renálních funkcí.

ad 2/ K diferenciální diagnostice prerenální - renální selhání by přispěly následující parametry:

Parametr	prerenální	renální
U-osm (mmol/l )	>400	<400
U-Na <sup>+</sup> (mmol/l)	<20	>30
Clearance H <sub>2</sub> O	negativní	pozitivní

ad 3/ Kyselina močová. Muži 220 – 420 umol/l.

### Jaterní funkce

1. Zhodnoťte vývoj aminotransferáz, čím mohl být ovlivněn?
2. Jak hodnotíte parametry tukového metabolismu?

ad 1/ Obě aminotransferázy ALT i AST se zvyšují, a to s rozdílnou dynamikou. K elevaci AST dochází dříve, její vyšší hodnota oproti ALT ukazuje na tíži poškození hepatocytu. Současně je uvažováno poškození myocytu - tedy poškození svalů, kde se AST nachází ve vyšší koncentraci než ALT. K poškození jak hepatocytu tak myocytu došlo v tomto případě nejspíše hypoperfuzí a možná současně toxickým účinkem alkoholu. Též může být uvažováno o cytolytickém účinku na myocyty event. hepatocyty při požití drog (negativita toxikologického nálezu znamená nepřítomnost jen známých a analyzovaných drog).

Pozn.: Povšimněte si též hodnot a dynamiky LDH.

ad 2/ Současně dochází ke změnám v lipidovém metabolismu. Oxidace etanolu způsobuje zvýšenou syntézu jaterních triacylglycerolů, pokles oxidace mastných kyselin a snížení aktivity citrátového cyklu. Zvyšuje se esterifikace mastných kyselin a tím se zvyšuje hladina TAG, postupně dochází k jejich ukládání do tkání a vzniká jaterní steatóza až cirhóza. Hladina cholesterolu se může přechodně zvyšovat v rámci zvýšené lipogeneze z acetyl CoA. V tomto případě je třeba o těchto změnách uvažovat v kontextu se základním onemocněním, kde přímo hovoříme o diabetické dyslipidemii. Hypertriacylglycerolemie má také velmi úzký vztah k inzulinorezistenci a je jedním z kritérií úspěšnosti kompenzace diabetu.

### Kardiální soubor

1. Proč došlo k elevaci všech parametrů? A zhodnoťte rozdílnou dynamiku.

ad 1/ Všechny nespecifické, resp.méně specifické kardiomarkery nacházíme zvýšené. A to jak CK, její MB frakci, tak myoglobin. Jediný troponin, nejspecifičtější marker pro myokard, zůstává v normě. V tomto případě to dokládá poškození kosterních svalů, způsobené pravděpodobně hypoperfuzí. Toxický účinek alkoholu, event dalších látek zmíněn již výše. Je však třeba věnovat pozornost výši myoglobinu, při takto rozsáhlé rhabdomyolýze dochází k významnému uvolňování myoglobinu, a jsou tak ohroženy renální funkce, hrozí poškození zejména tubulů. Míru svalového poškození hypoperfuzí dokládá perakutní vznik dekubitu v oblasti sacra. Současně pravděpodobně ze stejných důvodů nalézáme elevaci LDH a již zmíněnou AST.

Pozn.: K elevaci troponinu bez prokazatelného infarktu myokardu by však mohlo dojít srdeční masáží po zástavě srdce anebo toxickým účinkem některých drog.

### Zánětlivé parametry

1. Jaké všechny parametry hodnotíme?
2. Vyhodnoťte dynamiku vývoje pozitivních reaktantů, čím byla nejspíše ovlivněna?
3. V nálezu č. 8 a 12 jsou sníženy hodnoty negativních reaktantů akutní fáze, proč?

ad 1/ Hodnotíme jak pozitivní reaktanty akutní fáze, což je prokalcitonin (PCT) a C-reaktivní protein (CRP), tak negativní reaktanty prealbumin a albumin.

ad 2/ Při přijetí je výrazně zvýšen PCT, přestože nebyl prokázán bakteriální infekt. Toto zvýšení ukazuje tíži stavu a patří do nespecifických elevací PCT např. po těžké hypoperfuzi, po velkém chirurgickém výkonu, u popálenin...k normě se vrací méně ochotně než CRP, odráží jakoby lépe rozsah obranné reakce organismu. CRP se zvyšuje s asi 4 hodinovým zpožděním, a opět se vrací k normě.

ad 3/ V nálezu č. 8 a 12 nalézáme snížení obou reaktantů. Samotný pokles prealbuminu nám referuje spíše o stavu proteosyntézy a o aktuálním nutričním stavu. V souvislosti s elevací pozitivních zánětlivých markerů (CRP, PCT) však ukazuje jeho pokles na rozsah zánětu a tíži stavu. Albumin je marker chronické malnutrice, rychlý pokles v tomto případě je pro nás cenným ukazatelem poškození cévní stěny, vytvoření kapilárního leaku

a úniku albuminu do intersticia. To vše nám dokládá prudké zhoršení celkového stavu. V úvahu je třeba brát také změny způsobené hemokoncentrací, tedy dehydratací, která byla jistě při příjmovém náběru přítomna.

### **Terapie**

1. Co je zásadní v léčbě daného stavu?

2. V jakém rozsahu je nutný správný biochemický monitoring? Kterými parametry byste tabulku doplnily?

ad 1/ Zachování, event. obnova základních životních funkcí. Rehydratace, inzulin, případná úprava pH (až při pH pod 7,0), event. suplementace minerálů, udržení, nastartování diurézy, adekvátní ventilace, prevence vzniku superinfekce.

ad 2/ Rozsah parametrů nutných pro monitoraci tak těžkého stavu je v podstatě uveden na tabulce, co postrádáme, je hodnota magnesemie a obsah iontů v moči, její osmolaritu a množství. Vhodný by byl též výpočet clearance kreatininu. S úpravou stavu se samozřejmě požadavky na rozsah i frekvenci vyšetření snižují.

## Soubor kazuistik

### Jaroslav Masopust, Richard Průša

#### Hyperbilirubinemie u novorozenců

##### Anamnéza:

Děvčátko, porozené v 30. týdnu těhotenství, vážící 1200 g. Matka 21letá, těhotenství probíhalo bez problémů, neužívala žádné léky. Krevní skupina matky O Rh<sup>+</sup>; HBs-antigen negativní, anti HIV protilátky negativní. Porod začal předčasně; vak blan praskl 10 h před porodem; 1. stadium trvalo 8 h, 2. stadium 30 min. Dítě porozeno koncem pánevním v lokální anestézii; nebyly podány léky. Skóre dle Apgarové: 4 za 1 minutu, 8 za 5 min. Dítě potřebovalo orofaryngeální odsávání a řízené dýchání za přetlaku se 40 % O<sub>2</sub> po dobu prvních 2 min. Na oddělení nedonošených dopraveno za 10 min po porodu.

##### Současný stav:

Gestační věk dítěte odhadnut neonatologem na 30 týdnů. Má mírnou tachypneu; nebyla nalezena hepatosplenomegalie; na dolních končetinách četné krevní podlitiny. Za 18 h po porodu dítě viditelně zežloutlo. Puls: 130/min, dechová frekvence: 55/min, teplota v konečníku: 35,8 °C, krevní tlak: 4/2,66 kPa (30/20 torr)

##### Laboratorní vyšetření:

ABR: pH = 7,20; pCO<sub>2</sub> = 4,4 kPa, BE = -10 mmol/l

Krevní obraz: B-Hb = 140 g/l; hematokrit = 0,42; neutrofily = 0,12; retikulocyty = 0,04

Krevní skupina: A Rh<sup>+</sup>, Coombsův test - negativní

##### Biochemické vyšetření:

S-bilirubin (pupečník) = 23,8 umol/l

S-bilirubin (18 h po porodu) = 153 umol/l

B-glukóza: 2,75 mmol/l

RTG vyšetření hrudníku: nepatrný centrální infiltrát

##### Otázka:

1. Které výsledky laboratorních testů jsou i pro nedonošeného novorozence patologické nebo naznačují patologickou poruchu?

##### Odpověď:

Výsledky vyšetření ABR odpovídají klinické situaci (nedonošený novorozenec s nízkou porodní hmotností, s krátce trvajícím asfyxií) nevybočují z běžného nálezu: hypoxická laktátová acidóza v prvních hodinách po porodu, s méně než maximální respirační kompenzací. Ani hodnota B-glukózy nevybočuje z běžné novorozenecké hypoglykemie. Hodnota S-bilirubinu v pupečnickové krvi (23,8 umol/l) je sice pro toto období normální, avšak velmi rychlé zvýšení (za 18 h) na hodnotu 153 umol/l je patologické. Nejde tedy o fyziologickou hyperbilirubinemii novorozenců.

Kritéria patologické hyperbilirubinemie novorozenců (stačí splnění jediné podmínky)

- klinická žloutenka už v prvních 24 hodinách po porodu
- nárůst S-bilirubinu vyšší než 85 umol/l za 24 hod
- převýšení hodnoty S-bilirubinu 220 umol/l (u donošených) nebo 256 umol/l (u nedonošených) kdykoliv
- S-bilirubin konjugovaný vyšší než 25 umol/l
- přetrvávání klinické žloutenky více než 1 týden (u donošených) nebo 2 týdny (u nedonošených)

##### Otázka:

2. Jaké chorobné stavy mohou vyvolat patologickou hyperbilirubinemii u novorozenců a jaké laboratorní testy doporučujete provést, abyste je potvrdili nebo vyloučili?

##### Odpověď:

Patologickou hyperbilirubinemii u novorozenců může způsobit:

- inkompatibilita v Rh nebo ABO systému (určit krevní skupinu v ABO a Rh systému, stanovit protilátky třídy IgG u matky)
- morfologické anomálie erythrocytu (sferocytóza, krevní nátěr a zjištění anomálního tvaru erythrocytů)
- defekt v enzymovém vybavení erythrocytů (orientační test na průkaz glukóza-6-fosfát-dehydrogenázy)



- nebo pyruvátkinázy)
- novorozenecká sepe (perinatální infekce) (nepřímé testy: hladina IgM v séru, CRP, alfa1-kyselý glyko protein; bakteriologické vyšetření: hemokultura, kultivace z moče nebo mozkomíšního moku)
  - rozsáhlé podkožní hematomy
  - porucha funkce jater
  - neonatální hepatitida (průkaz antigenů a protilátek viru hepatitidy B, ev. A, se současným vyšetřením matky)
  - dědičné defekty enzymového systému glukuronyltransferázy (syndrom Criglerův-Najjarův)

**Otázka:**

3. Jaká je příčina patologické hyperbilirubinemie u tohoto novorozence, když další laboratorní vyšetření mělo následující výsledky:

protilátky IgG u matky negativní, Coombsův test negativní  
orientační test na přítomnost glukóza-6-fosfátdehydrogenázy a pyruvátkinázy v erytrocytech - normální nález v krevním nátěru - normální tvar erytrocytů  
B-hemoglobin - 135 g/l; hematokrit = 0,41; B-leukocyty =  $10,6 \times 10^9/l$

**Vyšetření krevního séra:** (22 h po porodu)

S-bilirubin = 210 umol/l  
S-bilirubin konjug. = 19 umol/l  
S-protein = 46 g/l; S-albumin = 21 g/l; S-IgM = 0,090 g/l

**Vyšetření mozkomíšního moku:**

mok čirý, 12 lymfocytů/ul, L-protein = 1,10 g/l; L-glukóza = 2,48 mmol/l

**Bakteriologické vyšetření:**

(krev, moč, likvor) nabráno

**Odpověď:**

- negativní výsledek průkazu IgG protilátek u matky stejně jako negativní Coombsův test vylučují inkompatibilitu v ABO systému
- normální morfologie erytrocytu i přítomnost hlavních erytrocytárních enzymů vylučují sférocytózu a činí enzymový defekt málo pravděpodobný
- nízká hodnota sérového IgM, hodnoty leukocytů činí málo pravděpodobnou perinatální infekci. Přesto materiálu bakteriologické vyšetření nabrán a dítě dostalo preventivně ampicilin (100 mg/kg/den) a kanamycin (15 mg/kg/den).

**Závěr:**

Jde pravděpodobně o hyperbilirubinemii způsobenou rozsáhlými krevními podlitinami na dolních končetinách.

**Otázka:**

4. Jaké nebezpečí skýtá patologická hyperbilirubinemie u novorozenců?

**Odpověď:**

Při přestupu bilirubinu přes hematoencefalickou bariéru (přestoupit může pouze nekonjugovaný bilirubin nenavázaný na albumin) vzniká bilirubinová encefalopatie (jádrový ikterus). Nekonjugovaný bilirubin je totiž prakticky nerozpustný ve vodě, ale dobře se rozpouští ve fosfolipidech bohatě obsažených v mozkové tkáni zvláště v bazálních gangliích. Bilirubin, který se tvoří v retikuloendotelu sleziny, kostní dřeni ev. jater degradací hemu, musí být dopraven do hepatocytu, kde je konjugován s glukuronovou kyselinou na bilirubin glukosiduronát za přítomnosti enzymového systému glukosiduronátransferázy a UDP-D-glukuronové kyseliny. Konjugovaný bilirubin se stává rozpustným ve vodě a jeho molekula má méně rigidní tvar, takže může být snadno vyloučena do žlučových kapilár. Vazba bilirubinu na albumin je nutná pro jeho přenos krevní cirkulací do jaterních sinusoidů. Jedna molekula albuminu je schopna vázat 2 molekuly bilirubinu; jedno vazebné místo má vysokou, druhé nízkou afinitu k bilirubinu. Vazebná místa však nejsou specifická pro bilirubin, ale mohou vázat řadu lipofilních látek, které jsou přenášeny krevní cirkulací albuminem. Jsou to především mastné kyseliny, dále řada léků, takže o vazebná místa albuminu existuje kompetice. Rovněž snížené pH plazmy uvolňuje bilirubin z vazby na albumin.

**Otázka:**

5. Jaké jsou rizikové faktory, které zvyšují nebezpečí bilirubinové encefalopatie a které jsou u tohoto novorozence přítomny?

**Odpověď:**

- Mezi rizikové faktory patří:
- porodní hmotnost pod 1500 g
- hypoproteinemie (S-protein pod 50 g/l; S-albumin pod 35 g/l)
- perinatální hypoxie (a z ní rezultující hypoxická laktátová acidóza a snížení pH krve)
- syndrom respirační tísně
- hypoglykemie a z ní rezultující zvýšení mastných kyselin v plazmě
- hypotermie (pod 35 °C)
- podání lipofilních léků (kompetice o vazebná místa na albumin)
- infekce
- poškození CNS
- mužské pohlaví

U tohoto případu je nutno počítat skoro se všemi vyjmenovanými rizikovými faktory (vyjma mužské pohlaví, syndrom respirační tísně, poškození CNS a infekci).

**Průjmové onemocnění u kojence****Anamnéza:**

Chlapec, 7 týdnů starý, z normálního těhotenství, s porodní hmotností 3,5 kg. Byl kojen do 5 týdnů. Dobře prospíval, stolice v tomto období se matce nezdály abnormální. Po 5 týdnech kojení dítě postupně převedeno na umělou výživu adaptovaným mlékem. Po deseti dnech dítě dostalo gastroenteritidu (pravděpodobně virovou). Za několik dní se však u dítěte objevily vodnaté průjmové stolice a zvracení. Dítě bylo přijato k hospitalizaci.

**Současný stav:**

Kojenec 7 týdnů starý, v dehydrataci středního stupně (suché sliznice, mírně vpadlá přední fontanela, zapadlé oči, kožní turgor téměř normální). Dítě váží 3,7 kg.

**Laboratorní vyšetření:**

- S-protein = 50 g/l
- S-urea = 7,2 mmol/l
- S-Na<sup>+</sup> = 135 mmol/l
- S-K<sup>+</sup> = 3,0 mmol/l
- S-Cl<sup>-</sup> = 93 mmol/l
- Glukóza v moči na glukózooxidázový testovací papírek byla negativní.
- Ve stolici (vodnatá, kópiózní) bylo pH 5,0.

**Další průběh:**

Nasazena infuzní rehydratační terapie. Za 24 hodin byly už tekutiny podávány perorálně. Průjem přestal, tělesná hmotnost stoupla o 0,3 kg. Za 2 dny byla opět podána umělá výživa přípravkem adaptovaného mléka (s obsahem laktózy). Za 24 hodin se dostavily vodnaté průjmové stolice, které se objevovaly po každém krmení. Tato výživa byla proto vysazena a nahrazena jinou, která ve svém složení neobsahuje laktózu, která je nahrazena sacharózou. Počet stolic se upravil na 2 – 3 denně. Měly řidší, ale formovaný vzhled. Dítě přibývalo na váze. Po 4 dnech opět vyzkoušena jedna dávka normální umělé výživy (s laktózou). Nenásledoval ihned průjem, ale dítě bylo neklidné; když dostalo další dávku, vypukl u něho opět vodnatý průjem, pH stolice kleslo pod 5,0.

**Otázky:**

1. Jaká je nejpravděpodobnější příčina vodnatých, kyselých průjmů u tohoto kojence?  
(A) recidiva infekční gastroenteritidy  
(B) vrozený deficit laktázy  
(C) získaný deficit laktázy  
(D) imunoalergická reakce na mléčné proteiny po enteritidě  
(E) deficit sacharázy

**Odpovědi:**

- (A) Nesprávně. Recidiva infekční gastroenteritidy by tak rychle neustoupila se změnou diety.
- (B) Nesprávně. Vrozený deficit laktázy v enzymovém vybavení kartáčového lemu buněk střevní sliznice by se musel projevit hned po narození při kojení mateřským mlékem (obsahuje dosti vysoký podíl laktózy 7 g/100 ml).
- (C) Správně. Šlo o získaný deficit laktázy. Vodnaté průjmy nastaly až po 7 týdnech; předtím kojení probíhalo bez problémů. Pro laktázový deficit svědčí přítomnost laktózy v tekutině ze stolice a v moči.
- (D) Nesprávně. Imunoalergická reakce na proteiny mléka navozená poruchou slizniční bariéry pro větší molekuly (antigeny) po proběhlé infekční enteritidě je sice možná. Projevila by se však po podávání kterékoliv výživy obsahující mléčné proteiny a nemohla by proto ustoupit pouze po vynechání laktózy v dietě. Také by se neprojevovala přítomností laktózy ve stolici nebo moči a nízkým pH ve stolici.
- (E) Nesprávně. Deficit sacharázy by se projevoval průjmy po kterékoliv dietě obsahující sacharózu a nevymizel by vyloučením pouze laktózy.

**Otázka:**

2. Má deficit laktázy u tohoto kojence vztah k virové gastroenteritidě (vysvětlení)?

**Odpověď:**

Ano. Virové částice pronikají do vilózního epitelu sliznice tenkého střeva. Virová invaze je spojena se ztrátou (deskvamací) zralých absorbujících buněk, což navodí proliferační odpověď v obnově střevního epitelu z nediferencovaných buněk spodiny krypt, které neobsahují virové částice. Čerstvě obnovená populace epitelových buněk nemá kompletní vybavení disacharidáz; nejvíce bývá postižena aktivita laktázy.

**Otázka:**

3. Jaký je patobiochemický mechanismus explozivních, vodnatých, kyselých průjmových stolic u deficitu laktázy?

**Odpověď:**

Laktóza přijatá potravou se nemůže pro deficit enzymu laktázy v kartáčovém lemu střevní sliznice vstřebat. Zůstává ve střevním obsahu a dostává se tak do tlustého střeva, kde podléhá bakteriálnímu kvašení. Vznikají menší molekuly jako CO<sub>2</sub>, mléčná kyselina ev. i jiné prchavé mastné kyseliny; pH tekutiny stolice klesá k hodnotě pH = 5 (normálně je 7 – 8). Zvýšená koncentrace nízkomolekulárních látek zvyšuje osmolalitu tekutiny ve střevě; dochází k „nasávání“ vody do lumen střeva (osmotický průjem). Rovněž vstřebávání vody a NaCl ze střeva je omezeno pro inhibici transportního mechanismu.

**Otázka:**

4. Jaké vyšetření se použije pro určení diagnózy získané hypolaktázie ve sliznici střevní?

- (A) pH stolice
- (B) diskrepance mezi Benediktovou zkouškou na redukující cukry a glukózaoxidázovým testem na přítomnost glukózy (v tekutině ze stolice nebo v moči)
- (C) laktózový toleranční test
- (D) stanovení laktátu ve stolici
- (E) stanovení aktivity laktázy v bioptickém vzorku sliznice střevní
- (F) stanovení H<sub>2</sub> ve vydechovaném vzduchu

**Odpovědi:**

Správné jsou všechny varianty (A až F).

(A) Vyšetření pH v tekutině průjmové stolice je u dětí screeningovým vyšetřením. Nález hodnoty pH 5,0 a méně je už průkazný. Je způsoben přítomností mléčné kyseliny vzniklé bakteriálním kvašením laktózy.

(B) Diskrepance mezi pozitivní Benediktovou zkouškou na redukující cukry a negativním výsledkem glukózaoxidázového papírkového testu na glukózu je rovněž nepřímým důkazem přítomnosti laktózy (ve stolici, v moči). Některé přípravky dětské výživy mohou obsahovat laktózu, která rovněž dává pozitivní Benediktovu reakci. Také u novorozenců zejména nedonošených můžeme nalézt v prvních dnech pozitivní laktózu ve stolici. (Enzymové vybavení kartáčového lemu střevní sliznice je osazováno laktázou v rámci disacharidáz, tj. sacharázy, maltázy, izomaltázy - jako poslední, většinou až po indukci syntézy laktázy přítomností laktózy v potravě – mléko).

(C) Laktózový toleranční test (2 g laktózy/kg hmotnosti per os) a sledování glykemie v intervalech za 15, 30, 60 a 90 min má určité úskalí v navození nepříjemné reakce; u dospělých jedinců nemusí být vždy stoprocentně průkazný. Hypoglykemie nebo maximální vzestup jen o 1,1 mmol/l glukózy oproti základní hodnotě je považován za pozitivní.

(D) Stanovení přítomnosti laktátu v tekutině průjmové stolice je přímým průkazem deficitu střevní laktázy.

(E) Průkaz aktivity laktázy v bioptickém vzorku sliznice střevní je nejprůkaznější test.

(F) Stanovení H<sub>2</sub> ve vydechovaném vzduchu po požití laktázy je rovněž užitečným testem zejména

u dospělých jedinců. Za normálních okolností obsah H<sub>2</sub> ve vydechaném vzduchu je zanedbatelný. Výrazně však stoupá u deficitu laktázy. Vzniká bakteriálním kvašením laktózy ve střevě, současně s CO<sub>2</sub> a jinými plyny, které se tak po vstřebání dostanou do krevní cirkulace a tím do plic.

## Pacient s pozitivními „jaterními testy“

Muž 45 roků byl hospitalizován pro operaci inguinální hernie. Ve zdravotním záznamu měl uveden chronický abúzus alkoholu.

### Laboratorní vyšetření:

#### Hematologie:

B-hemoglobin = 130 g/l, MCH = 33 pg/ery  
 MCHC = 31 %, MCV = 105 fl/ery  
 B-leukocyty = 5800/ul; B-trombocyty = 300000/ul  
 Protrombinový čas = 12 s (normální kontrola = 12,1 s)  
 PTT = 38 s

#### Biochemie:

Rutiní vyšetření vykázalo tyto abnormální výsledky:  
 S-albumin = 28 g/l; AST = 1,2 ukat/l; ALP = 5,06 ukat/l; GMT = 2,0 ukat/l

### Otázka:

1. Pro jaké onemocnění svědčí výsledky laboratorních testů u pacienta?

### Odpověď:

Snížení S-albuminu, mírné zvýšení S-AST, zvýšení S-GMT a S-ALP s přihlédnutím k anamnestickým údajům svědčí pro alkoholovou jaterní cirhózu. S touto diagnózou je též kompatibilní zvýšená hodnota MCV (norm. hodn.: do 95 fl).

### Otázka:

2. Které biochemické testy pomáhají diagnostikovat alkoholtoxické poškození jater (chronický alkoholizmus)?

### Odpověď:

Mezi biochemické markery alkoholové hepatopatie patří:

1) vzájemný poměr nitrobuněčných jaterních enzymů vyplavených do plazmy:

AST/ALT  
 GMT/AST  
 GMT/ALP

2) E (erytrocytová) - 5-aminolevulátdehydratáza (5-ALAD)

E-aldehyddehydrogenáza  
 Suma hodnot: 5-ALAD + GMT + MCV

### Interpretace výsledků enzymových indexů

#### AST/ALT

Primárním (a hlavním) místem účinku alkoholu (ale i u jiných toxických substancí nebo hypoxie) na játra je zóna 3 (kolem centrální vény) v jaterním lalůčku. Poměr distribuce AST/ALT je 1,1 v periportální oblasti (zóna 1) a 2,8 v perivenózní oblasti (zóna 3). Dvě třetiny (60 – 70 %) aktivity AST je lokalizováno v mitochondriích (izoenzym m-AST).

Vyplavování m-AST z poškozených jater je mnohem rychlejší než vyplavování GMT (rovněž lokalizovaná v mitochondriích).

#### GMT (GMT/AST); GMT/ALP

V játrech dospělých jedinců je GMT vázána na kanalikulární segment membrány hepatocytu a dále na sinusový segment Disseho prostoru; je též obsažena v epitelu větších žlučovodů. Důležité je nabuzení syntézy GMT při chronickém užívání alkoholu, ale též některých léků.

	Alkoholová			Lékově toxická	
	steatóza	chron. hepatitis	cirhóza	cholestáza	zánět
AST/ALT	0,6	0,86	1,42	0,7	0,7
GMT/AST	3,0	10	3,6	5,2	0,3
GMT/ALP	0,4	1,1	1,0	2,2	0,3

Tabulka 1: Hodnota enzymových indexů u různých forem hepatopatií

### 3) stanovení bezsacharidového transferinu (= transferin deficitní na sacharidy = **CDT**)

Tento test pomáhá rozpoznat chronický abúzus etanolu. Acetaldehyd, který vzniká při biotransformaci etanolu v játrech inhibuje postranlační tvorbu postranního sacharidového řetězce transferinu, a vznikají tak izoformy s menším počtem zbytků koncových sialových kyselin (a-sialo-, monosialo- a disialotransferin namísto tetrapentasialotransferinu).

Při abstinenci se situace normalizuje (návrat k plně sialyzovaným izoformám) do 3 – 4 týdnů (poločas asi 8 dní).

4) Jaterní poalkoholovou cirhózu resp. fibrózu lze odlišit od jiných forem cirhózy pomocí stanovení hyaluronátu nebo lamininu nebo 7S fragmentu triplhelixu kolagenu typu IV, jejichž hodnoty v séru u fibrotického procesu navozeného alkoholem jsou významně vyšší.

V současné době nejlepší vyšetření je stanovení bezsacharidového transferinu – CDT. (Má méně zbytků koncových sialových kyselin v postranním řetězci – disialo- až asialotransferin; normální je tetrasialo- a více).

### Další průběh onemocnění pacienta:

Chirurgický zákrok proběhl bez komplikací a hernie byla úspěšně reparována. Jako anestetikum bylo použito halotanu; pro usnadnění tracheální intubace byl také podán sukcinylcholin hydrochlorid (krátkodobě působící svalové relaxans). Anesteziolog však upozornil operátora, že pacient potřeboval pro anestezii více halotanu, než je tomu obvykle. Také po skončení zákroku (infuze sukcinylcholinu) se neobnovilo spontánní dýchání do 5 minut (jako běžně), ale apnoe trvalo až 90 minut.

### Laboratorní vyšetření:

S-CHS = 18,1 ukat/l (N: 67 – 190)

### Otázka:

3. Jaká byla příčina nízké hodnoty S-CHS u tohoto pacienta?

### Odpověď:

I když u jaterní cirhózy je snižená kapacita jaterní proteosyntézy (u tohoto pacienta pro to svědčí snížení S-albuminu), jejímž projevem je i snížení S-CHS, hlavní příčinou nízké hodnoty je zde pravděpodobně atypická varianta CHS. (U alkoholotoxické hepatopatie bývá spíše zvýšení S-CHS zvláště na počátku).

Tento předpoklad byl potvrzen vyšetřením tzv. dibukainového čísla (procento snížení S-CHS po podání dibukainu), které mělo sníženou hodnotu: 21 % (N: nad 72 %). Pacient se též rozpomněl, že jeho matka „měla problémy s „probuzením“ po gynekologickém chirurgickém zákroku (hysterektomie).

### Patobiochemická poznámka:

Cholinesteráza v séru (v plazmě), která štěpí estery cholinu nebo thiocholinu; nazývá se též pseudocholinesteráza na rozdíl od acetylcholinesterázy (v nervových synapsích, erythrocytech, která štěpí pouze acetylcholin). Bylo identifikováno 11 geneticky podmíněných izoenzymů. Některé varianty jako A (A = atypická) nebo F (inhibovatelná fluoridem), respektive S (němá = silent, s nulovou aktivitou); na rozdíl od běžného U-izoenzymu (U = usual = obvyklý) mají esterolytickou aktivitu inhibovatelnou sukcinylcholinem, který se používá jako myorelaxans při chirurgických zákrocích. To může vést k apnoe při narkóze se současným podáním myorelaxans pro neuromuskulární blok dýchacích svalů. Ohrožení jedinci se poznají vyšetřením tzv. dibukainového nebo fluoridového čísla (poměr inhibovaného enzymu k celkové aktivitě). Normálně je toto číslo vyšší než 65 % (70 %).

### Pacient s bolestmi hlavy a hyperproteinémií

Muž, 68 roků, si stěžoval na zácpu, bolesti hlavy a bolesti za krkem. Byl bledý a měl ztuhlost nad středem hrudní páteře.

Laboratorní nález:

S-Na <sup>+</sup>	135 mmol/l
S-K <sup>+</sup>	3,8 mmol/l
S-Cl <sup>-</sup>	107 mmol/l
P-HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	27 mmol/l
A. G.	4,8 mmol/l
S-urea	25,1 mmol/l
S-kreatinin	205 umol/l
S-kys. močová	525 umol/l

S-Ca	2,96 mmol/l
S-fostát	1,40 mmol/l
S-protein	124 g/l
S-albumin	28 g/l
S-ALP	1,1 ukat/l
S-ALT	0,35 ukat/l
S-bilirubin	7 umol/l

**Otázka:**

1. Které výsledky jsou výrazně patologické a pro co mohou svědčit?

**Odpověď:**

S-urea a S-kreatinin: renální insuficience  
S-Ca: hyperkalcemie (hyperparatyreoidizmus; maligní nádor)  
S-protein: hyperproteinemie: mnohočetný myelom (dehydratace)

**Otázka:**

2. Která diagnóza může vysvětlit předcházející patologický nález?

**Odpověď:**

Mnohočetný myelom. Hyperproteinemie je způsobena zvýšením globulinu, resp. nadprodukcí homogenního imunoglobulinu (M-komponenty). Při dehydrataci by byl zmnožen též albumin. Také hyperkalcemie patří do obrazu mnohočetného myelomu.

Rovněž renální insuficience (zvýšení S-kreatininu a S-urey) je výrazem poškození ledviny (vliv paraproteinemie /paraproteinurie/ a Bence Jonesovy proteinurie na renální tubuly).

**Otázka:**

3. Která vyšetření potvrdí diagnózu mnohočetného myelomu?

**Odpověď:**

(a) průkaz a typizace paraproteinu  
- M-komponenta v ELFO bílkovin (paraprotein)  
- imuno elektroforéza a imunofixace  
- průkaz Bence Jonesovy bílkoviny v moči  
- volné lehké řetězce kappa a lambda v séru

**Poznámka:**

Pro maligní proliferaci B-buněk (jakou je mnohočetný myelom), svědčí množství paraproteinu - IgG nad 30 g/l, IgA nad 20 g/l; Bence Jonesova proteinurie nad 1 g/24 hod; současně je potlačena produkce normálních imunoglobulinů.

(b) v kostní dřeni je více než 10 % plazmatických buněk

(c) na RTG velkých kostí jsou osteolytická ložiska

(d) progresse jednoho klonu imunokompetentních buněk potlačuje jiné systémy krvetvorby (tendence k anemii)

**Pacient s hypoglykemií**

Žena, 22 roků, byla přijata pro opakované záchvaty úzkosti, palpitaci, provázené studeným potem. Tyto záchvaty se objevovaly obvykle 3 – 4 hodiny po jídle.

**Laboratorní vyšetření:**

B-glukóza: 1,6 mmol/l  
P-inzulin: 21 mU/l (N: < 10 mU/l)  
C-peptid: 2,2 pmol/l (N: 0,26 – 0,78)

**Otázka:**

1. Jaká diagnóza by přicházela v úvahu?

**Odpověď:**

- hyperinzulinizmus (inzulinom, hyperplazie B-buněk pankreatu)  
- podávání (abúzus) hypoglykemizujících léků (perorální antidiabetika)

**Otázka:**

2. Jaké jsou hlavní příčiny hypoglykemie vůbec?

**Odpověď:**

- požití léků a drog  
- perorální hypoglykemika

- salicyláty
- alkohol

lačnění (resp. hypoglykemie při lačnění)

- inzulínom
- mnohočetná endokrinní neoplazie

endokrinní poruchy

- hypopituitarizmus
- hypoadrenalizmus
- těžké hepatopatie
- glykogenózy
- extrapankreatické tumory (retroperitoneální fibrom, karcinom nadledvinek, hepatom)

reaktivní hypoglykemie

- postprandiální hypoglykemie (při zvýšeném požití glukózy)
- postgastrektomická
- po požití alkoholu
- časná fáze diabetes mellitus

hypoglykemie novorozenců

- přechodná
- u nedonošených dětí
- děti diabetických matek
- děti matek s těhotensku toxemií
- perinatální anoxie
- chladový stres nebo respirační stres (RDS)
- inkompatibilita v Rh-systému

hypoglykemie kojenců a malých dětí

- přecitlivělost na leucin (proteiny)
- ketózová hypoglykemie
- galaktosemie
- glykogenózy
- dědičná intolerance fruktózy
- idiopatická hypoglykemie

**Otázka:**

3. Jaká je konečná diagnóza?

**Odpověď:**

Zvýšená hladina inzulínu a především zvýšení C-peptidu ukazuje na zvýšenou produkci endogenního inzulínu. Vyšetření zobrazovací technikou nepotvrdilo nádor produkující inzulín. Psychiatrické vyšetření však nakonec prokázalo, že pacientka užívá glibenclamid (derivát sulfonylurey), aby na sebe připoutala pozornost.

**Poznámka:**

Hypoglykemie způsobené zneužíváním léků jsou častější než vzácný inzulínom.

**Pacient s alkoholovou jaterní cirhózou s třesem a hyperventilací**

42letý muž, chronický abúzus alkoholu s jaterní cirhózou. Při přijetí ikterus, třes horních končetin a zrychlené dýchání.

**Laboratorní vyšetření:**

B-pH	7,40	S-bilirubin	710 umol/l
B-pCO <sub>2</sub>	2,93 kPa	S-albumin	25 g/l
B-HCO <sub>3</sub>	13 mmol/l	S-ALT	1,65 ukat/l
B-pO <sub>2</sub>	11,06 kPa	S-ALP	5,2 ukat/l
anion gap	14 mmol/l	P-NH <sub>3</sub>	130 umol/l

**Otázky:**

1. Jaká je diagnóza?
2. O jakou poruchu v ABR se jedná?

**Odpovědi:**

ad 1/ Selhání jaterní funkce pro pokročilou alkohol–toxickou jaterní cirhózu.

ad 2/ Smíšená porucha ABR: kombinovaná metabolická acidóza (nízké B-HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>, ale normální anion gap pro současnou hypoproteinemii, i když je pravděpodobně i hyperlaktátemie (typ B) a dále respirační alkalóza pro hyperventilaci navozenou počínající encefalopatií pro hyperamonemii; k tomu přistupuje metabolická alkalóza (pro sníženou tvorbu urey a tedy i protonů v játrech).

**Pacient se zvýšením aminotransferáz**

Muž, 25 let, učitel, prodělal akutní virovou hepatitidu typu B před 20 měsíci, kdy prodělal kardiologickou operaci (vsazení umělé mitrální chlopně) s transfuzí plazmy (mražené), koncentráty erytrocytů a trombocytů. Pacient poté nebyl schopen běžné rehabilitační léčby, cítil se velmi unavený, neměl chuť k jídlu, měl bolesti a pnutí v epigastriu.

**Současný stav:**

Pacient má zažloutlé skléry, nesnáší větší fyzickou námahu. Játra jsou hmatná 2 cm pod oblouk. Na kůži má pavoučkovité naevi.

**Laboratorní vyšetření:****Hematologie:**

B-hemoglobin	131 g/l
Hematokrit	36 %
Leukocyty	16500/ul
Protrombinový čas	12 s

**Biochemie:**

AST	6,4 ukat/l
ALT	7,8 ukat/l
ALP	3,8 ukat/l
GMT	3,5 ukat/l
CK	2,9 ukat/l
S-bilirubin	75 umol/l, glukuronid z toho 59%
HBsAg:	pozitivní
ELFO proteinů	polyklonální hypergamaglobulinemie, snížení albuminu

**Otázky:**

1. Jaká je nejpravděpodobnější diagnóza?
2. Jaká je prognóza pacientů s aktivní chronickou hepatitidou?
3. Který tumorový marker je vhodné vyšetřovat?

**Odpovědi:**

ad 1/ Chronická aktivní hepatitida po prodělané virové hepatitidě typu B.

Diagnóza potvrzena biopsií jater: periportální nekróza s infiltrací lymfocytů a plazmocytů.

ad 2/ Není dobrá. Ve 20 % bývá přechod do cirhózy; je zvýšené riziko hepatocelulárního karcinomu.

ad 3/  $\alpha_1$ -fetoprotein (hodnoty > 50 mg/l začínají být podezřelé; > 500 mg/l vysoce suspektní stejně jako progresivně stoupající hladina)

**Pacientka s lehkou žloutenkou a lehce zvýšenými aminotransferázami**

19letá úřednice ztrácela chuť k jídlu, měla mírnou nauzeu. Před 10 lety prodělala akutní paranoidní schizofrenii. Od té doby užívá (50mg/den) chlorpromazin.



**Současný stav:**

Lehký ikterus sklér i kůže. Játra hmatná 2 cm pod oblouk. Slezina nehmatná. RTG hrudníku i EKG normální.

**Laboratorní vyšetření:**

ALT	2,4 ukat/l
AST	3,5 ukat/l
ALP	3,4 ukat/l
GMT	5,2 ukat/l
LD	7,1 ukat/l
CK	2,2 ukat/l
S-bilirubin	58 umol/l, konjugovaný: 59 %
Serologické testy na hepatitidu A i B	negativní
P-žlučové kyseliny	výrazné zvýšení
Moč	bilirubin 4+, urobilinogen 2+

**Otázky:**

1. Jaká je nejpravděpodobnější diagnóza?
2. Jaký typ jaterního poškození mohou navodit léky?

**Odpovědi:**

ad 1/ intrahepatální poléková (chlorpromazin) cholestáza

ad 2/

- mikrovezikulární steatózu (tetracyklin, salicyláty)
- makrovezikulární steatózu (etanol, metotrexát, amiodaron)
- centrilobulární nekrózu (tetrachlormetan →  $\text{CCl}_3^+$ ; acetaminofen, brombenzen, rifampin)
- difuzní nebo masivní nekrózu (halotan, izoniazid, toxin Amanita phalloides, a-metyldopa, trinitrotoluen, acetaminofen)
- akutní (chronickou) hepatitidu (a-metyldopa, izoniazid, nitrofurantoin, fenytoin)
- fibrózu/cirhózu (etanol, metotrexát, amiodaron, většina léků navozujících chronickou hepatitidu)
- tvorbu granulomů (sulfonamidy, a-metyldopa, chinidin, fenylbutazon, allopurinol, hydralazin)
- cholestázu (s hepatocelulárním poškozením nebo bez) (anabolické steroidy, chlorpromazin, perorální kontraceptiva, erytromycin, estolát)
- veno-okluzní onemocnění (cytotoxické léky, pyrrolizidin, alkaloidy)
- trombózu portální veny nebo vena hepatica (estrogeny, včetně kontraceptiv, cytotoxické léky)
- peliosis hepatis (anabolika, kontraceptiva)
- adenomy (kontraceptiva)
- hepatocelulární karcinom (vinylchlorid, aflatoxin, thorotrast)
- cholangiokarcinom (thorotrast)
- angiosarkom (vinylchlorid, thorotrast, anorganické sloučeniny As)

**Pacient se zvýšenou CK**

32letý muž se přihlásil do soutěže v amatérském boxu bez tréninku. Během zápasu zjistil, že je fyzicky špatně připraven, byl poražen k.o. ke konci zápasu. Po chvíli přišel k vědomí, byl ihned hospitalizován pro potíže na hrudníku.

**Laboratorní výsledky:** (z odběru cca 3/4 h po k.o.)

CK	4,2 ukat/l
LD	10,4 ukat/l
AST	1,02 ukat/l
ALT	0,85 ukat/l

**Otázky:**

1. Jde o infarkt myokardu?
2. Co je příčinou zvýšení enzymů?

3. Kdy se tyto patologické hodnoty asi vrátí k normálu?

**Odpovědi:**

- ad 1/ Uvedené enzymy se při infarktu myokardu zvýší o něco později.
- ad 2/ Zvýšené enzymy pocházejí s největší pravděpodobností ze svalových pohmožděnin během boxu (+ snad určitá hypoxie při zápasu).
- ad 3/ K normě se enzymy vrátí během 4 dnů.

**Pacient se zduřením varlat**

25letý muž přišel s nálezem vysoké LD = 17,6 ukat/l. Ordinováno vyšetření AFP a b-HCG. Při vyšetření nález tumoru v levé části scrota.  
AFP: normální, b-HCG: zvýšený

**Otázky:**

1. Jaká asi bude diagnóza?
2. Mohlo by jít o benigní onemocnění a proč?
3. Jaké budou při různých diagnózách výsledky AFP a b-HCG?
4. Může být na základě tumorových markerů stanovena diagnóza, jestliže ne, tak proč?

**Odpovědi:**

- ad 1/ Testikulární nádor ze zárodečných buněk (histologické vyšetření ukázalo seminom obsahující syncytiotrofoblastické obří buňky). Po chirurgickém odstranění nádoru se LD i β-HCG vrátily k normě.
- ad 2/ Je třeba uvážit event. „benigní“ onemocnění: cysta, infarkt myokardu, hemolytická onemocnění in vivo (event. in vitro), inefektivní erytropoézu, infarkt ledviny, muskulární dystrofii.
- ad 3/ Jestliže AFP i b-HCG jsou normální a jiná benigní onemocnění jsou vyloučena - přichází v úvahu „čistý“ seminom.  
AFP zvýšený, β-HCG normální - nejspíše embryonální karcinom  
AFP normální, β-HCG zvýšený - seminom obsahující syncytiotrofoblastické buňky nebo choriokarcinom, či kombinace obou  
AFP i β-HCG zvýšené - nejspíše smíšený nádor zárodečné tkáně
- ad 4/ Konečná diagnóza je možná pouze histolog. vyšetřením vzorku tkáně. Tumorové markery samy o sobě pro definitivní diagnózu nestačí; jsou však velmi užitečné pro sledování průběhu onemocnění.

**Pacient s ikterem**

42letý pacient s těžkým ikterem, bolestí v pravém horním kvadrantu břicha, bledý, má horečku a třesavku.

ALP	8,4 ukat/l
cholesterol	7,9 mmol/l
AST	0,64 ukat/l
celk. bilirubin	421 umol/l
konjug. bilirubin	325 umol/l
protrombinový čas	prodloužený, po inj. vitaminu K se upravil

**Otázky:**

1. Co je nejpravděpodobnější příčinou žloutenky u pacienta?
2. Proč je protrombinový čas u pacienta prodloužen?

**Odpovědi:**

- ad 1/ Extrahepatální obstrukce (kámen ve žlučovém vývodu, karcinom hlavy pankreatu nebo možná pooperační striktura, zaklíněný parazit).
- ad 2/ Chybí vitamin K, který je rozpustný v tucích, u nemocného dochází k poruše resorpce ve střevě. Vitamin K je nutný pro syntézu protrombinu v játrech.

**Pacient s nauzeou a žloutenkou**

Přijat pacient s menší ztrátou váhy v poslední době, s nauzeou, zvracením, u kterého se později objevila žloutenka a zvětšená játra.

**Laboratorní výsledky:**

celk. bilirubin	342 umol/l
konjug. bilirubin	171 umol/l
ALP	2,2 ukat/l
AST	12,4 ukat/l
ALT	11,2 ukat/l
albumin	22 g/l
gama-globuliny	23,8 g/l (34% z celkové bílkoviny)

**Otázka:**

Jaká je příčina nemoci pacienta, která vyšetření doplnit?

**Odpověď:**

Půjde zřejmě o hepatocelulární poškození buď pro virovou hepatitis, nebo pro alkoholtoxickou hepatitis nebo pro poškození toxickou noxou (kupř. trichloretylen, toluen, apod.). Diagnózu může osvětlit vyšetřením antigenů a protilátek proti virovým hepatitidám; při trvajících nejasnostech jaterní biopsie.

**Chlapec s častými horečkami**

7letý chlapec má často horečky, neroste.

Během 2 let měl 3x pneumonii, má chronickou bronchitidu, vykašlává husté mukoidní žluté sputum. Ačkoliv má chuť k jídlu, prakticky nepřibývá, má rád slané. Denně mívá až 3 – 4 objemné, hnilobně zapáchající stolice. Matka často po něm čistí záchod pro špinavé okraje, které se tvoří na hranici vodní hladiny. 9letá sestra je zdravá.

**Otázky:**

1. O jakou asi jde nemoc?
2. Které laboratorní testy provést a jaké asi budou výsledky?

**Odpovědi:**

ad 1/ cystická fibróza pankreatu

ad 2/ Stanovení Na<sup>+</sup> a Cl<sup>-</sup> v potu, které jsou silně zvýšené - bývá nad 60 mmol/l (60 – 120); normální hodnoty jsou 4 – 60 mmol/l s průměrem cca 20 mmol/l.

Zvýšené dále budou tuky ve stolici, snížená celková bílkovina a albumin v séru, velmi nízká amyláza, diabetický typ o-GTT, zvýšený protrombinový čas a značně snížená odpověď na sekretinovou stimulaci.

**Pacientka s chronickým průjmem**

26letá žena přišla s bolestmi v břiše, průjmy, ztráta 10 kg během 2 – 3 let. 5 – 6 let má v anamnéze žaludeční obtíže, v dětství průjmy, ale ty se ztratily, když jí bylo 12 let. Nyní má 3 – 5x za den stolici nebo nucení na stolici, ta je řídká a zapáchá.

Je vysoká 155 cm a váží 45 kg. Nikdy nebyla operována. Má snížený turgor kůže, je bledá.

**Laboratorní výsledky:**

Hb	81 g/l	sérové β-karotenoidy	0,9 umol/l
Hematokrit	0,30	tuk ve stolici	22 g/24 h
erytrocyty	4,1 x 10 <sup>9</sup> /l	xylózový test:	
Na <sup>+</sup>	134 mmol/l	U-xylóza	8,2 mmol/5 h
		protrombinový čas	prodloužen

**Otázky:**

1. Jaká diagnóza přichází v úvahu?
2. Etiologie tohoto onemocnění?
3. Co je příčinou abnormálního protrombinového času?
4. Proč je nízký hemoglobin?

**Odpovědi:**

- ad 1/ malabsorpční syndrom
- ad 2/ intestinální malabsorpce charakteristická pro netropickou coeliakální spruce
- ad 3/ špatná absorpce vitamínu K, výsledný nedostatek koagulačních faktorů II., VII., IX. a X.
- ad 4/ nedostatek Fe (hypochromie, mikrocytární anemie) je asi příčinou anemie. Je způsoben malabsorpcí Fe, nedostatečný příjem Fe může být přítěžujícím faktorem.

**Pacient s náhlou příhodou břichu**

38letý muž se dostavil na pohotovost pro těžkou bolest v břicho okolo pupku trvající 6 hodin. Pacient 3x omdlel. Je 15 let alkoholikem (pije rum). Pro akutní alkoholismus byl hospitalizován před 3 měsíci. Při přijetí měl TK 80/40 torr, puls 110/min., 24 dechů/min.

**Laboratorní výsledky:**

AMS	10,6 ukat/l v séru
Na <sup>+</sup>	133 mmol/l
K <sup>+</sup>	3,4 mmol/l
Ca <sup>++</sup>	1,0 mmol/l
urea	14,3 mmol/l
leukocyty	16500/ul
hemoglobin	120 g/l

**Otázky:**

1. O jaké onemocnění jde?
2. Proč je v séru tak nízký vápník?
3. Proč je zvýšená urea?

**Odpovědi:**

- ad 1/ akutní pancreatitis
- ad 2/ Došlo k enzymatickému natrávení tuků a nekróze. Uvolnily se vyšší mastné kyseliny, které vážou Ca<sup>++</sup> na nerozpustná mýdla.
- ad 3/ Došlo k prerenální uremi následkem dehydratace (snížení cirkulujícího objemu, snížení prokrvení ledvin).

**Pacient s bolestmi okolo pupku**

34letý muž přišel s epigastrickými bolestmi, které v menší míře trvaly 2 roky. Před 18 měsíci mu diagnostikovali ulcus duodeni, dostával antacida, měl dietní režim. Později trvalá bolest, 4 – 6x v noci se budil. RTG nález 2,5 cm kráter vředu v první části duodena.

**Laboratorní nálezy:**

Na <sup>+</sup>	138 mmol/l	BAO	21 mmol HCl/1 h
K <sup>+</sup>	3,8 mmol/l	MAO	75 mmol HCl/1 h
Cl <sup>-</sup>	102 mmol/l	sekrece žal. šťávy za 12 h	640 ml
Hb	83 g/l		
erytrocyty	4,8 x 10 <sup>9</sup> /l		
leukocyty	13100/ul		

**Otázky:**

1. O jakou jde pravděpodobně nemoc?
2. Jakým testem potvrdit diagnózu?
3. Proč je nízký hemoglobin a zvýšené leukocyty?

**Odpovědi:**

- ad 1/ Zollinger-Ellisonův syndrom (BAO > 15; MAO > 60)
- ad 2/ plazmatický gastrin, měl by být vysoký
- ad 3/ Nízký hemoglobin je následkem ztráty krve do trávicího traktu, vysoké leukocyty jsou reakcí na stres a ztrátu krve.

## Pacientka s nadváhou a bolestmi v břiše

49letá žena, dlouhá anamnéza tloušťky bez snahy o dietu a redukci váhy. Má bolesti v pánvi. Gynekolog. nález: chron. pánevní zánět. Při poslední návštěvě zvýšený krevní tlak, glykemie nalačno 15,8 mmol/l.

### Otázky:

1. Jakým typem diabetu pravděpodobně pacientka trpí?
2. Co působí zvýšený glukagon?
3. Co je příčinou zvýšeného vylučování urey močí u diabetes mellitus?

### Odpovědi:

ad 1/ NIDDM (DM 2. typu)  
ad 2/ Glukagon usnadňuje glykogenolýzu, tím stoupá krevní glukóza.  
ad 3/ Nedostatek inzulínu vede ke zvýšenému odbourávání bílkovin pro zvýšení glukonogeneze. Zvýšená urea v séru je odrazem zvýšeného katabolizmu aminokyselin.

## Pacientka léčená pro akutní leukemii

3leté děvčátko přijato s diagnózou akutní lymfatická leukemie. Dostala infuze, allopurinol, 2. den terapie vincristin, prednison, metotrexat atd.

Za 5 dní propuštěna domů. Pokračovala v terapii doma (prednison, allopurinol). Za měsíc přidána opět chemoterapie. Pak dostala soor v ústech, nemohla jíst.

### Laboratorní výsledky: (postupně během měsíce)

S-urea (mmol/l)	4,0	5,0	1,3	0,7		
S-kreatinin (umol/l)	62	88	62	62		
S-kys. močová (umol/l)	714	547	238	113	137	184
bílé krvinky/ul	56300	3700	2800	3700		

### Otázky:

1. Jak vysvětlíte vysokou hladinu kyseliny močové (1. vyšetření provedeno po 5 dnech hospitalizace, po propuštění)?
2. Proč byla kys. močová při příštích vyšetřeních již normální?
3. Proč došlo k hladině urey 0,7 mmol/l? Jaká jiná vyšetření potvrdí toto zjištění?

### Odpovědi:

ad 1/ Rozpad bílých krvinek vede ke zvýšenému odbourávání purinových látek. Renální příčina to nebyla, protože urea + kreatinin byly normální.  
ad 2/ Vlivem chemoterapie poklesl počet bílých krvinek a vlivem allopurinolu klesla kys. močová.  
ad 3/ Na základě sníženého příjmu bílkovin (pacientka nejedla - soor i útlum proteosyntézy v játrech). Stanovení celkové bílkoviny a albuminu by mělo přinést nízké hodnoty.

## Pacient v diabetickém komatu

15letá dívka je přivezena v komatu na ARO. Je 7 let diabetička, brala inzulín. Měla už několik záchvatů hypoglykemie a ketoacidózy. V poslední době měla ve škole hodně učení a snad i zanedbala nějaké injekce inzulínu.

### Při vyšetření měla tyto hodnoty:

sérum		krev	
urea	5,8 mmol/l	pH	7,110
kreatinin	122 umol/l	pCO <sub>2</sub>	2,7 kPa
Na <sup>+</sup>	148 mmol/l	pO <sub>2</sub>	12,7 kPa
K <sup>+</sup>	5,8 mmol/l	glykemie	58,3 mmol/l
Cl <sup>-</sup>	87 mmol/l	HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	8 mmol/l
		moč	
laktát	5 mmol/l	ketonurie	3

osmolal.	385 mol/kg	glykosurie	3
vypočt. osm.	346 mmol/l		
A.G.	58,3 mmol/l		

**Otázky:**

1. Jaká je diagnóza?
2. Vypočtete anion gap (AG), co je příčinou vysokého AG?
3. Jaký je význam zvýšené osmolality?
4. Proč jsou chloridy a  $\text{HCO}_3^-$  snižené, jaký je význam „normálního“  $\text{Na}^+$  a zvýšeného  $\text{K}^+$ ?

**Odpovědi:**

- ad 1/ diabetická ketoacidóza (hyperglykemie, acidóza, ketonurie, glykosurie)  
ad 2/  $\text{AG} = \text{Na}^+ + \text{K}^+ - \text{HCO}_3^- - \text{Cl}^- = 58,8 \text{ mmol/l}$

(Příčinou je ketoacidóza, jinými příčinami bývají laktátová acidóza, uremie, intoxikace aj.)

ad 3/ Zvýšená osmolalita séra je ze ztráty vody osmotickou diurézou a z hyperglykemie. U ketoacidózy je to běžné.

ad 4/ Diabetická ketoacidóza je formou MAC, která vede ke snížení  $\text{HCO}_3^-$ . Pacienti dýchají rychle, aby kompenzovali acidózu, a to vede ke snížení  $\text{pCO}_2$  ( $\text{pO}_2$  bývá normální). Hypochloremie nastane vlivem osmotické diurézy. Vysoké  $\text{Na}^+$  je relativní vlivem ztrát vody. Pacient má žízeň, ale obvykle pije tekutiny bez dostatku  $\text{Na}^+$  a dalších elektrolytů. Hladina  $\text{K}^+$  je rovněž relativní. Z celkového tělesného  $\text{K}^+$  je v ECT jen asi 2 – 3 %. Hyperkalemie je zásluhou těžké acidózy a částečně též z osmotické diurézy. (Mnozí pacienti s diabetes mellitus mají ovšem snížené zásoby  $\text{K}^+$ ). Po úpravě stavu je nutné podat  $\text{K}^+$  k prevenci hypokalemie.

**Pacient s náhlou bolestí v břiše**

Muž, 45 let, s anamnézou vředové choroby (duodenální vřed) byl přijat pro krutou bolest v břiše a pro zvracení, které nastaly před 24 hod. Před tím se cítil dobře, ale byl po oslavě s větší konzumací alkoholu (noc předtím). Při přijetí schvácený, těžce dehydratovaný, před přijetím dostal injekci morfinu.

**Laboratorní vyšetření:**

S- $\text{Na}^+$	137 mmol/l
S- $\text{K}^+$	3,7 mmol/l
S- $\text{Cl}^-$	110 mmol/l
p- $\text{HCO}_3^-$	33 mmol/l
S-kreatinin	150 $\mu\text{mol/l}$
S-amyláza	6,2 ukat/l

**Otázka:**

1. Jaká diagnóza může přijít v úvahu ?

**Odpověď:**

Nejpravděpodobnější jsou 2 diagnózy:

- perforovaný duodenální vřed
- akutní pankreatitida

Jen mírné zvýšení S-AMS by spíše svědčilo pro perforovaný duodenální vřed; zvýšení AMS může být projevem dráždění peritonea kolem pankreatu nebo reakce po podání morfinu.

Další průběh: U pacienta byla provedena laparotomie a chirurg diagnostikoval akutní hemoragickou pankreatitidu.

**Otázka:**

2. Jak možno vysvětlit jen mírné zvýšení AMS?

**Odpověď:**

U hemoragické formy akutní pankreatitidy je jen malé zvýšení S-AMS neobvyklé. Vysvětlení by mohlo být následující:

(a) AMS má rychlý poločas eliminace (3 – 6 hod.), takže byla zachycena sestupná fáze; AMS v moči přetrvává déle.

(b) Trombotizace cévního systému zásobujícího pankreas, takže uvolněná AMS zůstává ve slinivce.

(c) Došlo ke kompletní destrukci pankreatu.

## Pacient s hyperkalcemií

Muž, 58 roků, byl na preventivní prohlídce. Biochemické vyšetření přineslo následující výsledky:

S-Na <sup>+</sup>	142 mmol/l
S-K <sup>+</sup>	3,6 mmol/l
S-Cl <sup>-</sup>	110 mmol/l
P-HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	29 mmol/l
P-Ca	2,95 mmol/l
S-fosfát	0,76 mmol/l
S-ALP	1,8 ukat/l
S-albumin	42 g/l
dU-Ca	7,1 mmol/l
RTG	vyšetření neprokázalo abnormality

### Otázka:

Jaké jsou nejčastější příčiny hyperkalcemií?

### Odpověď:

(a) maligní nádorová onemocnění (40 %)  
(b) primární hyperparatyreóza (20 %)  
(c) ostatní: zvýšený příjem a absorpce ze střeva (nadbytek vitamínu D, sarkoidóza), zvýšená resorpce z kostí (imobilizace, tyreotoxikóza), zvýšená zpětná resorpce v renálních tubulech (thiazidová diuretika, familiární hyperkalciurická hyperkalcemie), Addisonova choroba, akromegalie, myxedém, idiopatická hyperkalcemie u kojenců)

## Pacient s dislokací očních čoček, mírnou retardací a se záchvatem křečí

Chlapec, 15 roků, dostal náhle záchvat křečí připomínající „grand-mal“. Lékař našel ochabnutí svalů na levé tváři a na levé horní a dolní končetině, a proto chlapce odeslal k hospitalizaci s diagnózou cerebrovaskulární příhody.

Zde byl podrobněji vyšetřen a v anamnéze zjištěna operace (iridektomie) obou očních čoček pro jejich velkou dislokaci. Chlapec byl mírně mentálně retardován. Tyto údaje vedly k podrobnějšímu vyšetření aminokyselin obsahujících síru. Nálezy potvrdily diagnózu homocystinurie: celkový homocyst(e)in v séru – 965 umol/l (N: < 30), cystein neměřitelný, folát a B<sub>12</sub> normální.

### Otázka:

1. Který enzym je u tohoto onemocnění deficientní a k jakým změnám v metabolismu aminokyselin to vede?

### Odpověď:

U dědičné homocystinurie chybí cystathioninsyntáza ev. cystathionáza. Defekt vede ke zvýšení methioninu a homocysteinu, cystein je naopak nízký. Metabolizace na cystein je přerušena, nahromaděný homocystein je ve zvýšené míře přeměňován za přítomnosti tetrahydrofolátu a vitamínu B<sub>12</sub> na methionin.

### Otázka:

2. Může být způsobena zvýšená hladina homocyst(e)inu a homocystinurie též dietou?

### Odpověď:

Ano, při nedostatku metyltetrahydrofolátu, který vzniká z dihydrofolátu a vitamínu B<sub>12</sub>. Dieta chudá na listovou kyselinu a nedostek vitamínu B<sub>12</sub> to může způsobit.

### Otázka:

3. Zvýšená hladina homocysteinu je rizikovým faktorem. Pro které stavy?

### Odpověď:

Předčasný výskyt aterosklerózy (to může vysvětlovat cerebrovaskulární příhodu u chlapce: tvorba trombu, vznik embolie, poškození cévní stěny). Také zvýšená koncentrace methioninu v mozku vychytává adenosin (vzniká S-adenosylhomocystein). Adenosin potlačuje mozkovou aktivitu a jeho deficience v mozku snižuje práh pro vznik křečí.

## Pacient s renální kolikou

Chlapec, 16 roků, byl hospitalizován pro prudkou bolest v levém boku vystřelující do pubické oblasti. Měl červenohnědou moč a v močovém sedimentu výraznou erytrocyturií, po okyselení moče kyselinou octovou byly v sedimentu nalezeny ploché transparentní hexagonální krystalky. Zobrazovacími technikami nalezeny konkrementy v obou ledvinách.

### Otázky:

1. Jaký močový konkrement zde přichází v úvahu?

### Odpověď:

Hexagonální transparentní krystalky vypadávající v kyselém prostředí z moče jsou typické pro cystin.

2. Jaká porucha (deficience) je podstatou dědičné cystinurie?

### Odpověď:

U cystinurie je deficitní transportní protein, který přenáší dibazické aminokyseliny (cystin, lysin, arginin a ornithin) přes buněčnou membránu buněk proximálního renálního tubulu a buněk sliznice tenkého střeva. Nemožnost zpětné resorpce těchto diaminokyselin z primární moče vede k výrazné cystin-lysin-arginin-ornithinurii. Cystin, který je v moči pod pH 6,5 velmi nerozpustný, vypadává a tvoří konkrementy.

3. Jak lze zabránit nebo alespoň snížit tvorbu cystinových kaménků?

### Odpověď:

Alkalinizací moče, zvýšenou diurézou a dále snížením bílkovin v dietě.

4. Jaký je rozdíl mezi cystinurií a cystinózou ?

### Odpověď:

U těchto dvou syndromů jsou deficitní dva rozdílné transportní systémy pro cystin. U cystinurie jde o transportní protein specifický pro diaminokyseliny, a to v proximálním tubulu a sliznici střevní; u cystinózy je to transportní protein umožňující přenos cystinu přes lysosomální membránu lysosomových váčků do cytosolu. Cystin se tak v lysosomech hromadí, poškozují buňky, tvoří krystaly v některých tkáních a porušuje jejich funkci. Postižené děti umírají na renální selhání obvykle v 6 – 12 letech. U cystinózy není diaminoacidurie.



## Přílohy

### Příloha1: Příklad nálezového listu biochemického vyšetření séra

			Ref. meze
81135	<b>Sodný kation</b> ISE - s ředěním	<b>141</b> [°] mmol/l delta check: změna +4% od 15.10.2008 (136)	137-144
81145	<b>Draselný kation</b> ISE - s ředěním	<b>5.3</b> [°] mmol/l delta check: změna +35% od 15.10.2008 (4.0)	3.9-5.3
81157	<b>Chloridy</b> ISE - s ředěním	<b>103</b> [°] mmol/l delta check: nevýznamný	98-107
81139	<b>Ca celkový</b> Fotometrie s o-kresolftaleinem	<b>2.49</b> [°] mmol/l delta check: nevýznamný	2.05-2.40
81141	<b>Ca++ - norm.</b> ISE	<b>1.29</b> [°] mmol/l	1.16-1.29
81563	<b>Osmolalita</b> Kryoskopie	<b>303</b> [°] mmol/kg delta check: změna +5% od 15.10.2008 (288)	280-301
81147	<b>Alkalická fosfatáza</b> IFCC metoda při 37°C (AMP)	<b>2.07</b> [°] ukat/l	0.88-2.35
81113	<b>AST</b> Modifikovaná IFCC metoda při 37°C	<b>0.70</b> [°] ukat/l	0.16-0.63
81111	<b>ALT</b> Modifikovaná IFCC metoda při 37°C	<b>0.34</b> [°] ukat/l	0.10-0.63
81153	<b>GGT (GMT)</b> IFCC metoda při 37°C	<b>0.93</b> [°] ukat/l	0.15-0.92
81165	<b>Kreatin kináza</b> Metoda při 37°C (NAC)	<b>1.54</b> [°] ukat/l	0.41-2.85
81121	<b>Bilirubin celkový</b> Vanadátová metoda	<b>9.7</b> [°] umol/l	3.0-19.0
81523	<b>Kyselina močová</b> Enzymová metoda s urikázou	<b>105</b> [°] umol/l	208-434
81137	<b>Močovina</b> Enzymatická metoda s ureázou a GDH	<b>3.9</b> [°] mmol/l delta check: změna +54% od 15.10.2008 (2.5)	2.9-8.2
	<b>S-KREA</b>		
81169	<b>Kreatinin</b> Enzymatická kolorimetrická metoda	<b>233</b> [°] umol/l delta check: změna +54% od 15.10.2008 (152)	42-80
	<b>eGFR-krea-(MDRD)</b>	<b>0.29</b> ml/s	
81167	<b>CK-MB</b> Metoda v souladu s IFCC s inhibicí	<b>0.22</b> ukat/l	
81125	<b>Celková bílkovina</b> Biuretová metoda	<b>77.7</b> [°] g/l	62.0-77.0
91153	<b>CRP-HS</b> Imunoturbidimetrie	<b>136.9</b> [°] mg/l	0.0-5.0
97111	<b>Separace séra</b>	<b>1x</b>	

Příloha2: Příklad nálezového listu vyšetření funkce ledvin

**Naměřené hodnoty**

Doba sběru: <b>24:00 hod</b>	Diuresa: <b>5600 ml</b>	Výška: <b>158 cm</b>	Hmotnost: <b>56.4 kg</b>
S-Urea	<b>10.4</b> [ ]* mmol/l	S-Ca	<b>2.40</b> [ ]* mmol/l
S-Kreatinin	<b>113</b> [ ]* umol/l	S-Fosfát anorg.	.....
S-Na+	<b>142</b> [ ]* mmol/l	S-Kyselina močová	<b>512</b> [ ]* umol/l
S-K+	<b>3.6</b> [ ]* mmol/l	S-Osmolalita	.....
S-Chloridy	<b>107</b> [ ]* mmol/l	S-Mg	.....

**Renální eliminace**

Diuresa	<b>0.065</b> [ ]* ml/s	Diuresa korig.	<b>3576.9</b> [ ]* ml/m2*den
dU-Urea	<b>517.4</b> [ ]* mmol	dU-Ca	<b>3.9</b> [ ]* mmol
dU-Kreatinin	<b>11.20</b> [ ]* mmol	dU-Fosfát anorg.	<b>22.4</b> [ ]* mmol
dU-Na+	<b>258</b> [ ]* mmol	dU-Kyselina močová	<b>3.92</b> mmol
dU-K+	<b>95.2</b> [ ]* mmol	dU-Osmolalita	<b>1154</b> [ ]* mmol
dU-Chloridy	<b>274</b> [ ]* mmol	dU-Mg	.....

**Clearance**

Kreatininu:	zjištěná	korigovaná (1.73m2)	odhadnutá (MDRD)
	<b>1.147</b> ml/s	<b>1.268</b> [ ]* ml/s	<b>0.897</b> ml/s
Urey:	zjištěná	korigovaná (1.73m2)	standardní
	<b>0.576</b> ml/s	<b>0.636</b> [ ]* ml/s	<b>0.292</b> ml/s
Kyseliny močové	<b>0.089</b> [ ]* ml/s	K+	<b>0.306</b> [ ]* ml/s
Osmolární	.....	Chloridu	<b>0.030</b> [ ]* ml/s
Na+	<b>0.021</b> [ ]* ml/s	Bezsolutové vody	.....
Ca	<b>0.019</b> [ ]* ml/s	Fosfátu	.....

**Exkreční frakce**

Na+	<b>1.830</b> [ ]* %	Fosfátu	.....
K+	<b>26.681</b> [ ]* %	Osmolární	.....
Ca	<b>1.648</b> [ ]* %	Bezsolutové vody	<b>5.650</b> [ ]* %
Chloridu	<b>2.587</b> [ ]* %	Urey	<b>50.198</b> [ ]* %

**Indexy moč/sérum**

U/S - kreatinin	<b>17.699</b> [ ]*	Tubulární resorpce vody	<b>94.350</b> [ ]* %
U/S - urea	<b>8.885</b> [ ]*	Renální prognostický faktor	.....
U/S - osmolalita	.....		

**Indexy**

U-Na/U-K	<b>2.706</b> [ ]*	U-KM/U-Krea	<b>0.350</b> [ ]*
U-Na*S-Krea/U-Krea	<b>2.599</b> [ ]* mmol/l	U-Mg/U-Krea	.....
S-Urea/S-Krea	<b>92.035</b> [ ]*	U-Ca/U-Mg	.....
U-Ca/U-Krea	<b>0.350</b> [ ]*		

**Další hodnoty**

Odhad minimálního denního příjmu bílkovin	<b>90.1</b>	g/den
S-Kreatinin (max.) výpočtem	<b>101</b>	umol/l
Reciproká hodnota S-Kreatininu	<b>8.8</b>	1/mmol
dU-Krea/kg hmotnosti	<b>199</b> [ ]*	umol/kg
BMI	<b>22.6</b>	kg/m2

Kontroloval (a): .....

## Diagnostická divize společnosti Roche

**Diagnostická divize Roche Group**, je jednou z největších diagnostických společností světa. Patří jí 20 % světového trhu diagnostických prostředků in vitro. Na klíčových výzkumných a výrobních pracovištích na celém světě pracuje více než 25 000 zaměstnanců. Divize je zaměřena na výzkum, vývoj, marketing a servis produktů a na řešení nejenom pro laboratoře, lékaře a pacienty, ale také pro výzkum a průmysl.

Zákazníci na celém světě spoléhají na naše kvalitní výrobky. Jejich neustále se zvyšující požadavky a potřeby nás motivují ke snaze o neustálé zlepšování. Naše výrobky jsou dostupné ve více než 150 zemích všech kontinentů. Dnes se doslova po celém světě věnujeme spolupráci s našimi zákazníky - vědci, lékaři a pacienti - a pomáháme jim naplňovat jejich potřeby a požadavky. Na světě pravděpodobně neexistuje laboratoř, která by nepoužívala některý z našich diagnostických výrobků.

Pro **klinické laboratoře** nabízí diagnostická divize v České republice biochemické a imunochemické analyzátoře řady cobas, Hitachi a Modular. Přístroje různých kapacit a výkonů mohou fungovat samostatně, anebo ve stavebnicovém uspořádání, kdy uživatel definuje potřeby své laboratoře a přístroj je mu sestaven na míru. Testy, které je možné provádět na našich analytických systémech, pomáhají v diagnostickém rozhodovacím procesu lékařům všech odborností.

V segmentu **molekulární diagnostiky** jsou zahrnuty přístroje a reagentie pro rutinní použití v molekulární diagnostice s využitím PCR metody. V současné době jde o automatické analyzátoře cobas Amplicor, AmpliPrep, LightCycler, TaqMan a Ampliscreen. Dále Roche poskytuje a vyvíjí mikroanalytické systémy AmpliChip a jiných metod analýzy genů pro časnou a více specifickou diagnózu nemocí a identifikaci faktorů, které mohou ovlivnit riziko onemocnění, zhoršování nemoci nebo odpověď na léčbu. Všechny PCR testy firmy Roche mají CE certifikát.

Segment **aplikovaných věd** (Roche Applied Science) nabízí reagentie a přístroje pro využití na vědecko - výzkumných pracovištích, v aplikovaném výzkumu či specializovaných laboratořích. Základy přístrojové nabídky tvoří Light Cycler, MagNA Pure LC, MagNA Pure Compact. Pro monitorování procesů probíhajících v buňkách a v jejich kulturách v reálném čase, bez nutnosti používat různé značky, slouží přístroj xCELLigence Sytem. Pro vysokokapacitní rychlé, přesné a ekonomické sekvenování založené na sekvenování syntézou slouží přístroj Genome Sequencer FLX System. Celková nabídka Roche Applied Science obsahuje více než 2000 komponent (reagentií) pro využití jak na výše popsaném přístrojovém vybavení, tak i pro další aplikace v molekulárně genetické laboratoři.

Díky obchodnímu i marketingovému propojení Molekulární diagnostiky a Aplikovaných věd je naše divize schopna nabídnout kompletní přístrojové vybavení a zásobování příslušnými reagentiemi a to bez vytváření vnitřní konkurence.

Segment **tkáňové diagnostiky** je novou součástí firmy od loňského roku. Vyvíjí a vyrábí moderní diagnostické přístroje a reagentie pro automatizované hodnocení patologických tkání pacientů s onkologickými a infekčními nemocemi. Tyto produkty jsou používány v histologických laboratořích nemocnic, národních referenčních laboratořích, lékařských výzkumných centrech a na výzkum a vývoj orientovaných farmaceutických společnostech. Tkáňová diagnostika rozšiřuje diagnostické možnosti lékařů a individualizaci léčby vážně nemocných (personalizovaná medicína).

Pod zkratkou **POCT** se skrývá provádění měření a testů in vitro v místě péče o pacienta diagnostickými přístroji s jednoduchým ovládním. Měření a testy provádějí často pracovníci bez specializovaného laboratorního vzdělání na klinických odděleních jako součást péče o pacienta. POCT zahrnuje používání techniky u lůžka pacienta včetně přenosných analyzátorů, v praktických a odborných ambulancích <http://www.roche-diagnostics.cz/produkty/primarnipece/> nebo techniky vlastněné pacientem <http://www.roche-diagnostics.cz/produkty/sebetestovani/>. POCT v nemocničním prostředí, tzn. u lůžka pacienta, je velmi často využíváno na odděleních intenzivní péče, kde je třeba urychlit rozhodovací proces o dalším postupu v péči o pacienta. Páteřními produkty jsou CoaguChek, Accu-Chek Inform, cobas h 232, přístrojová řada OMNI. Nedílnou součástí nabídky jsou softwarové aplikace a propojení informací v nemocničních systémech, cobas IT 1000,

Prodejní jednotka **Diabetes Care** se zabývá diagnózou a péčí o pacienty s cukrovkou. Nabízí ucelený systém přístrojů Accu-Chek a unikátní systém edukací, osobního školení a péče o jednotlivé pacienty. Základem jejího portfolia jsou osobní přenosné glukometry a inzulinové pumpy.

Nedílnou součástí péče o zákazníky je poskytování služeb logistických, technická péče o analyzátoře, komunikace benefitů našich testů odborné i laické veřejnosti a sofistikovaný systém řízení kvality procesů.