

KLINICKO-BIOCHEMICKÉ VYŠETRENIA

ZÁKLADY, INTERPRETÁCIA VYBRANÝCH NÁLEZOV

Vysokoškolské pregraduálne skriptá

Daniel Čierny, 2021

Klinicko-biochemické vyšetrenia – základy, interpretácia vybraných nálezov

Vysokoškolské pregraduálne skriptá

Autor:

© MUDr. Daniel Čierny, PhD.

Ústav klinickej biochémie JLF UK a UNM

Recenzenti:

prof. Ing. Mária Mareková, CSc.

prof. MUDr. Ladislav Turecký, CSc.

Vydanie: prvé

Počet strán: 102

Text neprešiel jazykovou, gramatickou a štylistickou korektúrou. Za odbornú a jazykovú stránku zodpovedá autor.

Zverejnené na <http://portal.jfmed.uniba.sk>

ISBN 978-80-8187-107-8

EAN 9788081871078

Biochemistry is the science of life. All our life processes – walking, talking, moving, feeding – are essentially chemical reactions. So biochemistry is actually the chemistry of life, and it's supremely interesting.

Aaron Ciechanover (1947 - ...)

PodĎakovanie

Autor by rád poďakoval prof. MUDr. Dušanovi Dobrotovi, CSc., prednostovi Ústavu klinickej biochémie JLF UK a UNM za vytvorenie priaznivých pracovných podmienok a pomoc pri vzniku tejto publikácie.

Zároveň autor vyslovuje vďačnosť recenzentom, ktorí vzhľadom k ich dlhoročnej praxi v odbore vypracovali posudky a podnetné pripomienky, čím prispeli k zvýšeniu kvality predkladaného odborného textu.

PodĎakovanie za opravy štylistických a gramatických chýb patrí MUDr. Františkovi Nehajovi, PhD., MUDr. Michalovi Cibulkovi, PhD., mojej partnerke a tiež mojej mame.

Predhovor

Aktuálne knižné literárne zdroje sumarizujú množstvo teoretických vedomostí z klinickej biochémie a laboratórnej medicíny. Všeobecne dostupné knihy ako *Klinická biochemie* (Racek et al.) a *Laboratorní diagnostika* (Zima et al.) však jednoznačne presahujú rámec vedomostí potrebných pre študentov medicíny a sú vhodné skôr pre prípravu adeptov k špecializačnej skúške v odbore Klinická biochémia. Okrem toho slúžia ako vynikajúce zdroje odborných informácií pre lekárov a iných pracovníkov v klinicko-biochemickej praxi. Nedávno vydaná slovenská publikácia *Klinická biochémia – Vybrané kapitoly* (Ďurovcová, Mareková, Molčányiová, Turecký) podáva detailné informácie k vybraným okruhom učiva s doplnením o zaujímavé kazuistiky z praxe a okrem študentov je autormi adresovaná hlavne mladým lekárom a laboratórnym diagnostikom v špecializačnej príprave.

Predkladané vysokoškolské skriptá s názvom „KLINICKO-BIOCHEMICKÉ VYŠETRENIA - ZÁKLADY, INTERPRETÁCIA VYBRANÝCH NÁLEZOV“ sú snahou autora o primerane rozsiahlu sumarizáciu základných vedomostí o vlastnostiach laboratórnych vyšetrení, spôsobe vyšetrovania rutinných biochemických parametrov, a o doplnenie súčasných kvalitných literárnych zdrojov o praktickú interpretáciu vybraných klinicko-biochemických náleзов. V prvých dvoch kapitolách sú opísané základné charakteristiky laboratórneho vyšetrenia a celý proces spracovania biologického materiálu od odberu až po získanie laboratórnych výsledkov v klinicko-biochemickom laboratóriu. Tretia kapitola obsahuje konkrétne prípady ochorení u pacientov, ktoré sú pomocou cielených otázok a úloh smerované k rozvíjaniu praktických zručností čitateľa vo vzťahu k indikácii biochemických vyšetrení a interpretácii výsledkov. Vysvetlené biochemické nálezy sú pre správnosť a komplexnosť ich interpretácie doplnené o údaje z klinického vyšetrenia a nálezy zobrazovacích metód.

Cieľovou skupinou čitateľov by mali byť predovšetkým študenti štvrtého ročníka (a vyšších) všeobecného lekárstva Jesseniovej lekárskej fakulty v Martine, Univerzity Komenského v Bratislave, ktorí už viackrát počas výučby predmetu *Klinická biochémia a laboratórna medicína* žiadali „jednoduchú“ učebnicu, kde nájdu informácie z prednášok a praktických cvičení. Okrem nich by však obsiahnuté zhrnuté informácie týkajúce sa laboratórnej praxe, indikácie a interpretácie biochemických vyšetrení mali byť užitočné aj mladým lekárom „absolventom“ v začiatkoch ich klinickej kariéry. Snahou autora bolo

interpretovať a vysvetliť „osud“ vzorky v klinicko-biochemickom laboratóriu, princípy používaných metód a význam jednotlivých základných markerov zaujímavou a prakticky orientovanou formou.

Praktická časť práce obsahuje jeden zaujímavý prípad z laboratória a 14 kazuistík, pričom v každej z nich sú pri uvedení informácií o pacientovi a detailných výsledkoch laboratórnych vyšetrení kladené otázky s následnými správnymi odpoveďami a vysvetleniami. Teoretické informácie o základných biochemických markeroch teda nie sú uvádzané klasickou formou sumáru informácií, ale sú obsiahnuté v celkovo viac ako 90 odpovediach na otázky cielene formované za účelom rozvíjania znalostí aj praktických zručností čitateľa. Práca obsahuje celkovo 39 ilustrácií, 4 tabuľky a 29 detailne spracovaných anonymných výsledkových listov laboratórnych vyšetrení. Všetky ilustrácie, tabuľky a schémy, ktoré sú prítomné v publikácii, boli vytvorené a sformulované autorom.

Obsah

PodĎakovanie	3
Predhovor	4
Obsah.....	6
Zoznam skratiek a znaĥiek.....	8
Zoznam obrĎzkov a tabuliek.....	10
1 Klinická biochémia a jej význam v medicíne	11
2 Laboratórne vyšetrenie	12
2.1 Predanalytická fáza laboratórneho vyšetrenia.....	12
2.1.1 Príprava pacienta a odber biologického materiálu	13
2.1.2 Spracovanie biologického materiálu	16
2.1.3 Zaujímavý prípad – modrá krv.....	19
2.1.4 Aktuálne dostupné laboratórne vyšetrenia	19
2.2 Urgentnosť vyšetrení.....	23
2.3 Analytická fáza laboratórneho vyšetrenia.....	25
2.3.1 Princípy analytických metód v klinicko-biochemickom laboratóriu.....	25
2.3.1.1 Biochemické laboratórium	26
2.3.1.2 Imunochemické laboratórium	28
2.3.1.3 Elektroforetické laboratórium.....	30
2.3.1.4 Molekulárno-genetické laboratórium	31
2.3.1.5 Vyšetrenie acidobázickej rovnováhy	33
2.4 Diagnostické vlastnosti laboratórných markerov.....	34
2.5 Referenčné hodnoty laboratórnej metódy	37
2.6 Analytické vlastnosti laboratórných metód	40
2.7 Hodnotenie kvality práce v laboratóriu.....	42
2.8 Postanalytická fáza laboratórneho vyšetrenia a interpretácia výsledkov.....	43
2.9 Zdroje vzniku chýb laboratórneho výsledku	45
3 Interpretácia vybraných klinicko-biochemických nálezov.....	48
3.1 Prípad 1 Acidobázická rovnováha.....	49
3.2 Prípad 2 Acidobázická rovnováha, funkcia obličiek.....	51
3.3 Prípad 3 Acidobázická rovnováha, markery zápalu a sepsy	54
3.4 Prípad 4 Acidobázická rovnováha, sérové minerály, funkcia obličiek.....	58
3.5 Prípad 5 Zlyhanie obličiek, vitamín D, proteinúria a zber moĥu	61
3.6 Prípad 6 Hepatálne zlyhanie, osmolalita, dusíkaté odpadové látky, septický stav	66

3.7	Prípad 7 Ikterus, minerály, cholestáza	71
3.8	Prípad 8 Acidobázická rovnováha, <i>diabetes mellitus</i> , sepsa	76
3.9	Prípad 9 Kardiomarkery.....	86
3.10	Prípad 10 Život ohrozujúca hyponatrémia	82
3.11	Prípad 11 Vyšetrenie moču, obličky	86
3.12	Prípad 12 Základné vyšetrenie likvoru	94
3.13	Prípad 13 Vyšetrenie pleurálneho punktátu	98
3.14	Prípad 14 Diferenciácia telesných tekutín.....	100

Zoznam skratiek a značiek

ACR	pomer albumín / kreatinín (<i>albumin-to-creatinine ratio</i>)
AFP	alfa-fetoproteín
ALP	alkalická fosfatáza
ALT	alanínaminotransferáza
AMS	alfa-amyláza (<i>alpha-amylase</i>)
ASLO	antistreptolýzín O
AST	aspartátaminotransferáza
BE	výchylka báz (base excess)
bp	bázový pár
CDT	karbohydrát-deficientný transferín
CK	kreatínkináza
CKD-EPI	<i>Chronic Kidney Disease – Epidemiology Collaboration</i>
C _{kreat}	klírens (<i>clearance</i>) kreatinínu
CK-MB	izoforma kreatínkinázy sval-mozog (<i>creatine kinase - muscle, brain</i>)
CMIA	chemiluminiscenčná imunoanalýza
CNS	centrálny nervový systém
CRP	C-reaktívny proteín
DOF	β1-N-deoxyfuranozylhemoglobín
DNA	deoxyribonukleová kyselina
ECLIA	elektrochemiluminiscenčná imunoanalýza
EDTA	etyléndiamíntetraacetát
eGFR	odhadovaná glomerulárna filtrácia (<i>estimated glomerular filtration rate</i>)
ELISA	enzýmová imunoanalýza (<i>enzyme-linked immunosorbent assay</i>)
FPIA	fluorescenčná polarizačná imunoanalýza
G6P-DH	glukóza-6-fosfát dehydrogenáza
GLP	správna laboratórna prax (<i>good laboratory practice</i>)
GMT	gama-glutamyltransferáza
HbA1c	glykovaný hemoglobín
HDL	lipoproteíny vysokej hustoty (<i>high-density lipoproteins</i>)

hod	hodina
HRM	analýza kriviek teploty topenia (<i>high resolution melting analysis</i>)
CHS	cholínesteráza
IFCC	<i>International Federation of Clinical Chemistry</i>
Ig	imunoglobulín
IL6	interleukín 6
KDIGO	<i>Kidney Disease Improving Global Outcomes</i>
LBP	lipopolysacharid-viažúci proteín (<i>lipopolysaccharide binding protein</i>)
LDL	lipoproteíny nízkej hustoty (<i>low-density lipoproteins</i>)
LPS	lipáza (<i>lipase</i>)
LPSC	lipopolysacharid
MODS	multiorgánový dysfunkčný syndróm
NIS	nemocničný informačný systém
NSE	neurónšpecifická enoláza (<i>neuron-specific enolase</i>)
NT-proBNP	N-terminálny fragment prohormónu mozgového nátriuretického peptidu (<i>N-terminal pro-brain natriuretic peptide</i>)
OG	osmolálna medzera (<i>osmolal gap</i>)
PCR	polymerázová reťazová reakcia (<i>polymerase chain reaction</i>)
POCT	vyšetrenie pri lôžku pacienta (<i>point of care testing</i>)
PSA	prostatický špecifický antigén
RFLP	polymorfizmus dĺžky restričných fragmentov (<i>restriction fragment length polymorphism</i>)
rpm	otáčky za minútu (<i>revolutions per minute</i>)
sdLDL	malé denzné LDL (<i>small dense LDL</i>)
SIADH	syndróm neprimeranej sekrécie ADH (<i>syndrome of inappropriate antidiuretic hormone secretion</i>)
SIRS	systémová zápalová odpoveď organizmu (<i>systemic inflammatory response syndrome</i>)
SValZ	spoločné vyšetrovacie a liečebné zložky
ÚKB	Ústav klinickej biochémie

Zoznam obrázkov a tabuliek

Obr. 1 Fázy laboratórneho vyšetrenia podľa času	12
Obr. 2 Vákuové skúmavky uzavretého odberového systému používané k odberu krvi v praxi.....	14
Obr. 3 Venózna krv po centrifugácii.....	15
Obr. 4 Žiadanka sprevádzajúca každú správne označenú vzorku pri doručení do laboratória	16
Obr. 5 Nálepka s čiarovým kódom vytvorená v laboratóriu pre každú prijatú skúmavku	17
Obr. 6 Automatická triediaca linka AutoMate	17
Obr. 7 Možné interferencie v sére.	18
Obr. 8 Sérum pacientky atypicky sfarbené do modra.....	19
Obr. 9 Žiadanky pre pacienta v informačnom systéme	20
Obr. 10 Biochemické vyšetrenia - časť 1	20
Obr. 11 Biochemické vyšetrenia - časť 2	21
Obr. 12 Punktát.....	21
Obr. 13 Sérológia	22
Obr. 14 Záťažové testy	22
Obr. 15 Vyšetrenie DNA	23
Obr. 16 Naliehavé vyšetrenia.....	24
Obr. 17 Princíp merania koncentrácie iónov iónovo selektívnou elektródou	26
Obr. 18 Princíp merania glykémie v sére automatickým biochemickým analyzátorom	27
Obr. 19 Nefelometria a turbidimetria	28
Obr. 20 Stanovenie hladiny vitamínu D (kalcidiolu) elektrochemiluminiscenciou	29
Obr. 21 Imunochromatografický test pre orientačné stanovenie prítomnosti drog v moči.....	29
Obr. 22 Elektroforéza bielkovín ľudského séra	30
Obr. 23 Izolácia DNA – všeobecný princíp a kroky.....	31
Obr. 24 Princípy analýzy mutácií DNA.....	32
Obr. 25 Vzorky krvi zaslané do laboratória k analýze acidobázickej rovnováhy.....	33
Obr. 26 Princíp merania pH a parciálnych tlakov plynov vo vzorke.....	34
Obr. 27 Referenčné medze glykémie.	37
Obr. 28 Určenie referenčného rozmedzia priamou induktívnou metódou	38
Obr. 29 Základné analytické vlastnosti laboratórnej metódy a chyby merania.....	40
Obr. 30 Vzťah správnosti, presnosti a pravdivosti laboratórnej metódy.....	41
Obr. 31 Analytická citlivosť metódy a charakter dodaných výsledkov vyšetrenia.....	42
Obr. 32 Osud vzorky v klinicko-biochemickom laboratóriu – zhrnutie.....	45
Obr. 33 Zjednodušený návod k interpretácii nálezu vyšetrenia acidobázickej rovnováhy	49
Obr. 34 Vzťah glomerulárnej filtrácie a sérovej hladiny kreatinínu.	53
Obr. 35 Vysvetlenie príčiny zmien AG pri metabolickej acidóze.....	55
Obr. 36 Vznik zápalových markerov pri bakteriálnej infekcii a sepe	57
Obr. 37 Výsledky vyšetrenia elektroforézy bielkovín moču	65
Obr. 38 Schématicky znázornené tvary kryštálov v močovom sedimente	75
Obr. 39 Vybrané nálezy mikroskopického vyšetrenia močového sedimentu.....	93
Tab. 1 Vplyv hodnoty cut-off markeru (NSE) na diagnostickú senzitivitu a špecificitu.....	37
Tab. 2 Referenčné hodnoty vybraných laboratórnych parametrov pre zdravých dospelých.....	39
Tab. 3 Zdroje chýb laboratórneho výsledku a ich dôsledky	46
Tab. 4 Časová závislosť zmien sérových hladín zápalových markerov.....	56

1 Klinická biochémia a jej význam v medicíne

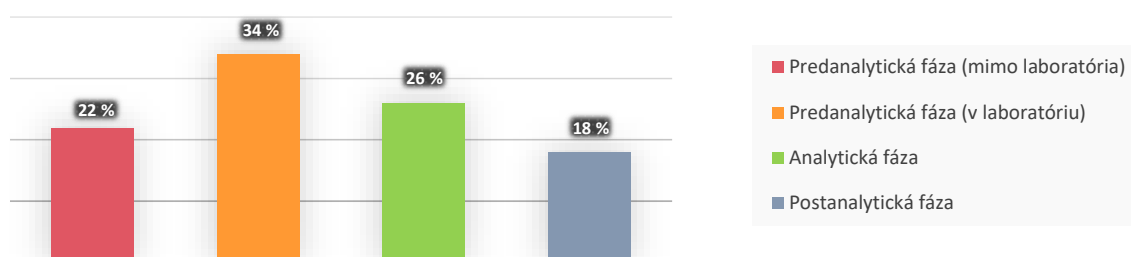
Položme si úvodom niekoľko základných otázok, ktoré by nás mali naviesť k uvedomeniu si mnohokrát neprávom nedoceneného významu laboratórneho vyšetrenia v medicínskej praxi. Vynímajúc urgentné život ohrozujúce situácie sa pýtam: a) Ako často lekár hospitalizuje alebo lieči pacienta bez toho, aby videl výsledky základného biochemického vyšetrenia krvi a moču? b) Začne chirurg operáciu bez toho, aby mal aspoň základné informácie o stave vnútorného prostredia pacienta? Podobných otázok existuje veľké množstvo a verím, že odpoveď je jasná. Dovoľujem si konštatovať, že čím ďalej tým viac sú výsledky laboratórnych testov veľmi dôležitým resp. jediným nástrojom klinického rozhodovania.

Klinická biochémia aplikuje znalosti o biochemických dejoch v ľudskom organizme v klinickej praxi. Klinická biochémia sa zaoberá stanovovaním koncentrácie a aktivity „chemických látok“ v telesných tekutinách, čím lekárovi dáva odpovede na otázky v diferenciálno-diagnostickom procese, skríningu ochorení, predpovedaní prognózy pacienta a výbere správnej liečby resp. monitorovaní jej účinnosti. V súčasnosti je možné v telesných tekutinách analyzovať tisíce zlúčenín, medzi ktoré patria: substráty, produkty metabolizmu, enzýmy, hormóny, liečivá, toxické látky, antigény, protilátky, a mnohé iné.

Klinická biochémia je odvetvím laboratórnej medicíny, a spolu s klinickou hematológiou, klinickou imunológiou a alergológiou, klinickou mikrobiológiou, klinickou farmakológiou a ďalšími disciplínami sú niekedy nazývané aj „SValZ“ (Spoločné vyšetrovacie a liečebné zložky). Neodlúčiteľnou súčasťou práce zamestnancov laboratórií je spolupráca so zdravotníckymi pracovníkmi ordinujúcich kliník, zavádzanie nových laboratórnych vyšetrení, a tiež poskytovanie konzultačných služieb ohľadom odberu a spracovania biologického materiálu alebo interpretácie výsledkov. Laboratórni pracovníci sú vo významnej miere zapojení aj do rôznych vedecko-výskumných projektov a klinických štúdií liečív. Nanešťastie dochádza v posledných desaťročiach k postupnému vzdďľovaniu laboratórnej medicíny od pacienta a práca laboratórií je často považovaná len za istý druh servisu, ktorý produkuje číselné výsledky. Dobré moderné laboratórium však poskytuje komplexné služby čo najvyššej kvality s možnosťou konzultácie a snahou o čo najrýchlejšie dodanie výsledku.

2 Laboratórne vyšetrenie

Cieľom laboratórneho vyšetrenia, ktoré je hlavnou súčasťou komplexne poskytovaných služieb laboratória, je rýchle dodanie presného a správneho výsledku. Zadávateľom vyšetrenia je vo väčšine prípadov lekár, ktorému výsledok z laboratória pomáha pri kompletizácii celkového nálezu (vrátane anamnézy, nálezu klinického vyšetrenia a zobrazovacích metód) a následnej voľbe ďalších správnych postupov v manažmente pacienta. Laboratórne vyšetrenie pozostáva z viacerých fáz, ktoré sú znázornené na Obr. 1 .



Obrázok 1 Fázy laboratórneho vyšetrenia podľa času Najväčšia časť laboratórneho vyšetrenia spočíva v predanalytickej fáze, ktorá časovo predstavuje viac ako 50 % z celého procesu a je tvorená fázou mimo laboratória (indikácia vyšetrenia, príprava pacienta, odber, transport a prvé spracovanie vzorky) a v laboratóriu (príjem, značenie a spracovanie vzorky). Nasleduje samotná analýza, t.j. meranie koncentrácie požadovaných analytov vo vzorke s využitím rôznych metód. Postanalytická fáza zahŕňa zber výsledkov, zhodnotenie a kontrolu ich správnosti, odoslanie výsledkov indikujúcemu lekárovi a ich interpretáciu.

2.1 Predanalytická fáza laboratórneho vyšetrenia

Predanalytická fáza spočíva v postupoch a operáciách od indikácie vyšetrenia po zahájenie analýzy vzorky. Táto fáza významne ovplyvňuje výsledok a vzniká v nej viac ako 60 % chýb. Zahŕňa výber vhodných biochemických parametrov, prípravu pacienta, vlastný odber biologického materiálu, kontrola označenia vzorky, transport vzorky do laboratória, skladovanie a spracovania vzorky v laboratóriu pred začiatkom analýzy.

2.1.1 Príprava pacienta a odber biologického materiálu

Najčastejšie doručovaným biologickým materiálom do klinicko-biochemického laboratória je venózna krv. Pacient musí byť o charaktere a účele odberu náležite poučený a svoj súhlas vyjadrí podpísaním informovaného súhlasu. Odber krvi by mal prebiehať v ranných hodinách, pacient by mal byť v kľude a ležať, nalačno t.j. 10 – 12 hodín (hod) nejesť, bez ťažšej fyzickej aktivity a nadbytočného stresu, s príjmom len životne nevyhnutných liečiv, po zobudení môže vypiť pohár vody alebo nesladeného čaju. Pacient by pred odberom nemal fajčiť, strava posledných aspoň 24 hodín pred odberom krvi by nemala obsahovať nadmerné množstvo alkoholu, sacharidov, tukov a iných neobvyklých potravín. Pred odberom nie je vhodné po naložení škrtidla končatinou cvičiť, taktiež by nemala byť v blízkosti miesta odberu podávaná infúzia. V súčasnosti sa pre odber krvi používa uzavretý vákuový odberový systém a väčšina biochemických markerov sa analyzuje z krvného séra. Po kontrole správnosti odobratého materiálu, označenia skúmavky a žiadanky je potrebné nechať krv po odbere dostatočnú dobu zraziť (ideálne 15 – 30 minút), inak dochádza častejšie k hemolýze erytrocytov a dodatočnému zrážaniu fibrínu, ktorý môže upchať ihly analyzátor a spôsobiť nasatie menšieho objemu a tým falošne nižšie hodnoty výsledku. Moderné analyzátory však už majú systém detekcie prítomnosti zrazeniny, pričom v prípade jej prítomnosti je upozornený personál a analýza sa opakuje. Biologický materiál by mal byť transportovaný bez mechanického stresu (napr. nadmerné pretrepávanie, vibrácie) a bez výkyvov teploty (termo nádoby), pretože môže dôjsť k jeho poškodeniu a hemolýze vzorky. Doručenie vzorky samotným pacientom nie je vhodné, a laboratórium by od pacienta materiál nemalo prebrať.

Otázka A Aké skúmavky a postupy použijeme pre získanie krvného séra a krvnej plazmy, a aký je medzi týmito tekutými fázami krvi rozdiel? Aké analyty vyšetrujeme z plazmy?

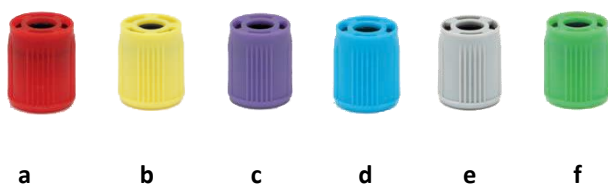
Odpoveď A Obe získame centrifugáciou plnej krvi pri cca 4000 otáčkach za minútu (rpm, *revolutions per minute*) v trvaní 5 – 10 minút a teplote 4 °C, pričom dochádza k urýchlenému oddeleniu krvných elementov od tekutej fázy. Krvné sérum získame so zrazenej krvi, krvná plazma sa získa z nezrážanlivej krvi a na rozdiel od séra obsahuje aj koagulačné faktory. Okrem toho rozdiel spočíva aj v koncentráciách niektorých analytov, napr. v sére sú pozorované mierne vyššie hladiny draslíka, laktátu, amoniaku, lipidov, a mierne vyššie aktivity laktátdehydrogenázy, alkalické fosfatázy, gamaglutamyltransferázy.

Pre odber krvi na **separáciu krvného séra** používame skúmavky s obsahom aktivátora zrážania krvi (SiO_2 nanosený na steny). Skúmavky môžu byť bez alebo s obsahom inertného separačného gélu, ktorý bráni opätovnému premiešaniu krvného koagula so sérom, umožňuje dlhšie skladovanie vzorky a šetrí prácu, keďže nie je potrebný prenos séra do ďalšej skúmavky.

Pre odber krvi na **separáciu krvnej plazmy** máme viacero možností použitia rôznych antikoagulačných látok (citrát, soli etyléndiamíntetraacetátu - EDTA, heparinát lítny, oxalát). V praxi sa najčastejšie používajú skúmavky s draselnými soľami EDTA (K_2EDTA , K_3EDTA), a to nielen pre izoláciu krvnej plazmy, ale aj pre analýzu krvného obrazu v hematologickom laboratóriu. Pozor treba dať pri analýze hladiny draslíka, ktorého koncentrácia môže byť pri použití týchto skúmaviek falošne zvýšená. Jednotlivé typy používaných odberových skúmaviek sú zobrazené na Obr. 2. Zložky venózne krvi odobraté v dvoch najčastejšie používaných typoch skúmaviek po centrifugácii vidíme na Obr. 3.

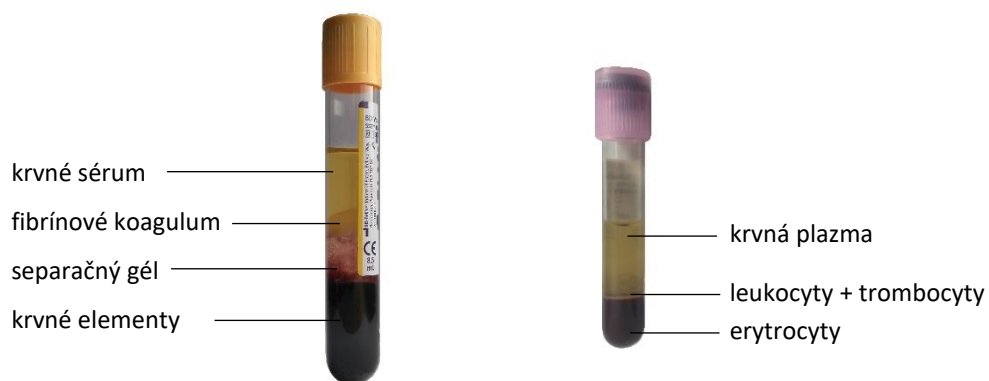
Otázka B Aké ďalšie typy odberových skúmaviek poznáte a pri akých analýzach ich využívame?

Odpoveď B Skúmavky s obsahom citrátu, ktorého koncentrácia musí byť presne dodržaná (3,8 %) sa používajú pri koagulačných testoch. Skúmavky s obsahom $\text{NaF} + \text{EDTA}$ bránia nielen koagulácii ale inhibujú glykolýzu, a preto sa využívajú pri presnom stanovení glykémie a koncentrácie laktátu z plazmy. Pri použití skúmaviek s obsahom heparinátu lítneho získame krvnú plazmu vhodnú pre stanovenie iónov.



Obrázok 2 Vákuové skúmavky uzavretého odberového systému používané k odberu krvi v praxi

- a - aktivátor zrážania krvi → koagulácia → centrifugácia → krvné sérum
- b - aktivátor zrážania krvi + separačný gél → koagulácia → centrifugácia → krvné sérum
- c - K_3EDTA → nezáraňanlivá krv → centrifugácia → krvná plazma
→ vyšetrenie krvného obrazu
- d - citrát → nezáraňanlivá krv → centrifugácia → krvná plazma
- e - $\text{NaF} + \text{EDTA}$ → nezáraňanlivá krv s inhibíciou glykolýzy → centrifugácia → krvná plazma
- f - heparinát lítny → nezáraňanlivá krv → centrifugácia → krvná plazma



Obrázok 3 Venózna krv po centrifugácii V skúmavkách vidíme zložky krvi po jej zrazení a centrifugácii. Fibrínové koagulum v sére nie je žiadúce a vzniká v prípade, že sa krv nenechá dostatočnú dobu zraziť. Skúmavka pre odber plazmy (EDTA) neobsahuje gél, a pri pipetovaní plazmy treba dať pozor aby sa špičkou pipety nepremiešali alebo nenasali sedimentované krvné elementy.

Otázka C Je možné stanoviť všetky biochemické parametre aj v krvnom sére aj v plazme?

Existujú aj analyty, ktoré vyžadujú výlučne stanovenie z krvnej plazmy?


Odpoveď C V biochemickom laboratóriu je možné mnohé analyty stanoviť aj v sére aj v krvnej plazme, pokiaľ to umožňuje príslušný reagenčný kit a analytický postup poskytovaný výrobcom. Väčšina analytov, ako sme už spomínali sa vyšetruje z krvného séra. Existujú však aj biochemické parametre, ktoré sa **stanovujú iba z krvnej plazmy**, či už v dôsledku princípu metodiky stanovenia alebo iných zákonitostí, aktuálne v našom laboratóriu medzi tieto patrí - laktát, amoniak, presepsín, troponín I, NT-proBNP (N-terminálny fragment prohormónu mozgového nátriuretického peptidu, *N-terminal pro-brain natriuretic peptide*).

Okrem venózne krvi je možné vykonať analýzu biochemických parametrov z arteriálnej alebo kapilárnej krvi, ktoré sa používajú predovšetkým pre určenie stavu acidobázickej rovnováhy (tzv. ASTRUP). Kapilárna krv sa využíva aj pre meranie glykemického profilu diabetických pacientov. Pre vyšetrenie acidobázickej rovnováhy musí byť kapilárna krv arterializovaná, t.j. bruško prsta je pred odberom hyperemizované masírovaním alebo miernym zahriatím pod tečúcou teplou vodou. Nezážnosť je zabezpečená heparínom, ktorým sa preplachuje injekčná striekačka, alebo sú ním potiahnuté steny odberových kapilár.

2.1.2 Spracovanie biologického materiálu

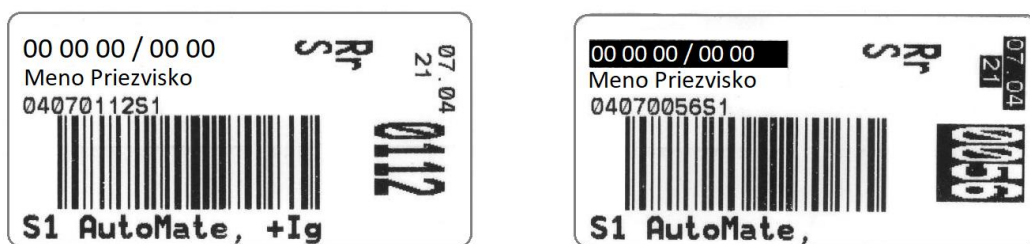
Veľmi dôležitým krokom v predanalytickej fáze vyšetrenia mimo laboratória je správne **označenie biologického materiálu**. Identifikácia odberovej skúmavky je zabezpečená „identifikačným štítkom“, ktorý je nalepený na skúmavke a musí obsahovať meno pacienta, rodné číslo, diagnózu, kód zdravotnej poisťovne, a identifikáciu odosielaajúceho oddelenia a lekára. Nesprávne označený biologický materiál nesmú pracovníci laboratória prijať. Výnimkou je príjem vzorky pri *periculum mortis*, alebo ak sa jedná o vyšetrenie statimového charakteru u pacienta v akútnom stave, ktorý ešte nebol identifikovaný. Odsielaajúce pracovisko má však povinnosť dodatočnej identifikácie materiálu. Takisto treba pri značení biologického materiálu dbať na to, aby vzorky od jednotlivých pacientov neboli zamenené.

Každá správne odobratá a označená vzorka je sprevádzaná tlačenu formou žiadanky, ktorá je vytlačená po výbere parametrov z elektronickej žiadanky v nemocničnom informačnom systéme (NIS) (Obr. 4).

Žiadanka laboratórneho vyšetrenia		č.	rutina	Tlač	6.4.2021 13:08:14
Meno Priezvisko	Poist. číslo ZP	Odosielaajúce oddelenie	UNM Martin	UKB	
Rodné číslo		Odd.: kód oddelenia kód lekára	Kollárova 2	036 59 Martin	
Dg.: kód MKCH-10		Meno Priezvisko tituly lekára	Odber vykonaný: 07.04.2021 / 06:00		
ID prípadu:		odporučil: -	RČM:		
Interleukín - 6	Glukóza	Kreatinín	Bilirubín celkový		
Bilirubín konjugovaný	GMT	AST	ALT		
ALP	LD	Sodík	Draslík		
Chloridy	Fosfor	CRP	Horčík		
Transferín					
Urgentnosť: RUTINA / STATIM / PERICULUM MORTIS					
Poznámka pre lab.:					
		6.4.2021	pečiatka a podpis indikujúceho lekára		

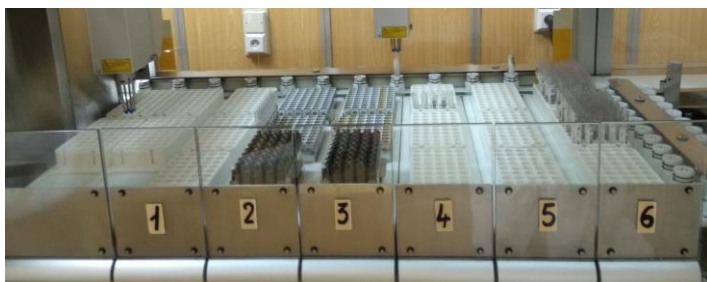
Obrázok 4 Žiadanka sprevádzajúca každú správne označenú vzorku pri doručení do laboratória Žiadanka musí obsahovať: meno a priezvisko pacienta, rodné číslo pacienta, kód zdravotnej poisťovne, kód diagnózy MKCH-10, údaje o odosielaajúcom oddelení a lekárovi, číslo vzorky, čas a dátum vykonania odberu biologického materiálu, zoznam vyšetřovaných parametrov, urgentnosť, čiarový kód, pečiatku a podpis indikujúceho lekára.

Načítaním čiarového kódu žiadanky pri prijímovom okienku laboratória dochádza k zaevidovaniu vzorky a prideleniu identifikačného čísla v laboratórnom informačnom systéme. Zároveň sa vzorka označí novým čiarovým kódom, podľa ktorého bude rozpoznávaná všetkými prístrojmi a analyzátormi v laboratóriu (Obr. 5).



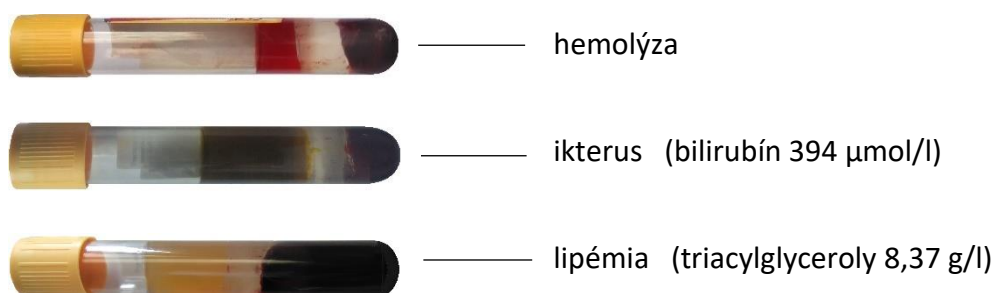
Obrázok 5 Nálepka s čiarovým kódom vytvorená v laboratóriu pre každú prijatú skúmavku Nálepka obsahuje okrem čiarového kódu, ktorý je rozpoznávaný jednotlivými analyzátormi aj údaje o pacientovi (meno a priezvisko, rodné číslo), dátum prijatia vzorky, číslo vzorky (čierne pozadie označuje vzorku „statim“). Kód pod menom a priezviskom umožňuje vyhľadanie vzorky v triediacej linke AutoMate v prípade „doordinácie požiadaviek“ podľa čísla nad čiarovým kódom: prvé štvorčísle – mesiac, deň, druhé štvorčísle – číslo vzorky, S1 – sérum. +Ig znamená, že vzorka bude mať vytvorenú alikvótu pre meranie imunoglobulínov (Ig).

Po centrifugácii je vzorka presunutá do automatickej triediacej linky AutoMate, ktorá podľa čiarových kódov rozpozná žiadané parametre a vzorky roztriedi do jednotlivých úsekov laboratória (Obr. 6). Podľa potreby sú zároveň vytvorené „aliquóty“, t.j. prístrojom je odpipetovaná časť vzorky do ďalšej skúmavky s identickým označením čiarovým kódom. Tento krok umožňuje paralelnú analýzu vzorky na viacerých úsekoch, čím skracuje čas dodania výsledku. Ak je potrebné analyzovať ďalšie markery, pričom vzorka sa už nachádza v laboratóriu, stačí zaslať novú žiadanku s požadovanými parametrami, pridať označenie „doordinácia požiadaviek“. Analýzy časovo stabilných parametrov môžu byť vykonané počas celej doby skladovania vzorky v laboratóriu, čím sa znižuje zaťaženie pacienta opakovanými odbermi krvi. Vzorky sú v chladiacej miestnosti archivované 72 hodín, potom sú zlikvidované ako biologický odpad.



Obrázok 6 Automatická triediaca linka AutoMate Jednotlivé stojany v triediacej linke (označené číslami 1 – 5) obsahujú vzorky, smerujúce k rôznym analyzátorom, resp. vzorky, ktoré už boli analyzované a sú určené pre archiváciu v chladiacej miestnosti (číslo 6). Vľavo a vzadu v strede vidíme posuvné ramená, ktoré triedia vzorky.

V moderných laboratóriách sú pre každú vzorku pred analýzou merané tzv. sérové indexy - hemolytický, lipemický a ikterický, ktoré sa uvádzajú pri výsledku vyšetrení a nepriamo udávajú koncentráciu hemoglobínu, lipidov a bilirubínu. Jedná sa o číselné údaje, ktoré sa získajú meraním absorpcie pri vlnových dĺžkach absorpčného maxima týchto látok. Vzorky séra so zvýšeným obsahom týchto látok sú zobrazené na Obr. 7. V prípade veľmi vysokých koncentrácií môže dochádzať k interferenciám, čiže interakcii s meraním jednotlivých biochemických parametrov a nameraniu nesprávneho výsledku.



Obrázok 7 Možné interferencie v sére Prítomnosť zvýšenej koncentrácie sérového hemoglobínu (červené sfarbenie), bilirubínu (žlté až tmavozelené sfarbenie) a lipidov (mliečne zakalenie) môže spôsobiť chybné odmeranie koncentrácie stanovovaných analytov interakciou s prebiehajúcou chemickou reakciou alebo fotometriou.

Otázka D Aký ďalší biologický materiál okrem krvi je možné zaslať na vyšetrenie do klinicko-biochemického laboratória a aké odberové nádoby používame?

Odpoveď D Okrem krvi v klinicko-biochemickom laboratóriu vyšetrujeme moč, cerebrospinálny mok, žalúdočnú šťavu, punktát (pleurálny, peritoneálny, synoviálny, ascites), aspirát z pankreatických cýst resp. z *ductus pancreaticus*, tekutinu - likvorea vs. rhinorea, dialyzát, stolicu. Ďalšie informácie o vyšetreniach jednotlivých druhov biologického materiálu budú uvedené v nasledujúcich kapitolách. Uvedené druhy biologického materiálu do laboratória transportujeme v čistých odberových skúmavkách bez akýchkoľvek adjuvans, v prípade že vzorka bude centrifugovaná (likvor) je vhodné použiť odolnejšie polypropylénové skúmavky.

2.1.3 Zaujímavý prípad – „modrá krv“

Do laboratória prišla vzorka venózne krvi od 83-ročnej pacientky s karcinómom prsníka v rámci predoperačných vyšetrení pred odberom biopsie sentinelovej lymfatickej uzliny. Po centrifugácii bolo sérum atypicky sfarbené do modra (viď Obr. 8). Laborantky sa s takouto zvláštnosťou nestretli počas ich viac ako 30-ročnej praxe.



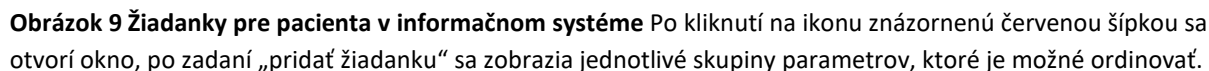
Obrázok 8 Sérum pacientky atypicky sfarbené do modra

Otázka E Ako by ste uvedený nález vysvetlili?

Odpoveď E Pri prvom pohľade na vzorku by sme mohli zvažovať sfarbenie séra v dôsledku hyperbilirubinémie (tzv. verdínový posthepatálny ikterus). Hladina konjugovaného bilirubínu v sére však bola v norme ($4,7 \mu\text{mol/l}$), a iba veľmi mierne bola zvýšená hladina celkového bilirubínu ($22,2 \mu\text{mol/l}$). Preto sme zvažovali zafarbenie séra liečivami, alebo nejakou inou látkou. Neskôr bolo zistené, že pacientke bolo subkutánne vstreknuté farbivo „*patent blue*“, ktoré slúži po jeho transporte lymfatickými cievami k lokalizácii sentinelovej uzliny.

2.1.4 Aktuálne dostupné laboratórne vyšetrenia

Na Ústave klinickej biochémie JLF UK a UNM je aktuálne možné stanovenie nasledovných parametrov, ktoré uvádzame pre prehľadnosť vo forme, v akej je možné ich indikovať v nemocničnom informačnom systéme po kliknutí na ikonu „Žiadanky pre pacienta“ (Obr. 9). Pod obrázkami s panelmi markerov (Obr. 10 – 15) je stručný opis skupín vyšetrení, detailné vysvetlenia k jednotlivým vyšetreniam budú uvádzané v ďalších kapitolách. Dlhodobou snahou je však v spolupráci s klinikami a ústavmi JLF UK a UNM panely poskytovaných vyšetrení neustále rozširovať o nové markery.



Obrázok 10 Biochemické vyšetrenia - časť 1 Zaškrtnutím odôvodnene indikovaných parametrov vytvárame elektronickú žiadamku v informačnom systéme. Pri ordinácii je vhodné zvážiť aj cenu vyšetrenia, ktorá je znázornená farebne. Zobrazené Biochemické vyšetrenia (časť 1) zahŕňajú markery v sére - metabolity a enzýmy, lipidy, elektrolyty, železo, imunoglobulíny, sérové proteíny, elektroforetické vyšetrenia, imunofixácia, zápalové markery, kardiálne markery a endokrinologické vyšetrenia (hormóny). Ďalej je v tomto okne možné ordinovať chemické a mikroskopické vyšetrenia moču, likvoru, vrátane špecializovaného vyšetrenia oligoklonálnej skladby imunoglobulínov v likvore. V ponuke sú aj vybrané vyšetrenia stolice.

Biochemické vyšetrenia - časť 2			
Onkomarkery	Toxikológia	Liečivá	Iné vyšetrenia
AFP		Cyklosporin 00h	5-HIOK **
Beta HCG		Cyklosporin 02h	
CA 125	Amfetamin	Digoxin	Amoniak
CA 15-3	Barbituráty	Fenytoin	HbA1c - glykovaný hemoglobín
CA 19-9	Benzodiazepíny	Karbamazepim	Chloridy v pote
CA 72-4	Etanol v moči		Laktát
CEA	Etanol v sére	Kyselina valprová	
CYFRA 21-1	Extáza	Sirolimus	
		Tacrolimus	
	Kokain	Teofylín	Quantiferón
NSE	Methamfetamin	Vankomycin	ALP-hepatálny izoenzým
PSA			ALP-kostný izoenzým
SCCA	Morfin		
	Tetrahydrokannabinol - THC		
	Tricykl. antidepres.		
			Žalúdočná šťava
			BAO
		Vitamíny	MAO1
		Vitamin B12 - aktívny	MAO2
		Vitamin D celkový	
			** 5-hydroxyindolactová kyselina
			Finančne menej náročné vyšetrenia
			Finančne stredne náročné vyšetrenia
			Finančne náročné vyšetrenia

Obrázok 11 Biochemické vyšetrenia - časť 2 Znárodné Biochemické vyšetrenia (časť 2) zahŕňajú vyšetrenia onkomarkerov, orientačné toxikologické vyšetrenia z moču, liečivá a vitamíny v sére, vyšetrenie žalúdočnej šťavy a iné vyšetrenia.

Punktát			
Punktát transudát	Punktát exsudát	Synoviálny punktát	Dialyzát
AMS	AMS exsudát	C3 komplement	Bielkovina
Bielkovina	Celkové bielkoviny exsudát	C4 komplement	Kalium
Erytrocyty	Erytrocyty exsudát	Bielkovina	Erytrocyty
Glukóza	Glukóza exsudát	Erytrocyty	Fosfor
Cholesterol	Cholesterol exsudát	Glukóza	Glukóza
LD punktát	LD exsudát	IgA	Chloridy
Leukocyty	Leukocyty exsudát	IgG	Kreatinín
pH punktát	pH exsudát	IgM	Kyselina močová
Reuma. faktor	Reuma. faktor exsudát	Kyselina močová	Leukocyty
		LD	Močovina
		Leukocyty	Natrium
		pH	Calcium
		Reuma. faktor	Cmid urea3
			fD urea2
			iD urea1
			Qd prietok dial.roz.
			td čas dialýzy
			Tid dialýza interval
			Ultrafiltrácia dial.

Obrázok 12 Punktát Biochemickým vyšetrením punktátu je možné odlíšiť či sa jedná o zápalový exsudát, alebo transudát, vyšetrujeme aj synoviálny punktát a dialyzát.

UKB Serologia		
SEROLÓGIA		
HAV Ab	Chlamydie pn.IgA	anti CoV-2
HAV IgM	Chlamydie pn.IgG	anti-SARS CoV2S aj pre zaočkovaných
HBcAb	Chlamydie pn.IgM	
HBc IgM	Chlamydie tr. IgG	
HBsAb	Chlamydie tr. IgA	len pre pľúčne, infekčné a covid KAIM
HBsAg	Herpes-Simplex virus IgM	SARS-CoV-2N
	Herpes-Simplex virus IgG	
HCV Ab	Mycoplasma pn. IgG	
HIV combo	Mycoplasma pn. IgM	
Syphilis	Mycoplasma pn. IgA	
anti EBNA-IgG	VZV IgG ovčie kiahne	
TOXO IgG	VZV IgM ovčie kiahne	
TOXO IgM	Kliešť.enc.IgM	
CMV IgG	Kliešť.enc.IgG	
CMV IgM	Borrelia IgM	
Rubella IgG	Borrelia IgG	
Rubella IgM		

Obrázok 13 Sérológia Na Ústave klinickej biochémie (ÚKB) je možné vykonávať aj sérologické vyšetrenia protilátok a antigénov rôznych infekčných agens.

Záťažové testy		
oGIT	Glukagónový test	Smädový test
Glukóza I.	Glukóza 1	Osmolalita 1
Glukóza II.	Glukóza 2	Osmolalita 2
Glukóza III.	Glukóza 3	Osmolalita 3
Glukóza IV.	Glukóza 4	Osmolalita 4
	Glukóza 5	Osmolalita 5
Glukóza moč I.	Glukóza 6	Osmolalita 6
Glukóza moč II.	Glukóza 7	
Glukóza moč III.	Glukóza 8	
Glukóza moč IV.	Glukóza 9	
Acetón moč I.	Kortizol 1	
Acetón moč II.	Kortizol 2	
Acetón moč III.	Kortizol 3	
Acetón moč IV.	Kortizol 4	
	Kortizol 5	
Bielkovina moč I.	Kortizol 6	
Bielkovina moč II.		
Bielkoviny moč III.	Rastový hormón - STH 1	
	Rastový hormón - STH 2	
	Rastový hormón - STH 3	
	Rastový hormón - STH 4	
	Rastový hormón - STH 5	
	Rastový hormón - STH 6	

Obrázok 14 Záťažové testy Je možné vyšetriť biochemické parametre pre orálny glukózový tolerančný test, glukagónový test a smädový test.

Výšetrenia DNA	
DNA	
ACE c.2306-109_2306-108ins77B?A?T(rs4646994) - angiotensin I converting enzyme	IL1RN c.152-516_152_152(STR) (rs2234663) - interleukin 1 receptor antagonist
AGT p.M268T (rs699) - angiotensinogen	IL23R p.R381Q (rs11209026) - interleukin 23 receptor
APOB p.E4181K (rs1042031) / apolipoprotein B (EcoR I)	ITGA2 c.780-847G>A (rs2910964) - glycoprotein Ia
APOB p.R3527Q (rs742904) - apolipoprotein B	ITGA2 p.E534K (rs1801106) - glycoprotein Ia
APOB p.T2515= (rs693) - apolipoprotein B (Xba I)	ITGB3 p.L59P (rs5918) - glycoprotein IIIa
APOE p.C130R (rs429358) - apolipoprotein E	LCT c.117-326C>T (rs4988235) - lactase
	LPL c.1019-1582C>T (rs285) - lipoprotein lipase
ATP7B p.H1069Q (rs76151636) - copper-transporting P-type ATPase	LPL c.1322-483T>G (rs320) - lipoprotein lipase
CETP c.118+279G>A (rs708272) - cholesteryl ester transfer protein	LPL p.N318S (rs268) - lipoprotein lipase
COL1A1 c.104-441T>G (rs1800012) - collagen, type I, alpha 1	LPL p.S474X (rs328) - lipoprotein lipase
CTLA4 c.-157-162C>T (rs742909) - cytotoxic T-lymphocyte-associated protein 4	MTHFR p.A222V (rs1801133) - methylenetetrahydrofolate reductase
CTLA4 p.T17A (rs231775) - cytotoxic T-lymphocyte-associated protein 4	MTHFR p.E429A (rs1801131) - methylenetetrahydrofolate reductase
CYP2C8 p.K399R (rs10509681) - cytochrome P450, family 2, subfamily C, polypeptide 8	NOD2 c.3019_3020insC (rs5743293) - nucleotide-binding oligomerization domain containing 2
CYP2C9 p.R359L (rs1057910) - cytochrome P450, family 2, subfamily C, polypeptide 9	NOD2 p.R908G (rs2066845) - nucleotide-binding oligomerization domain containing 2
CYP2C9 p.R144C (rs1799853) - cytochrome P450, family 2, subfamily C, polypeptide 9	NOD2 p.W702R (rs2066844) - nucleotide-binding oligomerization domain containing 2
CYP4V2 p.Q259K (rs13146272) - cytochrome P450, family 4, subfamily V, polypeptide 2	PAL-1 g.4332_4333insG (rs1799889) - plasminogen activator inhibitor, type 1
ESR1 c.453-351A>G (rs9340799) - estrogen receptor 1 (Xba I)	PON1 p.Q192R (rs662) - paraoxonase 1
ESR1 c.453-397T>C (rs2234693) - estrogen receptor 1 (Pvu II)	THBD p.A43T (rs1800576) - thrombomodulin
F11 c.1481-188C>T (rs2289252) - coagulation factor XII	TNF c.-233+8274C>T (rs1800629) - tumor necrosis factor
F11 c.56-282T>C (rs2036914) - coagulation factor XII	TPMT p.A154T (rs1800460) - thiopurine S-methyltransferase
F12 c.-4T>C (rs1801020) - coagulation factor XII	TPMT p.A80P (rs1800462) - thiopurine S-methyltransferase
F13A1 p.V35L (rs5985) - coagulation factor XIII A1	TPMT p.Y240C (rs1142345) - thiopurine S-methyltransferase
F2 c.*97G>A (rs1799963) - prothrombin	TYMS c.*447delT (rs16430) - thymidylate synthase
F5 Leiden p.R506Q (rs6025) - activated protein C cofactor (Leiden mutation)	VDR c.1024+238G>A (rs1544410) - vitamin D (1,25-dihydroxyvitamin D3) receptor
FGF c.-39-424G>A (rs1800790) - fibronectin beta chain	VKORC1 c.-226-1413C>T (rs9923231) - vitamin K epoxide reductase complex, subunit 1
HABP2 p.G534E (rs7080536) - hyaluronan binding protein 2 (FSAP)	(rs3135388) - HLA-DRB1*15
HFE p.C282Y (rs1800562) - hemochromatosis protein	Izolácia DNA
HFE p.H63D (rs1799945) - hemochromatosis protein	
HFE p.S65C (rs1800730) - hemochromatosis protein	

Obrázok 15 Výšetrenie DNA Okrem biochemických vyšetrení sa na ÚKB vykonávajú aj molekulárno-biologické vyšetrenia – detekcia génových polymorfizmov, asociovaných s rôznymi ochoreniami. V súčasnosti poskytované genetické vyšetrenia možno rozdeliť na viacero panelov - trombofilné stavy, farmakogenetika, dedičná hemochromatóza, poruchy metabolizmu lipidov, osteoporóza, *sclerosis multiplex*.

2.2 Urgentnosť vyšetrení

Z hľadiska požiadaviek na rýchlosť vyšetrenia rozlišujeme bežnú „rutinu“, naliehavé vyšetrenia („*statim*“, lat. ihneď) a vyšetrenia z vitálnej indikácie („*periculum mortis*“, lat. ohrozenie života). Rutinné vyšetrenia sa vykonávajú u hospitalizovaných pacientov, u ktorých dochádza k dennej alebo menej častej kontrole biochemických parametrov bez urgencie, častokrát je viac ako absolútna koncentrácia markerov dôležitá predovšetkým dynamika zmien ich hladín v čase.

„Statimové“ vyšetrenia (Obr. 16) sú vykonávané u pacientov s podozrením na vážnejšie akútne stavy, kde je rýchle určenie diagnózy kľúčové pre ďalší správny a časovo dostatočne rýchly manažment (susp. infarkt myokardu, akútna pankreatitída, náhla príhoda brušná atď.). Výsledky vyšetrenia by nemali byť dodané neskôr ako za hodinu od prijatia vzorky do laboratória, ideálne čo najrýchlejšie, ak to umožňujú analytické vlastnosti stanovovaných parametrov.

Ak je do laboratória doručená vzorka z vitálnej indikácie označená „*periculum mortis*“, je okamžite uprednostnená pred všetkými ostatnými vzorkami, a výsledky by mali byť dodané najneskôr do polhodiny, väčšinou rádo vo desiatkach minút. Pri telefonickom žiadaní výsledkov urgentných vyšetrení je však potrebné zohľadniť časové kroky, ktoré sú nevyhnutné

pri spracovaní vzorky - t.j. transport do laboratória, 5 minútová centrifugácia, čas nevyhnutný pre analýzu markerov v prístroji (prebiehajúca chemická reakcia pri danej teplote a katalýze sa nedá urýchliť). Z uvedených dôvodov si dovoľím kolegov lekárov poprosiť o slušné a korektné vystupovanie bez zbytočného zvyšovania hlasu na laboratórnych pracovníkov pri žiadaní výsledkov cez telefón. Keď sú výsledky „*periculum*“ vyšetrenia dostupné, sú ihneď telefonicky hlásené ordinujúcemu oddeleniu.

Okrem vyšetrení v laboratóriu existuje skupina vyšetrení priamo v mieste hospitalizácie resp. pri lôžku pacienta, ktoré sa nazývajú „POCT“ (*point of care testing*). Jedná sa o vyšetrenia, ktoré vykonáva väčšinou zdravotná sestra na oddelení, kde je pacient hospitalizovaný. Výhodou týchto vyšetrení je okamžitá dostupnosť výsledku bez nutnosti transportu materiálu do laboratória a ďalších súvisiacich úkonov. Ako typický príklad POCT vyšetrení môžeme uviesť meranie glykémie glukomerom, vyšetrenie acidobázickej rovnováhy, vyšetrenie moču diagnostickými prúžkami, rýchle CRP testy atď. Treba si však uvedomiť, že aj kvalita POCT vyšetrení by mala byť pod kontrolou akreditovaného klinicko-biochemického laboratória.

Naliehavé vyšetrenia ÚKB (SLUŽBA) - SÚRNE a PERICULUM MORTIS zapíšte do POZNÁMKY				
Základné metabolity a enzýmy	Likvor	Toxikológia	Glykemický profil	Vnútné prostredie
Albumin	Celkové bielkoviny	Amfetamin	Glykemický profil 1)	ABR artéria
Bilirubin celkový	Erytrocyty	Barbituráty		ABR vena
Bilirubin konjugovaný	Glukóza	Benzodiazepíny		ABR kapilára
Celkové bielkoviny	Chloridy (Cl)	Etanol v moči		ABR pupočník artéria
Glukóza	Lymfocyty	Etanol v sére		ABR pupočník vena
Kreatinin	Segmenty	Extáza		ABR pupočník artéria-b
Kyselina močová	Spektrofotometria			ABR pupočník vena-b
Močovina	Laktát Likvor	Kokain		
Lipáza		Methamfetam		Methemoglobin **
ALP				Karboxyhemoglobin **
ALT	Moč	Morfin		Oxyhemoglobin **
AMS	Sediment	Tetrahydrokanabinol		Deoxyhemoglobin **
AST	Sodík moč	Tricykl. antidepresiva		
CK	Kardiálne markery			
GMT	CK-MB			** je potrebné odobrať
	Myoglobin			striekačku alebo 2 kapiláry
Elektrolyty	hs Troponin			ak sa súčasne vyšetruje aj ABR
Draslík (K)	NT pro BNP			
Horčík (Mg)	Liečivá			
Chloridy (Cl)	Digoxin			
Osmolalita	Karbamazepim			
Sodík (Na)	Kyselina valprová			
Vápnik (Ca)	Teofylin			
Vápnik ion. (Ca2+) ***	Vankomycin			
	Fenytoin			
Zápalové markery		Iné vyšetrenia		Finančne menej náročné vyšetrenia
CRP		Amoniak		Finančne stredne náročné vyšetrenia
Interleukin - 6		Laktát		Finančne náročné vyšetrenia
Procalcitonin				
Presepsin				
		Anti-SARS- CoV-2	1) čas odberu uviesť do poznámky laboratória, príp. na skúmavku	
*** - výpočet				

Obrázok 16 Naliehavé vyšetrenia Jedná sa o vyšetrenia ktoré sú dostupné aj počas nočných služieb, t.j. 24 hodín denne 7 dní v týždni. Patria sem vyšetrenia z krvi – základné metabolity a enzýmy, elektrolyty, zápalové markery, kardiálne markery, vnútorné prostredie (acidobázická rovnováha), glykemický profil, liečivá, iné vyšetrenia. Okrem toho sú ako naliehavé vyšetrenia dostupné vyšetrenie moču (vrátane orientačnej toxikológie) a likvoru.

2.3 Analytická fáza laboratórneho vyšetrenia

Vložením správne odobratej, označenej, doručenej a spracovanej vzorky do analyzátora sa začína analytická fáza laboratórneho vyšetrenia. V laboratóriu je vykonávaná v súlade s postupmi správnej laboratórnej praxe (*GLP, good laboratory practice*) a snahou je čo najviac eliminovať chyby analytického procesu.

Podľa potrebnosti, dostupnosti a rýchlosti prevedenia rozoznávame základné, špeciálne a vysokošpecializované laboratórne vyšetrenia.

Základné vyšetrenia sú klinikám a ambulanciám rýchlo a nepretržite dostupné. Medzi špeciálne vyšetrenia zaraďujeme stanovenie hormónov, onkomarkerov, liečív, vitamínov, elektroforetické vyšetrenia, imunofixáciu, typizácie proteinúrie, vyšetrenie katecholamínov, stopových prvkov atď. Tieto vyšetrenia sú tiež vykonávané v nemocničnom laboratóriu, avšak väčšina z nich len v bežnej dennej prevádzke, nie v nočných službách. Niekedy sa stáva, že je potrebné určité časové obdobie vzorky zbierať, a vyšetrenie prebehne až pri nahromadení takého počtu vzoriek, aby boli využité všetky miesta v reagenčnom kite od výrobcu. Pre potvrdenie tuberkulózneho infekcie u pacienta sa využíva diagnostický test *QuantiFERON*, ktorý je vyšetrený až keď sa v laboratóriu nazbiera 22 vzoriek čo môže niekedy trvať aj dva týždne (ekonomické, časové a praktické dôvody). Podobná situácia vzniká pri zbere vzoriek pre vyšetrenie oligoklonálnej skladby Ig, elektroforézy bielkovín séra, moču atď.

Medzi vysokošpecializované zaraďujeme vyšetrenia vykonávané v centralizovaných laboratóriách v rámci regiónov alebo krajiny, a to z dôvodu malého počtu pacientov s potrebou daných vyšetrení, ekonomickej náročnosti metód a náročnej interpretácie výsledkov. Taktiež indikácia doplňujúcich vyšetrení vyžaduje skúsenosti, ktoré sa dajú získať iba centralizovaním týchto vyšetrení a pacientov do špecializovaných centier.

2.3.1 Princípy analytických metód v klinicko-biochemickom laboratóriu

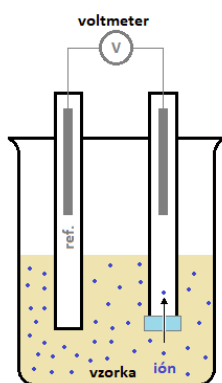
Ako už bolo spomenuté, po predanalytickom spracovaní vzorky v laboratóriu sú všetky vzorky rozdelené a prípadne aj alikvotované v automatickej triediacej linke AutoMate. Po tomto kroku dochádza k presunu vzoriek do analyzátorov ktoré sú v jednotlivých úsekoch -

biochemické laboratórium, imunochemické laboratórium, molekulárno-biologické laboratórium, elektroforetické laboratórium, močové laboratórium.

Vzorky doručené do „statimového“ laboratória tento proces obchádzajú, pretože sú ihneď spracované a uprednostnené pred ostatnými. V laboratóriu pre urgentné vyšetrenia sa nachádzajú aj acidobázické analyzátory, analyzátory pre meranie glykémie, mikroskop pre vyšetrenie likvoru, a špeciálne analyzátory pre vyšetrenie kardiálnych a zápalových markerov.

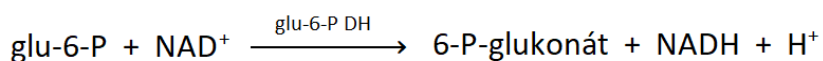
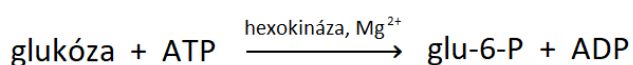
2.3.1.1 Biochemické laboratórium

V automatických biochemických analyzátoroch, ktoré sú schopné po vložení skúmavky a načítaní identifikačného kódu vzorky vykonať stovky vyšetrení za hodinu, sa pre meranie markerov využívajú fotometrické metódy. Do analyzátora sú pravidelne dopĺňané komerčne dostupné reagenty a premývacie roztoky od certifikovaných výrobcov. Analyzátor obsahuje vlastný automatický pipetor vzoriek, miešadlá, dávkovač reagentov, reakčné kyvety, inkubačný kúpeľ, premývací systém, transportný systém (vstup vzoriek - pracovný priestor - výstup) a meracie zariadenie (zdroj svetla, detektor). Princíp analýz je možné prirovnať k meraniu absorbancií, ktoré sa vykonávali v rámci cvičení z lekárskej chémie a biochémie na prístroji „SPEKOL“. Bežnou súčasťou moderných biochemických analyzátorov je aj modul pre priame a veľmi rýchle (minúty) meranie hladiny minerálov v sére (Na, K, Cl), ktorý meria pomocou iónovo selektívnych elektród (Obr. 17).



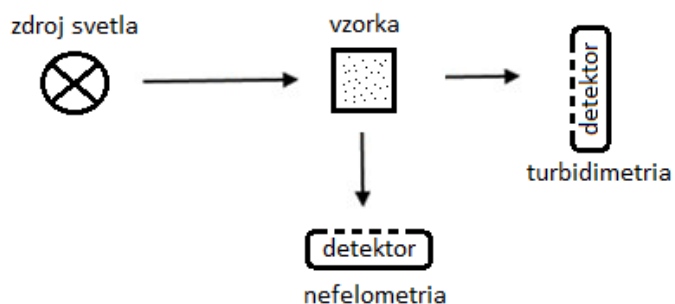
Obrázok 17 Princíp merania koncentrácie iónov iónovo selektívnou elektródou Modul ISE obsahuje referenčnú a meraciu elektródu, ktorá je selektívne permeabilná pre meraný ión (viď. modrá časť elektródy). Pri transporte iónu a jeho väzbe na špecifické miesta membrány vzniká rozdiel elektrického potenciálu, ktorý je meraný oproti referenčnej elektróde (ref.) a je úmerný koncentrácii iónu.

Fotometrické metódy sú veľmi často využívané pri stanovení mnohých analytov (napr. glukóza, enzýmy - AST, ALT, ALP, GMT, AMS, LPS, CK, CK-MB, močovina, kyselina močová, bilirubín, celkové bielkoviny a albumín, kreatinín, CRP, vápnik, železo, horčík, fosfáty ...). Výhodou je veľmi malý objem vzorky, potrebný pre meranie jedného analytu (2 – 50 µl) a rýchlosť dodania výsledku. Ako príklad uvidíme meranie hladiny glukózy v sére, ktoré sa vykonáva pomocou komerčne dostupného kitu kompatibilného s biochemickým analyzátorom. Kit obsahuje reagenty - hexokinázu a G6P-DH (glukóza-6-fosfát dehydrogenázu), pričom reakcia prebieha vo viacerých krokoch znázornených na Obr. 18.



Obrázok 18 Princíp merania glykémie v sére automatickým biochemickým analyzátorom 1, Glukóza je fosforylovaná hexokinázou na glukóza-6-fosfát (glu-6-P). 2, glukóza-6-fosfát dehydrogenáza (glu-6-P DH) špecificky oxiduje glu-6-P na 6-fosfoglukonát za súčasnej redukcie NAD⁺ na NADH. Zmena intenzity svetelného žiarenia po prechode kyvetou s obsahom vzorky a reagentí sa v dôsledku redukcie NAD⁺ prejaví zmenou absorbancie (340/380 nm), ktorá je po prepočte úmerná koncentrácii glukózy vo vzorke.

Okrem opísanej spektrofotometrie sa v automatických biochemických analyzátoroch využívajú aj iné optické metódy, z nich veľmi stručne opíšeme turbidimetriu, nefelometriu a chemiluminiscenciu. Turbidimetria je optická metóda založená na meraní intenzity prechádzajúceho svetla, ktoré je oslabené rozptylom na časticiach, zjednodušene ju môžeme prirovnať k meraniu stupňa zákalu roztoku. Nefelometria meria intenzitu difúzne rozptýleného svetla pod uhlom odlišným od uhla dopadu svetelného lúča (Obr. 19). Pri chemiluminiscencii sa luminometrom meria intenzita emitovaných fotónov z excitovaného substrátu, ktorá je vyvolaná chemickou reakciou s činidlom. Pokiaľ je reakcia spriahnutá s anodickou oxidáciou, metóda sa nazýva elektrochemiluminiscencia.



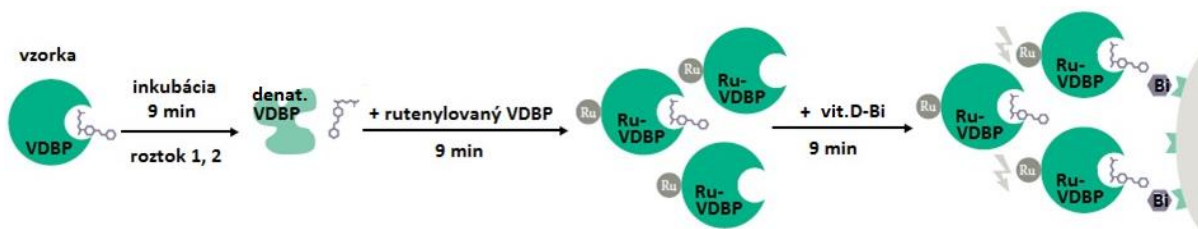
Obrázok 19 Nefelometria a turbidimetria Jedná sa o optické metódy, ktorých princíp spočíva v meraní zoslabenia intenzity svetelného lúča časticami vo vzorke.

S koncentráciou minerálov a nízkomolekulových látok v sére priamo súvisí aj osmolalita séra. Meranie osmolality sa vykonáva osmometrom a je založené na kryoskopickom princípe. So zvyšujúcou sa koncentráciou rozpustených látok (osmolalitou) sa znižuje teplota zmrazenia roztoku, ktorá je prístrojom veľmi presne meraná (rozpustenie 1 mmol látky na 1 kg séra o 0,001858 °C).

2.3.1.2 Imunochemické laboratórium

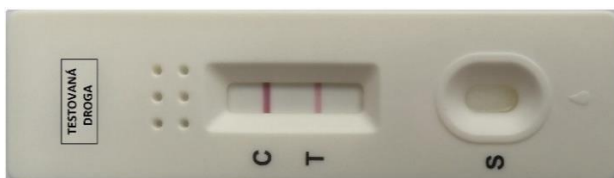
Imunochemické metódy vychádzajú z princípu reakcie antigénu s protilátkou a stanovujeme pomocou nich koncentráciu látok väčšinou bielkovinovej povahy (onkomarkery, hormóny, imunoglobulíny), ako aj liečivá, vitamíny a iné. Analogicky k biochemickým metódam sa využíva imunoturbidimetria, imunonefelometria, elektrochemiluminiscenčná imunoanalýza (ECLIA), často je využívaná enzýmová imunoanalýza (ELISA, *enzyme-linked immunosorbent assay*), imunofixácia a mnohé novšie patentované metódy ako napr. chemiluminiscenčná imunoanalýza (CMIA), fluorescenčná polarizačná imunoanalýza (FPIA) atď. V porovnaní s biochemickými analýzami je objem vzorky potrebný pre imunochemické analýzy väčší (približne 50 – 300 µl). Tento fakt je potrebné si uvedomiť pri ordinácii vyšetrenia veľkého množstva imunochemicky stanovovaných markerov (napr. hormonálny profil, panel onkomarkerov), kedy môže byť potrebné zaslať viacero skúmaviek krvi, aby sme sa vyvarovali nedostatku vzorky a nutnosti opakovaného odberu a zasielania biologického materiálu. Okrem toho je podstatne dlhší aj čas vyšetrenia (tzn. aj čas dodania výsledku), ktorý je potrebný pre naviazanie antigénu s protilátkou a ďalšie reakčné kroky. Analýzy tohto typu sa bežne vykonávajú len cez rutinnú dennú prevádzku, a počas nočných služieb iba v indikovaných

prípadoch (ťažké stavy, ohrozenie života, začiatok akútnej terapie) s výnimkou stanovenia kardiomarkerov. Ako príklad imunochemických metód uvádzame zjednodušený princíp stanovenia hladiny vitamínu D v sére metódou CMIA v automatickom imunochemickom analyzátore (Obr. 20).



Obrázok 20 Stanovenie hladiny vitamínu D (kalcidiolu) elektrochemiluminiscenciou Odrazom metabolizmu vitamínu D (vit. D) v tele je jeho hladina v sére, kde je transportovaný vitamín D viažúcim proteínom (VDBP, *vitamin D binding protein*). Po inkubácii vzorky s roztokmi 1 a 2 dochádza k denaturácii VDBP vo vzorke a uvoľneniu vitamínu D. Následne sa v nadbytku pridá rutenylovaný VDBP (Ru-VDBP), ktorý vytvára imunokomplexy s uvoľneným vitamínom D vo vzorke. Nezareagovaný rutenylovaný VDBP sa ďalej inkubuje s biotinylovaným vit. D (vit. D-Bi), ktorý vytvára komplexy so streptavidínom nachádzajúcim sa na mikročasticách meracej elektródy. Pri uvedených reakciách dochádza k elektrochemiluminiscencii, t.j. vysielaniu fotónov pri chemickej reakcii na elektróde, pričom intenzita vzniknutého žiarenia je nepriamo úmerná koncentrácii vitamínu D vo vzorke.

Imunochemické metódy sú využívané aj pri orientačnom toxikologickom vyšetrení na prítomnosť drog v moči, ktoré sa vykonáva 24 hodín denne v statimovom laboratóriu. Jedná sa o imunochromatografické testy, ktoré sú schopné detekovať rôzne druhy drog a liečiv (amfetamíny, barbituráty, benzodiazepíny, extáza, kokaín, metamfetamín – pervitín, opioidy, tetrahydrokanabinol (THC) a tricyklické antidepresíva). Jednorázová kazeta používaná k testovaniu je zobrazená na Obr. 21.

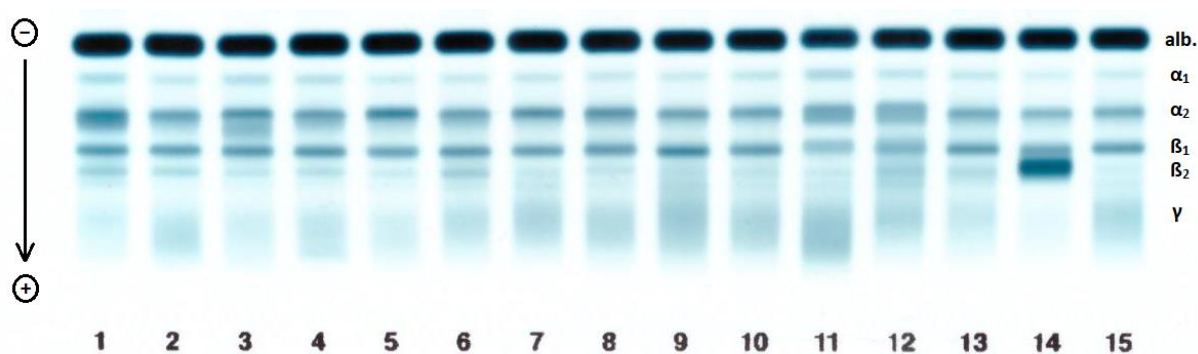


Obrázok 21 Imunochromatografický test pre orientačné stanovenie prítomnosti drog v moči Po nanesení 200 µl vzorky do jamky v kazete (S) dochádza ku kapilárnemu vztláaniu vzorky a kompetícii s drogovým konjugátom o miesto väzby na špecifickej protilátke. Kontrolný prúžok (C) je prítomný vždy ak bol test vykonaný správne. Ak je droga prítomná vo vzorke v dostatočnej koncentrácii (citlivosť desiatky až stovky ng/ml, napr. THC 15 ng/ml), zabráni väzbe konjugátu a čiarka v testovacej oblasti (T) sa neobjaví – test je pozitívny. Ak droga prítomná nie je, konjugát sa naviaže, vzniká farebná čiarka v oblasti T – test je negatívny.

2.3.1.3 Elektroforetické laboratórium

Princíp elektroforézy spočíva v separácii častíc podľa ich veľkosti a náboja v elektrickom poli. V elektroforetickom laboratóriu vykonávame elektroforézu bielkovín séra, moču, likvoru, vyšetrenie hemoglobínov a izoforiem alkalickéj fosfatázy. Separácia prebieha na nosiči, ktorým je väčšinou agarózový gél, rozdelené bielkovinové frakcie sa farbja, následne sa gél suší a skenuje. Zo získaného obrazu pri vyšetrení séra denzitometricky hodnotíme percentuálne zastúpenie jednotlivých bielkovinových frakcií krvného séra (Obr. 22). Elektroforetické vyšetrenie moču nám umožňuje určiť typ proteinúrie. V likvore elektroforeticky vyšetrujeme tzv. oligoklonálnu skladbu imunoglobulínov, kde pri náleze protilátok, tvorených jedným klonom plazmatických buniek v likvore, ktoré nie sú prítomné v sére vieme potvrdiť, že sú syntetizované v centrálnom nervovom systéme ako výsledok patologickej imunitnej odpovede.

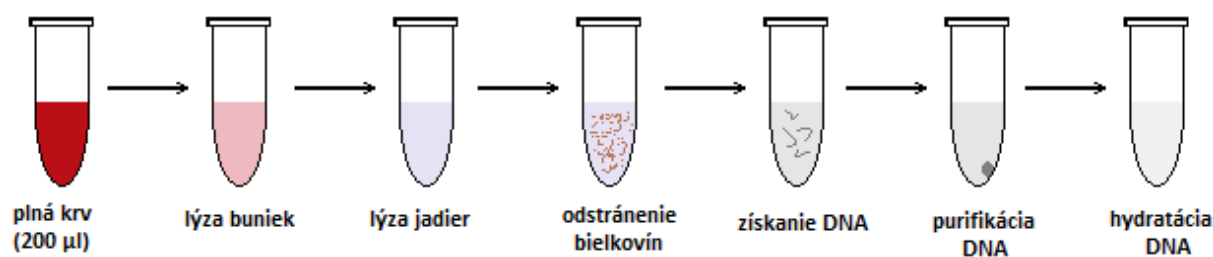
Imunofixačná elektroforéza slúži na potvrdenie prítomnosti a určenie typu paraproteínu v sére alebo moči u pacientov s monoklonálnymi gamapatiami, resp. na identifikáciu multimérov von Willebrandovho faktora. Po vykonaní elektroforetickej separácie bielkovín je v ďalšom kroku vykonaná imunoprecipitácia rozdelených bielkovín s monoklonálnymi protilátkami (antisérom) proti cieľovým proteínom, ďalej je vykonaná fixácia teplom, sušenie, vizualizácia a vyhodnotenie.



Obrázok 22 Elektroforéza bielkovín ľudského séra Na obrázku vidíme elektroferogram ľudského séra, každé číslo predstavuje vzorku od jedného pacienta. Bielkoviny po nanesení vzorky migrujú v dôsledku ich záporného náboja od katódy k anóde, potom sú ofarbené, gél je vysušený, oskenovaný a vyhodnotený denzitometricky. Bielkovinové frakcie – albumín (alb.), globulíny (α_1 , α_2 , β_1 , β_2 , γ) sú viditeľné ako tzv. „bandy“.

2.3.1.4 Molekulárno-genetické laboratórium

V molekulárno-genetickom laboratóriu vykonávame analýzu mutácií v DNA (deoxyribonukleovej kyseline), ktoré sú asociované s niektorými ochoreniami. V súčasnosti vyšetrujeme viacero panelov génových polymorfizmov, a to vo vzťahu k trombofilným stavom, farmakogenetike, dedičnej hemochromatóze, poruchám metabolizmu lipidov, osteoporóze a sclerosis multiplex. Pred samotnou analýzou je nutná izolácia DNA. V súčasnosti využívame automatický izolačný prístroj, ktorý využíva princíp väzby DNA na paramagnetické častice. Tento prístroj dokáže naraz po napipetovaní spracovať 32 vzoriek, ktoré sú zbierané podľa požiadaviek klinikov väčšinou jeden až dva týždne, čím dochádza k oneskoreniu dodania výsledku. Pri analýze mutácií DNA sa vo všeobecnosti nejedná o akútne vyšetrenie. Čo najrýchlejšie dodanie výsledku však môže byť dôležité pri farmakogenetike, keď výber vhodnej dávky liečiva vzhľadom k možnej toxicite závisí od genotypu pacienta. Okrem toho je možné DNA izolovať aj pomocou afinitných kolóniek, alebo iných špeciálnych izolačných kitov. Všeobecný princíp izolácie DNA je znázornený na Obr. 23.



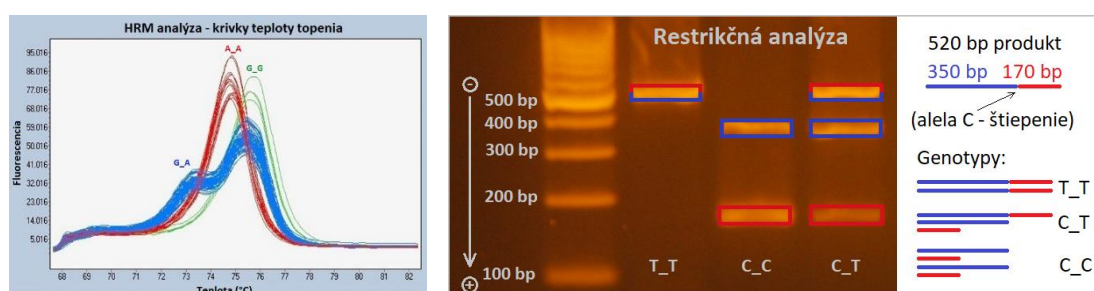
Obrázok 23 Izolácia DNA – všeobecný princíp a kroky Vzorka plnej krvi s obsahom DNA v jadrách leukocytov je zmiešaná s roztokom, ktorý spôsobí lýzu bunkových membrán. Uvoľní sa intracelulárny obsah, jadrá buniek sú rozložené s uvoľnením DNA, z roztoku sú odstránené bielkoviny. DNA je získaná precipitáciou roztokom koncentrovaného alkoholu, pri použití afinitných kolóniek zachytením DNA v molekulárnom site, v automatickom izolačnom prístroji väzbou DNA na paramagnetické častice. Následne je DNA niekoľkokrát prečistená, hydratovaná špeciálnym tlmivým roztokom a odložená pre ďalšie použitie v chladničke, dlhodobo (desaťročia) sa uchováva zmrazená.

Samotná analýza mutácií je vykonávaná s použitím polymerázovej reťazovej reakcie (PCR, *polymerase chain reaction*), ktorá slúži predovšetkým k získaniu dostatočného počtu kópií DNA pre ďalšiu analýzu, resp. pomocou špeciálnych typov PCR môžeme mutácie priamo analyzovať.

Otázka F Aké sú zložky reakčnej zmesi a kroky PCR reakcie? Aký špeciálny enzým využívame?

Odpoveď F Pri reakcii využívame enzým Taq polymeráza, ktorý je izolovaný z baktérie *Thermus aquaticus* a je termostabilný. V reakčnej zmesi je potrebná prítomnosť enzýmu Taq, vzorky DNA, nukleotidov, tlmivého roztoku a iónov horčíka. Kroky PCR sú: denaturácia DNA (vznik jednovláknovej DNA), naviazanie (*annealing*) primerov a polymerizácia (elongácia). Pri jednom cykle dochádza k zdvojnásobeniu množstva DNA, po prebehnutí 30 – 40 cyklov máme k dispozícii milióny kópií DNA.

V súčasnosti najviac využívanou metodikou k detekcii mutácií DNA v našom laboratóriu je analýza kriviek teploty topenia (HRM analýza, *High Resolution Melting analysis*), k dispozícii máme aj alelovo špecifickú PCR alebo restriktčnú analýzu (RFLP, *restriction fragment length polymorphism*), princípy metód sú vysvetlené na Obr 24.



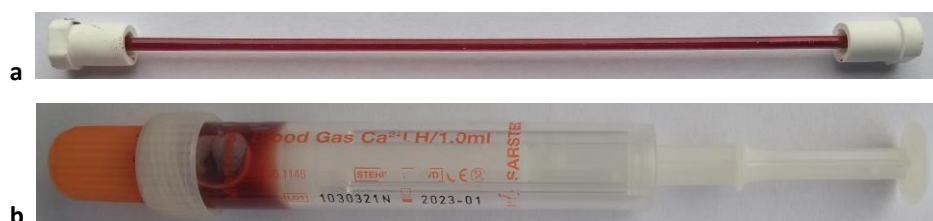
Obrázok 24 Princípy analýzy mutácií DNA Ľavá časť obrázku predstavuje výsledok tzv. **analýzy kriviek teploty topenia DNA (HRM)**. Špecifický úsek DNA v dĺžke okolo 50 bp (bázových párov), v ktorom sa nachádza nami sledovaná mutácia G → A (zámena guanínu za adenín), je amplifikovaný PCR reakciou v reálnom čase (*Real-time PCR*). Pri každom prebiehajúcom cykle je meraná fluorescencia úmerná množstvu vznikajúcej DNA. Po amplifikácii DNA dochádza k jej zahrievaniu, ktoré vyústi do vzniku jednovláknovej DNA, čo sa prejaví výraznou zmenou fluorescencie vzorky. Podľa tejto teploty topenia DNA zistíme genotyp: genotyp A_A - nižšia teplota topenia (adenín - tymín sú viazané dvomi vodíkovými väzbami), genotyp G_G - vyššia teplota topenia (guanín - cytozín sú viazané tromi vodíkovými väzbami), heterozygotný genotyp G_A je tvorený kombináciou oboch kriviek. Pravá časť obrázku zobrazuje výsledok tzv. **restriktčnej analýzy (RFLP)**. Po amplifikácii cieľového úseku DNA, ktorý je následne štiepený s použitím restriktčnej endonukleázy sú vzniknuté fragmenty separované elektroforézou na agarózovom géli. V tomto prípade bol použitý restriktčný enzým, ktorý štiepi DNA ak je prítomná normálna alela C, v prípade prítomnosti mutácie (alela T) k štiepeniu nedochádza. To znamená, že genotyp T_T sa prejaví prítomnosťou neštiepených fragmentov DNA s dĺžkou celého fragmentu 520 bp (dve alely T), genotyp C_T okrem 520 bp (jedna alela T) ešte štiepením jedného vlákna na fragmenty 350 bp + 170 bp (jedna alela C), a homozygotný genotyp C_C len štiepenými fragmentmi 350 bp + 170 bp (dve alely C).

Pri využití alelovo-špecifickej PCR sa využívajú dva primery, jeden je špecifický pre mutovaný alelu, druhý pre normálnu alelu. Pri prítomnosti mutácie dochádza k amplifikácii alely s mutáciou a vzniká produkt, ktorý je odlišne veľký ako produkt pre normálnu alelu. Okrem toho sa využíva ešte jeden pár primerov, ktorý má za úlohu syntézu fragmentu DNA, ktorého prítomnosť zabezpečuje kontrolu správnosti priebehu PCR reakcie. Fragmenty sú následne vizualizované, výsledok je podobný ako pri restriktívnej analýze, t.j. kontrolný fragment a rôzne dlhé fragmenty DNA korelujúce s prítomnosťou alebo neprítomnosťou mutácie.

2.3.1.5 Vyšetrenie acidobázickej rovnováhy

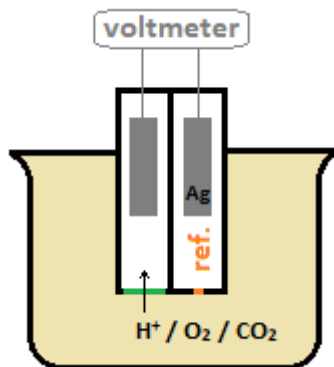
Acidobázickú rovnováhu je možné vyšetriť z plnej krvi, ktorá sa musí do laboratória transportovať na ľade ihneď po odbere, nesmie však zmraziť. Najčastejšie je do laboratória zasielaná tzv. arterializovaná kapilárna krv, získaná z bruška prsta po jeho hyperemizácii. Krv je odoberaná do kapiláry potiahnutej heparínom, vnútri kapiláry sa nachádza kúsok oceľového drôtika, ktorý slúži pre premiešanie vzorky magnetom po odbere a tesne pred analýzou. Kapilára je z oboch strán uzatvorená plastovými vrchnákmi a nesmú sa v nej nachádzať vzduchové bubliny, ktoré môžu difúziou plynov výrazne ovplyvniť správnosť výsledku.

Okrem kapilárnej krvi sa pre vyšetrenie acidobázickej rovnováhy relatívne často zasiela aj arteriálna krv odoberaná do špeciálnych 1 ml striekačiek s uzáverom, v minulosti boli používané klasické striekačky s objemom 2 ml, ktoré sa pred odberom prepláchli heparínom (Obr. 25). Odber musí byť anaeróbny, t.j. striekačky musia byť uzatvorené a bez prítomnosti vzduchových bublín. Podobným spôsobom je možné odobrať aj venóznú krv.



Obrázok 25 Vzorky krvi zaslané do laboratória k analýze acidobázickej rovnováhy a – arterializovaná krv v odberovej kapiláre musí byť anaeróbne uzatvorená a bez bublín, v pravom konci kapiláry je možné vidieť presvitajúce kovové miešadlo. b – arteriálna krv zaslaná v špeciálnej odberovej skúmavke s uzáverom a obsahom Ca^{2+} heparínu; v skúmavke by sa nemala nachádzať bublina, ktorá negatívne ovplyvňuje správnosť výsledku.

Vyšetrovaná vzorka sa pomaly nasaje do tenkej plastovej hadičky v acidobázickom analyzátoe a postupne prichádza do kontaktu s meracími elektródami, na ktorých prebiehajú elektrochemické deje. Základný princíp merania je vysvetlený na Obr. 26.



Obrázok 26 Princíp merania pH a parciálnych tlakov plynov vo vzorke Meranie **pH** sa vykonáva tzv. pH-metrom, ktorý stanovuje aktivitu iónov vodíka (H^+) v roztoku. Telo prístroja, ktoré je ponorené do vzorky obsahuje sklenenú elektródu (zelená farba) a referenčnú elektródu (ref., oranžová farba). Sklenená elektróda je z tenkého špeciálneho skla, obsahuje strieborný drôtik a je selektívne priepustná pre H^+ , referenčná elektróda obsahuje strieborný drôtik v roztoku s presnou koncentráciou Cl^- . V kyslom prostredí difunduje nadbytok H^+ cez sklo sklenenej elektródy a chemická reakcia na elektróde je sprevádzaná vznikom elektrického potenciálu, ktorý je úmerný pH. Pri meraní **parciálnych tlakov plynov (O_2 , CO_2)** tiež využívame potenciometrický princíp s využitím striebornej referenčnej elektródy. Kyslík difunduje cez selektívne permeabilnú teflonovú membránu a je redukovaný na platinovej elektróde. Oxid uhličitý difunduje cez silikónovú membránu a reakciou s roztokom bikabornátu mení koncentráciu H^+ .

2.4 Diagnostické vlastnosti laboratórnych markerov

Diagnostické kritériá laboratórnych metód charakterizujú ich vlastnosti z klinického hľadiska, t.j. vzťah k stanoveniu diagnózy. Zaraďujeme medzi ne diagnostickú senzitivitu, diagnostickú špecifitu a diagnostickú efektivitu, pričom ich hodnota môže byť od 0 – 1 (0 – 100 %). Priamo s nimi súvisí diskriminačná hodnota („cut-off“).

Diagnostická senzitivita (citlivosť) udáva podiel počtu chorých jedincov s pozitívnym testom k celkovému počtu testovaných chorých jedincov. Môžeme ju definovať ako pravdepodobnosť, že výsledok testu bude pozitívny, ak je vyšetrovaná osoba chorá.

Otázka G U 20 pacientov s histologicky verifikovaným hepatocelulárnym karcinómom bola vyšetrená hladina alfa-fetoproteínu (AFP) v sére, pričom u 12 z nich bola hodnota zvýšená nad „cut-off“. Aká je diagnostická senzitivita AFP pri diagnostike hepatocelulárneho karcinómu?

Odpoveď G Diagnostická citlivosť AFP pri diagnostike hepatocelulárneho karcinómu je 60 %.

$$\text{Diagnostická senzitivita} = \frac{\text{správne pozitívni chorí jedinci}}{\text{všetci chorí jedinci}} = \frac{12}{20} = 0,6 \text{ (60 \%)}$$

Diagnostická špecificita sa týka zdravých jedincov a je definovaná ako podiel počtu zdravých osôb s negatívnym testom k celkovému počtu testovaných zdravých jedincov. Diagnostická špecificita je meradlom schopnosti testu vylúčiť prítomnosť choroby a vyjadruje pravdepodobnosť negatívneho výsledku u zdravej osoby.

Otázka H U 50 študentov medicíny bez zdravotných problémov bola vyšetrená hladina AFP v sére, pričom u 2 z nich bola hodnota zvýšená nad referenčný limit. Následne u týchto dvoch osôb boli vykonané ďalšie vyšetrenia, ktoré vylúčili prítomnosť karcinómu pečene. Aká je diagnostická špecificita AFP?

Odpoveď H Diagnostická špecificita AFP pri diagnostike karcinómu pečene je 96 %.

$$\text{Diagnostická špecificita} = \frac{\text{správne negatívni jedinci}}{\text{všetci vyšetrení zdraví jedinci}} = \frac{48}{50} = 0,96 \text{ (96 \%)}$$

Diagnostická senzitivita aj špecificita v praxi využiteľného markeru by mali byť v „ideálnom“ prípade vyššie ako 90 %. Schopnosť metódy správne zaradiť zdravých aj chorých jedincov vyjadruje **diagnostická efektivita (účinnosť)**. Čím je diagnostická účinnosť metódy vyššia, tým je vyššia pravdepodobnosť, že výsledok bude negatívny u zdravých jedincov a že bude pozitívny u chorých jedincov.

Otázka I Aká je diagnostická efektivita vyšetrenia hladiny AFP v sére pri diagnostike karcinómu pečene, ak bola jeho hodnota zvýšená u 30 z 50 pacientov s ochorením a u 2 z 50 zdravých jedincov.

Odpoveď I Diagnostická účinnosť AFP pri diagnostike karcinómu pečene je 78 %.

$$\text{Diagnostická efektivita} = \frac{\text{správne pozitívni} + \text{správne negatívni}}{\text{všetci vyšetrení jedinci}} = \frac{30 + 48}{50 + 50} = 0,78 \text{ (78 \%)}$$

S diagnostickými kritériami laboratórnej metódy priamo súvisí aj tzv. **diskriminačná hodnota (*cut-off*)**, ktorá odlišuje (diskriminuje) zdravých a chorých jedincov. Túto je možné určiť rôznymi metódami vyšetrením väčšieho súboru zdravých aj chorých jedincov, pričom ak je hodnota vyšetreného markeru nad *cut-off*, jedinec je zaradený ako pozitívny (chorý), a ak je hodnota pod *cut-off*, jedinec je zaradený ako negatívny (zdravý).

Uvedme si ako zjednodušený ilustračný príklad vyšetrenie neurónšpecifickej enolázy (NSE) v súbore 10 pacientov s neuroblastómom a 10 zdravých jedincov. V Tab. 1 je pomocou hodnôt hladiny NSE demonštrované, ako postupné zmeny nastavenia hodnoty *cut-off* vplyvajú na diagnostickú senzitivitu a špecificitu markeru. Pri použití „*cut-off*“ 16 ng/ml (z praxe) je diagnostická senzitivita markeru 60 % a diagnostická špecificita 90 %. Pri znížení hodnoty „*cut-off*“ na 10 ng/ml dôjde k nárastu senzitivity na 100 % (záchyt všetkých pacientov) a poklesu špecificity na 60 % (za cenu zvýšenia falošnej pozitivity u zdravých jedincov). Naopak, pri zvýšení hodnoty „*cut-off*“ na 21 ng/ml sa senzitivita u chorých výrazne zníži na 40 % (t.j. je vysoká falošná negativita), pričom špecificita u zdravých je 100 % (t.j. nulová falošná pozitivita). Optimálnym kompromisom by bolo nastavenie hodnoty „*cut-off*“ na 14 ng/ml, pri ktorej má vyšetrenie hladiny NSE diagnostickú senzitivitu aj špecificitu 90 %.

Pokiaľ by sme však chceli využívať NSE ako **skriningový marker** pre diagnostiku neuroblastómu, lepšie by bolo nastaviť „*cut-off*“ hodnotu o niečo nižšie ako na optimum, a to z dôvodu vylúčenia falošnej negativity u chorých jedincov. Ak by sme napríklad použili hodnotu 10 ng/ml, zachytení by boli všetci chorí jedinci (10 z 10), a zároveň 4 zdraví jedinci (4 z 10) by boli falošne pozitívni. Títo by následne boli podrobení ďalším zobrazovacím vyšetreniam, ktoré by u nich ochorenie vylúčili. Výborným príkladom skriningového markeru je využitie prostatického špecifického antigénu (PSA) pri skríningu karcinómu prostaty. Vyššia falošná pozitivita je žiadúca za účelom zachytenia všetkých jedincov s patologickými procesmi v prostate, následne sú k vylúčeniu diagnózy u zdravých jedincov využívané ďalšie metódy.

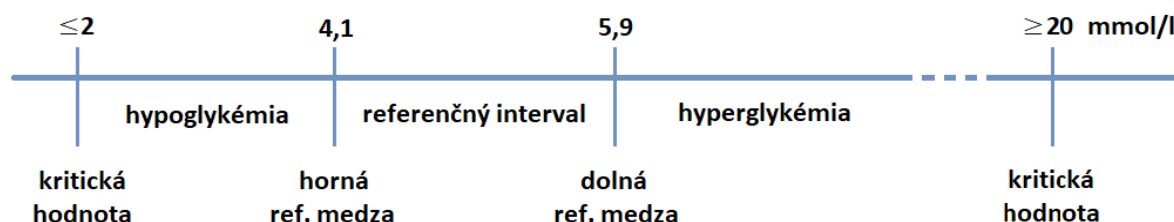
Tabuľka 1 Vplyv hodnoty „cut-off“ markeru (NSE) na diagnostickú senzitivitu a špecificitu

		Zdraví jedinci										Pacienti s neuroblastómom									
NSE (ng/ml)		3	4	6	6	7	8	10	11	12	13	14	15	15	18	19	20	25	84	90	98
Cut-off (ng/ml)	16	SN	SN	SN	SN	SN	SN	SN	SN	SN	FN	FN	FN	FN	FP	SP	SP	SP	SP	SP	SP
		Špecificita = SN / všetci zdraví = 9/10 = 0,9 (90 %)										Senzitivita = SP / všetci chorí = 6 / 10 = 0,6 (60 %)									
	10	SN	SN	SN	SN	SN	SN	FP	FP	FP	SP	SP	SP	SP	FP	SP	SP	SP	SP	SP	SP
		Špecificita = SN / všetci zdraví = 6/10 = 0,6 (60 %)										Senzitivita = SP / všetci chorí = 10 / 10 = 1,0 (100 %)									
	21	SN	SN	SN	SN	SN	SN	SN	SN	SN	FN	FN	FN	FN	SN	FN	FN	SP	SP	SP	SP
		Špecificita = SN / všetci zdraví = 10/10 = 1,0 (100 %)										Senzitivita = SP / všetci chorí = 4 / 10 = 0,4 (40 %)									
	14	SN	SN	SN	SN	SN	SN	SN	SN	SN	FN	SP	SP	SP	FP	SP	SP	SP	SP	SP	SP
		Špecificita = SN / všetci zdraví = 9/10 = 0,9 (90 %)										Senzitivita = SP / všetci chorí = 9 / 10 = 0,9 (90 %)									

Použité skratky: FN – falošná negatíva u chorých (pacientov), FP – falošná pozitivita u zdravých jedincov, SN – správna negatíva u zdravých jedincov, SP – správna pozitivita u chorých

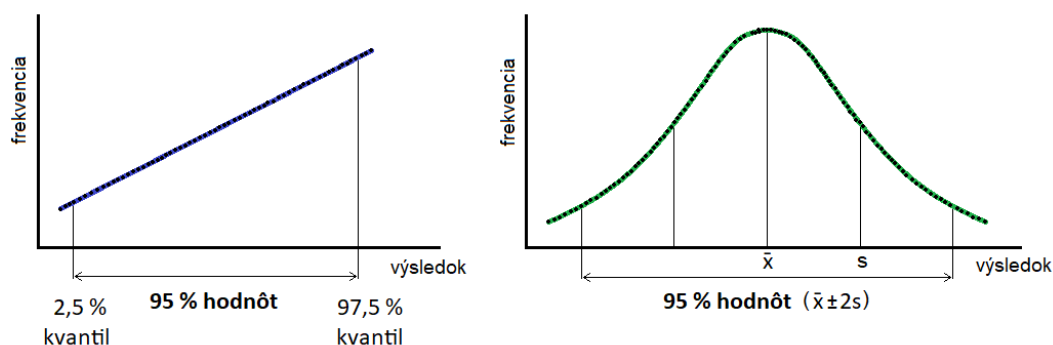
2.5 Referenčné hodnoty laboratórnej metódy

Referenčné medze laboratórnej metódy nám umožňujú klasifikovať hodnotu výsledku vyšetreného jedinca ako normálnu, zvýšenú alebo zníženú. Referenčný interval (fyziologické rozmedzie) je ohraničený hornou a dolnou referenčnou medzou a zahŕňa 95 % hodnôt získaných meraním markeru v referenčnej populácii. Kritické hodnoty výsledku (rozhodovací limit) môžu priamo súvisieť s ohrozením života pacienta a laboratórny pracovník je povinný nahlásiť ich ordinujúcemu oddeleniu (zdravotnej sestre resp. lekárovi) (Obr. 27).



Obrázok 27 Referenčné medze glykémie Dolná a horná referenčná medza udáva najnižšiu a najvyššiu fyziologickú hodnotu výsledku a ohraničuje referenčný interval. Hodnoty glykémie vyššie a nižšie ako kritické hodnoty môžu byť spojené s ohrozením života pacienta a zvýšenou mortalitou.

Ak chceme výsledok vyšetrenia klasifikovať ako fyziologický resp. patologický na základe vzťahu hodnoty k referenčným medziam, treba si s opatrnosťou uvedomiť, ako referenčné medze vznikajú. Výberová referenčná skupina je definovaná ako súbor jedincov s predpokladom neprítomnosti choroby, je získaná náhodným výberom, podľa veku, pohlavia, rasy a ďalších parametrov. Po správnom odbere biologického materiálu a analýze vzorky sú získané výsledky následne spracované podľa charakteru rozloženia rôznymi štatistickými metódami (Obr. 28). Z faktu, že referenčné medze obsahujú 95 % hodnôt získaných analýzou daného parametra v referenčnej populácii logicky vyplýva, že výsledok u 5 % zdravých jedincov sa fyziologicky nachádza mimo referenčného intervalu. Preto pri interpretácii výsledku biochemického vyšetrenia neberieme do úvahy iba absolútnu hodnotu výsledku a jej vzťah k referenčným hodnotám - t.j. normálny fyziologický výsledok, patologicky zvýšená alebo znížená hodnota výsledku (mierne, stredne, značne, extrémne), ale množstvo ďalších faktorov, ktoré sú opísané v kap. 1.9. V Tab. 2 uvádzame aktuálne referenčné hodnoty vybraných základných biochemických parametrov u zdravých dospelých jedincov používané v našom laboratóriu.



Obrázok 28 Určenie referenčného rozmedzia priamou induktívnou metódou Referenčný interval zahŕňa 95 % hodnôt získaných v zdravej referenčnej populácii. Pri priamej neparametrickej metóde (modrá) sú výsledky usporiadané vzostupne a referenčný interval je tvorený hodnotami medzi 2,5 a 97,5 percentilom. Priama parametrická metóda (zelená) sa využíva pri normálnom rozložení hodnôt (Gaussova krivka), pričom referenčný interval je definovaný ako priemerná hodnota výsledku \pm štandardná odchýlka ($\bar{x} \pm 2s$).

Tabuľka 2 Referenčné hodnoty vybraných laboratórnych parametrov pre zdravých dospelých

Laboratórny parameter	Vzorka	Skratka ÚKB	Referenčné medze	Jednotka	Pohlavie
Sodík	sérum	S_Na	136 – 146	mmol/l	
Draslík	sérum	S_K	3,5 – 5,1	mmol/l	
Vápnik – celkový	sérum	S_Ca	2,20 – 2,65	mmol/l	
Vápnik – ionizovaný	sérum	S_CaI	1,13 – 1,32	mmol/l	
Chloridy	sérum	S_Cl	101 – 109	mmol/l	
Horčík	sérum	S_Mg	0,73 – 1,06 0,77 – 1,03	mmol/l	muži ženy
Fosfor	sérum	S_P	0,81 – 1,45	mmol/l	
Železo - celkové	sérum	S_Fe	12,5 – 32,2 10,7 – 32,2	μmol/l	muži ženy
Glukóza	sérum	S_GLU	4,1 – 5,9	mmol/l	
Glukóza	moč	U_GLU	0	mmol/l	
Amoniak	sérum	S_AMON	16 – 53	μmol/l	
Kreatinín	sérum	S_KRE	74 – 110 58 – 96	μmol/l	muži ženy
Močovina (urea)	sérum	S_UREA	2,8 – 7,2	mmol/l	
Kyselina močová	sérum	S_KMOC	208 – 428 155 – 357	μmol/l	muži ženy
Pomer albumín / kreatinín	sérum	Palkr	< 3	mg/mmol	
Celkové bielkoviny	sérum	S_TP	66 – 83	g/l	
Albumín	sérum	S_ALB	35 – 52	g/l	
Bilirubín celkový	sérum	S_TBIL	5 – 21	μmol/l	
Bilirubín – konjugovaný	sérum	S_BILk	0,1 – 3,4	μmol/l	
Triacylglyceroly	sérum	S_TRG	0,4 – 1,7	mmol/l	
Cholesterol	sérum	S_CHOL	< 5,17	mmol/l	
Cholesterol HDL	sérum	S_HDLC	1,03 – 2,00 1,20 – 2,20	mmol/l	muži ženy
Cholesterol LDL	sérum	S_LDLC	1,00 – 3,30	mmol/l	
Laktát	plazma	pI_LAK	0,5 – 2,2	mmol/l	
Base excess	krv	krv_BE(B)	-2,5 – 2,5	mmol/l	
Bikarbonáty	krv	krv_HCO ₃	22,0 – 26,0	mmol/l	
Parciálny tlak oxidu uhličitého	krv	krv_PCO ₂	4,64 – 6,00	kPa	
Parciálny tlak kyslíka	krv	krv_pO ₂	9,8 – 13,3	kPa	
Saturácia hemoglobínu O ₂	krv	krv_O ₂ sat	95 – 99	%	
pH	krv	krv_pH	7,36 – 7,44	-	
pH	moč	U_pH	4,8 – 7,4	-	
Alanínaminotransferáza	sérum	S_ALT	< 0,85 < 0,60	μkat/l	muži ženy
Aspartátaminotransferáza	sérum	S_AST	< 0,85 < 0,60	μkat/l	muži ženy
Gama-glutamyltransferáza	sérum	S_GMT	< 0,92 < 0,63	μkat/l	muži ženy
Amyláza	sérum	S_AMS	0,46 – 1,66	μkat/l	
Fosfatáza alkalická	sérum	S_ALP	0,50 – 2,15	μkat/l	
Laktátdehydrogenáza	sérum	S_LD	1,83 – 4,12	μkat/l	
Lipáza	sérum	S_LPS	0,22 – 1,00	μkat/l	
Cholínesteráza	sérum	S_CHS	77 – 192 65 – 180	μkat/l	muži ženy
Kreatínkináza	sérum	S_CK	< 2,85 < 2,42	μkat/l	muži ženy
Kreatínkináza – izoforma MB	sérum	S_CKMB	< 0,4	μkat/l	

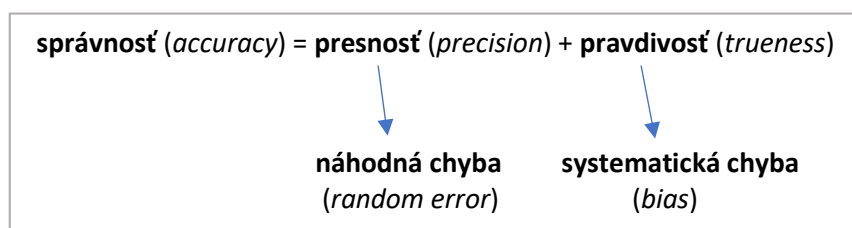
Vysoko-senzitívny Troponín I	sérum	S_hsTnI	< 19,8 < 11,6	ng/l	muži ženy
Myoglobín	sérum	S_MYOG	< 70	µg/l	
Osmolalita	sérum	S_OSM	275 – 295 280 – 300	mmol/kg	0 – 60 r. > 60 r.
C-reaktívny proteín	sérum	S_CRP	< 5	mg/l	
Interleukín 6	sérum	S_IL6	< 6,4	ng/l	
Prokalcitonín	sérum	S_PROC	< 0,5	µg/l	
Presepsín	sérum	S_PRE	< 337	ng/l	
Alfa-1 kyslý glykoproteín	sérum	S_AL1G	0,5 – 1,3 0,4 – 1,2	g/l	muži ženy
Prostatický špecifický antigén	sérum	S_PSA	< 4	µg/l	
Vitamín D (kalcidiol)	sérum	S_VIDc	30 – 100	µg/l	

Otázka J Výsledky stanovenia koncentrácie analytov resp. enzýmov v sére sa udávajú v rôznych jednotkách. Definujte látkové množstvo 1 mol a enzýmovú aktivitu 1 katal.

Odpoveď J Látkové množstvo **1 mol** je definované Avogadrovou konštantou a je to množstvo látky, ktoré obsahuje $6,022 \times 10^{23}$ častíc. Enzým má aktivitu **1 katal** ak pri optimálnych podmienkach (úplné nasýtenie substrátom, teplota, pH) za prítomnosti aktivátorov katalyzuje premenu 1 molu substrátu za 1 s. Keďže obe jednotky sú relatívne veľké, v biochemickej praxi používame v prepočte na liter séra menšie jednotky - µkat, nkat resp. mmol a µmol.

2.6 Analytické vlastnosti laboratórnych metód

O analytických charakteristikách laboratórnych metód si spomenieme len základné informácie, ktoré priamo súvisia s kvalitou a formou výsledku dodaného ordinujúcemu lekárovi. Dôležitou analytickou vlastnosťou laboratórnej metódy je **správnosť** (*accuracy*), ktorá je ovplyvnená odchýlkou výsledku od skutočnej hodnoty. Komponentami správnosti je **presnosť** (*precision*) a **pravdivosť** (*trueness*) (Obr. 29).



Obrázok 29 Základné analytické vlastnosti laboratórnej metódy a chyby merania Správnosť výsledku je kombináciou presnosti a pravdivosti. Presnosť je ovplyvnená náhodnou chybou a pravdivosť systematickou chybou.

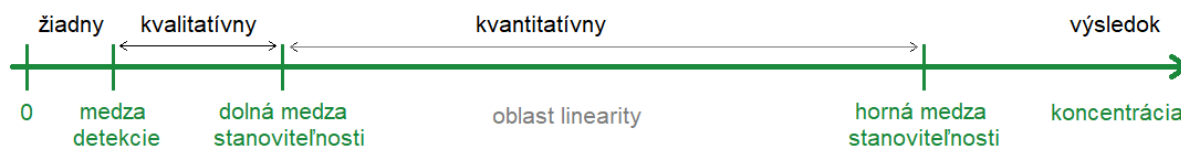
Presnosť laboratórnej metódy je definovaná ako miera zhody medzi výsledkami získanými opakovanou analýzou jednej vzorky. Rozlišujeme **presnosť v sérii – opakovateľnosť** (*repeatability*, viac analýz vykonaných naraz) a **presnosť v čase – reprodukovateľnosť** (*reproducibility*, analýzy vykonané raz denne počas dlhšieho časového obdobia), ktorá nám určuje stabilitu metódy. Presnosť metódy je zaťažená **náhodnou chybou merania** (*random error*), ktorú nie je možné úplne eliminovať a je spôsobená do určitej miery vplyvom teploty, kolísania činnosti prístroja a ďalšími faktormi. Maximálna akceptovateľná nepresnosť metódy je definovaná variačným koeficientom a je na úrovni 10 %. **Pravdivosť** (*trueness*) laboratórnej metódy vyjadruje tesnosť priemernej hodnoty výsledku k skutočnej hodnote a je zaťažená **systematickou chybou** (*bias*). Vzťah presnosti a pravdivosti je znázornený na Obr. 30.



Obrázok 30 Vzťah správnosti, presnosti a pravdivosti laboratórnej metódy Existujú štyri možnosti správnosti výsledkov: a – presné pravdivé (reprezentujú ich zásahy do stredného kruhu terča), b – presné nepravdivé, c – nepresné jednotlivo nepravdivé, aritmetický priemer pravdivý, d – nepresné nepravdivé

Keďže každé meranie je zaťažené chybou merania, ktorú nemožno úplne eliminovať existuje parameter, ktorý sa nazýva **neistota merania** (*uncertainty*). Táto je definovaná ako interval, ktorý obklopuje skutočnú hodnotu a môže v ňom byť meraná veličina. V praxi sa používa málo, pretože napríklad pri 5 % neistote merania sérovej hladiny cholesterolu by musel byť výsledok merania 5 mmol/l udávaný laboratóriom ako 5 mmol/l \pm 5 % (t.j. 4,75 – 5,25 mmol/l).

Analytická citlivosť (senzitivita) metódy určuje najmenší rozdiel koncentrácií, ktoré možno danou metódou merať. Analytická senzitivita je tým vyššia, čím je väčšia je odozva (napr. zmena absorbancie) pri malej zmene koncentrácie meranej látky. Prakticky s analytickou citlivosťou súvisia pojmy ako je medza detekcie a medza stanoviteľnosti, ktoré priamo vplývajú na charakter výsledku z laboratória a sú znázornené na Obr. 31.



Obrázok 31 Analytická citlivosť metódy a charakter dodaných výsledkov vyšetrenia Pri koncentrácii analytu nižšej ako medza detekcie nie je možné vydať výsledok. Pri koncentrácii medzi medzou detekcie a dolnou medzou stanoviteľnosti vydáva laboratórium kvalitatívny výsledok (pozitívny/negatívny). Dolná a horná medza stanoviteľnosti ohraničujú úsek koncentrácií, kde je možno vydať kvantitatívny výsledok v daných jednotkách s požadovanou presnosťou. Tento úsek je typický lineárnou závislosťou zmeny absorbancie (alebo inej meranej veličiny) od koncentrácie látky. Pokiaľ je koncentrácia analytu nižšia ako dolná medza stanoviteľnosti a vyžaduje sa kvantitatívny výsledok, laboratórium vydá výsledok ako „< dolná medza stanoviteľnosti“. Nad hornou medzou stanoviteľnosti je nutné riedenie vzorky s cieľom dostať koncentráciu do oblasti linearity, pri výpočte výsledku sa zohľadňuje dilučný koeficient (spravidla 10-krát, niekedy až 100-krát, výnimočne viac). Pokiaľ nie je možné koncentráciu analytu odmerať ani pri najvyššom prípustnom riedení, laboratórium vydá výsledok ako „> horná medza stanoviteľnosti“.

Analytická špecifickosť (selektivita) vyjadruje, do akej miery je stanovenie určitej látky v biologickom materiáli ovplyvnené inými látkami reagujúcimi s činidlom (tzv. interferencie). Môžeme ju definovať aj ako schopnosť rozlišovať medzi meraným analytom a ostatnými zložkami vzorky. Príkladom interferencie môžu byť imunochemické metódy stanovenia podobných látok (opiáty - morfín, kodeín, heroín t.j. diacetylmorfín), kde sa uplatní istý druh skupinovej skríženej reaktivity.

2.7 Hodnotenie kvality práce v laboratóriu

Cieľom kontroly kvality je zabezpečiť analytickú spoľahlivosť získaných laboratórnych výsledkov. Kontrola kvality prebieha na dvoch úrovniach – vnútorná a vonkajšia.

Vnútorná kontrola kvality (*internal quality assessment*) je v kompetencii laboratória a spočíva v dennom resp. pravidelnom monitorovaní stability meraní. Kontrola presnosti (reprodukovateľnosti) je vykonávaná analýzou kontrolnej vzorky so známou koncentráciou meraného analytu, pričom výsledky by mali byť zhodné a v presne definovanom rozmedzí. Kontrola pravdivosti sa vykonáva pravidelne pomocou komerčne dostupných sér s presne uvedeným rozmedzím požadovaných hodnôt, ktoré majú byť namerané (fyziologických aj patologických). Pokiaľ nie je kontrola kvality úspešná, je nutná recalibrácia metódy a opätovná kontrola kvality až kým metóda nedosahuje požadovanú presnosť a pravdivosť.

Vonkajšia kontrola kvality (*external quality assessment*) zabezpečuje tzv. medzilaboratórnu zrovnateľnosť výsledkov, čiže porovnáva výsledky merania dodávaných sér medzi jednotlivými laboratóriami navzájom. Zabezpečuje fakt, že keď si dáme odmerať napr. glykémiu v troch rôznych laboratóriách na Slovensku, prípadne v ďalšom laboratóriu v Česku, budú hodnoty navzájom korelovať s určitou maximálnou prípustnou odchýlkou. Externá kontrola kvality sa vykonáva prostredníctvom národných alebo nadnárodných firiem, ktoré laboratóriu dodajú vzorku známeho analytu a neznámej koncentrácie. Po odmeraní je výsledok zadaný do online systému, kde po porovnaní a vyhodnotení získa laboratórium od firmy certifikát. Vonkajšia kontrola kvality sa vykonáva v rôzne dlhých časových intervaloch, väčšinou približne raz za 6 mesiacov, v prípade citlivejších analytov aj častejšie (napr. pre acidobázickú rovnováhu raz za mesiac).

2.8 Postanalytická fáza laboratórneho vyšetrenia a interpretácia výsledkov

Získaním výsledku z analyzátora začína tzv. postanalytická fáza laboratórneho vyšetrenia. Výsledok vyšetrenia je automaticky elektronicky prenesený do laboratórneho informačného systému. Prvou osobou v kontakte s výsledkom je laborant zabezpečujúci prevádzku daného analyzátora, ktorý výsledok predbežne vyhodnotí a skontroluje jeho analytickú správnosť. Laborant vykoná opakovanú analýzu, ak výsledok logicky nekoreluje s predchádzajúcim nálezom, má extrémne nízku hodnotu alebo vysokú hodnotu (tu je potrebné prípadné riedenie vzorky). Pri podozrení na ovplyvnenie výsledku interferenciou laborant vyhodnotí jej závažnosť, môže daný výsledok aj vymazať a požadovať od odosielajúceho oddelenia opakovať odber vzorky. Príkladom je hyperkaliémia pri hemolýze vzorky, ktorá môže arteficiálne dosahovať hodnoty aj 10 mmol/l.

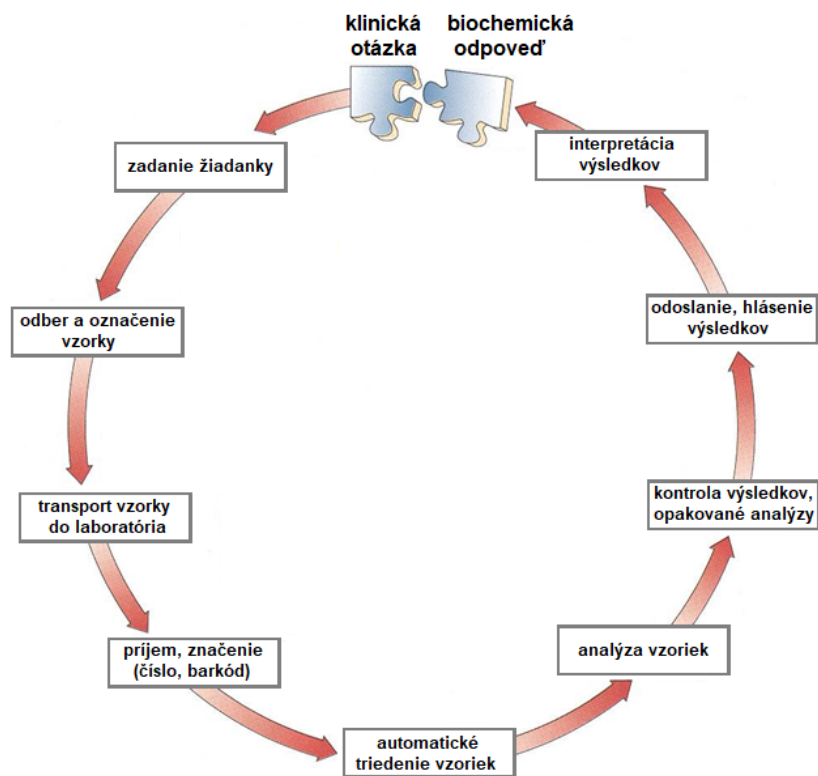
Po analytickej kontrole je výsledok odoslaný do tzv. **lekárskej kontroly**, ktorú vykonávajú lekári a ďalší poverení zamestnanci laboratória s oprávnením odosielať výsledky do nemocničného informačného systému ordinujúcim oddeleniam. Počas tejto kontroly je vyhodnotená korelácia výsledku s predchádzajúcimi nálezmi, diagnózou pacienta a ďalšími informáciami o nálezoch klinického vyšetrenia a zobrazovacích metód, ktoré je možné získať od ošetrojúceho lekára. Rozhoduje sa o validite výsledku, ktorý je následne distribuovaný do nemocničného informačného systému, v prípade potreby môže byť pridaný aj komentár pre ordinujúceho lekára. Okrem elektronického doručenia boli výsledky desaťročia dodávané

ordinujúcim oddeleniam aj v predpísanej tlačenej forme na papieri, od čoho sa však v poslednej dobe upustilo a aktuálne sú výsledky doručované už iba elektronicky. **Kritické hodnoty**, t.j. extrémne zvýšené alebo extrémne znížené koncentrácie, sú zamestnancami laboratória automaticky po ich zistení telefonicky hlásené ordinujúcemu oddeleniu a v laboratórnom informačnom systéme je vykonaný záznam o nahlásení.

Vzorka po analýze je v laboratóriu opäť vložená do automatickej triediacej linky, ktorá vzorku zatriedi do archivačného stojana s určitým číslom. Takéto vzorky sú v laboratóriu 72 hodín skladované v chladiacej miestnosti, kde sú v prípade už spomínanej doordiniácie požiadaviek dostupné pre ďalšie analýzy.

Interpretáciu laboratórnych výsledkov realizuje väčšinou ošetrojúci lekár, avšak mala by mať interdisciplinárny charakter. Interpretácia výsledkov je vykonávaná vo vzťahu k fyziologickým referenčným hodnotám a vzhľadom k už spomínanému spôsobu ich získania je potrebné brať do úvahy fakt, že 5 % zdravých jedincov môže mať výsledok mimo referenčného rozmedzia. Je jasné, že nie každý výsledok v referenčnom medziu koreluje so zdravím pacienta, a naopak, nie každý výsledok mimo referenčného rozmedzia je zaručene známkou choroby vyšetrovanej osoby. Laboratórne výsledky nie sú len čísla na papieri a je potrebné interpretovať ich opatrne. Okrem absolútnej hodnoty výsledku má mnohokrát väčší význam porovnanie dynamiky zmien výsledku z časového hľadiska. Pri interpretácii výsledku laboratórneho vyšetrenia je nutné brať vo významnej miere do úvahy aj údaje z anamnézy pacienta, nálezov klinického vyšetrenia a ďalších zobrazovacích a vyšetrovacích metód. V prípade nejasností je možné a niekedy dokonca nevyhnutné aby spolupracoval odborník, ktorý vyšetrenia indikoval s medicínsky vzdelaným personálom laboratória, pretože existuje mnoho faktorov, ktoré majú na získanie správneho výsledku vplyv.

Osud vzorky biologického materiálu v klinicko-biochemickom laboratóriu je znázornený na Obr. 32.



Obrázok 32 Osud vzorky v klinicko-biochemickom laboratóriu – zhrnutie Po vzniku klinickej otázky, ktorá má byť zodpovedaná pomocou vyšetrenia biochemických markerov je zadaná žiadanka v nemocničnom informačnom systéme. Vzorka je správne odobratá, označená a transportovaná do laboratória. V laboratóriu je vzorka po prijatí pridelený vlastný čiarový kód (vrátane špecifického čísla) a ďalej je podľa neho rozpoznávaná v laboratórnom informačnom systéme. V automatickej triediacej linke sú vzorky roztriedené pre jednotlivé úseky klinicko-biochemického laboratória, v prípade potreby sú vytvorené alikvóty. Po samotnej analýze vzorky v analyzátoroch sú výsledky viacnásobne kontrolované laboratórnym personálom, a odoslané cez laboratórny a nemocničný informačný systém ordinujúcemu lekárovi. Vzorka je archivovaná pre možné ďalšie použitie. V prípade zistenia kritických výsledkov sú tieto hlásené aj telefonicky. V závere vzniku „biochemickej odpovede“ sú výsledky interpretované ordinujúcim lekárom s ohľadom na klinické dáta a nálezy ďalších vyšetrení pacienta.

2.9 Zdroje vzniku chýb laboratórneho výsledku

Ako bolo opísané v predchádzajúcich kapitolách, proces vzniku laboratórneho výsledku je komplexný a zahŕňa veľké množstvo úkonov, z čoho vyplýva aj možnosť vzniku chýb. Získanie správneho výsledku je vo výraznej miere ovplyvnené všetkými osobami, materiálmi a procesmi, s ktorými prichádza vzorka do kontaktu. Nezanedbateľné sú aj faktory vo vzťahu k samotnému pacientovi, od ktorého vzorka pochádza. V nasledujúcej Tab. 3 sú možné chyby opísané podľa fázy laboratórneho vyšetrenia, v ktorej môžu vzniknúť, so stručným uvedením ich dôsledku na získaný výsledok. Ako vidíme, väčšina chýb vzniká v predanalytickej fáze, a to

predovšetkým mimo laboratória. Keďže laboratórium má na túto fázu dosah len prostredníctvom správnej inštrukcie a komunikácie s ordinujúcimi a odoberajúcimi zdravotníckymi pracovníkmi, je potrebné všetky úkony v tejto fáze vyšetrenia vykonať čo najzodpovednejšie. Presne definované pravidlá týkajúce sa odberu, spracovania a transportu biologického materiálu môžu zamestnanci zdravotníckeho zariadenia nájsť v laboratórnej príručke (intranet UNM).

Tabuľka 3 Zdroje chýb laboratórneho výsledku a ich dôsledky

	Zdroj chyby	Dôsledky
Predanalytická fáza (mimo laboratória)	pacient – neovplyvniteľné faktory: rasa vek, pohlavie gravidita diurnálny rytmus	↑ CK u černochoch, ↑ slinnej AMS u Ázijcov rôzne fyziologické hodnoty (viď. Tab. 2) ↓ kreatinín, TP, albumín, ↑ lipidy, proteíny, ALP skoré ranné maximum hladiny kortizolu
	pacient – ovplyvniteľné faktory: obezita strava, diéty fajčenie alkoholizmus fyzická aktivita, i.m. injekcia, trauma liečivá, drogy ochorenia	↑ lipidy, k. močová, hyperinzulinizmus postprandiálne - ↑ inzulín, glykémia, TRG, ↓ K ⁺ , P ↑ lipidy, kortizol, CEA, fibrinogén, karbonyl Hb ↑ AST, ALT, GMT, k. močová, kortizol, lipidy ↑ laktát, CK, AST, myoglobín
	použitie oxidantov pri dezinfekcii kože pred odberom	interferencia s metódami využívajúcimi peroxidázu (glykémia, cholesterol...)
	odber krvi - rýchle nasatie ihlou, prílišné pretrepanie vzorky	hemolýza – ↑ K ⁺ , P, CK, AST, LD, interferencia s meraniami
	odber krvi - dlhé naloženie škrtidla	↑ CK, AST, laktát, albumín, K ⁺ , Ca ²⁺
	odber krvi - poloha pacienta v stoj	↑ aldosterón, adrenalín, albumín, proteíny, lipidy
	odber z končatiny / i.v. katétra s podávanou infúziou	↑ glukózy, Na ⁺ , Cl ⁻ , K ⁺ resp. iných podávaných látok
	použitie antikoagulantov EDTA / citrát / oxalát pre stanovenie Ca ²⁺	↓ Ca ²⁺ jeho vyviazaním
	použitie K ₃ EDTA pri stanovení K ⁺	falošná hyperkaliémia
	pretrepanie (nie premiešanie) krvi v skúmavke, dlhý transport krvi	hemolýza
	skladovanie krvi v chladničke cez noc, zmrazenie krvi pred centrifugáciou	hemolýza
	vysoká / nízka teplota transportu krvi	inaktivácia enzýmov, hemolýza
	silné svetelné žiarenie	odbúravanie a falošné ↓ bilirubínu, folátov
	nesprávne označenie vzorky	výsledky bez korelácie k stavu pacienta a predchádzajúcim výsledkom
	nesprávna odberová skúmavka	nemožnosť stanovenia koncentrácie analytu, výsledok: „opakovať odber“
	strata vzorky	nemožnosť spracovania vzorky
Predanalytická fáza (v laboratóriu)	nedostatočná doba zrazenia krvi (< 15 – 30 min) pred separáciou séra	tvorba fibrínových vlákien → upchatie ihly, nasatie menšieho objemu vzorky → falošne ↓ výsledok
	nepoužitie chladenej centrifúgy pre tepelne nestabilné analyty	falošné ↓ PTH, osteokalcínu ...

	zámena vzoriek	výsledky bez korelácie k stavu pacienta a predchádzajúcim výsledkom
	opakované zmrazovanie a rozmrazovanie vzorky	falošná zmena koncentrácie analytov
	rozbitie skúmavky / vyliatie vzorky	nemožnosť získať výsledky vyšetrenia
Analytická fáza	nesprávne vykonanie kalibrácie alebo kontroly kvality	nesprávne a nepresné výsledky
	použitie expirovaného / nekvalitného kitu	nesprávne a nepresné výsledky
	nezohľadnenie riedenia vzorky pri výpočte finálnej koncentrácie analytu	falošne ↓ hodnoty výsledku
	rýchle odobratie vzorky ešte pred nasatím celého objemu (ASTRUP)	falošne ↓ resp. žiadny výsledok, nedostatočný objem vzorky pre ďalšiu analýzu
	vloženie nedostatočného objemu vzorky do analyzátoru	nevykonanie kompletnej analýzy – výsledok „málo materiálu“, požiadavka „opakovať odber“
	vyšetrenie markerov zo séra namiesto plazmy (resp. naopak)	falošne ↑ resp. ↓ hodnoty výsledku
	nasatie a analýza menšieho objemu vzorky pri upchatí ihly (zrazenina)	falošne ↓ hodnoty výsledku - opakovanie analýzy
	nesprávne subjektívne vyhodnotenie „optického“ testu	nesprávny výsledok
Postanalytická fáza	chybný prenos / prepis dát	odoslanie nesprávneho výsledku
	neidentifikovanie chybného výsledku pri analytickej / lekárskej kontrole	odoslanie nesprávneho výsledku
	nezohľadnenie predanalytických vplyvov	nesprávna interpretácia výsledkov
	nezohľadnenie anamnézy, klinického nálezu a výsledkov zobrazovacích metód	nesprávna interpretácia výsledkov
	neskoré doručenie výsledku, nenahlásenie kritických výsledkov	ohrozenie života pacienta

Použité skratky: ↑ – zvýšenie, nárast, ↓ – zníženie, pokles, k. – kyselina

3 Interpretácia vybraných klinicko-biochemických nálezov

V predchádzajúcich kapitolách boli opísané základné charakteristiky vyšetrenia vzoriek v klinicko-biochemickom laboratóriu, princípy používaných metód a vzniku výsledkov vrátane pravidiel ich interpretácie. Každý absolvent lekárskej fakulty by mal mať o týchto praktických náležitostiach adekvátne vedomosti, pretože s laboratórnymi výsledkami bude vo svojej klinickej praxi v každodennom kontakte.

V nasledujúcich kapitolách budeme uvádzať a detailne interpretovať výsledky biochemických vyšetrení vybraných prípadov. Pre jednoduchšiu orientáciu vo vzťahu k referenčným hodnotám zvýrazňujeme zvýšené hodnoty výsledku červenou farbou, znížené hodnoty modrou farbou, normálne hodnoty sú uvádzané čiernou farbou. Pokiaľ sú referenčné hodnoty iné, ako tie pre zdravých dospelých jedincov z Tab. 2, uvádzame pri nich v zátvorke aj vek pacienta, ku ktorému sa vzťahujú. Keďže existuje množstvo literárnych zdrojov, v ktorých je možné nájsť dostatok podrobných teoretických informácií, prednášaných aj v rámci predmetu Klinická biochémia a laboratórna medicína na JLF UK, údaje k jednotlivým markerom potrebné pre správnu interpretáciu sú cielené a zostručené. Snahou autora bolo vždy pri výskyte ešte neopísaného markera uviesť jeho základné charakteristiky, ktoré sú zároveň potrebné k správne vyhodnoteniu získaných výsledkov. Nasledujúce kazuistiky sú prezentované hlavne pre študentov a absolventov všeobecného lekárstva.

3.1 Prípad 1 Acidobázická rovnováha

59-ročná pacientka s dlhodobou liečenou chronickou obštrukčnou chorobou pľúc bola hospitalizovaná pre exacerbáciu ochorenia. Pacientka subjektívne udáva zhoršenie dlhodobých ťažkostí – zvýraznenie dyspnoe a kašľa, pocit tiesne na hrudníku, expektoráciu hnisavého spúta. Objektívne je prítomný vlhký kašeľ, teplota 38 °C, auskultačne sú výrazné vlhké dýchacie fenomény a bazálne oslabené dýchanie. Výsledky vyšetrenia acidobázickej rovnováhy z kapilárnej krvi sú:

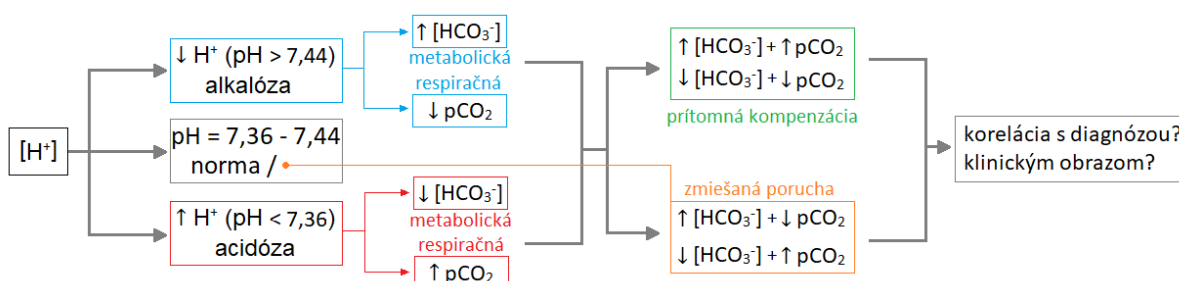
Názov parametra	Výsledok	Referenčné hodnoty	Jednotky
Acidobáza			
pO ₂	11,43	9,8 – 13,3	kPa
pCO ₂	9,07	4,64 – 6,00	kPa
pH	7,299	7,36 – 7,44	-
BE	3,8	-2,5 – 2,5	
HCO ₃ ⁻	32,6	22 – 26	mmol/l
O ₂ sat	95,3	95 – 99	%

Otázka 3.1.1 Ktoré 4 základné poruchy acidobázickej rovnováhy (ABR) poznáte a primárnou zmenou akého parametra okrem pH sú charakteristické?

Odpoveď 3.1.1 U pacienta sa môžu vyskytovať 4 základné poruchy ABR a ich kombinácie – metabolická acidóza a metabolická alkalóza (zmena koncentrácie HCO₃⁻), respiračná acidóza a respiračná alkalóza (zmena pCO₂).

Otázka 3.1.2 Ako postupujeme pri vyhodnotení výsledku vyšetrenia acidobázickej rovnováhy?

Odpoveď 3.1.2 Pri vyhodnotení výsledku vyšetrenia ABR môžeme postupovať podľa Obr.33



Obrázok 33 Zjednodušený návod k interpretácii nálezu vyšetrenia acidobázickej rovnováhy Pri indikácii vyšetrenia ABR (ASTRUP) sa zamyslíme nad tým, akú poruchu predpokladáme s ohľadom na klinický stav, aktuálne diagnózy a ťažkosti pacienta. Po získaní výsledku najprv na základe pH vyhodnotíme, či sa jedná o acidózu alebo alkalózu. Následne sa rozhodneme, či ide o metabolickú poruchu (zmena koncentrácie bikarbonátu, ktorá koreluje s pH) alebo respiračnú poruchu (zmena pCO₂, ktorá koreluje s pH). V ďalšom kroku

zvážíme, či je prítomná kompenzácia (koncentrácia HCO_3^- aj pCO_2 zmenené v rovnakom smere) alebo sa jedná o zmiešanú poruchu (koncentrácia HCO_3^- aj pCO_2 zmenené v opačnom smere, pH môže byť v norme). Nakoniec tak ako pri každej interpretácii výsledkov zhodnotíme, či nami získané vyhodnotenie stavu acidobázickej rovnováhy pacienta koreluje s diagnózou, klinickým obrazom a výsledkami ďalších zobrazovacích a iných vyšetrení. Použité skratky: pCO_2 – parciálny tlak oxidu uhličitého, HCO_3^- - bikarbonáty.

Otázka 3.1.3 O akú poruchu acidobázickej rovnováhy sa u pacienta jedná a aký je mechanizmus jej vzniku? Zdôvodnite.

Odpoveď 3.1.3 Vzhľadom k zníženému pH a hyperkapnii sa jedná o respiračnú acidózu. Zvýšenie parciálneho tlaku oxidu uhličitého je dôsledkom hypoventilácie a retencie CO_2 , ktorý po reakcii s vodou vytvára kyselinu.

Otázka 3.1.4 Prečo je zvýšená koncentrácia bikarbonátov? Ako rozumiete parametru BE?

Odpoveď 3.1.4 Koncentrácia bikarbonátov je u pacientky zvýšená, pretože sú regenerované a retinované obličkami ako kompenzačný mechanizmus respiračnej acidózy. Výchylka báz (BE, *base excess*) je definovaná ako množstvo báz v mmol/l, ktoré je potrebné pridať alebo odstrániť z krvi aby sa normalizovalo pH za predpokladu vylúčenia respiračnej poruchy. Hodnota BE významne koreluje s “metabolickou zložkou” acidobázickej poruchy. Väčšinou platí, že keď sú bikarbonáty v nadbytku (pacient má metabolickú alkalózu) je zvýšený aj BE a naopak.

Otázka 3.1.5 Čo sa stane so stavom ABR pacienta keď ho pripojíme na umelú ventiláciu a normalizujeme parciálny tlak oxidu uhličitého? Je možné ventiláciou ohroziť jeho život?

Odpoveď 3.1.5 Po odstránení hyperkapnie dochádza vzhľadom k retencii bikarbonátov k „prestreleniu“ v smere sekundárnej metabolickej alkalózy. U pacientov s chronickou respiračnou acidózou je po aplikácii umelej ventilácie možné ohrozenie života, pretože v dôsledku chronickej hyperkapnie je hypoxia jediným stimulom respiračného centra. Ak hypoxiu náhle odstránime, môže dôjsť k apnoe.

3.2 Prípad 2 Acidobázická rovnováha, funkcia obličiek

40-ročná pacientka bez významného predchorobia prišla do nemocnice so zimnicou, triaškou, horúčkou, tupými bolesťami v boku a nauzeou, predtým viackrát zvracala. Pacientka mala niekoľko dní pred vznikom príznakov dysurické ťažkosti a častejšie močila, poslené dva dni bola oligurická (diuréza cca 250 ml/24 hod) pri normálnom príjme tekutín. Objektívne má pacientka napnutú brušnú stenu, pozitívny tapotement vľavo, tachypnoe (33 dychov/min), teplotu 39,1 °C. Výsledky vyšetrenia acidobázickej rovnováhy z kapilárnej krvi sú:

Názov parametra	Výsledok	Referenčné hodnoty	Jednotky
Acidobáza kapilára			
pO ₂	11,47	9,8 – 13,3	kPa
pCO ₂	3,89	4,64 – 6,00	kPa
pH	7,184	7,36 – 7,43	-
BE	-16,1	-2,5 – 2,5	
HCO ₃ ⁻	10,7	22 – 26	mmol/l
O ₂ sat	95,9	95 – 99	%

Otázka 3.2.1 Je u pacientky prítomná porucha acidobázickej rovnováhy? Ak áno, je už vyvinutá kompenzácia?

Odpoveď 3.2.1 Vzhľadom k zníženému pH a poklesu bikarbonátov (vrátane BE) sa jedná o metabolickú acidózu. Hypokapnia je výsledkom kompenzačnej hyperventilácie, pomocou ktorej organizmus pľúcami vylučuje oxid uhličitý a tým sa zbavuje kyselín.

Otázka 3.2.2 Akú príčinu poruchy ABR by ste u pacienta predpokladali a ktoré ďalšie biochemické markery by ste vyšetrili za účelom potvrdenia / vylúčenia diagnózy?

Odpoveď 3.2.2 Anamnéza, klinický obraz, fyzikálny nález svedčia pre možnú uroinfekciu s poruchou funkcie obličiek a retenciou kyselín. Výsledky ďalších vyšetrení boli:

Názov parametra	Výsledok	Referenčné hodnoty	Jednotky
Minerály v sére			
Sodík	133	136 - 146	mmol/l
Draslík	6,9	3,5 – 5,1	mmol/l
Vápnik	2,26	2,20 – 2,65	mmol/l
Chloridy	106	101 - 109	mmol/l
Fosfor	2,09	0,81 – 1,45	mmol/l
Vápnik ionizovaný	1,255	1,130 – 1,320	mmol/l
Sérum			
Glukóza	13,3	4,1 – 5,9	mmol/l
Kreatinín	461	58 – 96	μmol/l
Urea	24,3	2,8 – 7,2	mmol/l

Kyselina močová	340	155 – 357	μmol/l
Celkové bielkoviny	60,0	66 – 83	g/l
Albumín	37	35 – 52	g/l
Bilirubín celkový	7,5	5,0 – 21,0	μmol/l
Bilirubín konjugovaný	0,8	0,1 – 3,4	μmol/l
AST	0,30	< 0,6	μkat/l
ALT	0,25	< 0,6	μkat/l
CRP	35,7	< 5	mmol/l

Otázka 3.2.3 Sú biochemické nálezy v sére v súlade s klinickým obrazom a predpokladanou diagnózou? Ako vysvetlíte prítomnosť hyponatrémie?

Odpoveď 3.2.3 Biochemické nálezy – zvýšená sérová hladina draslíka, fosfátov, urey a kreatinínu v kombinácii s oligúriou svedčia pre akútne zlyhanie obličiek, pri ktorom dochádza k nahromadeniu kyslých metabolitov, dusíkatých a iných látok v organizme. V dôsledku zníženého vylučovania tekutín býva v oligurickej fáze prítomná aj dilučná hyponatrémia.

Otázka 3.2.4 Aké parametre vyšetrujeme pri chemickom a mikroskopickom vyšetrení moču (moč chemicky + sediment)? Aké ochorenie obličiek podmienilo ich akútne zlyhanie?

Moč chemicky			
pH moču	5,0	4,8 – 7,4	
SG-hustota	1,013	1,001 – 1,035	kg/m ³
Bielkoviny	pozit		
Glukóza	negat		
Acetón	negat		
Bilirubín	negat		
Urobilinogén	negat		
Leukocyty chemicky	pozit		
Erytrocyty chemicky	pozit		
Nitrity	pozit		
Moč mikroskopicky			
Leukocyty	3590	0 – 15	/ μl
Erytrocyty	181	0 – 10	/ μl
Epitélie dlaždicové	24	0 – 15	/ μl
Epitélie guľaté	ojedinele		
Baktérie	početne		
Drť amorfná	prítomné		
Vlákná hlienové	ojedinele		

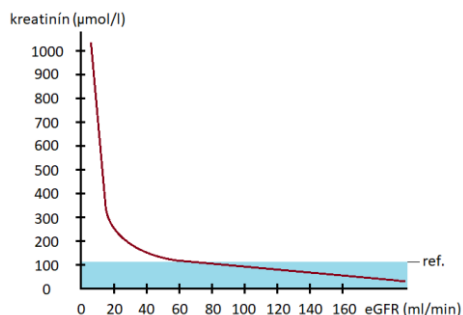
Odpoveď 3.2.4 Príčinou renálneho zlyhania u tejto pacientky bola uroinfekcia – komplikovaná akútna tubulointersticiálna nefritída, pre ktorú svedčí okrem klinického obrazu (tapotement, slabosť, febrília, dyzúria...) zvýšená zápalová aktivita v sére, proteinúria a zvýšený počet leukocytov, erytrocytov, baktérií a renálnych epitélií v moči.

Otázka 3.2.5 Kultivačne bola v moči potvrdená *Escherichia coli*. Čo znamená prítomnosť nitritov v moči? Ako by ste vysvetlili keby sme v moči našli baktérie bez patologického zvýšenia počtu leukocytov v moči?

Odpoveď 3.2.5 Nitrity (NO_2^-) sa využívajú pri chemickej detekcii baktérií v moči, pretože vznikajú redukciou nitrátov (NO_3^-) činnosťou enterobakteriálnych enzýmov. Falošná negativita nitritov môže byť spôsobená nedostatočným množstvom dusičnanov v diéte, alebo krátkym skladovaním moču v mechúri, za ktorý baktérie nie sú schopné nitráty pochádzajúce z potravy zredukovať. Zvýšené množstvo baktérií v moči bez nálezu leukocytov svedčí pre pravdepodobnú kontamináciu moču pri alebo po odbere.

Otázka 3.2.6 Ako sa mení sérová hladina urey a kreatinínu pri akútnom zlyhaní obličiek? Má meranie hladiny kreatinínu ako markera filtračnej funkcie obličiek nejaké nedostatky?

Odpoveď 3.2.6 Zvýšenie sérovej hladiny dusíkatých látok (azotémia) je pri akútnom zlyhaní obličiek charakteristické väčším nárastom urey ako kreatinínu, pri chronickom renálnom zlyhaní býva typický väčší nárast kreatinínu. Vzťah kreatininémie a odhadovanej glomerulárnej filtrácie (eGFR, *estimated glomerular filtration rate*) je znázornený na Obr. 34.



Obrázok 34 Vzťah glomerulárnej filtrácie a sérovej hladiny kreatinínu. K nárastu kreatininémie nad referenčné medze (ref.) dochádza až pri poklese glomerulárnej filtrácie (eGFR, *estimated glomerular filtration rate*) približne na polovičnú hodnotu (fyziologicky je eGFR približne 120 ml/min/1,73 m²). Normálna hladina kreatinínu v sére môže byť prítomná aj pri výraznom poklese glomerulárnej filtrácie.

Kvôli opísanej nedokonalnej závislosti eGFR a kreatininémie je vhodnejším markerom výpočet odhadovanej glomerulárnej filtrácie v ml/min pomocou rôznych rovníc – v klinickej praxi sa používal dlho výpočet podľa Cockrofta-Gaulta (vek, hmotnosť, sérový kreatinín). U uvedenej pacientky bola takto vypočítaná hodnota eGFR na úrovni 11 ml/min (menej ako 10 % normálnej GF).

3.3 Prípad 3 Acidobázická rovnováha, markery zápalu a sepsy

85-ročný pacient podstúpil brušnú operáciu (distálnu pankreatektómiu) pre inzulinóm s už detekovanými metastázami. Týždeň po operácii sa rozvinul septický stav a multiorgánový dysfunkčný syndróm (MODS) s poškodením pečene, myelinolýzou v centrálnom nervovom systéme (CNS), došlo k zastaveniu srdca a následnej úspešnej resuscitácii. Aktuálne je pacient na jednotke intenzívnej starostlivosti v komatóznom stave. Výsledky biochemického vyšetrenia sú:

Názov parametra	Výsledok	Referenčné hodnoty	Jednotky
Acidobáza kapilára			
pO ₂	10,26	9,8 – 13,3	kPa
pCO ₂	6,94	4,64 – 6,00	kPa
pH	7,112	7,36 – 7,43	-
BE	-13,4	-2,5 – 2,5	
HCO ₃ ⁻	16,2	22 – 26	mmol/l
O ₂ sat	90,3	95 – 99	%
Minerály v sére			
Sodík	143	136 – 146	mmol/l
Draslík	4,7	3,5 – 5,1	mmol/l
Chloridy	107	101 – 109	mmol/l
Sérum			
Prokalcitonín	26,49	< 0,5	mmol/l
Laktát plazma	2,88	0,5 – 2,2	mmol/l

Otázka 3.3.1 Vysvetlite o akú poruchu acidobázickej rovnováhy sa jedná?

Odpoveď 3.3.1 Hodnota pH je znížená, pacient má acidózu. Parciálny tlak oxidu uhličitého je zvýšený a hladina bikarbonátov je znížená. Keďže tieto sú zmenené v opačnom smere, jedná sa o zmiešanú poruchu ABR, a to o kombináciu respiračnej a metabolickej acidózy, čo koreluje aj s klinickými údajmi. Zastavenie srdca spôsobuje hypoxiu tkanív s následným zvýšením tvorby laktátu, hypoventilácia v dôsledku apnoe vyúsťuje do retencie CO₂.

Otázka 3.3.2 Vypočítajte aniónovú medzeru a vysvetlite jej význam.

Odpoveď 3.3.2 Aniónovú medzeru (AG, *anion gap*) nám upresňuje typ metabolickej acidózy, referenčná hodnota je približne 14 – 18 mmol/l a je vypočítaná nasledovne:

$$AG = ([Na^+] + [K^+]) - ([Cl^-] + [HCO_3^-]) = (143 + 4,7) - (107 + 16,2) = 24,5 \text{ mmol/l.}$$

Pacient má teda metabolickú acidózu so zvýšenou hodnotou AG, ktorá býva prítomná pri nadbytku kyselín exogénneho alebo endogénneho pôvodu, v tomto prípade laktátu. Ďalším typom je metabolická acidóza s normálnou hodnotou AG, ktorá vzniká pri stratách bikarbonátov gastrointestinálnym systémom alebo obličkami (Obr. 35).

$$AG = ([Na^+] + [K^+]) - ([Cl^-] + \downarrow[HCO_3^-]) \rightarrow \text{zvýšená AG}$$

pokles hodnoty

$$AG = ([Na^+] + [K^+]) - (\uparrow[Cl^-] + \downarrow[HCO_3^-]) \rightarrow \text{normálna AG}$$

bez zmeny

Obrázok 35 Vysvetlenie príčiny zmien AG pri metabolickej acidóze Pri metabolickej acidóze so zvýšenou AG dochádza k neutralizácii bikarbonátov pri pufrovaní a ich náhrade organickými kyselinami, klesá koncentrácia bikarbonátov a preto po ich odčítaní hodnota AG stúpa. Pri metabolickej acidóze s normálnou AG sú stratené bikarbonáty kompenzačne nahradené v stĺpci aniónov chloridmi a celková hodnota odčítavanej pravej zátvorky ani AG sa nemení.

Otázka 3.3.3 Interpretujte výsledok vyšetrenia sérovej hladiny prokalcitonínu.

Odpoveď 3.3.3 Prokalcitonín (PCT) je glykoproteín, ktorý je identický s normálnym prohormónom kalcitonínu štítnej žľazy a pri septických stavoch sa tvorí v pečeni a iných tkanivách. V sére sa jeho hodnota významne zvyšuje pri ťažkých predovšetkým bakteriálnych infekciách, k zvýšeniu nedochádza pri vírusových ochoreniach. Normálna koncentrácia v sére je < 0,5 µg/l, hodnoty 0,5 – 2 µg/l sú tzv. šedou zónou pri chronických zápalových ochoreniach, pri 2 – 10 µg/l je zvýšená pravdepodobnosť sepsy a septického šoku, hodnoty > 10 µg/l sú väčšinou prítomné pri ťažkej sepsy a MODS (naš pacient 26,49 µg/l). Pri ťažkej generalizovanej bakteriálnej sepsy môžu hodnoty PCT dosiahnuť aj 1000 µg/l. S veľkou obľubou je stanovenie PCT využívané v detekcii novorodeneckej včasnej sepsy (pozor - hladina PCT u novorodencov je fyziologicky vyššia a normalizuje sa do 72 hod od narodenia). Zvýšenie PCT v porovnaní s CRP a IL6 lepšie odlišuje bakteriálnu sepsu od SIRS z neinfekčných príčin.

Otázka 3.3.4 Aké iné zápalové markery poznáte, porovnajte ich navzájom.

Odpoveď 3.3.4 Okrem PCT patrí medzi bežne stanovované zápalové markery C-reaktívny proteín (CRP), presepsín a interleukín 6 (IL6), dynamika zmien koncentrácie zápalových markerov v sére je znázornená v Tab. 4.

Tabuľka 4 Časová závislosť zmien sérových hladín zápalových markerov

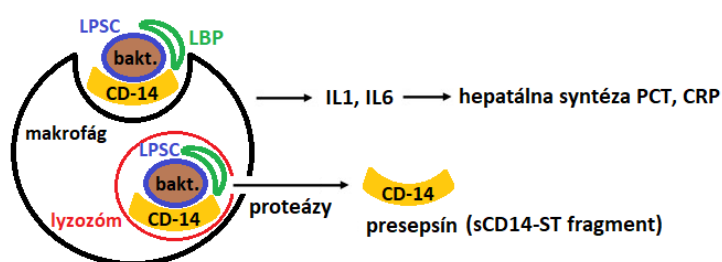
Marker	Začiatok elevácie	Maximálna hladina	Biologický polčas
IL6	1 hod	3 – 5 hod	< 1 hod
Presepsín	2 hod	3 hod	4 – 5 hod
Prokalcitonín	6 hod	6 – 12 hod	12 – 24 hod
CRP	6 – 9 hod	24 – 72 hod	19 hod

Interleukín 6 je prozápalový cytokín aktivujúci syntézu proteínov akútnej fázy, vrátane PCT a CRP. Využíva sa predovšetkým ako marker neonatálnej infekcie a sepsy. Čím je vyššia počiatočná hladina IL6, tým vyššia je závažnosť sepsy, pravdepodobnosť vzniku septického šoku a orgánovej dysfunkcie. Sérová hladina IL6 viac ako 1000 ng/l pretrvávajúca niekoľko dní od vzniku sepsy je asociovaná s veľmi vysokou mortalitou, naopak u pacientov s dobrou prognózou dochádza počas prvých 3 dní k poklesu hladiny o takmer 90 %. Koncentrácia IL6 sa zvyšuje aj po operáciách, úrazoch a u kriticky chorých pacientov (mozgová smrť, neoplázie) a je úmerná rozsahu poškodenia.

C-reaktívny proteín sa tvorí v hepatocytoch a jeho názov bol odvodený od schopnosti precipitovať C-polysacharid pneumokokov. CRP je štrukturálne homologický s konštantnou časťou ťažkých reťazcov IgG a využíva sa v biochemickej diferenciálnej diagnostike infekcie baktériami (> 50 mg/l) a vírusmi (5 – 35 mg/l). Hodnoty > 200 mg/l bývajú prítomné u pacientov s ťažkou sepsou a k vzostupu dochádza pomalšie ako pri iných markeroch. Pre nízku špecifitu je meranie CRP vhodné skôr k monitoringu účinnosti antibiotickej liečby ako k diagnostike. Praktické využitie v posledných rokoch dostávajú aj rýchle „POCT“ CRP testy, ktoré sú využívané ambulantnými lekármi pri zvážení správnosti indikácie antibiotickej liečby. Normálna hladina CRP pri prudkých klinických príznakoch vážnej bakteriálnej infekcie však nie je kontraindikáciou antibiotickej liečby a môže byť prítomná ešte určitý čas od vzniku ochorenia (viď Tab. 4). Z uvedených dôvodov má veľký význam stanovenie dynamiky zmien sérových hladín markeru a ďalších laboratórnych ukazovateľov, ako je diferenciálny rozpočet leukocytov resp. vyšetrenie močového sedimentu.

Presepsín vzniká proteolytickým odštiepením sérového CD14-ST fragmentu z komplexu lipopolysacharidu baktérií a glykoproteínového membránového receptora leukocytov. Jedná sa o zápalový marker, ktorý sa uvoľňuje z lyzozómov po fagocytóze baktérií, má využitie vo

včasnej diagnostike sepsy a pri stratifikácii prognózy a rizika mortality u septických pacientov. Hladina presepsínu v sére narastá skôr ako hladina ostatných zápalových markerov a nie je ovplyvnená funkciou pečene (viď Obr. 36). Fyziologická hladina v sére je < 337 ng/l. Hodnota < 200 ng/l vylučuje sepsu, hladina < 300 ng/l svedčí pre nepravdepodobnú systémovú infekciu, hladina 300 – 500 ng/l je spojená s možnou sepsou, 500 – 1000 ng/l koreluje so zvýšeným rizikom progresie sepsy a zlého „outcome“, hladina ≥ 1000 ng/l je spojená so závažným rizikom ťažkej sepsy a septického šoku, a tiež vysokou 30-dennou mortalitou. Bolo zistené, že u jedincov so sepsou je sérová hladina presepsínu > 1900 ng/l asociovaná s 60 % mortalitou.



Obrázok 36 Vznik zápalových markerov pri bakteriálnej infekcii a sepse (podľa Chenevier-Gobeaux et al., 2015) Lipopolysacharid (LPSC), ktorý sa nachádza v bakteriálnej stene sa viaže s lipopolysacharid-viažúcim proteínom (LBP, *lipopolysaccharide binding protein*). Komplex LPSC-LBP je viazaný na glykoproteínový receptor CD14, ktorý je exprimovaný na povrchu makrofágov. Po internalizácii komplexu a jeho štiepení proteázami sa do krvi uvoľňuje solubilný fragment (sCD14-ST) nazývaný aj presepsín. Ako vidíme, jeho syntéza je rýchlejšia v porovnaní s PCT a CRP a nie je závislá od proteosyntézy v pečeni.

3.4 Prípád 4 Acidobázická rovnováha, sérové minerály, funkcia obličiek

38-ročná pacientka, ktorá sa doteraz dlhodobo neliečila na žiadne ochorenie prišla do nemocnice pre 4 dni trvajúce zvracanie, pocit slabosti a závraty prítomné od včera večera. Objektívne mala pacientka znížený turgor kože, tachykardiu 120/min, tlak krvi 100/60 mm Hg a plytké dýchanie.

Otázka 3.4.1 Vyšetrenie akých biochemických markerov by ste indikovali?

Odpoveď 3.4.1 Pri príjme boli vykonané nasledovné biochemického vyšetrenia:

Názov parametra	Výsledok	Referenčné hodnoty	Jednotky
Acidobáza kapilára			
pO ₂	12,5	9,8 – 13,3	kPa
pCO ₂	6,91	4,64 – 6,00	kPa
pH	7,474	7,36 – 7,43	-
BE	11,4	-2,5 – 2,5	
HCO ₃ ⁻	37,2	22 – 26	mmol/l
O ₂ sat	95,6	95 – 99	%
Minerály v sére			
Sodík	149	136 – 146	mmol/l
Draslík	2,4	3,5 – 5,1	mmol/l
Vápnik	2,32	2,20 – 2,65	mmol/l
Chloridy	84	101 – 109	mmol/l
Sérum			
Glukóza	5,4	4,1 – 5,9	mmol/l
Kreatinín	162	58 – 96	μmol/l
Urea	19,9	2,8 – 7,2	mmol/l
Kyselina močová	286	155 – 357	μmol/l
Celkové bielkoviny	75	66 – 83	g/l
Albumín	43	35 – 52	g/l
Bilirubín celkový	8,8	5,0 – 21,0	μmol/l
Bilirubín konjugovaný	2,1	0,1 – 3,4	μmol/l
AST	0,40	< 0,6	μkat/l
ALT	0,22	< 0,6	μkat/l
ALP	1,12	0,50 – 2,15	μkat/l
GMT	0,45	< 0,63	μkat/l
AMS	1,08	0,46 – 1,66	μkat/l
LPS	0,89	0,22 – 1,00	μkat/l
CRP	14	< 5	mg/l
Osmolalita	324	275 – 295	mmol/kg

Moč chemicky			
pH moču	4,0	4,8 – 7,4	
SG-hustota	1,022	1,001 – 1,035	kg/m ³
Bielkoviny	negat		
Glukóza	negat		
Acetón	negat		
Bilirubín	negat		
Urobilinogén	negat		
Leukocyty chemicky	negat		
Erytrocyty chemicky	negat		
Nitrity	negat		
Moč mikroskopicky			
Leukocyty	10	0 – 15	/ μl
Erytrocyty	4	0 – 10	/ μl
Epitélie dlaždicové	9	0 – 15	/ μl
Drť amorfná	prítomné		
Vlákná hlienové	prítomné		

Otázka 3.4.2 Vysvetlite o akú poruchu acidobázickej rovnováhy sa jedná? Prečo je zvýšený parciálny tlak CO₂?

Odpoveď 3.4.2 Vzhľadom k zvýšenému pH a zvýšenej koncentrácii bikarbonátov (vrátane zvýšenia BE) v kombinácii s poklesom chloridov v sére sa jedná o hypochloremickú metabolickú alkalózu. Parciálny tlak CO₂ je zvýšený v dôsledku jeho retencie - kompenzácia metabolickej alkalózy pľúcami.

Otázka 3.4.3 Korelujú zmeny sérovej koncentrácie minerálov a dusíkatých látok s údajmi s anamnézy a klinickým obrazom? Aká je eGFR podľa Cockrofta-Gaulta ak pacientka váži 59 kg?

Odpoveď 3.4.3 Pacientka má hypochlorémiu, hypokaliémiu a miernu hypernatrémiu. Uvedený nález môžeme vysvetliť tým, že organizmus pacientky pri zvracaní strácal zo žalúdočnej šťavy predovšetkým chloridy (obsah 110 mmol/l) a draslík (obsah 10 mmol/l, t.j. cca 2 – 3 násobok koncentrácie v sére). Hypernatrémia je spôsobená dehydratáciou pacientky, ktorá zvracaním strácala viac vody ako sodíka (obsah Na⁺ v žalúdočnej šťave je 70 mmol/l, t.j. cca polovica koncentrácie v sére), a pretože nebola schopná hradiť tekutiny *per os*, zmenil sa pomer množstva rozpúšťadla a rozpustenej látky (séra k sodíku) v prospech sodíka. Zmeny koncentrácie dusíkatých látok (kreatinín, urea) svedčia pre akútne zlyhanie obličiek v dôsledku dehydratácie. eGFR podľa Cockrofta-Gaulta (aktuálne už obsolentná metóda, viď kap. 3.5) je

$$eGFR_{\text{Cockroft-Gault}} = \frac{(140 - \text{vek}) \times \text{hmotnosť}}{49 \times \text{sérový kreatinín}} \times 0,85 \text{ u žien} = \frac{(140 - 38) \times 59}{49 \times 168} \times 0,85 = 0,73 \text{ ml/s} = 44 \text{ ml/min.}$$

Otázka 3.4.4 K aktivácii akých systémov dochádza pri hypertonickej dehydratácii a znížení efektívneho cirkulujúceho objemu?

Odpoveď 3.4.4 Znížená perfúzia *vas afferens* obličiek vyústi do aktivácie systému renín-angiotenzín-aldosterón, ktorý spôsobuje stimuláciu tvorby aldosterónu a zvýšenie efektívneho cirkulujúceho objemu retenciou sodíka (s ním aj vody), avšak za cenu zvýšenia strát draslíka v distálnom tubule. Hyperosmolalita séra stimuluje tvorbu antidiuretického hormónu, ktorý vyústi do retencie vody v distálnom tubule a zberných kanálikoch obličiek.

Otázka 3.4.5 Aké pH moču by ste očakávali pri metabolickej alkalóze? Prečo má pacientka znížené pH moču?

Odpoveď 3.4.5 Pri metabolickej alkalóze má organizmus snahu vylúčiť prebytočné HCO_3^- do moču a tým ho alkalizovať. Tvorba tzv. „paradoxne kyslého moču“ je podmienená hypokaliémiou, pretože obličky sa snažia retinovať K^+ a namiesto neho sa do moču vylučuje H^+ , čo je znásobené už opísaným hyperaldosteronizmom.

Otázka 3.4.6 Aké jednoduché vyšetrenie moču by sme mohli doordinať pre orientačné zistenie koncentračnej schopnosti obličiek? Pomôže nám aj meranie hustoty moču?

Odpoveď 3.4.6 Jedným z markerov koncentračnej schopnosti obličiek je vyšetrenie osmolality moču, ktoré bolo pacientovi doordinované, pričom výsledok bol:

Názov parametra	Výsledok	Referenčné hodnoty	Jednotky
Moč			
Osmolalita	560		mmol/kg

Osmolalita moču (tvorená hlavne kationmi Na^+ , K^+ , NH_4^+ a ureou) nám môže slúžiť ako jednoduchý orientačný diagnostický nástroj pre biochemickú diferenciálnu diagnostiku obličkového zlyhania. Pri prerenálnom zlyhaní býva väčšinou > 400 mmol/kg, v prípade renálneho zlyhania obličiek je osmolalita moču podobná plazme. U našej pacientky je osmolalita moču 560 mmol/kg, čo svedčí pre čiastočne zachovanú koncentračnú schopnosť obličiek (retencia vody, koncentrácia moču). Osmolalita moču nad cca 600 mmol/kg svedčí pre intaktnú funkciu tubulov u dospelých jedincov. So zachovanou koncentračnou schopnosťou obličiek je asociovaná hustota moču nad cca 1018 kg/m^3 .

3.5 Prípad 5 Chronické zlyhanie obličiek, vitamín D, proteinúria a zber moču

51-ročný pacient trpí chronickou chorobou obličiek a je pravidelne sledovaný v nefrologickej ambulancii. Pacient má dlhodobu dysfunkčné močenie psychogénneho charakteru, sám sa niekedy zacievkuje a opakovane máva infekcie močových ciest, ktoré sa uňho prejavujú bolestivým nutkaním na močenie a pálením pri močení. Ultrasonografia obličky ukázala prítomnosť drobných cýst a lokálnej hypertrofie parenchýmu. Výsledky vyšetrenia pri bežnej kontrole, aktuálne bez subjektívnych symptómov infekcie močových ciest sú:

Názov parametra	Výsledok	Referenčné hodnoty	Jednotky
Minerály v sére			
Sodík	139	136 - 146	mmol/l
Draslík	5,5	3,5 – 5,1	mmol/l
Vápnik	2,24	2,20 – 2,65	mmol/l
Vápnik ionizovaný	1,11	1,13 – 1,32	mmol/l
Chloridy	106	101 - 109	mmol/l
Fosfor	1,52	0,81 – 1,45	mmol/l
Sérum			
Glukóza	5,6	4,1 – 5,9	mmol/l
Kreatinín	215	74 – 110	μmol/l
Urea	10,6	2,8 – 7,2	mmol/l
Kyselina močová	466	208 – 428	μmol/l
Celkové bielkoviny	70,8	66 – 83	g/l
Albumín	41,6	35 – 52	g/l
Celkový cholesterol	3,53	< 5,17	mmol/l
Triacylglyceroly	1,21	0,4 – 1,7	mmol/l
AST	0,40	< 0,85	μkat/l
ALT	0,24	< 0,85	μkat/l
ALP	1,68	0,50 – 2,15	μkat/l
GMT	0,28	< 0,92	μkat/l
CRP	1,7	< 5	mg/l
Vitamín D celkový	33	30 – 100	μg/l
Parathormón	176,9	1,6 – 6,9	pmol/l

Moč chemicky			
pH moču	6,2	4,8 – 7,4	
SG-hustota	1012	1,001 – 1,035	kg/m ³
Bielkoviny	pozit		
Glukóza	negat		
Acetón	negat		
Bilirubín	negat		
Urobilinogén	negat		
Leukocyty chemicky	negat		
Erytrocyty chemicky	negat		
Nitrity	negat		
Moč mikroskopicky			
Leukocyty	7	0 – 15	/ μ l
Erytrocyty	3	0 – 10	/ μ l
Epitélie dlaždicové	8	0 – 15	/ μ l
Guľaté epitélie	ojedinele		

Otázka 3.5.1 Interpretujte a vysvetlite nález vyšetrenia séra a moču. Existuje korelácia medzi osmolalitou a hustotou moču?

Odpoveď 3.5.1 Pacient s chronickým obličkovým zlyhaním má typicky prítomnú retenciu dusíkatých látok. Pri chronickom zlyhaní v porovnaní s akútnym je typický väčší nárast sérovej koncentrácie kreatinínu ako urey, vrátane zvýšenia koncentrácie kyseliny močovej. Okrem toho je u pacienta v dôsledku zníženého vylučovania draslíka prítomná hyperkaliémia. Nález guľatých epitélií (renálnych tubulárnych epiteliálnych buniek) v močovom sedimente je znakom poškodenia tubulov, o poškodení funkcie obličiek svedčia aj zvýšené straty bielkovín močom (proteinúria). Hustota moču u pacienta je 1012 kg/m³ a približuje sa hodnote 1010 kg/m³ (izostenúria), ktorá svedčí pre poruchu koncentračnej schopnosti obličky. Osmolalita moču 50 – 1000 mmol/kg zodpovedá hustote moču približne 1001 – 1035 kg/m³.

Otázka 3.5.2 Poznáte aktuálny výpočet eGFR, ktorý je rutinne používaný v praxi? Vypočítajte eGFR pacienta a určite v akom štádiu chronickej choroby obličiek sa nachádza.

Odpoveď 3.5.2 Aktuálne je používaný výpočet eGFR na štandardný povrch tela 1,73 m² podľa CKD-EPI (*Chronic Kidney Disease – Epidemiology Collaboration*), pričom hodnota sa určuje podľa hladiny sérového kreatinínu, veku, pohlavia a rasovej príslušnosti. Chronická choroba obličiek sa podľa eGFR (CKD-EPI) rozdeľuje do nasledovných štádií (KDIGO, *Kidney Disease Improving Global Outcomes*): štádium 1 – eGFR \geq 90 ml/min/1,73 m² (normálna alebo zvýšená), štádium 2 – eGFR = 60-89 ml/min/1,73 m², štádium 3A – eGFR = 45-59 ml/min/1,73 m², štádium 3B – eGFR = 30-44 ml/min/1,73 m², štádium 4 – eGFR = 15-29 ml/min/1,73 m²,

štádium 5 – eGFR <15 ml/min/1,73 m². Glomerulárna filtrácia nášho pacienta podľa CKD-EPI je 30 ml/min/1,73 m², čo zodpovedá 3. štádiu chronickej choroby obličiek (výpočet pomocou online kalkulačky podľa Levey et al. 2009, aktuálne je v UNM eGFR CKD-EPI automaticky počítaná u každého pacienta s odmeranou sérovou hladinou kreatinínu).

Otázka 3.5.3 Ako sa mení koncentrácia vápnika a parathormónu v sére u pacientov s chronickým zlyhaním obličiek?

Odpoveď 3.5.3 U pacientov s chronickou renálnou insuficienciou dochádza k vzniku hypokalcémie z dôvodu zníženej resorpcie vápnika v čreve pre nedostatočnú tvorbu aktívneho metabolitu vitamínu D (kalcitriolu). Typická je aj hyperfosfatémia spôsobená znížením glomerulárnej filtrácie. Keďže dlhotrvajúca hypokalcémia trvalo stimuluje prištítnu teliesku, dochádza k ich hyperplázii a vzniku sekundárnej hyperparatyreózy (dôvod vyšších referenčných medzí parathormónu u pacientov s hodnotami eGFR < 30 ml/min). Renálna osteodystrofia je dôsledkom zvýšenia hladiny parathormónu, ktorý môže kalcémiu korigovať aj k norme na úkor resorpcie vápnika z kostí.

Otázka 3.5.4 Aký metabolit vitamínu D meriame v sére pri hodnotení jeho stavu v organizme? Opíšte metabolizmus vitamínu D a jeho referenčné medze.

Odpoveď 3.5.4 Optimálnym „zrkadlom“ metabolizmu vitamínu D v ľudskom tele je hladina kalcidiolu (25-hydroxycholekalCIFEROLU) v sére. Kalcidiol má biologický polčas asi 19 dní, je hlavnou cirkulujúcou formou vitamínu D a v predanalytickej fáze je stabilný. Tvorí sa v pečeni hydroxyláciou cholekalCIFEROLU, ktorý vzniká v koži pôsobením UV-B žiarenia na 7-dehydrocholesterol, alebo je do ľudského tela prijímaný potravou. Kalcitriol (1,25-dihydroxycholekalCIFEROL) je aktívnou formou vitamínu D a vzniká činnosťou 1- α hydroxylázy v cieľových tkanivách vrátane obličky, jeho hladinu v sére však meriame zriedkavo. Optimálna sérová hladina kalcidiolu je 30 – 100 ng/ml. Pri hladine 20 – 30 ng/ml sa jedná o insuficienciu, pri menej ako 20 ng/ml sa jedná o deficienciu vitamínu D, ktorú má v našej zemepisnej šírke mimo obdobia slnečných dní väčšina zdravej populácie. Z tohto dôvodu sa poslednom období kladie dôraz na substitúciu vitamínu D perorálnymi preparátmi.

Otázka 3.5.5 Pacientovi bol zbieraný 24-hodinový moč, v ktorom bola následne stanovená koncentrácia kreatinínu a bielkovín. Vypočítajte a vyhodnoťte klírens kreatinínu (C_{kr}) a denný odpad bielkovín, ak vieme, že objem moču za 24 hodín bol 2900 ml.

Názov parametra	Výsledok	Referenčné hodnoty	Jednotky
Moč – zbieraný			
Kreatinín	4,8	-	mmol/l
Celkové bielkoviny	0,7	-	g/l
Diuréza	2900	-	ml/deň

Odpoveď 3.5.5 Denný odpad bielkovín je 2,03 g/deň, čo významne presahuje fyziologickú proteinúriu 150 mg/24 hod. Klírens kreatinínu (C_{kreat} , *clearance* kreatinínu, t.j. objem plazmy úplne očistený od kreatinínu za čas) je 45 ml/min, čo zodpovedá asi tretine fyziologickej hodnoty 120 ml/min.

Denný odpad bielkovín = [bielkoviny]_{moč} × denný objem moču = 0,7 g/l × 2,9 l/d = 2,03 g/deň

$$C_{kreat} = \frac{[U \text{ kreat}] \times V_{moču}}{[P \text{ kreat}]} = \frac{4,8 \text{ mmol/l} \times 2900 \text{ ml/d}}{0,215 \frac{\text{mmol}}{\text{l}} \times 24 \text{ hod} \times 60 \text{ min/hod}} = \underline{45 \text{ ml/min}}$$

Otázka 3.5.6 Ako by sa zmenil výsledok výpočtu C_{kreat} a denného odpadu bielkovín močom, keby sme zistili, že uvedený objem moču bol zbieraný namiesto 24 hod iba 16 hod? Existuje aj iný marker, ktorý by nám poskytol informáciu o dennej proteinúrii bez nutnosti zberu moču?

Odpoveď 3.5.6 Pri zohľadnení tejto predanalytickej chyby a použitia správneho údaju (16 hod) pri výpočte by došlo k nárastu hodnoty klírens kreatinínu na 67 ml/min.

$$C_{kreat} = \frac{[U \text{ kreat}] \times V_{moču}}{[P \text{ kreat}]} = \frac{4,8 \text{ mmol/l} \times 2900 \text{ ml/d}}{0,215 \frac{\text{mmol}}{\text{l}} \times \text{16 hod} \times 60 \text{ min/hod}} = \underline{67 \text{ ml/min}}$$

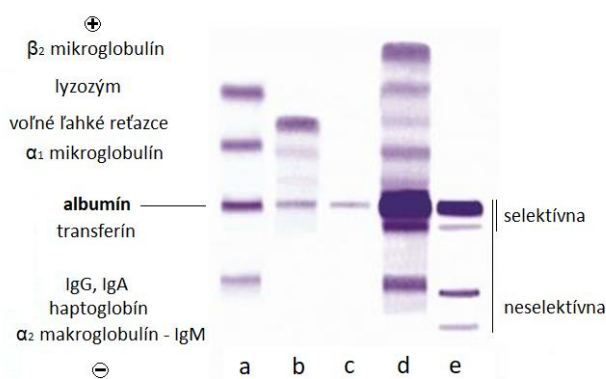
K skutočnej dennej proteinúrii sa pri nedá vyjadriť, pretože nepoznáme koncentráciu proteínu v celkovom objeme moču za 24 hod. Laboratórium musí počítať s hodnotami, ktoré má od odosielajúceho oddelenia (ambulancie) k dispozícii a preto je veľmi dôležitá ich správnosť. Z týchto praktických dôvodov sa v praxi využíva pomer hladiny albumín / kreatinín [mg/mmol] z jednorázovej vzorky moču (ACR, *Albumin-to-creatinine ratio*). Tento parameter koreluje s vyšetrením proteinúrie zo vzorky 24 hod zberu moču a znižuje chybu merania pri zbere moču. Výsledky merania v jednorázovej vzorke moču boli:

Názov parametra	Výsledok	Referenčné hodnoty	Jednotky
Moč – jednorázový			
Kreatinín	7,1	-	mmol/l
Albumín	645,4	-	mg/l
Pomer albumín kreatinín	90,9	< 3	mg/mmol

Pomer albumín kreatinín > 30 mg/mmol svedčí pre závažné straty bielkovín až nefrotický syndróm, hodnota 3 – 30 mg/mmol je stredne zvýšená a koreluje s klinicky relevantnou proteinúriou. Hodnota 100 mg/mmol zodpovedá kvantitatívnej proteinúrii 1 g/24 hod.

Otázka 3.5.7 Aké vyšetrenie by ste indikovali pre bližšiu špecifikáciu typu proteinúrie? Aké podtypy glomerulárnej proteinúrie poznáte z hľadiska závažnosti a prognózy?

Odpoveď 3.5.7 Pre vyšetrenie proteinúrie sa využíva elektroforetické vyšetrenie bielkovín moču, laboratórny nález z elektroferogramu je ilustračne znázornený na Obr. 37. Indikujúci lekár dostáva slovný opis elektroferogramu vrátane patologických proteínov.



Obrázok 37 Výsledky vyšetrenia elektroforézy bielkovín moču Po zahustení vzorky moču dochádza k separácii záporne nabitých bielkovín podľa ich molekulovej hmotnosti od katódy k anóde, pričom najrýchlejšie sa pohybujú „nízkomolekulové“ tubulárne proteíny, naopak „vysokomolekulové“ glomerulárne proteíny nájdeme blízko pri štarte: a – marker molekulovej hmotnosti, b – tubulárna proteinúria s voľnými ľahkými reťazcami, c – albumín, fyziologická proteinúria (< 150 mg/deň), d – zmiešaná proteinúria, e – glomerulárna proteinúria selektívna a neselektívna.

Glomerulárna proteinúria môže byť selektívna alebo neselektívna (Obr. 37 e). Pri selektívnej proteinúrii sa v moči pre „ľahšiu“ poruchu glomerulárnej membrány so stratou jej negatívneho náboja nachádzajú bielkoviny s molekulovou hmotnosťou do cca 100 kDa (albumín, transferín) a pacienti dobre odpovedajú na liečbu imunosupresívami. Neselektívna glomerulárna proteinúria je typická prítomnosťou imunoglobulínov s veľkou molekulovou hmotnosťou, t.j. poškodenie glomerulárnej membrány je závažnejšie a prognóza vrátane odpovede na liečbu je horšia.

3.6 Prípad 6 Hepatálne zlyhanie, osmolalita, dusíkaté odpadové látky, septický stav

73-ročná polymorbídna pacientka s *diabetes mellitus* II. typu, chronickou ischemickou chorobou srdca, chronickou obštrukčnou chorobou pľúc a dlhodobou závislosťou na alkohole je hospitalizovaná pre vaskulárnu a metabolickú dekompenzáciu cirhózy pečene. Objektívne je pacientka bledá, letargická, má edémy dolných končatín a ascites, auskultačne na pľúcach bazálne oslabené vezikulárne dýchanie, piskoty a vrzoty. Biochemické nálezy pri prijatí boli:

Názov parametra	Výsledok	Referenčné hodnoty	Jednotky
Minerály v sére			
Sodík	140	136 – 146	mmol/l
Draslík	3,9	3,5 – 5,1	mmol/l
Chloridy	109	101 – 109	mmol/l
Sérum			
Glukóza	6,9	4,1 – 5,9	mmol/l
Kreatinín	422	58 – 96	μmol/l
Urea	39,8	2,8 – 7,2	mmol/l
Kyselina močová	651	155 – 357	μmol/l
Celkové bielkoviny	63,2	66 – 83	g/l
Albumín	27,5	35 – 52	g/l
Bilirubín celkový	22,3	5,0 – 21,0	μmol/l
Bilirubín konjugovaný	5,4	0,1 – 3,4	μmol/l
AST	0,51	< 0,6	μkat/l
ALT	0,21	< 0,6	μkat/l
ALP	2,62	0,50 – 2,15	μkat/l
CRP	11,1	< 5	mg/l
Osmolalita	339	280 – 300	mmol/kg (> 60 r.)
Amoniak	98,4	16 – 53	μmol/l
Etanol	0,46		g/l

Otázka 3.6.1 Vypočítajte osmolalitu séra a porovnajte s odmeranou osmolalitou. Čo spôsobilo zvýšenie osmolality séra? Definujte osmolálnu medzeru.

Odpoveď 3.6.1 Osmolalitu vieme vypočítať s použitím sérovej koncentrácie sodíka, glukózy a močoviny (všetkých v mmol/l):

$$\text{Osmolalita séra} = 2 \times [\text{Na}^+] + [\text{glukóza}] + [\text{urea}] = 2 \times 140 + 6,9 + 39,8 = \underline{326,7 \text{ mmol/kg}}$$

Hlavnou príčinou zvýšenia osmolality séra je zvýšenie hladiny urey na 39,8 mmol/l, čo niekoľkokrát presahuje hornú referenčnú medzu u dospelých jedincov (7,2 mmol/l). Meraná

osmolalita séra u pacientky bola 339 mmol/kg. Osmolálna medzera (*osmolal gap*, *OG*) je definovaná ako rozdiel medzi meranou a počítanou osmolalitou.

Osmolálna medzera (*OG*, *osmolal gap*) = meraná osmolalita – počítaná osmolalita

$$OG = 339 - 326,7 = \underline{12,3 \text{ mmol/kg}}$$

Osmolálna medzera pacientky je zvýšená na 12,3 mmol/kg (fyziologicky < 10 mmol/kg). Za normálnych okolností je osmolalita tvorená v prevažnej miere hlavnými osmoticky aktívnymi zložkami plazmy (sodík, glukóza a urea). Výpočet osmolálnej medzery má význam pri podozrení na intoxikáciu, pričom jej zvýšenie je znakom prítomnosti iných osmoticky aktívnych látok v sére. Môžu to byť najčastejšie alkoholy (etanol, metanol, etylénglykol, manitol, sorbitol), acetón, resp. patologicky zvýšená koncentrácia triacylglycerolov alebo proteínov. Prítomnosť 1 ‰ etanolu v krvi spôsobuje nárast osmolality o viac ako 20 mmol/kg. Tento fakt koreluje s naším nálezom - alkoholémia 0,46 g/l zodpovedá 0,46 ‰ alkoholu v sére (0,23 mg/l v dychu) a mala by zvýšiť osmolalitu o približne 10 mmol/kg (1 ‰ o 23 mmol/kg).

Otázka 3.6.2 Prečo má pacientka zníženú koncentráciu celkových bielkovín a albumínu?

Odpoveď 3.6.2 Pri hepatálnom zlyhaní (cirhóze) dochádza k zníženiu proteosyntézy, okrem toho sa stráca významné množstvo albumínu do ascitickej tekutiny (približne 5 – 20 g denne).

Otázka 3.6.3 Charakterizujte hepatálne enzýmy AST a ALT. Ako vysvetlíte ich fyziologickú aktivitu v sére pacientky s hepatálnym zlyhaním?

Odpoveď 3.6.3 Aspartátaminotransferáza (AST) je enzým, ktorý katalyzuje prenos aminoskupiny z aminokyselín na oxalacetát za vzniku aspartátu. Nachádza sa v pečeni, kostrovom svalu, myokarde, erytrocytoch a iných tkanivách. Biologický polčas AST v sére je 17 ± 5 hodín. V pečeni je AST tvorený hlavne mitochondriálnou izoformou a v tkanive je jeho aktivita asi $7000 \times$ vyššia ako v sére. **Alanínaminotransferáza (ALT)** katalyzuje prenos aminoskupiny na pyruvát za vzniku alanínu, nachádza sa primárne v cytosóle hepatocytov s aktivitou $3000 \times$ vyššou ako v sére. Biologický polčas ALT je 47 ± 10 hodín. Aktivita hepatálnych transamináz v sére býva zvýšená pri rôznych formách poškodenia pečene, aktivita AST sa zvyšuje aj pri poškodení myokardu, kostrového svalu a hematologických ochoreniach.

Normálnu aktivitu AST (0,51 $\mu\text{kat/l}$) a ALT (0,21 $\mu\text{kat/l}$) v sére uvedenej pacientky s cirhózou je možné vysvetliť terminálnym štádiom hepatálneho zlyhania, keď je deštruovaná taká časť funkčného parenchýmu pečene, že aktivita hepatálnych enzýmov v tkanive už je príliš nízka a nedostačuje k zvýšeniu aktivity v sére. Tento príklad ilustruje stav, keď normálna hodnota biochemického parametra u pacienta nie je automaticky zárukou absencie choroby.

Otázka 3.6.4 Koncentrácia kreatinínu pri kontrolách pacientky za predchádzajúci rok bývala ustálená s koncentráciami okolo 200 $\mu\text{mol/l}$, pri poslednej kontrole pred 14 dňami 205 $\mu\text{mol/l}$. Interpretujte výsledky stanovenia dusíkatých metabolitov v sére. Aký syndróm pri základnom ochorení je suspektný vzhľadom k aktuálnemu nárastu kreatinínémie?

Odpoveď 3.6.4 Dlhodobé zvýšenie sérovej koncentrácie dusíkatých látok (kreatinín, urea, kyselina močová) môžeme vysvetliť ich retenciou v dôsledku chronického renálneho zlyhania pri diabetickej nefropatii. Glomerulárna filtrácia vypočítaná z poslednej ustálenej hodnoty kreatinínu 205 $\mu\text{mol/l}$ bola podľa CKD-EPI na úrovni 20 ml/min/1,73 m² (4. štádium chronickej choroby obličiek).

Aktuálne došlo k nárastu kreatinínémie na 422 $\mu\text{mol/l}$, čo by sme vzhľadom k prítomnosti dekompenzovaného hepatálneho zlyhania a ascitu mohli vysvetliť akútnym renálnym zlyhaním pri hepatorenálnom syndróme. Vzniknuté renálne cirkulačné zmeny a hypoperfúzia kôry nadobličiek sú dôsledkom systémových cirkulačných zmien pri portálnej hypertenzii. U pacientky sa jedná o rýchlo progredujúci hepatorenálny syndróm typu I, ktorý je charakterizovaný dvoj- a viacnásobným nárastom sérového kreatinínu v priebehu 2 týždňov so zlou prognózou.

Otázka 3.6.5 Zvýšenie sérovej koncentrácie ktorého biochemického markeru môže pri aktuálnom náleze zásadne prispievať k poruche vedomia pacientky? Vysvetlite mechanizmus.

Odpoveď 3.6.5 Amoniak v ľudskom tele pochádza predovšetkým z metabolizmu aminokyselín. Pacientka má hyperamonémiu (98,4 $\mu\text{mol/l}$), ktorá je spôsobená prenikaním portálnej krvi s vysokým obsahom amoniaku do systémovej cirkulácie a poruchou detoxifikácie amoniaku v ureagenéze v pečeni. Sérová hladina amoniaku je výborným markerom schopnosti a kapacity pečene metabolizovať endogénne dusíkaté látky. Amoniak prechádza cez hematoencefalickú bariéru a v mozgu sa detoxifikuje tvorbou glutamínu

reakciou s glutamátom. Nedostatok tohto excitačného neurotransmiteru je jednou z príčin porúch vedomia (tzv. hepatálnej encefalopatie).

Pacientke boli intravenózne podávané diuretiká a albumín. Taktiež jej bola pri portosystémovej encefalopatii podaná laktulóza. Pacientka dostala hnačky, rozvinula sa hyponatrémia (132 mmol/l), ktorá bola korigovaná. Po chirurgickej paliatívnej liečbe portálnej hypertenzie (transjugulárny intrahepatálny portosystémový skrat) došlo k vzniku bakteriálnej peritonitídy a uroinfekcie, zhoršil sa aj stav vedomia, pacientka je v kóme.

Otázka 3.6.6 Interpretujte výsledky vyšetrenia biochemických markerov vo vzťahu k prognóze pacientky.

Názov parametra	Výsledok	Referenčné hodnoty	Jednotky
Minerály v sére			
Sodík	142	136 – 146	mmol/l
Draslík	4,9	3,5 – 5,1	mmol/l
Chloridy	102	101 – 109	mmol/l
Sérum			
Glukóza	6,7	4,1 – 5,9	mmol/l
Kreatinín	234	58 – 96	μmol/l
Urea	39,9	2,8 – 7,2	mmol/l
Kyselina močová	382	155 – 357	μmol/l
Celkové bielkoviny	44,6	66 – 83	g/l
Albumín	19,2	35 – 52	g/l
CRP	98,1	< 5	mg/l
Presepsín	2850	< 337	ng/l

Odpoveď 3.6.6 U pacientky došlo aj napriek intravenózne substitúcii albumínu k poklesu sérovej koncentrácie bielkovín a albumínu o viac ako 30 %. Sérová hladina urey ostala kriticky zvýšená, došlo k poklesu kreatinémie, čo svedčí pre zlepšenie glomerulárnej filtrácie v dôsledku podávanej liečby. U pacientov s terminálnym renálnym zlyhaním sérová koncentrácia urey koreluje s príznakmi urémie lepšie ako sérový kreatinín. Pre vznik septického stavu svedčí takmer 10-násobný nárast sérovej hladiny CRP a predovšetkým nárast presepsínu až na 2850 ng/l. Prognosticky sérová hladina presepsínu viac ako 1000 ng/l koreluje so závažným rizikom ťažkej sepsy a zvýšenou mortalitou. Hladina presepsínu nad 1900 ng/l je asociovaná s mortalitou až 60 %, čo sa bohužiaľ potvrdilo aj u tejto pacientky pretože po rozvoji septického šoku a multiorgánového zlyhania zomrela. Hladiny zápalových markerov vo

vzťahu k prognóze však treba vždy interpretovať opatrne, zohľadniť celkový stav pacienta a ďalšie faktory.

Otázka 3.6.7 Poznáte aj iný v praxi využiteľný marker glomerulárnej filtrácie v sére (okrem dusíkatých odpadových látok)? Aké sú výhody jeho stanovenia a referenčné medze?

Odpoveď 3.6.7 Jedná sa o cystatín C, polypeptid inhibujúci serínové proteázy, ktorý je tvorený vo všetkých jadrových bunkách, voľne prechádza glomerulárnou membránou a je vychytávaný a metabolizovaný v tubuloch. Sérová koncentrácia cystatínu C vykazuje hyperbolickú závislosť od glomerulárnej filtrácie, citlivejšie a rýchlejšie odráža zmeny GF ako stanovenie kreatinínu, nevykazuje diurnálnu variáciu a závislosť od pohlavia, telesnej hmotnosti, svalovej hmoty a ďalších faktorov. Referenčné medze sú 0,7 – 1,21 mg/l.

Otázka 3.6.8 Pacientke bola vykonaná elektroforéza sérových bielkovín. Aký nález býva typicky prítomný pri chronických hepatopatiách? Poznáte aj iné „elektroforetické typy“?

Názov parametra	Výsledok	Referenčné hodnoty	Jednotky
<i>Elfo bielkovín v sére</i>			
Elfo alumín	37,3	54,3 – 65,5	%
Elfo alfa 1	4,2	1,2 – 3,3	%
Elfo alfa 2	9,9	8,3 – 15	%
Elfo beta 1	6,3	6,5 – 11,5	%
Elfo beta 2	12,5	2,5 – 7,2	%
Elfo gama	29,8	7,1 – 19,5	%

Odpoveď 3.6.8 Typický nález elektroforetického vyšetrenia sérových bielkovín u pacientov s fibrózou a cirhózou pečene je zníženie albumínu, alfa a beta₁ globulínov, a zvýšenie gama globulínov v dôsledku poruchy funkcie intersticiálnych buniek a polyklonálnej tvorby imunoglobulínov. Zvýšenie koncentrácie IgA, ktorý sa nachádza medzi beta a gama frakciou sa opisuje ako tzv. „beta-gama mostík“.

Ďalšie elektroforetické typy, pri ktorých je charakteristicky zmenené percentuálne zastúpenie jednotlivých bielkovinových frakcií krvného séra sú: typ akútneho zápalu (reakcia akútnej fázy), typ chronického zápalu, typ nefrotického syndrómu (straty bielkovín), malnutričný typ a typ monoklonálnej hyperimmunoglobulinémie.

3.7 Prípad 7 Ikterus, minerály, cholestáza

44-ročný pacient sa posledných 6 rokov liečil na primárnu sklerotizujúcu cholangitídu, ktorá mala doteraz mierny priebeh s občasným svrbením kože a abdominálnymi bolesťami. Pacient prichádza do nemocnice pre slabosť, nauzeu, náhle vzniknuté kolikovitú bolesť v pravej časti brucha vyžarujúcu do chrbta, tiež ožltol a má pruritus. Za posledné dva dni mal niekoľkokrát hnačku, neprijímal jedlo a pil iba čistú vodu alebo čaj. Za ostatného polroka výrazne schudol. Pacient je ikterický, pri fyzikálnom vyšetrení je brucho palpačne nebolestivé, pečeň zväčšená a pozitívny Courvoisierov príznak, tlak krvi 130/80 mm Hg, pulz 95/min, teplota 36,7 °C.

Otázka 3.7.1 Aké laboratórne vyšetrenia by ste indikovali?

Odpoveď 3.7.1 Pacientovi bola vzhľadom k suspektnému cholestatickému ikteru vyšetrená glykémia, mineralogram, základné parametre funkcie obličiek, pečene, CRP, a jednorázový moč chemicky a mikroskopicky.

Názov parametra	Výsledok	Referenčné hodnoty	Jednotky
Minerály v sére			
Sodík	133	136 – 146	mmol/l
Draslík	3,3	3,5 – 5,1	mmol/l
Chloridy	98	101 – 109	mmol/l
Sérum			
Glukóza	5,0	4,1 – 5,9	mmol/l
Kreatinín	101	74 – 110	μmol/l
Urea	6,9	2,8 – 7,2	mmol/l
Kyselina močová	ikter.	208 – 428	μmol/l
Celkové bielkoviny	75	66 – 83	g/l
Albumín	44	35 – 52	g/l
Bilirubín celkový	490,1	5,0 – 21,0	μmol/l
Bilirubín konjugovaný	259,2	0,1 – 3,4	μmol/l
AST	5,42	< 0,85	μkat/l
ALT	7,85	< 0,85	μkat/l
GMT	27,83	< 0,92	
ALP	14,48	0,50 – 2,15	μkat/l
CRP	94,8	< 5	mg/l
Moč chemicky			
pH moču	6,7	4,8 – 7,4	
SG-hustota	1023	1,001 – 1,035	kg/m ³
Bielkoviny	negat		
Glukóza	negat		
Acetón	negat		
Bilirubín	pozit		
Urobilinogén	negat		
Leukocyty chemicky	negat		
Erytrocyty chemicky	negat		
Nitrity	negat		

Moč mikroskopicky			
Leukocyty	4	0 – 15	/ μ l
Erytrocyty	7	0 – 10	/ μ l
Epitélíe dlaždicové	10	0 – 15	/ μ l
Oxaláty	prítomné		

Otázka 3.7.2 Vysvetlite príčinu zmien mineralogramu. Korelujú výsledky biochemického vyšetrenia s klinickým nálezom a suspektnou cholestázou? Čo znamená výsledok „ikter.“?

Odpoveď 3.7.2 Pacient má hyponatrémiu, hypochlorémiu a hypokaliémiu, čo môžeme vysvetliť stratou minerálov pri hnačke (obsah 50 mmol/l Na^+ a Cl^- , a 30 mmol/l K^+). Minerály neboli doplnené, pretože pacient neprijímal jedlo a pil iba čistú vodu. Detekované biochemické nálezy svedčia pre posthepatálny obštrukčný „verdínový“ ikterus, ktorý je typický zvýšením konjugovaného bilirubínu, výrazným zvýšením aktivity tzv. cholestatických enzýmov ALP a GMT, a normálnou až mierne zvýšenou aktivitou hepatálnych transamináz. V moči je typický nález bilirubínu (tmavší moč), pretože konjugovaný bilirubín je rozpustný vo vode a prechádza do moču, urobilinogén v moči je negatívny pre obštrukciu a teda nemožnosť jeho tvorby v čreve, čo súvisí s bledšou až acholickou stolicou. Pre závažnú hyperbilirubinémiu nemohla byť spoľahlivo vyšetrená hladina kyseliny močovej („ikter.“ - analytická interferencia pri stanovení).

Otázka 3.7.3 Opíšte fyziologickú funkciu cholestatických enzýmov a mechanizmy zvýšenia ich aktivít pri cholestáze. Pri akých iných ochoreniach majú diagnostický význam?

Odpoveď 3.7.3 Gama-glutamyltransferáza (GMT) je membránový enzým rôznych tkanív a katalyzuje prenos γ -glutamylových zvyškov peptidov, biologický polčas GMT je 7 – 10 dní. Aktivita GMT v sére sa zvyšuje pri toxickom alebo zápalovom poškodení hepatocytov. Vo veľmi vysokej koncentrácii sa GMT nachádza v epiteliálnych bunkách drobných žľazovodov, odkiaľ sa uvoľňuje ako citlivý marker ochorenia hepatobiliárneho systému. Pri obštrukčnom iktere je GMT uvoľnené z membrán detergentným účinkom žľazových kyselín a dosahuje 12 a viacnásobný nárast aktivity v sére. Induktibilná mikrozomálna izoforma GMT býva v sére typicky zvýšená u etylikov a keďže biologický polčas je 26 dní od skončenia príjmu alkoholu, poskytuje informáciu o pravidelnom príjme alkoholu pred vyšetrením. U alkoholikov je pomer aktivít GMT/AST typicky okolo 6 a v sére býva zvýšená aj hladina karbohydrát-deficientného transferínu (CDT) s biologickým polčasom približne 2 týždne.

Alkalická fosfatáza (ALP) je ubikvitárny membránový enzým, ktorý katalyzuje hydrolýzu fosforylovaných monoesterov v alkalickom prostredí, biologický polčas je 3 – 5 dní. Najvýznamnejšie izoformy alkalické fosfatázy sú hepatálna a kostná, okrem nich aj črevná a placentárna. Aktivita ALP býva zvýšená pri nádorových, zápalových, toxických a iných poškodeniach pečene, pri zvýšení novotvorby resp. obratu kostného tkaniva. Aktivita ALP je fyziologicky zvýšená u detí. Reganov izoenzým ALP sa opisuje pri ektoptickej tvorbe enzýmu v malígnom nádore. Pri obštrukcii žlčových ciest dochádza k indukcii syntézy biliárnej α_1 -frakcie ALP, pričom aktivita narastá približne 5-krát s asi denným časovým odstupom po kolike. Hepatobilárny pôvod ALP je podporený nálezom zvýšenej aktivity GMT.

Pacientovi bolo vykonané ERCP vyšetrenie (endoskopická retrográdna cholangiopankreatikografia), ktoré odhalilo závažnú malígnu stenózu žlčových ciest v oblasti ductus hepaticus communis. Bol zavedený duodenobiliárny stent a vykonaná drenáž pravého ductus hepaticus a profylakticky aj ductus pancreaticus. CT vyšetrenie brucha odhalilo malígny nádor žlčových ciest, metastázy v pečeni a metastaticky zväčšené lymfatické uzliny v hilum hepatis. Pankreas a ductus pancreaticus boli bez zmien. Hemokultivácia potvrdila prítomnosť *Escherichia coli* a bola nasadená intravenózna antibiotická liečba.

Otázka 3.7.4 Korelujú výsledky biochemického vyšetrenia s nálezom? Posúďte dynamiku zmien biochemických markerov 3. a 6. deň po výkone. Ako možno vysvetliť zvýšenie aktivity AMS a LPS?

Názov parametra	Výsledok		Referenčné hodnoty	Jednotky
<i>Minerály v sére</i>	3.deň	6.deň		
Sodík	136	141	136 – 146	mmol/l
Draslík	3,6	4,1	3,5 – 5,1	mmol/l
Chloridy	104	102	101 – 109	mmol/l
<i>Sérum</i>				
Glukóza	5,4	4,6	4,1 – 5,9	mmol/l
Kreatinín	89	97	74 – 110	μ mol/l
Bilirubín celkový	114,3	85,1	5,0 – 21,0	μ mol/l
Bilirubín konjugovaný	48,5	32,5	0,1 – 3,4	μ mol/l
AST	3,63	1,73	< 0,85	μ kat/l
ALT	4,28	2,05	< 0,85	μ kat/l
GMT	14,39	9,17	< 0,92	μ kat/l
ALP	6,87	5,47	0,50 – 2,15	μ kat/l
CRP	169,2	73,9	< 5	mg/l
AMS	5,02	0,92	0,46 – 1,66	μ kat/l
LPS	1,47	0,67	0,22 – 1,00	μ kat/l

Odpoveď 3.7.4 Zistenie prítomnosti nádorového ochorenia intrahepatálnych žlčových ciest súhlasí s už opísaným nálezom obštrukčného ikteru a klinických prejavov cholestázy. Generalizácia malígneho procesu s metastatickým poškodením pečene koreluje s eleváciou aktivít hepatálnych transamináz, deštrukcia hepatocytov vysvetľuje zvýšenie nielen konjugovaného ale aj nekonjugovaného bilirubínu v sére. Po nasadení antibiotickej terapie došlo postupne k poklesu CRP, ktorého hladina však môže byť ovplyvnená aj prítomnosťou malígneho procesu. Po chirurgickom riešení akútnej cholestázy klesali koncentrácie celkového a konjugovaného bilirubínu, tiež postupne klesli aj aktivity cholestatických enzýmov. Pre prítomnosť základného malígneho ochorenia nemožno očakávať úplnú normalizáciu aktivít transamináz, ALP, GMT ani koncentrácie bilirubínu. Amyláza a lipáza sú pankreatické enzýmy a ich aktivita bola zvýšená po podráždení pankreasu pri ERCP výkone, postupne sa normalizovala. Typicky po ERCP dosahuje elevácia aktivity lipázy hodnoty do 12-násobku a amylázy 2-4 násobku hornej referenčnej medze, zvýšenie pretrváva do 3 dní.

Otázka 3.7.5 Aké ďalšie dva druhy ikteru okrem posthepatálneho poznáte? Aké biochemické nálezy v sére a moči by ste pri nich predpokladali?

Odpoveď 3.7.5 **Prehepatálny (hemolytický) „flavínový“ ikterus** je typický zvýšením koncentrácie nekonjugovaného bilirubínu v sére, ktorý neprechádza do moču. Urobilinogén v moči je prítomný. Sérové cholestatické enzýmy a hepatálne transaminázy bývajú v norme. Stolica je tmavá pretože sa do nej dostáva viac konjugovaného bilirubínu, moč má normálnu farbu. **Hepatocelulárny „rubínový“ ikterus** je charakteristický zvýšením konjugovaného aj nekonjugovaného bilirubínu v sére, bilirubín aj urobilinogén v moči je pozitívny, moč je tmavý a stolica normálnej farby. Aktivita ALP a GMT v sére býva normálna až zvýšená, hepatálne transaminázy sú zvýšené.

Otázka 3.7.6 Aké typy kryštálov môžu byť detekované pri mikroskopickom vyšetrení moču? Je prítomnosť oxalátov v moči patologickým nálezom?

Odpoveď 3.7.6 Kryštály môžu byť v močovom sedimente normálne prítomné, okrem cystínových, ktoré sú vždy znakom patologického procesu (cystinúria, porucha metabolizmu aminokyselín). V moči môžeme nájsť oxaláty (CaC_2O_4) a kyselinu močovú, ktoré vznikajú väčšinou pri kyslom pH. V alkalickom pH je uľahčená kryštalizácia amóniumurátov a

tripľfosfátov (NH_4MgPO_4), ktoré často vznikajú pri uroinfekcii pretože baktérie pôsobením ureázy za tvorby amoniaku moč alkalizujú. Amorfne kryštály sú tvorené urátmi alebo fosfátmi. Kryštály v močovom sedimente sú zobrazené na Obr. 38.



Obrázok 38 Schématicky znázornené tvary kryštálov v močovom sedimente a – oxaláty (tvar obálok), b – triplfosfáty (tvar truhličiek), c – amorfne kryštály d – amóniumuráty, e – cystínové kryštály (hexagonálny tvar), f – kyselina močová

3.8 Prípad 8 Acidobázická rovnováha, *diabetes mellitus*, sepsa

12-ročný chlapec bol privezený sanitkou záchrannej zdravotnej služby do nemocnice, ktorú volali rodičia, pretože upadol do bezvedomia. Pacient doteraz nebol sledovaný v žiadnej špecializovanej ambulancii. V sanitke bola detekovaná glykémia 30 mmol/l a bol podaný bolus fyziologického roztoku. Pacient je pri prijíme soporózný, hypotrofický (váha 36 kg), má znížený turgor kože, oligúriu, spontánne dýcha - Kussmaulovo dýchanie (39 dychov/min) s O₂ podporou, frekvencia srdca 135/min, tlak krvi 75/40 mm Hg, prítomný acetónový *foetor ex ore*, anizokória, bez známk meningeálneho dráždenia. Biochemické výsledky pri prijatí boli:

Názov parametra	Výsledok	Referenčné hodnoty	Jednotky
Minerály v sére			
Sodík	127	136 – 146	mmol/l
Draslík	3,7	3,5 – 5,1	mmol/l
Chloridy	102	101 – 109	mmol/l
Vápnik	2,37	2,20 – 2,75	mmol/l (2 – 15 r.)
Fosfor	0,91	1,29 – 2,26	mmol/l (0 – 15 r.)
Sérum			
Glukóza	73,6	3,3 – 5,6	mmol/l (0 – 15 r.)
Kreatinín	219	23 – 68	μmol/l (1 – 15 r.)
Urea	15,1	1,8 – 6,4	mmol/l (6.t – 15 r.)
Bilirubín celkový	6,4	5,0 – 21,0	μmol/l
Albumín	32,8	35 – 52	g/l
CRP	26,7	< 5,0	mg/l
Acidobáza			
pO ₂	13,96	9,3 – 12,0	kPa (1 – 14 r.)
pCO ₂	1,33	4,40 – 5,60	kPa (1 – 14 r.)
pH	7,051	7,36 – 7,44	-
BE	-25,5	-2,5 – 2,5	
HCO ₃ ⁻	2,7	22 – 26	mmol/l
O ₂ sat	95,3	95 – 99	%

Otázka 3.8.1 O akú poruchu acidobázickej rovnováhy sa jedná? Posúďte jej závažnosť. Koreluje BE s charakterom poruchy? Vysvetlite zmeny parciálnych tlakov CO₂ a O₂.

Odpoveď 3.8.1 Vzhľadom ku kriticky nízkej hodnote pH (< 7,1) a bikarbonátov sa jedná o ťažkú metabolickú acidózu (diabetickú ketoacidózu). Hodnota BE je znížená a koreluje s metabolickou „zložkou“ acidobázickej poruchy. Parciálny tlak CO₂ je znížený v dôsledku kompenzačnej hyperventilácie a exkrécie CO₂ (Kussmaulovo prehĺbené dýchanie), parciálny tlak kyslíka je zvýšený, pretože pacient inhaluje kyslík.

Otázka 3.8.2 Má pacient známky porušenej funkcie obličiek? Ak áno, prečo?

Odpoveď 3.8.2 Zvýšenie sérovej koncentrácie dusíkatých odpadových látok (kreatinín 219 $\mu\text{mol/l}$, urea 15,1 mmol/l) a údaje z anamnézy (osmotická diuréza pri kritickej hypergykémii a následná dehydratácia - znížený turgor kože, hypotenzia, oligúria) svedčia pre prerenálne akútne zlyhanie obličiek v dôsledku hypoperfúzie a redukcie funkčného prietoku.

Pacientovi bola podaná terapia ketoacidózy (i.v. inzulín, rehydratácia), diuréza bola potencovaná podaním furosemidu. Postupne sa rozvinuli subfebrílie, bolesti brucha a známky peritoneálneho dráždenia. Zobrazovacie vyšetrenia (CT, USG) detekovali hepatomegáliu, ascites, fluidothorax a paralytický ileus. Biochemické výsledky druhý deň hospitalizácie boli:

Názov parametra	Výsledok	Referenčné hodnoty	Jednotky
Minerály v sére			
Sodík	139	136 – 146	mmol/l
Draslík	2,7	3,5 – 5,1	mmol/l
Chloridy	116	101 – 109	mmol/l
Vápnik	2,23	2,20 – 2,75	mmol/l (2 – 15 r.)
Sérum			
Glukóza	13,5	3,3 – 5,6	mmol/l (0 – 15 r.)
Kreatinín	206	23 – 68	$\mu\text{mol/l}$ (1 – 15 r.)
Urea	17,8	1,8 – 6,4	mmol/l (6.t – 15 r.)
Kyselina močová	884	190 – 440	$\mu\text{mol/l}$
Bilirubín celkový	6,7	5,0 – 21,0	$\mu\text{mol/l}$
Bilirubín konjugovaný	2,6	0,1 – 3,4	$\mu\text{mol/l}$
Celkové bielkoviny	45,1	57 – 80	g/l (0 – 18 rokov)
Albumín	26,5	35 – 52	g/l
GMT	0,26	< 0,70	$\mu\text{kat/l}$
AST	2,55	< 0,85	$\mu\text{kat/l}$
ALT	0,67	< 0,85	$\mu\text{kat/l}$
ALP	1,28	1,25 – 6,5	$\mu\text{kat/l}$ (12 – 15 rokov)
Cholínesteráza	58,22	77 – 192	$\mu\text{kat/l}$
AMS	9,22	0,46 – 1,66	$\mu\text{kat/l}$
Lipáza	1,90	0,22 – 1,00	$\mu\text{kat/l}$
CK	93,43	< 4,50	$\mu\text{kat/l}$
CK-MB	3,82	< 0,40	$\mu\text{kat/l}$
Myoglobín	2435	< 70,0	$\mu\text{g/l}$
hs Troponín I	436,20	< 11,6	ng/l
NT-proBNP	28413	< 125	ng/l
Zápalové markery			
CRP	182,3	< 5,0	mg/l
Interleukín 6	> 1554	< 6,40	ng/l
Prokalcitonín	> 100,47	< 0,50	$\mu\text{g/l}$
Presepsín	430	< 337	ng/l

Otázka 3.8.3 Interpretujte výsledky vyšetrenia markerov poškodenia hepatocytov. Čo je to cholinesteráza a aký je význam jej vyšetrenia?

Odpoveď 3.8.3 Nález nesvedčí pre hepatocelulárne poškodenie s masívnym uvoľnením transamináz do cirkulácie, pretože aktivita ALT je v norme a 3-násobné zvýšenie aktivity AST môže byť spôsobené aj poškodením myokardu alebo svalu. Keďže v norme je aj aktivita GMT a ALP, porucha sa pravdepodobne nenachádza ani na úrovni žľčovodov a kanalikulárneho pólu hepatocytu. Uvedené tvrdenia sú podporené nálezom normálnej sérovej hladiny bilirubínu a konjugovaného bilirubínu. Pre poruchu proteosyntetickej funkcie pečene svedčí hypoproteinémia a hypoalbuminémia, tieto môžu však súvisieť aj so stratami proteínov do ascitickej tekutiny. Z tohto dôvodu je v sére možné vyšetriť aktivitu cholinesterázy (u pacienta znížená) resp. ďalších markerov proteosyntetickej funkcie pečene ako je hladina Ig a z hematologických markerov koagulačné faktory a protrombínový čas - Quick.

Cholinesteráza (CHS, acylcholinacyltransferáza) je enzým vznikajúci v ribozómoch hepatocytov, ktorý s relatívne širokou substrátovou špecificitou katalyzuje hydrolýzu esterov cholínu s organickými kyselinami (nejedná sa o špecifickú acetylcholinesterázu zo synáps). Syntéza cholinesterázy nie je závislá od syntézy albumínu, biologický polčas je 12 – 14 dní. Nárast alebo pokles jej aktivity v sére odráža zmeny syntetickej funkcie parenchýmu pečene. K diagnosticky významnému poklesu sérovej aktivity CHS dochádza pri poškodení pečene (zápalové, toxické, nádorové, mestnanie krvi pri srdcovom zlyhávaní...), proteínovej malnutriícii, ťažkých hyperkatabolických stavoch a intoxikáciách.

Otázka 3.8.4 Interpretujte výsledky vyšetrenia kardiálnych markerov, ak viete, že vzhľadom k ich elevácii bolo vykonané kardiologické vyšetrenie, pri ktorom sa nepotvrdil infarkt myokardu, ale bola zistená trikuspidálna insuficiencia a znížená kontraktilita myokardu.

Odpoveď 3.8.4 U pacienta bol zistený nárast sérovej aktivity kreatínkinázy (CK, *creatine kinase*) a hladiny myoglobínu, ktoré môžu byť zvýšené aj pri poškodení iných orgánov, predovšetkým kostrového svalu. Hladina myoglobínu sa môže zvyšovať aj pri zlyhaní obličiek. Medzi srdcovo špecifické markery patrí izoforma kreatínkinázy CK-MB (*muscle, brain*), a troponín I, ktoré boli v sére pacienta zvýšené. Okrem nich bolo pozorované aj zvýšenie hladiny markeru objemového preťaženia myokardu - NT-proBNP. Uvedený nález svedčí pre poškodenie a zlyhávanie srdca pri sepe (elevácia zápalových markerov) a rozvinutí

multiorgánového dysfunkčného syndrómu. Je potrebné si uvedomiť, že elevácia kardiálnych markerov nie je vždy spôsobená len infarktom myokardu. Detailnejšie informácie o kardiomarkeroch sú opisované v ďalšom prípade.

Otázka 3.8.5 Prečo sme pri vyšetrení prokalcitonínu získali výsledok „> 100,47 µg/l“?

Odpoveď 3.8.5 Vo všeobecnosti výsledok „> hodnota“ znamená, že už vyššiu hladinu markeru nevieme namerať s požadovanou presnosťou, pretože sa nachádzame na hornej medzi stanoviteľnosti metódy. V tejto oblasti končí linearita závislosti zmeny premennej (absorbancie, luminiscencie...) od koncentrácie markeru.

Otázka 3.8.6 O akom stave pacienta svedčí elevácia zápalových markerov v korelácii s ďalšími biochemickými nálezmi a klinickým obrazom (vznik subfebrílií, známky peritoneálneho dráždenia)?

Odpoveď 3.8.6 Elevácia zápalových markerov podporuje podozrenie z rozvinutia systémovej zápalovej odpovede organizmu (SIRS, *systemic inflammatory response syndrome*). Pravdepodobná prítomnosť infekcie a sepsy je podporená nálezom viac ako 200-násobného vzostupu hladiny IL6, hladiny presepsínu v rozmedzí 300 – 500 ng/l a zvýšenej hladiny CRP (182,3 mg/l). Taktiež detekovaná hladina prokalcitonínu 100 µg/l svedčí pre ťažkú sepsu (> 10 µg/l). Zápalové markery však nie sú schopné diferencovať medzi infekčným a neinfekčným pôvodom zápalu. U nášho pacienta bolo zistené, že sepsa bola podmienená vznikom nekrózy čreva, ktorá bola riešená chirurgicky. Zhodnotenie kinetiky hladín zápalových markerov v čase nám poskytuje informácie o progresii septického stavu.

Otázka 3.8.7 Pacientovi bola nasadená empirická intravenózna antibiotická liečba, a odobraté vzorky na mikrobiologickú kultiváciu a určenie citlivosti. Nižšie vidíme postupné zmeny (dynamiku) hladín zápalových markerov odo dňa prijatia. Skúste sa vyjadriť na základe ich hladiny k účinnosti antibiotickej liečby.

Zápalové markery									
Názov parametra	Výsledok							Referenčné hodnoty	Jednotky
Sérum	1. deň	2.deň	3.deň	4. deň	5.deň	6.deň	7.deň		
CRP	182,3	322,7	359,4	157,0	98,2	63,0	10,6	< 5,0	mg/l
Prokalcitonín	> 100,47	45,43	17,10	10,18	5,04	1,91	0,07	< 0,50	µg/l

Odpoveď 3.8.6 Antibiotická terapia je účinná, pretože hladina prokalcitonínu v sére klesala na základe jeho biologického polčasu o približne o 50 % za 24 hodín. Podobne došlo po iniciálnom náraste aj k poklesu hladiny CRP. Okrem hladín zápalových biochemických markerov je samozrejme dôležité sledovanie telesnej teploty, počtu leukocytov, ďalších klinických známk infekcie a dysfunkcie orgánov. Antibiotická liečba sa väčšinou ukončuje, keď sa hladina PCT zníži pod 0,5 µg/l alebo klesne o viac ako 80 % jeho maximálnej hladiny. Pokles hladiny PCT pri septických stavoch znamená, že sa podarilo zvládnuť generalizáciu infekcie.

Otázka 3.8.7 Aký ďalší marker v sére je potrebné pravidelne sledovať pre správnu interpretáciu zmien hladín PCT a CRP u septických pacientov so zlyhávaním pečene?

Odpoveď 3.8.7 Falošný pokles hladiny CRP a PCT imitujúci účinnú antibiotickú liečbu môže byť prítomný pri znížení proteosyntetickej funkcie pečene. Z tohto dôvodu je pri interpretácii potrebné pravidelne sledovať aktivitu cholinesterázy, resp. celkové bielkoviny a albumín.

Otázka 3.8.8 Opíšte fyziologické funkcie amylázy a lipázy. Ako vysvetlíme nárast ich sérových aktivít, ak ultrasonografiou pankreasu neboli detekované žiadne patologické zmeny?

Odpoveď 3.8.8 **Alfa-amyláza (AMS, *alpha-amylase*)** je enzým, ktorý katalyzuje hydrolýzu škrobu na oligosacharidy, maltózu a dextríny. Biologický polčas AMS je 6 – 12 hodín. Celková aktivita AMS v sére je tvorená slinnou izoformou (S-AMS) a pankreatickou izoformou (P-AMS), ktorá sa nachádza predovšetkým v pankrease, ale aj v orgánoch tráviacej trubice. Zvýšenie sérovej aktivity AMS pozorujeme pri akútnej a chronickej pankreatitíde (uvoľnenie z dutkov a acínov pankreasu), pri cholecystitíde, perforácii peptického vredu, pri mezenterálnej ischemii, ileu a biliárnej kolike. **Lipáza (LPS, *lipase*)** je enzým, ktorý je tvorený hlavne v pankrease a katalyzuje hydrolýzu triacylglycerolov na mastné kyseliny a monoacylglyceroly. K patologickému uvoľneniu do séra dochádza pri akútnej a chronickej pankreatitíde a iných náhlých príhodách brušných, kde je typický nárast do 5-násobku hornej referenčnej medze (cholecystitída, perforácia čreva). Pri vzniku akútnej pankreatitídy aktivita amylázy presahuje 5 a viacnásobne horné referenčné medze, stúpa za 3 – 12 hodín a normalizuje sa približne do 3 dní, aktivita lipázy rastie až 80-krát približne za 5 – 6 hodín a pretrváva zvýšená 3 – 6 dní. U nášho pacienta bola približne 5-násobná elevácia aktivity AMS a 2-násobná elevácia LPS pravdepodobne spôsobená ischemizáciou čreva.

Otázka 3.8.9 Pacientovi bola po podaní inzulínu monitorovaná glykémia à 1 hod, ktorá postupne klesala. Aký biochemický marker využívame ku kontrole správnosti liečby a dlhodobej kompenzácie diabetes mellitus? Aké odberové skúmavky by ste použili pri vyšetrení a aké sú referenčné medze?

Odpoveď 3.8.9 Okrem vyšetrenia glykémie a glykemického profilu sa u diabetických pacientov stanovuje glykovaný hemoglobín (HbA_{1c}), ktorý vzniká neenzymatickou glykáciou N-terminálnych aminoskupín v hemoglobíne A (DOF, β 1-N-deoxyfuranozylhemoglobín). Krv je nutné odobrať do skúmaviek s obsahom protizrážanlivého činidla (EDTA), keďže sa jedná o chromatografické vyšetrenie z plnej krvi. Hladina glykovaného hemoglobínu nám dáva informáciu o glykémii za posledných niekoľko mesiacov, pretože životnosť erytrocytov je 120 dní. Referenčné medze podľa IFCC (*International Federation of Clinical Chemistry*) sú 2,8 – 4,8 %, čo zodpovedá 28 – 48 mmol DOF na 1 mol hemoglobínu. O progresii diabetickej nefropatie nás informuje vyšetrenie albuminúrie.

3.9 Prípad 9 Kardiomarkery

68-ročný pacient dlhoročný fajčiar (30 rokov, 20 cig/deň), ktorý sa lieči na arteriálnu hypertenziu prichádza ráno do nemocnice s bolesťami na hrudníku v pokoji, ktoré sa objavili asi pred 5 hodinami. Pacient dlhodobo užíva hypolipidemickú terapiu – statíny. Pacient má úzkosť a potí sa. EKG vyšetrenie ukázalo prítomnosť elevácií ST segmentu. Biochemické výsledky pri prijatí boli:

Názov parametra	Výsledok	Referenčné hodnoty	Jednotky
Minerály v sére			
Sodík	138	136 – 146	mmol/l
Draslík	3,9	3,5 – 5,1	mmol/l
Chloridy	107	101 – 109	mmol/l
Sérum			
Glukóza	8,5	4,1 – 5,9	mmol/l
Kreatinín	122	74 – 110	μmol/l
Urea	10,3	2,8 – 7,2	mmol/l
Kyselina močová	412	208 – 428	μmol/l
Celkové bielkoviny	68	66 – 83	g/l
Bilirubín celkový	9,6	5,0 – 21,0	μmol/l
Bilirubín konjugovaný	2,3	0,1 – 3,4	μmol/l
Cholesterol celkový	2,67	< 5,17	mmol/l
Triacylglyceroly	0,50	0,4 – 1,7	mmol/l
Cholesterol HDL	0,76	1,20 – 2,20	mmol/l
Cholesterol LDL	1,71	1,00 – 3,30	mmol/l
AST	0,50	< 0,85	μkat/l
ALT	0,48	< 0,85	μkat/l
GMT	0,34	< 0,92	μkat/l
ALP	1,12	0,50 – 2,15	μkat/l
CK	3,62	< 2,85	μkat/l
CK-MB	0,36	< 0,4	μkat/l
Myoglobín	482,3	< 70,0	μg/l
hs Troponín I	1329,8	< 19,8	ng/l

Otázka 3.9.1 Korelujú výsledky biochemického vyšetrenia kardiomarkerov s klinickým obrazom a EKG nálezom? Aké ochorenia môžu spôsobiť ich zvýšenie v sére?

Odpoveď 3.9.1 V biochemickom náleze vidíme zvýšenie aktivity kreatínkinázy, ku ktorému typicky dochádza približne do 4 - 6 hodín od myokardiálnej ischemie. Aktivita CK môže byť zvýšená aj pri ochoreniach kostrového svalu (dystrofie, myozitídy, úrazy, intramuskulárna injekcia, fyzická aktivita) alebo iných stavoch – napr. malígna hypertermia, šok, pľúcna embólia, intoxikácie, etylizmus, liečba statínmi, betablokátormi atď. Z tohto dôvodu sa stanovuje kardiošpecifický izoenzým CK-MB, ktorý za normálnych okolností tvorí asi 5 %

kostrovo-svalovej CK a 40 % myokardiálnej CK. Aktivita CK-MB môže byť okrem infarktu myokardu zvýšená aj pri myokarditíde, perikarditíde, kontúzii srdca alebo po kardiochirurgickom výkone. Okrem stanovenia aktivity CK-MB je možné odmerať aj hmotnostnú koncentráciu „CK-MB mass“, ktorej stanovenie je citlivejšie a meria aj degradovaný neaktívny enzým. U nášho pacienta bola aktivita CK-MB v norme, čo možno vysvetliť relatívne skorým časom odberu. Zvýšenie koncentrácie myoglobínu je typické už medzi 0,5 až 2. hodinou od kardiálnej ischémie a zvýšenie koncentrácie troponínu I medzi 3. až 6. hodinou. Oba markery boli u pacienta zvýšené už pri prijíme. V biochemickej diagnostike infarktu myokardu u pacientov s akútnou bolesťou na hrudníku má veľký význam opakované stanovenie kardiomarkerov a posúdenie dynamiky ich zmien v sére.

Po prijatí pacient akútne podstúpil koronarografické vyšetrenie, kde bol potvrdený akútny transmurálny infarkt myokardu prednej steny s následne vykonanou perkutánnou koronárnou intervenciou v *ramus interventricularis anterior* a implantáciou stentu.

Otázka 3.9.2 Opíšte fyziologické funkcie kardiomarkerov. Sú zmeny hladín sérových kardiomarkerov u pacienta v súlade s vedomosťami o ich dynamike v čase?

Názov parametra	Výsledok (čas od zač. ischémie)			Referenčné hodnoty	Jednotky
	prijem (5. h)	11. h	30. h		
Sérum					
CK	3,62	78,15	27,69	< 2,85	μkat/l
CK-MB	0,36	7,04	1,26	< 0,4	μkat/l
Myoglobín	482,3	502,4	55,8	< 70,0	μg/l
hs Troponín I	1329,8	> 26553,0	> 26553,0	< 19,8	ng/l

Odpoveď 3.9.2 Kreatínkináza katalyzuje reverzibilnú reakciu fosforylácie kreatínu na kreatínfosfát. Biologický polčas CK v sére je približne 18 hodín a závisí od prevládajúcej izoformy, pričom pre CK-MB je kratší. Aktivity CK a CK-MB pri nekróze myokardiálnych buniek pretrvávajú v sére zvýšené približne 24 – 36 hodín, a normalizujú sa za 2 – 5 dní. Čím vyšší je podiel aktivity CK-MB z celkovej aktivity CK v sére (> 6 %), tým väčšia je pravdepodobnosť, že je kardiálneho pôvodu. U nášho pacienta sme maximálne hodnoty (približne 20-násobný nárast oproti prvému odberu) pozorovali v 11. hodine od príznakov ischémie a v 30. hodine už došlo k poklesu v korelácii s biologickým polčasom - rýchlejšie v prípade CK-MB. Normalizáciu hodnôt urýchlila aj perfúzia.

Myoglobín viaže a prenáša kyslík vo všetkých svalových bunkách, čo podmieňuje jeho nízku orgánovú špecificitu. Pri vzniku myokardiálnej nekrózy sa rýchlo uvoľňuje do krvi (vrchol za 6 – 12 hodín), a kvôli relatívne malej molekulovej hmotnosti sa ľahko eliminuje obličkami s biologickým polčasom 10 – 20 minút. Vyšetrenie myoglobínu má v diagnostike infarktu myokardu výbornú negatívnu prediktívnu hodnotu - ak je jeho koncentrácia v norme po 4 – 6 hodinách od vzniku príznakov, môžeme vylúčiť poškodenie srdca. K normalizácii sérovej hladiny myoglobínu dochádza za 12 – 24 hodín, čo potvrdzuje aj nález u nášho pacienta.

Troponín I inhibuje interakciu aktín-myozín potrebnú pre kontrakciu kardiomyocytov. Pretože v kostrovom svale sa nenachádza, jedná sa o kardiošpecifický marker. K uvoľneniu z myokardu aj vplyvom mikroinfarktov dochádza už po 3 – 6 hodinách po ischémii, s maximálnym zvýšením do 24 hodín. Pre dlhodobé pretrvávanie zvýšenej sérovej koncentrácie (7 – 10 dní) nie je TnI vhodný k detekcii reinfarktu, na druhej strane je však výborne použiteľný v diagnostike infarktu myokardu s časovým odstupom od vzniku klinických príznakov. Normálna hodnota TnI v prvých hodinách po vzniku príznakov infarkt myokardu nevylučuje (diagnostické okno), avšak vysokú negatívne prediktívnu hodnotu má podobne ako myoglobín pri vyšetrení o 6 hodín po výskyte posledných klinických príznakov. Hodnota u nášho pacienta bola pri druhom a ďalších stanoveniach veľmi vysoká (nad hornou medzou stanoviteľnosti). V porovnaní s prvým meraním došlo za 24 hodín k dynamickému nárastu, čo svedčí pre veľmi masívnu nekrozu tkaniva myokardu, ktorá bola potvrdená aj zobrazovacími metódami.

Otázka 3.9.3 Ktoré ďalšie kardiomarkery sa v minulosti vyšetrovali v sére pri suspektnom infarkte myokardu, no v súčasnosti sa od ich stanovenia upúšťa?

Odpoveď 3.9.3 Aktivita **AST** býva pri infarkte myokardu zvýšená až 25-krát za približne 4 – 6 hodín od ischémie, s maximálnymi hladinami 1 – 2 deň a normalizáciou do 5 dní. Aktivita **laktátdehydrogenázy (LD)** typicky stúpa medzi 12 – 18 hodinou po nekroze a pretrváva zvýšená 10 dní. Nedostatkom stanovenia AST a LD je ich nízka orgánová špecificita.

Otázka 3.9.4 Pacient sa doteraz neliečil na diabetes mellitus a pri pravidelných kontrolách mal sledovanú glykémiu, ktorá bývala v norme. Ako môžeme vysvetliť hyperglykémiu pri príjme, ak vieme že pacient 10 hodín pred odberom nejedol a glykémia ďalšie dni po výkone už bola v referenčných medziach?

Odpoveď 3.9.4 Hyperglykémia pri infarkte myokardu býva podmienená stresovou reakciou a vylúčením kontraregulačných hormónov inzulínu.

Otázka 3.9.5 Ako môžeme vysvetliť normálny nález lipidogramu (okrem poklesu HDL cholesterolu), keď vieme, že hyperlipidémia je závažným rizikovým faktorom aterosklerózy? Je možné, aby pacient s normocholesterolémiou mal aterogénny lipidový profil?

Odpoveď 3.9.5 Výsledok merania cholesterolémie je validný pri odbere vzorky do 24 hodín od začiatku stenokardií, potom dochádza k poklesu sérovej koncentrácie celkového aj LDL cholesterolu (lipoproteíny nízkej hustoty, *low-density lipoprotein*) a stanovenie skutočnej koncentrácie lipidov je možné optimálne vykonať až za približne 3 mesiace. Okrem toho pacient dlhodobo užíva hypolipidemickú terapiu (statíny), ktoré znižujú predovšetkým hladinu cholesterolu.

Aterogénnu dyslipidémiu charakterizuje hypertriacylglycerolémia (TAG > 2,3 mmol/l), nízka koncentrácia HDL cholesterolu (lipoproteíny vysokej hustoty, *high-density lipoproteins*, HDL < 0,9 mmol/l) a zvýšená hladina LDL cholesterolu (LDL 3,5 – 4,1 mmol/l) so zvýšením tzv. malých denzných LDL častíc (sdLDL, *small dense LDL*). SdLDL vykazujú výrazné aterogénne vlastnosti a môžu byť prítomné aj u pacientov s normocholesterolémiou. **Aterogénny lipidový fenotyp** pozostáva z aterogénnej dyslipidémie v kombinácii s ďalšími patologickými faktormi (hypertenzia, bazálna hyperinzulinémia, hyperurikémia, zvýšenie koncentrácie apoproteínu B-100, abdominálna obezita).

3.10 Prípad 10 Život ohrozujúca hyponatrémia

22-ročná pacientka bez významného predchorobia, dlhodobo sledovaná pre anemický syndróm, bola hospitalizovaná pre silnú akútnu bolesť hlavy trvajúcu 2 hodiny. Pacientka pravidelne vypije 4 – 6 litrov tekutín denne, stále cíti smäd, drží diétu lebo má pocit plného žalúdka, máva často hnačky, za posledné mesiace neschudla, bolesti brucha nemá, v bezvedomí nebola, cíti sa unavená, teploty nemala. Objektívne má pacientka astenický habitus (BMI 15,1), je bradypsychická, má bledú pokožku, úzkostné a panické nálady, polydipsiu, polyúriu, tlak krvi 110/75 mm Hg, frekvenciu srdca 85/min, teplotu tela 36,4 °C, saturáciu 97 %. Pri prijíme bolo RTG vyšetrenie hrudníka v norme, 12-zvodové EKG bez známkov akútnej ischémie. Biochemické výsledky pri prijatí boli:

Názov parametra	Výsledok	Referenčné hodnoty	Jednotky
Minerály v sére			
Sodík	105	136 – 146	mmol/l
Draslík	3,7	3,5 – 5,1	mmol/l
Chloridy	74	101 – 109	mmol/l
Sérum			
Glukóza	5,1	4,1 – 5,9	mmol/l
Kreatinín	37	58 – 96	μmol/l
Urea	1,8	2,8 – 7,2	mmol/l
Bilirubín celkový	18,3	5,0 – 21,0	μmol/l
Bilirubín konjugovaný	2,5	0,1 – 3,4	μmol/l
AST	0,47	< 0,6	μkat/l
ALT	0,18	< 0,6	μkat/l
ALP	2,04	0,50 – 2,15	μkat/l
GMT	0,16	< 0,63	μkat/l
AMS	1,13	0,46 – 1,66	μkat/l
LPS	0,49	0,22 – 1,00	μkat/l
Osmolalita	226	275 – 295	mmol/kg
CK	2,61	< 2,42	μkat/l
CK-MB	0,42	< 0,40	μkat/l
hs Troponín I	0,02	< 11,6	ng/l
CRP	0,3	< 5	mg/l

Moč chemicky			
pH moču	6,4	4,8 – 7,4	
SG-hustota	1,000	1,001 – 1,035	kg/m ³
Bielkoviny	negat		
Glukóza	negat		
Acetón	stopy		
Bilirubín	negat		
Urobilinogén	negat		
Nitrity	negat		
Moč mikroskopicky			
Leukocyty	5	0 – 15	/ μl
Erytrocyty	7	0 – 10	/ μl
Epitélie dľaždicové	4	0 – 15	/ μl
Moč			
Osmolalita	47		mmol/kg
Minerály v moči			
Sodík	4		mmol/l
Draslík	1		mmol/l
Acidobáza (kapilára)			
pO ₂	8,84	9,8 – 13,3	kPa
pCO ₂	4,90	4,64 – 6,00	kPa
pH	7,412	7,36 – 7,44	-
BE	- 0,3	-2,5 – 2,5	
HCO ₃ ⁻	23,7	22 – 26	mmol/l
O ₂ sat	96	95 – 99	%

Otázka 3.10.1 Vyhodnoťte mineralogram a osmolalitu séra. Čo je príčinou a aké sú mechanizmy vzniku ťažkostí pacientky?

Odpoveď 3.10.1 Pacientka má kritickú symptomatickú hyponatriémiu (105 mmol/kg) a hypoosmolalitu séra (226 mmol/kg). Počítaná osmolalita je 216,9 mmol/kg, osmolálna medzera je v norme (9,1 mmol/kg). Hyponatriémia a hypochloridémia je spôsobená nadmernými stratami minerálov z organizmu pri dlhodobej polydipsii, polyúrii a tiež z gastrointestinálneho systému pri hnačkách. Mechanizmom vzniku symptómov zo strany centrálného nervového systému je hyperhydratácia mozgu v dôsledku prestupu hypotonickéj tekutiny z cirkulácie v smere osmotického gradientu.

Otázka 3.10.2 Aké stupne závažnosti hyponatrémie poznáte? Ako môže ohroziť život pacienta?

Odpoveď 3.10.2 Hyponatriémia sa podľa sérovej hladiny sodíka klasifikuje na: ľahká/stredne ťažká hyponatriémia (125 – 134 mmol/l), ťažká hyponatriémia (121 – 125 mmol/l), kritická hyponatriémia (≤120 mmol/l). Život pacienta je ohrozený vznikom edému mozgu, herniácie a útlaku životne dôležitých centier. Okrem toho pri viacdennom vývoji hyponatrémie na

hodnoty $< 120 \text{ mmol/l}$ (a sérovej osmolality $< 250 \text{ mmol/kg}$) sa opisuje 50 % úmrtnosť v dôsledku centrálnej demyelinizácie.

Otázka 3.10.3 Ilustračne si predstavme, že v snahe rýchleho riešenia poruchy by bol intravenózne podaný hypertonický fyziologický roztok. Po piatich hodinách by došlo k úprave hyponatriémie zo 105 mmol/l na 126 mmol/l . Bol by terapeutický zásah primeraný?

Odpoveď 3.10.3 Pri hyponatrémii mozgové bunky kompenzačne strácajú ióny a osmoticky aktívne organické zlúčeniny, čím sa adaptujú na hypoosmolalitu séra. Pri rýchlej úprave natrémie je pacient ohrozený syndrómom myelinolýzy, pretože pri zvýšení efektívnej osmolality extracelulárnej tekutiny dochádza k dehydratácii a zmenšeniu objemu buniek. Riziko vzniku strižného efektu na rozhraní axónov a myelínových pošiev sa zvyšuje s trvaním a závažnosťou hyponatrémie, a teda kompenzačnej straty intracelulárnych solútov.

Otázka 3.10.4 Ako by bolo potrebné liečiť hyponatrémiu aby sa minimalizovalo riziko poškodenia mozgu resp. ohrozenia života pacientky?

Odpoveď 3.10.4 Ak ide o akútnu poruchu (do 2 dní od začiatku vývoja hyponatrémie), je potrebné zvyšovať o maximálne $1 - 2 \text{ mmol/hod}$, pri chronickej hyponatrémii o $0,5 \text{ mmol/hod}$. Ideálna denná korekcia natrémie by nemala presiahnuť 10 mmol/l/24 hod , 18 mmol/l/48 hod a 20 mmol/l/72 hod .

Otázka 3.10.5 Pri príjme pacientky boli v sére detekované zvýšené aktivity CK ($2,61 \text{ } \mu\text{kat/l}$), CK-MB ($0,42 \text{ } \mu\text{kat/l}$), hladina troponínu I však bola v norme. Ako by ste v korelácii s klinickým obrazom a nálezmi vyšetrení vysvetlili daný nález?

Odpoveď 3.10.5 Zvýšenie aktivity CK by nás mohlo upozorniť na prítomnosť poškodenia svalu alebo myokardu, hodnoty však len mierne presahuje referenčnú medzu ($< 2,42 \text{ } \mu\text{kat/l}$). Zvýšenie aktivity CK-MB je špecifické pre poškodenie myokardu, avšak aj v tomto prípade je aktivita len nepatrne zvýšená (ref. medza $< 0,40 \text{ } \mu\text{kat/l}$). Klinické symptómy akútneho koronárneho syndrómu u pacientky prítomné neboli, sérová hladina troponínu I bola v norme, podobne EKG nedetekovalo ischemické ani iné patologické nálezy. Ako sme už spomínali, k elevácii spomínaných kardiomarkerov dochádza za niekoľko hodín od ischemie.

Pre uistenie sa, že sa nenachádzame v „diagnostickom okne“ by bolo možné vyšetrenie spomínaných kardiomarkerov, predovšetkým troponínu I, zopakovať a doplniť vyšetrenie myoglobínu. Nepatrné zvýšenie aktivít CK a CK-MB bez ďalšej dynamiky, klinického a EKG korelátu môže reprezentovať individuálnu normu pacientky (5 % zdravých jedincov mimo referenčných hodnôt), prípadne môžu byť dlhodobo zvýšené u jedincov so svalovými ochoreniami alebo u športovcov, alebo prechodne po fyzickom výkone.

Otázka 3.10.6 Ako môžeme vysvetliť zníženú hladinu kreatinínu a urey v sére pacientky? Na čo nás môže upozorniť prítomnosť stôp ketolátok v moči?

Odpoveď 3.10.6 Kreatinín je tvorený vo svalu, urea je odpadový produkt metabolizmu aminokyselín. Znížené hodnoty môžu súvisieť so zníženou tvorbou týchto látok v tele ako dôsledku astenického habitu, zníženého množstva svalovej hmoty v tele pacientky a zníženého príjmu bielkovín pri špeciálnej diéte. Okrem toho treba zohľadniť aj zvýšené straty kreatinínu a urey obličkami v dôsledku dlhodobo prítomnej polydipsie a polyúrie. Detekované ketolátky v moči môžu poukázať na ketogézu pri špeciálnej diéte.

Otázka 3.10.7 Na aký syndróm by sme mali myslieť pri detekovanej kritickej hyponatrémii a hypoosmolalite séra? Môže nám pri diagnostike pomôcť vyšetrenie osmolality moču a koncentrácie sodíka v moči?

Odpoveď 3.10.7 Uvedené nálezy môžu byť prítomné pri syndróme neprimeranej sekrécie ADH (SIADH, *syndrome of inappropriate antidiuretic hormone secretion*), pri ktorom býva typicky prítomná natrémia < 134 mmol/l, osmolalita séra < 280 mmol/kg, osmolalita moču > 1000 mmol/kg resp. koncentrácia sodíka v moči > 30 mmol/l, bez dehydratácie alebo opuchov. U našej pacientky bola osmolalita moču 47 mmol/kg a sodík v moči 4 mmol/l, čo koreluje so zvýšenými stratami vody a teda nesvedčí pre SIADH. Pacientke je však určite vhodné doporučiť endokrinologické vyšetrenie.

3.11 Prípad 11 Vyšetrenie moču, obličky

40-ročný muž bez závažného predchorobia bol prijatý do nemocnice pre slabosť, únavu, opuch očných viečok a dolných končatín. Pred 2 dňami pozoroval tmavú akoby krvavú farbu moču a veľmi málo močil. Pred 3 týždňami si poškriabal nohu o drôt, rana sa zapálila, zraneniu nevenoval pozornosť, neskôr začal užívať antibiotiká. Objektívne je prítomný periorbitálny a pretibiálny edém bilaterálne, na lýtku pravej dolnej končatiny je hnisajúca tržná rana dĺžky asi 10 cm s okolitým kruhovým začervenaním, teplota tela 37,4 °C, tlak krvi 155/95 mm Hg, tapotement bilaterálne negatívny. Výsledky biochemického vyšetrenia pri prijatí boli:

Názov parametra	Výsledok	Referenčné hodnoty	Jednotky
Minerály v sére			
Sodík	133	136 – 146	mmol/l
Draslík	5,3	3,5 – 5,1	mmol/l
Chloridy	104	101 – 109	mmol/l
Sérum			
Glukóza	4,7	4,1 – 5,9	mmol/l
Kreatinín	132	74 – 110	μmol/l
Urea	11,5	2,8 – 7,2	mmol/l
Kyselina močová	389	208 – 428	μmol/l
Celkové bielkoviny	72	66 – 83	g/l
Bilirubín celkový	15	5,0 – 21,0	μmol/l
Bilirubín konjugovaný	2,1	0,1 – 3,4	μmol/l
AST	0,50	< 0,85	μkat/l
ALT	0,25	< 0,85	μkat/l
GMT	0,30	< 0,92	μkat/l
Osmolalita	280	275 – 295	mmol/kg
CRP	193,2	< 5,0	mg/l
Moč chemicky			
pH moču	5,6	4,8 – 7,4	
SG-hustota	1,011	1,001 – 1,035	kg/m ³
Bielkoviny	pozit		
Glukóza	negat		
Acetón	negat		
Bilirubín	negat		
Urobilinogén	negat		
Nitrity	negat		
Leukocyty	pozit		
Erytrocyty	pozit		
Moč mikroskopicky			
Leukocyty	160	0 – 15	/ μl
Erytrocyty	8700	0 – 10	/ μl
Epitélie dlaždicové	4	0 – 15	/ μl
Epitélie guľaté	ojedinele		
Hyalínne valce	19		/ μl
Granulované valce	7		/ μl
Erytrocytárne valce	28		/ μl

Otázka 3.11.1 Interpretujte biochemický nález v sére a moči vo vzťahu k anamnéze a klinickému obrazu. Poškodenie akého orgánu je suspektné?

Odpoveď 3.11.1 Suspektný je akútny nefritický syndróm, pre ktorý svedčia známky renálneho zlyhania (oligúria, zvýšenie koncentrácie dusíkatých odpadových látok – kreatinínu a močoviny, hyperkaliémia, dilučná hyponatrémia z retencie vody), edémy, hypertenzia v kombinácii s nálezom proteinúrie a makroskopickej hematurie, a nešpecifické symptómy (únava, slabosť). Prebiehajúci zápalový proces je charakteristický leukocytúriou a zvýšenou sérovou hladinou CRP.

Otázka 3.11.2 Pacientovi bola vyšetrená proteinúria z jednorázovej vzorky moču (pomer albumín/kreatinín). Približne akým denným stratám bielkovín zodpovedá uvedený výsledok?

Názov parametra	Výsledok	Referenčné hodnoty	Jednotky
Moč			
Kreatinín	3,1		mmol/l
Albumín	300,7		mg/l
Pomer albumín kreatinín	97	< 3	mg/mmol

Odpoveď 3.11.2 Pomer albumín / kreatinín 97 mg/mmol zodpovedá stratám 0,97 g/24 hod (100 mg/mmol koreluje so stratami 1 g/24 hod). Proteinúria pri nefritickom syndróme má väčšinou hodnotu okolo 0,5 – 2 g/24 hod ale môže mať aj nefrotický charakter.

Otázka 3.11.3 Aká je vzhľadom k uvedeným výsledkom pravdepodobná etiológia akútneho renálneho poškodenia? Vysvetlite čo je to ASLO?

Názov parametra	Výsledok	Referenčné hodnoty	Jednotky
Sérum			
ASLO	503,2	< 200,0	IU/ml
C3-komplement	0,16	0,9 – 1,8	g/l

Odpoveď 3.11.3 Neliečená streptokoková bakteriálna infekcia kože spôsobila u pacienta za niekoľko týždňov vznik akútnej endokapilárnej (poststreptokokovej) glomerulonefritídy s klinickým obrazom nefritického syndrómu. Pre diagnózu je typické zníženie koncentrácie C3 zložky komplementu. **Antistreptolýzín O (ASLO)** vzniká ako protilátková odpoveď organizmu na infekciu *Streptococcus pyogenes*. Tvorí sa v 75 – 80 % prípadov po prekonaní infekcií horných dýchacích ciest od 1. týždňa po infekcii, s maximom o 3 – 6 týždňov, pričom zvýšenie

môže pretrvávať aj 6 mesiacov. Pri kožných streptokokových infekciách sa jeho koncentrácia v sére zvyšuje u menej ako polovice pacientov. S veľkosťou protilátkovej odpovede proti streptokokom narastá aj pravdepodobnosť komplikácií, pričom výpovedná hodnota vyšetrení sa výrazne zvyšuje stanovením dynamiky pred a mesiac po liečbe. V prípade negativity vyšetrenia ASLO je možné vyšetriť **anti-DNázu B**, ktorej koncentrácia stúpa asi 6 – 8 týždňov od infekcie a pretrváva v sére dlhšie. Jedná sa o exoproteín tvorený baktériami, ktorý štiepi nukleové kyseliny a proteíny, čím uľahčuje šírenie infekcie.

Otázka 3.11.4 Nález makroskopickkej hematurie bol potvrdený aj mikroskopicky vyšetrením močového sedimentu. Aké ďalšie špecifické vyšetrenie moču nám môže poskytnúť spresňujúcu informáciu o pôvode erytrocytov?

Odpoveď 3.11.4 Vyšetrenie tzv. **dysmorfie erytrocytov (typizácia erytrocytúrie)** sa vykonáva v polarizačnom mikroskope (fázový kontrast) a umožňuje na základe zmien tvaru erytrocytov rozpoznať ich pôvod. **Renálna hematuria** je typická mikroskopicky dysmorfnými erytrocytmi, pretože pri prechode poškodenou glomerulárnou membránou dochádza k zmene tvaru, veľkosti a vzniku membránových defektov a mechúrikovitých výbežkov (akantocyty), zároveň vzniká proteinúria. **Postrenálna hematuria** je charakteristická mikroskopicky eumorfnými erytrocytmi normálneho tvaru, ktoré pochádzajú z poškodených odvodných močových ciest.

Z laboratória bol doručený výsledok typizácie erytrocytúrie:

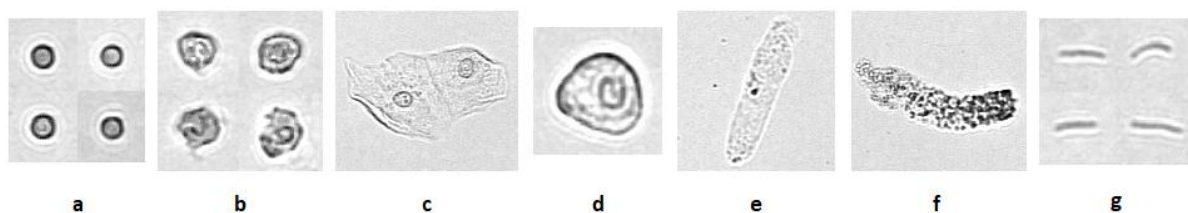
Názov parametra	Výsledok	Referenčné hodnoty	Jednotky
Typizácia erytrocytúrie			
Erytrocyty dysmorfne	98		%
Erytrocyty eumorfne	2		%

Otázka 3.11.5 Aké percentuálne zastúpenie dysmorfných erytrocytov v polarizačnom mikroskope rozlišuje medzi renálnou a postrenálnou hematúriou?

Odpoveď 3.11.5 Typizácia erytrocytov svedčí pre hematúriu reno-parenchýmového pôvodu pri náleze viac ako 60 % dysmorfných erytrocytov.

Otázka 3.11.6 Aký patognomický a diagnostický význam majú zistené nálezy buniek a útvarov pri mikroskopickom vyšetrení močového sedimentu?

Odpoveď 3.11.6 Leukocytúria je znakom infekčného alebo neinfekčného zápalu, väčšinu leukocytov tvoria neutrofilné granulocyty. **Erytrocyty** sú v moči prítomné pri mikroskopickej alebo makroskopickej hematúrii. Chemický test detekuje hém a je pozitívny aj pri hemoglobínúrii alebo myoglobínúrii. **Dlaždicové (skvamózne) epitélie** pochádzajú z distálnej časti uretry a v moči sa nachádzajú fyziologicky. Bunky **urotelu** z močových ciest sú fyziologickým nálezom ak majú normálny tvar. **Guľaté (renálne tubulárne) epitélie** sú vždy patologickým znakom poškodenia tubulov resp. akútnej tubulárnej nekrózy. Okrem buniek v moči nachádzame aj tzv. **valce**, ktoré sa formujú v distálnom tubule a zbernom kanáliku. **Hyalínne valce** sú v moči fyziologicky prítomné a vznikajú precipitáciou Tamm-Horsfalovho proteínu secerňovaného tubulárnymi bunkami pri tubulárnej resorpcii vody. Ich vznik je uľahčený dehydratáciou, zníženým pH a zvýšenou koncentráciou bielkovín a sú základom pre ďalšie valce, ktorých prítomnosť v moči je vždy patologická. **Bunkové valce** obsahujú tubulárne bunky a typicky sa vyskytujú pri akútnej tubulárnej nekróze. **Granulované valce** vznikajú z bunkových valcov degeneráciou prilepených tubulárnych epiteliálnych buniek a proteínov (hrubé granulácie). Ich postupným rozpadom cez jemne granulované valce sa vytvárajú **voskové valce**. V moči sú prítomné pri glomerulonefritíde, intersticiálnej nefritíde alebo akútnej tubulárnej nekróze. **Erytrocytové valce** vznikajú pri renálnej glomerulárnej hematúrii. **Leukocytové valce** bývajú prítomné pri pyelonefritíde a glomerulonefritíde.



Obrázok 39 Vybrané nálezy mikroskopického vyšetrenia močového sedimentu a – erytrocyty, b – leukocyty, c – dlaždicové epitélie, d – guľaté epitélie, e – hyalínne valce, f – granulované valce, g – baktérie (tyčinky)

Otázka 3.11.7 Aké hladiny dusíkatých metabolitov a minerálov v krvnom sére pri akútnom renálnom zlyhaní sú indikáciou k hemodialýze?

Odpoveď 3.11.7 Po zvážení celkového klinického stavu pacienta a možnosti úpravy konzervatívnou terapiou sú indikáciou k hemodialyzačnej liečbe: kreatinínemia > 500 – 800 $\mu\text{mol/l}$, hladina sérovej urey > 30 – 35 mmol/l, hyperurikémia > 1000 $\mu\text{mol/l}$, hyperkaliémia > 6,5 mmol/l, hyperkalcémia > 4,5 mmol/l, ťažká metabolická acidóza.

3.12 Prípad 12 Základné vyšetrenie likvoru

4-ročný neočkovaný chlapec bol prijatý do nemocnice pre febrilný stav a bolesti hlavy. Predvčerom v noci sa zobudil s plačom, vracal, nechutilo mu jesť, včera bol podráždený, mal teplotu do 37 °C, večer opäť zvracal. Včera začali teploty okolo 38 °C, silné bolesti hlavy, stuhnutosť tela a bolesti ľavej dolnej končatiny. Pri príjme bolo dieťa dehydratované, malo pozitívne meningeálne príznaky a opozíciu šije, teplotu 37,5 °C, pulz 169/min, tlak krvi 100/55 mm Hg a frekvenciu dychov 28/min. RTG vyšetrenie hrudníka bolo bez patologických nálezov, CT vyšetrenie hlavy poukázalo na zmeny bielej hmoty a pia mater suspektne pre meningitídu a výplň maxilárnych dutín pri suspektnej sinusitíde. Hematologické vyšetrenie detekovalo výraznú leukocytózu a neutrofíliu, výsledky biochemického vyšetrenia krvi boli:

Názov parametra	Výsledok	Referenčné hodnoty	Jednotky
Minerály v sére			
Sodík	137	132 – 144	mmol/l (1 m. – 15 r.)
Draslík	3,9	3,5 – 5,1	mmol/l
Vápnik	2,29	2,20 – 2,75	mmol/l (2 – 15 r.)
Chloridy	106	101 – 109	mmol/l
Fosfor	1,45	1,29 – 2,26	mmol/l (0 – 15 r.)
Horčík	0,85	0,77 – 1,03	mmol/l
Vápnik ionizovaný	1,192	1,050 – 1,450	mmol/l (0 – 15 r.)
Sérum			
Glukóza	5,8	3,3 – 5,6	mmol/l (0 – 15 r.)
Kreatinín	26	23 – 68	μmol/l (1 – 15 r.)
Urea	4,2	1,8 – 6,4	mmol/l (6 t. – 15 r.)
Celkové bielkoviny	68,0	57,0 – 80,0	g/l (1 m. – 18 r.)
Albumín	34,4	35,0 – 52,0	g/l
Bilirubín celkový	9,3	5,0 – 21,0	μmol/l
Bilirubín konjugovaný	2,5	0,1 – 3,4	μmol/l
AST	0,10	< 0,85	μkat/l
ALT	0,18	< 0,85	μkat/l
GMT	0,12	< 0,37	μkat/l (1 – 12 r.)
Zápalové markery			
CRP	327,2	< 5,0	mg/l
Prokalcitonín	55,07	< 0,50	μg/l
Imunochemické vyšetrenia			
IgG	8,25	5,40 – 18,22	g/l
IgA	1,46	0,21 – 2,91	g/l (1 – 12 r.)
IgM	1,55	0,41 – 1,83	g/l (1 – 12 r.)

Otázka 3.12.1 Interpretuje výsledky biochemického vyšetrenia séra. Aké ďalšie vyšetrenie by ste doporučili?

Odpoveď 3.12.1 V sére pozorujeme zvýšenie hladín zápalových markerov, ktoré spolu s horúčkou, leukocytózou a neutrofíliou svedčia pre prebiehajúcu ťažkú bakteriálnu infekciu (CRP > 50 mg/l, PCT > 10 µg/l). Hemokultivácia potvrdila prítomnosť *Haemophilus species*.

Otázka 3.12.2 Aké ďalšie vyšetrenie je potrebné vykonať na definitívny dôkaz meningitídy?

Odpoveď 3.12.2 Je potrebné vykonať lumbálnu punkciu a vyšetrenie likvoru.

Pri odbere cerebrospinálneho moku lumbálnou punkciou lekár pozoroval jeho skalený vzhľad.

Výsledky biochemického a mikroskopického vyšetrenia likvoru boli nasledovné:

Názov parametra	Výsledok	Referenčné hodnoty	Jednotky
Likvor chemicky			
Glukóza likvor	1,8	1,8 – 4,6	mmol/l (0 – 16 rokov)
Bielkovina likvor	1,94	0,100 – 0,450	g/l (0 – 15 rokov)
Chloridy likvor	117	113 – 131	mmol/l
Albumín likvor	0,95	0,09 – 0,21	g/l
IgA likvor	9,350	< 5,000	mg/l
IgG likvor	82,520	< 34,000	mg/l
IgM likvor	16,547	< 1,300	mg/l
Laktát likvor	4,89	1,10 – 1,80	mmol/l (0 – 15 rokov)
Likvor mikroskopicky			
Erytrocyty likvor	prítomné	< 5	/3
Segmenty likvor	9024	0 – 1	/3
Lymfocyty likvor	112	< 5	/3

Otázka 3.12.3 Zodpovedá výsledok vyšetrenia likvoru klinickým a ďalším nálezom? Môže nám vyšetrenie likvoru pomôcť diferencovať medzi bakteriálnou a inou etiológiou meningitídy?

Odpoveď 3.12.3 Áno, likvorový nález u pacienta – hranične nízka koncentrácia glukózy, zvýšená koncentrácia albumínu, proteínov, laktátu a zvýšený počet segmentovaných foriem leukocytov je typický pre bakteriálnu meningitídu. Nález bol potvrdený aj mikrobiologickým vyšetrením likvoru, ktoré potvrdilo pozitivitu *Haemophilus influenzae typ b*. Virologické vyšetrenie na EBV, CMV, HSV, mykoplazmy a chlamýdie bolo negatívne.

Vyšetrenie likvoru významne pomáha pri diferenciácii bakteriálnej a vírusovej etiológie meningitídy. **Koncentrácia glukózy v likvore** (glykorhachia) býva pri bakteriálnej meningitíde znížená pre konzumpciu glukózy baktériami a leukocytmi. Výbornú výpovednú hodnotu pri hodnotení glykorhachie má jej porovnanie vo vzťahu k sérovej glykémii. Kvocient glukózy (Q_{glu}), ktorý vypočítame ako pomer koncentrácie v sére a likvore je pri bakteriálnej

meningitíde typicky $< 0,4$ ($Q_{glu} = \frac{\text{glukóza likvor}}{\text{glukóza sérum}} = \frac{1,6 \text{ mmol/l}}{5,8 \text{ mmol/l}} = 0,28$). Zvýšená **celková bielkovina v likvore** (hyperproteinorhachia) typická pre zápalový proces v našom prípade svedčí pre bakteriálnu etiológiu (diskriminačná hodnota pre rozlíšenie bakteriálnej meningitídy od seróznej je 1 g/l). Podobne aj hladina **laktátu v likvore** $> 4,2 \text{ mmol/l}$ rozlišuje bakteriálnu meningitídu od vírusovej. Mikroskopický nález veľmi zvýšeného počtu **neutrofilných granulocytov** (kvôli segmentovanému jadru nazývaných aj „segmenty“) je znakom bakteriálnej hnisavej meningitídy. Výrazné zvýšenie počtu **lymfocytov** v likvore býva prítomné pri vírusovej alebo asepticknej etiológii zápalu. Veľkosť poruchy hematoencefalickej bariéry odráža zvýšená **koncentrácia albumínu**, ktorý poškodenou bariérou preniká. Pri meningitíde s ťažkou poruchou bariéry býva prítomné zníženie **koncentrácie chloridov** v likvore. S prebiehajúcim zápalovým procesom koreluje aj nález zvýšenej **koncentrácie imunoglobulínov**.

Otázka 3.12.4 Pri akých iných patologických stavoch býva prítomná hyperproteinorhachia, hypoglykorhachia a zvýšená koncentrácia laktátu v likvore?

Odpoveď 3.12.4 Normálne je asi 80 % proteínov v likvore sérového pôvodu (u dospelých 0,1 – 0,49 g/l). **Hyperproteinorhachia** býva prítomná pri poruche hematoencefalickej bariéry, uvoľnení z rozpadnutých buniek CNS, nádorových procesoch a tzv. intratekálnej syntéze bielkovín pri patologickej aktivácii imunitného systému. Arteficiálne zvýšenie koncentrácie proteínu býva aj pri krvácaní do likvorových ciest, keď na každých 1000 erytrocytov je pre správnu interpretáciu potrebné od nameranej hodnoty celkových bielkovín odpočítať 10 mg/l.

Hladina glukózy v likvore tvorí normálne približne 60 % z glykémie ($Q_{glu} = 0,6$, u dospelých 2,7 – 4,4 mmol/l). Hladina laktátu v likvore nezávisí od plazmatickej koncentrácie a je výlučne produktom anaeróbného metabolizmu glukózy v CNS (u dospelých 1,5 – 2,1 mmol/l). **Hypoglykorhachia a zvýšená koncentrácia laktátu** býva spôsobená zvýšením metabolického obratu pri bakteriálnej meningitíde, poruche zásobenia mozgu kyslíkom, nádorových ochoreniach, epilepsii a subarachnoideálnom krvácaní.

Otázka 3.12.5 Aký je fyziologický cytologický nález v likvore? Prečo sa referenčné medze pri počtu buniek uvádzajú ako číslo/3 ?

Odpoveď 3.12.5 Za normálnych okolností sa môže v likvore nachádzať celkovo približne 10/3 buniek a hovoríme o oligocytóze. Prevahu majú mononukleárne bunky, z ktorých 65 – 80 % tvoria lymfocyty. Počítanie elementov sa vykonáva vo Fuchs-Rosenthalovej komôrke po ofarbení likvoru Türkovým roztokom (genciánová violet) v klasickom optickom mikroskope pri 400-násobnom zväčšení. Bunky sa počítajú v 16 väčších štvorcových poliach s celkovým objemom 3 µl, preto sa pri výsledku udáva počet elementov/3, ktorý je v prípade potreby možné prepočítať na 1 mikroliter. Treba si však uvedomiť, že sa jedná o „orientačné“ cytologické vyšetrenie a prítomné bunky nie je možné detailne analyzovať, pretože pri použití farbení a metodike nie sú viditeľné granulá v cytoplazme ani štruktúry jadier buniek. Pre presnú klasifikáciu bunkového nálezu v likvore sa využíva trvalý cytologický preparát, pripravený cytosedimentačnou metódou, kde už možno detailnejšie usudzovať aj na abnormality buniek, príslušnosť k jednotlivým vývojovým radom leukocytov atď.

Otázka 3.12.6 Dieťa dostalo intravenóznú antibiotickú, analgetickú a podpornú liečbu. V tabuľke vidíme postupnú dynamiku zmien hladín zápalových markerov v sére. Bola terapia efektívna?

Zápalové markery									
Názov parametra	Výsledok (čas hospitalizácie)							Referenčné hodnoty	Jednotky
Sérum	1. deň	2.deň	4.deň	8. deň	12.deň	15.deň	20.deň		
CRP	327,2	176,8	43,9	52,0	50,1	30,3	10,0	< 5,0	mg/l
Prokalcitonín	55,07	34,02	7,84	0,75	0,16	0,14		< 0,50	µg/l

Odpoveď 3.12.6 Áno, vzhľadom k postupnému poklesu hladín CRP aj PCT a ústupu klinických príznakov bola terapia efektívna.

3.13 Prípad 13 Vyšetrenie pleurálneho punktátu

45-ročný pacient s hypertenziou, *diabetes mellitus* 2. typu a srdcovým zlyhávaním, dlhoročný fajčiar bol hospitalizovaný pre fluidothorax l.dx. Kardiálny pôvod fluidothoraxu bol vylúčený, v sére bola pozorovaná zvýšená zápalová aktivita (leukocytóza, neutrofília, CRP 198,4 mg/l) a boli mu empiricky nasadené antibiotiká. Pre progresiu fluidothoraxu (CT vyšetrenie) bola pacientovi vykonaná pleurálna punkcia. Punktát skaleného vzhľadu a nepríjemného zápachu bol odoslaný na mikrobiologické vyšetrenie (kultivácia + citlivosť) a bol vyšetrený v biochemickom laboratóriu.

Názov parametra	Výsledok	Referenčné hodnoty		Jednotky
Punktát		Exsudát	Transudát	
pH	6,8	< 7,4	7,4	
Glukóza	0,6	< 1,7	ako v plazme	mmol/l
Celkové bielkoviny	38,4	> 30	< 30	g/l
Cholesterol	7,32	> 1,15	< 1,15	mmol/l
LD	109,6	> 5,3	< 5,3	μkat/l
AMS	0,01	< 1,66	< 1,66	μkat/l
Reumatoidný faktor	4,0	0,0 – 5,4	0,0 – 5,4	kU/l
Erytrocyty	záplava	< 1	< 1	/μl
Leukocyty	28 000	> 100	< 100	/μl

Otázka 3.13.1 Vieme na základe výsledkov biochemického a mikroskopického vyšetrenia punktátu rozlíšiť, či sa jedná o exsudát alebo transudát? Vysvetlite, prečo vznikajú uvedené rozdiely v zložení týchto telesných tekutín.

Odpoveď 3.13.1

Na základe nízkeho pH, nízkej hladiny glukózy, vysokej koncentrácie celkových bielkovín a cholesterolu, vysokej aktivity laktátdehydrogenázy a veľmi zvýšeného počtu leukocytov môžeme konštatovať, že sa jedná o exsudát. V našom prípade ide o empyém hrudníka, keď sa hladina glukózy typicky blíži až k nule, pH je < 7 a hladina celkových bielkovín a cholesterolu môže dosahovať až plazmatické hodnoty. **Transudát** vzniká ultrafiltráciou plazmy, avšak koncentrácia bielkovín a na ne viazaných lipidov a enzýmov, ktoré z plazmy ťažšie prenikajú je nižšia. **Exsudát** je zápalového pôvodu (infekcia, nádor), vzniká presunom látok zvýšene permeabilnou kapilárnou stenou a preto svojím zložením pripomína plazmu. Koncentrácia

niektorých látok v exsudáte je činnosťou zápalových či nádorových buniek ešte viac znížená (pH, glukóza) alebo zvýšená (laktát).

Pacientovi bola následne vykonaná torakoskopia, evakuácia výpotku, toaleta pleurálnej dutiny a drenáž s cieľnou antibiotickou liečbou.

Otázka 3.13.2 Ktoré ďalšie biochemické markery môžeme použiť pre rozlíšenie exsudátu od transudátu?

Odpoveď 3.13.2 Exsudát býva žltý, zakalený a typicky je prítomná vysoká koncentrácia albumínu (> 12 g/l), triacylglycerolov (> 0,5 mmol/l), laktátu (> 1,85 mmol/l) a pozitivita nálezu fibrinogénu. Pri bakteriálnej infekcii sú typicky prítomné početné neutrofilné granulocyty. Pri malígnych procesoch detekujeme často vysoký počet erytrocytov a abnormálne nádorové bunky, ktoré môžu byť ďalej špecifikované cytologickým vyšetrením. V prípade, že zápalový proces nie je intenzívny, je zvýšená permeabilita kapilárnej steny resp. dôjde k infikovaniu transudátu, môžeme biochemickým vyšetrením detekovať prechodné formy medzi transudátom a exsudátom bez možnosti ich spoľahlivého rozlíšenia.

Pri nejasných nálezoch je okrem uvedených diferenciačných markerov možné použiť aj

Lightove kritériá pre exsudát: pomer koncentrácií $\frac{\text{celkové bielkoviny exsudát}}{\text{celkové bielkoviny sérum}} > 0,5$ a pomer

aktivít $\frac{\text{LD exsudát}}{\text{LD sérum}} > 0,6$. **Albumínový gradient** počítame ako rozdiel koncentrácie albumínu v exsudáte a sére, pričom pre exsudát svedčí hodnota > 12 g/l.

Otázka 3.13.3 Na čo nám slúži stanovenie aktivity amylázy v punktáte?

Odpoveď 3.13.3 Aktivita amylázy v punktáte ascitu býva výrazne zvýšená pri pankreatitíde, keď mnohonásobne presahuje fyziologickú aktivitu v sére.

3.14 Prípad 14 Diferenciácia telesných tekutín

55-ročný pacient prišiel v jarnom období na ambulantné vyšetrenie s vodnatým výtokom z nosa, ktorý trval asi 2 – 3 dni. Jednalo sa o číry sekrét bez zápachu, ktorý mu z nosa kvapkal, tekutinu si sám nazbieral v množstve asi 2 ml a doniesol ju do nemocnice s tvrdením, že mu vyteká „tekutina z mozgu“. Pacient prišiel sám, závraty nemal, poranenia a operácie v oblasti hlavy a tváre negoval, alergie neudával, pred pár rokmi užíval preparát s obsahom levocetirizínu. Pacient bol orientačne neurologicky v norme, orientovaný, fyzikálne vyšetrenie vrátane oblasti hlavy bez patologických nálezov, bol však prítomný kvapkajúci číry výtok z nosa, teplota tela 36,4 °C. Ošetrojúci lekár konzultoval laboratórium ohľadom indikácie markerov, ktoré by mali byť z tekutiny vyšetrené za účelom biochemickej diferenciálnej diagnostiky rinorea vs. likvorea. Na základe anamnézy a fyzikálneho vyšetrenia mal lekár skôr podozrenie na alergickú rinoreu a biochemické vyšetrenie malo jeho rozhodnutie potvrdiť.

Otázka 3.14.1 Zhodnoťte výsledky vyšetrenia dodanej tekutiny a vyjadrite sa k jej biochemickému zloženiu a pôvodu. Pri indikácii vyšetrenia bola vzorka pre možnosť posúdenia referenčných hodnôt zadaná v laboratórnom systéme ako likvor.

Názov parametra	Výsledok	Referenčné hodnoty		Jednotky
		Likvor	Nazálny sekrét	
Glukóza	0,2	2,7 – 4,4	< 0,05	mmol/l
Celkové bielkoviny	4,08	0,1 – 0,49	3,0 – 40,0	g/l
Chloridy	226	113 – 131		mmol/l
Albumín	1,27	0,09 – 0,21		g/l
Laktát	0,83	1,5 – 2,1		mmol/l
Draslík	30	< 3,0	> 17	mmol/l

Odpoveď 3.14.1 Na základe výsledkov biochemického vyšetrenia sa s vysokou pravdepodobnosťou jedná o sekrét z nazálnej sliznice (rinorea), pre čo svedčí v porovnaní s likvorom výrazne vyššia hladina celkových bielkovín a draslíka, a tiež výrazne nižšia až takmer nulová hladina glukózy. Taktiež hladina chloridov 226 mmol je pre likvor, v ktorom sa bežne nachádzajú asi v polovičnej koncentrácii veľmi nepravdepodobná a ich zvýšenie by bolo sprevádzané ťažkou poruchou hematoencefalickej bariéry s klinickými prejavmi ochorenia CNS.

Otázka 3.14.2 Aké ďalšie špecifické markery by mohli v uvedenom prípade pomôcť diferencovať rinoreu a likvoreu?

Odpoveď 3.14.2 Pri elektroforetickej separácii bielkovín likvoru v ňom nachádzame typicky karbohydrát-deficientný transferín, ktorý vzniká odštiepením kyseliny sialovej z transferínu mozgovou neuraminidázou. Okrem toho možno likvor potvrdiť aj pomocou prítomnosti tzv. β -trace proteínu (prostaglandín-D-syntázy), ktorý sa syntetizuje v mäkkých mozgových plench a plexus chorioides, pričom jeho koncentrácia v CSF je omnoho vyššia ako v sére alebo plazme.

Otázka 3.14.3 Vyšetrenie akých markerov nám umožňuje odlíšiť moč od tekutiny v peritoneálnej dutine resp. od tekutiny ascitu?

Odpoveď 3.14.3 V moči sa nachádza predovšetkým mnohonásobne vyššia koncentrácia urey a často aj draslíka, ktoré sú v ascitickej tekutine podobné koncentráciám v sére.

Zdroje:

Arndt T. Carbohydrate-deficient transferrin as a marker of chronic alcohol abuse: a critical review of preanalysis, analysis, and interpretation. Clin Chem. 2001; 47(1):13-27.

B·R·A·H·M·S PCT: Sepsis diagnosis and monitoring Procalcitonin (PCT) – Clinical Guide
<https://www.procalcitonin.com/images/downloads/brahms-pct-procalcitonin-clinical-guide-en.pdf>

Carpio R et al. Utility of presepsin (sCD14-ST) as a diagnostic and prognostic marker of sepsis in the emergency department. Clin Chim Acta. 2015, 23(450):169-75

Cockcroft DW, Gault MH. Prediction of creatinine clearance from serum creatinine. Nephron. 1976; 16:31–41.

Řurovcová E, Mareková M, Molčányiová A, Turecký L. Klinická biochémia - vybrané kapitoly, 1.ed., 2020, 301 s., ISBN 9788080634896

Gaw & Murphy & Srivastava & Cowan & O'Reilly. Clinical Biochemistry, 5. ed. An Illustrated Colour Text Imprint: Churchill Livingstone Elsevier, 2013, 175 p., ISBN 9780702051791

Holick MF et al. Evaluation, treatment, and prevention of vitamin D deficiency: an Endocrine Society clinical practice guideline. J Clin Endocrinol Metab. 2011; 96(7):1911-1930

Chenevier-Gobeaux C et al. Presepsin (sCD14-ST), an innate immune response marker in sepsis. Clin Chim Acta. 2015; 450:97-103

Klener P et al. Vnitřní lékařství, 4th ed., Galén, 2011, 1174 s., ISBN 9788072627059

Levey AS et al. A new equation to estimate glomerular filtration rate. Ann Intern Med. 2009, 150(9):604-612

National Institute for Health and Care Excellence: Clinical guideline [CG182]

Racek J et al. Klinická biochemie, 2. ed., Galén, 2006, 329 s., ISBN 8072623249

Rosen CJ et al. IOM committee members respond to Endocrine Society vitamin D guideline. J Clin Endocrinol Metab. 2012; 97(4):1146-1152

Sen ES, Ramanan AV. How to use antistreptolysin O titre. Arch Dis Child Educ Pract Ed. 2014; 99(6):231-238.

Spittler A et al. Relationship between interleukin-6 plasma concentration in patients with sepsis, monocyte phenotype, monocyte phagocytic properties, and cytokine production. Clin Infect Dis. 2000; 31(6):1338-1342

Thomas L. Clinical Laboratory Diagnostics: Use and Assessment of Clinical Laboratory Results, 1. ed., Frankfurt/Main, Germany: TH-Books Verlagsgesellschaft, 1998, 1727 p., ISBN 3980521540

Ventetuolo C, Levy M. Biomarkers: Diagnosis and risk assessment in sepsis. Clin Chest Med. 2008; 29:591-603

Zima T et al. Laboratorní diagnostika, II. ed., Galén, 2007, 906 s., ISBN 9788072623723