



EVROPSKÁ UNIE
Evropské strukturální a investiční fondy
Operační program Výzkum, vývoj a vzdělávání



Název projektu	Rozvoj vzdělávání na Slezské univerzitě v Opavě
Registrační číslo projektu	CZ.02.2.69/0.0./0.0/16_015/0002400

Klinická biochemie

Distanční studijní text

Stanovská Lenka

Opava 2020



**SLEZSKÁ
UNIVERZITA**
FAKULTA VEŘEJNÝCH
POLITIK V OPAVĚ

Obor: 0512 Biochemie

Klíčová slova: Biochemie

Anotace: Tato studijní opora klinické biochemie byla napsána pro lepší pochopení postavení tohoto oboru mezi ostatními obory v medicínské praxi. Kapitoly prezentují stručně základní biochemické parametry laboratorních stanovení a také základy klinické praxe se snahou o pochopení základních metabolických souvislostí mezi těmito dvěma obory a o správnou interpretaci laboratorních výsledků.

Autor: Stanovská Lenka, Mgr.

OBSAH

ÚVODEM.....	9
RYCHLÝ NÁHLED STUDIJNÍ OPORY.....	10
1 POSTAVENÍ KLINICKÉ BIOCHEMIE MEZI OSTATNÍMI KLINICKÝMI OBORY.....	11
2 PREANALYTICKÁ ČÁST LABORATORNÍHO VYŠETŘENÍ.....	12
2.1 Laboratorní vyšetření.....	13
2.2 Preanalytické vlivy.....	13
2.3 Osoba pacienta.....	14
2.3.1 Faktory neovlivnitelné.....	14
2.3.2 Faktory ovlivnitelné.....	15
2.4 Transport vzorku.....	16
2.5 Uchování vzorku před analýzou.....	16
2.6 Příprava vzorku k analýze.....	16
3 ODBĚR BIOLOGICKÉHO MATERIÁLU.....	18
3.1 Odběr venózní krve.....	19
3.2 Odběr kapilární krve.....	20
3.3 Odběr tepenné krve.....	20
3.4 Odběr nesrážlivé krve a plazmy.....	20
4 LABORATORNÍ DIAGNOSTIKA JATER A ŽLUČOVÝCH CEST.....	22
4.1 Skladba jater.....	23
4.2 Laboratorní testy na funkčnost jater.....	23
4.2.1 Testy na poškození hepatocytů a žlučovodů.....	23
4.2.2 Syntetická činnost jater.....	24
4.2.3 Testy na měření metabolické kapacity jater.....	25
4.2.4 Testy na měření schopnosti jater metabolizovat cizí látky.....	26
4.2.5 testy na přímé stanovení nemoci.....	26
5 LABORATORNÍ DIAGNOSTIKA LEDVIN A MOČOVÝCH CEST.....	29
5.1 Skladba ledvin.....	30
5.2 Způsoby vyšetřování ledvin.....	30
5.2.1 Chemické a mikroskopické vyšetření moče a močového sedimentu.....	31
5.2.2 Vyšetření proteinurie.....	31
5.2.3 Vyšetření poruch funkce ledvin.....	32

5.2.4	Imunologické testy na vyšetření ledvin	33
5.3	Urolitiáza.....	34
6	LABORATORNÍ DIAGNOSTIKA GIT.....	35
6.1	Proces trávení	36
6.2	Vyšetření žaludku.....	36
6.3	Vyšetření slinivky břišní	37
6.4	Testy na malaabsorpci.....	38
6.5	Vyšetření stolice.....	39
7	LABORATORNÍ DIAGNOSTIKA KOSTNÍHO SYSTÉMU	41
7.1	Stavba kosti	42
7.2	Remodelace kosti	42
7.3	Laboratorní markery kostní novotvorby	43
7.4	Laboratorní markery kostní resorpce	44
7.5	Hormony kostního metabolismu	44
8	LABORATORNÍ DIAGNOSTIKA V KARDIOLOGII.....	46
8.1	Laboratorní diagnostika hypertenze	47
8.2	Laboratorní diagnostika aterosklerózy	47
8.3	Laboratorní diagnostika onemocnění myokardu.....	48
8.3.1	Klasické testy	48
8.3.2	Nové testy	49
8.4	Časový nástup laboratorních markerů IM.....	50
9	LABORATORNÍ DIAGNOSTIKA V ONKOLOGII.....	52
9.1	Co je tumorový marker?.....	53
9.2	Vlastnosti tumorového markeru	53
9.3	Použití nádorových markerů	54
9.4	Rozdělení nádorových markerů	54
9.5	Přehled nejpoužívanějších tumor markerů.....	54
10	METABOLISMUS BÍLKOVIN.....	58
10.1	Bílkoviny	59
10.2	Elektroforetické dělení bílkovin	59
10.2.1	Albumin	59
10.2.2	Alfa – 1 globuliny	60
10.2.3	Alfa – 2 globuliny	60

10.2.4	Beta-globuliny.....	61
10.2.5	Gama-globuliny	61
10.3	Reakce akutní fáze.....	62
11	METABOLISMUS LIPIDŮ	63
11.1	Lipidy.....	64
11.2	Lipoproteiny	64
11.3	Rozdělení lipoproteinů	65
11.4	Základní laboratorní parametry lipidového metabolismu	66
11.5	Metabolický syndrom	66
12	METABOLISMUS SACHARIDŮ.....	68
12.1	Hypoglykémie	69
12.2	Hyperglykémie	69
12.3	Diabetes mellitus	69
12.3.1	IDDM.....	69
12.3.2	NIDDM.....	70
12.3.3	Gestační DM	70
12.4	Diagnostika DM	70
12.4.1	OGGT = glukózový toleranční test.....	70
12.4.2	Glykemický profil.....	71
12.4.3	Glykosurie.....	71
12.5	Kompenzace diabetu.....	71
12.6	Komplikace diabetu	73
12.6.1	Stanovení mikroalbuminu	73
12.6.2	AGE-látky	73
13	ENDOKRINNÍ SYSTÉM.....	75
13.1	Hormony, jejich dělení	76
13.2	Hormony hypotalamu	76
13.3	Hormony adenohypofýzy	77
13.4	Hormony neurohypofýzy.....	77
13.5	Hormon epifýzy	77
13.6	Hormony štítné žlázy.....	77
13.7	Hormony kůry nadledvin.....	78
13.8	Pohlavní hormony u mužů.....	78

13.9	Pohlavní hormony u žen	78
13.10	Tkáňové hormony	78
14	METABOLISMUS VODY, IONTŮ A STOPOVÝCH PRVKŮ.....	80
14.1	Metabolismus vody.....	81
14.2	Vodní bilance.....	82
14.3	Sodík.....	82
14.4	Draslík	82
14.5	Chloridy	82
14.6	Stanovení osmolality	83
14.7	Vápník	83
14.8	Hořčík	83
14.9	Fosfor.....	84
14.10	Stopové prvky.....	84
15	VITAMÍNY	86
15.1	Dělení vitamínů	87
15.2	Význam vitamínů	87
15.3	Přehled nejdůležitějších vitamínů.....	87
15.3.1	Vitamín A - retinol.....	87
15.3.2	Vitamín E - tokoferol	88
15.3.3	Vitamín K - menadiol	88
15.3.4	Vitamín D - cholekalciferol, ergokalciferol.....	88
15.3.5	Vitamíny skupiny B	89
15.3.6	Vitamín C – kyselina askorbová.....	90
15.3.7	Vitamín H - biotin.....	91
16	ZÁKLADY ACIDOBAZICKÉ ROVNOVÁHY	92
16.1	Acidobazická rovnováha	93
16.2	Krevní pufry	93
16.3	Poruchy acidobazické rovnováhy	94
16.4	Kompenzace poruch ABR.....	95
16.5	Vyšetření ABR	95
17	LABORATORNÍ DIAGNOSTIKA V TĚHOTENSTVÍ	97
17.1	Fyziologické změny organismu v těhotenství	97
17.2	Diagnostika těhotenství	98

17.3	Změny laboratorních parametrů v těhotenství.....	98
17.4	Screening VVV v I. trimestru.....	99
17.5	Screening VVV v II. trimestru	99
18	LABORATORNÍ DIAGNOSTIKA NUTRIČNÍHO STAVU	101
18.1	Příčiny malnutrice:	102
18.2	Jednoduché hladovění.....	102
18.3	Stresové hladovění.....	102
18.4	Diagnostika malnutrice.....	102
18.4.1	Biochemické parametry	102
18.4.2	Funkční testy.....	103
18.4.3	Antropometrie	103
18.5	Monitoring nutriční podpory – biochemické ukazatele.....	103
18.5.1	Proteinové markery	103
18.5.2	Bilance dusíku.....	104
18.5.3	Sledování iontů	104
18.5.4	Růstový faktor 1 podobný inzulinu.....	104
18.5.5	Vylučování 3-methylhistidinu	104
18.5.6	Mikronutrienty	104
18.5.7	Imunologické markery	105
19	ALERGICKÉ STAVY.....	106
19.1	Alergie	107
19.2	Mediátory alergické reakce	107
19.3	Alergická reakce	107
19.4	Alergický zánět.....	108
19.5	Alergeny	108
19.5.1	Inhalační vnější alergený	108
19.5.2	Inhalační vnitřní alergený	108
19.5.3	Inhalační pracovní alergený	109
19.5.4	Potravinové alergený	109
19.5.5	Alergie vyvolané hmyzem	109
19.5.6	Lékové alergie.....	109
19.5.7	Kožní alergie	109
19.6	Diagnostika alergií.....	110

20	LABORATORNÍ DIAGNOSTIKA V PEDIATRII.....	111
20.1	Odběr krve	112
20.1.1	Odběr ze žíly	112
20.1.2	Odběr z tepny	112
20.1.3	Odběr ze vpichu	112
20.2	Parametry odebraného vzorku	113
20.2.1	Objem vzorku.....	113
20.2.2	Interference	113
20.2.3	Označování vzorku	113
20.2.4	Výběr antikoagulancia	114
20.2.5	Sběr moči	114
20.2.6	Odběr stolice	114
20.2.7	Transport vzorku	114
20.3	Referenční rozmezí.....	114
21	ZÁKLADY INSTRUMENTÁLNÍ ANALÝZY.....	116
21.1	Optické metody.....	117
21.2	Elektrochemické metody	118
21.3	Elektroforetické metody	118
21.4	Fyzikální metody	119
21.5	Izotopové metody	120
21.6	Chromatografické metody	120
21.7	Hmotnostní spektrometrie	120
	LITERATURA	122
	SHRNUTÍ STUDIJNÍ OPORY	123
	PŘEHLED DOSTUPNÝCH IKON.....	124

ÚVODEM

Tento stručný přehled klinické biochemie byl napsán pro lepší pochopení postavení tohoto oboru mezi ostatními obory v medicínské praxi. Je dán důraz nejen na klinicko-biochemické vyšetření jednotlivých orgánů, jsou zde také umístěny kapitoly týkající se analýz plazmatických bílkovin, sacharidů, lipidů a z toho vyplývajících metabolických poruch lidského organismu, ale také na počátek samotného laboratorního procesu, tzn. odběr biologického materiálu a preanalytické vlivy, které mají značný vliv na konečný výsledek laboratorního vyšetření.

Kapitoly prezentují stručně základní parametry laboratorních stanovení a také základy klinické praxe se snahou o pochopení základních metabolických souvislostí mezi těmito dvěma obory a o správnou interpretaci laboratorních výsledků.

RYCHLÝ NÁHLED STUDIJNÍ OPORY

Mou snahou bylo podat stručné informace o možnostech laboratorních analýz jednotlivých kompartmentů lidského organismu, tyto však zdaleka nepostihují celý obsah klinické biochemie, jedná se jen o vybrané kapitoly pojednávající o nejdůležitějších a nejvíce stanovovaných analytech v klinické laboratorní praxi.

Některé kapitoly jsou orgánově specifické, jiné zahrnují metabolismy jednotlivých látek (bílkovin, lipidů, sacharidů, stopových prvků, a jiné), které se týkají celého organismu jako celku. Tato studijní opora zahrnuje nejen část analytickou, ale také část preanalytickou, na kterou je dáván velký důraz z hlediska vlastního stanovení analytu v laboratoři, do této části zahrnujeme odběr biologického materiálu, transport vzorku do laboratoře a zpracování vzorku před vlastní analýzou.

1 POSTAVENÍ KLINICKÉ BIOCHEMIE MEZI OSTATNÍMI KLINICKÝMI OBORY

RYCHLÝ NÁHLED KAPITOLY



Klinická biochemie je specializovaným oborem biochemie, zabývajícím se zkoumáním základních biochemických procesů v lidském organismu, jejich patobiochemií a následně také důsledky těchto procesů a jejich projevy v klinické praxi. Laboratorní stanovení jednotlivých biochemických analytů je dnes již významným pomocníkem lékařů v jejich diagnostice onemocnění pacienta. Tento obor se stále dynamicky rozvíjí v závislosti na nové přístrojové technice a nových informačních technologiích.

Dnes již rutinní stanovení v klinických laboratořích zahrnují základní vyšetření ledvinových a jaterních testů, iontů, bílkovin, lipidových testů, zánětlivých markerů a také markerů nádorového procesu, hormonů, stanovení hladiny glukózy a mnoho dalších důležitých parametrů lidského organismu dnes již pro lékaře nepostradatelných.

CÍLE KAPITOLY



Cílem této kapitoly je pochopit důležitost tohoto klinického oboru, i když není v klinických laboratořích zastoupen jen lékaři, ale hlavně vysokoškolskými pracovníky mnoha jiných oborů, kdy se mnoha lékařská rozhodnutí opírají právě o výsledky laboratorních testů.

KLÍČOVÁ SLOVA KAPITOLY



Klinická biochemie.

2 PREANALYTICKÁ ČÁST LABORATORNÍHO VYŠETŘENÍ



RYCHLÝ NÁHLED KAPITOLY

Preanalytický proces laboratorního vyšetření začíná indikací lékaře na požadované vyšetření. Tyto části, které se odehrávají mimo klinickou laboratoř, mají velký vliv na konečný výsledek vlastního stanovení a je třeba si uvědomit důležitost tohoto počátečního procesu celé laboratorní práce. Podílí se velkou měrou na správnosti laboratorního vyšetření – až 60 % chyb vzniká právě nedodržením stanovených postupů, které se týkají přípravy pacienta k odběru, vlastní odběr biologického materiálu dle požadované indikace, jeho uchovávání a transport z místa odběru do laboratoře a konečnou přípravu vzorku před samotnou analýzou.



CÍLE KAPITOLY

Cílem této kapitoly je si uvědomit důležitost této první fáze laboratorního vyšetření, na kterém se významně podílí také zdravotnický personál mimo klinickou laboratoř. Tímto chci zdůraznit, že na konečném výsledku laboratorního měření se podílí mnoho lidských činitelů, od lékaře a jeho správné indikace, od zdravotní sestry při vlastním odběru až např. po řidiče při transportu vzorku.



ČAS POTŘEBNÝ KE STUDIU

2 hod.



KLÍČOVÁ SLOVA KAPITOLY

Preanalytická část, analytická část, postanalytická část, faktory ovlivnitelné, faktory neovlivnitelné, odběr materiálu, transport materiálu, skladování materiálu.

Předmětem této kapitoly je preanalytická část analýzy vzorku. Je na ni kladen velký důraz proto, že se odehrává převážně mimo klinickou laboratoř a je proto důležité, aby odebírající personál znal požadavky na odebíraný biologický materiál na daná vyšetření indikovaná lékařem a do klinické laboratoře byl transportován správně odebraný materiál.

Preanalytická část se dělí do 5 základních částí, do níž patří osoba pacienta a s ní související faktory ovlivnitelné a neovlivnitelné, odběr vzorku, uchovávání vzorku před analýzou, transport vzorku a příprava vzorku ke zpracování. Probereme zde základní instrukce přípravy pacienta k odběru, správné uchování a požadavky na transport vzorku do klinické laboratoře.

Správné technice odběru vzorku se budeme věnovat v následující kapitole.

2.1 Laboratorní vyšetření

Dělíme na:

- preanalytická část
 - mimo laboratoř
 - v laboratoři
- analytická část (v laboratoři)
- postanalytická část (v laboratoři)

My se zde budeme přednostně zabývat preanalytickými vlivy, předpříprava pacienta, technika správného odběru, transport a uchování vzorku podle potřeby indikovaného vyšetření jsou důležitými parametry následujícího měření v laboratoři.

2.2 Preanalytické vlivy

- odběr pacienta – tomuto tématu se budeme věnovat v kapitole 3.
- osoba pacienta
- transport vzorku
- uchování vzorku před analýzou
- příprava vzorku ke zpracování

2.3 Osoba pacienta

Zde rozdělujeme faktory, které mají vliv na výsledky analýz konkrétního pacienta, na:

- ovlivnitelné
- neovlivnitelné

2.3.1 FAKTORY NEOVLIVNITELNÉ

1. rasa

- u různých ras se můžou vyskytnout různé metabolické pochody, geneticky dán výskyt určitých genů – mohou způsobovat metabolická onemocnění typická pro danou rasu

2. pohlaví

- většinou bývají u mužů u mnoha analytů vyšší hladiny než u žen (př. hodnoty svaluových bílkovin, hodnoty krevního obrazu, rozdíly v pohlavních hormonech,...)

3. věk

- věk hraje významnou roli při interpretaci výsledků – hlavně v dětském věku jsou některé analyty fyziologicky snižené, některé naopak zvýšené (hlavně analyty související s růstem kostní tkáně,...)

4. biologické rytmy

- některé analyty si udržují v organismu určitý chronologický cyklus – denní (hodnota kortisolu,...), měsíční (hodnota pohlavních hormonů u žen, ...) apod.

5. gravidita

- zde můžeme laboratorně změřit produkty placenty, ale také i plodu (hcG, AFP, placentární ALP,...), mění se lipidové testy, vlivem hemodiluce relativně klesají hodnoty bílkovin a hemoglobinu, ...

6. biologický čas stanovovaného parametru

- při analýze musíme počítat i s tímto parametrem rozpadu určitého analytu v periférii

7. stanovení referenčních mezí laboratorních parametrů

- určení dle referenční skupiny zdravých jedinců – procento zdravých jedinců může mít hodnoty i mimo referenční mez

8. probíhající nemoc

- při odběru může mít vliv na výsledky měření také jiná současně probíhající nemoc

2.3.2 FAKTORY OVLIVNITELNÉ

1. Fyzická aktivita

- dochází ke změnám mnoha parametrů – hemokoncentrace – vzestup celkové bílkoviny, hemoglobinu, ...
- vzestup hladin svalových parametrů v periferii – CK, AST, LD, laktát, ...
- metabolické změny – klesá hladina triglyceridů, stoupá hladina HDL – cholesterolu, glukóza na začátku stoupá a pak klesá do vyčerpání glykogenových zásob

2. Léky

- mohou ovlivňovat samotné měření interferencí se stanovovaným analytem, popř. přímo působit na jeho metabolismus v organismu a tím měnit jeho hladinu koncentrace

3. Kouření

- má vliv na určité parametry – zjišťujeme vyšší koncentrace hemoglobinu, fibrinogenu, CEA, kortizolu, naopak nižší hladiny vitamínů C, B12, Ig

4. Operační výkon

- řez svalovou tkání způsobí zvýšení svalových bílkovin a enzymů – CK, AST, LD, myoglobin, ...), podané narkotikum může způsobit hepatotoxicitu – zvýšení jaterních testů, samotný výkon má vliv na zvýšení bílkovin akutní fáze

5. Zevní prostředí

- nadmořská výška nad 3000 m n/m – hypoxie – zvýšení hemoglobinu, hematokritu, CRP, snížení clearance kreatininu, osmolality, ...

6. Psychický stres

- zvýšení koncentrace dřeně a kůry nadledvin, ...

7. Vliv potravy

- většina analytů vyžaduje odběr nalačno (ranní odběr glykémie, ...)
- příjem alkoholu – zvýšení osmolality, jaterních testů, triacylglycerolů
- příjem tekutin má také vliv na koncentraci analytů v periferii

8. Poučení pacienta před odběrem

- existují různé požadavky na preanalytiku požadovaných parametrů, dnes již bývají uvedeny v laboratorních příručkách daných laboratoří vzhledem k používané metodě měření a vzhledem k materiálu, ve kterém se daný analyt stanovuje.

2.4 Transport vzorku

Sledujeme rychlost transportu vzorku do laboratoře vzhledem k stanovovaným analytům (ve většině případů je doporučeno oddělení séra (plazmy) od krvinek do 2 hodin, stanovení draslíku – pouze 1 hodina)

Na delší vzdálenosti je lépe posílat oddělené sérum než celou krev a podle potřeby dodržet transportní podmínky pro daný analyt.

Dnes se již používá uzavřený odběrový systém – omezení kontaminace vzorků, zvýšení bezpečnosti práce s biologickým materiálem.

Nutno udržovat stabilní teplotu při transportu – mráz – k hemolýze vzorku, teplo – inaktivace enzymů.

2.5 Uchování vzorku před analýzou

Většina analytů je stabilních několik dní – tyto informace poskytují laboratorní příručky pro odběry dle daného typu materiálu, které laboratoř používá, a také podle metody stanovení daného parametru.

Vzorky se mají uchovávat v laboratoři při stabilní teplotě – 4°C v uzavřených zkumavkách – kvůli odpařování vzorku.

Alikvoty – zamražené vzorky materiálu, které se budou analyzovat později, než dovozuje stabilita daného analytu ve vzorku při laboratorní teplotě. Většinou se zamrazují na 20 °C.

2.6 Příprava vzorku k analýze

Separace vzorku – správné odstředění – jinak může dojít k mechanické hemolýze vzorku.

Správné označení vzorku pacienta – hlavně pokud je používána sekundární zkumavka k analýze.

SHRNUTÍ KAPITOLY



Na konečný výsledek laboratorního stanovení na vliv mnoho různých činitelů a snahou této části výkladu bylo objasnit jednotlivé části laboratorního procesu a jejich podíl v laboratorní diagnostice. Naší snahou je co nejvíce omezit faktory ovlivnitelné a klást důraz a správnou odběrovou techniku a přípravu pacienta.

KONTROLNÍ OTÁZKA



1. Jaké rozlišujeme preanalytické vlivy u pacienta?
 2. Co patří mezi faktory neovlivnitelné?
 3. Co patří mezi faktory ovlivnitelné?
 4. Co to jsou alikvoty?
-

3 ODBĚR BIOLOGICKÉHO MATERIÁLU



RYCHLÝ NÁHLED KAPITOLY

V této kapitole se budeme zabývat správnou technikou odběru srážlivé a nesrážlivé krve. Je kladen důraz na přípravu samotného odběru, tzn. kontrolu příslušné dokumentace a identifikace pacienta, důležité je také ověření podmínek odběru u pacienta (nalačno), zkontrolovat dostupnost všech potřebných pomůcek k odběru a další pokyny.

Každá klinická laboratoř má své požadavky na odběr daného typu biologického materiálu na potřebné vyšetření indikované lékařem, s těmito požadavky by měl být také odebírající personál seznámen.

Při samotném výkonu odběru je pak nutno dodržovat určité pokyny co se týče polohy pacienta, použité dezinfekce, také respektovat doporučené pořadí odběru z jednoho vpichu a mnohé další instrukce správné techniky odběru.



CÍLE KAPITOLY

Při odběru biologického materiálu kromě vlastní techniky odběru je třeba si osvojit obecné zásady při odběru materiálu, mezi které patří především přesná a jednoznačná identifikace biologického materiálu, je nezbytné vzorek označit dostatečným způsobem tak, aby při transportu a následném zpracování nemohlo dojít k záměně s jiným vzorkem.



ČAS POTŘEBNÝ KE STUDIU

1 hod.



KLÍČOVÁ SLOVA KAPITOLY

Odběr venózní krve, odběr kapilární krve, odběr na koagulační faktory.

Při odběru biologického materiálu a jeho značení dochází nejčastěji k chybám v rámci preanalytické fáze. Při odběru musíme brát v potaz indikaci lékaře, dle toho odebrat vhodný typ biologického materiálu, mít správný odběrový materiál (vhodná stabilizační a protisrážlivá činidla), pacienta správně poučit a připravit a postupovat správnou technikou odběru.

3.1 Odběr venózní krve

Při odběru venózní krve platí určitá pravidla celého postupu přípravy:

- příprava příslušné dokumentace
- ověřit si identifikaci pacienta (pisemné doklady, ústním dotazem)
- ověřit si dostupnost všech pomůcek potřebných pro odběr – všech typů zkumavek potřebných pro analýzu indikovaných vyšetření dle potřeb laboratoře
- ověřit si u pacienta dodržení podmínek odběru (např. nalačno – odběr glukózy)
- zajistit vhodnou polohu dle potřeb pacienta (vsedě, vleže – některé analyty jsou na poloze odběru závislé – ve stoje dochází ke zvýšení celkové bílkoviny, hemoglobinu, hematokritu)
- posouzení žilního systému na rukách – neprovádět odběr na ruce se zavedenou kanylou (podání infuze)
- provedeme dezinfekci kůže – pozor na používaný roztok (použití alkoholového roztoku může vadit při stanovení alkoholu) – musíme nechat pořádně oschnout – pak se již místa vpichu nedotýkat
- provedeme odběr materiálu
- místo vpichu se zakryje i s jehlou, na krytí se jemně zatlačí a pomalým tahem se odstraní jehla ze žíly
- očistíme místo odběru
- krytí ponecháme nejméně 15 minut po odběru, jemně tlačíme
- na žádanku se napíše čas odběru a odešle se materiál do laboratoře – pozor na preanalytické požadavky u jednotlivých odběrů – transport na ledu,

Doporučené pořadí odběrů z jednoho vpichu:

- zkumavka pro hemokultury

- zkumavky bez přísad
- zkumavky pro hemokoagulaci
- ostatní zkumavky s přísadami v pořadí:
 - EDTA
 - citrát
 - heparin
 - oxalát
 - fluorit

3.2 Odběr kapilární krve

Všeobecně platí při odběru kapilární krve provést dezinfekci místa vpichu – pozor na dezinfekční prostředek – možnost hemolýzy, nechat řádně usušit a místa vpichu se již nedotýkat – a také odstranit první kapku při vpichu, mohlo by zde dojít k naředění vzorku tkáňovým mokem

Odběr kapilární krve se nejčastěji provádí na vyšetření glykémie z plné krve – odběr se provádí do standardizované 20 ul kapiláry, bez přítomnosti bublin, kapiláru pak vložit do mikrozkušavky se systémovým roztokem a po uzavření řádně promíchat, správně označený vzorek dopravit do laboratoře.

Provádíme také kapilární odběr na vyšetření krevních plynů – po dezinfekci provedeme punkci, setřeme první kapku, odebereme vzorek – bez bublin (ovlivňují výsledky měření) do kapiláry s protisrážlivou úpravou (heparin), nasadíme první uzávěr, vložíme míchací pilinu, pak vzorek uzavřeme druhým uzávěrem a řádně ho promícháme magnetem, aby nedošlo ke sražení vzorku – co nejrychleji dopravit do laboratoře k analýze.

3.3 Odběr tepenné krve

Odebíráme pro analýzu krevních plynů při nedostatečném periferním prokrvení – bod 3.2. Odběr musí být proveden anaerobně – bez přítomnosti bublin – ovlivnění výsledků.

3.4 Odběr nesrážlivé krve a plazmy

Tyto odběry provádíme pro vyšetření mnoha analytů, mezi nejčastěji měřené patří

- plná krev – ABR, glykémie, ISE – minerály

- z erytrocytů – glykovaný hemoglobin (kap. 12.5.)
- plazma – koagulační faktory – zde je potřeba přesně dodržet předepsaný poměr antikoagulantu a přidané krve – vzorek po odběru promíchat, ale netřepat!

Nyní se již používá uzavřený odběrový systém – vždy přidáváme krev do odběrové zkumavky s daným antikoagulantem, ne naopak!

Musíme si ověřit vhodnost použitého antikoagulačního činidla ke stanovení daného analytu – ten může ovlivňovat složení odebrané krve a ovlivnit tak konečné výsledky měření.

SHRNUTÍ KAPITOLY



Odebírá se krev venózní, arteriální nebo kapilární. Arteriální krev se používá k vyšetření krevních plynů, pro laboratorní diagnostiku se odebírá hlavně venózní krev (získaná venepunkcí), u malých dětí a nedonošenců upřednostňujeme kapilární krev, pokud je to z hlediska stanovení možné.

Z hlediska laboratorní praxe je také výhodné unifikovat odběrové materiály včetně techniky odběru v rámci jednoho zdravotnického zařízení.

KONTROLNÍ OTÁZKA



1. Jak se provádí správný odběr venózní krve?
2. Jaké je pořadí odběrů z jednoho vpichu?
3. Na jaké vyšetření používáme nejčastěji kapilární odběr?
4. Co je důležité při odběru vzorku na analýzu koagulačních faktorů?

4 LABORATORNÍ DIAGNOSTIKA JATER A ŽLUČOVÝCH CEST



RYCHLÝ NÁHLED KAPITOLY

Ve čtvrté kapitole si probereme stručně základní buněčnou stavbu jater a jeho základní stavební jednotku – acinus, také princip enterohepatální cirkulace. Dále se budeme zabývat funkcí jater, do níž náleží i metabolismy základních sloučenin organismu – bílkovin, lipidů i sacharidů.

Laboratorní testy na projevy poškození hepatocytů vychází z měření jaterních enzymů a také z měření poruch funkce jaterních buněk. Tyto se odráží právě v buď v produkci nebo katabolismu daných metabolitů produkovaných játry.

Poslední část je věnována nejčastějším jaterním onemocněním a jejich laboratorní diagnostice.



CÍLE KAPITOLY

Laboratorní vyšetření v hepatologii jsou stálou součástí všech diagnostických postupů, vzhledem k významné metabolické funkci jater. Proto je důležité si osvojit základní laboratorní parametry popisující funkci jater a žlučových cest.



ČAS POTŘEBNÝ KE STUDIU

2 hod.



KLÍČOVÁ SLOVA KAPITOLY

Acinus, enterohepatální oběh, ALT, AST, ALP, GGT, CDT, Albumin, hepatitida, steatóza jater, cirhóza jater.

Játra mají hlavní úlohu v celé řadě životně důležitých pochodů, probíhají v nich základní pochody energetického metabolismu (glukoneogeneze, metabolismus glykogenu, syntéza lipidů a plazmatických proteinů a mnohé další). Další důležitou funkcí je funkce degradační a detoxikační (endogenní látky – bilirubin, steroidní hormony, amoniak, ale také exogenní látky – hlavně léky a jejich metabolity).

4.1 Skladba jater

Základním stavebním kamenem jater je acinus = jaterní lalůček, tvoří asi 60% buněk jaterní tkáně = tvořen hepatocyty, ze zbylých 40% asi 30% jsou Kupfferovy buňky a zbytek tvoří buňky cévních stěn, žlučových a jaterního vaziva (1).

Hepatocyty se také liší svým složením a funkcí podle jejich umístění v jaterním lalůčku, v periportální oblasti (v blízkosti veny portae) mají vyšší aktivitu aminotransferázy, LD, GMT, ALP. Hepatocyty uprostřed lalůčku, v oblasti centrální žíly, mají vysokou aktivitu GMD = glutamátdehydrogenázy. ALP, GMT se také aktivují ve vyšší míře v buňkách žlučových.

Játra jsou velice důležitým orgánem lidského organismu – probíhá zde metabolismus všech důležitých živin – lipidů, sacharidů i proteinů, syntéza bílkovin, likvidace cizorodých látek, léků i vlastních poškozených buněk. Důležitá je funkce likvidace toxických a odpadních látek, které se následně dostanou do primárních žlučových ve žluči, kde pak následně v tenkém střevě mohou být dle potřeby reabsorbovány zpět – enterohepatální oběh – a nebo vylučovány ledvinami z organismu.

4.2 Laboratorní testy na funkčnost jater

1. Testy na poškození hepatocytů a žlučových: ALT, AST, GMT, ALP, ...
2. syntetická činnost jater: ALBUMIN, KOAGULAČNÍ FAKTORY
3. testy na měření metabolické kapacity jater: BILIRUBIN, ŽLUČOVÉ. KYSELNY.
4. testy na měření schopnosti jater metabolizovat cizí látky: LIDOKAIN, ...
5. testy na přímou diagnózu nemoci: testy na HEPATITIDY, Ig, PROTILÁTKY, ...

4.2.1 TESTY NA POŠKOZENÍ HEPATOCYTŮ A ŽLUČOVODŮ

ALT, AST

ALT = alaninaminotransferáza, AST = aspartátamonitranferáza – enzymy katalyzující přenos alfa-aminoskupiny z aspartátu a alaninu na alfa – ketoskupinu kyseliny ketoglutarové.

ALT se nachází primárně jen v játrech v cytosolu buněk, AST se vyskytuje v řadě jiných tkání – srdce, kosterní svaly, mozek, ledviny, je přítomen nejen v cytosolu, ale také v mitochondriích buněk.

V séru jsou oba tyto enzymy závislé na spolupráci s kofaktorem pyridoxal – 5- fosfátem. Aktivita enzymů je závislá na hmotnosti pacienta – u obézních nacházíme v séru vyšší hodnoty.

ALT je specifický enzym pro tento orgán, proto také u většiny jaterních onemocnění platí, že koncentrace ALT je větší než AST, výjimkou je např. alkoholové poškození, kde poměr AST/ALT je větší než 2,0.

ALP

Alkalická fosfatáza je enzym katalyzující hydrolýzu fosfátových esterů za alkalického pH (3). Je lokalizována v plazmatické membráně, není to jeden samostatný enzym, ale skupina izoenzymů, které nazýváme orgánové lokalizace, v které se daný izoenzym nachází: játra, kosti, střevo, placenta, ledviny, leukocyty. Pro svou správnou funkci potřebuje jako kofaktor zinek.

Koncentrace ALP je závislá na věku, do 20 let je vyšší, pak její hladina v periférii klesá a stoupá následně ve starší věku, je ovlivněna také hmotností a kouřením.

Díky mnohoorgánové lokalizaci se jedná o nespecifický enzym, u jaterních onemocnění její zvýšení doprovází cholestatická onemocnění, také chronická jaterní onemocnění (i nádorové procesy).

GGT

Gama-glutamyltransferáza je enzym katalyzující přenos gama-glutamových skupin peptidů na jiné aminokyseliny s výjimkou prolinu (3).

Tento enzym se nachází v membránách mnoha tkání – játra, slinivka břišní, srdce, mozek, ledviny, ..., má nízkou orgánovou specifitu.

Její zvýšení v séru znamená u jaterních onemocnění spíš postižení žlučových cest, stanovuje se v rámci laboratorního screeningu těchto onemocnění společně s ALP, také u chronického alkoholismu, u nejaterních onemocnění se může zvýšit u IM, DM, onemocnění pankreatu, renální insuficienci, ...

4.2.2 SYNTETICKÁ ČINNOST JATER

ALBUMIN

Albumin je nejvíce syntetizovaný protein v játrech – určením jeho koncentrace v séru můžeme lehce odhadnout správnou syntetickou funkci jater. Nevýhodou tohoto labora-

torní-ho parametru je docela dlouhý poločas rozpadu albumin – 19 – 21 dní – není vhodný pro posouzení akutních jaterních selhání. Navíc koncentrace albuminu je závislá nejen na funkci jater, ale také na celkovém stavu pacienta (dostatečný příjem potravy), musíme brát v úvahu i hormonální vlivy.

Snížení albuminu můžeme nalézt u pacientů s alkoholickou jaterní cirhózou, u nefrotického syndromu, při léčbě kortikosteroidy, ...

Zvýšení tohoto proteinu nacházíme u dehydratace pacienta, u terapie diuretiky, ...

PREALBUMIN

Prealbumin je pro hodnocení stavu proteosyntézy jaterními buňkami díky nízkému poločas 1,9 dne výhodnější než albumin.

KOAGULAČNÍ FAKTORY

Játry je produkováno mnoho koagulačních faktorů – faktor I (fibrinogen), faktor II (pro-trombin), faktor V, VII, IX, X. Faktor VII má nejkratší poločas rozpadu, proto se o tomto parametru uvažovalo jako dobrém markeru jaterní syntézy, ale tento faktor je závislý na přítomnosti vitamínu K, přistoupili jsme proto k faktoru V nezávislém na tomto vitamínu.

4.2.3 TESTY NA MĚŘENÍ METABOLICKÉ KAPACITY JATER

BILIRUBIN

Bilirubin je organický anion vznikající v játrech při rozpadu červených krvinek a degradaci hemoglobinu (3).

Při degradaci hemoglobinu dochází po odstranění železitých iontů – vzniká BILIVERDIN – který se následně redukuje na BILIRUBIN.

Bilirubin dělíme na:

- ve vodě rozpustný – konjugovaný bilirubin
- v tucích solubilní – nekonjugovaný bilirubin

Bilirubin se účastní již zmiňovaného enterohepatálního oběhu, jeho hydroderiváty: sterkobilinogen – sterkobilin a urobilinogen – urobilin, se zčásti následně dostávají do moče, část odchází stolicí.

Jeho fyziologická hodnota v séru do 18 umol/l.

Ke zvýšení tohoto parametru dochází u primární biliární cirhózy, akutního jaterního selhání, po operačních výkonech, u septických stavů, ...

AMONIAK

Amoniak je produktem metabolismu aminokyselin, také může sloužit jako marker úrovně syntézy v játrech.

Ke zvýšení tohoto laboratorního parametru dochází ve fázi jaterní insuficience, ale také se zvyšuje i u nejjaterních chorob – může být způsobeno krvácením do GITu, podáním krevní transfúze, u akutních leukémií,

ŽLUČOVÉ KYSELINY

Tyto kyseliny jsou syntetizovány z cholesterolu v játrech. V laboratorním screeningu jaterních funkcí se dají použít k hodnocení exkretční schopnosti jater a samozřejmě k různým metabolickým defektům odbourávání žlučových kyselin.

4.2.4 TESTY NA MĚŘENÍ SCHOPNOSTI JATER METABOLIZOVAT CIZÍ LÁTKY

Látky, které zde používáme ke stanovení této funkce, musí splňovat dvě základní podmínky:

- musí být netoxické
- musí být metabolizovány pouze játry

Můžeme použít antipyrinový nebo aminopyrinový dechový test, z látek používaných jsou nejznámější: galaktózy, lidokain, indocyaninová zeleň, ...

Zde bych se chtěla zmínit ještě o jedné parametru stanovení – CDT = bezsacharidový transferin – poukazuje na pravidelný příjem alkoholu, zajímavostí je, že není dostatečně citlivým markerem u žen.

4.2.5 TESTY NA PŘÍMÉ STANOVENÍ NEMOCI

HEPATITIDA

- hepatitida A: protilátky a-HAV IgM, IgG
- hepatitida B: povrchový antigen viru hepatitid B – HbsAg a protilátky proti core antigenu a-HBc IgM, IgG, a-HBs: očkování, trvalá imunita, HBV-DNA: PCR
- hepatitida C: a-HCV, HCV-RNA: PCR
- hepatitida D: pouze v případě pozitivní hepatitidy B, a-HDV
- hepatitida E: a-HEV IgM

AUTOIMUNITNÍ HEPATITIDY

Podle pozitivitu vyšetřených protilátek dělíme tyto hepatitidy na typ I, II, III.

Základní protilátky v jaterním screeningu:

- ANA – protilátky proti buněčným jádrům
- AMA – proti mitochondriím
- LKM – proti jaterním a ledvinovým mikrosomům
- cANCA – cytoplazmatické protilátky
- pANCA – protilátky proti cytoplazmě neutrofilů
- AAA – proti aktinu
- ASMA – proti hladkému svalu
- dsDNA – proti dvouvláknové DNA
- protilátky proti aktinu

NÁDOROVÉ ONEMOCNĚNÍ

Základní laboratorní screening: základní jaterní enzymy, AFP – tumor marker, testy na posouzení funkčnosti jater

STEATÓZA JATER

= ztučnění jater, vyšetřujeme základní jaterní enzymy – lehce zvýšeny

CIRHÓZA JATER

Vyšetřujeme základní screening, hladinu bilirubinu konjugovaného a nekonjugovaného, u mužů marker abusu alkoholu – CDT.

SHRNUTÍ KAPITOLY



V rámci této kapitoly jsme se seznámili se skladbou jater, složením jaterního lalůčku, významem enterohepatálního oběhu a také s jednotlivými laboratorními testy na funkčnost jater, testy na poškození hepatocytů, na posouzení syntetické činnosti jater, na metabolickou kapacitu, na degradační a detoxikační schopnost a s nejčastějším typem poškození jaterních buněk.



KONTROLNÍ OTÁZKA

1. Jaké jsou hlavní funkce jater?
 2. Rozdělení jaterních laboratorních testů dle funkčnosti jater?
 3. Co je vyšetření CDT?
 4. Diagnostika nejčastějších jaterních onemocnění?
-

5 LABORATORNÍ DIAGNOSTIKA LEDVIN A MOČOVÝCH CEST

RYCHLÝ NÁHLED KAPITOLY



Ledviny jsou retroperitoneálně uložený párový orgán. V lidském organismu zastávají mnoho funkcí, od udržování stabilního objemu extracelulární tekutiny a složení vnitřního prostředí, produkují některé hormony (kalcitriol, erythropoetin), podílejí se také na degradaci proteinových hormonů (parathormonu, inzulinu,...) a hrají svoji úlohu v intermediárním metabolismu (např. glukoneogenezi).

CÍLE KAPITOLY



V této kapitole si vysvětlíme funkce ledvin, základem je udržování homeostázy organismu, vylučování odpadních a toxických látek, plní také metabolickou funkci – produkují biologicky aktivní látky. Všechny tyto funkce se odráží ve tvorbě a složení moči dle potřeb organismu.

V další části této kapitoly si vysvětlíme složení základní stavební jednotky – nefronu, její tubulární a glomerulární části.

Mezi laboratorní testy na vyšetření ledvin patří pojem glomerulární filtrace a tubulární resorpce a jejich výpočet v laboratorní praxi, samozřejmě také chemická a mikroskopická analýza moči a vyšetření mnoha jiných metabolitů odbourávajících se z organismu ledvinovou cestou.

ČAS POTŘEBNÝ KE STUDIU



2 hod.



KLÍČOVÁ SLOVA KAPITOLY

Nefron, glomerulus, tubulus, proteinurie, glomerulární filtrace, tubulární resorpce, urolitiáza, screening protilátek.

Ledvina se skládá z přibližně i milionu funkčních jednotek – nefron. Ledvinami protéká asi 20 % srdečního výdeje, tento velký průtok je důležitý hlavně pro zajištění očišťovací funkce ledvin.

5.1 Skladba ledvin

Ledviny jsou párový orgán, jejich hlavní funkce v organismu jsou:

- udržování stability a složení vnitřního prostředí
- produkce biologicky aktivních látek (EPO, kalcitriol, ...)
- zasahují do intermediárního metabolismu (glukoneogeneze)
- vylučování odpadních látek – toxických, nepotřebných (urea, kyselina močová, kreatinin, metabolity hormonů – inzulin, PTH, ...)

Základní stavební jednotkou ledviny je nefron. Skládá se:

- glomerulus (systém kapilár – jeho funkce je ultrafiltrace plazmy)
- tubuly – vícero částí: proximální tubulus, Henleova klička, distální tubulus, kortikální a medulární sběrný kanálek – zde dochází ke koncentraci primární moči přicházející z glomerulu – dochází zde ke zpětné resorpci živin – vzniká definitivní moč – tato tubulární sekrece a resorpce se mění podle potřeby organismu, podle složení vnitřního prostředí.

5.2 Způsoby vyšetřování ledvin

- chemické a mikroskopické vyšetření moči a močového sedimentu
- vyšetření proteinurie
- vyšetření poruch funkce ledvin
- imunologická vyšetření ledvin
- zobrazovací metody – fyzikální metody

- renální biopsie – invazivní metoda, odebereme vzorek parenchymu ledviny za účelem určení diagnózy onemocnění

5.2.1 CHEMICKÉ A MIKROSKOPICKÉ VYŠETŘENÍ MOČE A MOČOVÉHO SEDIMENTU

K chemické analýze moči se používají diagnostické proužky s různým počtem poskytujících testů k analýze, standardně měříme pH, proteinurii, hematurii, glukózu, přítomnost ketolátek, urobilinogen, bilirubin, některé navíc i nitrity, leukocyty a určení hustoty moči.

Při tomto stanovení je třeba dodržovat správný postup analýzy:

- diagnostický proužek ponoříme do moči a hned vytáhneme, aby nedošlo k vymytí reagensů
- položíme jej na rovnou plochu, aby nedošlo ke vzájemné kontaminaci jednotlivých políček
- při odečtu vycházíme s přiloženou škálou zbarvení od výrobce – dnes již existují poloautomaty i automaty na vyhodnocení

Při mikroskopické analýze močového sedimentu hledáme buněčné elementy: erythrocyty, leukocyty, tubulární buňky, válce různých typů, krystaly, bakterie – každý tento nálezný může napomoci lékaři k určení diagnózy onemocnění.

5.2.2 VYŠETŘENÍ PROTEINURIE

Pojem proteinurie znamená přítomnost bílkoviny v moči, zdravým glomerulem fyziologicky prochází do moče malé množství proteinů o malé molekulové hmotnosti.

Proteinurii dělíme:

funkční – u zdravých osob po větší námaze, cvičení, při stresu, může být i tzv. ortostatická proteinurie: poloha pacienta ve stoje způsobuje pozitivní nálezný

prerenální – příčina je ve zvýšení plazmatické koncentrace nízkomolekulárních látek bílkovinné povahy – např. lehké řetězce Ig = Bence – Jonesova bílkovina, myoglobin, hemoglobin, ...

renální = glomerulární – zde již je příčinou onemocnění ledvin, dělíme:

1. selektivní – ztráta negativního náboje glomerulární membrány – pronikají bílkoviny do molekulové hmotnosti do 100 000 a se záporným nábojem – albumin, transferrin

2. neselektivní – těžší poškození glomerulární membrány – pronikají látky o mnohem větší molekulové hmotnosti – IgG,...

tubulární – vzniká porušenou resorpcí nízkomolekulárních látek v proximálním tubulu, které prošly zdravým glomerulem – proteinurie je zde malá – do 1 g/den, přítomnost malých molekul – beta-2-mikroglobulin, ...

postrenální – způsobena sekrecí bílkovin do moči ve vývodných močových cestách, nacházíme zde zvýšené hodnoty alfa-2-makroglobulinu a IgM.

5.2.3 VYŠETŘENÍ PORUCH FUNKCE LEDVIN

GLOMERULÁRNÍ FUNKCE

Velikost glomerulární filtrace je dána:

- filtračním tlakem
- permeabilitou glomerulární membrány
- velikostí filtrační plochy

Pro výpočet této hodnoty potřebujeme látku, která nepodléhá glomerulární filtraci ani tubulární resorpci a sekreci – $T = 0$.

Výpočet glomerulární filtrace

$$GF \cdot P \pm T = U \cdot V \quad (5-1)$$

GF množství glomerulárního filtrátu v ml/s

P koncentrace látky v plazmě, v séru

T množství látky secernované (+T) nebo resorbované (-T) v tubulech, nejlépe $T = 0$.

U koncentrace látky X v definitivní moči

V objem definitivní moči v ml/s

Pokud se $T = 0$, pak se vztah zjednoduší: $GF = U \times V / P$.

$$GF = (U \cdot V) / P \quad (5-2)$$

V praxi se pro tento výpočet používá kreatinin – odpadní látka kreatinu – bílkoviny přítomné hlavně ve svalech a v mozku.

Dnes již víme, že kreatinin plně nesplňuje podmínky dané pro toto vyšetření, neboť se stoupající sérovou koncentrací roste i jeho tubulární sekrece. Proto se hledají i jiné možnosti stanovení GF, např. vyšetřováním jiných nízkomolekulárních bílkovin – cystatin C.

TUBULÁRNÍ FUNKCE

Platí vztah, že profiltrované množství GF se rovná součtu množství vyloučeného (frakční exkrece = FE) a vstřebaného v tubulech (tubulární resorpce = TR)

$$GF = FE + TR = 100\% \quad (5-3)$$

Tubulární resorpce – je podíl dané látky z množství profiltrovaného v glomerulech, který se vstřebává v tubulech

Frakční exkrece – je podíl dané látky z množství profiltrovaného v glomerulech, který je za stejnou časovou jednotku vyloučen v definitivní moči

V diagnostice ledvin sledujeme GF i TR kreatininu, ale i iontů Na, K, Cl, Mg, Ca, P, ...

5.2.4 IMUNOLOGICKÉ TESTY NA VYŠETŘENÍ LEDVIN

Jako základní screening vyšetříme hladiny jednotlivých tříd Ig – IgA, IgM, IgG, složky komplementu – C3, C4.

Mezi screening protilátek při vyšetření ledvin řadíme:

ANA – antinukleární protilátky

a-dsDNA – protilátky proti nukleovým kyselinám

ENA – protilátky proti proteinům buněčného jádra

ANCA – protilátky proti cytoplasmě neutrofilních leukocytů (specifické pro systémové vaskulitidy – glomerulonefritidy)

a-GBM – protilátky proti bazální membráně glomerulů – antirenální glomerulonefritida – může vést k selhání ledvin do 3 – 4 týdnů

anti-PLA2R – protilátky proti M-typu receptoru pro fosfolipázu 2 – používány v diagnostice membranózní nefropatie

5.3 Urolitiáza

Urolitiáza je onemocnění ledvin způsobené vznikem cizích konkrémentů v močových cestách (1). Příčinou vzniku může být infekce močových cest, nedostatečný přívod tekutin, stagnace moči (např. u hyperplazií prostaty), vrozené vady močových cest, dietní chyba (nadměrný příjem určité potraviny),...

Klinické komplikace: zánětlivé komplikace, renální insuficience,... Provedeme analýzu močového konkrémentu chemickým rozbohem a fyzikálními metodami (polarizační mikroskopie, rentgenová difrakce,...), a eliminací těchto sloučenin u pacienta se snažíme se vyhnout dalším akutním kolikám.



SHRNUTÍ KAPITOLY

Základní znalostí je třeba si uvědomit skladbu nefronu – jeho rozdělení na glomerulární část, kde hlavní funkcí je ultrafiltrace plazmy – vznik primární moči, a na část tubulární, kde dochází ke zpětné resorpci živin – vzniká definitivní moč – tato tubulární sekrece a resorpce se mění podle potřeby organismu, podle složení vnitřního prostředí.

Existuje mnoho způsobů na vyšetření funkce ledvin, od nejjednoduššího stanovení pomocí diagnostického proužku až po složitější – stanovení glomerulární filtrace a tubulární resorpce, popř. imunologická stanovení.



KONTROLNÍ OTÁZKA

1. Jaké jsou hlavní funkce ledvin?
2. Jaký je správný postup chemické analýzy moče?
3. Jak dělíme proteinurii?
4. Vysvětlete pojem glomerulární filtrace a tubulární resorpce.
5. Vztah pro výpočet glomerulární filtrace?
6. Co je to urolitiáza?
7. Co je to nefron?

6 LABORATORNÍ DIAGNOSTIKA GIT

RYCHLÝ NÁHLED KAPITOLY



Funkcí gastrointestinálního traktu je přívod tekutin a živin potřebných pro udržení metabolických pochodů v organismu a vylučování odpadních látek. Vysvětlíme si tři fáze trávení a funkci jednotlivých částí GITu v tomto procesu.

Budeme se zabývat funkcí žaludku, produkovanými enzymy podílejícími se na jeho funkci, složením žaludeční šťávy a následně laboratorními testy na jeho vyšetření.

Také si vysvětlíme funkci slinivky břišní, její hormonální regulaci a opět možnosti laboratorních testů, základ patobiochemie akutní a chronické pankreatitidy.

Na konci této kapitoly se budeme věnovat vyšetření stolice – okultní krvácení jako preventivní vyšetření rakoviny tlustého střeva.

CÍLE KAPITOLY



Cílem této kapitoly je objasnit si základní metodiky laboratorní diagnostiky v gastroenterologii, při vyšetření žaludku, slinivky břišní, testy na malaabsorpci, vyšetření stolice.

ČAS POTŘEBNÝ KE STUDIU



2 hod.

KLÍČOVÁ SLOVA KAPITOLY



Vnitřní faktor, žaludeční šťáva, okultní krvácení, duodenální šťáva, malaabsorpce, *Helicobacter pylori*, Schillingův test.

6.1 Proces trávení

Hlavní funkcí gastrointestinálního traktu = GIT je zajištění přívodu potravy a vody nutných pro správnou funkci organismu. Hlavní děje probíhající v GITu zajišťuje intraluminální transport:

- **trávení**

digesce – štěpení potravy na základní látky – dělíme na tři základní fáze:

- 1. orální fáze
 - v dutině ústní produkovaná amyláza slinnými žlázami štěpí cukry
- 2. gastrická fáze
 - v žaludku za působení příslušných enzymů dochází ke štěpení bílkovin
- 3. enterální fáze
 - probíhá v tenkém střevě, zde dochází ke štěpení triacylglycerolů a dalšímu metabolismu cukrů působením pankreatických proteáz a dalších enzymů

- **vstřebávání**

absorpce – dochází k přechodu těchto látek do krve či lymfy

- v tenkém střevě – vstřebávání živin, v tlustém střevě – vstřebává se voda a formuje stolice

6.2 Vyšetření žaludku

Metabolická funkce žaludku závisí na správném složení žaludeční šťávy – bezbarvá kapalina silně kyselá reakce (pH 1-2) s malým množstvím hleny. Na jejím složení se podílejí buňky žaludeční sliznice, krycí (parietální) buňky produkují kyselinu chlorovodíkovou, hlavní buňky syntetizují pepsinogen, který působením této kyseliny se aktivuje na enzym pepsin. Svou funkci v žaludeční šťávě má také mucin = hlen a „vnitřní faktor“ – glykoprotein podporující vstřebávání vitamínu B12 (1).

Mezi laboratorní testy na vyšetření funkce žaludku můžeme zahrnout:

- **pentagastrinový test**
 - u tohoto testu sledujeme schopnost parietálních buněk produkovat kyselinu chlorovodíkovou po stimulaci pentagastrinem

- **stanovení plazmatického gastrinu**

- má přesně danou preanalytickou fázi – krev je nutno odebrat do heparinizované zkumavky s aprotininem = inhibitor proteáz, nutno odstředit do 15 minut po odběru a zamrazit kvůli nestabilitě vyšetřovaného enzymu

- ke zjištění gastrinomu, při hypochlorhydrii u atrofické gastritidy (1)

- **průkaz *Helicobacter pylori***

- *Helicobacter pylori* patří mezi gramnegativní mikroby, jeho přítomnost v traktu je považována za patologický faktor vedoucí ke vzniku peptických vředů, tento mikrob má k dispozici enzym ureázu, kterým štěpí močovinu za vzniku amoniaku, který ho chrání před působením kyseliny chlorovodíkové. Průkaz *Helicobacter pylori* se provádí testy invazivními (odebrání biopsických vzorků žaludeční sliznice při endoskopickém vyšetření) nebo testy neinvazivními (serologické vyšetření, dechové testy se značeným uhlíkem a také nově detekce antigenu *H. pylori* ve stolici). Bohužel žádná z těchto neinvazivních metod není stoprocentně senzitivní ani specifická, proto je doporučeno průkaz *H. pylori* provádět aspoň dvěma testy.

6.3 Vyšetření slinivky břišní

Působením duodenální šťávy se účastní na štěpení živin v tenkém střevě.

Duodenální šťáva je čirá tekutina slabě alkalického pH 7,5 – 8 skládající se:

- sekret pankreatu

- hydrogenuličitany, amylasa, lipasa, proteolytické enzymy – trypsinogen, chymotrypsinogen, proelastáza, prokarboxypeptidáza – tyto enzymy jsou aktivovány enzymem enterokinázou produkovanou v tenkém střevě

- žluč

- hydrogenuhlčitany, žlučové kyseliny, lipidy, konjugovaný bilirubin,...

- produkt vlastních duodenálních žláz

U slinivky břišní nejčastěji je indikováno vyšetření ke zjištění akutní nebo chronické pankreatitidy.

U akutní formy dochází ke zvýšení koncentrace amylázy (za 3 až 12 hodin po atace), také můžeme měřit aktivitu jejího pankreatického isoenzymu, dají se s určitým zpožděním prokázat také v moči. Dalším laboratorním ukazatelem u této diagnózy je zvýšení lipázy, do moči neproniká. Může dojít také ke snížení koncentrace vápníku a zvýšení hodnoty glykémie v důsledku poškození pankreatu včetně Langerhansových ostrůvků.

U chronické formy často nemusíme prokázat žádné výkyvy laboratorních testů, jinak dochází taktéž ke zvýšení již dříve zmíněných parametrů jako u akutního stavu.

6.4 Testy na malaabsorpci

Malaabsorpce je porucha absorpce způsobená jak nedostatečným trávením potravy, ale i poruchou procesu vstřebávání. Jedná se velmi heterogenní soubor onemocnění, jejichž společnou vlastností je neschopnost trávit či absorbovat jednu či více složek potravy. Může se týkat celé řady metabolitů, jindy jen jedné látky (např. vitamín B12 při nedostatku „vnitřního faktoru „v žaludeční šťávě“).

Existují různé laboratorní testy na vyšetření poruch absorpce lipidů, cukrů, aminokyselin, vitamínů, minerálů, stopových prvků, ..., které jsou indikovány lékařem dle klinických projevů u pacienta.

- **Stanovení tuku ve stolici**

- vyšetření tuku ve stolici Sudanovým barvivem – poměrně spolehlivé vyšetření, poněvadž steatorea je nejtypičtější projev malaabsorpce. Není moc příznivá, co se týče preanalytiky, stolice se musí shromažďovat 72 hodin do kontejneru, ten musí být dobře uzavíratelný a skladovaný v lednici.

- **Malaabsorpce žlučových kyselin**

- v terminálním ileu se reabsorbuje až 95 % žlučových kyselin, dysbalance ve střebávání lze zjistit pomocí dechového testu podáním značeného glykocholátu

- **Laktózový test**

- tento toleranční test je nepřímým měřením aktivity intestinální laktázy – enzym kartáčového lemu enterocyty, jeho funkcí je hydrolyzace laktózy na glukózu. Tento test se provádí perorálním podáním 50 g laktózy v 500 ml vody a následně měřením hodnoty glykémie za 15, 30, 60 a 90 minut. Průkazem deficitu laktázy je vzestup glykémie o méně než 1 mmol/l.

- **Schillingův test – vyšetření absorpce vitamínu B12**

- používá se k diagnostice onemocnění souvisejícím s nedostatkem vitamínu B12 – perniciózní anémie, atrofická gastritida, ...
- podává se vitamín B12 značený kobaltem a sleduje se jeho 24hodinová exkrece

6.5 Vyšetření stolice

Stolice jako materiál se používá k mnoha jiným laboratorním testům, my zde vzhledem k tématu této kapitoly – vyšetření GITu – se budeme zabývat vyšetřením okultního krvácení jako markeru časného odhalení kolorektálního karcinomu. Okultní krvácení je test na chemický průkaz přítomnosti krve ve stolici, dva způsoby měření:

- **chemický průkaz hemoglobinu**

- založen na peroxidázové aktivitě hemu, je zde nutno dodržet preanalytické podmínky odběru – pacient nesmí jíst potraviny obsahující krev a preparáty železa – falešně pozitivní výsledek

- **imunochemický průkaz globinové části hemoglobinu**

- dražší vyšetření, není potřeba dodržet již dříve zmíněnou dietu

Vyšetření se provádí 3 dny po sobě a vzorky k analýze je třeba vzít ze dvou míst stolice.

SHRNUTÍ KAPITOLY



V této kapitole jsem se seznámil se základními metodikami laboratorní diagnostiky GITu, s testy na vyšetření funkce žaludku, kde hlavní význam má stanovení průkazu *Helicobacter pylori*, s testy na vyšetření slinivky břišní, kde má důležité stanovisko pro potvrzení diagnózy akutní pankreatitidy. Také jsme probrali testy na malaabsorpci (včetně Schillingova testu) a v neposlední řadě také testy na okultní krvácení na diagnostiku kolorektálního karcinomu.

KONTROLNÍ OTÁZKA



1. Základní fáze procesu trávení?
2. Složení žaludeční šťávy?
3. Jaký je význam „vnitřního faktoru“ v žaludeční šťávě?
4. Složení duodenální šťávy?
5. Co způsobuje mikrob *Helicobacter pylori*?

6. Laboratorní testy na vyšetření slinivky břišní?
 7. Význam testu na okultní krvácení.
 8. K čemu používáme Schillingův test?
 9. Co je to malaabsorpce?
-

7 LABORATORNÍ DIAGNOSTIKA KOSTNÍHO SYSTÉMU

RYCHLÝ NÁHLED KAPITOLY



Na začátku této kapitoly si probereme složení anorganické a organické části kosti.

Vysvětlíme si proces remodelace kostní tkáně – proces rovnoměrné tvorby a odbourávání kosti.

Oba dva tyto procesy mají své laboratorní ukazatele, které lze za dodržení preanalytických podmínek analyzovat a některé možnosti těchto stanovení si také zde uvedeme.

Na konci kapitoly se věnujeme onemocnění osteoporózy, její dělení na primární a sekundární typ onemocnění a o možnostech její laboratorní diagnostiky.

CÍLE KAPITOLY



V této kapitole se seznámíme se základními metodikami laboratorní diagnostiky kostního metabolismu, s parametry vztahujícími se ke komplexní remodelaci kosti, k fázi novotvorby a také k fázi resorpce, které mohou signalizovat probíhající patologické děje v organismu.

ČAS POTŘEBNÝ KE STUDIU



2 hod.

KLÍČOVÁ SLOVA KAPITOLY



Remodelace kosti, hydroxyapatit, osteocyty, osteoblasty, osteoklasty, osteoporóza, kostní novotvorba, kostní resorpce, hormony kostního metabolismu.

7.1 Stavba kosti

Kostní skelet tvoří 15–20 % hmotnosti těla. Kost se skládá z kostní organické matrix (22 %) a kostního minerálu (70 %), ve zbylých procentech je zastoupena voda.

Organická matrix: podstatnou část tvoří kolagen typu I (85 %), následují nekolagenní bílkoviny (osteokalcin, osteopontin, ...), aminokyseliny kolagenu (glycin, hydroxyprolin, hydroxylyzin,...)

Kostní minerál: základ tvoří hydroxyapatit $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3(\text{OH})$, uhličitanové ionty, Na^+ , Mg^{2+} , ...

Funkce kosti spočívá v zajištění mechanických funkcí, podílí se na homeostáze vápníku a také při poruchách acidobazické rovnováhy je pro organismus zdrojem uhličitanových a fosfátových iontů. Kost vytváří prostor pro kostní dřeň.

7.2 Remodelace kosti

Zde posuzujeme celkový metabolismus kosti spočívající ve vzájemné rovnováze procesu resorpce i novotvorby kosti, je to komplexní proces koordinované činnosti buněk osteoblastů, osteoklastů a osteocytů. Dochází zde k náhradě staré kostní hmoty za novou, také k reparaci malých mechanických poškození kostí, ke zlepšení adaptace na mechanickou zátěž kosti.

Nemusí to platit vždy, i fyziologicky nemusí být tyto procesy zcela v rovnováze, např. v dospívání, v těhotenství, ..., zde převažuje tvorba kosti.

Buňky kostní tkáně:

- **Osteocyty**
 - Jejich funkcí je řízení celého remodelačního procesu, jsou dendritickými výběžky propojeny navzájem i s dalšími kostními buňkami
- **Osteoblasty**
 - vznikají z mezenchymálních a prekurzorových buněk v kostní dřeni a z prekurzorů (osteoprogenitorů a preosteoblastů)
 - podílejí se na novotvorbě kosti
- **Osteoklasty**
 - pocházejí z buněk hematopoetické řady
 - podílejí se na procesu resorpce kosti

Patologicky jsou horší stavy, kde převažuje proces odbourávání kosti, patří zde např. Pagetova choroba, hyperparathyreóza, osteoporóza.

Osteoporóza

Onemocnění vedoucí k úbytku kostní tkáně jak organické i anorganické, důsledkem je zvětšená lomivost kostí.

Dělíme:

- sekundární – jako součást jiného onemocnění, důsledek lékové terapie
- primární – bez příčiny:
 - typ I: postmenopauzální období u žen (nedostatek estrogenů)
 - typ II: senilní osteoporóza – s věkem

7.3 Laboratorní markery kostní novotvorby

- **Kostní alkalická fosfatáza**

Enzym nacházející se v membráně osteoblastů, při zvýšené činnosti těchto buněk dochází k jeho vyplavení do periférie, proto jeho stanovení v laboratoři je používáno jako marker první volby při výrazně zvýšené novotvorbě kosti.

- **Osteokalcin**

Mimo kolagenu je to druhá nejdůležitá bílkovina kostní tkáně, umožňuje vazbu hydroxyapatitu. K tvorbě této bílkoviny potřebujeme přítomnost kalcitriolu a vitamínu K. Jeho stanovením můžeme posoudit aktivitu osteoblastů. Jedná se o malou molekulu, která se eliminuje glomerulem, její koncentrace v séru je závislá na funkci ledvin, při jejich poruše se hromadí v periférii a pak není dobrým ukazatelem funkce osteoblastů.

- **Karboxyterminální propeptid prokolagenu typu I (PICP)**

Kolagen typu I je tvořen jako prekurzor – prokolagen I, ten je enzymaticky štěpen na vlastní kolagen a na karboxy – a aminoterminální část prokolagenu. N – terminální část je nestabilní molekula nevhodná k laboratorní diagnostice, karboxy – terminální část je lépe stabilní a dá se využít k laboratornímu měření. Na rozdíl od předešlého markeru jeho sérová koncentrace není ovlivněna funkcí ledvin.

7.4 Laboratorní markery kostní resorpce

- **Hydroxyprolin**

Jak bylo uvedeno v kapitole 7.1, hydroxyprolin je součástí kolagenu I a tedy při jeho odbourávání se také hydroxyprolin dostává ve zvýšené míře do periferie. Tato AMK již nemůže být použita k nové stavbě kosti (3). Je plně eliminována glomeruly, takže ke stanovení tohoto analytu potřebujeme 24 – hodinový sběr moče, kde odpad této AMK závisí na funkci jater i ledvin. Dalším problémem tohoto stanovení je také nespecifičnost této metody, proto-že hydroxyprolin je součástí nejen kolagenu typu I, ale také jiných typů kolagenů.

- **Pyridinolin a deoxypyridinolin**

Pyridinolin a deoxypyridinolin jsou molekuly, které vznikají různou modifikací hydroxylyzinu, jejich hlavní funkcí je stabilizace kolagenu, tvoří příčné vazby mezi kolagenovými vlákny.

Při odbourávání kolagenu se tyto látky dostávají do krevního oběhu, na stanovení jejich hladin potřebujeme opět 24 – hodinový sběr moče, kde deoxypyridinolin je specifický štěp-ný produkt pouze kolagenu typu I, pyridinolin se odbourává ještě také z chrupavky.

- **Karboxytermální telopeptid kolagenu I (ICTP)**

Bílkovina uvolňující se z kolagenu typu I při jeho degradaci, výhodou je jeho specifita a také možnost stanovení koncentrace v séru, není třeba sbírat moč. Nevýhodou je eliminace tohoto proteinu ledvinami, jejich funkce ovlivňuje jeho hodnotu v krvi.

- **Kyselá fosfatáza**

Tento enzym pomáhá osteoklastům při odbourávání kostní hmoty, jeho aktivita v periférii ukazuje na aktivitu kostní resorpce.

Skládá se z isoenzymů – prostatickou část, trombocytární, erytrocytární a osteoklastická. Pokud chceme měřit pouze část ACP z osteoklastů, musíme použít buď přímo imunochemické stanovení, nebo stanovujeme aktivitu tartarát – rezistentní ACP z plazmy (tímto vyloučíme ostatní isoenzymy).

7.5 Hormony kostního metabolismu

PARATHORMON

Ten to hormon má receptory na osteoblastech – stimulace tvorby nových osteoklastů.

KALCITRIOL – D3

Tento hormon je biologicky nejaktivnějším metabolitem vitamínu D, má také receptory na osteoblastech – stimulační tvorby nových osteoklastů.

KALCITONIN

Nemá uplatnění v diagnostice kostních onemocnění.

Homeostáza těchto tří hormonů reguluje také hlavní minerály kostního metabolismu – Ca, Mg, P.

SHRNUTÍ KAPITOLY



Důležitým bodem této kapitoly je pochopení principu remodelace kostní tkáně, stavba kosti a také zastoupení jednotlivých buněk kostní tkáně v tomto procesu sebeobnovy kosti. Byly uvedeny základní metodiky laboratorního vyšetření kostní resorpce a novotvorby. Svůj význam má také stanovení základních hormonů, které se podílejí na regulaci hlavních minerálů kostního metabolismu: parathormon, kalcitriol – D3, hormon kalcitonin nemá v diagnostice kostních onemocnění uplatnění, používá se při diagnostice a monitorování medulárních karcinomů štítné žlázy (nádorový marker).

KONTROLNÍ OTÁZKA



1. Vysvětlete stavbu kosti?
2. Vysvětlete pojem remodelace kosti?
3. Základní markery kostní resorpce?
4. Základní markery kostní novotvorby?
5. Hormonální regulace kostní tkáně?
6. Jaké známe buňky kostní tkáně?
7. Co je to osteoporóza?

8 LABORATORNÍ DIAGNOSTIKA V KARDIOLOGII



RYCHLÝ NÁHLED KAPITOLY

V této kapitole se věnujeme hlavně laboratorní diagnostice infarktu myokardu, která vy-chází z průkazu intracelulárních bílkovin z poškozeného ložiska v myokardu. Probereme zde již dříve používané klasické testy, ale také biochemické testy analyzované nyní v klinických laboratořích, výhodnější v mnohem rychlejším nástupu těchto stanovova-ných analytů v periférii pacienta.

Jako součást této kapitoly si také probereme složení troponinového komplexu a mož-nosti využití stanovování jeho částí v laboratorní diagnostice.

Důležitou částí je také vysvětlení časového nástupu těchto jednotlivých analytů během IM.



CÍLE KAPITOLY

Laboratorní vyšetření je jednou z mnoha možností dalších invazivních a neinvazivních metod používaných v diagnostice onemocnění v kardiologii, ale mají zde významné místo v procesu stanovení diagnózy. Cílem této kapitoly je uvést základní laboratorní metodiky, s kterými se setkáváme v rutinní praxi, s nejčastějšími typy onemocnění, které se diagnos-tikují v klinických laboratořích.



ČAS POTŘEBNÝ KE STUDIU

1 hod.



KLÍČOVÁ SLOVA KAPITOLY

Hypertenze, CRP, Apolipoproteiny, Adiponektin, AST, LD, CK, MYO, TnT, TnI, BNP, glykogenfosforyláza.

8.1 Laboratorní diagnostika hypertenze

U hypertenze (hodnota systolického tlaku vyšší než 140, hodnota diastolického tlaku vyšší než 90) je důležité rozlišit primární formu (bez sekundární příčiny) a sekundární formu (přítomnost orgánových komplikací, které mají za důsledek zvýšení krevního tlaku (zde hraje významnou roli hyperfunkce štítné žlázy, onemocnění ledvin, ...))

Základem diagnostiky jsou fyzikální metody (palpace periferních tepen, měření krevního tlaku vsedě na obou horních končetinách, EKG, echokardiografie, vyšetření očního pozadí, ...)

V klinické laboratoři stanovujeme tyto parametry: vyšetření moči a močového sedimentu, sodíku, draslíku, urey, kreatininu, kyseliny močové v séru, glukózy, cholesterolu a jeho frakcí HDL, LDL, triacylglycerolů, mikroalbuminurie, V případě podezření na sekundární hypertenzi se došetřují v závislosti na orgánové specifikaci další laboratorní markery (hormony štítné žlázy, renin, aldosteron, katecholaminy, ...).

8.2 Laboratorní diagnostika aterosklerózy

V této kapitole si uvedeme základní přehled laboratorních biomarkerů používaných v patogenezi aterosklerózy.

- **CRP**
 - reaktant akutní fáze syntetizovaný v játrech, ukazatel probíhajícího zánětu v organismu
 - ke stanovení nízkých koncentrací používáme metodu **hs-CRP** = high senzitivity CRP – tento marker koresponduje s výskytem akutního infarktu myokardu, cerebrovaskulárních příhod a progresu ischemické choroby dolních končetin

- **Homocystein**
 - AMK, zvýšení koncentrace koresponduje s ICHS

- **Apolipoproteiny**
 - proteiny, které zastávají mnoho funkcí v organismu: transport cholesterolu v krvi, kofaktory některých enzymů, nosiči i jiných lipidových částic,
 - **Apo A1** (vyskytuje se ve třídě HDL – zde je rizikové snížení tohoto parametru), **Apo B** (ve třídě LDL – zde je naopak rizikové zvýšení hodnoty),

- **Fibrinogen**
 - základní protein koagulace, podílí se na viskozitě a na agregaci destiček
 - zvýšení jeho hodnoty kromě jiného koresponduje se zvýšením rizika ICHS

- **Lipoproteiny vázaná fosfolipáza A₂ (Lp-PLA₂)**

- enzym, jehož hlavní funkcí je hydrolyzace fosfolipidů, tímto také oxidovaných LDL v cévní stěně – zvýšená koncentrace tohoto markeru je projevem progresu aterosklerotického plátu

- **Adiponektin**

- protein produkován adipocyty (buňky tukové tkáně specializované na uchovávání tuku), zvyšuje citlivost buněk na inzulin a má antisklerotický efekt
- snížení koncentrace tohoto proteinu bývá prokazováno u metabolického syndromu a ICHS

8.3 Laboratorní diagnostika onemocnění myokardu

Většina laboratorních vyšetření srdce se týká diagnostiky ischemického poškození myokardu včetně akutní formy IM. Při tomto poškození se z ischemického ložiska do periferie uvolňují intracelulární bílkoviny, rychlost vyplavení a také doba jejich přetrvání v séru poukazuje na rozsah poškození. Musíme vzít ale v úvahu, že koncentrace těchto analytů je také závislá na cestě eliminace těchto bílkovin z periferie (poškození ledvin), jejich biologický poločas rozpadu.

Laboratorní ukazatele IM dělíme na testy klasické, dnes již ustupující novým, specifitějším testům.

8.3.1 KLASICKÉ TESTY

- **AST**

- Aspartátaminotrasferáza je enzym katalyzující přenos aminoskupiny z aminokyseliny na ketokyselinu a naopak. Vyskytuje se v cytoplasmě i v mitochondriích buněk jater, kosterního svalstva, myokardu. Její koncentrace se zvedá při poškození kosterního svalstva (velká svalová námaha), u hepatopatií, atd... Toto vyšetření není tedy ideální pro diagnostiku IM, je nespecifické. Do krevního řečiště se vyplavuje 4–6 hodin po ataku, v rozmezí 24–48 hodin můžeme detekovat nejvyšší hodnoty a normalizuje se do 5 dnů. Vzestup společně s ALT signalizuje hypoxické poškození jater.

- **LD**

- Laktátdehydrogenáza je enzym vyskytující se v mnoha tkáních (3). Dělí se na 5 isoenzymů, LD1 – 5, a v různých tkáních se liší vzájemným poměrem těchto isoenzymů. V myokardu se v největší koncentraci vyskytuje isoforma LD1. Nástup tohoto markeru je asi 12-18 hodin po ataku, přetrvává v periférii až 10 dní.

- **CK**

- Kreatinkináza je enzym katalyzující fosforylaci kreatinu na kreatinfosfát. Vyskytuje se ve třech isoformách, které se liší svou strukturou, skládají se ze dvou podjednotek – M a B:

CK-MM: příčně pruhované svalstvo kosterní a srdeční

CK-MB: tvoří podstatnou část celkové CK v srdečním svalu, ale také v kosterním

CK-BB: v mozku, v placentě, v prostatě,...

Při nekróze se vyplavuje do periferii během 4–6 hodin.

- **CK-MB**

- U tohoto isoenzymu existuje možnost detekovat buď jeho aktivitu nebo hmotnostní koncentraci. Citlivější je stanovení hmotnostní koncentrace, zde lze zachytit i již částečně de-gradované molekuly bez enzymové aktivity. Při nekróze buněk se koncentrace tohoto isoenzymu objevuje do 4 hodin po ataku, přetrvává 1 – 2 dny a normalizuje se do 5 dnů.

8.3.2 NOVÉ TESTY

- **MYO**

- Myoglobin je protein přítomný v příčně pruhovaném svalu, tím také i v myokardu. Jeho velkou předností je vysoká senzitivita, má rychlý nástup, 1–2 po ataku lze jej detekovat v séru. Také jeho biologický poločas rozpadu je rychlý, většinou se jeho koncentrace normalizuje do 24 hodin, záleží ale na funkci ledvin, protože tato bílkovina se vyplavuje renální cestou. Nevýhodou tohoto laboratorního markeru je malá specifická, zvýšení jeho koncentrace mimo IM může způsobit renální selhání, myopatie, ...

- **TnT**

- Troponin tvoří skupina tří proteinů C, I, T a tropomyozin – vzniká troponin-myozinový komplex, který je součástí kontraktálního aparátu příčně pruhovaného svalu (3). Funkcí TnT v tomto komplexu je vazba troponinu na tropomyozin. Dnešními laboratorními technikami není u zdravých osob detekovatelný. Jeho nástup v periferii začíná tak kolem 4-6 hodiny po ataku, vrcholu dosahuje kolem 4. dne a normalizuje se do dvou týdnů – má nejširší diagnostické okno z uváděných laboratorních testů.

- **TnI**

○ Jeho funkce v troponin-myozinovém komplexu je regulace kontrakcí příčně pruho-
vaného svalstva. Na rozdíl od TnT není srdeční TnI přítomen i v kosterním svalstvu –
jeho výhodou je vysoká specifčnost pro myokard. Nárůst jeho hodnot při nekróze buněk
očekáváme kolem 6 hodiny po ataku, přetrvává v periférii 7 – 10 dní.

- **BNP**

○ BNP – B-typ natriuretického peptidu, který je produkován a exprimován z myokar-
du srdečních komor při objemovém a tlakovém zatížení. Sérové hodnoty BNP korelují s
klasifikací srdečního selhání. Je to citlivý marker akutní a chronické dysfunkce obou sr-
dečních komor. U nemocných s AIM dochází ke maximu hodnot za 16 hodin.

- **Glykogenfosforyláza**

○ důležitý enzym v glykogenolýze, má tři izoenzymy – z nichž fosforyláza BB
(GPBB) má největší význam – nachází se především v myokardu, zvýšení hodnoty to-
hoto markeru koresponduje s nestabilní AP, u nemocných s bolestí na hrudníku (pokud
byla důvodem ischémie)

- **hs-CRP**

○ viz. kap. 8.2.

8.4 Časový nástup laboratorních markerů IM

- Myo
- TnI, TnT,
- CK, CK-MB
- AST
- LD



SHRNUTÍ KAPITOLY

V této kapitole jsme se seznámili se základními biomarkery stanovovanými v klinické
laboratoři v rámci diagnostiky kardiologických onemocnění, včetně diagnostiky hyper-
tenze, aterosklerózy (hs-CRP, homocystein, apolipoproteiny, fibrinogen, adiponektin, Lp-
PLA₂), a také onemocnění myokardu (AST, LD, CK, MYO, komplex troponinů, BNP,
glykogenfosforyláza).

KONTROLNÍ OTÁZKA



1. Klasické testy na diagnostiku IM?
2. Které markery se používají nyní k diagnostice IM?
3. Jaký je postupný časový náběh těchto markerů v periférii při IM?
4. Jaké jsou základní laboratorní markery diagnostiky hypertenze?
5. Jaké jsou základní laboratorní markery diagnostiky aterosklerózy?

9 LABORATORNÍ DIAGNOSTIKA V ONKOLOGII



RYCHLÝ NÁHLED KAPITOLY

Zde si probereme existenci tzv. tumorových markerů jako laboratorních ukazatelů zhoubného procesu. Vyjmenujeme si analytické požadavky na tzv. ideální tumorový marker, bohužel mnohé z nich nyní stanovované tumorové markery nesplňují, jako nejefektivnější se jeví sledování efektu terapie.

Jako součást této kapitoly si uvedeme nejznámější stanovované tumorové markery v klinických laboratořích, jejich orgánovou specifitu, a také pár slov o příčinách vzniku monoklonálních gamapatií a možnostech jejich laboratorní diagnostiky.



CÍLE KAPITOLY

Stanovení nádorových markerů v laboratoři je využíváno v diagnostice při podezření na maligní onemocnění, ale spíše má svou výpovědní hodnotu při monitorování pacientů v průběhu léčby a při stanovení vlastní prognózy nemoci. Je potřeba si uvědomit, že klinická hodnota markeru závisí na jeho specifitě a senzitivitě. **Specifita** je definována jako procento zdravých osob, u kterých změříme negativní výsledek nádorového markeru. Čím vyšší je specifita, tím méně je falešně pozitivních výsledků (1). **Senzitivitu** definujeme jako procento výsledků, které jsou pozitivní v přítomnosti správné diagnózy maligního onemocnění. Čím vyšší je senzitivita, tím méně je falešně negativních výsledků (1).



ČAS POTŘEBNÝ KE STUDIU

2 hod.



KLÍČOVÁ SLOVA KAPITOLY

Tumorový marker, specifita, senzitivita, vlastnosti tumorového markeru, onkofetální antigeny, tkáňově specifické antigeny, nespecifické antigeny, monoklonální imunoglobuliny.

9.1 Co je tumorový marker?

Cílem laboratorní práce zde je najít co nejlepší ukazatele nádorového procesu v počátečním stádiu nemoci. Bohužel ve většině případů výsledky těchto měření nepřinesly zatím očekávanou naději včasné diagnostiky onemocnění.

Jedná se většinou o molekuly bílkovinné povahy, jejich produkce v organismu je zahájena právě kvůli probíhajícímu nádorovému procesu.

Dělíme je podle jejich přítomnosti v organismu:

- buněčné nádorové markery – v nádorových buňkách, popř. na jejich povrchu
- humorální nádorové markery – v periférii (v séru, v jiných tělesných tekutinách,..)

Dělíme je také podle způsobu produkce:

- s nádorem asociované antigeny (syntetizují se přímo v nádorových buňkách)
- indukované nádorové markery (jiné tkáně jako odpověď na nádorový proces)

9.2 Vlastnosti tumorového markeru

Jak již bylo uvedeno v kapitole 9.1, většina nádorových markerů nespĺňuje požadavky laboratorních indikátorů nádorového procesu tak, jak by bylo požadováno. Cílem těchto vyšetření bylo dosáhnout:

- vysoká specifčnost k nádorovému procesu: mnoho markerů bývá zvýšena i u ne-nádorových zánětlivých onemocnění
- orgánová specifčnost: konkrétní tumorový marker by měl ukazovat na konkrétní postižený orgán – mnoho markerů je nespecifických, existuje pár výjimek (PSA, AFP,...)
- vysoká citlivost: cílem je zachytit onemocnění co v nejranějším stádiu – jen výjimečně splňují tuto podmínku – záleží na citlivosti používané laboratorní metody na měření daného analytu a také individuálně na každém pacientovi, jeho zdravotním stavu
- souvislost mezi progresí onemocnění a hodnotou laboratorního markeru: závisí na mnoha faktorech, nejenom na velikosti nádoru, ale také na vyzrállosti nádorových buněk, také na celkovém zdravotním stavu pacienta (na funkčnosti ledvin, jater, ...)

9.3 Použití nádorových markerů

Jak bylo uvedeno v bodě 9.2, pro svou nízkou citlivost a malou specificitu se pro screening nádorového onemocnění tumorové markery nehodí, vyšší hodnoty již pak obvykle značí pokročilé stádium nemoci, ale pro určení stádia nemoci a respektive jeho další prognózu je to nedostatečné, jako nejlepší využití se jeví monitoring koncentrací nádorových markerů během léčebné terapie, stanovit hodnotu před zahájením léčby a laboratorně pak sledovat vzestup či pokles koncentrací požadovaných markerů, sledovat efekt zahájené terapie. Diagnostickou cenu má pouze pozitivní nález tumor markerů (3).

9.4 Rozdělení nádorových markerů

- **onkofetální antigeny** – fyziologicky ve fetálním období – AFP, hCG, CEA, ...
- **tkáňově specifické antigeny** – fyziologicky se v dané tkáni nachází a při onemocnění se uvolňují do periferie (PSA= prostatický specifický antigen, NSE= neuron specifická endoláza, TPA= rozpustné fragmenty cytokeratinů, TG= thyreoglobulin,...)
- **nespecifické antigeny** – Ferritin, LD, Tk= thymidinkináza, některé BAF= bílkoviny akutní fáze
- **buněčné a genetické markery** – cytokiny, vyšetření receptorů, produktů mutovaných genů (1)

9.5 Přehled nepoužívanějších tumor markerů

- **AFP**
 - hepatocelulární karcinom, germinální nádory varlete a vaječnicků, zvýšen i u nemaligních onemocnění (jaterní cirhóza)
- **Beta 2-mikroglobulin**
 - mnohočetný myelom, non-hodgkinovy lymfomy, chronická lymfocytární leukémie B řady
- **CA 125**
 - karcinom ovaria
- **CA 15-3**
 - monitoring pacientek s metastázujícím karcinomem prsu

- **CA 549**
 - ovariální tumor marker, plicní nádory

- **CA 19-9**
 - GIT nádory – karcinom pankreatu (70 – 90% specificita a senzitivita), karcinomy žaludku, kolorektální karcinom

- **CA 72-4**
 - specifický pro karcinom žaludku, méně na kolorektální karcinom, karcinom pankreatu, karcinom žlučových cest, mucinózní typ ovariálního karcinomu (s CA 125)

- **CEA** (karcinoembryonální antigen)
 - kolorektální karcinom, medulární thyroideální karcinom (s kalcitoninem)

- **KALCITONIN**
 - medulární karcinom štítné žlázy

- **CYFRA 21-1** (rozpuštěný fragment cytokeratinu 19)
 - plicní nádory (hlavně nemalobuněčného typu), nádory močového měchýře

- **FERRITIN**
 - hematologické malignity – myeloblastické leukemie, Hodgkinova nemoc, ale i jiné typy nádorů vedou ke zvýšení tohoto markeru: hepatomy, germinální nádory, karcinomy prsu a plic

- **hCG**
 - choriokarcinomy (včetně testikulárních), mola hydatidoza, méně u germinálních nádorů varlete, seminomy

- **LD**
 - stanovuje se u non-hodgkinových lymfomů

- **NSE**
 - neuroendokrinní nádory (neuroblastomy, malobuněčné plicní nádory), seminomy, karcinomy ledvin

- **PSA**
 - specifický pro karcinom prostaty

- **S-100**
 - monitoring pacientů s maligním melanomem

- **SCC** (antigen karcinomů se skvamózních buněk)
 - velmi málo specifický – různé typy karcinomů – karcinomy krčku děložního, nádory hlavy, krku, jícnu,...

- **TG** (thyreoglobulin)
 - u pacientů s karcinonem štítné žlázy, ale bývá zvýšen i u strumy

- **TPA** (tkáňový polypeptidový antigen)
 - nespecifický marker – karcinom prsu, plic, krčku děložního, ovaria, močového měchýře, ...

- **KVM** (kyselina vanilmandlová)
 - marker feochromocytomu

- **HIO** (kyselina 5 – hydroxyindoloctová)
 - nádorový marker u karcinoidu

- **Monoklonální imunoglobuliny**

Monoklonální imunoglobuliny jsou secernovány B- lymfocyty = buňkami produkujícími fyziologicky imunoglobuliny, zde se však jedná o klonální proliferaci těchto buněk produkujících monoklonální imunoglobulin = M-komponenta. Onemocnění provázející produkci těchto imunoglobulinů nazýváme monoklonální gamapatie. Mezi ně patří MM = mnohočetný myelom, solitární plazmocytom, nemoc těžkých řetězců.

Laboratorně k průkazu těchto imunoglobulinů používáme techniku elektroforézy bílkovin s následnou imunofixací na rozlišení typu monoklonálního Ig. Lehké řetězce Ig pro svoji malou molekulu pronikají glomerulem a můžeme je prokázat v moči jako tzv. Bence – Jonesovu bílkovinu.

Existuje také možnost najít více M – komponent u jednoho pacienta, v organismu pacienta mohlo dojít ke klonální proliferaci dvou i více B – lymfocytů, resp. plazmocytů (1).

Jako horší prognózu onemocnění vnímáme u pacientů, u kterých vymizela tvorba fyziologických protilátek.

SHRNUTÍ KAPITOLY



V této kapitole jsme se definovali použitelnost nádorových markerů v klinické praxi, jejich specificitu a senzitivitu, rozdělení nádorových markerů a přehled nejčastěji používaných nádorových markerů v praxi vzhledem ke klinicky stanovené diagnóze.

KONTROLNÍ OTÁZKA



1. Co je to tumorový marker?
 2. Jaké jsou vlastnosti ideálního tumorového markeru?
 3. Jak dělíme nádorové markery?
 4. Základní přehled tumorových markerů?
 5. Co jsou monoklonální gamapatie?
 6. Co je to Bence-Jonesova bílkovina?
 7. Co je to senzitivita nádorového markeru?
 8. Význam specificity nádorového markeru?
-

10 METABOLISMUS BÍLKOVIN



RYCHLÝ NÁHLED KAPITOLY

Bílkovin krevní plazmy existuje velmi mnoho, liší se svou velikostí, koncentrací a také funkcí. Většina z nich je tvořena v játrech a odtud vyplavována do periferie. Vysvětlíme si důležité funkce těchto bílkovin, včetně udržování onkotického tlaku, obrana proti infekci, transport jiných metabolitů v krvi a mnoho dalších.

Díky velkému množství různých bílkovin je vhodnější sledovat změny koncentrací jednotlivých bílkovin než celkovou koncentraci, popř. provést elektroforézu a rozdělit bílkoviny na jednotlivé bílkovinné frakce. Podle těchto frakcí si také následně probereme nejdůležitější bílkoviny, vysvětlíme jejich strukturu a funkci v organismu.

Na konci této kapitoly se budeme zabývat reakcí akutní fáze, kdy také jako jedna z mnoha odpovědí organismu je změna koncentrace určitých bílkovin, které nazýváme reaktanty akutní fáze.



CÍLE KAPITOLY

Pojem „Celková bílkovina“, s kterým se setkáváme na výsledkových listech klinických laboratoří, zahrnuje obrovskou škálu různých bílkovin a cílem této kapitoly je objasnit jejich různorodost a také důležitou funkci v lidském organismu.



ČAS POTŘEBNÝ KE STUDIU

2 hod.



KLÍČOVÁ SLOVA KAPITOLY

Celková bílkovina, funkce bílkovin, elektroforetické dělení bílkovin, albumin, alfa 1-globuliny, alfa 2-globuliny, beta-globuliny, gama-globuliny, reakce akutní fáze, pozitivní reaktanty, negativní reaktanty.

10.1 Bílkoviny

Bílkoviny patří mezi základní chemické sloučeniny v organismu, v krvi se dá najít mnoho různých typů proteinů, liší se strukturou a velikostí a také koncentrací v krevní plazmě. Plní různé důležité funkce:

- obrana proti infekci – imunoglobuliny, komplement
- funkce enzymů
- hemokoagulace a fibrinolýza
- transportní bílkoviny
- udržení onkotického tlaku – albumin

Mimo těchto základních funkcí se podílí na řadě jiných procesů probíhajících v organismu, mimo jiné působí v ochraně před volnými radikály, jako obranné látky při zánětu a atd..

Koncentrace celkových bílkovin v krevním séru: 62–82 g/l. Tato hodnota ovšem zahrnuje mnoho látek, takže v této celkové hodnotě nerozeznáme úbytek jedné bílkoviny a naopak nadbytek druhé, lepším řešením je stanovení elektroforézy bílkovin.

Elektroforéza rozděluje bílkoviny 5–6 frakcí: albumin, globuliny alfa-1, alfa-2, globuliny beta-1, beta-2 a gama. Pouze albumin je tvořen jednou bílkovinou, zbylé frakce tvoří více bílkovin.

10.2 Elektroforetické dělení bílkovin

10.2.1 ALBUMIN

Tato bílkovina tvoří více než polovinu celkové koncentrace bílkovin. Jeho hlavní funkcí je udržování onkotického tlaku a transport jiných látek – thyreoidální hormony, ionty, léky. Produkce tohoto proteinu probíhá jako u většiny bílkovin v játrech.

Snížená koncentrace albuminu bývá projevem mnoha onemocnění, nejčastěji u hepatopatií, u akutních zánětů, u nefrotického syndromu (ztráty ledvinami) a jiné.

Zde bych se chtěla zmínit ještě o proteinu prealbuminu – podílí se na transportu thyreoidálních hormonů a také při transportu vitamínu A, jeho pokles je jedním z prvních ukazatelů poruchy syntézy bílkovin v játrech.

10.2.2 ALFA – 1 GLOBULINY

Zde mezi nejdůležitější bílkoviny patří:

- **Alfa – 1 kyselý glykoprotein** = orosomukoid – glykoprotein syntetizovaný v játrech, obsahuje největší podíl cukerné složky v molekule (1). Jeho koncentrace stoupá u akutních stavů, snižuje se u poškození jater.
- **Alfa – 1 – fetoprotein** – jako tumorový marker a také jako jeden z parametrů používaných se v prenatálním screeningu
- **Alfa – 1 – mikroglobulin** – je to jeden z markerů tubulární poruchy ledvin – zvyšuje se jeho koncentrace v moči
- **Alfa – 1 – antitrypsin** – syntéza probíhá v játrech, je inhibitorem proteolytických enzymů uvolňujících se z makrofágů při zánětlivé reakci organismu – zde dochází ke zvýšení jeho koncentrace v séru, snížení: u hepatopatií.

10.2.3 ALFA – 2 GLOBULINY

Do této skupiny patří:

- **Haptoglobin** – syntetizovaný v játrech, jeho hlavní funkcí je vázat molekulu hemoglobinu – tento komplex je pak z krevního oběhu odstraňován buňkami RES, vzestup jeho koncentrace pozorujeme opět u akutních zánětů, pokles je spojován s jaterní poruchou proteosyntézy.
- **Alfa – 2 makroglobulin** – jedná se protein velké molekuly – špatně proniká glomerulem – zvýšení koncentrace bývá u nefrotického syndromu, jaterních cirhóz, ke snížení dochází u pankreatitidy, DIC, Jeho hlavní funkcí je inhibice endoproteáz (enzymů GIT – trypsin, chymotrypsin a dalších) (1).
- **Ceruloplazmin** – protein, jehož funkcí je transport atomů mědi a oxidázová aktivita, jeho nedostatek způsobuje Wilsonovu chorobu.
- **Feritin** – je součástí metabolismu železa, je jeho zásobní bílkovinou, je obsažen v játrech, slezině, kostní dřeni a střevní sliznici a v malé koncentraci je uvolňován také do krevního oběhu.

10.2.4 BETA-GLOBULINY

Do této skupiny patří:

- **Transferin** – syntetizován v játrech, jeho hlavní funkcí je transport železa, jeho koncentrace v séru je nepřímo úměrná koncentraci železa, při nedostatku železa je zvýšená hodnota transferinu a opačně. Za normálních okolností je kapacita transferinu nasycena železem asi z 1/3, zbytek vazebných možností nazýváme volná vazebná kapacita transferinu.
- **Složky komplementu C3, C4** – patří do nespecifické humorální imunity, jejich koncentrace stoupá při akutních zánětlivých procesech, při aktivaci komplementu, klesá z důvodu tvorby imunokomplexů.
- **C-reaktivní protein = CRP** – tento protein se u zdravého člověka nedá prokázat, jeho koncentrace stoupá při zánětlivých procesech, u bakteriálních je nárůst rychlejší než u virových zánětů, syntéza tohoto proteinu je navozena cytokiny (IL-6). Stanovení této bílkoviny má velký diagnostický význam, jeho náleznost v krvi značí patologický proces probíhající v organismu.
- **Fibrinogen** – protein účastní se hemokoagulační kaskády – působením enzymu trombinu dochází k jeho štěpení na fibrin, který pak vytváří dle potřeby stabilní tromb. Navýšení jeho koncentrace v séru je způsobeno akutní reakcí organismu na zánětlivé procesy, pokles může být způsoben hepatopatií nebo u DIC, kde dochází k jeho spotřebě.

10.2.5 GAMA-GLOBULINY

Největší část těchto bílkovin tvoří imunoglobuliny, produkty B-lymfocytů jako odpověď organismu na cizí podněty v rámci imunologické obrany. Plní funkci protilátek při reakci s antigenem (1).

Všechny imunoglobuliny jsou tvořeny dvěma páry těžkých řetězců (H – heavy) a dvěma páry lehkých řetězců (L – light). Podle typů těžkého řetězce v molekule je také dělíme na 5 typů: IgA, IgM, IgD, IgE, IgG. Lehké řetězce jsou dva druhy – kappa a lambda a můžou být obsaženy ve všech 5 typech Ig.

IgG – tvoří největší část třídy Ig, procházejí fetoplacentární bariérou

IgA – slizniční ochrana před bakteriální infekcí

IgM – časná produkce protilátek, v pozdější fázi syntéza IgG

IgD – v nízké koncentraci, funkce neznámá

IgE – uváděny v souvislosti s alergickými projevy – reaginy u alergiků

10.3 Reakce akutní fáze

Reakcí akutní fáze rozumíme nespecifickou odpověď organismu na cizí podněty, které vyvolají patologický proces nebo poškození daného organismu. Tato reakce může být systémová nebo lokální.

Do systémové odpovědi patří: horečky, buněčná odpověď (zvýšení leukocytů), produkce stresových hormonů (katecholaminy, kortizol, ...), změna koncentrace některých bílkovin (1).

Těmto bílkovinám říkáme reaktanty akutní fáze a dělíme je na negativní (jejich koncentrace v periférii se snižuje) a pozitivní (zde se koncentrace zvyšuje).

Mezi **negativní reaktanty** patří: albumin, prealbumin, transferin, ...

Mezi **pozitivní reaktanty** patří: složky komplementu (C3, C4), CRP, fibrinogen, haptoglobin, orosomukoid, ...



SHRNUTÍ KAPITOLY

Do pojmu „Celková bílkovina“ zahrnujeme mnoho bílkovin s mnoha různými funkcemi. V kvantitativním hodnocení celkové bílkoviny nejsme schopni vyhodnotit úbytek či naopak nadbytek jedné z nich, proto se upřednostňuje provádět elektroforetické stanovení bílkovin či přímo stanovit koncentraci dané bílkoviny. V elektroforetickém stanovení dělíme bílkoviny na základních 5 skupin: albumin, alfa 1-globuliny, alfa 2-globuliny, beta-globuliny, gama-globuliny. Ke každé této skupině bylo uvedeno pár základních bílkovin tvořící základ této skupiny. Na konci této kapitoly jsme se zabývali reakcí akutní fáze a pojmy negativní a pozitivní reaktanty akutní fáze.



KONTROLNÍ OTÁZKA

1. Jaké jsou hlavní funkce bílkovin?
2. Rozdělení bílkovin podle elektroforézy?
3. Jaké máte typy Ig a jejich funkce v organismu?
4. Co je to reakce akutní fáze?
5. Které bílkoviny patří mezi pozitivní reaktanty akutní fáze?
6. Které bílkoviny patří mezi negativní reaktanty akutní fáze?

11 METABOLISMUS LIPIDŮ

RYCHLÝ NÁHLED KAPITOLY



V klinické biochemii se z kategorie lipidů zabýváme hlavně lipoproteiny – lipidy vázanými na bílkovinu, takto jsou transportovány ve vodném prostředí. Rozeznáváme 5 tříd lipoproteinů lišící se hustotou a elektroforetickou pohyblivostí. U této specifikace si také vysvětlíme funkce jednotlivých tříd.

V další části si uvedeme základní laboratorní testy lipidového metabolismu, také si vysvětlíme význam aterogenního indexu a jeho výpočet. Na konci této kapitoly si řekneme pár slov o příčinách vzniku metabolického syndromu a o jeho klinických projevech.

CÍLE KAPITOLY



Lipidy mají v našem organismu mnoho rozmanitých funkcí, jejich dostatečný příjem potravou je pro nás důležitý. Nejdůležitější funkce lipidů:

- tepelněizolační funkce
 - mechanická ochrana
 - metabolické funkce: obnova buněčných struktur, syntéza steroidních hormonů z cholesterolu, syntéza žlučových kyselin, ...
-

ČAS POTŘEBNÝ KE STUDIU



2 hod.

KLÍČOVÁ SLOVA KAPITOLY



Lipidy, lipoproteiny, apoproteiny, cholesterol, triacylglyceroly, mastné kyseliny, chylomikra, VLDL, IDL, LDL, HDL, aterogenní index, metabolický syndrom.

11.1 Lipidy

Lipidy jsou různorodou skupinou látek biologického původu, jejichž společným znakem je schopnost rozpouštět se v organických rozpouštědlech (1).

Základem jejich chemické struktury je alkohol, většinou glycerol.

Jejich funkce v organismu jsou hlavně tepelně izolační a mechanicky ochranné.

Podle chemické struktury je dělíme na:

- **jednoduché** – cholesterol, TAG, mastné kyseliny
- **složené** – fosfolipidy, glykolipidy

Podle fyzikálně – chemických vlastností je dělíme:

- **polární** – hlavně fosfolipidy
- **nepolární** – estery cholesterolu (HDL, LDL), TAG

Hlavní složkou těchto lipidů důležitou pro organismus jsou lipoproteiny. Tyto plazmatické částice jsou podobné micelám a jejich hlavní funkcí je transport lipidů ve vodném prostředí (1).

11.2 Lipoproteiny

Složené molekuly tvořeny obalem a jádrem. V jádru můžeme najít cholesterolestery, TAG a mastné kyseliny, základem obalu jsou apoproteiny = apo – obsahují specifické bílkoviny.

- **Apoproteiny**

Jsou tvořeny bílkovinnou složkou a polárními lipidy (fosfolipidy a mastné kyseliny) a společně vytváří obal lipoproteinové částice.

Jejich hlavní funkcí je zajištění transportu a stability lipoproteinových částic ve vodném prostředí a jejich odstranění dle potřeby, aktivují enzymy potřebné k metabolismu lipidů – jsou kofaktory enzymů LPL = lipoproteinová lipáza a LCAT = lecitin-cholesterolacyltransferáza.

- **Cholesterol**

Cholesterol je metabolický prekurzor steroidních hormonů a primárních žlučových kyselin – vznikají jeho degradací v játrech (3). Je podstatnou součástí biologických membrán.

Jeho koncentrace v séru by se měla pohybovat od 3,5 – 5,2 mmol/l. Při vyšších hodnotách nad 6,5 mmol/l se zvedá riziko vzniku infarktu myokardu – cholesterol je závažným rizikovým faktorem k incidenci jeho vzniku.

- **Triacylglyceroly = TAG**

Triacylglyceroly jsou triestery mastných kyselin a glycerolu. Jsou základní zásobní energií u živočichů. Nejsou součástí buněčných membrán, ale jsou nejvíce zastoupenou třídou lipidů.

- **Mastné kyseliny = FA**

Mastné kyseliny = FA = Fatty Acids = karboxylové kyseliny s různě dlouhým uhlovodíkovým řetězcem. Patří mezi ně kyselina palmitová, olejová, linolová, stearová. (3).

11.3 Rozdělení lipoproteinů

1. chylomikra – lipoproteiny o největší velikosti, nejmenší hustotě, vznikají ve sliznici tenkého střeva a cestou ductus thoracicus se dostávají do krevního oběhu (3). Zde jsou metabolizovány pomocí enzymu LPL, metabolity slouží jako zdroj energie a z oběhu jsou vychytávány játry.

2. VLDL – lipoproteiny o nízké hustotě – hlavní lipoproteiny tvořené v játrech, odtud se dostávají zpět do krevního oběhu, kde díky enzymu LPL ztrácejí část své molekuly – odštěpují se TAG, a z lipoproteinů VLDL se stávají částice IDL – lipoproteiny o střední hustotě.

3. IDL – lipoproteiny o střední hustotě – část těchto lipoproteinů je metabolizována, část je za přítomnosti enzymu jaterní lipázy změněna na LDL – lipoproteiny o nízké hustotě.

4. LDL – lipoproteiny o nízké hustotě – hlavní lipoproteiny přenášející cholesterol, je vychytáván pomocí LDL – receptorů na buněčných membránách, nejvíce v játrech, ale i jinými tkáněmi. Tímto mechanismem dochází k přesunu cholesterolu do buněk, kde plní svou funkci jako stavební prvek biomembrán, nebo zásobní energie buňky, v případě jaterní buňky může být vyloučen do žluči (ve formě cholesterolu nebo žlučových kyselin).

5. HDL – lipoproteiny o vysoké hustotě – jsou ze všech typů lipoproteinů nejmenší, vznikají v játrech nebo v tenkém střevě, podílejí se na tzv. reverzním transportu cholesterolu – přes HDL se dostává přebytečný cholesterol z buněčných membrán zpět do jater, kde je metabolizován.

11.4 Základní laboratorní parametry lipidového metabolismu

Do základního laboratorního screeningu lipidového metabolismu patří vyšetření celkového cholesterolu, triacylglycerolů, HDL a LDL frakce cholesterolu, lze ho rozšířit také o vyšetření apoproteinů (mezi základní patří: ApoA-1, ApoB), popř. Lpa = Lipoprotein a – patří mezi lipoproteiny o nízké hustotě a má specifický apoprotein a. Patří k důležitým rizikovým faktorům rozvoje aterosklerózy (1).

Pro výpočet aterogenního indexu AI potřebujeme znát hodnoty celkového cholesterolu a jeho HDL frakce:

$$AI = \frac{\text{celkový cholesterol} - \text{HDL cholesterol}}{\text{HDL cholesterol}}$$

- čím je tento index vyšší, tím je větší riziko vzniku aterosklerózy. Fyziologická hodnota tohoto poměru je < 3 .

11.5 Metabolický syndrom

Metabolický syndrom = nazývaný také jako syndrom X – vede k mnoha klinickým příznakům pacientů. Pro tento syndrom je typické: obezita, arteriální hypertenze, inzulinorezistence, zvýšená koncentrace cholesterolu, TAG, LDL, KM, často vede až k DM II. typu.



SHRNUTÍ KAPITOLY

Lipidy jsou velmi heterogenní skupinou látek s mnoha důležitými funkcemi v našem organismu: tepelněizolační, mechanicky ochranné a metabolické. Důležitou podskupinu tvoří lipoproteiny – jejich hlavní funkcí je transport lipidů ve vodném prostředí. Také skupina triacylglycerolů je významnou podskupinou – jsou nejvýznamnější zásobní formou energie u živočichů (1).

Lipoproteiny dělíme do 5 tříd: chylomikra, VLDL, IDL, LDL, HDL. Pokud známe hodnotu celkového cholesterolu a HDL frakce, můžeme dle vzorce kap. 11.4. vypočítat aterogenní index, který lze použít k posouzení rizika vzniku aterosklerózy.



KONTROLNÍ OTÁZKA

1. Dělení lipidů?
2. Co jsou lipoproteiny?

3. Dělení lipoproteinů?
 4. Vyšetření lipidového metabolismu?
 5. Výpočet aterogenního indexu?
-

12 METABOLISMUS SACHARIDŮ



RYCHLÝ NÁHLED KAPITOLY

V této kapitole z hlediska klinické biochemie sledujeme příčiny hypoglykemických a hyperglykemických stavů, z nichž nejdůležitější v dnešní době je problematika diabetes mellitus. Vysvětlíme si příčiny vzniku a typy onemocnění, zaměříme se také na laboratorní diagnostiku tohoto onemocnění, kde má své důležité místo správné provedení glukózového tolerančního testu.

Dále se budeme zabývat možnostmi laboratorního vyšetření krátkodobé a dlouhodobé kompenzace diabetu, stanovení autoprotilátek, AGE látky a jejich vliv na vznik pozdějších komplikací diabetu.

Na konci této kapitoly si vysvětlíme pojem mikroalbuminurie a význam tohoto vyšetření v diagnostice DM.



CÍLE KAPITOLY

Sacharidy jsou vedle lipidů a proteinů další skupinou velmi důležitých látek. Rozlišujeme monosacharidy (nejmenší jednotky bez možnosti další hydrolýzy), disacharidy, oligosacharidy a polysacharidy a mnohem složitější strukturní jednotky, jako např. proteoglykany, glykoproteiny,...

Pokud dojde k poruše metabolismu sacharidů a organismus není schopen udržet homeostázu příslušného sacharidu (především glukózy – základní energetický substrát pro zajištění funkcí mnoha orgánů), dochází buď k jeho nedostatku v organismu (stav hypoglykémie) nebo naopak k jeho hromadění v ECT nebo ICT (stav hyperglykémie) (1). Oba dva stavy mají dopad na ostatní metabolické děje a mohou postupem času vést k orgánovému selhání.



ČAS POTŘEBNÝ KE STUDIU

2 hod.

KLÍČOVÁ SLOVA KAPITOLY

Hypoglykémie, hyperglykémie, diabetes mellitus, IDDM, NIDDM, OGTT, glykemický profil, glykosurie, glykovaný Hb, C-peptid, mikroalbumin, AGE-látky.

12.1 Hypoglykémie

Dolní hranice fyziologického rozmezí pro zdravou populaci je 3,6 mmol/l. Pokud se nachází hodnota glykémie pod tuto uvedenou koncentraci, hodnotíme tuto situaci jako hypoglykemický stav, klinické příznaky se začnou projevovat ale až pod hodnotou glykémie 2,8 mmol/l. Mezi příznaky hypoglykémie řadíme slabost, bolesti hlavy, pocit hladu, studený pot, křeče, později až bezvědomí. Je způsobena neschopností organismu udržet homeostázu glukózy při hladovění (3). Nejvíce ohrožený je v tomto případě mozek, který je závislý na stálém přísunu potřebné energie ve formě glukózy.

12.2 Hyperglykémie

Pro určení stavu hyperglykémie je podstatná informace o koncentraci glukózy v organismu, glykémie na lačno by neměla být vyšší než 6,0 mmol/l, po jídle nad 11,0 mmol/l. Hyperglykémie je projevem mnoha metabolických onemocnění, my se budeme v této kapitole zabývat tím nejpodstatnějším, v středoevropské populaci rozšířeným onemocněním – diabetes mellitus.

12.3 Diabetes mellitus

Diabetes mellitus dělíme podle etiologie na více typů:

- **diabetes mellitus 1. typu – IDDM – DM závislý na inzulínu**
- **diabetes mellitus 2. typu – NIDDM – DM nezávislý na inzulínu**
- **gestační diabetes mellitus**
- ostatní typy diabetu

12.3.1 IDDM

Projevuje se již v mladém věku, jedná se o skutečný defekt tvorby inzulínu, vyvolaný postupnou destrukcí B-buněk Langerhansových ostrůvků (1). Tento defekt funkce sliniv-

ky břišní může být způsoben autoimunitním procesem, může zde mít vliv i také genetická predispozice u rodinného zatížení tímto onemocněním.

12.3.2 NIDDM

Tento typ DM bývá přítomen v rámci tzv. metabolického syndromu. Bývá spojen se způsobem života pacienta, nedostatkem fyzického pohybu, jehož důsledkem dochází k obezitě, hypertenzi, následně DM. Do této skupiny patří až 90 % diabetiků. Jedná se vlastně o rezistenci na inzulin a/nebo o relativní nedostatek inzulinu (1). Při změně způsobu života – zvýšení tělesné námahy, snížení hmotnosti – dochází k velkému zlepšení metabolismu glukózy.

12.3.3 GESTAČNÍ DM

DM matky znamená nebezpečí i pro plod – má velkou porodní hmotnost a hrozí poranění během porodu (1). Provádíme OGGT test u všech těhotných ve 26. týdnu těhotenství stejným způsobem jak u dalších pacientů, existují však přísnější kritéria pro vyhodnocení tohoto testu.

12.4 Diagnostika DM

Referenční meze pro stanovení glukózy se liší podle materiálu, v kterém glukózu diagnostikujeme, platí:

- v celé krvi je glykémie nižší než v séru nebo plazmě (1)
- ve venózní krvi je glykémie nižší než v kapilární krvi (1)

Při posouzení určení diagnózy vycházíme z hodnoty glykémie nalačno, odběr by se měl provést dvakrát a pro určení DM by měl překročit hodnotu 7,0 mmol/l.

Jak jsem již zmínili v bodě 12.2., hodnota glykémie by neměla přesáhnout hodnotu 6,0 mmol/l, pokud se dostaneme s hodnotou ranní glykémie do rozhraní 6,1 – 6,9 mmol/l, mluvíme o tzv. porušené glukózové toleranci a zde provádíme glukózový toleranční test.

12.4.1 OGGT = GLUKÓZOVÝ TOLERANČNÍ TEST

OGGT můžeme provádět dvěma způsoby: perorálním podáním nebo intravenózně (v případě poruchy absorpce glukózy v GITu).

Perorální test:

- preanalytika pacienta – lačnění 8 hodin

- provedeme první žilní odběr na lačno – počkáme na hodnotu glykémie – pokud není vyšší než 6,9 mmol/l, pokračujeme v testu – u těhotných do 5,0 mmol/l
- podání 75 g glukózy ve 250 ml vody – vypít během 5–10 minut
- po 2 hodinách provedeme druhý žilní odběr
- U těhotných se provádí 2 odběry: po 1 hodině a pak následně také za 2 hodiny

Vyhodnocení:

GLYKÉMIE NALAČNO GLYKÉMIE ZA 2 HODINY

normální < 6,0 mmol/l < 7,0 mmol/l

porušená glukózová tolerance 6,1 – 6,9 mmol/l 8,0 - 11,0 mmol/l

DM > 7,0 mmol/l > 7,0 mmol/l

12.4.2 GLYKEMICKÝ PROFIL

Provádíme u pacientů s určenou diagnózou DM pro sledování terapie – sledování účinků podávaných léků a inzulínu (jaký typ podat – s krátkou, střední, dlouhou dobou účinku).

Provádí se několika kapilárními odběry během dne podle příjmu potravy pacienta. Podle počtu odběrů dělíme:

- malý – 5 odběrů – před hlavními jídly a ve 24.00
- velký – 9 odběrů – před hlavními jídly a postprandiálně (2 hodiny po jídle) a ve 24.00

12.4.3 GLYKOSURIE

Glykosurie je hodnocení odpadu cukru močí. Dnes se již pro diagnostiku DM neprovádí z důvodu různého ledvinového prahu pro glukózu u pacientů – výpovědní hodnota tohoto měření je omezená, musíme zde zahrnout také posouzení správné funkce ledvin. Samozřejmě u zdravého jedince by měla být hodnota glykosurie co nejmenší, nejlépe nulová.

12.5 Kompenzace diabetu

Krátkodobá kompenzace DM: zde hodnotíme výsledky měření jednorázové glykémie, glykemického profilu, glykosurie pro rychlou pomoc pacientovi.

Dlouhodobá kompenzace DM: sledujeme hodnotu průměrné glykémie za delší časové období a jiné parametry. Mezi nejvíc stanovované analyty patří:

- **Glykovaný hemoglobin – GHb**

V tomto testu využíváme faktu, že při dlouhodobě zvýšené koncentraci glukózy v krvi dochází ke glykaci krevních bílkovin – aldehydická skupina glukózy se váže na volné aminoskupiny proteinů. Starším testem v této oblasti bylo stanovení fruktosaminu – glykovaný albumin, ale poločas rozpadu albuminu je 2–3 týdny, takže nám tento test podal informaci o hodnotě průměrné glykémie pouze o tomto období. Jako lepší test s delší časovým odstupem až 6–8 týdnů se dnes stanovuje glykovaný hemoglobin – jeho frakce HbA1c, nestabilnější ze tří derivátů vznikajících glykací hemoglobinu. Při správné kompenzaci diabetika by hodnota GHb měla být pod 4,2 % (poměr glykovaného Hb k celkovému Hb).

- **C-peptid**

C-peptid je součástí proinzulínu – prekurzor inzulínu secernovaný beta – buňkami slinivky břišní, který je pak následně štěpen na samotný inzulín a C-peptid. C-peptid je stabilnější než samotný nestálý inzulín, proto v laboratorní diagnostice využíváme k posouzení endogenní sekrece inzulínu vyšetření této zbytkové části prohormonu proinzulínu. Při zanikající syntéze inzulínu u diabetiků 2. typu lze uvažovat o inzulínové terapii těchto pacientů.

- **Autoprotilátky**

Jsou indikovány ke stanovení u diabetiků s DM 1. typu nebo u pacientů, kde očekáváme vývoj patologického autoimunitního procesu a kde průkaz těchto protilátek může předznamenat nástup této nemoci. Mezi stanovované analyty patří:

- ICA – protilátky proti Langerhansovým ostrůvkům pankreatu

Mohou být průkazné již roky před nástupem nemoci.

- Anti-GAD-protilátky proti glutamátdekarboxyláze
- Protilátky proti inzulínu

Mohou být pozitivní u pacientů léčených zvířecím inzulínem (1).

- Anti-IA2 – protilátky proti tyrozinofosfatáze

12.6 Komplikace diabetu

12.6.1 STANOVENÍ MIKROALBUMINU

Stanovení mikroalbuminu znamená stanovení sérového albuminu v moči. Termínem „mikroalbumin“ vyjadřujeme, že se jedná pouze o velmi nízkou koncentraci albuminu, fyziologická hranice u zdravého člověka je do 30 mg/l. Klasické testy – diagnostické proužky na vyšetření moče – jsou schopny zachytit koncentraci bílkoviny (= albuminu) od 150 mg/l, rozmezí koncentrací od 30–150 mg/l už není fyziologické a právě toto rozhraní nazýváme mikroalbuminérií a jeho záchyt je velice důležitý. Tímto vyšetřením jsme schopni posoudit hrozící poškození funkce ledvin, má své opodstatnění nejen u diabetiků, ale i u hypertoniků. K samotnému vyšetření potřebujeme sběr moče za 8 hodin v nočním klidu, nejlépe od 22.00 do 6.00, do laboratoře přinést vzorek moče a hodnotu diurézy.

12.6.2 AGE-LÁTKY

Jak jsem se zmínili již v odstavci 12.5, bílkoviny podléhají při dlouhodobém zvýšení koncentrace glukózy v krvi glykaci. Těto chemické přeměny se zúčastňují i bílkoviny tkání, např. bílkoviny cévního endotelu, glomerulárních membrán, retiny a další. Z tohoto vyplývají následující komplikace u nekompenzovaného diabetika, kdy dochází k poškození funkce ledvin, očí, dolních končetin,...

AGE – látky = konečné produkty pokročilé glykace = advanced glycation end-products.

SHRNUTÍ KAPITOLY



Sacharidy jsou vedle lipidů a proteinů další skupinou velmi důležitých látek. Jejich koncentrace v organismu ovlivňuje mnoho dalších metabolických pochodů. Nejdůležitější stavy, s kterými se můžeme setkat, je stav hypoglykémie nebo hyperglykémie. Onemocnění DM patří do hyperglykemických stavů. Důležitá je včasná diagnostika DM kvůli možným komplikacím a morfologickým změnám, které může toto onemocnění způsobit. V této kapitole jsou uvedeny základní laboratorní testy na diagnostiku DM – OGGT, stanovení glukózy na lačno, autoprotílátky, ... a také na kompenzaci diabetu – glykovaný Hb, C-peptid, stanovení mikroalbuminu,.....

KONTROLNÍ OTÁZKA



1. Dělení DM?
2. Provedení OGGT?

3. Co je to glykovaný hemoglobin?
 4. Co znamená stanovení mikroalbuminu?
 5. Co jsou AGE-látky?
 6. Jaké známe autoantilátky u DM?
 7. Co znamená stav hypoglykémie?
 8. Co znamená stav hyperglykémie?
 9. Co znamená stanovení C-peptidu?
-

13 ENDOKRINNÍ SYSTÉM

RYCHLÝ NÁHLED KAPITOLY



Hormony jsou látky se specifickým působením na určité cílové buňky nebo orgány, jsou produkty endokrinních žláz a jsou účinné ve velmi nízkých koncentracích. Dají se dělit mnoha způsoby, nejjednodušší je dělení na hormony ve vodě rozpustné a nerozpustné, také se dají rozdělit podle chemické struktury, podle endokrinních žláz, které je produkují.

Toto poslední rozdělení použijeme také zde v této kapitole a uděláme si celkový přehled endokrinních orgánů a jejich hormonálních působků, jejich funkcí a vlivů na další metabolické děje v organismu.

Zvláštní kapitolu pak tvoří tkáňové hormony, o těchto se zmíníme na konci této kapitoly, probereme jejich chemickou strukturu a různorodost funkce těchto látek, z nichž čím dál větší význam v laboratorní diagnostice mají cytokiny.

CÍLE KAPITOLY



V této kapitole je uveden celkový přehled základních hormonů působících v našem organismu. V laboratorní diagnostice stanovujeme buď přímo hladinu koncentrací jednotlivých hormonů nebo také můžeme sledovat jejich chování při dynamických testech – ty mohou být stimulační nebo supresivní, další možností je také sledovat přímo působení daného hormonu v jeho cílové tkáni, ve změně metabolismu této tkáně či orgánu (1).

ČAS POTŘEBNÝ KE STUDIU



2 hod.

KLÍČOVÁ SLOVA KAPITOLY



Hormony, dělení hormonů, hormony hypotalamu, TSH, ACTH, PRL, STH, oxytocin, ADH, melatonin, T4, T3, fT4, fT3, kortizol, aldosteron, ABP, inhibin, testosteron, estradiol, progesteron, tkáňové hormony.

13.1 Hormony, jejich dělení

Hormony jsou produkty endokrinních žláz a jejich základní vlastností je působení na určité cílové buňky díky specifickým receptorům přítomným na těchto buňkách. Jsou účinné ve velmi nízkých koncentracích.

Dělíme je na:

- **ve vodě rozpustné** – hormony dřeně nadledvin, peptidové hormony, váží se na receptory na buněčných membránách
- **ve vodě nerozpustné** – steroidní hormony, hormony štítné žlázy, tyto hormony se váží na receptory uvnitř buňky – v cytoplazmě nebo v buněčném jádře

Existuje zde i množství zpětnovazebných mechanismů:

- **negativní** – hormony má negativní vliv na produkci určité látky – př. hodnota glukózy x glukagon
- **pozitivní** – hormon podporuje sekreci určité látky – př. glukóza x insulin

Hormony dělíme také podle chemické struktury:

- **steroidní hormony** – metabolity cholesterolu – pohlavní hormony, hormony kůry nadledvin
- **hormony odvozené od AMK** – hormony štítné žlázy, melatonin, adrenalin,
- **hormony odvozené od mastných kyselin** – prostaglandiny,...
- **bílkoviny a peptidy** – většina hormonů – hormony hypothalamu, GITu, pankreatu,...

13.2 Hormony hypotalamu

- **Tyreoliberin** – TRH: řídí produkci TSH – tyreotropinu
- **Gonadoliberin** – GnRH: řídí sekreci gonadotropinů FSH a LH z adenohipofýzy

- **Kortikoliberin** – CRH: řídí sekreci ACTH a glukokortikoidů
- **Somatostatin** – negativně ovlivňuje produkci růstového hormonu (1)

13.3 Hormony adenohipofýzy

- **Tyreotropin** – TSH: hormon stimulující štítnou žlázu k produkci hormonů T3, T4
- **Gonadotropní hormony: folikulotropin** – FSH, **luteinizační hormon** – LH: tyto hormony mají svoji funkci u každého pohlaví různou – řízení menstruačního cyklu, spermiogeneze, produkce daných pohlavních hormonů, ...
- **Adrenokortikotropin** – ACTH: stimuluje kůru nadledvin k produkci kortisolu
- **Prolaktin** – PRL: stoupá v těhotenství a při kojení – má svou funkci při laktaci, ale také jako stresový hormon
- **Somatotropin** – STH: růstový hormon – má negativní účinek na produkci inzulínu, stimuluje proteosyntézu (1)

13.4 Hormony neurohipofýzy

- **Oxytocin** – jeho funkcí je řízení kontrakcí dělohy při porodu a při laktaci
- **Adiuretin** – ADH: má vliv na funkci ledvin – reguluje zpětnou resorpci vody v distálních a sběrných kanálcích

13.5 Hormon epifýzy

- **Melatonin** – jeho sekrece probíhá v noci - podílí se na řízení „biologických hodin“ člověka, má také antioxidační účinky (likvidace volných radikálů) (1)

13.6 Hormony štítné žlázy

- **Tyroxin T4** – prekurzor pro vznik vlastního účinného hormonu **trijódtyroninu T3**, zvyšují produkci tepla, podílejí se také na průběhu metabolismu sacharidů, lipidů i bílkovin, v krvi jsou transportovány vazbou na bílkoviny – v 99% na TBG: globulin vázající tyroxin, albumin, prealbumin, ale účinná je jen volná frakce hormonů nevázaná na bílkovinu – **fT3, fT4** (1)

13.7 Hormony kůry nadledvin

- **Kortizol** – patří mezi glukokortikoidy – ovlivňují přeměnu všech základních metabolitů, kortizol – stresový hormon (reaguje na stav hypoglykémie) (1)
- **Aldosteron** – zvyšuje resorpci Na v distálním tubulu ledvin – s Na se resorbuje zpět i voda – vede ke zvýšení krevního tlaku

13.8 Pohlavní hormony u mužů

- **Androgen-binding protein** – ABP: ovlivňuje funkci testosteronu ve varleti (FSH)
- **Inhibin:** hormon účastní se zpětnovazebného mechanismu na hypotalamus a hypofýzu (FSH)
- **Testosteron** – TST: stimuluje spermiogenezi (LH)(1)

13.9 Pohlavní hormony u žen

- Estrogeny (**estradiol**) a gestageny (**progesteron**) – mají vliv na děložní sliznici, na její stimulaci k nidaci oplodněného vajíčka, dle potřeby regulují koncentraci dalších hormonů (1)

13.10 Tkáňové hormony

Jedná se o různorodé látky hormonálního charakteru produkované mimo endokrinní žlázy, také funkce těchto látek je velmi rozdílná. Mezi významné z této skupiny řadíme cytokiny – mají v laboratorním měření své místo v diagnostice zánětu, septických stavů, kancerogeneze, v imunitních reakcích, aktivaci komplementu, ...



SHRNUTÍ KAPITOLY

Hormony jsou látky se specifickým působením na určité cílové buňky nebo orgány, jsou produkty endokrinních žláz a jsou účinné ve velmi nízkých koncentracích, dělíme je podle mnoha kritérií, ve vodě rozpustné a nerozpustné, pozitivní a negativní a také podle chemické struktury. Hlavní dělení je provedeno dle endokrinních žláz, kterými jsou produkovány. Velký význam mají hormony hypotalamu a adenohipofýzy, které řídí mnoho dalších metabolických pochodů v našem organismu.

KONTROLNÍ OTÁZKA



1. Dělení hormonů podle chemické struktury?
 2. Základní hormony hypotalamu?
 3. Kde řadíme cytokiny?
 4. Jaké jsou hormony adenohipofýzy?
 5. Jaké hormony řadíme k hormonům štítné žlázy?
 6. Jaký je význam volné frakce fT3, fT4?
 7. Které hormony patří mezi mužské pohlavní hormony?
 8. Které hormony řadíme mezi ženské pohlavní hormony?
 9. Jaké jsou hlavní funkce hormonů kůry nadledvin?
-

14 METABOLISMUS VODY, IONTŮ A STOPOVÝCH PRVKŮ



RYCHLÝ NÁHLED KAPITOLY

Voda je základem vnitřního prostředí, ve kterém probíhá mnoho metabolických pochodů v organismu. Základní dělení celkové tělesné vody je podle daných kompartmentů, ve kterých se vyskytuje, na intracelulární (ICT) a extracelulární (ECT) tekutinu. Tyto tekutiny se liší zastoupením metabolitů, minerálů, bílkovin, lipidů, ...

S přesunem tekutin mezi jednotlivými tělesnými kompartmenty souvisí také pojem vodní bilance, uvedeme si možnosti výdeje a příjmu tekutin v organismu.

V této kapitole probereme metabolismus hlavních iontů – sodíku, draslíku, chloridů, vápníku, hořčíku, fosforu, ale také stopových prvků železa, mědi, zinku, jódu a jiných minerálů.



CÍLE KAPITOLY

Sledování vodní bilance a s ní související koncentrace základních iontů a mikronutrientů je jednou ze základních biochemických parametrů požadovaných v klinické praxi. Zájem o měření mikronutrientů se ještě zvedl se zavedením parenterální výživy, koncentrace stopových prvků se sledují také v intenzivní medicíně.



ČAS POTŘEBNÝ KE STUDIU

2 hod.



KLÍČOVÁ SLOVA KAPITOLY

Vodní bilance, ECT, ICT, IVT, IST, transcelulární tekutina, sodík, draslík, vápník, chloridy, hořčík, fosfor, fluor, mangan, železo, selen, jód, stopové prvky, osmolalita.

14.1 Metabolismus vody

Celková tělesná voda = CTV tvoří 55-60 % celkové hmotnosti organismu. CTV dělíme:

- **intracelulární tekutina = ICT** – 2/3 CTV, voda nacházející se uvnitř buněk
- **extracelulární tekutina = ECT** – 1/3 CTV, voda nacházející se mimobuněčném prostoru

ECT dělíme:

- intravaskulární tekutina= IVT – ¼ ECT, nachází se uvnitř cév
- intersticiální tekutina (tkáňový mok) = IST– nachází se v mezibuněčném prostoru
- transcelulární tekutina – nachází se v tzv. „třetím prostoru“ – v močových cestách kloubní šterbiny, GIT, ...

Mezi ICT a ECT jsou rozdíly v koncentracích iontů, minerálů, bílkovin a jiných metabolitů, musí existovat mechanismy, jak udržet rovnováhu mezi těmito prostory:

- Donnanova rovnováha – mezi prostory se nachází semipermeabilní membrána, která propouští jen malé ionty a molekuly
- iontové pumpy – aktivní přenos proti koncentračnímu gradientu, potřeba energie – štěpením ATP

Koncentrace iontů v ECT:

- anionty: Cl⁻ (102 mmol/l), HCO₃⁻ (24 mmol/l), proteiny, ...
- kationty: nejvíce Na⁺ (140 mmol/l), K⁺ (4,5 mmol/l), Ca²⁺, Mg²⁺, ...

Koncentrace iontů v ICT:

- kationty: nejvíce K⁺ (160 mmol/l), Mg²⁺ (26 mmol/l), Na⁺ (10 mmol/l), ...
- anionty: P (100 mmol/l), proteiny (65 mmol/l), S, HCO₃⁻

14.2 Vodní bilance

Vodní bilance znamená rozdíl mezi výdejem a příjmem tekutin (1). Do příjmu tekutin zahrnujeme nápoje, vodu v potravě, metabolickou vodu, ... Do výdeje započítáváme vodu ve stolici, moč, dýchání, pocení, ...

Co se týče zdravotního stavu pacienta, je také třeba sledovat tzv. vnitřní bilanci – dochází k přesunu tekutiny mezi jednotlivými kompartmenty, přitom zevní bilance vypadá neporušena. Při ztrátách tekutin je důležité vědět nejenom objem, ale i složení této ztracené tekutiny – obsah iontů, bílkovin, minerálů, atd...

14.3 Sodík

Sodík je hlavní extracelulární kation, 50 % se nachází v ECT, 40 % v kostní dřeni, 10 % v ICT. V potravě přijímáme nejvíce ve formě chloridu sodného NaCl. Váže na sebe vodu – v ledvinách retence sodíku je doprovázena retencí vody – 99 % je v tubulárním systému resorbováno zpět, jen 1 % se vyloučí v definitivní moči – řízeno hormonem aldosteronem.

Ztráty sodíku doprovázejí onemocnění GITu (průjmy, zvracení), v potu během sportovních výkonů, cíleně pak v rámci podávání diuretik, ...

14.4 Draslík

Draslík je považován za hlavní intracelulární kation, 98 % se nachází v ICT, 2 % v ECT. V potravě ho nejvíce přijímáme v rostlinné stravě – v ovoci a zelenině. Co se týče ztrát kalia – 90 % je vylučováno močí, zbytek stolicí.

V ledvinách se již většina draslíku vstřebává zpět v proximálním tubulu, jen 10 % se dostane dál do distálního tubulu, kde je následná sekrece draslíku společně s vodíkem regulována výměnou za sodík.

Zvýšené ztráty draslíku mohou být způsobeny cíleně podáváním diuretik, onemocnění GITu (sekrety GITu mají vyšší koncentraci draslíku), ...(1)

14.5 Chloridy

Chloridy jsou považovány za hlavní anionty ECT. Jejich hlavní význam spočívá v udržování acidobazické rovnováhy a také jsou důležitou součástí žaludeční šťávy. Jejich příjem v potravě je zajištěn hlavně ve formě chloridu sodného – NaCl, ztráty jsou závislé na množství příjmu, jinak stejně jako Na^+ jsou bez omezení v ledvinách v glomerulu filtrovány a resorbovány následně v tubulech společně s Na^+ .

V organismu dochází ke ztrátám chloridů močí (i diuretiky), GIT (zvracení), potem, někdy i stolicí, ... (1)

14.6 Stanovení osmolality

Osmolalita je veličina měřící počet částic v daném roztoku bez ohledu na velikost těchto částic. Jednotkou této veličiny je mmol/kg. Fyziologické rozmezí je 275–295 mmol/kg. Udržování osmolality plazmy v tomto rozmezí je funkcí osmoreceptorů v mezimozku, ty regulují produkci hormonu adiuretinu, který reguluje zpětnou resorpci Na^+ i vody v distálním tubulu ledvin.

Osmolalitu můžeme laboratorně měřit mnoha způsoby. Nejčastější je kryoskopická metoda měření na základě deprese bodu tuhnutí – tato je úměrná počtu částic v roztoku.

Osmolalitu lze i vypočítat na základě znalostí jiných analytů: Na^+ , urea, glukóza – podle vztahu

$$\text{osmolalita} = 2 \times \text{Na} + \text{urea} + \text{glukóza}$$

Tento vztah se nedá použít při vysokých koncentracích bílkovin, lipidů, a různorodé látky o malé molekule (laboratorně nejčastěji ethanol).

14.7 Vápník

Většina vápníku – 99 % je vázána v kostech ve formě sloučeniny hydroxyapatitu, zbytek se nachází v ECT, v buňkách velmi málo. Z denního příjmu se vstřebává jen 40 %, zbytek je vyloučen stolicí. Z organismu se pak vápník dostává ven ledvinovou cestou, kde projde přes glomeruly a skoro všechno – 99 % – se resorbuje zpět v tubulech.

Metabolismus vápníku je řízen těmito hormony: parathormon, kalcitonin a vitamín D.

Tento kation má v organismu velký význam. Mezi jeho nejdůležitější funkce patří snižování nervosvalové dráždivosti, nezbytný pro průběh svalové kontrakce, také v hemokoagulaci spouští aktivaci koagulačních faktorů závislých na vitamínu K, je součástí kostní anorganické matrix, uplatňuje se také v laktaci, ... (1)

14.8 Hořčík

Vyskytuje se částečně v kostní matrix, částečně v ICT, jen asi 2 % v ECT. Z denního příjmu se v GITu vstřebává asi 40 %, zbytek je vylučován močí a stolicí. V plazmě ho můžeme najít jak ve volné ionizované formě, tak i ve vázané na bílkoviny nebo přímo v rámci různých komplexů.

Hormonálně je metabolismus hořčíku regulován parathormonem a aldosteronem – oba tyto hormony regulují jeho zpětnou resorpci v tubulech dle potřeb organismu.

Význam tohoto iontu spočívá v jeho mnoha různých funkcích, je součástí mnoha enzymů, podporuje fibrinolýzu, snižuje nervosvalovou dráždivost, inhibuje krystalizaci – zabraňuje vzniku močových konkrementů, ... (1).

14.9 Fosfor

Je součástí kostní tkáně, ale také se nachází v jiných důležitých sloučeninách, např. nukleové kyseliny, zdroj energie ATP, ..., je důležitý v metabolismu sacharidů – podílí se na průběhu glukogenolýzy. Jeho vylučování přes ledviny je řízeno parathormonem – ten brání zpětné resorpci fosfátů.

14.10 Stopové prvky

Fe, Zn, Cu, I, Cr, Se, F, Co, Mn, Ni, As, Sn, V.

Tyto prvky se nachází v organismu ve velmi nízkých koncentracích (nižší než 50 mg/kg), ale jsou pro život nezbytné.

- **Železo** – vstřebává se v tenkém střevě jako Fe^{2+} , jen 7 – 10 % přijatého Fe potravou, v plazmě se váže na transportní protein – transferin, do buněk se dostává vazbou na transferinové receptory na membráně, ukládá se ve formě ferritinu (rychle dostupné dle potřeby organismu) nebo hemosiderinu (hůř dostupné)

- význam Fe – přenos kyslíku (oxidoredukční děje v tkáních), nedostatek Fe – mikrocytární anémie

- **Měď** – absorpce tohoto prvku probíhá v tenkém střevě, v organismu je zabudován do bílkoviny ceruloplasminu (90 % Cu), význam – součástí mnoha enzymů, anti oxidanční ochrana organismu

- **Zinek** – vstřebává se v tenkém střevě, v periférii vázán na transportní bílkoviny, není využíván v játrech jako Fe, Cu – deficit se projeví dříve, význam: podpora antioxidantních mechanismů, nedostatek: poruchy imunity, špatné hojení ran,

- **Jód** – důležitý pro syntézu hormonů štítné žlázy – tyroxinu T4 a trijódtyroninu T3

- **Selen** – vstřebáván v duodenu, resorpci snižuje kadmium, rtuť, zinek, methionin a vláknina, v organismu ve formě selenoproteinů – funkce strukturální, transportní i enzymatické, účinkuje také jako antikancerogen, nutný pro buněčnou imunitu (pro funkci T-lymfocytů), účastí se metabolismu testosteronu a spermiogeneze, ...

- a další

SHRNUTÍ KAPITOLY



Celkovou tělesnou vodu dělíme na ECT a ICT, ECT dělíme dále na IVT, IST a transcelulární tekutinu. Vodní bilance je rozdíl mezi příjmem a výdejem tekutin v organismu. Mezi základní ionty patří sodík, draslík, chloridy, vápník, hořčík, fosfor, sledujeme také mikronutrienty (koncentrace menší než 50 mg/kg), mezi ně patří Fe, Zn, Cu, I, Cr, Se, F, Co, Mn, Ni, As, Sn, V.

KONTROLNÍ OTÁZKA



1. Rozdělení celkové tělesné vody?
 2. Vysvětlit pojem vodní bilance.
 3. Základní ionty ICT a stručná charakteristika
 4. Základní ionty ECT a stručná charakteristika
 5. Základní stopové prvky
-

15 VITAMÍNY



RYCHLÝ NÁHLED KAPITOLY

Vitamíny jsou organické látky potřebné pro organismus, jsou účinné i ve velmi nízkých koncentracích, dělíme je podle rozpustnosti v tucích nebo ve vodě.

Vysvětlíme si pojem hypovitaminóza a hypervitaminóza, příčiny vzniku nedostatku vitamínů a jeho příznaky.

Součástí této kapitoly je přehled nejdůležitějších vitamínů, jejich metabolismus, funkce a vliv na metabolické děje v organismu.



CÍLE KAPITOLY

U vitamínů a také u stopových prvků (kap. 14) je sledování koncentrace těchto parametrů velmi důležité z hlediska jejich nepostradatelných funkcí v organismu, je potřeba znát nejenom depleci, ale také zvýšenou koncentraci, která může způsobovat toxicitu. Sledování stavu těchto laboratorních metod je velmi metodicky náročné, poněvadž hodnoty v séru či plazmě nejsou vždy spolehlivým ukazatelem stavu zásob v organismu (1).



ČAS POTŘEBNÝ KE STUDIU

2 hod.



KLÍČOVÁ SLOVA KAPITOLY

Lipofilní vitamíny, hydrofilní vitamíny, hypovitaminóza, hypervitaminóza, vitamín A, vitamín C, vitamíny řady B, vitamín K, vitamín D, vitamín H, vitamín E.

15.1 Dělení vitamínů

Vitamíny jsou i ve velmi nízkých koncentracích nepostradatelné pro organismus. Většinu z nich musíme přijímat potravou, jen malou část jsme schopni vytvářet vlastními metabolickými pochody.

Základní dělení vitamínů je podle jejich rozpustnosti, dělíme je na vitamíny rozpustné v tucích – **lipofilní (A, D, E, K)** a na vitamíny rozpustné ve vodě – **hydrofilní (B, C)**.

Hypovitaminóza jakéhokoliv z vitamínů znamená jeho nedostatek v organismu, příčiny mohou být různé. Většinou se jedná o nedostatečný příjem v potravě, poruchu utilizace daného vitamínu, poruchu jeho absorpce v GITu, ale také může být způsobena zvýšenou degradací a spotřebou daného vitamínu v organismu. Klinické příznaky nedostatku jednotlivých vitamínů jsou různé podle jeho dané funkce v organismu.

Pojem **hypervitaminózy** značí předávkování daným vitamínem nahromaděným v organismu. Týká se to především vitamínů rozpustných v tucích, tyto vitamíny jsou ukládány v játrech a jejich zvýšená koncentrace může způsobit i toxicitu jater. Vitamíny rozpustné ve vodě tělo neukládá a jejich přebytek vyloučí ledvinami, proto se zde vyskytuje hypervitaminóza jen výjimečně.

15.2 Význam vitamínů

Význam vitamínů:

- vliv na tělesné funkce – vidění (vit. A), krevní srážlivost (vit. D)
- podpora imunitního systému (vit. C, E)
- ve formě koenzymů se účastní důležitých metabolických pochodů – přeměň bílkovin, lipidů i sacharidů na energii, obnova nových tkání (kostní hmota – vit. C, D, B6,..)
- jako prevence i podpůrná léčba některých onemocnění – funkce antioxidantů

Nyní se uděláme přehled nejdůležitějších vitamínů, jejich metabolismus, funkce a vliv na metabolické děje v organismu.

15.3 Přehled nejdůležitějších vitamínů

15.3.1 VITAMÍN A - RETINOL

Tento vitamín přijímáme v potravě přímo nebo ve formě provitaminu beta – karotenu. Z provitaminu získáme hydrolýzou v tenkém střevě dvě molekuly vitamínu A.

Vitamín A se v organismu váže na speciální transportní protein – RBP = retinal-binding protein, aby nedocházelo k renálním ztrátám tohoto komplexu, dochází ještě k vazbě na další bílkovinu – prealbumin (1).

Pro správný vzhled pokožky, pleti, očí, funkci pohlavních žláz a pro správnou funkci sliznic potřebujeme aktivní formu vitamínu A–11–cis-retinal (1). Dalším přínosem pro organismus jsou antioxidační účinky vitamínu A.

Vyskytuje se hlavně v živočišných zdrojích.

Jak již bylo zmíněno dříve, může dojít k hypervitaminóze A, tato je toxická a může způsobovat podrážděnost, také krvácení a praskání rtů. U těhotných žen je nebezpečná kvůli správnému vývoji plodu.

15.3.2 VITAMÍN E - TOKOFEROL

Vitamín E uplatňuje svou funkci v organismu jako součást buněčných membrán a lipoproteinů. Další jeho důležitou funkcí jsou silné antioxidační účinky – likvidace volných radikálů, patří k látkám, které brání oxidaci LDL částic a tím také chrání organismus před cestou vedoucí k rozvoji aterosklerózy.

Vyskytuje se v rostlinných olejích a v listových zeleninách.

Hypervitaminóza E může způsobovat žaludeční problémy, popř. průjemy.

Hypovitaminóza E může vést k poškození buněčných membrán, nervové poruchy a poruchy krvetvorby (hemolytická anémie).

15.3.3 VITAMÍN K - MENADIOL

Je podstatnou součástí v syntéze osteokalcinu v kostní matrix, také se podílí na tvorbě koagulačních faktorů VII, IX a X v játrech a protrombinu, u obou těchto procesů je nutná přítomnost vápníkových iontů, je důležitý pro správnou srážlivost krve.

Vyskytuje se v zeleném ovoci a zelenině.

Hypervitaminóza K je vzácná.

Hypovitaminóza K hrozí lidem, kteří trpí tukovou malaabsorpcí, popř. onemocněním jater, také lidem požívajícím dlouhodobě antibiotika.

15.3.4 VITAMÍN D - CHOLEKALCIFEROL, ERGOKALCIFEROL

Tento vitamín je zčásti přijímán potravou, zčásti se vytváří endogenní cestou z cholesterolu v pokožce pomocí UV světla. V potravě rozlišujeme vitamín D3 – cholekalciferol –

živočišného původu a vitamín D2 – ergokalciferol – rostlinného původu. Obě formy se vstřebávají v tenkém střevě (1).

Podílí se na řízení metabolismu vápníku a fosfátů.

Přítomnost v potravinách: ryby, žloutek, mléko, maso, máslo

Hypovitaminóza D: svalová slabost, ztuhlost, zvýšená křehkost kostí, zvýšený výskyt infekcí, velký nedostatek vede u dětí až ke křivici (rachitis), u dospělých k osteomalacii.

Hypervitaminóza D může vést k narušení správného růstu, k poškození ledvin a jiným metabolickým poruchám.

15.3.5 VITAMÍNY SKUPINY B

- **Thiamin – vitamín B1**

Je nezbytný pro energetický metabolismus, působí proti únavě a má kladný vliv na nervový systém. Organismus není schopen využít tento vitamín, je nutné pokrývat jeho denní potřebu pravidelným příjmem v potravě, je ho spotřeba roste při fyzické námaze, při stresu, ...

Zdroje thiaminu: obiloviny, brambory, droždí, ořechy, maso – vepřové, drůbež, ryby

Hypervitaminóza B1: nelze, pouze ojediněle alergické reakce při perorálním podání

Hypovitaminóza B1: bolesti hlavy, deprese, melancholie, nespavost, ovlivnění koncentrace

- **Riboflavin – vitamín B2**

Tento vitamín je součástí mnoha enzymů podílejících se na funkci dýchacího řetězce (1). Nemá rád světlo, dochází k jeho inaktivaci v potravinách. Účastní se metabolismu sacharidů.

Zdroje riboflavinu: droždí, mléko, vejce, tvaroh, ořechy, brambory, maso

Hypovitaminóza B2: záněty sliznic vnitřní části dutiny ústní, jazyka, ústních koutků, očních spojivek

- **Niacin – vitamín B3**

Nebo také nikotinamid – je nezbytný pro správnou funkci mozku, zúčastňuje se také lipidového metabolismu.

Zdroje niacinu: droždí, luštěniny, játra, tuňák

Hypovitaminóza B3: nespecifické projevy – ztráta chuti k jídlu – ztráta hmotnosti, bolesti břicha, průjemy, nespavost, nervové poruchy

- **Kyselina pantotenová – vitamín B5**

Je součástí koenzymu A (CoA), který je nepostradatelný pro aktivaci organických sloučenin (1). Podílí se také na imunologické odpovědi organismu při tvorbě protilátek. Používá se také v kosmetickém průmyslu ve formě panthenolu.

Zdroje kys. pantotenové: maso, semena, zelenina

Hypovitaminóza B5: není obvyklá, spojena s nedostatkem celého komplexu vitaminů B

- **Pyridoxin – vitamín B6**

Aktivní forma se nazývá pyridoxalfosfát – je součástí mnoha enzymů metabolismu aminokyselin, tuků a bílkovin (1). Podílí se na podpůrné léčbě nervových onemocnění, revmatických chorob, ledvinových kamenů.

Zdroje pyridoxinu: droždí, banán, zelí, mrkev, ořechy, maso,

Hypovitaminóza B6: neurologické poruchy, zapomnětlivost, poruchy GITu

- **Kyselina listová – vitamín B9**

Je velice důležitá pro všechny růstové procesy v organismu, hlavně u těhotných žen je její nedostatek velice nebezpečný pro správný vývoj plodu a může vést k předčasnému narození.

Zdroje kyseliny listové: fazole, obiloviny, játra, listová zelenina

Nedostatek kyseliny listové: nespecifické projevy – únava, ztráta energie

- **Cyanokobalamin – vitamín B12**

Je potřebný pro tvorbu nukleových kyselin – s tím souvisí dělení buněk. Také je důležitý pro správnou funkci nervové soustavy.

Zdroje vitamínu B12: droždí, játra, ledviny, kefír

Hypovitaminóza B 12: se projevuje megaloblastovou perniciózní anémií – způsobena většinou nedostatkem „vnitřního faktoru“ v žaludku (1) (viz. GIT)

15.3.6 VITAMÍN C – KYSELINA ASKORBOVÁ

Nezákladnější vitamín, pokrývá $\frac{3}{4}$ spotřeby vitaminů celkově v organismu.

Má pozitivní účinek na organismus pro své silné antioxidační účinky (s vit. E), zvyšuje odolnost vůči infekcím. Podáváme preventivně jako podpůrný prostředek v době chřipek a nachlazení. Podílí se také na syntéze kolagenu (1).

Zdroje vitamínu C: nejvíce: pomeranč, citron, jahody, rybíz, křen, zelí,..., všeobecně v ovoci a zelenině

Hypervitaminóza C: vylučován ledvinami, nutno pravidelně doplňovat příjmem potravy, mírně laxativní účinek

Hypovitaminóza C: nespecifické příznaky – malátnost, únava, snížená odolnost vůči infekcím, ..., při akutním nedostatku – kurděje – dnes již zřídka

15.3.7 VITAMÍN H - BIOTIN

Nezbytný pro správnou funkci pokožky. Účastní se také reakcí Krebsova cyklu (1).

Zdroje vitamínu H: droždí, játra, ledviny, ořechy, sója

Hypovitaminóza biotinu: deprese, nauzea, kožní projevy (1)

SHRNUTÍ KAPITOLY



Základní rozdělení vitamínů je dle jejich rozpustnosti ve vodě: na lipofilní (nerozpustné) – A, D, E, K a hydrofilní (rozpustné ve vodě) – B, C. Vitamíny mají v organismu mnoho důležitých funkcí, od účasti v metabolických pochodech, v krevní srážlivosti, v imunitních procesech a také jako antioxidanty (C, E).

KONTROLNÍ OTÁZKA



1. Základní dělení vitamínů?
2. Význam vitamínů?
3. Jednotlivé vitamíny, jejich funkce, zdroje?
4. Co znamená pojem hypovitaminóza?
5. Co znamená pojem hypervitaminóza?

16 ZÁKLADY ACIDOBAZICKÉ ROVNOVÁHY



RYCHLÝ NÁHLED KAPITOLY

Acidobazická rovnováha souvisí s metabolickými pochody probíhajícími v organismu pro získání energie a substrátů potřebných k přežití. Úkolem je udržet interval pH krve v referenčním intervalu, výchyly pH je organismus schopen eliminovat krevními puframi, z nichž nejdůležitější je hydrogenuhličitanový pufr.

Také činnost orgánů má svůj podíl na udržení této rovnováhy, hlavně činnost ledvin a plic.

Existují různé typy poruch ABR a také různé způsoby kompenzace těchto poruch, stručný přehled je součástí této kapitoly.



CÍLE KAPITOLY

Hlavní funkcí acidobazické rovnováhy je udržování stálosti vnitřního prostředí pro průběh všech metabolických pochodů, proto udržení pH ve fyziologickém rozmezí je jedním z nejdůležitějších potřeb našeho organismu. Hodnota pH zde vyjadřuje aktivitu iontů H^+ , ta je v krvi nízká, asi 40 mmol/l (1).



ČAS POTŘEBNÝ KE STUDIU

1 hod.



KLÍČOVÁ SLOVA KAPITOLY

Acidobazická rovnováha=ABR, nárazníkové systémy, hydrogenuhličitanový systém, hendersonova-Hasselbalchova rovnice, základní poruchy ABR, smíšené poruchy ABR,

acidóza, alkalóza, měřené veličiny ABR, standardní bikarbonát, aktuální bikarbonát, base excess, saturace hemoglobinu kyslíkem

16.1 Acidobazická rovnováha

Funkcí acidobazické regulace je udržování stabilního prostředí pro průběh potřebných metabolických dějů v organismu, zajišťujících přísun nezbytných živin a získání energie. Těmito reakcemi vznikají nejenom látky užitečné pro organismus, ale také metabolity nepotřebné, které musíme odstranit, jejich hromadění by znamenalo nestabilitu acidobazické rovnováhy a narušení životních funkcí.

Fyziologický referenční interval pH krve je 7,36 – 7,44, stavy pod pH 7,36 nazýváme acidémií, stavy nad 7,44 alkalémií. Úkolem je udržet pH v tomto intervalu. Na splnění tohoto úkolu je organismus vybaven tzv. krevními pufrů, jiným termínem také nárazníkové systémy krve, může si také pomoci ovlivněním činnosti ledvin, plic a dalších orgánů.

16.2 Krevní pufrů

Nárazníkové systémy jsou soustavy látek, které se snaží udržet své pH roztoku i po přidání kyseliny nebo zásady. Tyto systémy tvoří buď pár slabé zásady a její soli=silná kyselina nebo naopak pár slabé kyseliny a její soli=silná zásada. V krvi máme 4 nárazníkové systémy:

- **Hydrogenuhličitanový systém:** 53 % – má největší podíl na udržování stálosti vnitřního prostředí, je to otevřený systém = je v rovnováze s ostatními krevními pufrů, tak jako ostatní systémy má svoji kyselou a zásaditou složku a jejich poměr z dané chemické rovnice udává výslednou hodnotu pH

Hendersonova – Hasselbalchova rovnice

$$\text{pH} = \text{pK} + \log \left(\frac{\text{HCO}_3^-}{\text{H}_2\text{CO}_3} \right)$$

pKzáporný dekadický logaritmus disociační konstanty slabé kyseliny, pro kyselinu uhličitou má hodnotu 6,1.

- **Systém hemoglobin HHb – oxyhemoglobin HHbO₂:** 35 % – v erythrocytech, obě formy mají kyselý charakter, ale oxyhemoglobin je silnější kyselinou.

- **Plazmatické bílkoviny:** 7 % – většina bílkovin má negativní náboj, proto jsou schopny vázat H^+ a tím ovlivňovat celkové pH krve

- **Systém primárních a sekundárních fosfátů:** 5 % – $H_2PO_4^-$, HPO_4^{2-} má své zastoupení spíše v buňkách, při alkalémii váže K^+ a uvolňuje protony, při acidémii naopak.

16.3 Poruchy acidobazické rovnováhy

Rozeznáváme **4 základní poruchy ABR:**

- metabolická acidóza MAC
- metabolická alkalóza MAL
- respirační acidóza RAC
- respirační alkalóza RAL

Toto rozdělení je definováno podle změn na základě hydrogenuhlíčitanového nárazníkového systému. Změny v koncentracích hydrogenuhlíčitanových bází vedou k metabolickým poruchám, změny parciálního tlaku oxidu uhličitého pCO_2 směřují k respiračním poruchám.

Termín **acidóza** – zvýšení kyselých nebo ztrátu alkalických metabolitů.

Termín **alkalóza** – zvýšení alkalických nebo ztrátu kyselých metabolitů (1)

Podle délky trvání poruchy dělíme na:

- akutní
- kompenzované

Vždy následuje snaha organismu o kompenzaci této poruchy – o navrácení hodnoty pH do fyziologických hodnot.

Samozřejmě dochází k mnoha složitějším poruchám ABR než jen tyto 4 základní – nazýváme je **smíšené poruchy**. Mezi nejčastější patří:

- RAC + MAL – př. chronické plicní onemocnění, zvracení
- RAC + MAC – př. srdeční zástava, průjmy, sepse, oběhové selhání
- RAL + MAC – př. jaterní selhání RAL + MAC – zvýšení laktátu (nefunkčnost jater)
- RAL + MAL – př. cirhóza

- MAL + RAL + MAC – jaterní selhání + MAC z ledvinového selhání

Při diagnóze těchto poruch, základních i smíšených, vycházíme nejenom z vyšetření ABR, ale také laboratorně z hodnot základních iontů (Na^+ , K^+ , Cl^-), koncentrace albuminu, laktátu, u ledvinových poruch z hodnot močoviny a kreatininu, moč chemicky.

16.4 Kompenzace poruch ABR

Respirační poruchy jsou kompenzovány činností ledvin – tvorba kyselé nebo zásadité moči – toho docílí zadržováním nebo vylučováním vodíkových iontů podle potřeb organismu – podle vychýlení pH.

Metabolické poruchy jsou kompenzovány činností plic – vylučováním nebo zadržováním oxidu uhličitého. I zde mohou pomoci také ledviny, pokud zrovna selhání tohoto orgánu nebylo příčinou základní poruchy ABR.

Také další orgány se podílejí na korekci pH, odstraňují kyselé metabolity z periferie: srdce (myokard) spotřebovává nahromaděné ketolátky jako svůj zdroj energie, laktát a amoniak jsou metabolizovány v játrech (selhání jater vede k MAL),

16.5 Vyšetření ABR

Měřené veličiny:

- pH: 7,36 – 7,44: skleněná elektroda na principu přímé potenciometrie
- pCO_2 : $5,3 \pm 0,5$ kPa: skleněná elektroda – měření na základě aktivity H^+
- pO_2 : 10,0 – 13,3 kPa: Clarkova elektroda – měření na principu polarografie
- měříme také hodnotu hemoglobinu, pro zlepšení výpočtových vztahů také potřebujeme znát teplotu pacienta

Výpočtové veličiny: je mnoho, mezi základní patří:

- aktuální bikarbonát HCO_3^- : 24 ± 2 mmol/l: vyjadřují koncentraci HCO_3^- v 1 litru krve nasycené kyslíkem za aktuálních podmínek (pCO_2 a tělesná teplota) (1)
- standardní bikarbonát HCO_3^- : 24 ± 2 mmol/l: vyjadřují koncentraci HCO_3^- v 1 litru krve nasycené kyslíkem při pCO_2 5,3 kPa a tělesné teplotě 37°C (1)
- Base excess BE: $0 \pm 2,5$ mmol/l: vyjadřuje množství bází v mmolech (při pCO_2 5,3 kPa a teplotě 37°C), které je nutno z 1 litru ubrat (dodat), aby se pH vrátilo k hodnotě 7,4 (MAC – záporná hodnota, MAL – kladná hodnota) (1)

- saturace hemoglobinu kyslíkem SO_2 : 0,94 – 0,99: vyjadřuje podíl celkového kyslíku v krvi a hodnoty kyslíkové kapacity krve (1)



SHRNUTÍ KAPITOLY

Acidobazická rovnováha souvisí s metabolickými pochody probíhajícími v organismu pro získání energie a substrátů potřebných k přežití. Úkolem je udržet interval pH krve v referenčním intervalu, výchylky pH je organismus schopen eliminovat krevními puframi (= máme 4 nárazníkové systémy), z nichž nejdůležitější je hydrogenuhličitanový pufr. Poruchy ABR dělíme na 4 základní (MAL, MAC, RAL, RAC) a pak smíšené. Kompenzace poruch probíhá hlavně v ledvinách a v plicích, ale také v jiných orgánech (např. srdce, játra, ...). V laboratorní diagnostice dělíme parametry ABR na měřené a výpočtové.



KONTROLNÍ OTÁZKA

1. Hodnoty fyziologického referenčního intervalu krve?
2. Základní nárazníkové systémy krve?
3. Dělení poruch ABR?
4. Jakým způsobem probíhá kompenzace těchto poruch?
5. Základní měřené veličiny ABR?
6. Základní výpočtové veličiny ABR?

17 LABORATORNÍ DIAGNOSTIKA V TĚHOTENSTVÍ

RYCHLÝ NÁHLED KAPITOLY



V této kapitole si probereme fyziologické změny v organismu, ke kterým dochází během těhotenství. S těmi samozřejmě souvisí změny laboratorních testů. Diagnostika těhotenství se opírá o průkaz detekce hormonu hcG v moči nebo v séru.

Během těhotenství se provádí prenatalní screeniny – jedná se o kombinované vyšetření – ultrazvukové vyšetření a biochemický screening daných analytů dle gestace, vysvětlíme si průběh vyšetření I. trimestru a II. trimestru těhotenství.

CÍLE KAPITOLY



Všechny potřebné adaptační změny probíhající v organismu vyvolané těhotenstvím jsou reverzibilní a po porodu by se měly vrátit během několika měsíců do normálu (1). V těle matky probíhají procesy, které mají pomoci plodu v jeho vývoji.

ČAS POTŘEBNÝ KE STUDIU



1 hod.

KLÍČOVÁ SLOVA KAPITOLY



Lidský choriogonadotropin, hemodiluce, PAPP-A, beta-hcG, AFP, MoM, Downův syndrom, Edwardsův syndrom.

17.1 Fyziologické změny organismu v těhotenství

Během těhotenství dochází k hormonálním změnám, jejichž úkolem je připravit mateřský organismus na probíhající fyziologické změny a také pomoci plodu v jeho vývoji

produkcí látek, které jsou pro něho potřebné a které není schopen sám syntetizovat (př. progesteron – tvořen z cholesterolu mateřského organismu).

Všechny tyto změny vedou k adaptacím v těle těhotné ženy, z nichž nejdůležitější:

- **hyperventilace** – mateřský organismus se nachází v lehké respirační alkalóze, aby se zabránilo acidóze plodu
- **zvýšená produkce proteinů** – hlavním úkolem je zabránit krvácení – dochází ke zvýšení koagulačních bílkovin, také je důležité zvýšit koncentraci transportních bílkovin, ale díky hemodiluci tato zvýšená syntéza bílkovin není patrná
- **zvýšení množství červených krvinek** – pro správné okysličení matky i plodu
- **zvýšený srdeční výdej** – kvůli zvýšenému průtoku krve kůží a ledvinami (1)
- **zvýšení plazmatického objemu** – musí se zajistit transport pro plyny a živiny nejen pro matku, ale také pro plod (1)

17.2 Diagnostika těhotenství

V laboratorní diagnostice je průkaz těhotenství založen na detekci hormonu lidského choriogonadotropinu = hcG v séru nebo v moči. Dnešní testy vyskytující se na trhu, i v rámci domácího použití (v moči), jsou schopny označit pozitivní výsledek již asi týden po implantaci zárodku.

Laboratorní vyšetření tohoto parametru je také důležité při podezření na mimoděložní těhotenství, při správném průběhu početí by měl tento laboratorní marker zdvojnásobit svou koncentraci v séru každých 48 hodin.

S požadavkem na vyšetření hcG se také můžeme setkat v rámci onkologického screeningu, kdy hodně vysoké hodnoty tohoto markeru mohou znamenat nález nádorů trofoblastu (mola hydatidosa a choriokarcinom) (1).

17.3 Změny laboratorních parametrů v těhotenství

Vlivem hemodiluce = zředění krve díky zvýšení objemu tekutiny v cévách – dochází ke snížení koncentrace hemoglobinu a samozřejmě je zvýšení glomerulární filtrace.

Také v lipidových testech dochází ke změnám – zvýšení koncentrace cholesterolu i triacylglycerolů (před porodem může až o 250 %) (1).

Co se týče enzymů, aktivita ALT, AST, GMT zůstává nezměněna, někdy mírně snížena, vzroste aktivita ALP díky jejímu placentárnímu isoenzymu.

Z koagulačních bílkovin dochází ke zvýšení koncentrace fibrinogenu a klesá fibrinolýza.

Hladina kyseliny močové začne narůstat od 32. týdne, vrcholu dosáhne den po porodu.

Dalším důležitým testem, který se provádí v klinické laboratoři, je orální glukózový toleranční test, v období mezi 24. – 28. týdnem těhotenství.

17.4 Screening VVV v I. trimestru

Hlavním úkolem těchto vyšetření je detekce vrozených vývojových vad – VVV, hlavně se zaměřujeme na Downův syndrom, tento screening probíhá mezi 11. – 13. týdnem těhotenství, jeho obrovskou výhodou je tedy relativně včasná diagnostika.

Jedná se o kombinovaný test, kdy k laboratorním parametrům je potřeba mít od lékaře také informace z ultrazvukového vyšetření. Z laboratorních parametrů se měří PAPP-A = pregnancy associated plasma protein A a volná podjednotka lidského choriogonadotropinu beta-hcG. Z ultrazvukové vyšetření potřebujeme znát hodnotu NT – nuchální translucence = šíjové projasnění plodu, a hodnotu CRL – temenokostrční délka plodu. Pro vylepšení statistického vyhodnocení testu lze přidat měření nosní kůstky plodu. Ze všech těchto parametrů se pak statistickým vyhodnocením ve speciálních počítačových programech vyhodnotí riziko postižení plodu.

17.5 Screening VVV v II. trimestru

Stanovujeme požadované laboratorní parametry mezi 16.- 21. týdnem těhotenství, jedná se buď o tzv. double test – měříme AFP (alfa – fetoprotein) a hcG, a nebo tzv. triple test, kde k těmto dvěma parametrům měříme ještě koncentraci nekonjugovaného estriolu uE3. Hodnoty těchto laboratorních markerů jsou po korekci na hmotnost matky udávány v MoM = Multiples of Median = násobky střední hodnot pro daný den gravidity (3). Gestáčnický věk nám určí lékař sonografickým vyšetřením. Určité riziko, které má také vliv na určení pozitivitu či negativitu tohoto screeningu a musí být na něj brán zřetel, je věk matky.

AFP – fetální albumin – hlavní sérový protein plodu na počátku 2. trimestru – pak je postupně nahrazován albuminem (1). Zvýšení AFP může svědčit pro NTD (neural tube defekt) – defekty neurální trubice a AWD (anterior wall defekt) – defekty stěny břišní (3), musíme ale vyloučit vícečetné těhotenství, zde je vysoká hodnota AFP přiměřená.

Hlavním úkolem tohoto screeningu je samozřejmě detekce trisomie 21 – Downův syndrom a trisomie 18 – Edwardsův syndrom.



SHRNUTÍ KAPITOLY

Během těhotenství dochází k hormonálním změnám, jejichž úkolem je připravit mateřský organismus na probíhající fyziologické změny a také pomoci plodu v jeho vývoji produkcí látek, které jsou pro něho potřebné a které není schopen sám syntetizovat (př. progesteron – tvořen z cholesterolu mateřského organismu). V laboratorní diagnostice je průkaz těhotenství založen na detekci hormonu lidského choriogonadotropinu = hcG v séru nebo v moči. Důležitými screeniny v těhotenství prováděnými v klinické laboratoři jsou v 11. – 13. týdnu screening VVV I., v 16. – 21. týdnu screening VVV II. a ve 24. – 28. týdnu OGTT.



KONTROLNÍ OTÁZKA

1. Který laboratorní parametr používáme k diagnostice těhotenství?
 2. Fyziologické změny probíhající v těhotenství?
 3. Které parametry používáme ve screeningu I. Trimestru?
 4. Které parametry potřebujeme ke screeningu II. Trimestru?
-

18 LABORATORNÍ DIAGNOSTIKA NUTRIČNÍHO STAVU

RYCHLÝ NÁHLED KAPITOLY



Laboratorní diagnostika nutričního stavu je důležitá z hlediska ovlivnění fyziologických funkcí v organismu a průběh probíhající nemoci se o to více zhoršuje. Mezi chronicky nemocnými a onkologickými pacienty v domácí léčbě je výskyt malnutrice asi 10 %, u nemocných v ústavní léčbě je to 30 až 60 % (1).

Malnutrice je více spojována se stářím (až 50 %), s nemocemi dýchacího ústrojí (45 %), zánětlivými chorobami GITu (80 %), a onkologickými onemocněními (85 %).

CÍLE KAPITOLY



V diagnostice malnutrice je potřeba rozlišit jednoduché hladovění a stresové hladovění. Jednoduché hladovění vede k marasmu, deficit postihuje všechny důležité složky potravy, stresové hladovění může vést ke kwashiorkoru, stav doprovázený sníženou koncentrací albuminu. Samozřejmě zde také podchycujeme stavy jednotlivých malnutricí stopových prvků, vitamínů (hypovitaminózy), ...

ČAS POTŘEBNÝ KE STUDIU



1 hod.

KLÍČOVÁ SLOVA KAPITOLY



Malnutrice, jednoduché hladovění, stresové hladovění, marasmus, kwashiorkor, albumin, prealbumin, transferin, BMI index, IGF-1, MH-3.

Malnutrice je označení pro dlouhodobý stav výživy pacienta, který nestačí pokrýt všechny jeho potřeby (příjem potravy je nedostatečný, přílišný nebo nevyvážený). Deficit se může týkat jen některých složek potravy nebo může postihovat všechny důležité složky potravy.

18.1 Příčiny malnutrice:

- zvýšené ztráty energie
- ztráta chuti k jídlu
- poruchy vstřebávání a trávení
- zvýšení katabolismu
- snížení anabolismu (1)

18.2 Jednoduché hladovění

U jednoduchého hladovění se pacienti adaptují, k pokrytí energetického výdeje je využívají rezervy tuků, šetří bílkovinnou složku a celkově snižují i výdej energie. Toto hladovění celkově vede k **marasmu**, s kterým souvisí celkový pokles příjmu energie a živin (1). Po vyčerpání zásob glykogenu je glukóza získávána jen glukoneogenezí. Koncentrace bílkovin se mění jen u proteinů s kratšími poločasy, koncentrace albuminu se nemění.

18.3 Stresové hladovění

Stresové hladovění je stav organismu, který je výsledkem vzájemného hladovění a probíhajícího zánětu. Klinicky se tento stav vyznačuje hypoalbuminemií a edémy a vede ke klinickému stavu s nízkým stavem bílkovin, který nazýváme **kwashiorkor**. Spolu s degradací tělesných proteinů je uvolňován glutamin, důležitý pro funkci imunitního systému. U těchto pacientů jsou zásoby glutaminu vlivem stresu rychle vyčerpány, což má důsledky pro organismus pacienta – pokles imunitních funkcí, zhoršené hojení ran,...

18.4 Diagnostika malnutrice

18.4.1 BIOCHEMICKÉ PARAMETRY

Za nejlepší ukazatele malnutrice jsou dnes považovány bílkoviny s kratším poločasem – **prealbumin** (2 dny), **transferin** (5 dní). Ale i tyto nejsou zcela spolehlivé, protože v přítomnosti zánětu jsou ovlivněny tímto stavem a mění svoji koncentraci. Pokles prealbuminu je dnes považován za indikátor zánětu, ale zároveň s tímto je hodnocen také jako indikátor nedávného příjmu potravy při současném posuzování markerů zánětu, především CRP (1).

Albumin má velmi dlouhý biologický poločas – 20 dní, i když kdysi byl hodnocen jako indikátor příjmu potravy, dnes již dáváme přednost již dříve zmíněným proteinům, a je v dnešní době hodnocen jako ukazatel zánětlivého procesu.

18.4.2 FUNKČNÍ TESTY

- **sledování respiračních funkcí** – při snížení koncentrace bílkovin v organismu dochází také ke snížení výkonnosti respiračních svalů
- **dynamometrie** – měření maximální síly úchopu (1)
- **počet lymfocytů** – méně než $0,9 \cdot 10^9 / l$ – těžká malnutrice, $0,9 - 1,5 \cdot 10^9 / l$ – mírná malnutrice
- **imunitní funkční testy s antigeny** – při malnutrici je kožní odpověď organismu na intradermálně podané antigeny minimální (negativní), testy závisí také na jiných faktorech - hlavně na věku pacienta a na dlouhodobé užívání některých léků, které mnohou ovlivnit průběh testu

18.4.3 ANTROPOMETRIE

- **Tělesná hmotnost** – hodnotí se hlavně změna hmotnosti za poslední období (měsíc, 3 měsíce, půl roku)
- **Tloušťka kožní řasy** – měří se kaliperem, vypočítáváme tukovou a beztukovou hmotu pomocí standardizovaných tabulek
- **BMI index – body mass index** – vychází z hmotnosti a výšky pacienta, počítáme dle vztahu:

$$BMI = \frac{hmotnost(kg)}{výška(m)} \quad (1)$$

Hodnoty BMI: 20-25: normální stav

18-20: mírná podvýživa

pod 18: podvýživa

25-30: nadváha

nad 30: obezita

18.5 Monitoring nutriční podpory – biochemické ukazatele

18.5.1 PROTEINOVÉ MARKERY

- Albumin – referenční rozmezí: 40-44 g/l, biologický poločas: 20 dní
- Transferin – 2,5-3,1 g/l, 8 dní
- Prealbumin – 0,28-0,35 g/l, 2 dny
- Protein vázající retinol – 55-70 mg/l, 0,5 dne

Nejlepším parametrem na hodnocení nutričního stavu je prealbumin, albumin je zatížen chybou vzhledem ke vztahu k zánětlivým procesům, transferin je závislý zase na stavu železa v organismu a co se týče měření proteinu vázajícího retino, jeho stanovení je drahé a jeho koncentrace je ovlivněna funkcí ledvin a stavem zásob vitamínu A.

18.5.2 BILANCE DUSÍKU

Pacienti s malnutricí mají negativní dusíkovou bilanci, poněvadž jejich příjem dusíku nestačí pokrýt potřebu organismu při ztrátách dusíku (chronická malnutrice) a/nebo jsou u nich ztráty dusíku zvýšené (hyperkatabolické stavy) (1).

18.5.3 SLEDOVÁNÍ IONTŮ

Během nutriční podpory by měly být sledovány koncentrace základních iontů, jejich ztráty močí a počítat jejich bilance (1). Na konkrétním stavu pacienta určujeme frekvenci a rozsah sledování těchto parametrů.

18.5.4 RŮSTOVÝ FAKTOR 1 PODOBNÝ INZULINU

V závislosti na stavu výživy se mění také koncentrace růstového faktoru 1 podobného inzulínu (IGF-1) a jeho vazebných bílkovin – tyto změny jsou na stav výživy citlivé a specifické (1).

18.5.5 VYLUČOVÁNÍ 3-METHYLHISTIDINU

3-methylhistidin je protein nacházející se v kontraktilních bílkovinách. Jeho koncentrace v moči svědčí o probíhajícím katabolismu bílkovin svalů. Ještě lépe je koncentraci tohoto markeru sledovat zároveň s koncentrací kreatininu a provést korekci – vzpocítáme index 3-MH/kreatinin, fyziologické hodnoty indexu: 0,16-0,30 nezávisle na pohlaví a věku.

18.5.6 MIKRONUTRIENTY

Sledujeme také koncentrace stopových prvků (hlavně Zn, Se) a hodnoty vitamínů (C, D, E).

18.5.7 IMUNOLOGICKÉ MARKERY

Jak jsem již uvedli dříve v této kapitole, zde posuzujeme hlavně počet lymfocytů a také reakce na intradermálně podávané antigeny (1).

SHRNUTÍ KAPITOLY



Laboratorní diagnostika nutričního stavu je důležitá z hlediska ovlivnění fyziologických funkcí v organismu a průběh probíhající nemoci se o to více zhoršuje. Malnutrice je označení pro dlouhodobý stav výživy pacienta, který nestačí pokrýt všechny jeho potřeby (příjem potravy je nedostatečný, přílišný nebo nevyvážený). Deficit se může týkat jen některých složek potravy nebo může postihovat všechny důležité složky potravy. Diagnostika malnutrice se opírá o fyzikální testy – antropometrické testy (hmotnost, BMI index, tloušťka kožní řasy, dynamometrie), ale také laboratorní ukazatele – koncentrace proteinů, iontů, mikronutrientů, IGF-1, MH-3, sledování bilance dusíku a další.

KONTROLNÍ OTÁZKA



1. Jaké mohou být příčiny hladovění?
2. Co je to marasmus?
3. Co je to kwashiorkor?
4. Na co se používá dynamometrie?
5. Výpočet a vyhodnocení BMI indexu?
6. Jaké jsou hlavní proteinové markery nutriční podpory?
7. Co znamená stanovení IGF-1?
8. Co znamená stanovení MH-3?

19 ALERGICKÉ STAVY



RYCHLÝ NÁHLED KAPITOLY

Alergie je abnormální, přehnaná reakce našeho imunitního systému, který se snaží ochránit naše tělo před látkami, které ve skutečnosti nejsou nebezpečné a tělo by na ně nemělo reagovat. Alergie se projeví po kontaktu organismu s různými látkami životního prostředí – tyto následně nazveme jako alergeny. Alergeny mohou být pro každého člověka zcela jiného charakteru. Alergickou reakcí pak může být rýma, kopřivka, nebo v nejhorším případě anafylaktický šok, který může končit i smrtí pacienta.



CÍLE KAPITOLY

Je potřeba si uvědomit, že alergenem pro každého jedince může být jakákoliv látka v životním prostředí a pro každého zcela jiná. Alergeny jsou většinou látky bílkovinné povahy. Jednoduché nízkomolekulární látky jsou jen částečnými antigeny (hapteny), kompletním antigenem se stanou až v organismu po navázání na bílkovinu. Doba před vyvinutím alergické reakce se nazývá refrakterní období. Reakční doba je doba, za kterou se vyvine reakce po styku s alergenem. Šoková tkáň je místo průběhu alergické reakce.



ČAS POTŘEBNÝ KE STUDIU

2 hod.



KLÍČOVÁ SLOVA KAPITOLY

Alergen, refrakterní období, reakční doba, Ab IgE, vysokoafinní receptory, nízkoafinní receptory, mediátory alergické reakce, průběh alergické reakce, alergický zánět, druhy alergenů

19.1 Alergie

Imunitní odpověď proti neškodným cizím antigenům = **alergeny**.

Nejedná se o normální obranné reakce – přecitlivělé a poškozující reakce IS – jejich působením vzniká **ALERGIE**.

Alergie – výsledek alergické reakce – protilátková odpověď – Ab třídy **IgE**. Tyto protilátky se váží na receptory na buněčných membránách:

- **Vysokoafinní receptory** – žírné buňky (mastocyty), bazofily – tyto buňky jsou schopny vázat Ab IgE i v malých koncentracích – „čekají“ na setkání s tímž alergenem, který jejich tvorbu vyvolal – alergen přemostí molekuly IgE na těchto receptorech – dojde k uvolnění mediátorů alergické reakce
- **Nízkoafinní receptory** – eozinofily a další krevní buňky – Ab IgE musí být přítomny ve vyšších koncentracích

19.2 Mediátory alergické reakce

- **Preformované** – v cytoplazmě v granulích žírných buněk a bazofilů přítomny v hotovém stavu – histamin, proteolytické a hydrolytické enzymy
- **Nově syntetizované** – některé produkty kyseliny arachidonové (prostaglandiny a leukotrieny)

19.3 Alergická reakce

Shrnutí průběhu alergické reakce: alergická reakce probíhá ve dvou fázích:

- **Senzibilizace** – tvorba specifických IgE při prvním kontaktu s určitým alergenem a vazba těchto protilátek na dané receptory
- **Aktivace** – uvolnění mediátorů po druhém a každém dalším kontaktu s tímž alergenem – 2 fáze:
 1. **Časná fáze:** preformované mediátory
 2. **Opožděná fáze:** nově syntetizované mediátory

Př: Dvofázovost průduškového záchvatu:

- První záchvat je vyvolán preformovanými mediátory
- Histamin – kontrakce hladkých svalů (hlavně průdušinek) a malých cév s následným zúžením dýchacích cest – ztížený výdech – typické pro astmatický záchvat

- Za několik hodin se objeví často druhý záchvat – vyvolán nově syntetizovanými mediátory

ATOPIE:

- Geneticky (dědičně) podmíněná nadměrná přecitlivělost časného typu
- Zhoršuje průběh alergických reakcí
- Atopici – geneticky podmíněná nadměrná reaktivita hladkých svalů plic na histamin a jiné mediátory
- Mají často zvýšené hladiny IgE

19.4 Alergický zánět

Dochází k poškození vlastních buněk, tkání a orgánů – ALERGICKÝ ZÁNĚT.

Alergický zánět:

- **Lokální** – místní projevy (kůže, nosní sliznice)
- **Systémový** – postižení orgánů a tkání – může vést k anafylaktickému šoku

19.5 Alergeny

- Potravinové
- Kontaktní
- Bodavého hmyzu
- Některé léky
- Inhalační – vnější (sezónní), vnitřní, pracovní

19.5.1 INHALAČNÍ VNĚJŠÍ ALERGENY

- pyly stromů, pyly trav, pyly plevelů a bylin – pylový kalendář (pylové stanice)

19.5.2 INHALAČNÍ VNITŘNÍ ALERGENY

- plísně, roztoči a jiný hmyz, domácí zvířata (kočka, pes, králík, morčata, myši – až 100 různých alergenů z jejich srsti, slin, kůže, ...)

19.5.3 INHALAČNÍ PRACOVNÍ ALERGENY

- prach, chemikálie (dezinfekční prostředky, prací prášky, rozpouštědla, ...), pracovní prostředí

19.5.4 POTRAVINOVÉ ALERGENY

- živočišného původu – nejčastější: ryby, krevety, maso (hovězí, méně vepřové), slepičí vejce, mléko (kasein)
- rostlinného původu – obiloviny, luštěniny, semena, ořechy, ovoce, zelenina, koření,..
- potravinové přísady – v dnešní době se používá víc než 3000 různých přísad, tzv. „éčka“

19.5.5 ALERGIE VYVOLANÉ HMYZEM

- bodnutí – včela, vosy, sršeň, komár, čmelák
- kousnutí – mravenci, komáři, klíšťata, blechy, vši, ploštice, ...

19.5.6 LÉKOVÉ ALERGIE

- buď samotný lék nebo jeho metabolit
- fyziologická a genetická dispozice
- skrytý alergen – antibiotikum v mase či jiných potravinách

19.5.7 KOŽNÍ ALERGIE

- ekzém – červené až hnědé svědící vyrážky – puchýře, strupy – převážně dětské onemocnění - atopický ekzém
- kontaktní ekzém – vzniká po kontaktu s některými proteiny kůže:
 - některé kovy (nikl, ...)
 - kosmetické přípravky (deodoranty, ...)
 - latex (rukavice, leukoplast, ...)
 - různé chemikálie (výroba oděvů a obuvi)

19.6 Diagnostika alergií

- **Rodinná anamnéza** – důležitá z hlediska možnosti stanovení diagnózy
- **Fyzikální vyšetření** – klasické interní vyšetření, spirometrie – sledování statických a dynamických objemů
- **Kožní testy** – alergologické ambulance – **prick testy** – sledovaný antigen aplikován na kůži předloktí a kopíčkem proveden jemný vpich do epidermis - použití negativní (ředící roztok) a pozitivní (histamin) kontroly – pozitivní výsledek: po 20 minutách je indurace průměru větším než 4 mm
- **Laboratorní diagnostické testy** – krevní obraz – eozinofily, bazofily, celkové IgE, ECP, ČÁST, specifické IgE, ...



SHRNUTÍ KAPITOLY

Alergie je abnormální, přehnaná reakce našeho imunitního systému, který se snaží ochránit naše tělo před látkami, které ve skutečnosti nejsou nebezpečné a tělo by na ně nemělo reagovat. Alergie se projeví po kontaktu organismu s různými látkami životního prostředí – tyto následně nazveme jako alergeny. Alergeny mohou být pro každého člověka zcela jiného charakteru. Alergickou reakcí pak může být rýma, kopřivka, nebo v nejhorším případě anafylaktický šok, který může končit i smrtí pacienta. Alergeny dělíme dle původu na inhalační, kontaktní, potravinové, vyvolané hmyzem, lékové,.... Diagnostika alergických stavů se opírá o vyšetření rodinné anamnézy, fyzikálních vyšetření, prick testů a také laboratorních testů – nejlépe stanovení specifických IgE na daný alergen.



KONTROLNÍ OTÁZKA

1. Co je to alergen?
2. Jaké máme mediátory alergické reakce?
3. Jaké jsou fáze alergické reakce?
4. Jaké jsou typy receptorů na buněčných membránách pro Ab IgE?
5. Jaké máme typy alergického zánětu?
6. Jak dělíme alergeny podle původu?
7. Jaké jsou možnosti diagnostiky alergických stavů?

20 LABORATORNÍ DIAGNOSTIKA V PEDIATRII

RYCHLÝ NÁHLED KAPITOLY



Dětská populace z hlediska klinické biochemie je úplně odlišná skupina než populace dospělá. I v samotné dětské populaci se v rámci vývoje dítěte mění jaterní, renální, plicní funkce a mnoho dalších metabolických parametrů a s tímto se musí také počítat. V rámci biochemických vyšetření se referenční meze výrazně liší od dospělých. Je také rozdíl mezi nedonošeným dítětem a novorozencem a dítětem staršího věku a adolescenty, kteří se blíží spíše již dospělé populaci svými fyziologickými biochemickými parametry.

CÍLE KAPITOLY



V této kapitole si musíme uvědomit rozdíl požadavků na klinickou laboratoř v rámci požadavků na vyšetření dětské populace, menší objem vzorků – k tomu přizpůsobit požadavky na analytické systémy v laboratoři, které s těmito objemy jsou schopny pracovat, správný odběr pediatrických vzorků a také mít nastaveny správné referenční meze pro dětský věk.

ČAS POTŘEBNÝ KE STUDIU



2 hod.

KLÍČOVÁ SLOVA KAPITOLY



Odběr vzorku, správná technika odběru, interference, referenční rozmezí, Hoffmanova metoda, parametry vzorku, odběr stolice, sběr moči

Jak jsme již zmínili, u dětí postupně dozrávají renální, jaterní, plicní a metabolické (vývoj mikrobiomu) a mnoho dalších funkcí, které mají vliv na spoustu procesů, s kterými musíme počítat. Nejdůležitější zahrnují:

- Ovlivnění farmakokinetiky podávaných léků

- Spotřeba kyslíku – největší u malých dětí, postupně klesá
- Vysoká srdeční akce a vysoký srdeční výdej (1)
- Monitoring vodní a iontové hladiny – rychlý nástup dehydratace v rámci funkčních poruch GITu
- Možnost vzniku hypoglykémie – malé zásoby glykogenů (stres může navodit hypoglykemický stav)

20.1 Odběr krve

Zajistit správný odběr krve v pediatrii (hlavně u nedonošenců a novorozenců) je z hlediska laboratoře podstatný problém (1).

20.1.1 ODBĚR ZE ŽÍLY

Tento způsob odběru se používá hlavně u strašících dětí, které již mají větší a viditelné žíly, které lze použít k odběru a jsou také méně psychicky zatížené pohledem na odběrovou techniku (hlavně jehlu) (1). Většinou se provádí odběr z v. cephalicy. Vlastní odběr provádět dle správné techniky použitého odběrového systému. Po vyjmutí jehly do místa vpichu zatlačit sterilní gázou asi 3 min do zastavení krvácení a přelepít náplastí.

20.1.2 ODBĚR Z TEPNY

Tento se provádí většinou pro vyšetření acidobazické rovnováhy (pro stanovení parciálních tlaků krevních plynů).

20.1.3 ODBĚR ZE VPICHU

Tento odběr preferujeme u malých dětí, u kterých tento způsob odběru není tak psychicky náročný jako odběr ze žíly. S tímto samozřejmě ale souvisí požadavky klinického žadatele na požadovaná vyšetření u dítěte a možnosti klinické laboratoře tyto vzorky zpracovat.

Odběry ze vpichu se nejčastěji provádí z prstu nebo z patičky, možný je také odběr z palce u nohy nebo z ušního lalůčku.

Postup pro odběr:

- Nutno je kůži před vpichem prohřát (odebraný vzorek je totiž směsí arteriální, venózní a kapilární krve s příměsí intersticiální a intracelulární tekutiny)
- Zahřátím místa odběru se zvýší průtok krve – odběr je rychlejší, méně náročný pro dítě

- Místo odběru očistíme dezinfekčním roztokem
- Poté místo osušit sterilní gázou – kvůli možné hemolýze vzorku, na kterou může mít vliv použitý dezinfekční roztok
- Vpich musí být proveden plynule, opatrně, kolmo k povrchu kůže
- Po vpichu musí být první kapka otřena – obsahuje mnoho tkáňové tekutiny
- Po odběru místo vpichu zatlačit sterilní gázou, dokud nedojde k zástavě krvácení – k tomu pomůže patičku, prst zdvihnout nad úroveň srdce
- Koncentrace některých analytů se u této metody odběru liší, podstatný je např. rozdíl v koncentraci glukózy, kde zde je o 10 % vyšší než při odběru ze žíly

20.2 Parametry odebraného vzorku

20.2.1 OBJEM VZORKU

Požadavek opakovaných odběrů je hlavně třeba zvážit u nedonošených a nezralých novorozenců (je důležité sledovat, aby objem odebraných vzorků krve nepřesáhl během 3 dnů více než 10 % celkového objemu krve vzhledem k váze dítěte). Je nezbytné sledovat parametry krevního obrazu – hematokrit, hemoglobin, vyhnout se nadměrným ztrátám krve – klinik musí správně uvážit nutnost odběru.

Co se týče analytických systémů v klinických laboratořích, mnoho z nich používá malé reakční objemy a mají také nízkou spotřebu na jednotlivá vyšetření, v tomto ohledu šel vývoj těchto moderních přístrojů velmi dopředu a vychází pediatrické klinické praxi vstříc svými požadavky na požadované objemy vzorků.

20.2.2 INTERFERENCE

Jako u dospělé populace, i zde se můžeme setkat s hemolýzou, ikteritou či chylozitou odebraného materiálu, je nutno s tímto počítat a hlavně zde v pediatrické klinice se snažit tomuto vyhnout např. správnou technikou odběru, správnou preanalytickou přípravou pacienta. Samozřejmě některé interference jsou dány fyziologicky, např. hyperbilirubiniemie u nedonošenců v prvních dnech života.

20.2.3 OZNAČOVÁNÍ VZORKU

Bývá problém označit všechny potřebné identifikační údaje na malé pediatrické zkumavky, bohužel je nezbytné jako u každého jiného odběru vše správně označit dle dané legislativy – podstatné hlavně příjmení a jméno pacienta, rodné číslo, identifikaci žadatele, datum odběru a jméno osoby provádějící odběr.

20.2.4 VÝBĚR ANTIKOAGULANCIA

V případě požadavku na odběr plazmy je potřeba zkontrolovat, zda použitý antikoagulační prostředek neovlivňuje parametry vyšetření, který klinik požaduje. Nejpoužívanější antikoagulancia: heparin, fluorid sodný, soli kyseliny ethylendiaminotetraoctové – K₂ nebo K₃ EDTA.

20.2.5 SBĚR MOČI

Provést správný sběr moči je u kojenců jeden z velmi obtížných úkolů (1). Zavedení cévky je poslední možnost, které se chceme zde vyhnout, dokud to není nezbytné. Dá se použít standardizovaná tabulka pro očekávané objemy moči u zdravé dětské populace. Jenže tyto používat může být u nemocných dětí velmi diskutabilní. Z 24 hod. sběru se pak po promíchání obsahu moči odebere vzorek, který se řádně označí a odešle do laboratoře. Vlastní sběr začínáme vyprázdněním močového měchýře a od tohoto okamžiku zapsat aktuální čas.

20.2.6 ODBĚR STOLICE

U pediatrických pacientů lze odebírat také vzorek stolice, požadavkem klinika může být stanovení pankreatické elastázy a chymotrypsinu pro diagnostiku insuficience pankreatu nebo diagnózu cystické fibrózy (1), pro vyšetření okultního krvácení či přítomnosti parazitů na mikrobiologické vyšetření. Vzorek stolice nesmí být kontaminován močí.

20.2.7 TRANSPORT VZORKU

Jako u všech ostatních vzorků, zvláště i tyto vzorky pediatrických pacientů by měly být transportovány do laboratoře co nejdříve. Zvláště u parametrů, u kterých to nařizují požadavky na preanalytiku, např. krevní plyny, laktát, amoniak.

20.3 Referenční rozmezí

Správná interpretace laboratorních výsledků závisí na správném určení daných referenčních mezí pro příslušný věk a stupeň vývoje dítěte (1). Pro určení referenčního rozmezí potřebujeme dostatečný počet zdravých korespondentů, což bývá v dětské populaci problém. Je potřeba souhlasu zákonných zástupců k odběru vzorků pro vytvoření referenční skupiny. Někdy se zde používá Hoffmanova metoda – normální referenční meze se stanovují pro nemocniční dětskou populaci nemocných dětí. Ale i tak během vývoje dítěte od narození do 18 let dochází ke změnám tolika parametrů, že je doopravdy obtížné vystihnout všechny potřebné skutečnosti, např. pohlavní dospívání sebou nese radikální změny v klinických referenčních hodnotách pohlavních hormonů.

SHRNUTÍ KAPITOLY



Dětská populace z hlediska klinické biochemie je úplně odlišná skupina než populace dospělá. I v samotné dětské populaci se v rámci vývoje dítěte mění jaterní, renální, plicní funkce a mnoho dalších metabolických parametrů a s tímto se musí také počítat. V rámci biochemických vyšetření se referenční meze výrazně liší od dospělých. Musíme si uvědomit rozdíl požadavků na klinickou laboratoř v rámci požadavků na vyšetření dětské populace, menší objem vzorků – k tomu přizpůsobit požadavky na analytické systémy v laboratoři, které s těmito objemy jsou schopny pracovat, správný odběr pediatrických vzorků a také mít nastaveny správné referenční meze pro dětský věk.

KONTROLNÍ OTÁZKA



1. Jaké typ odběru upřednostňujeme u malých dětí?
 2. Jaké jsou základní parametry odebraného vzorku?
 3. Jaká je správná technika odběru ze vpichu?
 4. Jaká je problematika určování referenčních rozmezí?
 5. Co je to Hoffmanova metoda?
 6. Jaká je problematika sběru moči u novorozenců?
-

21 ZÁKLADY INSTRUMENTÁLNÍ ANALÝZY



RYCHLÝ NÁHLED KAPITOLY

V 18. kapitole si uvedeme stručný přehled instrumentálních metod používaných v klinických laboratořích. Vysvětlíme si základ optických metod, princip metod elektrochemických, klasické fyzikální metody – princip osmometrie, centrifugace – až po novější typy metod, jako je průtoková cytometrie, PCR. Nesmíme zapomenout na elektroforetické metody, izotopové metody a různé principy chromatografických metod. Na konci kapitoly se zmíníme také o hmotnostní spektrometrii.



CÍLE KAPITOLY

V klinických laboratořích používáme ke stanovování analytů spoustu různých fyzikálních a chemických metod. Mezi nepoužívanější patří optické metody, elektrochemické, elektroforetické, fyzikální, izotopové, chromatografické a mnoho dalších. V této kapitole si uvedeme jen základní informace o těchto metodách.



ČAS POTŘEBNÝ KE STUDIU

2 hod.



KLÍČOVÁ SLOVA KAPITOLY

Absorpční fotometrie, Lambert-Beerův zákon, ISE, potenciometrie, elektroforéza, imunofixace, isoelektrická fokusace, blotting, osmometrie, průtoková cytometrie, PCR, chromatografie, hmotnostní spektrometrie

21.1 Optické metody

- **Absorpční fotometrie** – vyhodnocuje kvantitativně změnu intenzity záření po průchodu daným analytickým prostředím, vychází z Lambert-Beerova zákona

$$A = a \cdot c \cdot L \quad (18-1)$$

A absorbance

a molární absorpční koeficient pro danou vlnovou délku

c koncentrace roztoku

L délka optické dráhy

Z tohoto vyplývá, že absorbance je přímo úměrná látkové koncentraci a tloušťce absorbující vrstvy.

Přístroje – fotometry – se skládají ze tří základních částí: zdroj zářivé energie (wolframová žárovka, deuteriová výbojka), filtru nebo mřížky pro vymezení úzkého pásma dopadající zářivé energie (interferenční filtry, monochromátory), detektor (fotonásobič, fotonka, ...)(3).

- **Reflexní fotometrie** – je také principem suché chemie, měříme odražené záření od homogenně zbarvené podložky (př. testovací proužky na vyšetření moče)
- **Plamenová emisní fotometrie** – přivádíme roztok analyzovaného vzorku do bezbarvého plamene (propan nebo acetylen/vzduch) ve formě jemné mlhy – následně měříme intenzitu zbarvení plamene
- **Atomová absorpční fotometrie** – principem této metody je průchod paprsku světla vhodné vlnové délky plamenem, do kterého je rozprašován vzorek
- **Fluorimetrie** – některé látky po ozáření dostatečně silným zdrojem světla jsou schopny vyzařovat fotoluminiscenci (3)
- **Chemiluminiscence** – využíváme průběhu určité chemické reakce, při které dochází k excitaci světla
- **Turbidimetrie** – zde měříme stupeň zákalu, který vznikne při dané chemické reakci v měřicím prostředí, detekujeme procházející světlo zeslabené rozptylem na reagujících částicích

- **Nefelometrie** – zde měříme intenzitu rozptýleného světla na částicích, řádově je citlivější než turbidimetrie a další typy metod...

21.2 Elektrochemické metody

- **Potenciometrie** – principem metody je měření rozdílů potenciálů mezi dvěma elektrodami, indikační a referenční, potenciál na měřené elektrodě je závislý na aktivitě měřeného analytu ve zkoumaném vzorku, k měření používáme voltmetr
- **ISE** – iontově-selektivní elektrody – jedná se opět o elektrodové systémy skládající se z měrné a referenční elektrody, kde citlivou membránu tvoří anorganická sůl, sklovina, iontoměničový roztok, ... Vhodné pro stanovení iontů a CO₂ – přímá metoda (bez ředění vzorku), pro měření v moči musíme vzorek ředit – nepřímá metoda.
- **Ampérometrie** – metoda měřící proud za konstantního potenciálu, dnes již většinou používaná při stanovení glukózy
- **Coulometrie** – při elektrochemické reakci v analyzovaném roztoku se měří prošlý náboj ke stanovení koncentrace analytu – dodnes je to referenční metoda ke stanovení chloridů
- **Konduktometrie** – měříme vodivost analyzovaného roztoku, ta závisí na složení měřeného roztoku – koncentraci iontů, jejich pohyblivosti, teplotě roztoku, ... K měření vodivosti zde máme dvě platinové elektrody.

a další typy metod ...

21.3 Elektroforetické metody

- **Zónová elektroforéza** – založená na rozdílné pohyblivosti částic látky v elektrickém poli, která závisí na velikosti náboje, velikosti molekul a vlastnostech prostředí, nosič: agar, polyakrylamid, ..., vyhodnocení: denzitometr, okometricky, ..., na stanovení frakcí bílkovin, lipoproteinů, jednotlivých izoenzymů,(3)
- **Imunofixace** – princip imunofixace odpovídá principu imuno elektroforézy. Reakce mezi antisérem a protilátkou probíhá přímo na elektroforeogramu. Technika je členěna na fázi elektroforetickou, aplikaci antiséra, barvení a promývání. Jako nosič jsou používány především gely agarózový a acetylcelulóзовый. Důležitá je při diagnostice paraproteinů (3)

- **kapilární elektroforéza** – provádí se v tenkých kapilárách dlouhých až 1 m, plněné polyakrylamidovým gelem nebo analytickým pufrům, výhoda: rychlá, vysoká rozlišovací schopnost, nízká spotřeba vzorku (3)
- **izoelektrická fokusace** – elektroforetické dělení probíhá v gradientu pH, které se mění rovnoměrně od kyselé oblasti do alkalické oblasti (anoda = pH nejnižší, katoda = pH nejvyšší), gradient pH získáme pomocí organických látek, které se v el. poli seřadí podle velikosti svých izoelektrických bodů, nosič: agar, polyakrylamid, využití: dělení izoenzymů, vyšetření mozkomíšního moku – hyperimmunoglobulinémie (RS, ...) (3)
- **blotting** – po provedení elektroforézy převedeme rozdělené bílkoviny z média na aktivovaný nitrocelulózový papír nebo nylonovou membránu, kde se zachytí (adsorpce, elektroblotting) – pak se provádí následná hybridizace DNA (Southern blotting) i RNA (Northern blotting), použití: studium protilátek, DNA, RNA,... (3)

a další...

21.4 Fyzikální metody

- **Osmometrie** – měření osmotického tlaku – přímoúměrný celkovému počtu rozpuštěných nebo disociovaných částic v roztoku, které působí tlak na polopropustnou membránu (3) - osmolalita = látková koncentrace osmoticky aktivních částic v kg rozpouštědla (mmol/kg)
- **Ultracentrifugace** – umožňuje rozdělení částic na základě jejich hmotnosti – nejvíc používaná je metoda sedimentační rychlosti
- **Průtoková cytometrie** – počítání částic a analýza obrazu – souborné vyhodnocení změn rozptylu světla, fluorescence a vodivosti jednotlivých částic v roztoku – proud částic přechází přes laserový paprsek – zde dochází k rozptylu světla elementy a současně k jejich fluorescenci, použití: počítače močových elementů, krevních elementů, atd.
- **PCR** – polymerázová řetězová reakce – nejrozšířenější způsob amplifikace – 3 teplotní kroky: 1. denaturace dvouvláknové DNA na dvě jednovláknové matrice ($t = 95\text{ }^{\circ}\text{C}$), 2. hybridizace – připojení primerů ($50 - 55\text{ }^{\circ}\text{C}$), 3. syntéza nových vláken ($72\text{ }^{\circ}\text{C}$) – 42 – 45 cyklů – zařízení: termocykler, vysoká citlivost metody

a další typy metod...

21.5 Izotopové metody

- **Radioaktivita** = spontánní schopnost prvků vysílat záření, je vlastností atomových jader – vysoká bezpečnostní opatření při práci s radioaktivními látkami – radionuklidy jako značky v imunochemických reakcích – RIA – radioimunoanalýza: označíme antigen, který přidáváme do reakce, radioaktivním prvkem a ten soutěží se stanovovaným analytem o vazebná místa na protilátce, existuje mnoho modifikací této základní metody...

21.6 Chromatografické metody

- **chromatografie na tenkých vrstvách** – vzorky se nanášejí pipetou na hliníkovou fólii s litým silikagelem nebo oxidem hlinitým a vyvíjejí se v chromatografické komoře v soustavě rozpouštědel – na ústupu – dává se přednost kapalinové chromatografii (3)
- **kapalinová chromatografie** – stacionární fáze nemísitelná kapalná nebo molekulové síto, mobilní fáze – kapalina, chromatografické kolony = úzké ocelové, skleněné nebo křemenné kolony, které obsahují nosné částice se stacionární fází – vysoce účinné systémy (3)
- **plynová chromatografie** – mobilní fází je plyn, stacionární fází je pevná látka nebo kapalina (pevné vzorky se předem rozpustí v těkavých kapalinách)

21.7 Hmotnostní spektrometrie

Jednou z nových metod v laboratorní praxi je hmotnostní spektrometrie – vyhodnocení hmotnostního spektra – ve vysokém vakuu hmotnostního spektrometru máme iontový zdroj – molekuly dostávají kladný náboj – procházejí elektrickým polem – jejich rychlost v tomto poli je dána velikostí náboje a svou hmotností – dopadají na detektor = počítač částic. Použití: určí nejen množství látky, ale také její molekulovou hmotnost a její strukturu.



SHRNUTÍ KAPITOLY

V klinických laboratořích používáme mnoho různých vyšetřovacích metod. Základem jsou stále optické metody, ale i metody elektrochemické, klasické fyzikální metody – princip osmometrie, centrifugace – až po novější typy metod, jako je průtoková cytometrie, PCR. Nesmíme zapomenout na elektroforetické metody, izotopové metody a různé

principy chromatografických metod. Také hmotnostní spektrometrie získala své místo v přehledu používaných instrumentálních metod.

KONTROLNÍ OTÁZKA



1. Které metody patří mezi optické metody?
 2. Znění Lambert-Berrova zákona?
 3. Co jsou iontově-selektivní elektrody?
 4. Co je to hmotnostní spektrometrie?
 5. Jaký je princip kapalinové chromatografie?
 6. Jaký je princip metody PCR?
 7. Na co se používá průtoková cytometrie?
 8. Jaký je princip isoelektrické fokusace?
-





















LITERATURA

- [1] Zima T. *Laboratorní diagnostika*, Praha: Galén, 2013
- [2] Dastych, M., Breinek P., a kol. autorů, *Klinická biochemie*, Masarykova univerzita, LF, Brno, 2011
- [3] Racek J. et al., *Klinická biochemie*, Praha: Galén, 1999
- [4] Jabor, A., Zámečník, M. *Preanalytická fáze*, Praha. ČSKB, SEKK, 2005
- [5] Masopust, J., *Klinická biochemie – požadování a hodnocení biochemických vyšetření, část I*, Praha: UK, 1998
- [6] Racek, J., et al., *Klinická biochemie*, Praha: Galén, 2006
- [7] Ehrmann, J., Hůlek. P., *Hepatologie*, Praha: Grada Publishing, 2010
- [8] Klener, P., et al. *Vnitřní lékařství*. 4. přeprac. a dopl. vyd. Praha: Galén -Karolinum, 2011
- [9] Jabor, A. *Vnitřní prostředí*. Praha: Grada, 2008

SHRNUTÍ STUDIJNÍ OPORY

Mou snahou bylo shrnout základní poznatky z klinické biochemie zde uvedených tématických okruhů. Námětů k psaní by bylo mnohem víc, obsáhlost tohoto oboru je velká a prolíná se s jinými klinickými obory. Poznatky zde uvedené jsem čerpala z uvedené literatury a také z vlastní laboratorní praxe. Doufám, že k prvnímu setkání s tímto oborem Vám tato studie bude vyhovovat.

PŘEHLED DOSTUPNÝCH IKON

	Čas potřebný ke studiu		Cíle kapitoly
	Klíčová slova		Nezapomeňte na odpočinek
	Průvodce studiem		Průvodce textem
	Rychlý náhled		Shrnutí
	Tutoriály		Definice
	K zapamatování		Případová studie
	Řešená úloha		Věta
	Kontrolní otázka		Korespondenční úkol
	Odpovědi		Otázky
	Samostatný úkol		Další zdroje
	Pro zájemce		Úkol k zamyšlení

Název: **Klinická biochemie**

Autor: **Stanovská Lenka, Mgr.**

Vydavatel: Slezská univerzita v Opavě
Fakulta veřejných politik v Opavě

Určeno: studentům SU FVP Opava

Počet stran: 125

Tato publikace neprošla jazykovou úpravou.