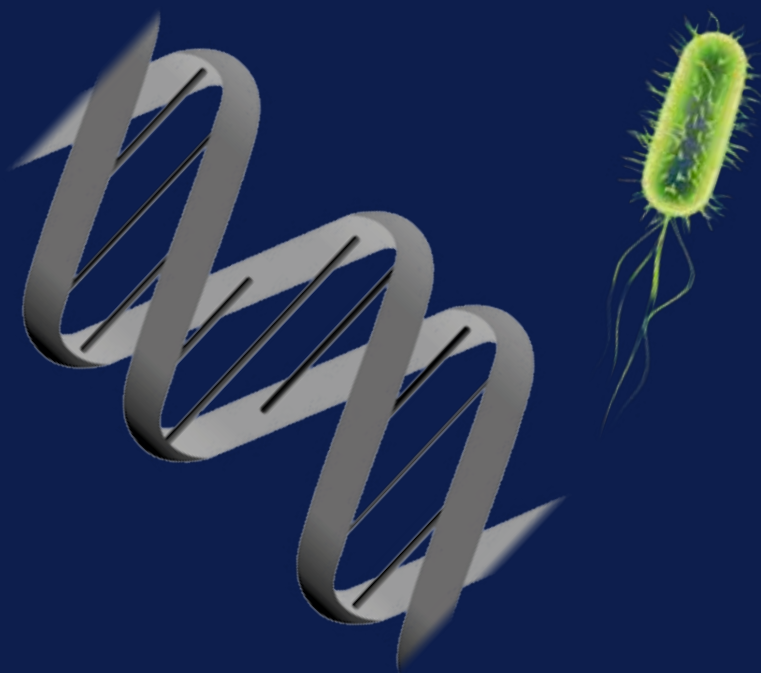


Tomáš Zima
hlavní autor a pořadatel

LABORATORNÍ DIAGNOSTIKA

Třetí, doplněné a přepracované vydání



GALÉN

Upozornění

Všechna práva vyhrazena.

Žádná část této tištěné či elektronické knihy nesmí být reprodukována a šířena v papírové, elektronické či jiné podobě bez předchozího písemného souhlasu nakladatele.

Neoprávněné užití této knihy bude trestně stíháno.

Galén

Na Bělidle 34, 150 00 Praha 5

www.galen.cz

© Galén, 2013

Tomáš Zima
hlavní autor a pořadatel

LABORATORNÍ DIAGNOSTIKA

Třetí, doplněné a přepracované vydání

GALÉN

Publikace vznikla za podpory Nadace ČEZ

Vydání podpořili

Abbott Laboratories, s. r. o.

Bio-Consult Laboratories spol. s r. o.

BioVendor – Laboratorní medicína a. s.

DiaSorin Czech s. r. o.

Lab Tests Online

Roche s. r. o., Diagnostics division

Siemens, s. r. o.

Sysmex CZ s. r. o.

TestLine Clinical Diagnostics s. r. o.

Tomáš Zima
hlavní autor a pořadatel

LABORATORNÍ DIAGNOSTIKA

Třetí, doplněné a přepracované vydání



GALÉN

Hlavní autor a pořadatel

prof. MUDr. Tomáš Zima, DrSc.

*Univerzita Karlova v Praze, 1. lékařská fakulta UK a Všeobecná fakultní nemocnice v Praze,
Ústav lékařské biochemie a laboratorní diagnostiky*

Autoři a spolupořadatelé

prof. MUDr. Antonín Kazda, DrSc.

*Univerzita Karlova v Praze, 1. lékařská fakulta UK a Všeobecná fakultní nemocnice v Praze,
Ústav lékařské biochemie a laboratorní diagnostiky*

prof. MUDr. Richard Průša, CSc.

*Univerzita Karlova v Praze, 2. lékařská fakulta UK a Fakultní nemocnice v Motole,
Ústav lékařské chemie a klinické biochemie*

doc. RNDr. Petr Štern, CSc.

*Univerzita Karlova v Praze, 1. lékařská fakulta UK a Všeobecná fakultní nemocnice v Praze,
Ústav lékařské biochemie a laboratorní diagnostiky*

Recenzent

prof. MUDr. Jaroslav Racek, DrSc.

*Univerzita Karlova v Praze, Lékařská fakulta a Fakultní nemocnice v Plzni,
Ústav klinické biochemie a hematologie*

Tomáš Zima**hlavní autor a pořadatel****LABORATORNÍ DIAGNOSTIKA****Třetí, doplněné a přepracované vydání**

Vydalo nakladatelství Galén, Na Bělidle 34, 150 00 Praha 5

Editor nakladatelství Lubomír Houdek

Šéfredaktorka nakladatelství Soňa Dernerová

Odpovědná redaktorka Milada Buriánková

Dokumentace z archivu autorů a nakladatelství Galén

Sazba Václav Zukaš, Galén

Tisk Těšínská tiskárna, a. s., Štefánikova 2, 737 36 Český Těšín

Určeno odborné veřejnosti

G 321034

Monografie byla vydána v roce 20. narozenin nakladatelství Galén.

Všechna práva vyhrazena.

Tato publikace ani žádná její část nesmí být reprodukovány, uchovávány v rešeršním systému nebo přenášeny jakýmkoli způsobem (včetně mechanického, elektronického, fotografického či jiného záznamu) bez písemného souhlasu nakladatelství.

Pořadatel, autoři i nakladatel vynaložili značné úsilí, aby informace o léčivech odpovídaly stavu znalostí v době zpracování díla.

Nakladatel za ně nenese odpovědnost a doporučuje řídit se údaji o doporučeném dávkování a kontraindikacích uvedených výrobcí v příbalovém letáku příslušného léčivého přípravku. Týká se to především přípravků vzácněji používaných nebo nově uváděných na trh.

© Galén, 2002, 2007, 2013

První vydání v elektronické verzi

978-80-7492-074-5 (PDF)

978-80-7492-075-2 (PDF pro čtečky)

Autorský kolektiv

Hlavní autor a pořadatel

prof. MUDr. Tomáš Zima, DrSc.

*Univerzita Karlova v Praze, 1. lékařská fakulta UK
a Všeobecná fakultní nemocnice v Praze,
Ústav lékařské biochemie a laboratorní diagnostiky*

Autoři a spolupřadatelé

prof. MUDr. Antonín Kazda, DrSc.

*Univerzita Karlova v Praze, 1. lékařská fakulta UK
a Všeobecná fakultní nemocnice v Praze,
Ústav lékařské biochemie a laboratorní diagnostiky*

prof. MUDr. Richard Průša, CSc.

*Univerzita Karlova v Praze, 2. lékařská fakulta UK
a Fakultní nemocnice v Motole,
Ústav lékařské chemie a klinické biochemie*

doc. RNDr. Petr Štern, CSc.

*Univerzita Karlova v Praze, 1. lékařská fakulta UK
a Všeobecná fakultní nemocnice v Praze,
Ústav lékařské biochemie a laboratorní diagnostiky*

Autoři

MUDr. Václava Adámková, CSc.

*Univerzita Karlova v Praze, 1. lékařská fakulta UK
a Všeobecná fakultní nemocnice v Praze,
Ústav lékařské biochemie a laboratorní diagnostiky*

prof. MUDr. Michael Aschermann, DrSc.

*Univerzita Karlova v Praze, 1. lékařská fakulta UK
a Všeobecná fakultní nemocnice v Praze,
II. interní klinika – klinika kardiologie a angiologie*

prof. MUDr. Marko Babjuk, CSc.

*Univerzita Karlova v Praze, 2. lékařská fakulta UK
a Fakultní nemocnice v Motole,
Urologická klinika*

doc. MUDr. Martin Balík, Ph.D.

*Univerzita Karlova v Praze, 1. lékařská fakulta UK
a Všeobecná fakultní nemocnice v Praze,
Klinika anesteziologie, resuscitace a intenzivní medicíny*

prof. MUDr. Jiřina Bartůňková, DrSc.

*Univerzita Karlova v Praze, 2. lékařská fakulta UK
a Fakultní nemocnice v Motole,
Ústav imunologie*

doc. MUDr. Jiří Bauer, CSc.

*Univerzita Karlova v Praze, 1. lékařská fakulta UK
a Všeobecná fakultní nemocnice v Praze,
Neurologická klinika*

RNDr. Hana Benáková

*Univerzita Karlova v Praze, 1. lékařská fakulta UK
a Všeobecná fakultní nemocnice v Praze,
Ústav lékařské biochemie a laboratorní diagnostiky*

prof. MUDr. Vladimír Beneš, DrSc.

*Univerzita Karlova v Praze, 1. lékařská fakulta UK
a ÚVN – Vojenská fakultní nemocnice Praha,
Neurochirurgická klinika*

MUDr. Ondřej Beran, Ph.D.

*Univerzita Karlova v Praze, 1. lékařská fakulta UK
a Fakultní nemocnice Na Bulovce,
III. klinika infekčních a tropických nemocí*

prof. MUDr. Jan Betka, DrSc.

*Univerzita Karlova v Praze, 1. lékařská fakulta UK
a Fakultní nemocnice v Motole,
Klinika otorinolaryngologie a chirurgie hlavy a krku*

MUDr. Jiří Böhm

*Univerzita Karlova v Praze, 1. lékařská fakulta UK
a Všeobecná fakultní nemocnice v Praze,
Neurologická klinika*

prof. MUDr. Radim Brdička, DrSc.

Ústav hematologie a krevní transfuze, Praha

MUDr. Helena Brodská

*Univerzita Karlova v Praze, 1. lékařská fakulta UK
a Všeobecná fakultní nemocnice v Praze,
Ústav lékařské biochemie a laboratorní diagnostiky*

prof. MUDr. Pavel Calda, CSc.

*Univerzita Karlova v Praze, 1. lékařská fakulta UK
a Všeobecná fakultní nemocnice v Praze,
Gynekologicko-porodnická klinika*

Ing. Lukáš Darebníček

Všeobecná fakultní nemocnice v Praze,
Fakultní transfuzní oddělení

MUDr. Helena Dejmková

Univerzita Karlova v Praze, 1. lékařská fakulta UK,
Revmatologická klinika;
Revmatologický ústav, Praha

doc. MUDr. Jarmila Drábková, CSc.

Univerzita Karlova v Praze, 2. lékařská fakulta UK
a Fakultní nemocnice v Motole,
oddělení chronické resuscitační a intenzivní péče

MUDr. Pavel Dřevínek, Ph.D.

Univerzita Karlova v Praze, 2. lékařská fakulta UK
a Fakultní nemocnice v Motole,
Pediatrická klinika;
Ústav lékařské mikrobiologie

MUDr. Daniela Dušková

Všeobecná fakultní nemocnice v Praze,
Fakultní transfuzní oddělení

MUDr. Tomáš Fait, Ph.D.

Univerzita Karlova v Praze, 1. lékařská fakulta UK
a Všeobecná fakultní nemocnice v Praze,
Gynekologicko-porodnická klinika

prof. MUDr. Martin Filipec, CSc.

Univerzita Karlova v Praze, 1. lékařská fakulta UK
a Všeobecná fakultní nemocnice v Praze,
Oční klinika;
Evropská oční klinika Lexum, Praha

RNDr. Kristina Forsterová, Ph.D.

Univerzita Karlova v Praze, 1. lékařská fakulta UK
a Všeobecná fakultní nemocnice v Praze,
I. interní klinika – klinika hematologie

prof. MUDr. Terezie Fučíková, DrSc.

Univerzita Karlova v Praze, 1. lékařská fakulta UK
a Všeobecná fakultní nemocnice v Praze,
Ústav imunologie a mikrobiologie

MUDr. Jan Haber, CSc.

Univerzita Karlova v Praze, 1. lékařská fakulta UK
a Všeobecná fakultní nemocnice v Praze,
I. interní klinika – klinika hematologie

prof. MUDr. Tomáš Hanuš, DrSc.

Univerzita Karlova v Praze, 1. lékařská fakulta UK
a Všeobecná fakultní nemocnice v Praze,
Urologická klinika

prof. MUDr. Eva Havrdová, CSc.

Univerzita Karlova v Praze, 1. lékařská fakulta UK
a Všeobecná fakultní nemocnice v Praze,
Neurologická klinika

doc. MUDr. Jarmila Heissigerová, Ph.D.

Univerzita Karlova v Praze, 1. lékařská fakulta UK
a Všeobecná fakultní nemocnice v Praze,
Oční klinika

prof. MUDr. Michal Holub, Ph.D.

Univerzita Karlova v Praze, 1. lékařská fakulta UK
a Fakultní nemocnice Na Bulovce,
III. klinika infekčních a tropických nemocí

prof. MUDr. Jiří Homolka, DrSc.

Univerzita Karlova v Praze, 1. lékařská fakulta UK
a Všeobecná fakultní nemocnice v Praze,
I. klinika tuberkulózy a respiračních nemocí

MUDr. Zuzana Humlová, Ph.D.

Univerzita Karlova v Praze, 1. lékařská fakulta UK
a Všeobecná fakultní nemocnice v Praze,
Ústav imunologie a mikrobiologie

prof. MUDr. David Jahoda, CSc.

Univerzita Karlova v Praze, 1. lékařská fakulta UK
a Fakultní nemocnice v Motole,
I. ortopedická klinika

RNDr. Ivana Janatková

Všeobecná fakultní nemocnice v Praze,
Ústav lékařské biochemie a laboratorní diagnostiky

prof. MUDr. Marta Kalousová, Ph.D.

Univerzita Karlova v Praze, 1. lékařská fakulta UK
a Všeobecná fakultní nemocnice v Praze,
Ústav lékařské biochemie a laboratorní diagnostiky

MUDr. Jiří Klempíř, Ph.D.

Univerzita Karlova v Praze, 1. lékařská fakulta UK
a Všeobecná fakultní nemocnice v Praze,
Neurologická klinika

prof. MUDr. Pavel Klener, DrSc.

Univerzita Karlova v Praze, 1. lékařská fakulta UK
a Všeobecná fakultní nemocnice v Praze,
I. interní klinika – klinika hematologie

MUDr. Pavel Klener jr., Ph.D.

Univerzita Karlova v Praze, 1. lékařská fakulta UK,
Ústav patologické fyziologie

MUDr. Barbora Kletenská

Vidia-Diagnostika, s. r. o., Praha

prof. MUDr. Jan Klozar, CSc.

Univerzita Karlova v Praze, 1. lékařská fakulta UK
a Fakultní nemocnice v Motole,
Klinika otorinolaryngologie a chirurgie hlavy a krku

MUDr. Petr Kocna, CSc.

Univerzita Karlova v Praze, 1. lékařská fakulta UK
a Všeobecná fakultní nemocnice v Praze,
Ústav lékařské biochemie a laboratorní diagnostiky

doc. MUDr. Radim Kočvara, CSc.

Univerzita Karlova v Praze, 1. lékařská fakulta UK
a Všeobecná fakultní nemocnice v Praze,
Urologická klinika

prof. RNDr. Libuše Kolářová, CSc.

Univerzita Karlova v Praze, 1. lékařská fakulta UK
a Všeobecná fakultní nemocnice v Praze,
Ústav imunologie a mikrobiologie

MUDr. Filip Kramář

Univerzita Karlova v Praze, 1. lékařská fakulta UK
a ÚVN – Vojenská fakultní nemocnice Praha,
Neurochirurgická klinika

prof. MUDr. Zdeněk Krška, CSc.

Univerzita Karlova v Praze, 1. lékařská fakulta UK
a Všeobecná fakultní nemocnice v Praze,
I. chirurgická klinika – břišní, hrudní a úrazová chirurgie

MUDr. Olga Kryštůfková

Univerzita Karlova v Praze, 1. lékařská fakulta UK,
Revmatologická klinika;
Revmatologický ústav, Praha

prof. MUDr. Jan Kvasnička, DrSc.

Univerzita Karlova v Praze, 1. lékařská fakulta UK
a Všeobecná fakultní nemocnice v Praze,
Ústav lékařské biochemie a laboratorní diagnostiky

prof. MUDr. Aleš Linhart, DrSc.

Univerzita Karlova v Praze, 1. lékařská fakulta UK
a Všeobecná fakultní nemocnice v Praze,
II. interní klinika – klinika kardiologie a angiologie

prof. MUDr. Milan Lukáš, CSc.

Univerzita Karlova v Praze, 1. lékařská fakulta UK
a Všeobecná fakultní nemocnice v Praze,
Ústav lékařské biochemie a laboratorní diagnostiky

prof. MUDr. Milan Macek jr., DrSc.

Univerzita Karlova v Praze, 2. lékařská fakulta UK
a Fakultní nemocnice v Motole,
Ústav biologie a lékařské genetiky

MUDr. Naďa Mallátová

Nemocnice České Budějovice,
Laboratoř parazitologie a mykologie

doc. MUDr. Ivan Matouš Malbohan, CSc.

Univerzita Karlova v Praze, 1. lékařská fakulta UK
a Všeobecná fakultní nemocnice v Praze,
Ústav lékařské biochemie a laboratorní diagnostiky

prof. MUDr. Zdeněk Mareček, DrSc.

Univerzita Karlova v Praze, 1. lékařská fakulta UK
a ÚVN – Vojenská fakultní nemocnice Praha,
Interní klinika

prof. MUDr. Josef Marek, DrSc.

Univerzita Karlova v Praze, 1. lékařská fakulta UK
a Všeobecná fakultní nemocnice v Praze,
III. interní klinika – klinika endokrinologie a metabolismu

doc. MUDr. Jan Martínek, Ph.D.

Institut klinické a experimentální medicíny, Praha,
Transplantcentrum, Klinika hepatogastroenterologie

prof. MUDr. Pavel Maruna, CSc.

Univerzita Karlova v Praze, 1. lékařská fakulta UK,
Ústav patologické fyziologie

†doc. MUDr. Zdeněk Mašek, CSc.

Endokrinologický ústav, Praha;
Univerzita Karlova v Praze, 1. lékařská fakulta UK
a Všeobecná fakultní nemocnice v Praze,
Ústav lékařské biochemie a laboratorní diagnostiky

prof. MUDr. Jiří Mazánek, DrSc.

Univerzita Karlova v Praze, 1. lékařská fakulta UK
a Všeobecná fakultní nemocnice v Praze,
Klinika ústní, čelistní a obličejové chirurgie

prof. Ing. Kyra Michalová, DrSc.

Všeobecná fakultní nemocnice v Praze,
Ústav lékařské biochemie a laboratorní diagnostiky

Ing. Blanka Míková

Nemocnice Na Homolce, Praha,
oddělení klinické biochemie, hematologie a imunologie

MUDr. Kateřina Mrázová

Univerzita Karlova v Praze, 1. lékařská fakulta UK
a Všeobecná fakultní nemocnice v Praze,
Ústav lékařské biochemie a laboratorní diagnostiky

prof. MUDr. Soňa Nevšímalová, DrSc.

Univerzita Karlova v Praze, 1. lékařská fakulta UK
a Všeobecná fakultní nemocnice v Praze,
Neurologická klinika

MUDr. Květoslav Novák

Univerzita Karlova v Praze, 1. lékařská fakulta UK
a Všeobecná fakultní nemocnice v Praze,
Urologická klinika

prof. MUDr. Dalibor Pacík, CSc.

Masarykova univerzita v Brně, Lékařská fakulta MU
a Fakultní nemocnice Brno,
Urologická klinika

doc. MUDr. Ivo Paclt, CSc.

Univerzita Karlova v Praze, 1. lékařská fakulta UK
a Všeobecná fakultní nemocnice v Praze,
Psychiatrická klinika

doc. MUDr. Antonín Pařízek, CSc.

Univerzita Karlova v Praze, 1. lékařská fakulta UK
a Všeobecná fakultní nemocnice v Praze,
Gynekologicko-porodnická klinika

prof. MUDr. Karel Pavelka, DrSc.

Univerzita Karlova v Praze, 1. lékařská fakulta UK,
Revmatologická klinika;
Revmatologický ústav, Praha

MUDr. Ivan Pavlík

Univerzita Karlova v Praze, 1. lékařská fakulta UK
a Všeobecná fakultní nemocnice v Praze,
Urologická klinika

prof. MUDr. Daniela Pelclová, CSc.

Univerzita Karlova v Praze, 1. lékařská fakulta UK
a Všeobecná fakultní nemocnice v Praze,
Klinika pracovního lékařství,
Toxikologické informační středisko

Ing. Květa Pelinková

Univerzita Karlova v Praze, 1. lékařská fakulta UK
a Všeobecná fakultní nemocnice v Praze,
Ústav lékařské biochemie a laboratorní diagnostiky

prof. MUDr. František Perlík, DrSc.

Univerzita Karlova v Praze, 1. lékařská fakulta UK,
Farmakologický ústav

†prof. MUDr. Marie Pešková, DrSc.

Univerzita Karlova v Praze, 1. lékařská fakulta UK
a Všeobecná fakultní nemocnice v Praze,
I. chirurgická klinika – břišní, hrudní a úrazová chirurgie

RNDr. Pavel Racek

Modřice u Brna

prof. MUDr. Jan Roth, CSc.

Univerzita Karlova v Praze, 1. lékařská fakulta UK
a Všeobecná fakultní nemocnice v Praze,
Neurologická klinika

prof. MUDr. Evžen Růžicka, DrSc.

Univerzita Karlova v Praze, 1. lékařská fakulta UK
a Všeobecná fakultní nemocnice v Praze,
Neurologická klinika

MUDr. Karel Řežábek

Univerzita Karlova v Praze, 1. lékařská fakulta UK
a Všeobecná fakultní nemocnice v Praze,
Gynekologicko-porodnická klinika

doc. MUDr. Eva Říhová, CSc.

Univerzita Karlova v Praze, 1. lékařská fakulta UK
a Všeobecná fakultní nemocnice v Praze, Oční klinika

MUDr. Jiří Sláma, Ph.D.

Univerzita Karlova v Praze, 1. lékařská fakulta UK
a Všeobecná fakultní nemocnice v Praze,
Gynekologicko-porodnická klinika

MUDr. Josef Stolz

Univerzita Karlova v Praze, 2. lékařská fakulta UK
a Fakultní nemocnice v Motole, Urologická klinika

doc. MUDr. Martin Stříteský, CSc.

Univerzita Karlova v Praze, 1. lékařská fakulta UK
a Všeobecná fakultní nemocnice v Praze,
Klinika anesteziologie, resuscitace a intenzivní medicíny

MUDr. Ivan Šebesta, CSc.

Univerzita Karlova v Praze, 1. lékařská fakulta UK
a Všeobecná fakultní nemocnice v Praze,
Ústav lékařské biochemie a laboratorní diagnostiky

prof. MUDr. Jan Škrha, DrSc.

Univerzita Karlova v Praze, 1. lékařská fakulta UK
a Všeobecná fakultní nemocnice v Praze,
III. interní klinika – klinika endokrinologie a metabolismu

prof. MUDr. Julius Špičák, CSc.

Institut klinické a experimentální medicíny, Praha,
Transplantcentrum, Klinika hepatogastroenterologie

MUDr. Sylvie Šťastná, CSc.

Univerzita Karlova v Praze, 1. lékařská fakulta UK
a Všeobecná fakultní nemocnice v Praze,
Ústav lékařské biochemie a laboratorní diagnostiky

prof. MUDr. Jan Štěpán, DrSc.

Univerzita Karlova v Praze, 1. lékařská fakulta UK,
Revmatologická klinika; Revmatologický ústav, Praha

prof. MUDr. Stanislav Štípek, DrSc.

Univerzita Karlova v Praze, 1. lékařská fakulta UK
a Všeobecná fakultní nemocnice v Praze,
Ústav lékařské biochemie a laboratorní diagnostiky

prof. MUDr. Jiří Štork, CSc.

Univerzita Karlova v Praze, 1. lékařská fakulta UK
a Všeobecná fakultní nemocnice v Praze,
Dermatovenerologická klinika

prof. MUDr. Vladimír Tesař, DrSc.

Univerzita Karlova v Praze, 1. lékařská fakulta UK
a Všeobecná fakultní nemocnice v Praze,
Klinika nefrologie

prof. MUDr. Eva Topinková, CSc.

Univerzita Karlova v Praze, 1. lékařská fakulta UK
a Všeobecná fakultní nemocnice v Praze,
Geriatrická klinika

MUDr. Jiří Valenta

Všeobecná fakultní nemocnice v Praze,
Klinika anesteziologie, resuscitace a intenzivní medicíny

prof. MUDr. Ivan Vaněk, DrSc.

Univerzita Karlova v Praze, 3. lékařská fakulta UK
a Fakultní nemocnice Královské Vinohrady,
Chirurgická klinika

prof. MUDr. Jiří Vencovský, DrSc.

Univerzita Karlova v Praze, 1. lékařská fakulta UK,
Revmatologická klinika;
Revmatologický ústav, Praha

prof. MUDr. Libor Vítek, Ph.D.

Univerzita Karlova v Praze, 1. lékařská fakulta UK
a Všeobecná fakultní nemocnice v Praze,
Ústav lékařské biochemie a laboratorní diagnostiky,
IV. interní klinika – klinika hepatologie
a gastroenterologie

MUDr. Libor Zámečník, Ph.D.

Univerzita Karlova v Praze, 1. lékařská fakulta UK
a Všeobecná fakultní nemocnice v Praze,
Urologická klinika

RNDr. Jiří Zadina, CSc.

Univerzita Karlova v Praze, 2. lékařská fakulta UK
a Fakultní nemocnice v Motole,
Ústav lékařské chemie a klinické biochemie

MUDr. Ing. David Zeman, Ph.D.

Ostravská univerzita v Ostravě, Lékařská fakulta
a Fakultní nemocnice Ostrava,
Ústav laboratorní diagnostiky,
Neurologická klinika

prof. MUDr. Jiří Zeman, DrSc.

Univerzita Karlova v Praze, 1. lékařská fakulta UK
a Všeobecná fakultní nemocnice v Praze,
Klinika dětského a dorostového lékařství

prof. MUDr. Aleš Žák, DrSc.

Univerzita Karlova v Praze, 1. lékařská fakulta UK
a Všeobecná fakultní nemocnice v Praze,
IV. interní klinika – klinika hepatologie
a gastroenterologie

prof. MUDr. Jaroslav Živný, DrSc.

Univerzita Karlova v Praze, 1. lékařská fakulta UK
a Všeobecná fakultní nemocnice v Praze,
Gynekologicko-porodnická klinika

Věnováno rodičům

Bio-Consult Laboratories spol.s r.o.
je přední česká distribuční firma,
která je na trhu od roku 1993
a specializuje se na dovoz
produktů z oblasti molekulární
biologie a genetiky pro vědu
a výzkum (Life Science)
i klinickou diagnostiku.



Bio Consult
LABORATORIES

věda & výzkum

www.bioconsult.cz

since 1993



Bio-Consult Laboratories spol. s r.o.,

Božejovická 145, 142 01 Praha 4 – Libuš

Tel./fax +420 244 471 239 • Tel./fax +420 241 729 792

www.bioconsult.cz

Obsah

AUTORSKÝ KOLEKTIVVII

PŘEDMLUVA PROFESORA

JAROSLAVA BLAHOŠE.....XXXIX

PŘEDMLUVA PROFESORA

VÁCLAVA PAČESAXLI

ÚVODXLI

1. OBECNÝ ÚVOD K LABORATORNÍMU VYŠETŘENÍ *Tomáš Zima, Květa Pelinková*

1.1.	Úvod.....	1
1.2.	Obecné charakteristiky metody	2
	■ Nejčastěji vyhodnocované výkonnostní parametry analytické metody/postupu měření	3
	■ Nejčastěji užívané pojmy	3
1.3.	Referenční hodnoty.....	4
1.4.	Laboratorní vyšetření	4
1.5.	Preanalytická část laboratorního vyšetření	5
1.5.1.	Biologické vlivy.....	5
1.5.2.	Odběr biologického materiálu.....	7
	■ Odběr krve.....	8
	■ Odběr ostatního biologického materiálu	9
1.5.3.	Separace a transport materiálu.....	10
1.5.4.	Skladování materiálu	10
1.6.	Systémy kvality v laboratoři	10
1.6.1.	Přístupy k zabezpečování kvality	11
1.7.	Indikace, riziko a účelnost vyšetření	12

2. LABORATORNÍ DIAGNOSTIKA V KARDIOLOGII

*Michael Aschermann, Aleš Linhart,
Helena Brodská*

2.1.	Laboratorní vyšetření užívaná v diagnostice hypertenze	13
2.2.	Laboratorní vyšetření užívaná v diagnostice aterosklerózy	13
2.2.1.	Nové biochemické markery využívané v diagnostice aterosklerózy věnčitých tepen	13
2.3.	Laboratorní vyšetření užívaná v diagnostice ischemické choroby srdeční.....	15
2.3.1.	Laboratorní ukazatele nekrózy myokardu	15
	■ Kreatinkináza	16
	■ Myoglobin	17
	■ Troponiny.....	17
	■ Natriuretický peptid typu B.....	19
	■ Heart fatty acid binding protein.....	19
	■ Karboanhydráza III	19
	■ Lehké řetězce myozinu	19
	■ Ischémií modifikovaný albumin	19
	■ Glykogenfosforyláza	19
	■ Plazmatická oxidáza	20
	■ C-reaktivní protein	20
	■ Aspartátaminotransferáza.....	21
	■ Laktátdehydrogenáza.....	21
2.3.2.	Strategie využití laboratorní testů u nemocných s bolestmi na hrudníku ...	21
2.3.3.	Stratifikace rizika v časně fázi akutních koronárních syndromů	22
2.4.	Laboratorní vyšetření užívaná při srdečním selhání	22
	■ Natriuretický peptid typu B.....	22
2.5.	Laboratorní vyšetření nemocných s plicní embolií	23
	■ D-dimery.....	24

	■ BNP, NT-proBNP.....	24
	■ Troponiny.....	24
	■ HFABP.....	24
2.6.	Laboratorní vyšetření užívaná v diagnostice infekčních onemocnění v kardiologii	24
2.6.1.	Infekční endokarditida	24
2.6.2.	Myokarditida.....	25
2.6.3.	Perikarditida	25
2.7.	Laboratorní vyšetření užívaná v angiologii.....	25

3. LABORATORNÍ DIAGNOSTIKA V PNEUMOLOGII

Jiří Homolka

3.1.	Úvod.....	27
3.1.1.	Laboratorní vyšetření v pneumologii	27
3.1.2.	Mykobakteriologická vyšetření	28
3.1.3.	Imunologická a alergologická vyšetření v pneumologii	28
3.1.4.	Bioptická vyšetření v pneumologii	28
3.1.5.	Izotopová vyšetření v pneumologii.....	28
3.1.6.	Analýza vydechaného vzduchu nebo kondenzátu vydechaného vzduchu....	29
3.2.	Diagnostické postupy u vybraných plicních chorob	30
3.2.1.	Tuberkulóza	30
3.2.2.	Bronchogenní karcinom.....	30
3.2.3.	Emfyzém při deficitu α_1 -antitrypsinu....	32
3.2.4.	Asthma bronchiale	32
3.2.5.	Chronická bronchitida a emfyzém	33
3.2.6.	Pleuritidy	34
3.2.7.	Sarkoidóza	35
3.2.8.	Kryptogenní fibrotizující alveolitida – idiopatická plicní fibróza	36
3.2.9.	Plicní alveolární proteinóza	37
3.2.10.	Idiopatická plicní hemosideróza	37

4. LABORATORNÍ DIAGNOSTIKA V HEMATOLOGII

*Jan Haber, Kristina Forsterová,
Pavel Klener jr., Jan Kvasnička,
Daniela Dušková, Lukáš Darebníček*

4.1.	Úvod.....	39
	<i>Jan Haber, Kristina Forsterová, Pavel Klener jr.</i>	
4.2.	Rutinní vyšetření periferního krevního obrazu	39
4.2.1.	Vyšetření krevního obrazu na automatických analyzátoch	39
4.2.2.	Vyšetření periferního krevního obrazu v mikroskopu	40

4.3.	Vyšetření kostní dřeně.....	41
4.3.1.	Metody odběru vzorku	41
	■ Aspirační punkce kostní dřeně	41
	■ Trepanobiopsie	42
4.3.2.	Cytologické vyšetření punktátu kostní dřeně (examination of bone marrow film)	42
4.3.3.	Histologické vyšetření kostní dřeně.....	42
4.4.	Speciální vyšetřovací metody	43
4.4.1.	Cytochemické vyšetření krevních buněk	43
4.4.2.	Cytogenetické a molekulárněbiologické vyšetření buněk kostní dřeně.....	44
	■ Cytogenetické vyšetření	44
	■ Metody molekulárněbiologické	45
4.4.3.	Imunofenotypizace	46
4.4.4.	Kultivace hematopoetických buněk <i>in vitro</i>	47
4.5.	Vyšetření jednotlivých krevních řad.....	47
4.5.1.	Červený krevní obraz.....	48
	■ Algoritmus diagnostického postupu u hypoproliferativních anémií.....	48
	■ Vypočítané hodnoty červeného krevního obrazu	50
	■ Retikulocytární index	50
	■ Stav železa v organismu.....	50
	■ Vyšetřovací možnosti ke zjištění stavu železa v organismu.....	52
	■ Hemolytické anémie – vyšetřovací možnosti, algoritmus	53
	■ Přímý antiglobulinový test.....	54
	■ Nepřímý antiglobulinový test.....	54
	■ Haptoglobiny	54
	■ ADAMTS13	55
	■ Testy, které se při podezření na hemolytickou anémii rutinně nevyšetřují.....	56
	■ Zvýšený počet erytrocytů.....	56
4.5.2.	Bílá krevní řada	57
	■ Leukocytóza.....	57
	■ Leukemoidní reakce	57
	■ Leukopenie	58
	■ Pancytopenie	58
4.6.	Algoritmus vyšetření u vybraných hematologických malignit.....	58
4.6.1.	Lymfoproliferace	58
	■ Diagnostický algoritmus u maligních lymfomů	58
	■ Diagnostický algoritmus u chronické lymfatické leukémie	60
	■ Diagnostický algoritmus u mnohočetného myelomu	62
	■ Monoklonální gamapatie nejasného významu	63
4.6.2.	Myeloproliferace.....	65

■ Ph-negativní myeloproliferativní neoplazie	65	■ Techniky vyšetření krevních skupin v AB0, antigenu D (RhD) a screeningu nepravidelných antierytrocytárních protilátek	84
■ Kritéria pro diagnózu myelodysplastického syndromu.....	66	■ Předtransfuzní vyšetření u autologních transfuzních přípravků.....	85
4.7. Vyšetření hemostázy a hemokoagulace. 67		■ Přímý antiglobulinový test a typické nálezy u vybraných klinických stavů.....	85
<i>Jan Kvasnička</i>		■ Další imunohematologická vyšetření	85
4.7.1. Koagulační faktory.....	68	■ Molekulárněgenetická vyšetření v transfuzním lékařství	86
■ Protrombin	68	■ Laboratorní vyšetření nežádoucí reakce po transfuzi.....	86
■ Fibrinogen.....	68		
■ Von Willebrandův faktor	69		
4.7.2. Inhibitory koagulačních faktorů	69		
■ Inhibitory serinových proteáz	69		
■ Inhibitory kofaktorů koagulačních faktorů	70		
4.7.3. Fibrinolytický systém.....	70		
4.7.4. Testy používané k vyšetření hemostázy, koagulace a fibrinolýzy	71		
■ Testy primární hemostázy	71		
■ Hemokoagulační testy.....	74		
■ Vyšetření fibrinolýzy.....	76		
■ Vyšetření inhibitorů krevního srážení.....	77		
4.7.5. Vyšetřovací algoritmus některých významných krvácivých nebo trombofilních stavů.....	78		
■ Diseminovaná intravaskulární koagulace.....	78		
■ Antifosfolipidový syndrom.....	78		
■ Hyperhomocysteinémie.....	79		
■ Genetické testy doporučené k stanovení dědičné trombofilie.....	79		
4.7.6. Změny v periferním krevním obraze po splenektomii	80		
4.8. Laboratorní vyšetření v transfuzním lékařství.....	80		
<i>Daniela Dušková, Lukáš Darebníček</i>			
4.8.1. Úvod.....	80		
4.8.2. Laboratorní vyšetření dárce krve a krevních složek	80		
■ Vyšetření krevního obrazu	80		
■ Imunohematologická vyšetření dárců krve a krevních složek.....	81		
■ Techniky vyšetření krevních skupin v AB0, antigenu D (RhD) a screeningu nepravidelných antierytrocytárních protilátek	82		
■ Vyšetření infekčních markerů u dárců krve a krevních složek.....	82		
■ Kontrola kvality transfuzních přípravků.....	83		
4.8.3. Předtransfuzní laboratorní vyšetření.....	83		
■ Standardní předtransfuzní laboratorní vyšetření	83		
		5. LABORATORNÍ DIAGNOSTIKA V GASTROENTEROLOGII	
		<i>Julius Špičák, Jan Martínek, Petr Kocna, Milan Lukáš</i>	
	5.1.	Diagnostika <i>Helicobacter pylori</i>	89
	5.1.1.	Neinvazivní metody	89
		■ Sérologické vyšetření.....	89
		■ Průkaz antigenu <i>H. pylori</i> ve stolici... ..	90
		■ Dechový test	91
	5.1.2.	Invazivní metody.....	92
		■ Histologické vyšetření	92
		■ Rychlý ureázový test	92
		■ Mikrobiologické vyšetření.....	93
		■ Metody molekulární biologie.....	93
	5.2.	Vyšetření žaludeční sekrece a laboratorní diagnostika Zollingerova-Ellisonova syndromu	94
	5.2.1.	Měření výdeje kyseliny chlorovodíkové	94
	5.2.2.	Kvalitativní vyšetření sekrece kyseliny	94
	5.2.3.	Laboratorní diagnostika Zollingerova-Ellisonova syndromu	95
		■ Stanovení koncentrace gastrinu.....	95
		■ Sekretinový test	95
	5.3.	Diagnostika idiopatických střevních zánětů	95
	5.3.1.	Sérologické ukazatele zánětlivé aktivity IBD	96
	5.3.2.	Fekální markery	97
	5.3.3.	Stanovení aktivity ulcerózní kolitidy kombinovanými indexy.....	97
	5.3.4.	Stanovení aktivity Crohnovy nemoci	98
	5.3.5.	Diagnóza a diferenciální diagnóza u zánětlivých střevních onemocnění	99

5.4.	Diagnostika malabsorpčního syndromu	99	6.3.2.	Testy odrážející poruchy na úrovni žlučových a kanálků jaterní buňky	119
5.4.1.	Stanovení tuku ve stolici	100	■	Alkalická fosfatáza	119
5.4.2.	Malabsorpce žlučových kyselin	101	■	Gama-glutamyltransferáza	120
5.4.3.	Xylózový test	101	■	5-nukleotidáza	121
5.4.4.	Laktózový test	101	■	Ostatní enzymy	121
5.4.5.	Vyšetření absorpce vitamínu B ₁₂ (Schillingův test)	101	6.3.3.	Testy měřící syntetickou činnost jater	121
5.4.6.	Celiakie	101	■	Albumin	121
5.4.7.	Speciální vyšetření střevní funkce	103	■	Prealbumin	121
5.5.	Screening kolorektálního karcinomu ..	103	■	Změny γ-globulinů	121
5.6.	Vyšetření zevně sekretorické funkce pankreatu	105	■	Koagulační faktory	121
5.6.1.	Vyšetření s duodenální intubací	105	■	Plazmatické lipidy a lipoproteiny	122
5.6.2.	Orální funkční testy	105	6.3.4.	Analyty měřící transportní a exkreční kapacitu jater	123
5.6.3.	Enzymy ve stolici	106	■	Bilirubin	123
5.6.4.	Dechové testy	106	■	Delta-bilirubin	124
5.6.5.	Endokrinní testy	106	■	Urobilinogen	124
5.6.6.	MR cholangiopankreatografie po stimulaci	106	■	Žlučové kyseliny	125
5.6.7.	Souhrnné zhodnocení funkčních testů	106	6.3.5.	Testy měřící schopnost a kapacitu jater metabolizovat endogenní i xenogenní látky	125
5.7.	Laboratorní diagnostika akutní pankreatitidy	107	■	Amoniak	125
5.7.1.	Laboratorní vyšetření	107	■	Karbohydrát-deficientní transferrin	126
■	Nespecifická laboratorní vyšetření	107	■	Dynamické testy	126
■	Specifické laboratorní metody	107	6.3.6.	Biochemická vyšetření u vybraných jaterních chorob	129
5.7.2.	Laboratorní určení etiologie pankreatitidy	109	■	Hemochromatóza	129
5.7.3.	Stanovení tíže pankreatitidy (»staging«)	109	■	Wilsonova choroba	129
■	Klinická kritéria	109	■	Hepatocelulární karcinom	129
■	Multifaktoriální systémy	109	■	Porfyrie	129
■	Jednoduchá laboratorní kritéria	110	■	Jaterní fibróza a cirhóza	130
■	Cytokiny	112	6.4.	Imunologická a sérologická diagnostika hepatitid	130
■	Peritoneální laváž	112	6.4.1.	Hepatitida A	130
■	Zobrazovací metody	112	6.4.2.	Hepatitida B	131
			6.4.3.	Hepatitida C	132
			6.4.4.	Hepatitida D	133
			6.4.5.	Hepatitida E	133
			6.5.	Vyšetření nespecifických protilátek v diagnostice jaterních onemocnění	133
			6.6.	Doporučené vyšetřovací postupy u abnormálních laboratorních nálezů	134
			■	Izolované zvýšení aminotransferáz	134
			■	Izolované zvýšení γ-glutamyltransferázy	134
			■	Zvýšení alkalické fosfatázy	134
			■	Zvýšení bilirubinu	134
			■	Mírná difúzní abnormalita jaterních testů	135
			■	Akutní hepatitida	135
			■	Chronická hepatitida	135

6. LABORATORNÍ DIAGNOSTIKA V HEPATOLOGII

Libor Vitek, Zdeněk Mareček

6.1.	Úvod	115
6.2.	Základní funkce jater	115
6.2.1.	Metabolismus jater za patologických podmínek	116
■	Poruchy metabolismu sacharidů	116
■	Poruchy metabolismu lipidů	116
■	Poruchy metabolismu bílkovin	116
■	Poruchy biotransformačních a detoxifikačních funkcí jater	116
6.3.	Biochemická vyšetření	117
6.3.1.	Testy odrážející poškození hepatocytů ..	118
■	Aminotransferázy	118
■	Další enzymové markery	119

7. LABORATORNÍ DIAGNOSTIKA V NEFROLOGII

Vladimír Tesař

7.1.	Úvod.....	137
7.1.1.	Anatomické a fyziologické poznámky.....	137
7.1.2.	Patofyziologie ledvin a základní klinické jednotky.....	137
7.2.	Vyšetřovací metody u nemocí ledvin	141
7.2.1.	Chemické vyšetření moči a mikroskopické vyšetření močového sedimentu.....	141
	■ Objektivní a fyzikální vyšetření moči	141
	■ Chemické vyšetření diagnostickými proužky.....	143
	■ Mikroskopické vyšetření močového sedimentu	144
7.2.2.	Vyšetření proteinurie	145
7.2.3.	Vyšetření funkce ledvin.....	148
	■ Vyšetření glomerulární filtrace	148
	■ Vyšetření tubulárních funkcí	151
7.2.4.	Imunologická vyšetření.....	152
7.2.5.	Zobrazovací metody	153
7.2.6.	Renální biopsie	154
7.2.7.	Vyšetření urolitiázy	156

8. PORUCHY METABOLISMU SACHARIDŮ A DIABETES MELLITUS

Jan Škrha

8.1.	Charakteristika sacharidů	159
8.2.	Syndrom hypoglykémie.....	159
8.2.1.	Diagnostika hypoglykémie	160
8.3.	Syndrom hyperglykémie	161
8.3.1.	Screening diabetu	161
8.3.2.	Monitorování diabetu.....	162
8.4.	Používané analyty.....	162
8.4.1.	Stanovení glukózy – glykémie	162
8.4.2.	Glykemický profil.....	163
8.4.3.	Glykosurie	164
8.4.4.	Fruktosamin.....	164
8.4.5.	Glykovaný hemoglobin	164
8.4.6.	Další metody používané v diabetologii.....	164
	■ Albuminurie	164
	■ Inzulin	164
	■ C-peptid a glukagonový test.....	165
	■ Vyšetření parametrů autoimunity ...	165
	■ Vyšetření sdružené autoimunity	165
	■ HLA typizace.....	165

■ Genetické vyšetření při monogenní formě diabetes mellitus	165
Vyšetření funkce B-buněk a působení inzulínu.....	166
Orální glukózový toleranční test	166
Intravenózní glukózový toleranční test	166
Hyperinzulinemické clampy.....	166
Závěr	167

9. PORUCHY METABOLISMU LIPIDŮ A LIPOPROTEINŮ

Aleš Žák

9.1.	Charakteristika a struktura lipidů a lipoproteinů	169
9.1.1.	Lipidy	169
9.1.2.	Mastné kyseliny	170
9.1.3.	Triacylglyceroly	173
9.1.4.	Glycerolfosfolipidy	174
9.1.5.	Sfingolipidy	174
9.1.6.	Cholesterol	174
9.1.7.	Lipoproteiny.....	174
	■ Změny koncentrace a složení lipoproteinů za chorobných stavů....	176
9.1.8.	Apolipoproteiny.....	177
9.2.	Poruchy metabolismu lipidů, hyperlipoproteinémie, dyslipoproteinémie	180
9.2.1.	Definice	180
9.2.2.	Klasifikace dyslipidemií	181
9.2.3.	Primární dyslipidémie s izolovaným zvýšením cholesterolu	182
	■ Familiární hypercholesterolemie	182
	■ Familiární defekt apolipoproteinu B-100.....	183
	■ Autosomálně dominantní hypercholesterolemie.....	183
	■ Autosomálně recesivní hypercholesterolemie.....	183
	■ Sitosterolemie	183
	■ Wolmanova choroba a nemoc ze strádání esterů cholesterolu	183
	■ Deficience 7- α -hydroxylázy cholesterolu.....	184
	■ Polygenní hypercholesterolemie	184
9.2.4.	Primární smíšené dyslipidémie.....	184
	■ Familiární kombinovaná hyperlipidémie	184
	■ Familiární dys- β -lipoproteinémie ...	185
	■ Deficience jaterní lipázy.....	185
9.2.5.	Primární dyslipidémie s hypertriacylglycerolémií.....	185
	■ Familiární hypertriacylglycerolemie	185

■ Idiopatická malabsorpce žlučových kyselin..... 186 ■ Familiární chylomikronémie..... 186 9.2.6. Familiární dyslipidémie s nízkým LDL-cholesterolem..... 187 ■ Familiární hypo-β-lipoproteinémie..... 187 ■ Kongenitální α-β-lipoproteinémie... 187 9.2.7. Vrožené syndromy postihující lipoproteiny HDL 187 ■ Deficience apoA-I a strukturní mutace apoA-I..... 187 ■ Tangierská choroba..... 188 ■ Familiární deficience lecitin:cholesterolacyltransferázy..... 188 ■ Deficience transferového proteinu esterů cholesterolu a familiární hyper-α-cholesterolémie 188 9.2.8. Varianty apolipoproteinu E..... 188 ■ Varianta apolipoproteinu E-4..... 189 ■ Varianta apolipoproteinu E-2..... 189 9.2.9. Hyperlipoproteinémie(a) 189 9.2.10. Aterogenní lipoproteinový fenotyp..... 191 9.3. Význam stanovení jednotlivých analytů u poruch metabolismu lipidů a lipoproteinů..... 191 9.3.1. Odběr krve a skladování materiálu..... 192 9.3.2. Vzhled vzorku..... 193 9.3.3. Chylomikronový test 193 9.3.4. Celkový cholesterol 193 9.3.5. Triacylglyceroly 193 9.3.6. Fosfolipidy..... 194 9.3.7. HDL-cholesterol 194 9.3.8. Stanovení subfrakcí HDL₂ a HDL₃..... 194 9.3.9. LDL-cholesterol..... 194 ■ Výpočet LDL-cholesterolu podle Friedewalda..... 195 ■ Výpočet LDL-cholesterolu při vysokých koncentracích Lp(a) nad 0,3 g/l..... 195 ■ Imunochemická separace LDL..... 195 ■ Ultracentrifugační analýza 195 ■ Přímé stanovení LDL-cholesterolu.. 195 9.3.10. Malé denzní LDL..... 195 9.3.11. Non-HDL-cholesterol..... 196 9.3.12. Elektroforéza lipoproteinů 196 9.3.13. Stanovení koncentrace částic LP:A-I ... 198 9.3.14. Stanovení apolipoproteinů..... 198 ■ Stanovení apolipoproteinu B..... 198 ■ Stanovení apolipoproteinu A-I..... 199 ■ Stanovení apolipoproteinu A-II 199 ■ Stanovení lipoproteinu(a) 199 ■ Stanovení apolipoproteinů C-II, C-III a E..... 200 9.3.15. Nukleární magnetická rezonanční spektroskopie lipoproteinů 200	9.3.16. Molekulárněbiologické metody..... 200 ■ Stanovení variant apolipoproteinu E 200 ■ Stanovení familiárního defektu apolipoproteinu B-100 200 ■ Stanovení mutací v oblasti LDL receptoru 201 ■ Přímá diagnostika..... 201 ■ Nepřímá diagnostika 201 9.4. Vyšetřování krevních lipidů a lipoproteinů..... 201 9.4.1. Koncepte rizikových faktorů 202 9.4.2. Stanovení kardiovaskulárního rizika ... 203 9.4.3. Algoritmus vyšetření lipidů, apolipoproteinů a lipoproteinů 204
10. HYPERHOMOCYSTEINÉMIE <i>Aleš Žák</i>	
9.3.1. Odběr krve a skladování materiálu..... 192 9.3.2. Vzhled vzorku..... 193 9.3.3. Chylomikronový test 193 9.3.4. Celkový cholesterol 193 9.3.5. Triacylglyceroly 193 9.3.6. Fosfolipidy..... 194 9.3.7. HDL-cholesterol 194 9.3.8. Stanovení subfrakcí HDL₂ a HDL₃..... 194 9.3.9. LDL-cholesterol..... 194 ■ Výpočet LDL-cholesterolu podle Friedewalda..... 195 ■ Výpočet LDL-cholesterolu při vysokých koncentracích Lp(a) nad 0,3 g/l..... 195 ■ Imunochemická separace LDL..... 195 ■ Ultracentrifugační analýza 195 ■ Přímé stanovení LDL-cholesterolu.. 195 9.3.10. Malé denzní LDL..... 195 9.3.11. Non-HDL-cholesterol..... 196 9.3.12. Elektroforéza lipoproteinů 196 9.3.13. Stanovení koncentrace částic LP:A-I ... 198 9.3.14. Stanovení apolipoproteinů..... 198 ■ Stanovení apolipoproteinu B..... 198 ■ Stanovení apolipoproteinu A-I..... 199 ■ Stanovení apolipoproteinu A-II 199 ■ Stanovení lipoproteinu(a) 199 ■ Stanovení apolipoproteinů C-II, C-III a E..... 200 9.3.15. Nukleární magnetická rezonanční spektroskopie lipoproteinů 200	10.1. Homocystein..... 209 10.1.1. Úvod 209 10.1.2. Názvosloví, struktura a výskyt..... 209 10.1.3. Metabolismus homocysteinu..... 209 10.1.4. Regulace metabolismu homocysteinu a jeho extracelulární transport 211 10.1.5. Odběr materiálu a způsoby stanovení..... 211 10.1.6. Genetické vyšetření..... 212 10.2. Hyperhomocysteinémie 212 10.2.1. Definice, diagnostika a příčiny 212 10.2.2. Hyperhomocysteinémie a riziko kardiovaskulárních onemocnění..... 213 10.2.3. Hyperhomocysteinémie a další onemocnění 214 10.2.4. Patogenní působení hyperhomocysteinémie 214
11. LABORATORNÍ DIAGNOSTIKA V ENDOKRINOLOGII <i>Josef Marek</i>	
9.3.1. Odběr krve a skladování materiálu..... 192 9.3.2. Vzhled vzorku..... 193 9.3.3. Chylomikronový test 193 9.3.4. Celkový cholesterol 193 9.3.5. Triacylglyceroly 193 9.3.6. Fosfolipidy..... 194 9.3.7. HDL-cholesterol 194 9.3.8. Stanovení subfrakcí HDL₂ a HDL₃..... 194 9.3.9. LDL-cholesterol..... 194 ■ Výpočet LDL-cholesterolu podle Friedewalda..... 195 ■ Výpočet LDL-cholesterolu při vysokých koncentracích Lp(a) nad 0,3 g/l..... 195 ■ Imunochemická separace LDL..... 195 ■ Ultracentrifugační analýza 195 ■ Přímé stanovení LDL-cholesterolu.. 195 9.3.10. Malé denzní LDL..... 195 9.3.11. Non-HDL-cholesterol..... 196 9.3.12. Elektroforéza lipoproteinů 196 9.3.13. Stanovení koncentrace částic LP:A-I ... 198 9.3.14. Stanovení apolipoproteinů..... 198 ■ Stanovení apolipoproteinu B..... 198 ■ Stanovení apolipoproteinu A-I..... 199 ■ Stanovení apolipoproteinu A-II 199 ■ Stanovení lipoproteinu(a) 199 ■ Stanovení apolipoproteinů C-II, C-III a E..... 200 9.3.15. Nukleární magnetická rezonanční spektroskopie lipoproteinů 200	11.1. Úvod..... 217 11.2. Hypofýza 217 11.2.1. Technika vyšetřování hypofyzárních hormonů..... 217 11.2.2. Přehled vyšetřovaných hypofyzárních hormonů..... 217 11.2.3. Klinický význam jednotlivých hormonálních vyšetření 218 ■ Růstový hormon..... 218 ■ Inzulinu podobný růstový faktor a jeho vazebné proteiny 219 ■ Prolaktin..... 219 ■ Adrenokortikotropní hormon..... 220

■ Thyreotropní hormon.....	220	■ Hyperkalcémie	
■ Gonadotropiny – folikulostimulační hormon a luteinizační hormon	220	■ při hypervitaminóze D	237
11.2.4. Hypofunkce hypofýzy.....	221	■ Hypoparathyreóza.....	237
■ Vyšetřování snížené funkce somatotropní osy	221	■ Pseudohypoparathyreóza.....	238
■ Vyšetřování centrálního hypokortizolismu	222	■ Sekundární hyperparathyreóza.....	238
■ Vyšetřování centrální hypothyreózy	223	11.5. Kúra nadledvin	238
■ Vyšetřování centrální hypogonadismu.....	224	11.5.1. Přehled vyšetřovaných hormonů	238
■ Laboratorní vyšetření nemocných s centrálním diabetes insipidus.....	224	11.5.2. Klinický význam jednotlivých laboratorních vyšetření.....	238
11.2.5. Hypofyzární hyperfunkce	225	■ Kortizol.....	238
■ Vyšetřování zvýšené sekrece prolaktinu.....	225	■ Aldosteron a plazmatická reninová aktivita.....	240
■ Vyšetřování zvýšené sekrece růstového hormonu	227	11.5.3. Laboratorní postupy u jednotlivých onemocnění	240
11.2.6. Laboratorní vyšetření autoprotiláték u hypofyzární hypofunkce	228	■ Cushingův syndrom	240
11.3. Štítná žláza.....	228	■ Laboratorní diagnostika hypertenze podmíněné systémem renin-angiotenzin-aldosteron	244
11.3.1. Přehled základních laboratorních vyšetření v diagnostice onemocnění štítné žlázy	228	■ Laboratorní diagnostika kongenitální nadledvinové hyperplazie.....	246
11.3.2. Klinický význam jednotlivých laboratorních vyšetření v diagnostice chorob štítné žlázy.....	228	■ Laboratorní diagnostika primárního hypokortikalismu	248
■ Supersenzitivní thyreotropin.....	228	■ Laboratorní vyšetření autoprotiláték u primárního hypokortikalismu	249
■ Thyroxin	229	11.6. Dřeň nadledvin.....	249
■ Trijodthyronin.....	230	11.6.1. Feochromocytom a paragangliom	249
■ Autoprotilátky	230	■ Přehled vyšetřovaných hormonů v diagnostice feochromocytomu a paragangliomu.....	249
■ Thyreoglobulin	231	■ Klinický význam jednotlivých laboratorních vyšetření	250
■ Vazebný globulin pro thyroxin.....	231	■ Laboratorní postupy při vyšetřování feochromocytomu ..	252
■ Kalcitonin.....	231	■ Genetické vyšetření při feochromocytomu.....	252
11.3.3. Molekulárněgenetické vyšetření.....	232	11.6.2. Hypofunkce dřeně nadledvin	253
11.3.4. Laboratorní postupy u jednotlivých onemocnění štítné žlázy	232	11.7. Gonády	253
■ Vyšetření funkce štítné žlázy	232	11.7.1. Přehled vyšetřovaných hormonů a jejich metabolitů při vyšetřování gonád	253
■ Vyšetření strumy	233	11.7.2. Klinický význam jednotlivých laboratorních vyšetření při vyšetřování gonadální funkce u mužů.....	253
■ Hyperthyreóza.....	233	■ Testosteron.....	253
■ Hypothyreóza	233	■ Estrogeny.....	255
■ Záněty štítné žlázy	234	11.7.3. Laboratorní postupy při vyšetřování hypogonadismu u mužů.....	255
11.4. Příštítná tělíska	234	11.7.4. Klinický význam laboratorních vyšetření při vyšetřování ovaríí.....	255
11.4.1. Přehled vyšetřovaných laboratorních ukazatelů.....	234	■ Estrogeny.....	255
11.4.2. Klinický význam jednotlivých laboratorních vyšetření.....	234	■ Progesteron	256
■ Parathormon.....	234	■ Androgeny	256
■ Peptid podobný PTH.....	236	11.7.5. Laboratorní postupy při vyšetřování endokrinologických onemocnění ovaríí	256
■ Vitamin D	236	■ Poruchy menstruačního cyklu	256
11.4.3. Laboratorní postupy při vyšetřování poruch kalciového metabolismu	236		
■ Primární hyperparathyreóza	236		
■ Hyperkalcémie při maligních onemocněních	237		

	■ Hirsutismus a virilizace.....	258
11.8.	Hormonálně aktivní nádory gastrointestinálního traktu a pankreatu.....	259
11.8.1.	Přehled vyšetřovaných hormonů u hormonálně aktivních nádorů gastrointestinálního traktu a pankreatu.....	259
11.8.2.	Laboratorní postupy při diagnostice jednotlivých nádorů.....	260
	■ Karcinoid.....	260
	■ Inzulinom.....	261
	■ Gastrinom.....	261
	■ Glukagonom.....	262
	■ Vipom.....	262
	■ Somatostatinom.....	262
	■ Grelinom.....	262

12. LABORATORNÍ DIAGNOSTIKA KOSTNÍHO METABOLISMU

Jan Štěpán

	■ Hirsutismus a virilizace.....	258		■ Zlomeniny.....	278
11.8.	Hormonálně aktivní nádory gastrointestinálního traktu a pankreatu.....	259		■ Těhotenství a kojení.....	279
11.8.1.	Přehled vyšetřovaných hormonů u hormonálně aktivních nádorů gastrointestinálního traktu a pankreatu.....	259		■ Antikoncepce.....	279
11.8.2.	Laboratorní postupy při diagnostice jednotlivých nádorů.....	260		■ Léky (jiné než antiresorpční).....	279
	■ Karcinoid.....	260		■ Nespecifické ovlivnění kostních markerů.....	279
	■ Inzulinom.....	261		■ Imobilizace.....	279
	■ Gastrinom.....	261		■ Cirkadiánní rytmy	279
	■ Glukagonom.....	262		■ Menstruační cyklus.....	280
	■ Vipom.....	262		■ Roční cykly	280
	■ Somatostatinom	262		■ Několikaleté cykly.....	281
	■ Grelinom.....	262		■ Strava	281
				■ Cvičení.....	281
			12.3.	Vyšetření minerálů v séru a v moči jako ukazatelů poruch kostního metabolismu.....	281
			12.3.1.	Vápník v séru	281
			12.3.2.	Anorganické fosfáty v séru.....	284
			12.3.3.	Biominalizace kosti.....	285
			12.3.4.	Hořčík v séru.....	285
			12.3.5.	Vylučování vápníku močí.....	286
			12.3.6.	Vylučování fosfátů močí.....	286
			12.4.	Vyšetření osteotropních hormonů.....	286
			12.4.1.	Parathormon.....	287
			12.4.2.	Protein podobný parathormonu (PTHrP).....	287
			12.4.3.	Kalcidiol.....	288
			12.4.4.	Kalcitriol.....	288
			12.4.5.	Kalcitonin.....	289
			12.4.6.	Fibroblastový růstový faktor 23 (FGF23)	289
			12.4.7.	Lokální působky	290
			12.5.	Významné klinické nozologické jednotky.....	290
			12.5.1.	Postmenopauzální osteoporóza.....	290
				■ Výpověď biochemických markerů o rychlosti úbytku kostní hmoty.....	291
				■ Výpověď biochemických markerů o riziku zlomenin.....	292
				■ Výpověď markerů při monitorování antiresorpční léčby osteoporózy	293
				■ Výpověď markerů o ovlivnění rizika zlomeniny antiresorpční léčbou osteoporózy.....	295
				■ Výpověď markerů při monitorování anabolické léčby osteoporózy	295
			12.5.2.	Osteoporóza u mužů.....	295
			12.5.3.	Osteoporóza indukovaná glukokortikoidy	296
			12.5.4.	Rachitida.....	296
			12.5.5.	Osteomalacie.....	298
			12.5.6.	Poruchy sekrece parathormonu	300
			12.5.7.	Kostní choroba při nevratném selhání ledvin	300
			12.5.8.	Pagetova kostní choroba.....	301

12.	LABORATORNÍ DIAGNOSTIKA KOSTNÍHO METABOLISMU <i>Jan Štěpán</i>	
12.1.	Charakteristika systému.....	263
12.1.1.	Složení kosti	263
12.1.2.	Funkce kosti	263
12.1.3.	Remodelace kosti.....	264
	■ Osteocyty	264
	■ Osteoklasty.....	265
	■ Osteoblasty.....	266
12.2.	Vyšetření biochemických markerů kostní remodelace	267
12.2.1.	Biochemické markery kostní remodelace	268
	■ S-osteokalcin	268
12.2.2.	Biochemické markery kostní novotvorby	269
	■ S-kostní alkalická fosfatáza.....	270
	■ Propeptidy prokolagenu typu I.....	271
12.2.3.	Biochemické markery osteoklastů a kostní resorpce.....	272
	■ Telopeptidy kolagenu typu I.....	272
	■ Pyridinolinové příčné spojky kolagenu v moči a v séru.....	274
	■ Kostní sialoprotein.....	275
	■ U-hydroxyprolin	275
	■ U-glykosidy hydroxylyzinu (Gal-Hyl a Glc-Gal-Hyl)	276
	■ Osteoklastická (tartarát-rezistentní) kyselá fosfatáza	276
12.2.4.	Vyšetření biochemických markerů kostní remodelace – preanalytické faktory.....	276
	■ Věk (puberta, menopauza)	277
	■ Pohlaví.....	277
	■ Etnické a geografické vlivy.....	278

12.5.9.	Sklerotizující postižení skeletu	301
12.5.10.	Metastatické nádorové postižení skeletu	301
12.5.11.	Geneticky podmíněné poruchy kolagenu I. typu	302

13. LABORATORNÍ DIAGNOSTIKA V REVματοLOGII

*Karel Pavelka, Helena Dejmková,
Jiří Zadina, Jiří Vencovský,
Olga Kryštůfková*

13.1.	Laboratorní metody u onemocnění indukovaných krystaly.....	305
	<i>Karel Pavelka</i>	
13.1.1.	Hyperurikémie, dna.....	305
13.1.2.	Další onemocnění indukovaná krystaly	309
13.2.	Laboratorní diagnostika spondylartropatií.....	310
	<i>Helena Dejmková</i>	
13.2.1.	Reaktivní artritida	310
13.2.2.	Septické revmatické procesy	312
	■ Bakteriální artritida negonokoková	312
	■ Bakteriální artritida gonokoková.....	313
	■ Lymeská artritida	313
	■ Osteoartikulární tuberkulóza	314
	■ Virové artritidy	315
13.3.	Vyšetření kloubní tekutiny a detekce krystalů	315
	<i>Jiří Zadina</i>	
13.4.	Laboratorní diagnostika u systémových revmatických onemocnění.....	317
	<i>Jiří Vencovský</i>	
13.4.1.	Úvod.....	317
13.4.2.	Autoprotilátky.....	318
	■ Antinukleární protilátky	319
	■ Revmatoidní faktory a antifilagrinové protilátky.....	321
	■ Protilátky proti cytoplazmě neutrofilních leukocytů.....	321
	■ Antifosfolipidové protilátky.....	321
13.4.3.	Přehled laboratorních vyšetření u systémových onemocnění.....	322
	■ Revmatoidní artritida.....	322
	■ Systémový lupus erythematoses.....	322
	■ Antifosfolipidový syndrom.....	325
	■ Systémová sklerodermie	325
	■ Polymyozitida a dermatomyozitida	326
	■ Sjögrenův syndrom.....	327
	■ Smíšené onemocnění pojiva.....	327
	■ Vaskulitidy	327

13.5.	Laboratorní diagnostika u systémových vaskulitid.....	327
	<i>Olga Kryštůfková</i>	
13.5.1.	Laboratorní vyšetření	328
13.5.2.	Hematologické vyšetření	329
	■ Sedimentace erytrocytů	329
	■ Krevní obraz a diferenciální rozpočet bílých krvinek.....	329
13.5.3.	Biochemické vyšetření.....	330
13.5.4.	Imunologické vyšetření	330
	■ Imunoglobuliny.....	330
	■ Kryoglobuliny.....	330
	■ Vyšetření komplementového systému a cirkulujících imunokomplexů	330
	■ Autoprotilátky	331
	■ Imunofenotypizace lymfocytů	333
13.5.5.	Mikrobiologické vyšetření	333

14. VNITŘNÍ PROSTŘEDÍ

Antonín Kazda

14.1.	Definice, funkce a význam sledování ..	335
14.2.	Tělesná voda.....	336
14.3.	Osmolalita	338
14.3.1.	Měření a výpočet osmolality (osmolal gap)	339
	■ Předpoklady hodnocení poruch vodního a iontového metabolismu..	339
14.4.	Iontové dysbalance.....	339
14.4.1.	Efektivní osmolalita a její regulace.....	339
14.4.2.	Sodný ion.....	341
	■ Hyponatrémie.....	341
	■ Hypernatrémie	343
14.4.3.	Efektivní osmolalita a funkce ledvin....	344
14.4.4.	Poruchy efektivní osmolality u postižení mozku	345
	■ Hyponatrémie.....	345
	■ Hypernatrémie	347
14.4.5.	Chloridový ion.....	349
14.4.6.	Draselný ion	350
	■ Hypokalcémie.....	351
	■ Hyperkalémie	352
14.4.7.	Hořčnatý ion	353
	■ Hypomagnezémie	354
	■ Hypermagnezémie.....	354
14.4.8.	Kalcium.....	355
	■ Hypokalcémie.....	355
	■ Hyperkalcémie	356
14.4.9.	Fosfáty.....	357
	■ Hypofosfatémie	357
	■ Hyperfosfatémie.....	358
14.5.	Acidobazická rovnováha	358
14.5.1.	Stálost pH, nárazníkové systémy	359
14.5.2.	Vývoj acidobazických poruch.....	360

14.5.3.	Vztahy mezi iontovými systémy a acidobazickou rovnováhou	361
14.5.4.	Metabolická acidóza.....	365
14.5.5.	Metabolická alkalóza	366
	■ Metabolická alkalóza ze zvýšení difference silných iontů....	367
	■ Metabolická alkalóza ze snížení netěkavých slabých kyselin	368
14.5.6.	Respirační acidóza.....	370
14.5.7.	Respirační alkalóza.....	370
14.5.8.	Smišené poruchy	371
14.6.	Kyslíkové parametry	372
14.6.1.	Parciální tlak kyslíku.....	372
14.6.2.	Saturace hemoglobinu kyslíkem.....	372
14.6.3.	Koncentrace kyslíku v krvi.....	373
14.6.4.	pH a pCO ₂ žaludeční sliznice a sublingvální.....	373
14.7.	Laktát	374
	■ Nové názory na zvýšení laktátu v kritických stavech.....	375
14.8.	Celková bílkovina, albumin	375

15. REAKTIVNÍ FORMY KYSLÍKU A DUSÍKU A ANTIOXIDAČNÍ SYSTÉMY

Tomáš Zima, Marta Kalousová

15.1.	Úvod.....	379
15.2.	Prooxidanty a antioxidanty	379
	■ Prooxidanty	379
	■ Antioxidanty.....	382
15.3.	Metody detekce poškození organismu volnými radikály	383
15.3.1.	Přímá stanovení.....	383
	■ Stanovení kyslíkových radikálů	383
	■ Stanovení radikálů dusíku a jeho aduktů.....	384
	■ Stanovení látek generujících radikály.....	384
15.3.2.	Nepřímá stanovení	384
	■ Produkty poškození základních látek vlivem radikálů	384
	■ Antioxidační systémy	386
15.3.3.	Reakce imunitního systému při působení volných radikálů.....	387
15.3.4.	Metody molekulární genetiky.....	387
15.3.5.	Metody popisující děje související s oxidačním stresem.....	387
15.4.	Závěr	387

16. LABORATORNÍ DIAGNOSTIKA NUTRIČNÍHO STAVU

Antonín Kazda

16.1.	Úvod.....	389
16.2.	Jednoduché hladovění	389
16.3.	Stresové hladovění.....	390
16.4.	Diagnostika malnutrice	390
16.5.	Množství a kvalita živin přiváděných nutriční podporou.....	392
16.6.	Monitorování nutriční podpory.....	393
16.6.1.	Klinické, antropometrické a biofyzikální parametry	393
16.6.2.	Biochemické parametry	394
	■ Bilance dusíku	394
	■ Proteinové markery nutričního stavu	394
	■ Růstový faktor 1 podobný inzulinu a jeho vazebné bílkoviny	395
	■ Vylučování 3-methylhistidinu jako marker svalové proteolýzy.....	395
	■ Sledování iontů.....	395
	■ Další biochemické parametry	395
	■ Mikronutrienty.....	396
	■ Imunologické markery.....	396
16.7.	Metabolické komplikace parenterální výživy	396
	■ Komplikace z nutričního nedostatku.....	396
	■ Komplikace z nutričního nadbytku	396
16.7.1.	Glukóza.....	397
	■ Hyperglykémie	397
	■ Hypoglykémie	397
16.7.2.	Aminokyseliny.....	398
16.7.3.	Tukové emulze	398
16.7.4.	Ionty	399
16.7.5.	Acidobazická rovnováha	399
16.7.6.	Hepatobiliární komplikace.....	399
	■ Steatóza jater.....	399
	■ Cholestatické jaterní onemocnění ...	399
	■ Žlučové kameny	400
16.7.7.	Gastrointestinální atrofie.....	400
16.7.8.	Kostní onemocnění.....	400
16.8.	Metabolické komplikace enterální výživy	400
	■ Poruchy vnitřního prostředí při enterální výživě	401
	■ Vlastní metabolické komplikace.....	401
16.9.	Refeeding syndrom	401
16.10.	Mikronutrienty	402
16.10.1.	Stopové prvky	404
	■ Definice, biochemické funkce, měření.....	404
	■ Stopové prvky a oxidační stres	404
	■ Toxicita stopových prvků.....	404

■ Speciální problémy stopových prvků v intenzivní péči	405	■ Tkáňový polypeptidový antigen	431
■ Zinek	405	■ Antigen karcinomů ze skvamózních buněk	431
■ Měď	406	■ Mucin-like cancer associated antigen	432
■ Selen	408	■ Thyreoglobulin	432
■ Železo	409	■ Kalcitonin	432
■ Chrom	411	17.4.3. Nespecifické markery	432
■ Mangan	412	■ Beta ₂ -mikroglobulin	432
■ Molybden	412	■ Ferritin	432
■ Kobalt	413	■ Laktátdehydrogenáza	433
■ Jod	413	■ Progastrin-releasing peptid	433
■ Fluor	414	■ Protein S-100b	433
16.10.2. Vitaminy	414	17.4.4. Buněčné a genetické markery	434
■ Vitamin A	414	■ Steroidní receptory	434
■ Vitamin D	415	■ Markery spojené se signální transdukcí	435
■ Vitamin E	416	■ Markery inaktivace supresorových genů	435
■ Vitamin K	417	■ Cirkulující buněčné elementy	435
■ Vitamin C	418	17.4.5. Další markery	435
■ Thiamin (vitamin B ₁)	418		
■ Riboflavin (vitamin B ₂)	419		
■ Kyselina nikotinová (niacin)	420		
■ Pyridoxin (vitamin B ₆ , pyridoxalfosfát)	420		
■ Kyselina listová (folát)	421		
■ Vitamin B ₁₂ (kobalamin)	421		
■ Biotin	422		
■ Kyselina pantotenová	422		
17. NÁDOROVÉ MARKERY <i>Pavel Klener, Ivan M. Malbohan, Marta Kalousová, Tomáš Zima</i>		18. LABORATORNÍ DIAGNOSTIKA V NEUROLOGII <i>Soňa Nevšimalová, Eva Havrdová, Jiří Bauer, Jiří Böhm, Jiří Klempíř, Evžen Růžička, Jan Roth</i>	
17.1. Úvod	425	18.1. Neurogenetika	437
17.2. Obecné zásady racionální indikace nádorových markerů	426	Soňa Nevšimalová	
17.3. Metody stanovení	426	18.1.1. Uplatnění genetiky v diagnostice neurologických onemocnění	437
17.4. Přehled nejčastěji používaných nádorových markerů	427	18.1.2. Nejčastější typy mutací u neurologických onemocnění	438
17.4.1. Onkofetální antigeny	427	18.1.3. Genetické poradenství	438
■ Alfa-fetoprotein	427	18.2. Neurometabolická, neurodegenerativní a neurovývojová onemocnění	439
■ Karcinoembryonální antigen	427	Soňa Nevšimalová	
■ Lidský choriový gonadotropin – β-hCG, UGP, »kyselý« hCG	428	18.2.1. Základní charakteristika	439
■ Alkalická fosfatáza – placentární izoenzym	428	18.2.2. Diagnostický postup	440
17.4.2. Tkáňově či orgánově specifické antigeny	428	■ Poliodystrofie	440
■ Prostatický specifický antigen	428	■ Leukodystrofie	440
■ Neuron-specifická enoláza	429	■ Difuzní encefalopatie	441
■ Antigen CA 125	429	■ Neurometabolická a neurodegenerativní onemocnění s převahou postižení subkortikální šedé hmoty	442
■ Antigen CA 15-3	430	■ Spinocerebelární degenerativní onemocnění	442
■ Antigen CA 549	430	■ Degenerativní onemocnění s postižením motorického neuronu ..	443
■ Antigen CA 19-9	430	■ Neurovývojové poruchy	443
■ Antigen CA 72-4	430	18.3. Demyelinizační a zánětlivá onemocnění	444
■ CYFRA 21-1	431	Eva Havrdová	

18.3.1.	Stavba myelinu.....	444	19.2.2.	Hematoencefalické bariéry a jejich funkce	464
18.3.2.	Zánětlivá onemocnění nervového systému	445	19.2.3.	Množství a fyzikální vlastnosti likvoru.....	464
18.3.3.	Zánětlivé demyelinizace CNS.....	446	19.3.	Odběr moku.....	464
18.3.4.	Periferní zánětlivé demyelinizace.....	447	19.4.	Indikace vyšetření mozkomíšního moku	465
18.4.	Cévní mozkové příhody	447	19.5.	Matematické vyjádření funkce hematolikvorové bariéry – albuminový kvocient	466
18.5.	Mozkové nádory.....	449	19.6.	Humorální imunitní reakce v CNS.....	467
18.6.	Poruchy vědomí.....	450	19.6.1.	Intrathékální produkce »nespecifického« IgG, IgM a IgA	467
18.7.	Bolesti hlavy	451	■	Imunoglobulin M.....	469
18.8.	Epilepsie.....	453	■	Izoelektrická fokusace	469
18.8.1.	Základní charakteristika.....	453	19.6.2.	Intrathékální produkce specifických protilátek	471
18.8.2.	Diagnostický postup	453	■	Protilátkový index.....	471
18.8.3.	Terapie a monitorování koncentrací antiepileptik.....	453	19.6.3.	Průkaz virových a bakteriálních antigenů	471
18.9.	Extrapiramidové syndromy a onemocnění.....	454	19.6.4.	Autoprotilátky.....	472
18.10.	Nervosvalová onemocnění.....	455	■	Anti-MBP protilátky.....	472
18.10.1.	Základní charakteristika.....	455	■	Anti-MAG protilátky.....	472
18.10.2.	Diagnostický postup	458	■	Antiglykolipidové protilátky.....	472
■	Neurogenní léze	458	■	Ostatní autoprotilátky	474
■	Poruchy míšních kořenů a periferních nervů	458	19.7.	Glukóza, laktát, pyruvát.....	474
■	Poruchy nervosvalového přenosu....	458	19.8.	Vzácněji stanovované analyty.....	474
■	Svalová onemocnění.....	459	19.8.1.	Beta ₂ -mikroglobulin	474
18.11.	Demence.....	459	19.8.2.	Neopterin (6-D-erytro-trihydroxypropylpterin) ..	475
18.11.1.	Alzheimerova nemoc a další primární demence.....	461	19.8.3.	Lysozym (muramidáza).....	475
■	Zobrazovací metody	461	19.8.4.	Cytokiny a chemokiny.....	475
■	Neuropatologické nálezy.....	461	19.8.5.	Vaskulární endoteliální růstový faktor	475
18.11.2.	Sekundární demence	461	19.8.6.	Hypokretin-1 (orexin-1)	475
■	Vaskulární demence	461	19.8.7.	Karcinoembryonální antigen	475
■	Normotenzní hydrocefalus.....	461	19.8.8.	»Specifické« proteiny CNS	475
■	Intoxikace.....	461	19.8.9.	Některé další proteiny	477
■	Metabolické, endokrinologické a karenční příčiny demence.....	462	19.9.	Cytologie likvoru	477
■	Infekční choroby s projevy demence	462	19.9.1.	Počet buněk v likvoru	477
			19.9.2.	Kvalitativní cytologie	477
			■	Syndromologická klasifikace likvorových cytologických nálezů....	478
			19.9.3.	Obvyklé cytologické nálezy u některých neurologických onemocnění	481
			19.10.	Krvavý likvor	481
			19.10.1.	Spektrofotometrie mozkomíšního moku	481
			19.10.2.	Subarachnoidální krvácení	485
			19.11.	Likvorové nálezy u nozologických jednotek	485
			19.11.1.	Hnisavé neuroinfekce	485
			■	Bakteriální meningitida	485
			■	Pooperační infekce v neurochirurgii	486
			19.11.2.	Nehnisavé neuroinfekce	486
			■	Neuroborrelióza	487

19. VYŠETŘENÍ MOZKOMÍŠNÍHO MOKU

David Zeman, Pavel Racek

19.1.	Úvod.....	463
19.2.	Fyziologie a patofyziologie mozkomíšního moku.....	463
19.2.1.	Anatomie, fyziologie, funkce.....	463

■ Neurotuberkulóza	488
■ Neurosyfilis	489
■ Whippleova nemoc	489
■ Virové neuroinfekce	489
■ Kryptokoková meningitida	490
■ Vyšetření likvoru u neurologických komplikací HIV infekce	490
■ Aseptická meningitida po aplikaci některých léků	490
■ Parameningeální zánětlivý proces ...	490
19.11.3. Autoimunitní onemocnění CNS	491
■ Roztroušená skleróza	491
■ Zánět zrakového nervu	491
■ Akutní zánětlivá demyelinizační polyneuropatie	491
19.11.4. Nádorová a paraneoplastická onemocnění CNS	492
■ Maligní infiltrace mening	492
■ Paraneoplastická onemocnění CNS	492
19.11.5. Neurosarkoidóza	492
19.11.6. Demence	492
19.11.7. Spongiformní encefalopatie	493
19.11.8. Cévní mozkové příhody, mozkové trauma	493
19.11.9. Rinorea, otorea	494

20. LABORATORNÍ DIAGNOSTIKA V PSYCHIRII

Ivo Paclt

20.1. Úvod	497
20.2. Přehledy užívaných vyšetřovacích metod u jednotlivých psychiatrických poruch	497
■ Alkohol a drogové závislosti	497
■ Poruchy příjmu potravy	498
■ Psychotické poruchy (schizoafektivní porucha, schizofrenie, atypické psychózy)	498
■ Deprese a bipolární porucha	498
■ Demence	498
■ Maligní neuroleptický syndrom	499
■ Deliriozní a amentní syndrom nejasné etiologie	499
■ Hyperkinetický syndrom (ADHD) a Touretteův syndrom v dětství, adolescenci a dospělosti	499
■ Laboratorní vyšetření před léčbou lithiem a v jejím průběhu	499
■ Monitorování koncentrací tricyklických antidepresiv	500
20.3. Změny vyvolané antipsychotiky	500
20.3.1. Nežádoucí účinky antipsychotik	500
■ Anticholinergní účinky	500

■ Epileptické záchvaty	500
■ Agranulocytóza	500
■ Leukopenie a eozinofilie	501
■ Jaterní funkce	501
■ Poruchy mikce, snížení ledvinových funkcí	501
■ Kardiovaskulární systém	501
■ Kožní projevy	502
■ Maligní neuroleptický syndrom	502
■ Hyperprolaktinémie	502
■ Teratogenita	503
20.3.2. Dlouhodobé podávání – pozdní nežádoucí účinky	503
■ Tardivní dyskineze	503
■ Změny hmotnosti	503
■ Diabetes mellitus	504
■ Dyslipidémie	504
■ Postižení zraku	504
20.3.3. Lékové interakce antipsychotik	504
20.4. Závěr	505

21. LABORATORNÍ DIAGNOSTIKA V NEUROCHIRURGII

Vladimír Beneš, Filip Kramář

21.1. Nádory centrální nervové soustavy	507
■ Onkogenetika	507
21.2. Familiární nádorové syndromy	511
■ Neurofibromatóza 1. typu	511
■ Neurofibromatóza 2. typu	511
■ Von Hippelova-Lindauova choroba	511
■ Liův-Fraumeniho syndrom	512
■ Komplex tuberózní sklerózy	512
■ Cowdenové choroba a dysplastický gangliocytom mozečku (Lhermitteova-Duclosova choroba)	512
■ Turcotův syndrom	512
■ Naevoid basal cell carcinoma syndrom, Gorlinův syndrom	512
21.3. Sellární léze	513
21.4. Vyšetření likvoru	514
21.5. Subarachnoidální krvácení	514
21.6. Hydrocefalus	514
21.7. Ischémie mozku	515
21.8. Klasifikace nádorů CNS podle WHO ...	516

22. LABORATORNÍ DIAGNOSTIKA V CHIRURGII A U NÁHLÝCH PŘÍHOD BŘÍŠNÍCH

Zdeněk Krška, Marie Pešková

22.1. Úvod	519
22.2. Předoperační příprava	519

22.3.	Průběh operačního výkonu	520
22.4.	Pooperační sledování a rozpoznání a léčení pooperačních komplikací	520
22.4.1.	Šok.....	521
22.4.2.	Popáleniny – popáleninová nemoc.....	521
22.4.3.	Polytrauma	521
22.4.4.	Trauma hrudníku.....	522
22.4.5.	Náhlé příhody břišní.....	522
22.4.6.	Poranění břicha	523
22.4.7.	Hemoperitoneum.....	523
22.4.8.	Retroperitoneální krvácení.....	523
22.4.9.	Gastrointestinální krvácení.....	523
22.4.10.	Peritonitida – zánět dutiny břišní (pobřišnice).....	523
22.4.11.	Ileus – náhlá střevní neprůchodnost ...	524
22.4.12.	Akutní pankreatitida.....	524
22.4.13.	Akutní cholecystitida.....	524
22.4.14.	Akutní apendicitida	525
22.4.15.	Divertikulitida	525
22.4.16.	Nespecifické střevní záněty.....	525
	■ Crohnova nemoc.....	525
	■ Colitis ulcerosa.....	525

23. LABORATORNÍ DIAGNOSTIKA V KARDIOVASKULÁRNÍ CHIRURGII

*Martin Stříteský, Ivan Vaněk,
Helena Brodská*

23.1.	Specifika kardiovaskulární chirurgie...	527
23.2.	Standardní monitorování v kardiovaskulární chirurgii	527
23.2.1.	Předoperační vyšetření.....	527
23.2.2.	Peroperační monitorování	528
23.2.3.	Pooperační monitorování	528
	■ Nekomplikovaný pacient	529
	■ Rizikový pacient.....	529
	■ Komplikovaný pacient.....	529
23.3.	Komplikace v kardiovaskulární chirurgii.....	530
23.3.1.	Akutní renální selhání.....	530
23.3.2.	Laboratorní diagnostika ischemie myokardu v kardiochirurgii.....	532
	■ Diagnostika APIM	532
	■ Vyšetření markerů myokardiálního poškození	532
23.3.3.	Syndrom systémové zánětlivé odpovědi – možnosti laboratorní monitorace	533
	■ Prokalcitonin	534
	■ C-reaktivní protein	534
	■ Leukocyty, cytokiny a další parametry zánětu	534
23.3.4.	Krvácivé komplikace.....	534
23.3.5.	Kompartmentový syndrom.....	535
23.4.	Závěr	535

24. LABORATORNÍ DIAGNOSTIKA V ORTOPEDII

David Jahoda

24.1.	Úvod.....	537
24.2.	Hluboká infekce kloubních náhrad	537
24.2.1.	Krevní obraz.....	537
24.2.2.	Sedimentace erytrocytů a C-reaktivní protein.....	538
24.2.3.	Kloubní punkce	538
24.3.	Kostní nádory	540
24.4.	Problematika operačního výkonu.....	540
24.4.1.	Předoperační vyšetření.....	540
24.4.2.	Prevence hluboké žilní trombózy.....	540

25. LABORATORNÍ DIAGNOSTIKA V UROLOGII

*Tomáš Hanuš, Marko Babjuk,
Radim Kočvara, Květoslav Novák,
Dalibor Pacík, Ivan Pavlík, Josef Stolz,
Libor Zámečník*

25.1.	Úvod.....	543
	<i>Tomáš Hanuš</i>	
25.2.	Laboratorní diagnostika urolitiázy	543
	<i>Květoslav Novák, Radim Kočvara</i>	
25.2.1.	Epidemiologie, faktory a tvorba konkrémentu	543
25.2.2.	Diagnostika urolitiázy	544
	■ Vyšetření močového konkrémentu...	544
	■ Diagnostika metabolických poruch	545
	■ Vyhledávací metabolické vyšetření	546
	■ Kontrolní metabolické vyšetření.....	546
25.2.3.	Metabolické poruchy	546
	■ Hyperkalciurie.....	546
	■ Hyperoxalurie.....	547
	■ Poruchy metabolismu kyseliny močové(purinů)	547
	■ Kalciová urolitiáza při hyperurikosurii	548
	■ Cystinurie.....	548
	■ Renální tubulární acidóza.....	548
	■ Hypocitraturie	548
25.2.4.	Další faktory urolitiázy	548
	■ Deficit magnezia	548
	■ Deficit fosfátů	548
	■ Lokální faktory	548
	■ Infekční urolitiáza	548
25.3.	Laboratorní diagnostika v andrologii..	549
	<i>Libor Zámečník</i>	
25.3.1.	Aging male – syndrom PADAM.....	549
25.3.2.	Erektivní dysfunkce	549
25.3.3.	Infertilita.....	549

25.4.	Laboratorní diagnostika nádorů močového měchýře	550	■ Nespecifické proteiny a markery.....	561
	<i>Marko Babjuk</i>		■ Specifické proteiny produkované maligními buňkami	562
25.4.1.	Nádory močového měchýře.....	550	■ Imunogenní antigeny u karcinomů ledvin	562
25.4.2.	Chemické vyšetření moči a vyšetření močového sedimentu.....	550		
25.4.3.	Cytologie moči a výplachové tekutiny	551		
25.4.4.	Metody založené na detekci nádorových antigenů v moči	552		
	■ NMP 22 (nuclear matrix protein 22).....	552		
	■ BTA stat a BTA TRAK (bladder tumor antigen).....	552		
	■ Fibrinogen – fibrindegradační produkty	552		
	■ Kyselina hyaluronová a hyaluronidáza	553		
	■ Cytokeratiny	554		
	■ Survivin	554		
25.4.5.	Testy založené na detekci buněčných abnormalit nebo buněčně vázaných antigenů	554		
	■ Telomeráza.....	554		
	■ Analýza mikrosatelitů.....	555		
	■ ImmunoCyt	555		
25.4.6.	Další metody detekce nádorů močového měchýře	555		
25.4.7.	Laboratorní metody u pacientů s invazivními nádory močového měchýře	556		
25.5.	Laboratorní diagnostika karcinomu prostaty	556		
	<i>Dalibor Pacík</i>			
25.5.1.	Karcinom prostaty.....	556		
25.5.2.	Digitální rektální vyšetření	557		
25.5.3.	Vyšetření prostatického specifického antigenu – PSA	557		
25.5.4.	Vyšetřování v rámci prevence a diagnostiky karcinomu prostaty.....	558		
25.5.5.	Doporučený algoritmus vyšetření.....	559		
25.6.	Markery nádorů varlat.....	559		
	<i>Ivan Pavlík</i>			
25.6.1.	Nádorové markery	559		
	■ Alfa-fetoprotein.....	559		
	■ Lidský choriový gonadotropin	559		
	■ Laktátdehydrogenáza.....	559		
	■ Další markery	559		
25.6.2.	Klinická interpretace nádorových markerů.....	560		
25.7.	Laboratorní diagnostika nádorů ledvin	560		
	<i>Josef Stolz</i>			
25.7.1.	Úvod.....	560		
25.7.2.	Nádorové markery	561		
	■ Specifické proteiny nádoru	561		
26.	LABORATORNÍ DIAGNOSTIKA V GYNEKOLOGII A PORODNICTVÍ <i>Pavel Calda, Antonín Pařízek, Karel Řežábek, Jiří Sláma, Jaroslav Živný, Tomáš Fait, Ivan M. Malbohan</i>			
26.1.	Gynekologie	565		
26.1.1.	Zánětlivá onemocnění	565		
26.1.2.	Nádorová onemocnění	566		
26.1.3.	Patologie časně gravidity a diagnostika onemocnění trofoblastu	568		
26.1.4.	Laboratorní diagnostika – menstruační cyklus	568		
	■ Fyziologie řízení cyklu ženy	568		
26.1.5.	Laboratorní diagnostika v reprodukční medicíně	572		
	■ Stanovení diagnózy – laboratorní vyšetření muže.....	572		
	■ Stanovení diagnózy – laboratorní vyšetření ženy	574		
	■ Sledování léčby – laboratorní vyšetření při <i>in vitro</i> fertilizaci.....	575		
	■ Sledování léčby – ovariální hyperstimulační syndrom	575		
	■ Sledování léčby – zjištění těhotenství.....	576		
26.2.	Porodnictví.....	576		
26.2.1.	Screening vrozených vad v těhotenství	577		
	■ Biochemický sérový screening ve II. trimestru.....	579		
	■ Vyšetřování choriových klků.....	580		
26.2.2.	Vyšetřování plodové vody	581		
26.2.3.	Erytrocytární aloimunitace	581		
	■ Prenatální diagnostika dědičných poruch metabolismu	582		
26.2.4.	Sledování rizikového těhotenství	582		
26.2.5.	Předčasný porod.....	582		
26.2.6.	Emesis gravidarum	583		
26.2.7.	Diabetes mellitus gravidarum.....	584		
26.2.8.	Preeklampsie (EPH gestóza, pozdní gestóza)	584		
	■ Klinické známky preeklampsie (kompletní triáda).....	585		
	■ Laboratorní známky preeklampsie ..	585		
26.2.9.	HELLP syndrom.....	586		
26.2.10.	Diseminovaná intravaskulární koagulace.....	586		

26.2.11.	Antifosfolipidový syndrom v těhotenství.....	587
26.2.12.	Mikroanalýza krevních plynů novorozence	588

27. LABORATORNÍ DIAGNOSTIKA V INTENZIVNÍ MEDICÍNĚ

*Jarmila Drábková, Antonín Kazda,
Zdeněk Mašek, Pavel Maruna,
Jiří Valenta, Martin Balík*

27.1.	Klinická biochemie a biomarkery v intenzivní medicíně a v intenzivní péči.....	591
	<i>Jarmila Drábková</i>	
27.1.1.	Úvod.....	591
27.1.2.	Základní životní funkce a další životně důležité funkce organismu	591
27.1.3.	Klinický stav – rozdělení podle závažnosti.....	591
27.1.4.	Akutní příhody a jejich projevy – rozdělení podle místa vzniku.....	592
27.1.5.	Názvosloví a definice v intenzivní medicíně	593
27.1.6.	Hlavní klinické diagnózy intenzivní medicíny a odraz klinických dějů v laboratorních nálezech	594
27.1.7.	Odras klinického obrazu jako multifaktoriálního a dynamického děje	595
27.2.	Rozsah a frekvence klinickobiochemického vyšetřování v intenzivní péči	597
	<i>Antonín Kazda</i>	
27.2.1.	Úvod.....	597
27.2.2.	Syndrom systémové zánětlivé odpovědi – SIRS.....	597
27.2.3.	Metabolická odpověď na trauma.....	598
	■ Mediátory metabolické odpovědi na trauma.....	599
	■ Voda a ionty.....	600
	■ Acidobazická rovnováha.....	601
	■ Zajištění energie.....	601
	■ Metabolismus glukózy.....	601
	■ Metabolismus bílkovin.....	602
	■ Metabolismus tuků	603
	■ Možnosti ovlivnění metabolické odpovědi na trauma.....	603
27.2.4.	Sepse a její klinickobiochemické projevy	603
	■ Cytokiny a jejich vliv na imunitní odpověď během traumatu.....	606
	■ Imunitní odpověď a její metabolická náročnost.....	606
	■ Nežádoucí účinky cytokinů.....	607

	■ Antioxidační obrana a její deplece při infekci nebo traumatu	607
	■ Cytokinová odpověď a genetika.....	607
	■ Bílkoviny tepelného šoku	607
	■ Toll-like receptory.....	608
	■ Adrenomedulin	608
27.2.5.	Rozsah a frekvence klinickobiochemického vyšetření	609
	■ Vyšetření séra (plazmy).....	610
27.3.	Syndrom multiorgánové dysfunkce.....	623
	<i>Jarmila Drábková</i>	
27.3.1.	Charakteristika	623
27.3.2.	Terminologie a klasifikace.....	624
27.3.3.	Rozdělení.....	624
27.3.4.	Vnitřní prostředí a MODS/MOF	625
27.3.5.	Průběh.....	625
27.3.6.	Časná a pozdní fáze	625
27.3.7.	Laboratorní obraz.....	627
27.3.8.	Terapie	628
27.4.	Syndrom akutní dechové tísně	629
	<i>Jarmila Drábková</i>	
27.4.1.	Charakteristika	629
27.4.2.	Rozdělení ALI/ARDS	629
27.4.3.	Etiologie a patofyziologie	629
27.4.4.	Vývoj a rozdělení ARDS.....	630
27.4.5.	Závažnost postižení	630
27.4.6.	Klinický obraz.....	630
27.4.7.	Laboratorní obraz.....	631
27.4.8.	Diagnostika a diferenciální diagnostika	631
27.4.9.	Terapie	631
27.5.	Úloha a význam stanovení cytokinů v kritických stavech.....	632
	<i>Pavel Maruna, Zdeněk Mašek</i>	
27.5.1.	Reakce akutní fáze a systémová zánětlivá odpověď.....	632
27.5.2.	Obecná charakteristika cytokinů	633
27.5.3.	Klasifikace cytokinů	634
27.5.4.	Úloha cytokinů v zánětu a SIRS	635
27.5.5.	Diagnostické využití stanovení cytokinů v intenzivní péči – obecné preanalytické a analytické předpoklady.....	638
27.5.6.	Stanovení cytokinů důležitých pro diagnostiku rizika nebo stupně rozvoje SIRS	639
	■ Interleukin 1 β	639
	■ Antagonista receptorů pro interleukin 1.....	640
	■ Faktor α nekrotizující tumory.....	640
	■ Interleukin 6	641
	■ Interleukin 8	641
27.5.7.	Adhezní molekuly	641
27.5.8.	Solubilní receptory cytokinů	642
27.5.9.	Porovnání diagnostického využití cytokinů a proteinů akutní fáze.....	643
27.5.10.	Další aspekty cytokinové diagnostiky ...	643

27.6.	Hemokoagulační vyšetření při SIRS/MODS a diseminované intravaskulární koagulaci 644		
	<i>Jiří Valenta</i>		
27.6.1.	Vyšetření u lůžka 645		
	■ Leeův-Whiteův test..... 645		
	■ Trombinový čas plné krve 645		
	■ Aktivovaný koagulační čas 645		
	■ Tromboelastografie..... 646		
27.6.2.	Vlastní laboratorní vyšetření 646		
	■ Protrombinový čas (Quickův test)... 646		
	■ Aktivovaný parciální tromboplastinový čas 647		
	■ Trombinový čas 647		
	■ Reptilázový čas 648		
	■ Antitrombin..... 648		
	■ Fibrinogen..... 649		
	■ Degradální produkty fibrin(ogen)u 649		
	■ D-dimer..... 649		
	■ Fibrinolýza v euglobulinové frakci.... 650		
	■ Anti-Xa..... 650		
	■ Krevní destičky..... 650		
	■ Další hemokoagulační vyšetření..... 651		
27.6.3.	Obecná interpretace hemokoagulačního vyšetření..... 651		
27.7.	Biochemické monitorování renálních funkcí u kriticky nemocných pacientů 652		
	<i>Martin Balík</i>		
27.7.1.	Monitorování a diagnostika renálních funkcí..... 652		
	■ Glomerulární filtrace..... 653		
	■ Obraz funkční insuficience a jeho význam..... 653		
	■ Tubulární funkce a vliv diuretik..... 654		
	■ Typ diurézy 656		
	■ Koncentrační schopnost 656		
	■ Vyšetření acidifikace moči..... 657		
27.7.2.	Vyšetření sérových a močových proteinů 659		
27.7.3.	Endogenní regulátory renálních funkcí 659		
27.7.4.	Hodnocení funkce ledvin ve skórovacích systémech..... 661		
27.7.5.	Renální funkční parametry při renální insuficienci a progresi do renálního selhání 661		
27.8.	Sepse..... 665		
	<i>Jarmila Drábková</i>		
27.8.1.	Charakteristika 665		
27.8.2.	Rozdělení sepse..... 666		
27.8.3.	Etiologie a patofyziologie 667		
	■ Mikroorganismus a makroorganismus 667		
	■ Patofyziologie 667		
27.8.4.	Klinický obraz..... 668		
	■ Sepse a vzdálené orgány a orgánové systémy 668		
27.8.5.	Laboratorní obraz..... 668		
27.8.6.	Terapie 670		
27.8.7.	Prognóza..... 670		
27.9.	Trauma – polytrauma – megatrauma z pohledu vnitřního prostředí 671		
	<i>Jarmila Drábková</i>		
27.9.1.	Charakteristika 671		
27.9.2.	Etiologie, průběh a prognóza..... 671		
27.9.3.	Patofyziologická odezva 671		
27.9.4.	Klinický obraz..... 671		
27.9.5.	Hodnocení..... 671		
27.9.6.	Časová období a jejich charakteristika 672		
27.9.7.	Laboratorní obraz..... 673		
	■ Akutní příjem a bezprostřední fáze 673		
	■ Příznivý průběh..... 674		
	■ Nepříznivý průběh..... 674		
27.9.8.	Terapie 674		
27.9.9.	Rhabdomyolýza 675		
27.9.10.	Polytrauma, alkohol a drogy..... 676		
	■ Akutní ebrieta náhodného nebo příležitostného konzumenta..... 676		
	■ Chronická konzumace alkoholu 676		
	■ Drogy..... 676		
	■ Specifická rizika, klinické obrazy a vnitřní prostředí 677		
	■ Specifické poznatky a požadavky z hlediska alkoholu, drog a vnitřního prostředí 678		
27.10.	Akutní stavy v porodnictví 679		
	<i>Jarmila Drábková</i>		
27.10.1.	Charakteristika 679		
27.10.2.	Laboratorní diagnostika 679		
	■ Porod a SIRS 680		
27.10.3.	Nozologické jednotky a syndromy..... 680		
	■ Akutní steatóza jater těhotných 680		
	■ Preeklampsie..... 680		
	■ HELLP syndrom 681		
	■ Hemolyticko-uremický syndrom..... 681		
	■ Diseminovaná intravaskulární koagulace..... 682		
	■ Embolie plodovou vodou..... 683		
	■ Ovariální hyperstimulační syndrom 683		
	■ Hypertrofická kardiomyopatie těhotných 683		
	■ Feochromocytom 683		
	■ Toddův syndrom 684		
	■ TRALI syndrom 684		
	■ Antifosfolipidový syndrom..... 684		

27.11.	Akutní inhalační otravy a dyshemoglobinémie – patologické formy hemoglobinu	685	27.15.7.	Interindividuální rozdíly a farmakogenomika	703
	<i>Jarmila Drábková</i>		■ Závěr	703	
27.11.1.	Charakteristika	685	27.16.	POCT v intenzivní medicíně	704
■ Speciální inhalační prostředky a jejich užití/zneužití	685		<i>Jarmila Drábková, Antonín Kazda</i>		
27.11.2.	Karboxyhemoglobin/ karboxyhemoglobin	686	27.16.1.	POCT – podstata, požadavky, náklady, propojení	704
27.11.3.	Kyanhemoglobin	688	27.16.2.	Využití POCT	704
27.11.4.	Methemoglobin	688	27.17.	Laboratorní diagnostika v perioperačním období	707
27.11.5.	Sulfhemoglobin	689		<i>Jarmila Drábková, Antonín Kazda</i>	
27.11.6.	Oxid uhličitý	690	27.17.1.	Pacient – stav – výkon – anestezie	707
27.12.	Horečka, hypertermie a maligní hypertermie	691	27.17.2.	Oblasti sledované ve vztahu k vnitřnímu prostředí	707
	<i>Jarmila Drábková</i>		27.17.3.	Předoperační a předanestetické vyšetření	707
27.12.1.	Charakteristika	691	27.17.4.	Peroperační sledování	708
27.12.2.	Etiologie a patofyziologie	691	27.17.5.	Pooperační sledování	708
27.12.3.	Diferenciální diagnostika	691	27.17.6.	Vodní a iontové hospodářství	708
27.12.4.	Maligní hypertermie	692	■ Sodný ion	709	
27.13.	Paliativní péče	693	■ Draselný ion	709	
	<i>Jarmila Drábková</i>		■ Vápenatý ion	710	
27.13.1.	Charakteristika	693	■ Hořčnatý ion	710	
27.13.2.	Zásady a složky paliativní péče	693	■ Fosfátový ion	710	
27.13.3.	Klinický obraz	693	■ Chloridový ion	711	
27.13.4.	Laboratorní obraz	694	■ Stopové prvky	711	
27.13.5.	Potenciální dárce orgánů	694	27.17.7.	Krevní plyny a parametry acidobazické rovnováhy – odběry	712
27.14.	Akutní a dlouhodobé období po náhlé příhodě kritického rázu	695	■ Základní hodnocení krevních plynů	712	
	<i>Jarmila Drábková, Antonín Kazda</i>		■ Jednoduché a smíšené poruchy acidobazické rovnováhy	712	
27.14.1.	Charakteristika	695	27.17.8.	Perioperační nutriční podpora	713
27.14.2.	Dlouhodobý závažný stav a vnitřní prostředí	695	■ Laboratorní vyšetření ve vztahu k nutrici	713	
■ Postakutní fáze, postseptický stav, postintenzivní péče	696		■ Kvalita výživy	714	
27.14.3.	Biochemické markery při dlouhodobém závažném stavu po akutním infarktu	696	27.17.9.	Komorbidity a akutní stavy v perioperační medicíně a jejich vnitřní prostředí	714
27.14.4.	Porovnání klinického průběhu a biochemického sledování	697			
■ Algoritmy	698				
■ Konzilia a součinnost u lůžka	698				
27.15.	Interindividuální rozdíly významné pro intenzivní medicínu	699			
	<i>Jarmila Drábková, Antonín Kazda</i>				
27.15.1.	Bezpečnost, chybovost, rozdíly	699			
27.15.2.	Provozní požadavky a problémy	700			
27.15.3.	Význam interindividuálních rozdílů – otevřený problém	701			
27.15.4.	Současné poznatky	701			
27.15.5.	Klinické výstupy	701			
■ Kompartmenty organismu	701				
■ Rozdíly v dospělém věku – kauzální a symptomatické diagnózy	702				
27.15.6.	Cílená volba optimálních parametrů a interpretace hodnot	702			

28. LABORATORNÍ DIAGNOSTIKA V IMUNOLOGII

*Jiřina Bartůňková, Terezie Fučíková,
Zuzana Humlová*

28.1.	Úvod	717
28.2.	Orientační imunologické vyšetření	717
28.2.1.	C-reaktivní protein	718
28.2.2.	Revmatoidní faktor	718
28.2.3.	Vyšetření paraproteinu	718
28.2.4.	Vyšetření kryoglobulinů	718
28.3.	Imunologické metody první volby	719
28.3.1.	Vyšetření koncentrace IgG, IgA a IgM	719

28.3.2.	Vyšetření koncentrace IgE	720	29.3.1.	Specifická diagnostika	747
28.3.3.	Detekce cirkulujících imunokomplexů – PEG test	720	■ Bakteriální infekce	747	
28.3.4.	Vyšetřování C3 a C4 složky komplementu	721	■ Virové infekce	747	
28.3.5.	Vyšetření antinukleárních protilátek ...	721	■ Mykotické infekce	747	
28.3.6.	Vyšetření T-lymfocytů	722	29.4.	Infekční průjemová onemocnění	747
28.4.	Specializovaná imunologická vyšetření – metody druhé volby	723	29.4.1.	Specifická diagnostika	748
28.4.1.	Vyšetření nespecifické imunity	724	■ Bakteriální infekce	748	
■ Vyšetření fagocytózy	724		■ Virové infekce	748	
■ Vyšetřování komplementu	724		■ Parazitární infekce	748	
28.4.2.	Vyšetření specifické imunity	725	29.5.	Infekce jater	748
■ Vyšetření autoprotilátek	725		29.5.1.	Specifická diagnostika	748
■ Výskyt autoprotilátek u orgánových imunopatologických stavů	730		■ Akutní virové hepatitidy	748	
■ Vyšetření podtříd IgG	732		■ Chronické virové hepatitidy	749	
■ Vyšetření specifických IgE	732		■ Bakteriální infekce jater	749	
■ Vyšetření buněčné imunity	732		■ Jaterní absces	749	
■ HLA u transplantací	734		29.6.	Infekce žlučníku a žlučových cest	749
28.5.	Diagnostika alergických chorob	735	29.7.	Infekce kůže, měkkých tkání, kloubů a kostí	750
<i>Zuzana Humlová, Terezie Fučíková</i>			29.7.1.	Lymeská borrelióza	750
28.5.1.	Úvod	735	29.8.	Infekce srdce a cév	750
28.5.2.	Metody první volby	736	29.9.	Infekce lymfatického systému	751
■ Stanovení počtu eozinofilů	736		29.9.1.	Infekce lymfotropními agens	751
■ Celkový IgE	737		■ Herpetické infekce	751	
■ Specifický IgE	738		■ Infekce lidským virem imunitní nedostatečnosti	752	
■ Eozinofilní kationický protein	739		■ Toxoplazmóza	752	
■ Protilátky třídy IgG a IgA u potravinových intolerancí	740		29.10.	Neuroinfekce	753
28.5.3.	Metody druhé volby a metody s experimentálním zaměřením	740	29.10.1.	Analýza mozkomíšního moku	754
■ Hypodenzní eozinofily	740		■ Základní vyšetření	754	
■ Specifické IgG4	740		■ Specifická vyšetření	754	
■ Protilátky proti receptoru pro IgE a proti IgE	741		29.10.2.	Sérologická vyšetření	754
■ Stanovení solubilních receptorů	741				
■ Tryptáza	741				
■ Test uvolnění histaminu	741				
■ Kyselina 15-hydroxyeikosatetraenová	742				
■ Aktivace bazofilů po expozici alergenu	742				
■ Expresce CD44 na eozinofilech	743				
29. LABORATORNÍ DIAGNOSTIKA INFEKČNÍCH NEMOCÍ <i>Michal Holub, Ondřej Beran</i>			30. LABORATORNÍ DIAGNOSTIKA V DERMATOVENEROLOGII <i>Jiří Štork</i>		
29.1.	Úvod	745	30.1.	Úvod	755
29.2.	Nespecifická vyšetření	745	30.2.	Dermatologická vyšetření	755
29.2.1.	C-reaktivní protein	745	30.3.	Sexuálně přenosné infekce	758
29.2.2.	Prokalcitonin	746	30.3.1.	Syfilis	759
29.2.3.	Krevní obraz	746	30.3.2.	Kapavka	760
29.3.	Respirační infekce	747	30.3.3.	Negonokokové uretritidy	761
			30.4.	Diagnostika chlamydiových infekcí	762
			30.5.	Detekce urogenitálních mykoplazmat	762
31. LABORATORNÍ DIAGNOSTIKA V OFTALMOLOGII <i>Martin Filipec, Jarmila Heissigerová, Eva Říhová</i>			31. LABORATORNÍ DIAGNOSTIKA V OFTALMOLOGII <i>Martin Filipec, Jarmila Heissigerová, Eva Říhová</i>		
			31.1.	Úvod	765
			31.2.	Oční adnexa	765
			31.2.1.	Myasthenia gravis	765

31.2.2.	Xantelazmata.....	765
31.2.3.	Dakryoadenitida.....	765
31.2.4.	Dakryocystitida	766
31.3.	Onemocnění spojivky.....	766
31.3.1.	Infekční konjunktivitidy.....	766
31.3.2.	Okuloglandulární (Parinaudův) syndrom.....	767
31.3.3.	Alergické konjunktivitidy.....	767
31.3.4.	Neinfekční a autoimunitní konjunktivitidy	767
31.4.	Onemocnění rohovky.....	767
31.4.1.	Infekční keratitidy	767
	■ Bakteriální keratitidy.....	767
	■ Virové keratitidy.....	767
	■ Mykotické keratitidy.....	767
	■ Akantamébová keratitida.....	768
31.4.2.	Neinfekční keratitidy	768
	■ Intersticiální keratitidy.....	768
	■ Periferní ulcerózní keratitida.....	768
	■ Keratoconjunctivitis sicca.....	768
	■ Keratoconjunctivitis limbalis superior (Theodorova konjunktivitida).....	768
31.4.3.	Rohovkové změny při metabolických onemocněních.....	768
	■ Poruchy metabolismu lipidů	769
	■ Hypervitaminóza D, hypofosfatémie, hypoparathyreóza.....	769
31.4.4.	Dystrofie rohovky.....	769
31.5.	Episkleritida a skleritida	769
31.6.	Uveitida.....	769
31.6.1.	Recidivující přední uveitida.....	770
31.6.2.	Intermediární uveitida.....	770
31.6.3.	Zadní uveitida a panuveitida	770
	■ Retinitida.....	770
	■ Vaskulitida	770
31.6.4.	Endoftalmitida.....	770
31.6.5.	Maskující syndromy.....	771
31.7.	Patologie zornice	771
31.7.1.	Syndrom Argyllův-Robertsonův.....	771
31.7.2.	Adieho syndrom.....	771
31.8.	Patologie čočky	771
31.8.1.	Dislokace čočky	771
31.8.2.	Katarakta	771
31.9.	Patologie zrakového nervu.....	771
31.9.1.	Drúzová papila.....	771
31.9.2.	Ischemický edém papily zrakového nervu.....	772
31.9.3.	Neuritida zrakového nervu.....	772
31.9.4.	Městná papila.....	772
31.9.5.	Toxická neuropatie.....	772
31.9.6.	Chiazmatický syndrom.....	772
31.9.7.	Leberova neuropatie optického nervu.....	772
31.10.	Onemocnění sítnice	772
31.10.1.	Okluze centrální sítnicové tepny.....	772
31.10.2.	Okluze centrální sítnicové vény.....	773

31.10.3.	Retinitis pigmentosa	773
31.10.4.	Atrophia gyrata.....	773
31.11.	Onemocnění orbity.....	773
31.11.1.	Mikrobiální záněty očnice.....	773
31.11.2.	Endokrinní orbitopatie.....	773

32. LABORATORNÍ DIAGNOSTIKA V OTORINOLARYNGOLOGII

Jan Betka, Jan Klozar

32.1.	Úvod.....	775
32.2.	Ušní onemocnění	775
32.3.	Onemocnění horních cest dýchacích a polykacích	775
32.4.	Krční uzlinový syndrom.....	776
32.5.	Onkologická onemocnění.....	777
32.6.	Akutní stavy	777

33. LABORATORNÍ DIAGNOSTIKA VE STOMATOLOGII

Jiří Mazánek

33.1.	Úvod.....	779
33.2.	Hematologická vyšetření.....	779
33.2.1.	Základní morfologické metody	779
33.2.2.	Koagulační vyšetření.....	780
33.2.3.	Imunohematologická vyšetření.....	780
33.3.	Biochemická vyšetření.....	780
33.3.1.	Nádorové markery	781
33.4.	Imunologické vyšetření	781
33.5.	Mikrobiologické vyšetření	781
33.5.1.	Mikroflóra ústní dutiny	781
33.5.2.	Slina.....	782
	■ Složení sliny	782
33.5.3.	Zubní mikrobiální povlak a zubní kaz.....	783
	■ Slina a zubní kaz.....	783
	■ Fluor a zubní kaz.....	784
	■ Caries risk test (CRT)	784
33.6.	Cytologické vyšetření.....	784
33.7.	Laboratorní vyšetření v ambulantní praxi	785

34. MOLEKULÁRNÍ DIAGNOSTIKA

*Richard Průša, Radim Brdička,
Milan Macek jr.*

34.1.	Úvod.....	787
34.2.	Izolace a purifikace nukleových kyselin	788
	■ Měření koncentrace a čistoty získaného vzorku DNA a RNA	789

34.3.	Délkový polymorfismus restrikčních fragmentů (RFLP)	789	35.1.3.	Cytogenetické laboratoře.....	811
34.4.	Hybridizační metody	791	35.1.4.	Metody klinické cytogenetiky.....	811
34.5.	Reverzní transkripce	792	■	Vyšetřované tkáně a kultivace	811
34.6.	Amplifikační metody	792	■	Příprava mikroskopických preparátů	812
34.6.1.	Polymerázová řetězová reakce	792	■	Metody barvení chromosomů.....	812
34.6.2.	Ligázová řetězová reakce	796	■	Hodnocení preparátů	813
34.6.3.	Q-β replikázová reakce	796	35.1.5.	Standardizace v lidské cytogenetice.....	813
34.6.4.	3SR amplifikační reakce	796	■	Základy nomenklatury.....	814
34.7.	Elektroforetické metody	796	■	Symbody a zkratky	814
34.7.1.	Polyakrylamidová gelová elektroforéza.....	797	35.1.6.	Počítačová analýza obrazu, příprava karyotypů.....	815
34.7.2.	Metoda analýzy jednovláknového konformačního polymorfismu	797	35.2.	Molekulární cytogenetika	815
34.7.3.	Denaturační gradientová gelová elektroforéza a high resolution melting.....	797	35.2.1.	Hybridizace <i>in situ</i>	815
34.7.4.	Kapilární elektroforéza	798	■	Sondy	816
34.8.	Metody detekce.....	798	■	Fluorescenční mikroskopie.....	817
34.9.	Sekvenování nukleových kyselin.....	799	35.2.2.	Simultánní znázornění několika DNA sond hybridizací <i>in situ</i>	818
34.10.	Sekvenování příští generace.....	800	■	Mnohobarevné karyotypování lidských chromosomů (mFISH)	818
	<i>Radim Brdička</i>		■	Mnohobarevné pruhování s vysokou rozlišovací schopností (mBAND)	818
34.11.	Protein Truncation Test.....	804	■	Hybridizace <i>in situ</i> s vysokou rezolucí (fiber FISH).....	819
34.12.	Branched DNA	804	■	Metody Micro-FISH a PRINS	819
34.13.	Genotypizační metody	804	35.2.3.	Srovnávací genomová hybridizace.....	819
34.13.1.	Genotypizace.....	805	■	Array CGH	820
34.13.2.	Jednonukleotidové polymorfismy.....	805	35.3.	Indikace k vyšetření klasickými a molekulárněcytogenetickými metodami	820
■	Minisekvenování.....	805	35.3.1.	Vyšetření vrozených chromosomových změn	820
■	Metody TaqMan a molecular beacons.....	805	35.3.2.	Vyšetření získaných chromosomových změn nádorových buněk.....	821
■	Fluorescenční rezonanční přenos energie	806	35.3.3.	Vyšetření metodami molekulární cytogenetiky.....	821
■	Varianty ligázou zprostředkované amplifikace.....	806	35.4.	Charakter cytogenetických změn.....	821
■	Pyrosekvenace	806	35.4.1.	Početní změny.....	822
■	Technologie »invader«.....	806	■	Monosomie a trisomie	822
■	Nové formy diagnostického využití komplementární hybridizace DNA.....	807	■	Triploidie.....	822
34.14.	DNA čipy.....	807	35.4.2.	Strukturní změny chromosomů	822
34.15.	Hmotnostní spektrometrie	808	■	Polymorfismus chromosomů	822
34.16.	Vyšetření genové dávky	808	■	Fragilní místa.....	822
34.17.	Multiplex ligation dependent probe amplification	809	■	Translokace	823
34.18.	Metody pro zkoumání methylace DNA	809	35.4.3.	Klinické příznaky vrozených odchylek autosomů a pohlavních chromosomů	823
			35.4.4.	Početní a strukturní odchylky pohlavních chromosomů	823
			35.4.5.	Frekvence výskytu vrozených chromosomových odchylek v populaci	824
			35.4.6.	Prenatální diagnostika.....	824
			35.5.	Nádorová cytogenetika.....	825
35.	CYTOGENETIKA				
	<i>Kyra Michalová</i>				
35.1.	Definice oboru	811			
35.1.1.	Vrozené chromosomové aberace – klinická cytogenetika.....	811			
35.1.2.	Získané chromosomové aberace – onkocytogenetika.....	811			

36. LABORATORNÍ DIAGNOSTIKA DĚDIČNÝCH PORUCH METABOLISMU

Ivan Šebesta, Jiří Zeman

36.1.	Úvod.....	829
36.2.	Klinické projevy metabolických onemocnění.....	829
36.3.	Metabolická onemocnění v dospělosti.....	831
36.4.	Diagnostika dědičných poruch metabolismu	831
36.4.1.	Obecný vyšetřovací postup	831
36.4.2.	Nejčastější klinické projevy.....	832
36.4.3.	Nejčastější laboratorní nálezy.....	832
36.4.4.	Screeningová vyšetření a vyšetření metabolitů v tělesných tekutinách.....	832
36.5.	Vyšetřovací metody.....	833
36.5.1.	Screening	833
	■ Biotinidáza	834
	■ Disulfidy	834
	■ Ketokyseliny.....	834
	■ Mukopolysacharidy- glykosaminoglykany	835
	■ Thiosulfáty	835
36.5.2.	Kvalitativní/semikvantitativní metody..	835
	■ Galaktóza, galaktóza-1-fosfát	835
	■ Kyselina fenylpyrohroznová	835
	■ Sacharidy	835
	■ Siřičitany	835
	■ Sukcinylaminoimidazol- karboxamidribosid (SAICAr)	835
	■ Sfingolipidy	836
36.5.3.	Kvantitativní metody	836
	■ 3-OH-butyryát.....	836
	■ Aminokyseliny	836
	■ Amoniak.....	836
	■ Biotinidáza	837
	■ Fenylalanin.....	837
	■ Tyrosin.....	837
	■ Galaktitol.....	837
	■ Globotriaosylceramid.....	837
	■ Guanidinoacetát, kreatin a kreatinin	837
	■ Glykogen	838
	■ Homocystein	838
	■ Karnitin celkový, volný.....	838
	■ Kreatinin	838
	■ Kyselina močová	838
	■ Kyselina orotová	838
	■ Laktát.....	839
	■ Pyruvát	839
	■ Mukopolysacharidy	839
	■ Sukcinylaceton	839
	■ Oligosacharidy, sialyloligosacharidy.....	839
	■ Organické kyseliny.....	840
	■ Pteriny	840
	■ Puriny, pyrimidiny.....	840
	■ Velmi dlouhé mastné kyseliny a kyselina fytanová.....	840
	■ Metabolity monoaminových neurotransmiterů (HVA, 5-HIAA, MHPG, DOPAC)	840
	■ Tandemová hmotnostní spektrometrie – aminokyseliny, acylkarnitiny	840
36.5.4.	Metabolická vyšetření na úrovni enzymů	840
	■ Molekulárněgenetické vyšetření	841
	■ Metabolické vyšetření na úrovni tkání	842
36.6.	Poruchy metabolismu aminokyselin ...	845
36.7.	Poruchy metabolismu nízkomolekulárních látek s klinicky akutním průběhem	846
36.8.	Hyperamonémie z poruchy cyklu močoviny	846
36.9.	Methylmalonová acidurie	847
36.10.	Galaktosémie	847
36.11.	Poruchy metabolismu vysokomolekulárních látek s klinicky protrahovaným průběhem	847
36.12.	Gaucherova nemoc	848
36.13.	Mukopolysacharidózy	848
36.14.	Poruchy energetického metabolismu	848
36.15.	Glykogenóza typu Ia	850
36.16.	Poruchy β -oxidace mastných kyselin ..	850
36.17.	Dědičné metabolické poruchy purinů a pyrimidinů	850
36.18.	Poruchy metabolismu peroxisomů	851

37. TOXIKOLOGIE

*Daniela Pelclová, Stanislav Štípek,
Tomáš Zima*

37.1.	Definice pojmů	853
37.2.	Faktory ovlivňující toxicitu látek.....	854
37.3.	Diagnóza otrav.....	857
37.4.	Základní biochemická vyšetření	857
37.5.	Laboratorní toxikologická vyšetření....	859
37.6.	Přehled častých otrav	861
37.6.1.	Otravy léky	861
	■ Anilinová skupina (paracetamol) ...	861
	■ Antihistaminika	861
	■ Barbituráty	861
	■ Benzodiazepiny (alprazolam, bromazepam, diazepam, chlordiazepoxid, klonazepam, nitrazepam, flunitrazepam, triazolam, midazolam)	861

■ Inhibitory monoaminooxidázy	862	38.3.	Závislost účinku na koncentraci léčiva	870
■ Lithium	862	38.4.	Interpretace sérové koncentrace léčiv..	873
■ Neuroleptika	863	38.5.	Význam určování koncentrace léčiv	873
■ Psychostimulancia (amfetamin, metamfetamin, fenmetrazin, efedrin)	863	38.5.1.	Fenytoid	873
■ Pyrazolonová skupina (aminofenazon, fenylbutazon, ketofenylbutazon).....	863	38.5.2.	Karbamazepin	874
■ Salicyláty	863	38.5.3.	Digoxin	874
■ Srdeční glykosidy (digoxin, digitoxin).....	863	38.5.4.	Lithium	874
■ Teofylin (aminofylin, etofylin).....	863	38.5.5.	Cyklosporin.....	874
■ Tricyklická antidepresiva (thymoleptika amitriptylin, imipramin, dosulepin, nortriptylin).....	863	38.5.6.	Teofylin	875
37.6.2. Látková závislost.....	864	38.5.7.	Další léčiva	875
■ Fencyklidin (andělský prach)	864	38.6.	Určování aktivity enzymů metabolizujících léčiva	876
■ Kokain	864	38.7.	Příklady výpočtů při terapeutickém monitorování léčiv	876
■ Hašiš a marihuana	864	38.7.1.	Optimalizace parametrů infuzní aplikace	876
■ Opiové alkaloidy	864	38.7.2.	Úprava dávkování při terapeutickém monitorování léčiv	877
37.6.3. Otravy alkoholy a glykoly.....	864	38.8.	Závěr	877
■ Ethanol	864			
■ Glykoly	864			
■ Methanol	865			
37.6.4. Otravy organickými rozpouštědly	865			
■ Toluén, xylen, benzen.....	865			
■ Benzin, nafta, petrolej	865			
■ Chlorované uhlovodíky (trichlorethylen, tetrachlormethan, chloroform).....	865			
37.6.5. Otravy pesticidy.....	865			
■ Insekticidy	866			
■ Herbicidy.....	866			
■ Rodenticidy.....	866			
37.6.6. Otravy jedovatými plyny.....	866			
■ Oxid uhelnatý	866			
■ Kyanovodík, kyanidy	866			
37.6.7. Otravy kovovými prvky a jejich sloučeninami	867			
■ Olovo a rtuť.....	867			
■ Železo	867			
37.6.8. Otravy houbovými jedy (mykotoxiny)	867			
■ Amatoxiny (amanitiny).....	867			
■ Gyromitrin	867			
■ Orelaniny	867			
37.6.9. Otravy rostlinnými jedy	868			

38. TERAPEUTICKÉ MONITOROVÁNÍ KONCENTRACE LÉČIV

František Perlík

38.1.	Úvod.....	869
38.2.	Metody používané při stanovování koncentrací léčiv.....	869

39. LABORATORNÍ DIAGNOSTIKA V PEDIATRII

Richard Průša

39.1.	Úvod.....	879
39.2.	Odběr krve	879
39.2.1.	Odběr ze vpichu	879
39.2.2.	Odběr ze žíly	880
39.2.3.	Odběr z tepny	880
39.3.	Vlastnosti vzorku.....	880
39.3.1.	Objem vzorku	880
39.3.2.	Vypařování	881
39.3.3.	Interference	881
39.3.4.	Označování vzorku	882
39.3.5.	Pomůcky pro odběr.....	882
39.3.6.	Výběr antikoagulancia	882
39.3.7.	Prostředí odběru.....	883
39.3.8.	Odběr mozkomíšního moku	883
39.3.9.	Sběr moči.....	883
39.3.10.	Odběr stolice.....	883
39.3.11.	Transport vzorku.....	883
39.3.12.	Všeobecná upozornění	883
39.4.	Referenční rozmezí	884
39.5.	Laboratorní přístroje a metody	884
39.6.	Poskytování laboratorních služeb v dětské nemocnici.....	885

40. LABORATORNÍ DIAGNOSTIKA V GERIATRII

Eva Topinková

40.1.	Úvod.....	887
40.2.	Definice oboru geriatrie	887

40.3.	Geriatrický pacient.....	887	41.3.1.	Klinické projevy infekčních onemocnění	903
40.4.	Nemocnost ve stáří.....	888	41.3.1.1.	Septické stavy, infekce krevního řečiště, horečka neznámé etiologie.....	903
	■ Charakter nemocnosti.....	888		■ Virové infekce	903
	■ Odlišnosti klinického obrazu nemoci.....	888		■ Bakteriální infekce	904
40.5.	Laboratorní hodnoty, laboratorní normy.....	889		■ Mykotické infekce	905
40.5.1.	Věkově specifické laboratorní normy ..	889		■ Hematogenní diseminace fungálních infekcí	906
40.5.2.	Hodnocení a interpretace laboratorních nálezů u seniora.....	889		■ Parazitární infekce	908
40.5.3.	Indikace laboratorních vyšetření u seniora	890	41.3.1.2.	Další infekce kardiovaskulárního systému	911
40.6.	Fyziologické změny.....	890		■ Srdce	911
40.6.1.	Změny tělesného složení	890		■ Infekce lymfatického systému	912
40.6.2.	Pokles funkce eliminačních orgánů.....	891	41.3.1.3.	Infekce respiračního traktu.....	914
40.6.3.	Hematologické funkce a imunokompetence	891		■ Horní cesty dýchací, ucho.....	914
40.6.4.	Pokles kardiovaskulárních a respiračních funkcí	891		■ Dolní cesty dýchací.....	915
40.6.5.	Neurologické funkce	892	41.3.1.4.	Infekce gastrointestinálního traktu, otravy z potravy	920
40.7.	Vybrané patologické laboratorní nálezy u geriatrických nemocných.....	892	41.3.1.5.	Intraabdominální infekce.....	924
40.7.1.	Vnitřní prostředí	892	41.3.1.6.	Infekce jater a žlučových cest.....	925
40.7.2.	Hematologické patologické laboratorní nálezy	893	41.3.1.7.	Infekce slinivky, sleziny a jiné.....	927
40.7.3.	Endokrinní patologické laboratorní nálezy.....	894	41.3.1.8.	Infekce urogenitálního traktu.....	928
40.8.	Geriatrické syndromy	895		■ Dolní močové cesty	928
40.8.1.	Klinický význam geriatrických syndromů	895		■ Infekce ledvin	930
40.8.2.	Diagnostické algoritmy u vybraných geriatrických syndromů.....	895		■ Reprodukční orgány	931
40.8.2.1.	Syndrom kognitivního deficitu, poruch paměti a chování.....	896		■ Sexuálně přenosné infekce (STI)	933
	■ Dementní syndrom.....	896	41.3.1.9.	Infekce CNS	934
	■ Delirium	896	41.3.1.10.	Infekce oka	937
40.8.2.2.	Syndrom poruch příjmu potravy a poruch výživy (malnutrice)	897	41.3.1.11.	Infekce kůže a měkkých tkání.....	939
40.8.2.3.	Syndrom inkontinence	897	41.3.1.12.	Infekce kostí a kloubů.....	947
40.8.2.4.	Syndrom celkové dekondice a svalové slabosti (sarkopenie), syndrom geriatrické křehkosti.....	898	41.3.1.13.	Odontogenní a orofaciální infekce.....	948
	■ Sarkopenie	898	41.3.1.14.	Jiné infekce	948
			41.3.1.15.	Přehled nejčastějších původců virových, bakteriálních, mykotických a parazitárních infekcí a možnosti jejich diagnostiky	950
41.	LABORATORNÍ DIAGNOSTIKA V MIKROBIOLOGII <i>Libuše Kolářová, Václava Adámková, Naďa Mallátová, Barbora Kletenská, Pavel Dřevínek</i>		41.4.	Validní materiál k mikrobiologickému vyšetření	962
41.1.	Úvod.....	901	41.4.1.	Infekce krevního řečiště, systémové infekce.....	963
41.2.	Základní informace k mikrobiologickému vyšetření.....	901	41.4.2.	Dýchací cesty, ústní dutina a ucho.....	963
41.3.	Indikace, riziko a účelnost mikrobiologického vyšetření.....	903	41.4.3.	Infekce gastrointestinálního traktu	963
			41.4.4.	Močové cesty.....	974
			41.4.5.	Pohlavní systém	974
			41.4.6.	Centrální nervový systém	974
			41.4.7.	Oko.....	974
			41.4.8.	Kůže.....	984
			41.4.9.	Bioptický materiál, punktáty, sekční materiál.....	984
			41.4.10.	Ascites, tekutina z Douglasova prostoru, perikardiální výpotek, pleurální tekutina, kloubní punktát, žluč.....	984
			41.4.11.	Obsah patologických dutin, hnis.....	984
			41.4.12.	Cizorodý materiál a dialyzát	984

41.4.13.	Materiál pro molekulárněgenetické vyšetření	993	42.2.1.	Odběry biologických materiálů	1022
41.5.	Metody mikrobiologického průkazu infekčního agens, interpretace výsledků a testy citlivosti na antimikrobní látky	993	■ Krev	1022	
41.5.1.	Přímý průkaz agens	993	■ Moč	1023	
41.5.1.1.	Mikroskopický průkaz	993	■ Ostatní biologické materiály	1023	
■ Virologie	995		42.2.2.	Zpracování vzorku	1023
■ Bakteriologie	995		42.3.	Optické metody	1023
■ Mykologie	995		42.3.1.	Absorpční fotometrie	1023
■ Parazitologie	996		■ Vertikální fotometrie	1024	
41.5.1.2.	Kultivace a testování citlivosti na ATB (MIC, MAC, MBC)	997	42.3.2.	Reflexní fotometrie	1024
■ Virologie	998		42.3.3.	Plamenová emisní fotometrie	1025
■ Bakteriologie	998		42.3.4.	Atomová absorpční spektrofotometrie	1025
■ Mykologie	999		42.3.5.	Fluorimetrie	1026
■ Parazitologie	1000		■ Fluorescenční polarizace	1026	
41.5.1.3.	Průkaz antigenu	1000	■ Fluorescence rozložená v čase	1026	
■ Virologie	1000		42.3.6.	Chemiluminiscence	1026
■ Mykologie	1001		42.3.7.	Turbidimetrie	1027
■ Parazitologie	1001		42.3.8.	Nefelometrie	1027
41.5.1.4.	Molekulárněgenetické metody	1002	42.4.	Elektrochemické metody	1027
41.5.2.	Nepřímý průkaz agens	1004	42.4.1.	Potenciometrie	1027
41.5.2.1.	Interpretace sérologického výsledku	1005	■ Iontově selektivní elektrody	1027	
■ Virologie, bakteriologie	1005		■ Enzymové elektrody	1028	
■ Mykologie	1005		42.4.2.	Ampérometrie	1028
■ Parazitologie	1006		42.4.3.	Voltametrie	1028
41.5.2.2.	Sérologické metody běžně dostupné v ČR	1007	42.4.4.	Polarografie	1028
41.5.3.	Doplňující laboratorní vyšetření	1007	42.4.5.	Coulometrie	1028
■ Virologie a bakteriologie	1009		42.4.6.	Konduktometrie	1029
■ Mykologie	1010		42.4.7.	Biosenzory	1029
■ Parazitologie	1010		42.5.	Elektroforetické metody	1029
41.6.	Nosičství mikroorganismů	1011	42.5.1.	Zónová elektroforéza	1029
41.7.	Závěr	1013	42.5.2.	Izoelektrická fokusace	1030
			■ Dvourozměrná elektroforéza	1030	
			42.5.3.	Izotachoforéza	1030
			42.5.4.	Kapilární elektroforéza	1030
			42.5.5.	Blotting	1030
			42.6.	Fyzikální metody	1031
			42.6.1.	Osmometrie	1031
			42.6.2.	Onkometrie	1031
			42.6.3.	Ultracentrifugace	1031
			42.6.4.	Počítání částic a analýza obrazu	1031
			42.6.5.	Amplifikace termocyklery a termomixéry	1032
			42.7.	Izotopové metody	1032
			42.7.1.	Radioaktivita a radiační bezpečnost ..	1032
			42.7.2.	Scintilační systémy	1033
			42.7.3.	Využití γ -záření	1033
			42.7.4.	Autoradiografie	1033
			42.8.	Chromatografické metody	1033
			42.8.1.	Chromatografie na tenkých vrstvách ..	1033
			42.8.2.	Vysokoúčinná kapalinová chromatografie	1034
			42.8.3.	Plynová chromatografie	1034
			42.9.	Hmotnostní spektrometrie	1035
			42.10.	Automatické analyzátory	1035
			42.10.1.	Univerzální automatické analyzátory	1035

42. INSTRUMENTÁLNÍ ANALÝZA V KLINICKÉ BIOCHEMII A JEJÍ PRAKTICKÉ APLIKACE

Petr Štern

42.1.	Instrumentace preanalytické fáze	1019
42.1.1.	Pipety, byrety	1019
42.1.2.	Dávkovače a dávkovací stanice	1019
42.1.3.	Roboty	1020
42.1.4.	Centrifugy	1020
42.1.5.	Filtrace	1020
42.1.6.	Postupy při koncentrování roztoků ...	1021
42.1.7.	Míchačky, třepáčky a míchací stanice	1021
42.1.8.	Váhy	1021
42.1.9.	Automatizace preanalytické fáze	1022
42.2.	Odběr vzorku a jeho zpracování	1022

42.10.2.	Speciální automatické analyzátory.....	1036
42.10.3.	Kombinované automatické systémy ..	1036
42.10.4.	Konsolidace a integrace	1036
42.10.5.	Automatizace u lůžka pacienta	1037
42.11.	Jednotky v klinické biochemii	1037
42.12.	Bezpečnost práce v laboratorní medicíně	1038

43. CHEMOMETRIE

Blanka Míková, Hana Benáková

43.1.	Úvod.....	1039
43.2.	Základní statistické pojmy	1039
43.2.1.	Teorie chyb	1039
43.2.2.	Jednorozměrná náhodná veličina	1040
43.2.3.	Rozdělení náhodných veličin.....	1040
	■ Normální rozdělení $N(\mu, \sigma^2)$	1040
43.2.4.	Charakteristiky jednorozměrné náhodné veličiny	1041
	■ Charakteristiky polohy.....	1041
	■ Charakteristiky variability (rozptýlení)	1041
	■ Charakteristiky šikmosti.....	1042
	■ Charakteristiky špičatosti	1042
43.3.	Průzkumová analýza jednorozměrných dat.....	1043
43.3.1.	Postup analýzy dat.....	1043
43.3.2.	Metody průzkumové analýzy dat	1043
	■ Kvantilový graf	1043
	■ Diagramy rozptýlení.....	1044
	■ Krabicové grafy	1044
	■ Graf rozptýlení s kvantily.....	1044
	■ Kvantilo-kvantilový graf.....	1044
43.3.3.	Ověření základních předpokladů o datech.....	1045
	■ Určení minimální velikosti výběru	1045
	■ Ověření předpokladu nezávislosti prvků výběru	1046
	■ Ověření homogenity výběru	1046
	■ Ověření normality výběru	1046
43.3.4.	Transformace dat.....	1046
43.3.5.	Postup při nesplnění předpokladů o datech	1046
43.4.	Statistická analýza jednorozměrných dat.....	1047
43.4.1.	Základní pojmy teorie bodového odhadu.....	1047
43.4.2.	Robustní bodové odhady	1047

	■ Robustní odhady polohy a rozptýlení	1047
	■ Neparametrické bodové odhady....	1048
43.4.3.	Základy intervalového odhadu.....	1048
43.4.4.	Testování statistických hypotéz	1048
	■ Testy hypotéz o parametrech jednoho souboru	1049
	■ Testy hypotéz o parametrech dvou a více souborů.....	1049
43.5.	Korelační a regresní analýza	1050
43.5.1.	Korelace	1051
43.5.2.	Regrese.....	1053
43.5.3.	Porovnání předpokladů korelace a regrese	1055
43.5.4.	Vícenásobná regrese.....	1056
43.5.5.	Praktické využití korelace a regrese ...	1057
43.6.	Referenční hodnoty laboratorních vyšetření.....	1057
43.6.1.	Určení referenčního rozmezí	1057
43.7.	Statistické zpracování dat epidemiologických studií	1058
43.7.1.	Typy epidemiologických studií.....	1058
43.7.2.	Základní statistické ukazatele epidemiologických studií	1060
	■ Ukazatele asociace	1060
	■ Relativní riziko a poměr šancí.....	1061
43.7.3.	Analýza přežití	1063
	■ Tabulka přežití.....	1063
	■ Odhad funkce přežití podle Kaplana a Meiera.....	1064
	■ Coxova regrese	1065

44. REFERENČNÍ HODNOTY LABORATORNÍCH VYŠETŘENÍ

Kateřina Mrázová, Petr Štern, Sylvie Štátná, David Zeman, Ivana Janatková, Tomáš Zima

44.1.	Úvod.....	1069
44.2.	Referenční hodnoty laboratorních parametrů.....	1070
SUMMARY		1103
PODĚKOVÁNÍ.....		1104
ZKRATKY		1105
REJSTŘÍK.....		1123

Předmluva profesora Jaroslava Blahoše

Vzhledem k tomu, že jsem měl tu čest napsat předmluvu k 1. i 2. vydání velkolepého díla autorského kolektivu vedeného p. prof. Zimou, ujal jsem se rád předmluvy také k tomuto třetímu vydání. Mohl jsem tak porovnat aktuální dílo s předchozími. Třetí vydání názorně odráží rychlost vývoje poznatků v laboratorní diagnostice, v jejich racionálním uplatňování a rovněž zkušenosti renomovaných autorů, získané v průběhu let. Kromě nových poznatků v »klasických« metodách obohatili autoři tuto tematiku o nové stati o laboratorní diagnostice např. v ortopedii, neurochirurgii, transfuzním lékařství a mikrobiologii i o návrhy algoritmů účelného vyšetření. Dílo se tak rozrostlo do nebývalé šíře a pokrývá aktuálními laboratorními možnostmi celou medicínu.

Lékaři se dostává do ruky publikace, kterou zcela určitě přivítá. Ulehčí mu jinak těžkou orientaci v dnešních možnostech a v jejich rozumném výbě-

ru při diagnostice, léčbě, prevenci i při posuzování prognózy nemoci.

Z vlastní praxe vím, jak nesnadné je někdy požadovat na laboratoři právě ta vyšetření, která poskytnou co nejvíce potřebných informací. Plejáda vyšetření bez cílených požadavků je náročná na peníze, čas i energii. Autoři zdůrazňují proto účelnou spolupráci lékaře s laboratoří. Spolupráce pomůže oběma stranám, ale hlavně pacientovi.

Knihu použijí zajisté nejen pedagogové na fakultách, ale i lékaři při postgraduálním a celoživotním vzdělávání.

S potěšením gratuluji iniciátorovi díla profesoruvi T. Zimovi a jeho spolupracovníkům. Budou mít jistě radost, že kniha najde své obdivovatele, k nimž patřím.

prof. MUDr. Jaroslav Blahoš, DrSc.

Předmluva profesora Václava Pačesa

Když jsem psal krátké úvodní slovo ke druhému vydání *Laboratorní diagnostiky*, konstatoval jsem: »...jsem si jist, že autoři, když listují vědeckými časopisy, už s povzdechem uvažují o tom, kdy bude třeba připravit další vydání se zahrnutím nových poznatků.« No, a už je to tady, právě vychází aktualizované a rozšířené třetí vydání.

Nové citlivé přístroje umožňují daleko přesnější biochemické analýzy, než tomu bylo ještě před deseti lety, kdy vyšlo první vydání této knihy. A co je důležité, analytické metody se automatizují a zrychlují, což může znamenat větší naději na včasnou diagnostiku a léčbu. Velký pokrok udělaly například diagnostické metody v mikrobiologii. Citlivé a často absolutní metody využívající analýzu DNA stále více prostupují celou diagnostikou. Vyšel překlad knihy

Francise Collinse *Řeč života*, kde je mimo jiné nastíněna i vize budoucí diagnostiky, založené na včasných předpovědích nástupu chorob, založených na znalostech lidského genomu každého z nás. A tak autoři tohoto vydání *Laboratorní diagnostiky* mají o práci postaráno na léta dopředu.

Osvědčení pořadatelé knihy, Tomáš Zima a jeho spolupracovníci Antonín Kazda, Richard Průša a Petr Štern, odvedli opět skvělou práci. A tak u jejího třetího vydání nemohu než opakovat z úvodního slova k vydání druhému: »Laboratorní diagnostika je zdařilá kniha, která poslouží jako učebnice stejně jako praktická příručka. Autorům gratuluji a uživatelům přeji, aby jim v jejich odpovědné práci pomáhala.«

prof. RNDr. Václav Pačes, DrSc.

Úvod

*Neměli bychom přestávat zkoumat
a na konci všech bádání
se dostaneme na začátek
a konečně ho pochopíme.*

Thomas Stearns Eliot (1888–1965)

V moderní době zaznamenáváme neustálý a rychlý nárůst poznatků ve všech oborech medicíny. Jedním ze základních přístupů v diagnostice, léčbě a prevenci nemocí jsou laboratorní vyšetření. »Laboratorní« vyšetření tělních tekutin bylo prováděno již od starověku, avšak k rozvoji laboratorní diagnostiky dochází až ve druhé polovině 20. století. Nápadným rysem současné doby je skutečnost, že rozvoj laboratorních diagnostických metod a přístupů, především v oblasti molekulární biologie a čipových technologií, se nezpomaluje, ale naopak zrychluje.

Před jedenácti lety vyšlo první vydání monografie Laboratorní diagnostika. Podnětem k jejímu napsání byla skutečnost, že existovalo pouze několik knih zabývajících se laboratorní diagnostikou, i když ji využívá každodenně skoro každý lékař – od praktiků přes ambulantní specialisty až po lékaře v nemocnicích. Byli jsme rádi, že naše monografie našla řadu čtenářů, k nimž patří univerzitní učitelé, lékaři a pracovníci v laboratořích. Za několik let byla kniha vyprodána a před šesti lety vyšlo druhé, aktualizované a rozšířené vydání.

Ve druhém vydání byly »pouze« dvě nové kapitoly: Laboratorní diagnostika v urologii a Cytogenetika. Řada kapitol byla aktualizována, objevily se v nich poznatky o molekulární podstatě chorob z hlediska možné diagnostiky i prognózy onemocnění.

Zájem o druhé vydání a rychle se rozvíjející poznatky v laboratorních diagnostických postupech, nové analyty či přístupy nejen v oblasti molekulárně-biologických nebo proteomických technik nás vedly k přípravě třetího vydání.

Třetí, rozšířené a aktualizované vydání obsahuje nové kapitoly – laboratorní diagnostika v ortopedii, neurochirurgii a transfuzním lékařství. Nově je kniha rozšířena o rozsáhlou kapitolu laboratorní diagnostiky v mikrobiologii, která nebyla řadu let přehledně zpracována. V tomto vydání monografie zahrnuje všechny oblasti laboratorní medicíny a po-

skytuje tak ucelený pohled na současné možnosti laboratorní diagnostiky.

Kniha obsahuje kromě nových přístupů a postupů i popis testů a analytů tradičně používaných desítky let. Bez nich by nebyla pokryta celá šíře laboratorních vyšetření a unikala by řada souvislostí. Pokusili jsme se též uvádět racionální přístupy a algoritmy k diagnostice onemocnění. Rychlý vývoj poznatků v oblasti patofyziologie a patobiochemie umožňuje tyto klasické parametry neustále hodnotit z nových hledisek a v dříve neznámých souvislostech.

Do třetího vydání jsme se snažili zahrnout nové údaje, naposledy v létě letošního roku.

V době, kdy se každý den objevují nové poznatky a informace o podstatě lidských nemocí, nové polymorfismy genů, nové regulace v signálních kaskádách, je obtížné psát knihu o diagnostice. Jsme si vědomi, že jsme nemohli obsáhnout vyčerpávajícím způsobem celou oblast laboratorní diagnostiky.

Chtěl bych především poděkovat prof. MUDr. Antonínu Kazdovi, DrSc., doc. RNDr. Petru Šternovi, CSc., a prof. MUDr. Richardu Průšovi, CSc., a kolegům z Ústavu lékařské biochemie a laboratorní diagnostiky I. LF UK a VFN za konzultace a pomoc při zpracování monografie.

Můj dík a obdiv patří recenzentovi prof. MUDr. Jaroslavu Rackovi, DrSc., který svými podněty a připomínkami monografii obohatil a zkvalitnil.

Jsem velmi zavázán nakladatelství Galén za pečlivou jazykovou korekturu textů, za pochopení a trpělivost pro odbornou terminologii, chemické vzorce, indexy, rovnice a výpočty a též celému týmu nakladatelství za přípravu obrazové dokumentace a zpracování monografie.

Je třeba se rovněž zmínit o podpoře a pochopení od našich blízkých, jimž nás příprava této monografie vzdálila na dny, týdny či měsíce a kteří se smířili s tím, že jsme se opakovaně zabývali textem, opra-

vovali jej a doplňovali. Podporu a pochopení jsme našli rovněž u našich kolegů a spolupracovníků, kteří nám pomáhali svými radami a zkušenostmi.

Snahou mojí i celého autorského kolektivu bylo, aby v knize nacházeli potřebné informace jak naši budoucí kolegové již v době pregraduálního studia, tak i pracovníci laboratorních oborů v době postgraduálního zvyšování své kvalifikace. Přejeme si, aby Laboratorní diagnostika patřila mezi knihy,

o kterých vždy víme, a aby byla prospěšná pro lékaře nejrozličnějších oborů, kteří hledají informace o laboratorním vyšetření a jeho interpretaci.

Přejeme si, aby třetí, aktualizované a rozšířené vydání sloužilo ku prospěchu při diagnostice a léčbě našich pacientů, ale i v preventivní péči nám všem.

Tomáš Zima
Praha, 31. července 2013

1. Obecný úvod k laboratornímu vyšetření

Tomáš Zima, Květa Pelinková

1.1. Úvod

Laboratorní vyšetření nás informují o probíhajících procesech v lidském organismu a jejich změnách – jak fyziologických, tak patologických. Nemoc je vlastně narušení rovnováhy, přeměna fyziologických dějů v patologické, a tyto změny se bezprostředně projeví ve změnách biochemických reakcí organismu. Změny laboratorních hodnot se mohou v některých případech objevit ještě dříve, než se nemoc u pacienta projeví; určité parametry reflektují patologické změny v rozmezí několika minut (např. myoglobin u akutního infarktu myokardu).

Obor klinické biochemie a laboratorní diagnostiky se v posledních letech velmi dynamicky rozvíjí, především s rozvojem přístrojové techniky, informačních technologií a s novými poznatky v oblasti molekulární biologie. Podle statistických údajů ze Spojených států 70–80 % lékařských rozhodnutí v nemocniční péči závisí na laboratorních testech, a to při poměrně nízkých nákladech, které činí 3–5 % celkových nákladů na zdravotní péči.

Z pohledu trendu vývoje jednotlivých součástí laboratorní diagnostiky v posledních pěti letech lze pozorovat stagnaci či malý nárůst do 5 % meziročně v klinické biochemii, hematologii, mikrobiologii, imunochemických a statimových vyšetřeních. Nárůst 10–15 % je zaznamenán u vyšetřování glukózy, což souvisí s celosvětovým nárůstem výskytu diabetes mellitus, a také u vyšetření u lůžka pacienta (point-of-care testing, POCT). Molekulární biologie zaznamenává významný každoroční nárůst (cca 25–30 %), který je dán rozvojem technologií čipů (mikroarray), ale také vyšší dostupností a zaváděním těchto technik do běžné praxe (diagnostika hepatitid, vyšetřování mutací, např. leidského faktoru, atd.).

V laboratorní diagnostice můžeme očekávat preferování integrovaných laboratorních služeb spoje-

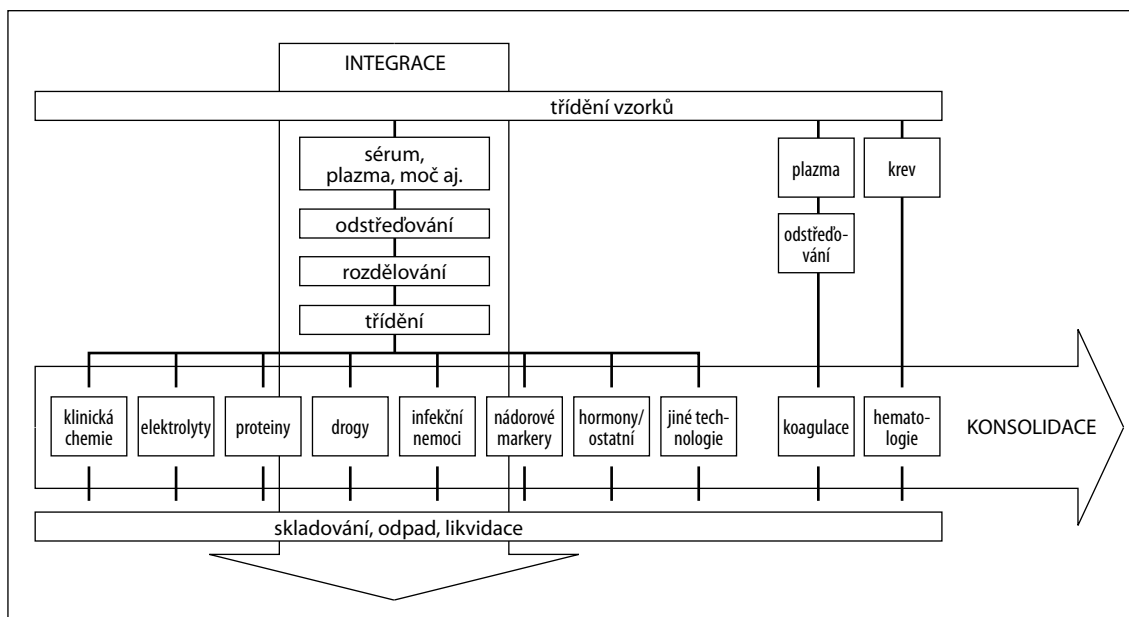
ním centralizovaných tzv. core laboratoří se systémy POCT nebo s vyšetřením u pacienta (near-patient testing, NPT), které zrychlují diagnostiku nejen u lůžka nemocného, ale i v domácí péči. Vzniká také efektivní propojení laboratoří na různých místech s vytvářením interdisciplinárních týmů (biochemik, hematolog, imunolog, mikrobiolog, toxikolog, biolog). Nové poznatky molekulární biologie se přесouvají z výzkumné roviny do běžného používání.

Základní trendy v laboratořích lze shrnout do několika bodů:

- laboratorní automatizace a robotika;
- konsolidace laboratoří;
- akreditace laboratoří;
- informační systémy;
- molekulárněbiologická diagnostika (čipy, proteomika);
- POCT;
- zobrazovací analýzy.

Ve světě existují tři základní modely přístupů k automatizaci a konsolidaci laboratoří (obr. 1.1.). Tyto směry jsou reprezentovány Japonskem, USA a zeměmi Evropské unie. V Japonsku bylo dosaženo vysokého stupně úplné automatizace laboratorních činností od fáze preanalytické přes analytickou až po fázi postanalytickou s částečnou konsolidací oborů. Ve Spojených státech existuje obor »clinical pathology«, který kromě patologie a cytologie zahrnuje klasické obory laboratorní diagnostiky – biochemii, hematologii, mikrobiologii, toxikologii. Je zde preferován vysoký stupeň konsolidace laboratoří s tzv. modulární automatizací. Modulární automatizace znamená propojení jednotlivých vysoce výkonných analytických systémů. V zemích Evropské unie se dává přednost vysokému stupni modulární automatizace včetně preanalytického zpracování vzorku. Konsolidace laboratorních oborů se v jednotlivých zemích Unie liší.

Laboratoř má být organizována tak, aby uspokojovala potřeby »zákazníků« – pacientů a lékařů, kte-



Obř. 1.1. Laboratorní integrace a konsolidace

ří od ní vyžadují komplexnost služeb, vysokou kvalitu prováděných vyšetření, možnost konzultací a samozřejmě především včasné a rychlé dodání výsledků. Rozvoj špičkových laboratornědiagnostických technologií a jejich ekonomická dostupnost jsou nutným předpokladem pro urychlení diagnostického a následně léčebného procesu, který tak může být kvalitnější, cílený, a tím také efektivnější.

Laboratorní vyšetření můžeme rozdělit na:

- základní;
- speciální;
- vysoce specializovaná.

Toto dělení vychází z potřeby, ale také dostupnosti a rychlosti vyšetření. Základní vyšetření musí být rychle dostupná a v lůžkových zařízeních dostupná nepřetržitě. Vysoce specializovaná vyšetření se naopak mají provádět centralizovaně v laboratořích, např. v jedné nebo několika málo v republice, které tyto metody, většinou i ekonomicky nákladné, provádějí analyticky správně, ale především mají zkušenosti s interpretací nálezů a případnou indikací doplňujících vyšetření.

Z hlediska požadavků na rychlost provedení vyšetření dělíme na:

- rutinní;
- statimová;
- vitální indikace.

Vyšetření označené jako vitální indikace je ordinováno v situaci spojené s ohrožením života, kdy výsledek má vliv na přežití pacienta. Musí být provedeno bez odkladu (výsledek dostupný do 30, popř. 15 minut od dodání vzorku do laboratoře). Statimové vyšetření je ordinováno v situaci, kdy výsle-

dek vyšetření může zásadním způsobem ovlivnit rozhodování o další péči o pacienta. Vyšetření se provádějí přednostně a mají být dostupná do 60, popř. 30 minut od dodání vzorku do laboratoře. V moderních konsolidovaných laboratorních celcích se pomalu stírá rozdíl mezi rutinním a statimovým vyšetřením. Z hlediska rychlé dostupnosti výsledků je někdy vhodné provádět základní vyšetření na místě, tzv. POCT. Nejčastěji se jedná o stanovení glukózy, kardiálních markerů, parametrů acidobazické rovnováhy a iontů, hemokoagulace a dalších analytů.

1.2. Obecné charakteristiky metody

Stanovení požadovaného analytu může být prováděno celou řadou metod, tj. analytických postupů, které ovšem mohou mít různou výpovědní hodnotu. S rozvojem řady technologií v posledních desetiletích se správnost a spolehlivost analytických postupů výrazně zvýšily.

Metody musíme vždy posuzovat z pohledu **analytické spolehlivosti**. Ta závisí na přístrojovém vybavení, na používání validovaných, dokumentovaných postupů měření a vhodných kalibračních a kontrolních materiálů, na sledování analytické kvality metody; neméně významnou roli zde hraje i zkušenost a kvalifikace personálu laboratoře. Klíčovou vlastností dobrých laboratorních výsledků je návaznost, tedy porovnatelnost výsledků bez ohledu na to, kde vznikly.

■ Nejčastěji vyhodnocované výkonnostní parametry analytické metody/postupu měření

Preciznost měření je těsnost shody mezi naměřenými hodnotami veličiny získanými opakovaným měřením na stejném objektu nebo na podobných objektech za specifikovaných podmínek.

Pro hodnocení metod v laboratorní praxi se zpravidla používá jako **opakovatelnost** (podmínka opakovatelnosti zahrnuje stejný postup měření, stejný obslužný personál, stejný měřicí systém, stejné pracovní podmínky a stejné místo; měření je provedeno v krátkém časovém intervalu) a jako **mezilehlá preciznost** (podmínka mezilehlé preciznosti zahrnuje stejný postup měření, různý obslužný personál, stejný měřicí systém – alternativně různé měřicí systémy, stejné místo; měření je provedeno v rozšířeném časovém úseku). Výše uvedené parametry se obvykle stanovují v jedné laboratoři a slouží ke kvantifikaci náhodné chyby měření.

Vychýlení (bias) je hodnota odhadu systematické chyby měření. Nejčastěji se určuje na základě analýzy referenčního materiálu jako rozdíl mezi střední hodnotou naměřených hodnot a přijatou referenční hodnotou. Vychýlení může být vyjádřeno jako analytická **výtěžnost R** (podíl nalezené hodnoty a referenční hodnoty). Referenční hodnotu získáme buď z hodnoty certifikovaného referenčního materiálu, nebo z přídatku (spike) stanovovaného analytu do matrice. Stanovení vychýlení ve vztahu k vhodné referenční hodnotě je významné pro dosažení **návaznosti**.

Návaznost je vlastnost výsledku měření, pomocí níž může být výsledek vztažen ke stanovené referenci přes dokumentovaný nepřerušovaný řetězec kalibrací. Návazností se dosahuje porovnatelnosti výsledků nezávisle na čase a místě vzniku.

Pracovní rozsah měření je interval, v němž lze bezpečně očekávat, že platí výrobcem, popř. laboratoři deklarované hodnoty preciznosti a vychýlení analytické metody.

Robustnost je schopnost metody poskytovat přijatelné výsledky měření i v případě, že dojde k malým změnám parametrů charakterizujících analytický postup. Udává spolehlivost metody při běžném používání. Experimentálně se vyhodnocuje úmyslným zanášením malých změn oproti standardnímu operačnímu postupu.

Selektivita (interference) je schopnost metody rozlišovat mezi analytem, který má být stanoven, a ostatními složkami vzorku. Studie selektivity zkoumají vliv pravděpodobných interferentů obvykle jejich přidáváním ke vzorku a zjišťováním odezvy. Základními testovanými interferenty v případě séra/plazmy jsou hemoglobin, bilirubin a triacylglyceroly.

Nejistota měření je parametr přidružený k výsledku, charakterizující rozptýlení hodnot, jež jsou na základě dostupných informací přiřazovány měřené veličině. Výsledek měření analytu určitou metodou je v laboratorní medicíně, stejně jako výsledek každého měřicího procesu, jen odhadem skutečné koncentrace (obsahu, množství). Tento výsledek měření tedy nemůže představovat **vlastní exaktní hodnotu** bez znalosti přidruženého údaje, kterým je nejistota výsledku. Nejistota demonstruje metrologickou kvalitu výsledků měření, zlepšuje porozumění analytickému procesu a umožňuje porovnávat výsledky měření. Bez znalosti nejistoty není možné odhadnout stupeň spolehlivosti výsledku při jeho použití v klinické praxi.

Složky nejistoty měření lze získat způsobem A (statistickou analýzou naměřených hodnot), nebo **způsobem B** (data z certifikátů referenčních materiálů, informace z kalibračních listů, data uváděná výrobcem přístroje, z údajů v odborné literatuře apod.). Obecně se nejistota výsledku měření skládá z několika dílčích složek, z nichž část byla vyhodnocena způsobem A, jiná část způsobem B. Určitým návodem jsou doporučení odborných společností.

■ Nejčastěji užívané pojmy

Standardní nejistota $u_{(x)}$ – nejistota hodnoty veličiny x vyjádřená jako směrodatná odchylka. Informace známé o jednotlivých složkách nejistoty měření jsou převedeny do kvantitativní formy – do hodnot směrodatných odchylek.

Kombinovaná standardní nejistota a zákon propagace nejistot

Podle následujícího obecného pravidla je provedeno sloučení dílčích standardních nejistot a výpočet kombinované standardní nejistoty u_c :

$$u_c^2 = u_1^2 + u_2^2 + \dots + u_n^2$$

kde u_1 až u_n jsou odhady dílčích standardních nejistot měření.

V případě závislosti jednotlivých proměnných jsou použity složitější vztahy uvedené v Kvalimetrii 11.

Kombinovaná rozšířená nejistota U_c

Určuje interval, ve kterém se s danou pravděpodobností dá předpokládat skutečná hodnota měřené veličiny. Rozšíření se provádí s použitím jednoduchého vztahu:

$$U_c = k \cdot u_c$$

ve kterém k je **koeficient rozšíření**. Ve většině případů se hodnota k volí rovna 2 (odpovídá přibližně 95 % intervalu spolehlivosti pro normální rozdělení).

Obecně při vyhodnocování nejistoty měření je potřebné vycházet z doporučení odborných společností, vzít v úvahu vliv nejistoty na výsledek měření. V určitých případech postačí uvádět pouze mezilehlou preciznost nebo opakovatelnost formou směrodatné odchylky. Uvádět nejistoty měření jako součást výsledku vyšetření není z důvodu přehlednosti obvyklé, ale mají být pro klienty laboratoře lehce dostupné.

Analytická spolehlivost je předpokladem pro **validitu** analytické metody, tzn. pro její vypovídací hodnotu. Pro rozhodování v medicíně má zásadní význam hranice, od které můžeme považovat příznak – změnu koncentrace analytu – za pozitivní nález. U většiny analytů dochází k částečnému překrytí zdravých a nemocných, čímž vzniká skupina zdravých s pozitivním testem (falešně pozitivních) a nemocných s pozitivním testem (skutečně pozitivních) a také oblast hodnot skutečně a falešně negativní. Dvě nejzákladnější charakteristiky jsou **specifita testu** a **senzitivita (citlivost) testu**.

Specifita testu je pravděpodobnost, že negativní test vyjadřuje opravdu negativní diagnózu, tedy schopnost testu vybrat případy, u nichž zkoumaný znak (nemoc) nenastává.

Výpočet:

$$SP = \frac{\text{skutečně negativní}}{\text{skutečně negativní} + \text{falešně pozitivní}}$$

Ideální by byla hodnota 1,0, avšak žádný test nemá stoprocentní specifitu. Hodnoty nad 0,95 jsou velmi dobré a nad 0,7 jsou ještě použitelné. Metody vysoce specifické s nízkou falešnou pozitivitou jsou využívány pro konečnou diagnózu často v kombinaci různých testů. Vyšší specifita je potřebná u závažných chorob, protože falešně pozitivní nálezy mohou pacienta poškodit.

Senzitivita testu (citlivost) je pravděpodobnost, že pozitivní test skutečně vyjadřuje pozitivní diagnózu, tedy schopnost testu zachytit přítomnost sledovaného znaku (nemoci).

Výpočet:

$$SEN = \frac{\text{skutečně pozitivní}}{\text{skutečně pozitivní} + \text{falešně negativní}}$$

Čím vyšší je diagnostická citlivost, tím nižší je diagnostická specifita testu, a obráceně. Metody s nízkou falešnou negativitou jsou vysoce senzitivní a slouží dobře pro záchyt. Největší senzitivita je žádoucí tam, kde jde o vážnou léčitelnou nemoc, jejíž diagnostika by neměla selhat. Falešně pozitivní nálezy mohou vést ke škodám souvisejícím s vyloučením nemoci.

Efektivita testu (účinnost) vyjadřuje podíl správně určených osob ke všem vyšetřeným.

Výpočet:

$$\frac{\text{skutečně pozitivní} + \text{skutečně negativní}}{\text{skutečně negativní} + \text{skutečně pozitivní} + \text{falešně negativní} + \text{falešně pozitivní}}$$

Obě veličiny (specifita, senzitivita) se mohou vynést do diagramu (křivky ROC – receiver operating characteristic) a tak přehledně vyhodnotit vypovídací schopnost diagnostického testu.

1.3. Referenční hodnoty

Současné zdravotnictví chápe normálnost jako zdraví a diagnostický problém rozlišení stavu zdraví a nemoci je u kvantitativních znaků řešen pomocí normálního rozmezí intervalu hodnot. Tento termín je nahrazován pojmem **referenční hodnoty**, protože je velmi obtížné definovat termín »normální«. Referenční rozmezí v klinické biochemii jsou nejčastěji stanovena jako interval, ve kterém leží 95 % výsledků referenční populace (2,5–97,5 % percentil). Stanovení referenčního intervalu tedy spočívá především ve vhodné volbě referenční skupiny, vhodném analytickém postupu a statistickém zpracování primárních údajů. Každá laboratoř by si měla prověřit, zda referenční meze převzaté z literatury platí i pro vyšetřovanou populaci pacientů, popř. stanovit vlastní referenční rozmezí. V některých případech mohou být takto stanovené hodnoty závadějící (např. v případě krevních lipidů). Používají se optimální hodnoty (optimální pro prevenci a léčbu), vydané na základě konsenzu odborných společností a publikované většinou ve formě »guidelines«.

Referenční rozmezí závisí na věku, pohlaví a také na použité analytické metodě.

1.4. Laboratorní vyšetření

Laboratorní vyšetření rozdělujeme na tři fáze:

- preanalytickou (mimolaboratorní a laboratorní);
- analytickou;
- postanalytickou.

Preanalytická fáze se významně podílí na správnosti laboratorního vyšetření – až 60 % chyb při laboratorním vyšetření vzniká právě v této fázi. Zahnuje veškeré procesy před vlastním analytickým stanovením, tj. přípravu pacienta před odběrem, vlastní odběr biologického materiálu, jeho uchování a transport z místa odběru do laboratoře, přípravu vzorku před analýzou. Laboratoř má mít zpracová-

na pravidla pro odmítnutí vzorků z důvodu nedodržení podmínek preanalytické fáze, popř. nejednoznačné identifikace vzorků.

Vlastní **analytická fáze** probíhá v souladu s postupy správné laboratorní praxe. Jako nejpodstatnější je třeba uvést nutnost zavedení systému interní kontroly kvality, používání validovaných/verifikovaných vyšetřovacích postupů a zapojení laboratoře do systému externího hodnocení kvality. Tyto systémy výraznou měrou eliminují chyby analytického procesu.

Poslední část – **postanalytická fáze** – má interdisciplinární charakter spolupráce mezi laboratoří a indikujícím lékařem. Jedná se o interpretaci výsledků ve vztahu k fyziologickým hodnotám, k výsledkům dalších vyšetření laboratorního komplementu a ke klinickému obrazu pacienta (anamnéze, objektivnímu nálezů apod.). Výsledky je třeba dávat do vztahu k referenčním hodnotám, k souboru provedených vyšetření, popř. sledovat dynamiku změn analytů v časovém úseku.

1.5. Preanalytická část laboratorního vyšetření

Řada faktorů preanalytické fáze může významným způsobem ovlivnit výsledek vyšetření, a proto je snahou tyto faktory eliminovat, pokud je to možné, nebo je správně interpretovat ve vztahu k výsledku laboratorní analýzy.

Preanalytický proces začíná indikací požadovaného vyšetření a přípravou pacienta k odběru.

Faktory ovlivňující preanalytickou fázi:

- biologické vlivy:
 - ovlivnitelné;
 - neovlivnitelné;
- odběr materiálu;
- transport materiálu;
- skladování materiálu.

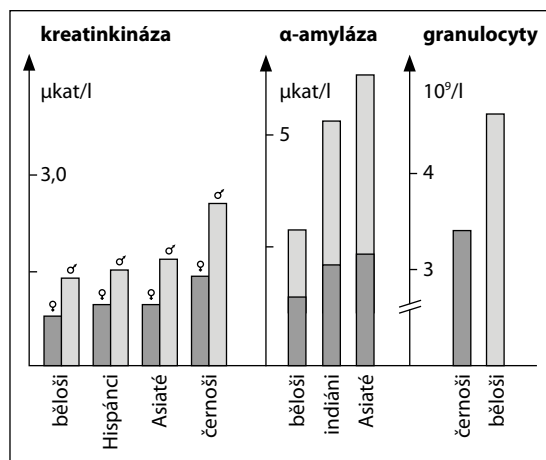
1.5.1. Biologické vlivy

Biologické faktory rozdělujeme na:

- neovlivnitelné (rasa, pohlaví, věk, gravidita, biologické rytmy);
- ovlivnitelné (hmotnost organismu, životní styl, stravovací návyky, kouření, alkohol, léky a drogy, fyzická zátěž a tělesná aktivita, zevní prostředí, mechanické trauma a stres).

Biologické faktory neovlivnitelné

Rasa – někdy je obtížné rozpoznat vliv rasy, socioekonomických a geografických rozdílů na koncentraci

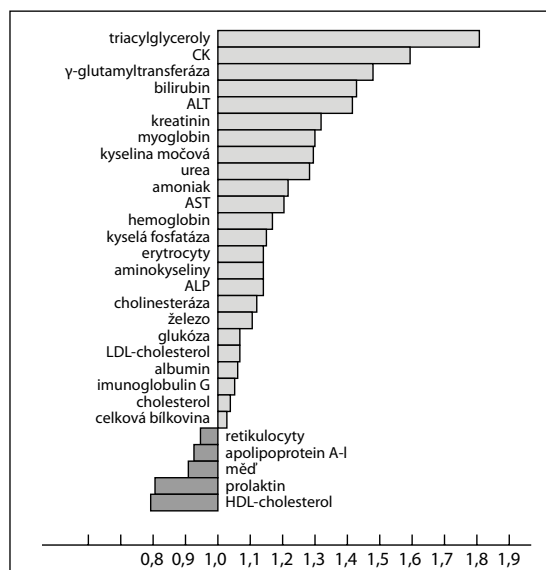


Obr. 1.2. Vliv rasy na vybrané analyty

race analytů. Různé rasy mají odlišné některé metabolické cesty – odlišnou enzymatickou aktivitu, ale také množství svalové hmoty (např. černoši mají až dvojnásobnou aktivitu CK, Asiaté vyšší aktivitu slinné amylázy apod.) (obr. 1.2.).

Pohlaví – před pubertou jsou rozdíly hodnot mezi dívkami a chlapci minimální. Rozdíly v hodnotách analytů nespočívají jen v aktivitě pohlavních hormonů, ale jsou popisovány i rozdíly v koncentraci (aktivitě) ALT, AST, ALP, CK, kyseliny močové, močoviny, hemoglobinu, ferritinu, železa; všeobecně jsou u řady analytů normální hodnoty o něco vyšší u mužů (obr. 1.3.).

Věk – hraje významnou úlohu při správné interpretaci nálezu. Řada biochemických systémů nebo dějů je spojena s určitou fází vývoje organismu. Zde uvádíme jen některé z nich. Koncentrace IgM a IgA lineárně stoupá od narození v souvislosti s jejich



Obr. 1.3. Rozdíly vybraných analytů podle pohlaví (hodnota 1,0 – ženy)

syntézou v organismu novorozence. Koncentrace IgG má odlišnou kinetiku: nejprve dochází k poklesu (v důsledku rozpadu mateřského IgG) a následně k vzestupu (nastartována syntéza IgG novorozencem). Po porodu se zvyšuje koncentrace bilirubinu daná rozpadem erytrocytů s následnou normalizací v průběhu několika týdnů, také koncentrace kyseliny močové stoupá výrazně několik dní po porodu a během týdne klesá k fyziologickým hodnotám. Aktivita ALP je vysoká v dětství a dosahuje maxima v období 10–16 let věku, pak prudce klesá. Vysoké hodnoty v pubertě jsou dány především vývojem skeletu, obdobné hodnoty např. ve věku 40 nebo 50 let by znamenaly patologický nález. Dalším analytem je ferritin, který je nižší u žen ve fertilním věku; postupně se zvyšuje a může dosáhnout až hodnot mužské populace (tyto změny jsou dány fyziologickými ztrátami železa u fertilních žen).

Výše uvedené faktory by měly být zohledněny v rozmezí referenčních hodnot.

Gravidita – těhotenství znamená výraznou změnu biochemických dějů. Změny analytů mohou být dány řadou mechanismů, např. indukci (ALP), zvýšením plazmatických transportních proteinů, proteinů akutní fáze, hormonů v plazmě (thyroxin, ceruloplazmin), hemodilucí (celková bílkovina, albumin), zvýšením tělesného objemu (kreatininová clearance), relativním deficitem (železo, ferritin).

Tab. 1.1. Cirkadiánní rozdíly vybraných analytů

Analyty	Maximum	Minimum	Amplituda (%)
ACTH	6–10	0–4	150–200
kortizol (S, U)	5–8	21–3	180–200
testosteron	2–4	20–24	30–50
TSH	20–2	7–13	5–15
T ₄	8–12	23–3	10–20
somatotropin	21–23 ¹⁾	1–21	300–400
prolaktin	5–7	10–12	80–100
aldosteron	2–4	12–14	60–80
renin	0–6	10–12	120–140
adrenalin (S)	9–12	2–5	30–50
noradrenalin (S, U)	9–12	2–5	50–120
hemoglobin	6–18	22–24	8–15
eozinofily	4–6	2–4	50–70
železo (S)	14–18	2–4	50–70
draslík (S)	14–16	23–1	5–10
fosfát (S)	2–4	8–12	30–40
sodík (U)	4–6	12–16	60–80
fosfát (U)	18–24	4–8	60–80
objem (U)	2–6	12–16	60–80
teplota	18–20	5–7	0,8–1,0 °C

¹⁾ začátek fáze spánku

Biologické rytmy – analyty v lidském organismu podléhají chronobiologickým faktorům jak lineárním (věk), tak cyklickým, z nichž nejvíce prostudovány jsou denní (cirkadiánní) a biologické (např. menstruační cyklus – změna koncentrace hormonů, ale též cholesterolu a železa).

Cirkadiánním změnám nepodléhají jen hormony, ale také běžné analyty, jako je železo (změna až 50 %), draselné ionty, urea, kreatinin a řada dalších. Nejznámější je denní cyklus kortizolu s maximem v ranních hodinách a s večerním minimem s možnou odchylkou až 250 %, ale i jiné analyty mají denní odchylky v řádu desítek procent (AST, ALT, LD, ALP, testosteron, T₄, prolaktin) (tab. 1.1.).

O cyklech sezonních je v současné době málo údajů, jsou známy údaje pouze o některých změnách – např. AST a ALT, triacylglyceroly, vitamin D mají v průběhu ročních období maxima a minima s výchylkou více než 5 %.

Do této skupiny řadíme také intraindividuální variabilitu, necyklickou, nepredikovatelnou variaci, kterou lze minimalizovat pomocí opakovaných odběrů. Dostupné jsou databáze s údaji intraindividuální variability pro jednotlivé analyty.

Biologické faktory ovlivnitelné

Hmotnost organismu – může ovlivnit koncentraci analytů změnou distribučních objemů. S obezitou pozitivně koreluje koncentrace cholesterolu (LDL), triacylglycerolů, kyseliny močové, kortizolu a inzulinu.

Životní styl – tento faktor je nejvíce proměnný a může vést k mylné interpretaci nálezu při špatně provedené anamnéze. Nejznámějším faktorem je strava a její složení, dále pohybová aktivita, abúzus alkoholu, léků a kouření.

Stravovací návyky – ovlivňují různými mechanismy vyšetřované analyty. Vyplavují se hormony a enzymy před příjmem stravy a během jídla, některé analyty se přesouvají do jiných kompartmentů (pokles draselných iontů a fosfátů vlivem vyplavení inzulinu, pokles chloridových iontů). Požití potravy se projevuje nejvíce na koncentraci glukózy, železa, lipidů, ALP. Jídlo bohaté na proteiny zvýší fosfáty, močovinu a kyselinu močovou (tab. 1.2.).

Čtyři dny po změně standardní diety na **vysoce proteinovou** se zdvojnásobí koncentrace urey

Tab. 1.2. Zvýšení sérové koncentrace po požití standardního jídla (za 2 hodiny)

Do 5 %	kyselina močová, albumin, vápník, močovina, sodík, cholesterol
Do 10 %	ALT, draslík
Do 20 %	bilirubin, anorganický fosfát, glukóza, AST
Do 50 %	triacylglyceroly

a zvýší se cholesterol a fosfáty. Dieta **bohatá na tuky** sníží podíl dusíkatých látek, např. kyseliny močové. Strava bohatá na sacharidy zvýší ALP a LD, sníží triacylglyceroly, cholesterol a celkovou bílkovinu, avšak změna aktivity AST závisí na typu sacharidů.

U vegetariánů je LDL- a VLDL-cholesterol velmi nízký, včetně celkového cholesterolu a triacylglycerolů. Jsou jen malé rozdíly v koncentraci bílkovin a enzymů, může docházet k poklesu albuminu a urey, některých stopových prvků, bilirubin bývá zvýšený a pH moči je výrazně alkalické.

Některé potraviny a nápoje mohou ovlivnit specifické metabolické cesty. Příkladem může být kofein se stimulací katecholaminů a zvýšením koncentrace glukózy – dva šálky kávy zvyšují koncentraci volných mastných kyselin.

Kouření – ovlivňuje koncentraci řady analytů především působením nikotinu na metabolismus glukózy, zvyšuje koncentraci cholesterolu a triacylglycerolů, zvyšuje kortizol, olovo, kadmium, karboxylhemoglobin a také CEA (karcinoembryonální antigen), naopak snižuje koncentraci imunoglobulinů a vitaminů B₁₂ a C (tab. 1.3.).

Alkohol – konzumace alkoholu mění biochemické analyty odlišně podle toho, zda se jedná o akutní, nebo chronický abúzus. Jednorázové požití alkoholu v mírné a střední dávce ovlivňuje biologické testy minimálně. Při akutním abúzu se zvyšují triacylglyceroly, aldosteron a klesá prolaktin, antidiuretický hormon, kortizol. Při chronickém abúzu se zvyšuje ALT, AST, GGT, kortizol, adrenalin a estradiol. Dlouhodobý abúzus vede k hypoglykémii a ketoacidóze, stoupá laktát a koncentrace kyseliny močové. Je znám účinek mírných dávek alkoholu na zvýšení HDL-cholesterolu, ten je však přechodný.

Léky a drogy – jejich vliv na laboratorní testy nelze zobecnit. Podávané léky mají vliv na biologické procesy *in vivo* (indukce nebo inhibice enzymů, zvýšení transportních proteinů, cytotoxicita), ale vyvolávají též fyzikálně-chemické interference *in vitro* (zkřížená reaktivita při imunochemických stanoveních). Je třeba upozornit laboratoř, popř. s ní konzultovat nejasný nález, který může souviset s medikací pacienta. Příbalová informace, souhrn informací o přípravku a další materiály uvádějí možné změny laboratorních testů, které příslušná účinná látka může vyvolat nebo se kterými může interferovat.

Tab. 1.3. Změny složení séra kuřáků

Pokles	
do 40 %	Lp(a), ACE
do 20 %	prolaktin
do 10 %	selen, HDL-cholesterol
Vzestup	
do 15 %	fibrinogen, měď
do 30 %	kadmium, olovo, monocyty, lymfocyty
do 60 %	CEA

Fyzická zátěž a tělesná aktivita – ovlivňují změnu složení tělních tekutin v závislosti na délce a intenzitě cvičení. Akutní silová a vyčerpávající zátěž zvyšuje podíl anaerobního metabolismu, při akutních změnách se analyty redistribuují mezi kompartmenty a nastupuje stresová poplachová reakce. Střední zátěž zvyšuje stresovou reakci organismu s následným zvýšením koncentrace glukózy a stimulací sekrece inzulínu, zvyšuje se také aktivita enzymů souvisejících s činností svalů, jako jsou AST, CK, LD, ale i bilirubin. Namáhavé cvičení vede k hypoglykémii a až desetinásobně může stoupnout laktát. Náročné cvičení také zvyšuje reninovou aktivitu a stimuluje sekreci kortizolu s narušením jeho diurnálního cyklu. Cholesterol a triacylglyceroly bývají sniženy.

Zevní prostředí – nemalou měrou ovlivňuje koncentrace analytů. Jedná se o nadmořskou výšku, teplotu prostředí, ale také geografickou lokalizaci – venkov, město. Tyto faktory se uplatňují především u cizinců nebo osob dlouhodobě působících v zahraničí. Cestování přes časová pásma se projevuje změnou některých analytů – nejčastěji dochází k retenci sodíku a tekutin, k normálu se vrací za dva dny po návratu.

Mechanické trauma, stres – svalové trauma i intramuskulární injekce mohou zvýšit aktivitu ALT, AST, CK a koncentraci myoglobinu. Tlak dělohy ve vysokém stupni gravidity zvyšuje aktivitu ALT. Při maratonském běhu, ale také při chlopenních náhradách jsou mechanicky poškozovány erytrocyty s následnou hemolýzou. Po digitálním vyšetření prostaty se zvyšují hodnoty PSA. Stres zvyšuje adrenalin, kortikotropin, katecholaminy, glukagon, somatotropin, renin, aldosteron, kortizol, prolaktin a další.

1.5.2. Odběr biologického materiálu

Nejčastější chyby preanalytické fáze se týkají odběru biologického materiálu a jeho označení. K obecným zásadám při odběru materiálu patří především přesná a jednoznačná identifikace biologického materiálu. Je nezbytné dostatečně označit vzorek (čárovým kódem, štítkem apod.), aby nemohlo při jeho transportu a zpracování dojít k záměně. Při odběru materiálu musíme mít na mysli způsob odběru podle typu biologického materiálu, mít správný odběrový materiál (vhodná stabilizační nebo protisrážlivá činidla), postupovat odpovídající technikou odběru a v neposlední řadě pacienta správně poučit a připravit. V jedné laboratoři nebo v jednom zdravotnickém zařízení je vhodné z hlediska správné laboratorní praxe unifikovat odběrové materiály včetně techniky odběru.

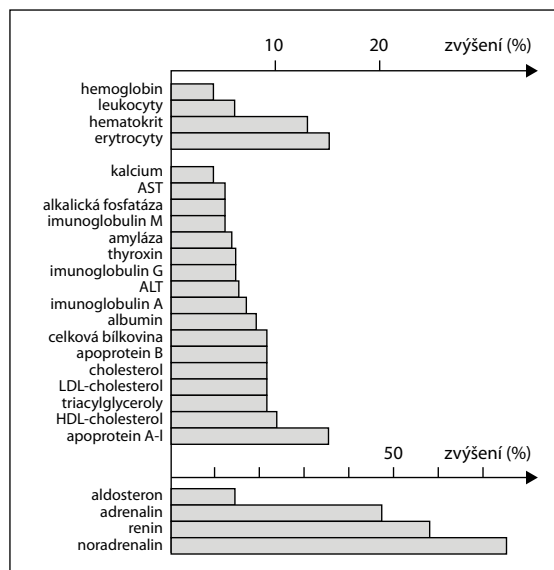
Vlastní odběr může být významně ovlivněn dobou odběru (cirkadiánní rytmy, lačnění), polohou pacienta při odběru, typem odběrových zkumavek a technikou odběru.

■ Odběr krve

Odebírá se krev venózní, arteriální nebo kapilární. Pro laboratorní diagnostiku se nejčastěji používá venózní krev získaná venepunkcí, u malých dětí a nedonošenců se odebírá kapilární krev. Punkce arterií se doporučuje pro vyšetření krevních plynů.

Poučení pacienta hraje klíčovou roli v celém procesu laboratorního vyšetření a je nezbytné pro správnost vyšetření. **Odběr nalačno** pro většinu laické populace znamená nesnídat, ale odběrem nalačno se rozumí, že pacient přibližně 10–12 hodin nejedl, byl v relativním klidu a odběr byl proveden v ranních hodinách. Nedodržením lačnění vznikají zkreslené nálezy v parametrech sacharidového a lipidového metabolismu. Pro některá speciální vyšetření nebo funkční testy jsou předepsána opatření dietní (např. vyšetření kyseliny vanilmandlové, hydroxyindolactové) nebo režimová (PSA může být pozitivní po jízdě na kole apod.).

Venepunkce se provádí u pacienta, který je v klidu a nalačno, paže je natažena. Nemá být používána paže, na které jsou výrazné jizvy, hematom, paže se zavedenou infuzí nebo u žen paže na straně po provedené mastektomii. K odběru se používá kubitální žíla ve fossa antebrachii nebo žíly v loketním ohbí. Žíly na hřbetu ruky je možné využít, ovšem je třeba si uvědomit rizika u diabetiků a osob s horší cirkulací.



Obr. 1.4. Zvýšení plazmatické koncentrace vybraných parametrů při změně polohy vleže do stoje

Poloha pacienta při odběru je velmi významná a může ovlivnit koncentraci řady látek (např. při poloze vstaje je koncentrace vysokomolekulárních látek – bílkovin – asi o 10 % vyšší). Některé hormony (např. aldosteron, renin, adrenalin) mají až o 50 % vyšší koncentraci, jestliže pacient stojí. Změna polohy z lehu do stoje znamená asi 10% redukci krevního volumu se vzestupem koncentrace proteinů. Alterace krevního volumu je úplná asi za 30 min z polohy vstaje do lehu a asi za 10 minut při změně z lehu do stoje (obr. 1.4.). Změny jsou výraznější u hypertoniků a pacientů s nižší koncentrací proteinů a u starších osob. Hospitalizace a imobilizace vede k retenci tekutin s poklesem albuminu a bílkoviny.

Po dezinfekci místa vpichu se přikládá turniket, jehož použití nemá být delší než 1 minuta, a pacient nemá paži »pumpovat« (tab. 1.4.). Vydezinfikovanou kůži je před odběrem nezbytně nutné dokonale osušit. Při delším zaškrcení končetiny (asi 5 min) a výraznějším cvičení dochází až k 10% změně aktivity nebo koncentrace řady analytů (ALT, CK, bilirubin, LD, albumin, cholesterol, AST, vápník, kreatinin, glukóza a další). Tato změna je dána nejčastěji přestupem nízkomolekulárních látek z intravaskulárního prostoru do intersticia v důsledku zvýšení filtračního tlaku přes kapilární stěnu a metabolickými změnami v místě zaškrcení (anaerobní metabolismus).

Odběr krve u dětí je popsán v kap. 37.

V současné době se ve většině případů používají uzavřené vakuové odběrové systémy, které chrání pacienta (není možné je opakovaně použít), a zdravotnický personál provádějící odběr není v žádném kontaktu s krví pacienta.

V případě odběru z katétru je nutné nejprve odsát krev, která v katétru stagnuje nebo je promísená s antikoagulačním činidlem, a pak teprve odebírat krev na laboratorní vyšetření. Jediným bezpečným způsobem je však odběr žilní krve z opačné končetiny nebo opačné strany, než kde je zaveden katétr s infuzí. Při podávání infuzí není vhodné odebírat krev na laboratorní vyšetření. Doporučený čas pro odběr je minimálně 8 hodin po ukončení infuze s tukovou emulzí a přibližně 1 hodina po ukončení

Tab. 1.4. Změna složení séra při venózní okluzi prodloužené z 1 min na 3 min

Zvýšení	%
celková bílkovina	4,9
železo	6,7
lipidy	4,7
celkový cholesterol	5,1
AST	9,3
bilirubin	8,4
Snížení	%
draslík	6,2

Tab. 1.5. Vliv infuze na vybrané analyty

Infuze	Změněný analyt
elektrolyty	podávané elektrolyty (Na, K, Cl, Mg apod.)
glukóza	glukóza, fosfáty, draslík
fruktóza	kyselina močová
citrát	pH, koagulační testy
dextran	trombinový čas, celková bílkovina, urea, určení krevních skupin
γ-globuliny	sérologická vyšetření

pro ostatní infuze. Pokud je odběr nezbytný, doporučuje se odebírat krev z druhé ruky nebo z místa pod intravenózní linkou, ale nikdy ne proximálně od místa infuze (tab. 1.5.).

V případě použití odběru do zkumavek s gelovými separátory je nutné si uvědomit možné ovlivnění výsledku mechanickými a chemickými vlastnostmi gelu a možnou adsorpcí látek na gel.

Jestliže potřebujeme pouze malé množství krve, je možné přistoupit k punkci kůže (nejčastěji odběr u diabetiků ke stanovení glykémie a glykovaného hemoglobinu). Ke zvýšení prokrvení se používá teplý vlhký obklad 3 minuty před vlastním odběrem. Krev se odebírá do kapilár nebo mikrozkumavek. Při odběru tzv. arterializované kapilární krve na vyšetření krevních plynů je nutné pracovat anaerobně (vyhnout se vzduchovým bublinám v kapiláře). Jediným vhodným způsobem je volné odtékání kapilární krve do odběrového zařízení.

Antikoagulační látky

Odběr plné krve (do nádoby s antikoagulačním činidlem) je kromě hematologických vyšetření nutný pro stanovení krevních plynů, amoniaku, glykovaného hemoglobinu, některých stopových prvků, folátu v erythrocytech, pro stanovení glukózy, laktátu, minerálů v plné krvi a pro vyšetření analytů z plazmy. Velkou pozornost je nutné věnovat výběru vhodného protisrážlivého činidla (podle požadovaného vyšetření) a dodržení poměru mezi krví a protisrážlivým činidlem. Vzhledem k tomu, že pro dostatečné sražení krve, a tedy získání séra je nutný čas 15–30 minut, je pro rychlejší dostupnost výsledků vhodnější plazma. Sražení krve je vhodné provést v místě odběru, protože např. okamžitý transport potrubní poštou může vést k hemolýze vzorku a jeho znehodnocení. Mezi běžně užívaná antikoagulantia patří heparin, EDTA, fluorid sodný, citrát sodný, oxaláty. Antikoagulační činidlo může při vyšetřování určitých analytů interferovat. Heparin se užívá jako sodná, draselná, lithná nebo amonná sůl, a tak může stanovení těchto analytů ovlivnit. EDTA má na laboratorní testy malý vliv, kromě některých metod stanovení (železa a vápníku), ale je nutné vzít

Tab. 1.6. Rozdíly ve složení plazmy a séra

Vyšší v plazmě bílkovina, transferrin, TSH, LD, vápník
Vyšší v séru LD, fosfáty, draslík, GGT, laktát, amoniak, ALP, CK, glukóza

Tab. 1.7. Rozdíly ve složení venózního séra a kapilární krve (%)

Výšší v kapilární krvi		Nižší v kapilární krvi	
glukóza	1,4	bilirubin	5,0
draslík	1,9	vápník	4,6
		chloridy	1,8
		sodík	2,3
		celková bílkovina	3,3

v úvahu, že se používá ve formě draselné soli, a tedy je nepoužitelná pro stanovení draselných iontů.

Mezi plazmou a sérem jsou určité rozdíly ve složení, dané buď spotřebou analytů při sražení krve (fibrinogen, glukóza, trombocyty), nebo uvolněním analytů z buněk (draselné ionty, LD, fosfáty, laktát, amoniak) (tab. 1.6. a 1.7.).

Interference stanovení

Hemolýza vzorku ovlivňuje koncentraci a aktivitu řady analytů (zvyšuje se draslík, LD, ACP, AST, ALT, hořčík, Fe, NSE, a naopak se snižuje GGT, ALP, amyláza). Nejčastější příčinou je vyplavení intracelulárního obsahu erytrocytů do plazmy a zvýšení koncentrace analytů, které jsou především intracelulární. Uvolněný hemoglobin ovlivňuje fotometrická stanovení jednak svou červenou barvou, jednak změnou pH reakce. Míra interference je závislá na stupni hemolýzy u vyšetřovaného vzorku. V současné době je vizuální vyhodnocení stupně hemolýzy vzorku nahrazováno objektivním a automatizovaným měřením hodnoty hemolytického indexu. Kromě poměrně známého účinku hemolýzy je třeba si uvědomit, že možný rozpad trombocytů může ovlivnit laboratorní testy – především zvýšit koncentraci draslíku.

Mezi další nejčastěji interferující látky při stanovení patří zvýšená koncentrace triacylglycerolů a bilirubinu.

■ Odběr ostatního biologického materiálu

Pro chemické vyšetření **moči** a stanovení počtu jednotlivých elementů se používá vzorek první ranní moči (střední porce). Pro stanovení dalších analytů se používá vzorek druhé ranní moči (protein, albumin), náhodný vzorek a ve většině případů vzorek sbírané moči za 24, popř. 12 hodin. Při sběru za stanovenou dobu je vhodné moč uchovávat v chladu nebo použít různé konzervační látky, které se volí podle typu analýzy, popř. je nutno upravit pH. V pří-

padě vyšetření sbírané moči je důležité poučení pacienta o jejím správném sběru. Možností je hodnotu vyšetřovaného analytu vztáhnout ke kreatininu v moči.

Stolice se v současné době vyšetřuje nejčastěji na okultní krvácení odběrem vzorků do jednorázové kazetky pomocí odběrového kartáčku, výjimečně se vyšetřuje sběr stolice za 72 hodin ke stanovení odpadů dusíku nebo obsahu lipidů.

Odběr **mozkomíšního moku** je popsán v kap. 19.

K vyšetření se dále používají **další tělní tekutiny**, jako např. synoviální tekutina (vyšetření leukocytů, krystalů, glukózy, proteinů), amniová tekutina (genetická vyšetření), výpotky do tělních dutin (biochemické a cytologické vyšetření), sliny, ale také vzorky tkání, které se před stanovením připravují podle speciálních postupů v závislosti na typu tkáně a požadavku stanovení analytů.

1.5.3. Separace a transport materiálu

Pro oddělení krevních elementů od séra (plazmy) je vhodná centrifugace při 1000–1500 g (g = násobek gravitačního zrychlení) po dobu 10 minut při pokojové teplotě. Delší doba centrifugace nebo zvýšení počtu g může vést k hemolýze. Plazma nebo sérum mají být odděleny od krevních elementů co možno nejdříve, nesmí být překročena doba stability jednotlivých analytů v plné krvi (pro stanovení glukózy, K, NSE doporučeno do 1 hodiny od odběru). Krev pro stanovení tepelně nestálých analytů (PTH, osteokalcin, natriuretické peptidy a další) má být centrifugována v chlazené centrifuze.

Předčasné oddělení séra od krevních elementů (dříve než asi za 20–30 minut) však může vést k dočasné tvorbě fibrinu a dochází tak k pocentrifugační koagulaci. Z tohoto pohledu je plazma jako biologický materiál pro další analýzy vhodnější – krev je možné ihned centrifugovat, hrozí menší nebezpečí hemolýzy.

Transport materiálu má být šetrný, rychlý, při adekvátní teplotě a světelných podmínkách (kyselina listová, bilirubin nestabilní na přímém světle). V případě transportu vzorku plné krve neprodleně po odběru do laboratoře postačuje pro transport pokojová teplota (temperované termoboxy) a fixovaná poloha odběrových zkumavek. Pro stanovení některých analytů (amoniak, krevní plyny, homocystein, PTH) je doporučen transport na tajícím ledu. Pokud nelze dopravit krev do laboratoře dostatečně rychle, aby mohly být odděleny krevní elementy od séra/plazmy, je vhodnější použití zkumavek se separačními gely a centrifugace před transportem, popř. zaslání pouze séra/plazmy.

V každém případě je důležité seznámit se s podmínkami transportu a skladování biologického materiálu pro vyšetřovaný analyt.

1.5.4. Skladování materiálu

V případě odběru krve je nejprve odděleno sérum, popř. plazma, od krevních elementů a následně závisí teplota skladování biologického materiálu na dvou faktorech:

- stabilitě konkrétního analytu;
- době provedení analýzy.

Pokud je vzorek zpracován do 24–48 hodin, postačuje pro většinu analytů uchovávání při teplotě 4 °C, pro dlouhodobé skladování proteinů je vhodná teplota –20 °C, popř. až –80 °C. Při skladování je nutné, aby materiál byl dobře uzavřen a zabránilo se zahuštění vzorku odpařováním, mikrobiální kontaminací, vlivu světla a difuzi plynů a samozřejmě metabolismu krevních elementů. Chemická konzervace se pro sérum nebo plazmu užívá vzácně, konzervační činidla používáme spíše v případě skladování moči.

1.6. Systémy kvality v laboratoři

Zvyšování kvality patří mezi jednu z nejdůležitějších oblastí činnosti v laboratoři. Základem je zavedení systému **interního řízení kvality** (IQC – Internal Quality Control). Zahrnuje všechna stadia laboratorní činnosti v celé její šíři, tj. v preanalytické, analytické a postanalytické fázi laboratorního procesu. Cílem je zachytit a minimalizovat chyby, které mohou negativně ovlivnit kvalitu výsledků a jejich interpretaci. Systém interního řízení kvality v analytické fázi v laboratorní praxi označujeme **interní kontrola kvality**. Laboratoř analyzuje kontrolní vzorky podle předem stanovených pravidel (volba kontrolního materiálu, frekvence analýzy, koncentrace měřených analytů) a používá vhodné nástroje pro vyhodnocování výsledků kontrolního měření. Získaná data je možné použít pro vyhodnocení odhadu nejistoty měření. Na základě vyhodnocení výsledků interní kontroly kvality je přijato rozhodnutí o uvolnění výsledků, popř. jejich odmítnutí.

Externí hodnocení kvality (EHK – EQA – External Quality Assessment) je systém objektivního hodnocení laboratorních výsledků nezávislou organizací, prováděného pravidelným porovnáváním výsledků měření hodnocených laboratoří navzájem a porovnáváním s referenčními hodnotami. V současné době organizace EQA při zaslání výsledků používají Youdenovy grafy, hodnocení po-

mocí Z-skóre. Certifikát úspěšnosti dokumentuje analytickou způsobilost a návaznost výsledků měření a/nebo porovnatelnost výsledků měření. Certifikace úspěšnosti je založena na porovnání chyby měření laboratoře s hodnotou cílové nejistoty měření.

Někdy se setkáváme s pojmy mezilaboratorní porovnávání zkoušek (MPZ) nebo testování způsobilosti (PT – proficiency testing), což jsou v podstatě podobné pojmy. Účast v EHK, popř. v mezilaboratorním porovnávání by měla laboratoři odpovědět na otázky, zda jsou její výsledky spolehlivé a zda odhadnutá nejistota měření výsledku je přijatelná.

K zabezpečování kvality v laboratořích slouží celá řada dalších činností. Můžeme je charakterizovat jako systematické a plánované činnosti prováděné v rámci systému kvality potřebné k prokázání, že služba nebo produkt splňuje požadavky na kvalitu. Mezi hlavní prvky zabezpečení jakosti patří: vhodné laboratorní prostředí, validované a dokumentované metody, udržované a kalibrované zařízení, programy řízení kvality, vzdělaný a zkušený personál, postupy kontroly a vydávání výsledků, vnitřní audit, postupy ke zlepšování.

1.6.1. Přístupy k zabezpečování kvality

Mnohotvárnost různých činností ve zdravotnickém zařízení vyžaduje i různé přístupy k zabezpečování kvality – prvořadým posláním musí být orientace na klienta (pacienta či lékaře). Z hlediska služeb poskytovaných klinickou laboratoří musí klient pod pojmem kvalita prioritně chápat důvěru v naměřené hodnoty a srovnatelnost laboratorních výsledků nezávisle na místě vzniku.

Základní požadavky a kritéria pro laboratoře z hlediska klienta jsou: dostupnost, komplexnost, rychlá odezva, spolehlivost a správnost, informovanost a konzultace, analýza stížností a reklamací.

Akreditace znamená proces, při němž nezávislá instituce posuzuje činnost zdravotnického zařízení, popř. jeho části a ověřuje, do jaké míry tato činnost odpovídá stanoveným standardům zvyšování kvality péče. Jedná se tedy o oficiální uznání způsobilosti vykonávat určitou činnost na zaručené úrovni.

Akreditaci provádí řada institucí a organizací na státní nebo nestátní úrovni a uznávání jejich akreditační činnosti je vždy dáno postavením těchto organizací. Organizace, státní nebo státem pověřené, provádějí akreditace v příslušných oblastech svého pověření na národní, tj. státní úrovni, jiné nestátní organizace na úrovni odborných či profesních asociací, které samy garantují úroveň určitých výkonů. Požadavky (akreditační kritéria) určuje vždy ten orgán, který tuto způsobilost nakonec uznává, popř. garantuje.

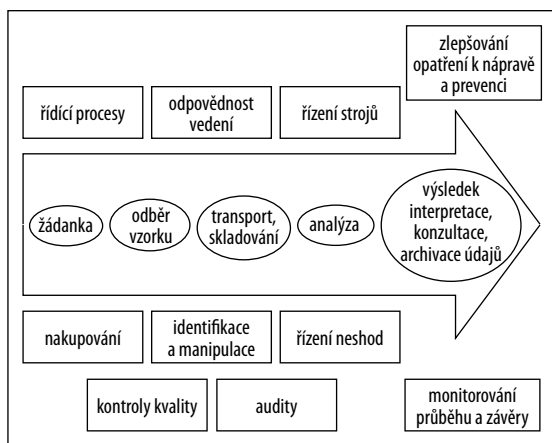
Je třeba zdůraznit, že žádný konkrétní jednotný systém řízení a hodnocení kvality a efektivity ve zdravotnictví a jeho mezinárodní uznávání v EU neexistuje. Kvalita zdravotní péče je řízena na národních úrovních jednotlivých zemí. Proto jsou akreditační systémy zdravotnických zařízení organizovány různě, společným mezinárodním cílem je kvalita, bezpečnost a efektivita poskytované péče.

Mezinárodně uznávané normy, podle kterých je posuzována činnost klinické laboratoře podle principu jednotného evropského akreditačního systému tvořeného národními akreditačními orgány, jsou ČSN EN ISO 15189 – Zdravotnické laboratoře – Zvláštní požadavky na kvalitu a způsobilost, popřípadě ČSN EN ISO/IEC 17025 – Všeobecné požadavky na způsobilost zkušebních a kalibračních laboratoří. Pro činnost zdravotnických zařízení je možné uplatnit standard ISO 9001.

Kromě uvedených ISO norem je další možností plnit požadavky akreditačních standardů vydávaných nezávislými organizacemi, které zároveň provádějí hodnocení a vydávají certifikát. Nejznámější jsou akreditační standardy mezinárodní sekce (JCI) Spojené akreditační komise (JCAHO) USA (používané pro posuzování zdravotnických zařízení, popř. jejich částí mimo USA), standardy z USA (CAP – College of American Pathologists) a Velké Británie (CPA – Clinical Pathology Accreditation). V České republice je pro posouzení zdravotnického zařízení jako celku využíváno služeb Spojené akreditační komise, o. p. s. (SAK). Pro klinické laboratoře je určeno Národní autorizační středisko pro klinické laboratoře (NASKL), které provádí edukační a poradenskou činnost a dále posouzení laboratoří. Závěrem je vydání Osvědčení o splnění podmínek Auditů I nebo Auditů II. Dokumenty SAK a NASKL jsou platné na národní úrovni a jsou akceptovány plátcí zdravotní péče. Akreditace sama, ale zejména příprava na ni, má především vzdělávací, organizačně-kultivační, standardizační a ověřovací charakter.

Z hlediska přípravy laboratoře na akreditaci či certifikaci je nutné zpracovat procesní mapu činností laboratoře (obr. 1.5.), definovat dokumenty, které budou zpracovány, vypracovat příručku kvality a standardní operační postupy.

V případě akreditací laboratoří v klinické medicíně a laboratorní diagnostice v Evropě vládne jednoznačný trend, definovaný European Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (EFLM), který podporuje cestu akreditací v souladu a ve spolupráci s European co-operation for Accreditation (EA) a postup podle norem ISO. EA je sdružení národních akreditačních orgánů – v ČR je to Český institut pro akreditaci, o. p. s. (ČIA). Členství ČIA v EA, ILAC a uzavření mnohostranných dohod zaručuje vzájemné uznávání výsledků



Obr. 1.5. Procesní přístup k laboratornímu vyšetření

akreditace na národní a celosvětové úrovni. Je třeba si uvědomit, že akreditace je pouze prostředek, nikoli cíl. Cílem je vysoká kvalita poskytované péče pro pacienty.

1.7. Indikace, riziko a účelnost vyšetření

Každá metoda má být správně indikována a tzv. indikační vymezení by měla být v budoucnu součástí standardů pro jednotlivé terapeutické a diagnostické postupy.

Při stanovování diagnózy je třeba snažit se volit metody, s jejichž pomocí lze diagnózu stanovit přesně a v poměrně krátkém čase. Při indikaci vyšetření nesmíme zapomínat na možné riziko pro pacienta i při relativně málo invazivních vyšetřeních. Každé vyšetření určitým způsobem zasahuje do integrity organismu a může jej poškodit. Lékař má mít vždy na paměti přínos daného vyšetření pro pacienta a k tomu musí přihlížet vždy v poměru k riziku vyšetřování. Volba adekvátních metod vyšetření se má řídit nejen hlediskem etickým, ale i stránkou ekonomickou.

Je potřebné volit metody v určitém algoritmu a snažit se volit metody co nejvíce specifické, s vysokou diagnostickou výtěžností. Pro správnou a vhodnou volbu metod je třeba mít široké teoretické znalosti.

Při indikaci vyšetření a jeho případném opakování hraje podstatnou roli znalost charakteristiky dané látky, především její biologický poločas, rychlost stimulace syntézy nebo degradace při patologickém procesu. Je nesmyslné vyšetřovat denně cholesterol, každý týden glykovaný hemoglobin nebo TSH. Pří-

kladem špatné indikace je např. požadování vyšetření všech dostupných nádorových markerů při podezření na nádorový proces, nebo zjišťování, zda při běžném infekčním onemocnění je CRP skutečně zvýšen. Nádorové markery slouží především k monitorování průběhu léčby případné recidivy, pouze některé z nich jsou vysoce citlivé pro určité druhy nádorů (např. volný PSA). CRP slouží především ke kvantifikaci stupně zánětlivého procesu a jeho monitorování u závažných infekčních nebo autoimunitních onemocnění.

Lékař by si měl vždy před prováděním laboratorního i jiného vyšetření zodpovědět několik otázek. Nejdůležitější z nich je: když získám výsledek požadovaného stanovení, ovlivní tento výsledek v kontextu klinického stavu pacienta mé rozhodování (stanovení diagnózy, monitorování choroby, popř. změnu terapie)?

Vyšetření má být cílené a účelně indikované, spolehlivé a kvalifikovaně interpretované. To je možné zajistit vzájemnou spoluprací pracoviště provádějícího vyšetření a indikujícího lékaře.



BISHOP, ML., DUBEN-ENGELKIRK, JL., FODY, EP. *Clinical chemistry – principles, procedures, correlations*. Philadelphia : Lippincott, 1996.

GUDER, WG., NARAYANAN, S., WISSER, H., et al. *Samples: from the patient to the laboratory*. Darmstad : GIT Verlag, 2001.

JABOR, A., ZÁMEČNÍK, M. (Eds). *Přeanalytická fáze*. Praha: ČSKB, SEKK, 2005.

KASAL, P., SVAČINA, Š., et al. *Lékařská informatika*. Praha : Grada Publishing, 1998.

KVALIMETRIE 11: *Stanovení nejistoty analytického měření*. Editor: M. Suchánek. EURACHEM-ČR, Praha, 2001. s. 13–16; 31–34.

KVALIMETRIE 16: *Statistické metody v metrologii a analytické chemii*. Editor: M. Suchánek. EURACHEM-ČR, Praha, 2009, s. 47–54; 63–66.

MASOPIST, J. *Klinická biochemie – požadování a hodnocení biochemických vyšetření, část I*. Praha : Univerzita Karlova, 1998.

RACEK, J., et al. *Klinická biochemie*. Praha : Galén, 2006.

SARKOZI, L., SIMSON, E., RAMANATHAN, L. *The effects of total laboratory automation on the management of a clinical chemistry laboratory*. Retrospective analysis of 36 years. Clin Chim Acta, 2003, 329, p. 89–94.

TNI 01 0115: 2009: *Mezinárodní metrologický slovník. Základní a všeobecné pojmy a přidružené termíny (VIM)*.

YOUNG, DS. *Laboratory automation: smart strategies and practical applications*. Clin Chem, 2000, 46, p. 740–745.

YOUNG, DS., BERMES, EW., HAVERSTICK, DM. Specimen collection and processing – sources of biological variation. In BURTIS, CA., ASHWOOD, ER., BRUNS, DE. (Eds). *Tietz textbook of clinical chemistry and molecular diagnostics*. Philadelphia : Elsevier, Saunders, 2006, p. 41–58.

2. Laboratorní diagnostika v kardiologii

Michael Aschermann, Aleš Linhart, Helena Brodská

Diagnostika většiny onemocnění v kardiologii vychází z anamnestických údajů, laboratorních vyšetření a z výsledků dalších neinvazivních a invazivních vyšetřovacích metod. Biochemické markery poškození myokardu mají v procesu stanovení diagnózy významnou roli, uplatňují se také v hodnocení rizika nemocných s různými typy srdečních onemocnění.

2.1. Laboratorní vyšetření užívaná v diagnostice hypertenze

Diagnóza a diferenciální diagnóza hypertenze má stanovit, že se jedná skutečně o hypertenzi, má určit její závažnost, přítomnost orgánových komplikací a vyloučit sekundární formy hypertenze. Diagnózu esenciální hypertenze stanovujeme vyloučením všech možných příčin sekundárních forem hypertenze. K diagnostice sekundární hypertenze je potřebná řada laboratorních a zobrazovacích vyšetřovacích metod. Jako **základní vyšetření u všech hypertoniků** jsou doporučována:

- cílená anamnéza včetně rodinné a gynekologické anamnézy;
- fyzikální vyšetření včetně palpce a auskultace periferních tepen;
- měření krevního tlaku vsedě na obou horních končetinách při prvním vyšetření;
- EKG;
- u vybraných skupin pacientů echokardiografie, ultrazvukové vyšetření karotických tepen, rychlosti propagace pulsově vlny, vyšetření očního pozadí.

Laboratorní vyšetření zahrnují vyšetření moči a močového sedimentu, sodíku a draslíku v séru, celkového cholesterolu a jeho frakcí HDL a LDL, glukózy, triacylglycerolů, kreatininu, urey a kyseliny močové v séru, mikroalbuminurie, kvantitativní proteinurie při pozitivním orientačním vyšetření.

Při podezření na **sekundární hypertenzi** má být pacient odeslán na specializované pracoviště k vyšetření hormonů (renin, aldosteron, katecholaminy) a k vyšetření s použitím zobrazovacích metod (ultrasonografie, výpočetní tomografie, magnetická rezonance ledvin a nadledvin, arteriografie).

2.2. Laboratorní vyšetření užívaná v diagnostice aterosklerózy

Parametry sloužící k posouzení rizika aterosklerózy jsou uvedeny v kap. 8, 9 a 10. Zde uvádíme pouze nové biochemické markery využívané v diagnostice aterosklerózy věnčitých tepen.

2.2.1. Nové biochemické markery využívané v diagnostice aterosklerózy věnčitých tepen

Vznik a vývoj koronární aterosklerózy, která se klinicky manifestuje akutními a chronickými formami ischemické choroby srdeční, je přibližně ze tří čtvrtin vysvětlován konvenčními rizikovými faktory. V posledních letech jsou postupně poznávány nové biomarkery popisující riziko vzniku koronární aterosklerózy. Jejich postavení mezi nezávislými rizikovými faktory však není dosud definitivně prokázáno. V současné době je jejich hlavním přínosem poznání jejich úlohy v patogenezi aterosklerózy a v hodnocení rizikovitosti nemocných ve specifických klinických situacích. V následujícím textu je uveden přehled těchto novějších biomarkerů s jejich stručným popisem a souhrnem možného využití v klinické praxi.

CRP – C-reaktivní protein – je reaktant akutní fáze syntetizovaný zejména v játrech jako odpověď

na stimulaci především interleukinem 6 a dalšími cytokiny. CRP je stanovován jako ukazatel probíhajícího zánětu, který se rovněž podílí na procesu vzniku a rozvoje aterosklerózy. Zejména pokročilé fáze aterosklerotického postižení jsou spojeny s rozvojem tzv. nestabilních plátů, v nichž probíhá poměrně intenzivní zánětlivý proces s rizikem jejich ruptury a vzniku atherotrombotických komplikací. Ke stanovení nízkých koncentrací CRP je využíváno vysoce senzitivní metody a výsledek označován jako hs-CRP (high sensitivity CRP). Tento marker byl prokázán ve vztahu k vysokému riziku akutního infarktu myokardu, cerebrovaskulárních příhod a progresu ischemické choroby dolních končetin, a to i u nemocných bez anamnézy kardiovaskulárních onemocnění. Naopak asymptomatictí jedinci ve středním a vyšším věku s nízkými hodnotami (<1,0 mg/l) mají riziko vzniku aterosklerotických příhod nízké. Je důležité, že prediktivní hodnota hs-CRP je aditivní k dobře dokumentovaným rizikovým ukazatelům, jako jsou hodnoty lipoproteinů či tzv. Framinghamské skóre rizika. Bylo rovněž prokázáno, že nemocní s vysokými hodnotami hs-CRP (nad 3,0 mg/l) mají prospěch z intenzivní hypolipidemické terapie statiny. Proto je stanovení hs-CRP někdy doporučováno u nemocných bez kardiovaskulárních projevů ve věku nad 50 let u mužů a 60 let u žen se středním rizikem před zahájením této terapie. To ovšem neplatí pro nemocné s vysokým rizikem nebo s klinickými projevy, kde je léčba indikována bez ohledu na výsledek.

Fibrinogen – základní protein koagulace, podílí se na viskozitě krve a na agregaci destiček. Při hodnocení jeho vztahu k ICHS bylo prokázáno, že zvýšení koncentrace o 1g/l je provázeno zvýšením rizika 1,82krát (95% interval spolehlivosti 1,60–2,06).

Homocystein – aminokyselina, ke zvýšení koncentrace dochází například při vrozené poruše metabolismu, jinou příčinou může být zvýšený přísun v dietě. Rozsáhlé souhrnné práce prokázaly nepřilíš silný vztah zvýšení homocysteinu a ICHS (OR mezi 1,12 až 1,42, 95% interval spolehlivosti 1,11–1,84).

Apolipoproteiny – proteiny, které se po vazbě na lipidy stávají ve vodě rozpustnými lipoproteiny. Umožňují transport cholesterolu v krvi, dále jsou kofaktory některých enzymů, receptorovými ligandy a nosiči i jiných lipidů. Celkem existuje šest známých tříd apolipoproteinů – A, B, C, D, E, H. Je známa řada genetických polymorfismů, které ovlivňují strukturu i funkci apolipoproteinů.

Apolipoprotein A1 – hlavní představitel lipoproteinů o vysoké hustotě (HDL), klinický význam může mít tedy jeho snížení – referováno je zvýšení relativního rizika 1,62krát (95% interval spolehlivosti 1,43–1,83).

Apolipoprotein B – hlavní představitel lipoproteinů o nízké hustotě (LDL), klinický význam má tedy jeho zvýšení – zvyšuje se riziko ICHS 1,99krát (95% interval spolehlivosti 1,65–2,39).

Apolipoprotein E – u tohoto lipoproteinu není vztah k ICHS dosud jasně vysvětlen, mezi studiemi, které význam hodnotily, byly zásadní rozdíly. Stejně poznatky platí zatím i pro lipoprotein(a).

Lipoproteiny vázaná fosfolipáza A₂ (Lp-PLA₂) – enzym, který hydrolyzuje fosfolipidy, především pak oxidované LDL v cévní stěně. Hlavním produktem této reakce jsou lysofosfatidylcholin a neesterifikované mastné kyseliny. Oba tyto produkty jsou důležitými mediátory zánětu. Jejich další funkcí je chemotaxe makrofágů, které jsou poté dalším zdrojem Lp-PLA₂, což vede k uzavření cyklu vedoucího k progresi aterosklerotického plátu. Lp-PLA₂ dnes v praxi představuje především marker zánětu, přesto byl prokázán i vztah k ICHS, vyjádřený OR 1,60 (95% interval spolehlivosti 1,36–1,89), a to jak u asymptomatických pacientů, tak u nemocných s již známou ICHS. U nemocných s akutním koronárním syndromem koreluje s mortalitou a přetrvávající zvýšená koncentrace Lp-PLA₂ je projevem další progresy aterosklerotického plátu s rizikem recidivy IM.

Cystatin C – inhibitor cysteinových proteáz, který je produkován všemi jadernými buňkami. Je volně filtrován glomeruly a kompletně katabolizován v proximálních tubulech. Cystatin C je používán zejména jako časný marker preklinické renální insuficience. Jeho zvýšená koncentrace predikuje zejména glomerulární postižení, zatímco poměr mezi jeho koncentrací v moči ke koncentraci kreatininu je indikátorem tubulární dysfunkce. Zvýšená syntéza cystatinu C je reakcí na vysokou proteázovou aktivitu, která provází rozvoj aterosklerotických lézí. Zvýšená koncentrace cystatinu C koreluje s tíží koronárního postižení a u nemocných s akutním koronárním syndromem, ale i se stabilní anginou pectoris je spojena s vyšší mortalitou.

Adiponektin – protein produkován adipocyty, který zvyšuje citlivost buněk na inzulin a má antiaterosklerotický efekt. Jeho snížená koncentrace je spojena s častějším výskytem metabolického syndromu a ICHS. Nověji bylo prokázáno, že těsnější vztah je mezi ICHS a adiponektinem o vysoké molekulové hmotnosti (HMW adiponektin).

Cholin – v roce 2010 byla publikována práce, která prokázala zvýšení cholinu v séru u nemocných s AKS. Zatím není jasný vztah mezi cholinem a rozsahem postižení koronárních tepen.

Copeptin – C-terminální část molekuly provazopresinu je markerem uvolňování arginin-vazopresinu (AVP) z neurohypofýzy. Hlavním stimulem pro jeho sekreci jsou změny ve volémii a osmolaritě

plazmy. Dalším stimulem je akutní stres. Copeptin byl prokázán jako časný marker akutního infarktu myokardu, kde k jeho vzestupu dochází již v první hodině IM a k poklesu za 10 hodin. Copeptin tedy umožňuje časnější diagnostiku IM a případně i diagnostiku recidivy IM, neboť koncentrace troponinů klesají až v řádech dnů. Příčina elevace copeptinu u IM není jasná, zřejmě jde o stresovou reakci na vznik IM. Koncentrace copeptinu se rovněž zvyšuje při šoku, sepsi, srdečním selhání. AVP může cestou Va a Vb receptorů navodit vazokonstrikci a hypertrofií myokardu.

NGAL – neutrophil gelatinase-associated lipocalin, glykoprotein secernovaný renálními tubuly jako reakce na jejich poškození. Je rovněž markerem aktivity neutrofilů. Je exprimován v aterosklerotických plátech a koreluje s tíží ICHS.

2.3. Laboratorní vyšetření užívaná v diagnostice ischemické choroby srdeční

Výsledky laboratorních vyšetření mají zásadní význam v diagnostice a klasifikaci nemocných s různými projevy ischemické choroby srdeční, nejčastěji způsobené stenózující koronární aterosklerózou. V roce 1954 La Due a spol. publikovali v časopise Science možnosti použití biochemických markerů při poškození myokardu. Zvýšení hodnot kardiomarkerů je jedním ze základních ukazatelů, jehož pozitivita určuje diagnózu akutního infarktu myokardu (AIM). Naopak bolest na hrudníku, při které jsou tyto hodnoty normální, může být klasifikována jako nestabilní angina nebo jako chronická stabilní angina pectoris – v závislosti na klinické manifestaci onemocnění. S rozvojem možností stanovení nových laboratorních ukazatelů, především troponinů, se ukázalo, že 25–35 % nemocných s klidovou anginou má tyto proteiny pozitivní, což svědčí pro mik-

ronekrózy myokardu. Později bylo také prokázáno, že nemocní s nestabilní anginou a s pozitivitou těchto proteinů jsou skupinou s vyšším rizikem vzniku AIM, a zařazujeme je proto do skupiny tzv. mikroinfarktů. V následujícím textu je podán přehled současných možností využití laboratorní diagnostiky u nemocných s akutními koronárními syndromy se zvláštním zřetelem k možnosti určení rizika závažných komplikací u těchto nemocných.

2.3.1. Laboratorní ukazatele nekrózy myokardu

Ideální laboratorní ukazatel nekrózy myokardu by se měl nacházet v myokardu ve vysoké koncentraci, neměl by se vyskytovat v jiných tkáních ani za patologických stavů, měl by být uvolňován časně po začátku ischemie, jeho zvýšení by mělo odpovídat množství poškozené tkáně, jeho koncentrace by měla přetrvávat zvýšená po několik hodin až dnů, ne však příliš dlouho, aby byla umožněna detekce recidivy poškození myokardu. Optimální by také bylo, aby byla k dispozici vysoce senzitivní, kvantitativní metoda jeho stanovení, i když víme, že pro rychlé rozhodování je v akutní fázi užitečné i stanovení semi-kvantitativní či kvalitativní, které lze provést přímo u lůžka nemocného. Pro krátkodobé i dlouhodobé stanovení rizika nemocných s akutními koronárními syndromy by měla být také známa korelace mezi přítomností nebo nepřítomností laboratorního ukazatele v séru a prognózou nemocných.

Charakteristiky a dynamika vybraných laboratorních ukazatelů poškození myokardu jsou uvedeny v tab. 2.1.

Uvedené charakteristiky jsou určovány řadou faktorů, mezi které patří:

Velikost molekuly – obecně platí, že čím menší je molekula markeru, tím rychleji je tento marker uvolňován a odstraněn.

Lokalizace v buňce – proteiny vázané na buněčnou membránu jsou uvolňovány podstatně rychleji

Tab. 2.1. Charakteristiky a dynamika vybraných laboratorních ukazatelů poškození myokardu

Marker	Molekulová hmotnost (Da)	Doba do prvního zvýšení hodnoty (h)	Průměrná doba do maximální hodnoty (h)	Průměrná doba do návratu k normálu	Časování odběru vzorků
CK-MB	86 000	3–8	24	48–72 h	při přijetí a po 6–9 h
cTnI	23 500	3–6	12–30	1–10 dnů	při přijetí a po 6–9 h
cTnT	33 000	3–6	12–75	1–15 dnů	při přijetí a po 6–9 h
myoglobin	17 800	1–3	5–8	< 12 h	při přijetí a po 2 h
HFABP	14 000–15 000	1,5	5–10	24 h	při přijetí a po 4 h
GP	96 000	8–18	24–72	6–10 dnů	24 h po začátku

CK – kreatinkináza; cTnI – srdeční troponin I; cTnT – srdeční troponin T; HFABP – heart fatty acid binding protein; GP – glykogenfosforyláza

než proteiny z cytosolu, ty jsou ovšem uvolňovány rychleji než proteiny vázané na kontraktilní aparát. Kontraktilní proteiny, které jsou méně rozpustné, jsou uvolňovány pomaleji.

Poměr uvolňování – určuje procentuální množství proteinu uvolněného ze tkáně a nalezeného v krvi. Například pro kreatinkinázu je toto množství přibližně 15 % při přetrvávajícím uzávěru tepny, podstatně se zvyšuje po reperfuzi. Pro řadu proteinů tento poměr není známý.

Clearance – obecně platí, že malé proteiny mají rychlejší clearanci.

Specifická pro myokard – významným přínosem je skupina troponinů, u nichž se specifická blíží ke 100 %. Ostatní markery mají pro poškození myokardu nižší specifitu.

Specifická pro ireverzibilní poškození – v současné době nejsou k dispozici metody, které by umožnily posouzení tohoto typu poškození. Vzhledem k vysoké senzitivitě některých proteinových markerů dochází k jejich malému zvýšení i tehdy, kdy není možné prokázat nekrózu při morfologickém vyšetření. Při hodnocení nálezů tedy vycházíme z předpokladu, že zvýšení proteinů je dokladem o přítomné nekróze myokardu.

V současné době můžeme stanovit následující **laboratorní ukazatele nekrózy myokardu**: myoglobin, kreatinkinázu (CK), její izoenzym (CK-MB) – jeho aktivitu a hmotnostní koncentraci (CK-MB mass), a dále podskupiny CK MB1 a MB2, troponiny I a T (TnI, TnT) včetně vysoce senzitivního TnT nebo ultrasenzitivního TnI. Nověji je používáno také stanovení proteinu, který váže mastné kyseliny – heart fatty acid binding protein (HFABP), natriuretického peptidu typu B («brain» – BNP) a ischemií modifikovaného albuminu (IMA). Studuje se také možný význam stanovení karboanhydrázy III a lehkých řetězců myozinu (MLC) (viz tab. 2.1.).

■ Kreatinkináza

Kreatinkináza je enzym přítomný v cytosolu buněk příčně pruhovaného svalstva a v řadě jiných tkání. Katalyzuje fosforylaci kreatinu na kreatinfosfát.

Kreatinkináza má tři izoformy, z nichž každá sestává ze dvou podjednotek M a B:

- CK-MM se nachází převážně v příčně pruhovaném svalstvu kosterním a srdečním;
- CK-MB tvoří asi 40 % celkové CK v srdečním svalu (je též obsažena v kosterním svalstvu);
- CK-BB se nalézá ve vyšších koncentracích v mozku, placentě, prostatě, uteru a je produkována také některými typem nádorů.

Při nekróze myokardu je celková CK zvýšena v odstupu 4–6 hodin po počátku ischemie. Koncentrace

celkové CK je nespecifickým ukazatelem poškození myokardu, mimoto je závislá na věku, rase, pohlaví a svalové hmotě.

Ke zvýšení celkové CK může docházet při řadě stavů: může být zvýšena při svalových dystrofiích, po chirurgických výkonech a po traumatech, intramuskulárních injekcích, při intoxikaci alkoholem, křečích typu grand mal, plicní embolii, hypothyreóze, kolagenózách, při maligní hypertermii, ale i při velmi intenzivní svalové zátěži. Měření hodnoty celkové CK ztratilo v posledních letech na významu, protože v současné době je k dispozici řada specifických markerů poškození myokardu. Indikuje se jako pomocný marker k hodnocení dynamiky a rozsahu poškození myokardu.

Kreatinkináza MB

Množství izoenzymu kreatinkinázy MB (CK-MB) můžeme hodnotit jednak jako enzymovou aktivitu a jednak jako hmotnostní koncentraci. Na rozdíl od aktivity se při stanovování hmotnostní koncentrace (CK-MB mass) detekují i částečně degradované molekuly, které již ztratily enzymovou aktivitu, ale zachovaly si vazbu na specifickou protilátku. Stanovení CK-MB mass je proto citlivější. Test je možné indikovat namísto troponinů, není-li jejich stanovení k dispozici. Stanovení CK-MB aktivity se již nedoporučuje. Tento izoenzym je specifický pro myokard, v kosterním svalstvu se nachází pouze při jeho poškození, a to ve velmi malých množstvích (5 % kosterní CK je CK-MB). Při nekróze myokardu se koncentrace CK-MB zvyšuje už 3 hodiny od počátku ischemie, zvýšení přetrvává 24–36 hodin, k normalizaci dochází do 48 až 72 hodin. Vzhledem k časnému vzestupu i poklesu je možné stanovením CK-MB detekovat reinfarkt v časně fázi po prvním AIM. Koncentrace CK-MB se také rychle a významně zvyšuje po rekanalizaci infarktové tepny – obnovení perfuze vede až ke zdvojnásobení hodnot v plazmě, s vrcholem přibližně 16 hodin po výkonu.

Ke zvýšení koncentrace CK-MB dochází obecně při nekróze buněk myokardu, nezávisle na příčině tohoto stavu. Proto jsou zvýšené hodnoty CK-MB nacházeny také po chirurgickém výkonu na srdci, u myokarditid a perikarditid, při kontuzi srdce, po úrazech elektrickým proudem. Diagnóza u těchto stavů vychází především ze správného vyhodnocení anamnestických údajů a klinického stavu. Zvýšení CK-MB je zjišťováno také u 20 % nemocných s chronickým renálním selháním, kde může být výsledkem abnormalit v metabolismu vápníku, fosforu a parathormonu. Koncentrace CK-MB se může zvýšit rovněž po velké svalové zátěži, například po maratonském běhu.

Sledování hodnot CK-MB již není zlatým standardem pro diagnostiku AIM. Zůstává však v sou-

boru prováděných vyšetření, protože na rozdíl od dlouhodobě přetrvávající zvýšené hodnoty troponinů poskytuje dobrou informaci o časových relacích akutní fáze infarktu.

Zvýšení CK-MB po koronárních intervencích

V řadě studií bylo prokázáno, že po perkutánních koronárních intervencích (PCI) dochází ke zvýšení hodnot CK-MB, a to i v případech, kdy PCI proběhla u plánovaných výkonů bez klinických komplikací. Byl také nalezen vztah mezi zvýšením CK-MB a dlouhodobou prognózou po PCI. Ke zvýšení hodnot markerů po PCI může docházet několika mechanismy. Příčinou může být protrahovaná ischemie při opakovaném déletrvajícím uzávěru tepny balonkem při obtížné intervenci. K poškození myokardu při intervenci dochází rovněž na úrovni mikrocirkulace při embolizaci drobných trombů. Po dilataci tepny následované implantací stentu se může také vyskytnout intramurální krvácení se vznikem hematomu, což může zhoršovat perfuzi distálně za místem intervence. Podle doporučení Evropské kardiologické společnosti je zvýšení CK-MB nebo troponinů po PCI hodnoceno jako proběhlý infarkt myokardu po PCI. U všech nemocných se zvýšením CK-MB po koronární intervenci je nezbytné pečlivé sledování klinického stavu a dlouhodobé podávání antiagregační terapie.

Podtypy kreatinkinázy MB1 a MB2

V séru se mohou vyskytovat celkem čtyři izoformy CK-MB. Většinu tvoří tkáňová forma MB2 a v séru její konvertovaná forma MB1. Při nekróze buněk myokardu je uvolňována izoforma CK-MB2 a ta je v séru konvertována karboxypeptidázou na izoformu CK-MB1. Při akutní nekróze množství vyplavené CK-MB2 převyšuje CK-MB1 a jejich vzájemný poměr je vyšší než 1,5. Je-li současná koncentrace CK-MB2 nad 1,0 U/l, je tento laboratorní nález vysoce specifický a senzitivní pro akutní nekrózu myokardu. Detekce těchto izoform je možná již 3 hodiny od počátku obtíží, negativní nález má v tomto období vysokou prediktivní hodnotu pro nepřítomnost nekrózy.

■ Myoglobin

Myoglobin je protein o nízké molekulové hmotnosti (17,8 kDa), který se nachází ve všech příčně pruho- vaných sva- lech včetně myokardu. Je to velmi senzitivní marker ischemie myokardu, nemá však orgánovou specifitu. Při ischemii myokardu je uvolňován časně, obvykle je zvýšen mezi první a druhou hodinou. Vzhledem k rychlé renální clearanci se jeho hodnoty vracejí k normě po 12–24 hodinách. Myo-

globin se nachází i v kosterním svalstvu, a není tedy specificky zvýšen pouze při poškození myokardu, ale může být »falešně« zvýšen i při některých myopatiích a úrazech postihujících svalovou tkáň. Vzhledem k renálnímu vylučování může být zvýšen také u stavů renálního selhání. Protože myoglobin není orgánově specifický, má především negativní prediktivní hodnotu. Pokud jsou tedy hodnoty myoglobinu normální mezi 4. a 6. hodinou od počátku obtíží, můžeme s vysokou pravděpodobností vyloučit poškození srdečního svalu. V žádném případě však myoglobin nemůžeme použít jako jediný laboratorní ukazatel.

V současné době jsou pro časnou diagnostiku poškození myokardu používány především troponiny.

Myoglobin má pro krátký poločas stále svoji roli v diagnostice časného reinfarktu, kdy u nemocných může přetrvávat elevace troponinů až dva týdny po primárním infarktu.

■ Troponiny

Troponiny tvoří skupina tří proteinů, C, I a T, které v reakci s tropomyozinem vytvářejí troponin-tropomyozinový komplex. Tento komplex je součástí regulační a strukturální páteře kontraktálního aparátu příčně pruho- vaného svalstva. Troponiny mají obecně tři izoformy, které se vyskytují jednak v kosterním svalstvu, jednak v myokardu. V embryonálním období jsou obě izoformy exprimovány v obou typech tkání a teprve v dospělosti je srdeční izoforma exprimována pouze v myokardu. Při renálním selhání můžeme zachytit lehké elevace koncentrací troponinu. Stále není jasné, jakého původu tato elevace je. Může se jednat o projev nekrózy myokardu, ale rovněž o projev hypertrofie myokardu, endoteliální dysfunkce, únik volného cytosolického poolu troponinu, sníženou renální exkreci. Po dialýze dochází k poklesu TnI až o 90 %, TnT naopak po dialýze stoupá, proto je vhodné vyšetřovat koncentrace troponinů před dialýzou. Ať už je však důvodem zvýšení koncentrace troponinů u pacientů s chronickou renální insuficiencí cokoliv, je známo, že tito nemocní mají 2–3krát vyšší mortalitu než stejní pacienti s normálními koncentracemi. Platí to zejména pro troponin T, kde vzhledem k existenci jednoho výrobce testu jsou získaná data robustnější. Výsledky studií s troponinem I jsou více divergentní, ale i zde byl prokázán vztah mezi jeho elevací a zvýšenou mortalitou.

Troponin T

Troponin T (TnT) v myocyty je téměř všechen strukturální komponentou troponinového komplexu, která ho váže k tropomyozinu. Přibližně 6 % TnT

se nachází volně v cytoplasmě myocytů. Po vzniku ischémie se zvyšuje hodnota TnT v séru za 4–6 hodin – v této fázi se pravděpodobně vyplavuje TnT z cytoplazmy. Zvýšení přetrvává 10 dnů až 2 týdny, v této fázi dochází k pomalejšímu vyplavování TnT vázaného na troponin-tropomyozinový komplex. Při použití současné techniky využívající pro stanovení TnT monoklonální protilátky není u zdravých jedinců TnT detekovatelný. Využití stanovení TnT v hodnocení rizika nemocných s nestabilní anginou a non-Q-infarktem myokardu je v současné době považováno za velmi přínosné a zmíníme se o něm později.

Troponin I

Troponin I (TnI) je součástí troponinového komplexu inhibujícího interakci myozinových vláken s komplexem aktin-tropomyozin, reguluje tedy kontrakci příčně pruhovaného svalstva. Stejně jako TnT je TnI převážně vázán v troponin-tropomyozinovém komplexu, v cytoplasmě je ho přibližně 2,5 %. Na rozdíl od TnT není srdeční troponin exprimován v kosterním svalstvu, a to ani v embryonální fázi. Při nekróze myokardu se hodnota TnI zvyšuje asi 6 hodin po vzniku ischémie, zvýšení přetrvává 7–10 dnů. Jako laboratorní ukazatel není TnI vhodný k detekci reinfarktu, ale přetrvávání jeho zvýšené hodnoty umožní diagnostiku infarktu myokardu i při delším časovém odstupu mezi vznikem obtíží a příchodem nemocného k vyšetření.

Troponiny po koronárních intervencích

Vzestup troponinů po PCI je pozorován poměrně často, po 12–74 % výkonů. Lze ho identifikovat jak u nemocných, u nichž je indikací k intervenci akutní koronární syndrom, tak u nemocných s chronickou formou ischemické choroby srdeční (ICHS). U nemocných se stabilní anginou pectoris je výrazné zvýšení troponinů (více než 3krát) anebo zvýšení troponinů současně s elevací CK nebo CK-MB prediktorem vyššího rizika časných hospitalizačních komplikací (mikroinfarkt). Jednoznačný prediktivní význam ve smyslu horší dlouhodobé prognózy v případě izolovaného zvýšení troponinů byl zjištěn u nemocných s chronickou renální insuficiencí, avšak u zbývajících nemocných nebyl spolehlivě potvrzen. Naproti tomu u nemocných s akutním koronárním syndromem bez elevací úseku ST zvýšení troponinů pravděpodobně odráží horší časnou i dlouhodobou prognózu. Pravděpodobnost postprocedurální elevace troponinů snižuje podání blokátorů glykoproteinových destičkových receptorů IIb/IIIa (blokátorů GP IIb/IIIa), předléčení statiny, intrakoronární podání β -blokátorů a provedení PCI

metodou přímé implantace stentu bez predilatace balonkem. Přímý vztah mezi snížením incidence elevace troponinů a redukcí postprocedurálních kardiiovaskulárních komplikací není silný (ačkoliv k redukcí, zejména při použití blokátorů GP IIb/IIIa a statinů, dochází), a troponin tedy není optimálním a všeobecným ukazatelem prognózy. Navíc je třeba uvést, že principiálně není zhoršení prognózy přímým negativním důsledkem koronární intervence, ale je pouze odrazem pokročilejší ICHS a komplexnosti intervenovaných lézí.

Na rozdíl od doporučení Evropské kardiologické společnosti považujeme z diagnostického hlediska za nevhodné označit každou elevaci troponinů po PCI jako periprocedurální akutní infarkt myokardu. Tento název doporučujeme vyhradit pro pacienty, u kterých pozorujeme změny na EKG, u nichž je procedura doprovázena stenokardií, a zejména u kterých došlo během procedury k omezení průtoku epikardiální věnčitou tepnou. Takováto definice vyhovuje i konvenčnímu chápání patofyziologie AIM. V těchto případech obvykle pozorujeme mnohonásobné zvýšení troponinů a dochází ke klinicky relevantnímu zvýšení CK-MB a CK. Toto zvýšení je jistě krátkodobé i dlouhodobě prognosticky závažné a je třeba zde krátkodobě i dlouhodobě terapeuticky zasáhnout, stejně jako u nemocných s klasickým AIM. U ostatních nemocných je vhodnější použít termín »minimální myokardiální léze« či »periprocedurální asymptomatické zvýšení troponinu«. Podkladem je totiž subklinická mikroembolizace do periferie věnčité tepny bez angiograficky patrného omezení průtoku tepnou. Zde si toto laboratorní zjištění obvykle nevyžádá žádný zvláštní léčebný zásah, neboť všichni nemocní by již měli být léčeni antiagregancii a β -blokátorů. Pacienty je potom možné propustit domů do 24 hodin, jak je obvyklé po nekomplikované PCI. A konečně u další skupiny nemocných můžeme pozorovat středně velké zvýšení troponinů (více než 3krát), které může být izolované, anebo doprovázené mírnou elevací CK-MB. I u těchto nemocných má PCI obvykle komplikovaný průběh a někdy pozorujeme i stenokardie během výkonu, ale k ischemickým EKG změnám dochází jen zřídka. U těchto nemocných je vyšší riziko časných hospitalizačních kardiiovaskulárních komplikací a je vhodný pobyt v nemocnici alespoň 48 hodin po PCI, nejlépe včetně kontinuálního monitorování EKG.

Stanovování koncentrací troponinů po PCI nemusí být běžné u všech nemocných. Doporučujeme je pouze u pacientů s komplikovaným průběhem PCI, v případě stenokardií během výkonu, anebo pokud se vyvinou ischemické změny na EKG.

■ Natriuretický peptid typu B

Natriuretický peptid typu B (»brain« – BNP) je citlivý marker akutní a chronické dysfunkce srdečních komor. Je uvolňován jejich svalovinou při neurohumorální odpovědi na zvýšené napětí stěny komory při tlakovém nebo objemovém přetížení. Koreluje velmi dobře s funkční klasifikací srdečního selhání a citlivě odráží také klinickou reakci na léčbu; je užíván rovněž při odhadu prognózy uvedených stavů. BNP je uvolňován z myokardu komor také při koronární okluzi a protrahované ischemii myokardu. U nemocných s AIM s elevací úseku ST dochází k maximálnímu zvýšení hodnoty BNP za 16 hodin od vzniku obtíží, u poloviny nemocných byl nalezen druhý vrchol hodnot pátý den po AIM. Pro diagnostiku nekrózy myokardu však není BNP optimální parametr. Jiná je situace u nemocných s AIM bez elevací úseku ST – také zde byly prokázány zvýšené hodnoty BNP. Nezávisí to však na rozsahu poškození myokardu nekrózou, BNP zde může být citlivým ukazatelem deletrující ischemie, která má za následek dysfunkci levé komory srdeční. Bylo prokázáno, že mezi nemocnými, kteří jsou přijímáni s diagnózou bolestí na hrudníku, je možné odlišit nemocné s akutním koronárním syndromem podle hodnot BNP. Na rozdíl od nestabilní anginy pectoris dochází u AIM bez elevací úseku ST ke zvýšení BNP již v prvních dvou hodinách od vzniku obtíží. Senzitivita hodnoty BNP při přijetí byla 70,8 %, specificita 68,9 %, při hodnocení spolu s troponinem I a CK-MB byla senzitivita 87,3 % a specificita 97,3 %. Zvýšení hodnoty BNP bylo v multivariační analýze také ukazatelem, který predikoval vznik AIM nezávisle na troponinech a CK-MB.

■ Heart fatty acid binding protein

Novým markerem akutní ischemie myokardu, který je v počátcích klinického využití, je heart fatty acid binding protein (HFABP). Obecně jsou »fatty acid binding« proteiny často přítomné v cytosolu buněk řady tkání a mají nízkou molekulovou hmotnost. V myokardu se nachází v buněčných membránách myocytů »srdeční typ« tohoto proteinu, který se při poškození myokardu velmi rychle uvolňuje. U nemocných s akutními koronárními syndromy bylo prokázáno, že tento protein je zvýšen v časně fázi onemocnění, především v prvních 6 hodinách od vzniku obtíží. V porovnání s běžně užívanými markery vykazuje »fatty acid binding« protein nejvyšší senzitivitu pro detekci nekrózy myokardu.

■ Karboanhydráza III

Karboanhydráza III je lokalizovaná v příčně pružovaném svalstvu. Sledování poměru myoglobinu a karboanhydrázy III pomůže odhalit poškození myokardu. Glykogenfosforyláza se vyskytuje ve třech izoenzýmech, přičemž izoenzym GP-BB se uvolňuje do oběhu za 2–4 hodiny po poškození myokardu a mohl by být vhodným markerem při poškození myokardu v průběhu kardiochirurgických výkonů.

■ Lehké řetězce myozinu

Lehké řetězce myozinu (MLC) – typ 1 a typ 2 – modulují interakci mezi aktinem a myozinem při kontrakci. Méně než 1 % MLC se nachází v cytosolu svalových buněk. Tato frakce se uvolňuje rychle do oběhu a vzhledem k velikosti molekuly je filtrována v glomerulech. Po poškození svalové buňky je vrcholové koncentrace dosaženo za 3 až 6 hodin po vzniku bolesti. Stanovení MLC1 může pomoci určení nekrózy myokardu, její závažnosti a prognózy. Zvýšení MLC1 bylo pozorováno také u pacientů s chronickým srdečním selháním a u pacientů s nestabilní anginou pectoris.

■ Ischemií modifikovaný albumin

Ischemie ovlivňuje vazebnou kapacitu albuminu pro kobalt, respektive i jiné kovy. Tento parametr je také někde označován jako ischemií modifikovaný albumin (IMA). Stanovení IMA je možné automatizovat a provádět je ve větších laboratořích i ve statimovém režimu. Dosavadní studie ukazují, že tento parametr může odhalit pacienty s ischemií myokardu, avšak již hůře rozlišuje mezi pacienty s ischemií myokardu s infarktem myokardu, nebo bez něj. Ischemií modifikovaný albumin může být používán jako parametr perioperačního myokardiálního poškození. Je však třeba uvést, že IMA je nespecifický marker ischemie jakéhokoliv původu. Pro ischemii myokardu svědčí pouze v kombinaci s jinými vyšetřeními, která pro myokardiální lézi svědčí.

■ Glykogenfosforyláza

Glykogenfosforyláza je klíčový enzym v glykogenolýze. Má tři hlavní izoenzymy, z nichž fosforyláza BB (GPBB) má hlavní význam a nachází se především v myokardu. Při rozvoji hypoxie dochází

k metabolismu glykogenu, přitom je GPBB původně strukturálně vázána na sarkoplazmatické retikulum a konvertována na cytoplazmatickou formu. Bylo prokázáno, že GPBB se významně zvyšuje u nemocných s bolestí na hrudníku v průměru 4,5 hodiny od vzniku potíží, pokud byla jejich důvodem ischemie. Při srovnání s ostatními markery byl vzestup GPBB nejrychlejší a první patologické hodnoty byly zaznamenány již 3 hodiny od vzniku potíží. K výraznějšímu vzestupu GPBB docházelo u nemocných s nestabilní AP a při změnách úseku ST a vlny T v elektrokardiogramu. Dosavadní zkušenosti s tímto markerem ischemie jsou malé a teprve další studie vymezí jeho postavení v diagnostice AKS.

■ Plazmatická oxidáza

Kyslíkové radikály mají významnou úlohu v poškození tkáně u nemocných s AIM. Jedním z ukazatelů, které odrážejí rozsah poškození myokardu, je oxidáza, uvolňovaná z polymorfonukleárů. Plazmatická aktivita oxidázy (POA) měřená u nemocných s AIM měla v jedné ze studií senzitivitu 95 %, senzitivita odpovídající CK-MB byla pouze 54 %. Mírnou výhodou stanovení oxidázy je delší doba přetrvávání zvýšené hodnoty (pouze 40 % poklesu do 5. dne od AIM). Hodnocení POA může tedy přispívat k retrospektivní diagnóze AIM, který nebyl vyšetřován ve své časně fázi. Využití je možné pouze u nemocných bez projevů akutní infekce, zvýšené hodnoty byly prokázány například u bronchopneumonie.

V tab. 2.2. jsou uvedeny hodnoty senzitivity jednotlivých markerů a jejich kombinací u různých typů AKS.

■ C-reaktivní protein

C-reaktivní protein (CRP) je protein akutní fáze, ukazatel jak akutního, tak chronického zánětlivého procesu. U AIM dochází ke zvýšení CRP již v časně fázi a jeho zvýšení přetrvává 3–4 týdny, podle veli-

kosti infarktového ložiska a úspěšnosti reperfúze. Působení CRP v reakci akutní fáze je systémové, v závislosti na intenzitě vyvolávajícího podnětu se v průběhu 48 hodin zvyšují plazmatické koncentrace CRP až na tisícinásobky klidových hodnot. Po odeznění kritického stavu je cirkulující CRP vychytáván a rozkládán opět buňkami jaterního parenchymu. Odstraňování CRP z krevního oběhu (clearance) má monoexponenciální ráz s biologickým poločasem 19 hodin. Tento biologický poločas nezávisí na aktuálním množství CRP, není tedy určován plazmatickými koncentracemi CRP. Jediným činitelem, který rozhoduje o plazmatických koncentracích CRP, je rychlost jeho syntézy buňkami jaterního parenchymu. Ta je řízena hlavně aktivitou interleukinu 6. Přitom existuje přímá korelace mezi intenzitou podnětu, který vyvolal reakci akutní fáze, a počtem hepatocytů, jež syntetizují CRP. C-reaktivní protein se tak stává důležitým parametrem systémové zánětlivé odpovědi u všech forem ICHS.

Koncentrace CRP u bakteriálních či jiných infekcí dosahují běžně stovkových hodnot. Změny koncentrací CRP v souvislosti s predikcí ICHS anebo AKS hodnotíme v jiném referenčním rozmezí a stanovení provádíme metodou s vyšší citlivostí (tzv. high sensitivity CRP), kde dolní limit detekce je roven nebo menší 0,3 mg/l.

C-reaktivní protein u akutních koronárních syndromů

Mezi nemocnými se syndromem anginy pectoris lze rozpoznat dvě krajní, jasně vyhraněné skupiny:

- nemocné s chronickou stabilní námahovou anginou pectoris;
- nemocné s nestabilní anginou pectoris.

V první skupině je riziko náhlých koronárních příhod poměrně nízké, zatímco ve druhé skupině je vysoké. V obou skupinách je míra kardiovaskulárního rizika přímo úměrná klidovým koncentracím C-reaktivního proteinu, tedy rozsahu systémové zánětlivé, neinfekční, odpovědi organismu.

Nemocné s nestabilní anginou pectoris je možné rozdělovat do skupin s různým rizikem podle koncentrací CRP při příjmu. Pokud hodnoty CRP pře-

Tab. 2.2. Senzitivita markerů v závislosti na klinické diagnóze

Marker	Nestabilní AP (n = 85)	NSTEMI (n = 26)	STEMI (n = 20)
IMA	91 (82–96)	69 (48–86)	60 (35–81)
EKG	32 (22–43)	50 (30–70)	95 (75–100)
cTnT	NA	65 (44–83)	30 (12–54)
EKG + cTnT	NA	81 (61–93)	95 (75–100)
IMA + cTnT	NA	96 (80–100)	75 (51–91)
IMA + EKG	94 (87–98)	81 (61–93)	100 (83–100)
IMA + EKG + cTnT	NA	96 (80–100)	100 (83–100)

NA – není k dispozici; IMA – ischemií modifikovaný albumin; cTnT – srdeční troponin T; STEMI – infarkt myokardu s elevací ST úseků; NSTEMI – infarkt myokardu bez elevací ST úseků, údaje jsou uvedeny v procentech s 95% konfidenčními intervaly v závorce

vyšší 3,0 mg/l, jsou tyto nemocní ohroženi větším počtem a delším trváním rekurentních ischemických epizod, větším rizikem rozvoje AIM nebo náhlé smrti a mají větší pravděpodobnost potřeby urgentních revaskularizačních výkonů. Nemocní s AIM lze rozdělovat do dvou skupin podle koncentrace CRP při příjmu. U skupiny nemocných s výchozí koncentrací CRP vyšší než 3,0 mg/l nacházíme pravidelně anamnestický údaj o výskytu nových nebo zhoršení dosavadních klidových anginózních bolestí v bezprostředním předchorobí. Pokud je hodnota CRP při příjmu nižší než 3,0 mg/l, rozvoj infarktu myokardu není předcházen epizodami nestabilní anginy pectoris.

Vzestup koncentrací CRP v krevním séru u nemocných s akutními koronárními syndromy není vyvolán nekrozou buněk srdečního svalu, výchozí koncentrace CRP nad 3,0 mg/l jsou projevem vystupňované zánětlivé odpovědi, která je spojena s horší prognózou těchto nemocných.

Vztah troponinů a C-reaktivního proteinu

U nemocných s nestabilní anginou pectoris je vzestup sérových koncentrací CRP a/nebo TnT/TnI predikčním faktorem kardiovaskulární mortality. Harmonogram odběru krevních vzorků a interpretace jejich výsledků ale narážejí na úskalí odlišné kinetiky v tvorbě a uvolňování jednotlivých biomarkerů do krevního oběhu. Hodnoty CRP získané do 6 hodin od nástupu akutní ischemické symptomatologie lze ještě považovat za »bazální«, dosud nezkrácené akutní zánětlivou reakcí. Tyto hodnoty CRP obsahují prognostickou informaci dlouhodobého kardiovaskulárního rizika. V mnoha případech však požadovaný termín nelze dodržet. Hodnoty CRP, které se zvyšují již v rámci reakce akutní fáze, přinášejí informaci, že se týká prognózy aktuální koronární příhody. Rozsah vzestupu koncentrací CRP a délka jejich přetrvávání vymezují skupinu nemocných, kteří jsou zvýšenou měrou ohroženi AIM, srdečním selháním, rozvojem poinfarktového aneuryzmatu a/nebo rupturou volné stěny myokardu či mezikomorového septa.

Prognostická informace, kterou u nemocných s nestabilní anginou pectoris přináší výsledek vyšetření CRP, je vysoce senzitivní, ale málo specifická. U jedinců s prokázaným vzestupem sérových koncentrací CRP je velmi vysoká pravděpodobnost rozvoje kardiovaskulárních komplikací. Zároveň však je u nich nezbytné pomýšlet i na jiná zánětlivá onemocnění, která vedou k vzestupu CRP. Výpovědní hodnota CRP je u nemocných s ischemickou chorobou srdeční poněkud méně zřetelná ve vztahu k časnému infarktu myokardu než k celkové kardiovaskulární mortalitě.

■ Aspartátaminotransferáza

Aspartátaminotransferáza (AST) je enzym katalyzující přenos aminoskupiny z aminokyseliny na ketokyselinu, a naopak. Ve vysoké aktivitě ji najdeme v játrech, kosterním svalstvu a v myokardu. Je lokalizovaná v cytoplazmě a v mitochondriích (70 %). Stoupá za 4–6 hodin po začátku ischemie, vrchol aktivity je přibližně za 1–2 dny a k normalizaci hodnot dochází do 5 dnů.

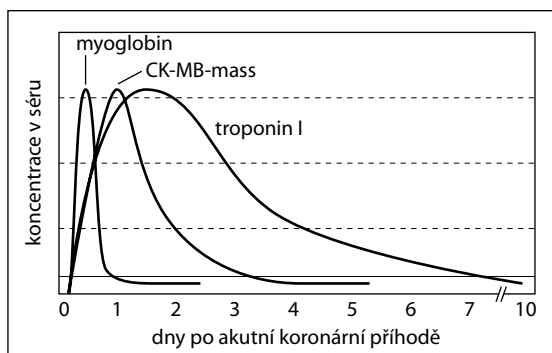
■ Laktátdehydrogenáza

Stejně jako kreatinkináza je i laktátdehydrogenáza (LD) enzym, který je přítomný v mnoha tkáních. Má pět izoenzymů a jednotlivé tkáně se liší poměrem jejich zastoupení. Nefrakcionovaná LD není specifická pro nekrozu myokardu, její koncentrace se zvyšuje 12–18 hodin po vzniku nekrozy, zvýšení přetrvává až 10 dnů. V myokardu je nejvíce zastoupen izoenzym LD1, při poměru LD1/LD2 vyšším než 1 je možné zvažovat diagnózu AIM.

V současné době již stanovení AST a LD v diagnostice akutních koronárních syndromů ztratilo význam.

2.3.2. Strategie využití laboratorní testů u nemocných s bolestmi na hrudníku

Stanovení markerů poškození srdečního svalu provádíme standardně u nemocných, kteří přicházejí s bolestmi na hrudníku a mají klinické projevy odpovídající akutnímu koronárnímu syndromu (AKS). Nemocným, kteří mají bolest na hrudníku a současně je z klinického hlediska velmi nepravděpodobné, že se u nich jedná o AKS (například mladí nemocní), není správné odebírat krev na stanovení markerů. Možnost falešně pozitivního výsledku u této skupiny nemocných může vést ke zbytečné hospitalizaci, provádění dalších testů a vyšetření, která mohou být provázena komplikacemi. Naopak na základě negativního výsledku jednoho testu nelze vyloučit poškození myokardu. U nemocných s pravděpodobným AKS používáme jako hlavní biochemický marker troponiny, přijatelnou alternativou je CK-MB. Výhodou troponinů je jejich vyšší specifita a prognostický význam jejich zvýšení i při normální koncentraci CK-MB. Pokud jsou hodnoty zjištěné v prvních 6 hodinách od vzniku obtíží v normálních mezích, je nezbytné provést druhý náběr v intervalu 9–12 hodin od vzniku obtíží (obr. 2.1.).



Obr. 2.1. Dynamika kardiálních markerů

2.3.3. Stratifikace rizika v časné fázi akutních koronárních syndromů

Určení rizika nemocného s AKS vychází z anamnestických údajů, fyzikálního vyšetření, elektrokardiogramu a z hodnot laboratorních markerů. Míra individuálního rizika rozhoduje, zda bude nemocný hospitalizován, zda to musí být na koronární jednotce, určí způsob léčby (konzervativní – intervenční). Při negativních nálezech naopak umožňuje propuštění a případné odeslání nemocného k provedení některých neinvazivních vyšetření (EKG, echokardiografie, scintigrafie).

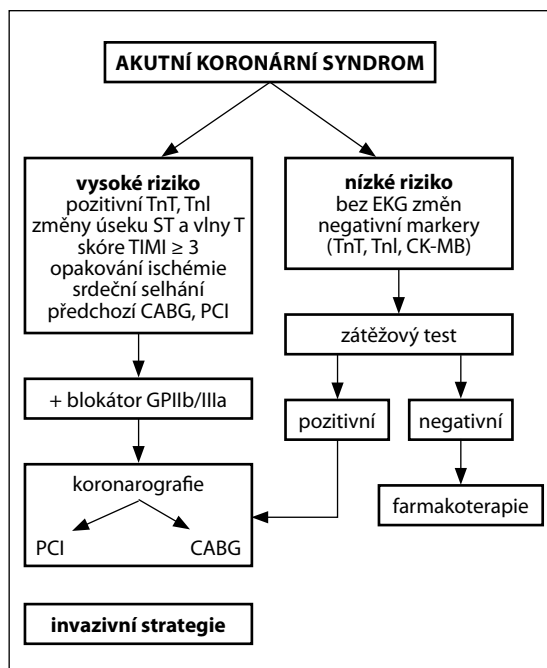
Nemocný přijatý s bolestí na hrudníku projde optimálně následujícím postupem:

- jsou získány anamnestická údaje s určením pravděpodobnosti, že se jedná o AKS;
- je provedeno fyzikální vyšetření a vyšetření EKG;
- je odebrána krev na stanovení troponinů, popřípadě CK-MB a myoglobinu;
- pokud je čas od vzniku obtíží kratší než 6 hodin, odběr opakujeme do 9.–12. hodiny.

Na obr. 2.2. je znázorněn algoritmus, podle kterého se provádí stratifikace rizika nemocných s bolestmi na hrudníku v prvních 72 hodinách od vzniku obtíží. Jako faktory ovlivňující riziko jsou zde uvedeny změny na EKG, dále systolický tlak pod 100 mm Hg, oboustranné chrůpky při plicních bázích, zhoršení již dříve přítomné anginy pectoris a pozitivní biochemické markery.

2.4. Laboratorní vyšetření užívaná při srdečním selhání

U nemocných s **chronickým srdečním selháním** dochází ke komplexní neuroendokrinní aktivaci, která zahrnuje katecholaminy, natriuretické peptidy a komponenty systému renin-angiotenzin-aldosteron. Nověji se v diagnostice a určení prognózy nemocných se srdečním selháním uplatňují také en-

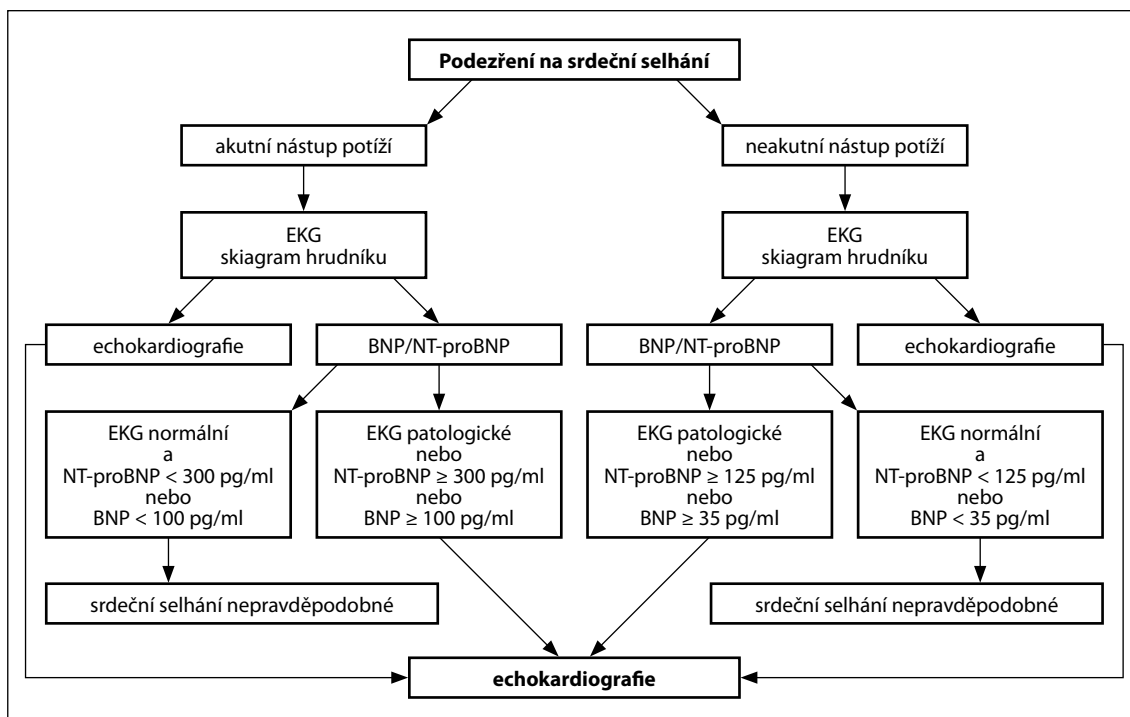


Obr. 2.2. Algoritmus stratifikace rizika nemocných s bolestmi na hrudníku v prvních 72 hodinách od vzniku obtíží

doteliny, neuropeptid Y, adrenomedulin, cytokiny a chromogranin A. Prognostický význam byl u nemocných se srdečním selháním prokázán u endotelinu 1 a chromograninu A. V posledních letech došlo k využití laboratorního vyšetření i v diagnostice **akutního srdečního selhání**. Kromě standardních anamnestických údajů, fyzikálního vyšetření, rtg srdce a plic, a především nálezů echokardiografického je využíváno stanovení natriuretického peptidu typu B.

■ Natriuretický peptid typu B

Tento neurohormon je specificky produkován a vylučován z myokardu srdečních komor v závislosti na objemové zátěži a tlakovém zatížení. Dostupné laboratorní metody stanovují buď přímo aktivní BNP (32 aminokyselin), nebo NT-proBNP (76 aminokyselin) – tedy N-terminální fragment, který vzniká při štěpení prekurzoru BNP, jenž je označován jako proBNP (108 aminokyselin). NT-proBNP má na rozdíl od BNP výhodu v delším poločase a vyšší stabilitě v preanalytické fázi. Oba dva ukazatele mají významný diagnostický a prediktivní význam jak v diagnóze srdečního selhání s porušenou systolickou funkcí, tak u nemocných se srdečním selháním se zachovalou systolickou funkcí. Zejména posledně jmenovaná skupina nemocných se díky vysoké prevalenci hypertenze a diabetu v populaci neustále zvětšuje a význam stanovení BNP a NT-proBNP tak významně stoupá. Některá data naznačují, že právě v této oblasti by NT-proBNP



Obr. 2.3. Diagnostický algoritmus srdečního selhání

mohl mít jisté přednosti. Naopak BNP se zdá méně náchylný na ovlivnění současně přítomnou renální insuficiencí. Současná doporučení staví oba dva ukazatele na roveň pouze s odlišnými hraničními hodnotami. Bylo prokázáno, že sérové koncentrace natriuretického peptidu typu B (BNP) velmi dobře korelují s funkční třídou srdečního selhání podle klasifikace New York Heart Association (NYHA) a s prognózou nemocných se srdečním selháním. V současné době jsou pro stanovení BNP k dispozici nejen metody ELISA, ale též automatizované imunochemické metody a »bed-side« metoda, která poskytuje výsledky do 15 minut po odběru žilní krve nemocného. Aktuální doporučení Evropské kardiologické společnosti z roku 2012 postavila diagnostický algoritmus především tak, aby bylo možno diagnózu srdečního selhání s vysokou pravděpodobností vyloučit. K tomu jsou používány velmi nízké hraniční hodnoty BNP a NT-proBNP v kombinaci s abnormálním EKG nálezem (EKG je jen ojediněle u nemocných se srdečním selháním normální). Diagnóza je pak následně upřesňována především s využitím echokardiografie.

Jiné příčiny elevace BNP nebo NT-proBNP u nemocných s akutním nástupem potíží zahrnují akutní koronární syndromy, komorové a supraventrikulární tachyarytmie, plicní embolizaci, těžkou chronickou obstruktivní chorobu plicní s přetížením pravého srdce, renální insuficienci a sepsi. U nemocných s neakutním nástupem potíží je pak příčinou elevace natriuretických peptidů věk nad

75 let, supraventrikulární arytmie, hypertrofie levé komory, chronická obstrukční plicní choroba a chronická renální onemocnění (obr. 2.3.).

2.5. Laboratorní vyšetření nemocných s plicní embolií

U nemocných s plicní embolií (PE) si klademe především dvě základní otázky. Za prvé, zda nemocný plicní embolií má, či nikoli. Za druhé, pokud plicní embolií skutečně má, jak tato embolie ovlivňuje prognózu nemocného. Podle toho pak volíme léčebnou strategii mezi méně agresivní antikoagulační léčbou a agresivní léčbou fibrinolytickou, případně v krajním případě intervenční perkutánní nebo chirurgickou desobliteraci obstruovaného plicního řečiště.

Prvním krokem v diagnostice PE je určení pravděpodobnosti, že se o tuto diagnózu jedná. V tom má klíčové místo anamnéza nemocných, posouzení jejich rizikových faktorů a klinické vyšetření. V závislosti na tom jsou nemocní rozděleni do skupiny s nízkou a střední pravděpodobností PE (kde je čas na diagnostické rozvahy a kde je rovněž místo pro uplatnění stanovení D-dimerů) a do skupiny nemocných s vysokým rizikem (kde u stabilních nemocných provádíme nejčastěji CT angiografii, u nestabilních začínáme echokardiografií k vyloučení kritického přetížení pravé komory).

■ D-dimery

Pro diferenciální diagnostiku PE je nejčastěji využíváno stanovení D-dimerů. Jde o fibrin-degradační produkty vznikající při procesu spontánní fibrinolýzy.

Uplatnění D-dimerů vyplývá z vlastností testu: senzitivita je 93 % a specifita 25 %. Negativní test má vynikající negativní prediktivní hodnotu 99,5 %. Jinými slovy, negativní test trombozu a její plicní embolizaci prakticky vylučuje, pozitivní však neznamená, že nemocný má právě plicní embolii, neboť příčin elevace D-dimerů může být řada – například gravidita, jaterní onemocnění, záněty a nádorová onemocnění, trauma, ale i vyšší věk.

Pro klinickou praxi je klíčové, že máme-li naléhavé podezření na PE z klinického obrazu (přítomnost rizikových faktorů, typická anamnéza bolestí na hrudi, synkopy, expektorace krve, dušnost, cyanóza, hypotenze atd.), čekání na výsledek D-dimerů nedává smysl a nemocný by měl být diagnostikován jinými vyšetřovacími metodami (echokardiografie, CT-angiografie).

Z hlediska velikosti a klinické závažnosti se dříve dělila PE na masivní, submasivní a malou. Toto hodnocení bylo v posledních doporučeních kardiologických společností nahrazeno stratifikací rizika na »high-risk« a »non-high-risk«. Druhá skupina se pak ještě dělí na intermediární riziko a nízké riziko.

Motivací tohoto dělení je skutečnost, že nemocný s vysokým rizikem má vysokou pravděpodobnost úmrtí a je kandidátem fibrinolytické léčby. Naopak aplikace takto agresivní terapie u nemocného s nízkým rizikem by byla hazardem s vysokou pravděpodobností komplikace léčby bez odpovídajícího kladného výsledku. Pro stratifikaci nemocných je možno využívat kromě posouzení hemodynamiky i markery myokardiálního poškození.

■ BNP, NT-proBNP

Dysfunkce myokardu vede celkem univerzálně k elevaci natriuretických peptidů, bez ohledu na to, zda jde o přetížení levé nebo pravé komory. Elevace BNP nebo NT-proBNP je tak přítomna i při dysfunkci tlakově přetížené pravé komory v důsledku PE. Data, která jsou v současné době k dispozici, sice ukazují, že BNP má jen malou pozitivní prognostickou hodnotu pro nepříznivý průběh PE (12–26 %), avšak negativní prediktivní hodnota je dobrá (94–100 %). To znamená, že normální koncentrace BNP nebo NT-proBNP u nemocného s intermediárním rizikem jsou dobrým prognostickým ukazatelem a mohou nás vést spíše ke konzervativ-

nímu postupu založenému jen na antikoagulační terapii, a nikoli na fibrinolýze.

■ Troponiny

U pacientů s PE vede někdy tlakové přetížení pravé komory k nekróze myokardu i přesto, že epikardiální větvitě cévy nejsou poškozené. Elevace troponinu T byla shledána jako ukazatel spojený s vysokým rizikem úmrtí nemocných s PE. Daleko cennějším pozorováním je, že elevace troponinů je spojena s vyšším rizikem i u normotenzních nemocných, tedy u těch, kde hemodynamickou závažnost neindikuje samotný klinický stav. Nedávná metaanalýza prokázala, že elevace troponinů je u těchto pacientů spojena až s šestinásobným rizikem mortality. U nemocných je doporučeno zvážit opakované odběry troponinů po 6 a 12 hodinách od počátku potíží, neboť iniciální odběry mohou být negativní. Pozitivní výsledek troponinů tak může přispět k přehodnocení rizika nemocných a vést k volbě fibrinolytické terapie.

■ HFABP

O prognostickém významu dalších biomarkerů u PE jsou poměrně chudá data. Jako ukazatel myokardiálního poškození byl testován HFABP – heart fatty acid binding protein, který by měl mít v predikci vysoce rizikové PE dokonce vyšší pozitivní i negativní prediktivní hodnotu než troponiny.

2.6. Laboratorní vyšetření užívaná v diagnostice infekčních onemocnění v kardiologii

2.6.1. Infekční endokarditida

V diagnostice infekční endokarditidy mají největší význam **hemokultury**. Bakteriémie je u nemocných s endokarditidou trvalá, není tedy nutný odběr hemokultur v závislosti na vzestupech tělesné teploty. Před zahájením léčby antibiotiky je pravděpodobnost pozitivní hemokultury odebrané ze žilní nebo arteriální krve 95–100 %; je známé, že toto procento se liší podle typu mikroorganismů. Nejčastější příčinou negativní hemokultury je předchozí léčba antibiotiky. Odběry mají být prováděny následujícím způsobem: během 24 hodin provádíme tři oddělené odběry, vždy z nové venepunkce. Vzor-

ky po 10 ml krve se odebírají jednak do aerobního média, jednak do anaerobního média. Laboratoř musí být vždy upozorněna na možnost diagnózy endokarditidy.

K potvrzení zánětlivé, infekční etiologie indikujeme vyšetření krevního obrazu, **CRP, případně prokalcitonin**. V **krevním obraze** nacházíme u 70 až 90 % nemocných normochromní normocytární anémii, nízkou hodnotu sérového železa a nízkou vazebnou kapacitu pro železo v séru. **Leukocytóza** s vyšším počtem granulocytů je obvyklá u akutní formy endokarditidy, u subakutních forem je počet leukocytů většinou normální. **Trombocytopenie** se objevuje pouze vzácně. Téměř u všech nemocných je zvýšená **sedimentace erytrocytů** – výjimkou jsou nemocní se srdečním selháním, renálním selháním nebo s diseminovanou intravaskulární koagulací. Třebaže je sedimentace erytrocytů nespecifickým testem, svědčí její normální hodnoty (kromě vyjmenovaných stavů) proti diagnóze infekční endokarditidy. Další používané testy prokazují zánětlivou a imunitní aktivaci: **pozitivní revmatoidní faktor, cirkulující imunokomplexy, kryoglobuliny, imunoglobuliny**. Uvedená vyšetření jsou poměrně nákladná, pro stanovení diagnózy nejsou nezbytná a neumožňují ani monitorování účinnosti léčby. Velmi vysoké koncentrace cirkulujících imunokomplexů pomáhají odlišit přechodnou bakteriemi od endokarditidy. V diagnostice jsou cenné především tehdy, nejsou-li výsledky echokardiografie a hemokultur jednoznačné. Zvýšená koncentrace urey bývá projevem imunokomplexové glomerulonefritidy a bývá spojena se zvýšením cirkulujících imunokomplexů a snížením komplementu.

U více než 50 % nemocných je nacházena proteinurie a mikroskopická hematurie, a to i tehdy, jsou-li renální funkce normální.

2.6.2. Myokarditida

Myokarditidy jsou charakterizovány zánětlivým poškozením myocytů, intersticia, cévních struktur, často bývá současně poškozen i perikard. Příčinou jsou nejčastěji infekce nejrůznějšího původu (virové, bakteriální, riketsiální, protozoární, metazoární). V laboratorní diagnostice nejsou proto používána specifická vyšetření, obecně bývají nacházeny projevy infekce – v závislosti na etiologickém agens. V diagnostice má rozhodující místo elektrokardiografie, echokardiografie a magnetická rezonance s použitím kontrastních paramagnetických látek na bázi gadolinia a průkaz pozdního syčení (late enhancement). Především magnetická rezonance představuje zásadní krok buď vyloučením zánětlivého poškození, nebo naopak suspekci na něj. Své vy-

užití nacházejí stále častěji i radionuklidové metody. Využití antimyozinových protilátek značených galiem (^{67}Ga) nebo indiem (^{111}In) umožňuje detekci zánětlivých nebo nekrotických ložisek v myokardu. V diagnostice se používají také metody endomyokardiální biopsie. Získané vzorky tkáně jsou vyšetřovány klasickými patologickoanatomickými metodami, včetně elektronové mikroskopie, v poslední době pak také metodami molekulární biologie.

2.6.3. Perikarditida

Diagnostika perikarditidy je založena na vyšetření fyzikálním, elektrokardiografickým, a především echokardiografickým. Punkce výpotku umožní vyšetření biochemické, mikrobiologické a cytologické. Změny některých obecných laboratorních ukazatelů – sedimentace erytrocytů, změny v krevním obraze, projevy zánětlivé a imunitní stimulace – jsou závislé na etiologii onemocnění.

2.7. Laboratorní vyšetření užívaná v angiologii

U všech onemocnění, která vedou k ischemické chorobě dolních končetin, provádíme běžná laboratorní vyšetření, jako jsou sedimentace erytrocytů, krevní obraz, stanovení trombocytů, fibrinogenu, viskozity plazmy a krve, kreatininu a urey, kyseliny močové. U **obliterujících ateroskleróz** vyšetřujeme spektrum lipidů – cholesterol a jeho frakce, triacylglyceroly, glykémii, provádíme test glukózové tolerance, popř. zjišťujeme také inzulinémií. Jako prediktivní pro rozvoj komplikací je možno využít podobně jako u ICHS stanovení hs-CRP. Pro nové prediktory rozvoje aterosklerózy, jako je Lp-PLA₂, zatím u ICHDK data téměř chybějí.

U **obliterujících trombangiitid** stanovujeme různé zánětlivé ukazatele – revmatoidní faktor, imunoglobuliny, cirkulující imunokomplexy, složky C3 a C4 komplementu, popř. antielastinové protilátky a inhibitor aktivátoru plazminogenu PAI-1. U **kolagenóz a vaskulitid** jsou prováděna speciální vyšetření, jejichž souhrn je uveden v kap. 13 a 28.

U **žilních onemocnění** je prováděna řada hemokoagulačních vyšetření, zaměřených především na geneticky podmíněné defekty koagulace. Patří k nim APC-rezistence (mutace faktoru Va Leiden), deficit antitrombinu, deficit proteinu C, deficit proteinu S, faktoru II a hyperhomocysteinémie. Ideálními metodami pro diagnostiku trombóz jsou duplexní sonografie, která má prakticky 100% specifitu, a vyšetření D-dimeru, rozpadového produktu fibrinu, který

má 95% senzitivitu. Při jeho negativitě tedy trombóza není s vysokou pravděpodobností přítomna.



- ASCHERMANN, M., ed. *Kardiologie*. Praha : Galén, 2004.
- BHAYANA, V., HENDERSON, AR. *Biochemical markers of myocardial damage*. Clin Biochem, 1995, 28, p. 1–29.
- BOGATY, P., POIRIER, P., SIMARD, S., et al. *Biological profiles in subjects with recurrent acute coronary events compared with subjects with long-standing stable angina*. Circulation, 2001, 103, p. 3062–3068.
- CÍFKOVÁ, R., HORKÝ, K., WIDIMSKÝ, J., et al. *Doporučení diagnostických a léčebných postupů u arteriální hypertenze – verze 2004. Doporučení České společnosti pro hypertenzi*. Vnitř Lék 2004, 4, 9, s. 709–722.
- COLLINSON, PO. *Troponin T, or troponin I or CK-MB (or none?)*. Eur Heart J, 1998, 19, p. N16–24.
- HARTMAN, F., KAMPMAN, M., FREY, A., et al. *Biochemical markers in the diagnosis of coronary artery disease*. Eur Heart J, 1998, 19, p. N2–7.
- HEDGES, JR., GIBLER, WB., YOUNG, G., et al. *Multicenter study of creatin kinase-MB use: effect on chest pain clinical decision making*. Acad Emerg Med, 1996, 3, p. 7–15.
- JAMES, SK., ARMSTRONG, P., BARNATHAN, E., et al., and GUSTO-IV-ACS Investigators. *Troponin and C-reactive protein have different relations to subsequent mortality and myocardial infarction after acute coronary syndrome*. J Am Coll Cardiol, 2003, 41, p. 916–924.
- JURLANDER, B., FARHI, ER., BANAS, JJ., et al. *Coronary angiographic findings and troponin T in patients with unstable angina pectoris*. Am J Cardiol, 2000, 85, p. 810–814.
- KEMP, M., DONOVAN, J., HIGHAM, H., et al. *Biochemical markers of myocardial injury*. Br J Anaesth 2004, 93, p. 63–73.
- KOENIG, W., PEPYS, MB. *C-reactive protein risk prediction: low specificity, high sensitivity*. Ann Intern Med, 2002, 136, p. 550–552.
- LIBBY, P., RIDKER, PM., MASERI, A. *Inflammation and atherosclerosis*. Circulation, 2002, 105, p. 1135–114.
- LINDAHL, B., TOSS, H., SIEGBAHN, A., et al. *Markers of myocardial damage and inflammation in relation to long-term mortality in unstable coronary artery disease*. FRISC Study Group: Fragmin during instability in coronary artery disease. N Engl J Med 2000, 343, p. 1139–1147.
- LINDAHL, B., VENGE, P., WALLENTIN, L. *Comparison of troponin T and troponin I for prediction of mortality in unstable coronary artery disease*. Eur Heart J, 1997, 18, 123–126.
- LIUZZO, G., BIASUCCI, LM., GALLIMORE, R., et al. *The prognostic value of C-reactive protein and serum amyloid A protein in severe unstable angina*. N Engl J Med, 1994, 331, p. 417–424.
- MAIR, J. *Progress in myocardial damage detection: new biochemical markers for clinicians*. Crit Rev Clin Lab Sci, 1997, 34, p. 1–66.
- MAISEL, AS., KOON, J., KRISHNASWAMMY, P., et al. *Utility of B-natriuretic peptide as a rapid point of care test for screening patients undergoing echocardiography to determine left ventricular dysfunction*. Am Heart J, 2001, 141, p. 367–374.
- MAISEL, AS., KRISHNASWAMMY, P., NOWAK, RM., et al. *Rapid measurement of B-type natriuretic peptide in the emergency diagnosis of heart failure*. N Engl J Med, 2002, 347, p. 161–167.
- NAKATA, T., HASHIMOTO, A., HASE, M., et al. *Human heart-type fatty acid binding protein as an early diagnostic and prognostic marker in acute coronary syndrome*. Cardiology, 2003, 99, p. 96–104.
- PANTEGHINI, M., CUCCIA, C., PAGANI, F., et al. *Comparison of diagnostic performance of two rapid bedside biochemical assays in the early detection of acute myocardial infarction*. Clin Cardiol, 1998, 21, p. 394–398.
- SEINO, Y., OGATA, K., TAKANO, T., et al. *Use of whole blood rapid panel test for heart-type fatty acid binding protein in patients with acute chest pain: comparison with rapid troponin T and myoglobin tests*. Am J Med, 2003, 15, p. 185–190.
- SUNG, KC., SUH, JY., KIM, BS., et al. *High sensitivity C-reactive protein as an independent risk factor for essential hypertension*. Am J Hypertens, 2003, 16, p. 429–433.
- The Joint European Society of Cardiology/American College of Cardiology Committee. *Myocardial infarction redefined – A consensus document of The Joint European Society of Cardiology/American College of Cardiology Committee for the redefinition of myocardial infarction*. Eur Heart J, 2000, 21, p. 1502–1513.
- de WINTER, RJ., FISCHER, J., BHOLASINGH, R., et al. *C-reactive protein and cardiac troponin T in risk stratification: differences in optimal timing of tests early after the onset of chest pain*. Clin Chem, 2000, 46, p. 1597–1603.
- WU, AHB. *Use of cardiac markers as assessed by outcome analysis*. Clin Biochem, 1997, 30, p. 339–350.
- WU, AHB., FENG, YJ. *Biochemical differences between cTNT and cTNI and their clinical significance for diagnosis of acute coronary syndromes*. Eur Heart J, 1998, 19, p. N25–N29.
- YAMASHITA, H., SHIMADA, K., SEKI, E., et al. *Concentrations of interleukins, interferon, and C-reactive protein in stable and unstable angina pectoris*. Am J Cardiol, 2003, 91, p. 133–136.
- ZEBRACK, JS., MUHLESTEIN, JB., HORNE, BD., et al., and Intermountain Heart Collaboration Study Group. *C-reactive protein and angiographic coronary artery disease: independent and additive predictors of risk in subjects with angina*. J Am Coll Cardiol, 2002, 39, p. 632–637.
- ZIPES, DP., et al., ed. *Textbook of cardiovascular medicine*. 7th ed. Philadelphia : Saunders, 2005.

3. Laboratorní diagnostika v pneumologii

Jiří Homolka

3.1. Úvod

Plíce jsou orgán umožňující výměnu plynů mezi plicními sklípky a zevním prostředím – respiraci. Cílem respirace je zajištění výměny kyslíku a oxidu uhličitého mezi krví a tkáněmi a tím umožnění buněčných metabolických pochodů. **Respirace sestává ze čtyř složek:**

- ventilace;
- difuze;
- perfuze;
- kontroly dýchání.

Kromě hlavní, tedy respirační funkce mají plíce i funkce nerespirační při inaktivaci cirkulujících bioaktivních látek, např. serotoninu nebo bradykininu. V plicních cévách dochází k přeměně angiotenzinu I na angiotenzin II účinkem enzymu konvertujícího angiotenzin (ACE) v endotelových buňkách. V plicní cirkulaci také vznikají metabolity kyseliny arachidonové (prostaglandiny a leukotrieny).

Plíce jsou dále orgán, který je velkou plochou plicních sklípků (asi 100 m²) neustále v kontaktu se zevním prostředím, a který je proto zaplavován velkým množstvím antigenů. K tomu, aby mohly plnit svou základní respirační funkci, je nutná jejich výbava výkonnými ochrannými mechanismy. Tyto mechanismy lze rozdělit na specifické a nespecifické (tab. 3.1.).

K základním pilířům **pneumologické diagnostiky** patří anamnéza a dále řada různých vyšetření – fyzikální, laboratorní, zobrazovací metody, vyšetření funkce plic, endoskopická, mykobakteriologická, imunologická a alergologická, izotopová a bioptická.

V rámci diagnostiky a léčby plicních chorob vyšetřuje pneumolog u nemocných krev, moč, sputum,

bronchiální sekret, bronchoalveolární lavážní tekutinu (BALTe), pohrudniční výpotek a další materiály. Nedílnou součástí pneumologické diagnostiky jsou klasické i moderní zobrazovací metody (skiaografie, skiaskopie a tomografie hrudníku, výpočetní tomografie, výpočetní tomografie s vysokou rozlišovací schopností – HRCT, sonografie), endoskopické vyšetřovací metody (tracheobronchoskopie, thorakoskopie, mediastinoskopie) a vyšetření funkce plic (spirometrie, celotělová pletyzmografie, vyšetření difúzní kapacity plic pro CO – DL_{CO}, vyšetření plicní poddajnosti – compliance). Pneumolog indikuje též bakteriologická a mykobakteriologická vyšetření včetně moderních amplifikačních metod detekujících specifické sekvence DNA nebo r-RNA mykobakterií. K vyloučení embolizace do plic je indikován perfúzní plicní sken v kombinaci s ventilačním plicním skenem. K základním metodám diagnostiky zhoubných nádorů v oblasti dýchacího ústrojí patří pneumologická cytodiagnostika, která je rychlá a spolehlivá a nemocného nezatěžuje rizikem spojeným s odběrem větší části tkáně. Přesto se pneumolog v indikovaných případech neobejde bez bronchobiopsie, transbronchiální plicní biopsie, plicní biopsie při videoasistované thorakoskopii nebo plicní biopsie podle Klassena.

3.1.1. Laboratorní vyšetření v pneumologii

U každého nemocného vyšetřujeme reaktanty akutní fáze – sedimentaci erytrocytů (FW), C-reaktivní protein (CRP). V indikovaných případech při podezření na bakteriální sepsi vyšetřujeme prokalcitonin. Výrazně zrychlená sedimentace je zjišťována u systémových onemocnění pojiva s plicním postižením, primárních nebo sekundárních maligních plicních nádorů a u zánětů plic. U chronické obstrukční plicní nemoci nebo tuberkulózy je většinou sedimentace v normě. Leukocytóza s posunem do-

Tab. 3.1. Plicní ochranné mechanismy

Specifické	Nespecifické
alveolární makrofágy	IgG, laktoferrin, komplement
IgA	surfaktant

leva v krevním obraze svědčí pro akutní zánět plic, polyglobulie může doprovázet chronickou respirační insuficienci, eozinofilie může být přítomna u bronchiálního astmatu nebo u vaskulitid s plicním postižením. Normochromní nebo hypochromní anémie doprovází bronchogenní karcinom. Speciální laboratorní vyšetření se týkají autoprotilátek, stanovení haplotypu, ACE v séru nebo zjištění nádorových markerů (CEA, CYFRA, NSE, proGRP).

3.1.2. Mykobakteriologická vyšetření

Jako důležité vyšetření u nemocných s plicními chorobami není možno opomenout mikroskopické a kulturační vyšetření sputa, bronchiálního sekretu, pohrudničního výpotku, vzorků tkáně a jiných materiálů na mykobakterie. Mikroskopické vyšetření sputa lze provést při barvení podle Ziehla-Neelsena nebo auraminrhodaminem B (fluorescenční mikroskopie). Kultivace provádíme na pevných vaječných půdách Löwensteinových-Jensenových nebo na tekutých půdách (Šulova půda). Kultivace na mykobakterie je tisíckrát citlivější než mikroskopie, ale trvá průměrně 6 týdnů. Často se opomine vyšetřit biotický materiál z uzlin kulturačně na mykobakterie. Ve snaze zkrátit dobu potřebnou k průkazu malých kvant mykobakterií byly zavedeny rychlejší metody, např. radiometrická nebo fluorescenční kultivace BACTEC, kdy lze růst mykobakterií detekovat již za 2–3 týdny. K průkazu specifických sekvencí nukleotidů v mykobakteriální DNA se používá polymerázová řetězová reakce (PCR). Lze prokazovat i ribosomální RNA mykobakterií po jejím přepisu do DNA a amplifikaci (PCR s reverzní transkripcí – RT-PCR).

3.1.3. Imunologická a alergologická vyšetření v pneumologii

U pacientů s recidivujícími plicními infekcemi je indikováno stanovení koncentrací imunoglobulinů k vyloučení dysgamaglobulinémie. Při intersticiálních plicních procesech vyšetřujeme koncentrace cirkulujících imunokomplexů a autoprotilátek. U bronchiálního astmatu typu extrinsic je na místě provedení prick testů a intradermálních kožních testů a stanovení specifických IgE. Stanovujeme též eozinofilní kationický protein (ECP) jako marker aktivace eozinofilů.

Tuberkulinový test provádíme aplikací 0,1 ml purifikovaného proteinového derivátu (PPD) intradermálně na volární stranu levého předloktí (Mantoux II) a hodnotíme ho za 72 hodin. Tuberkulinový test je pozitivní při induraci 6 mm a větší. Reakci nad

15 mm hodnotíme jako hyperergickou a předpokládáme senzibilizaci T-lymfocytů nikoliv po aplikaci BCG vakcíny, ale po infekci virulentním kmenem komplexu *Mycobacterium tuberculosis*. Negativní tuberkulinový test můžeme hodnotit jako možný defekt buněčné imunity v oblasti T-lymfocytů.

IGRA testy stanovují produkci interferonu- γ (IFN- γ) senzibilizovanými T-lymfocyty. Oproti tuberkulinovému testu mají výhodu v tom, že jejich výsledek není ovlivněn předchozí BCG vakcinací, jedná se o jednorázové vyšetření nevyžadující další návštěvy nemocného. Jejich nevýhodou je vysoká cena souprav. V ČR se převážně používá Quantiferon TB-Gold, používající k měření produkce IFN- γ techniku ELISA. V Evropě je kromě tohoto testu používán i TB-Spot detekující aktivované T-lymfocyty technikou ELISPOT.

Kveimův test slouží k diagnostice sarkoidózy. Kveimův antigen lze připravit ze sleziny nemocného se sarkoidózou. Takto připravený antigen se aplikuje intradermálně na označené místo v dávce 0,1 ml. Za 3–4 týdny se provede z místa vpichu kožní excize, která je po obarvení mikroskopicky hodnocena – průkaz epitelooidního granulomu podporuje diagnózu sarkoidózy. Někdy podporuje diagnózu sarkoidózy i hnědočervený uzlík vzniklý v místě po aplikaci antigenu. Kveimův antigen se komerčně nevyrábí.

3.1.4. Biotická vyšetření v pneumologii

Pleurální biopsie provádíme u nejasných pleurálních syndromů. Používáme k tomu **punkční jehly speciálního typu**, např. Copeho nebo Abramsovu. Předpokladem nekomplikované necílené pleurální biopsie je dostatečné oddálení plíce tekutinou. Necílená pleurální biopsie má vyšší výtěžnost u tuberkulózní pleuritidy než u karcinomatózních pleuritid. Lze provést i cílenou pleurální biopsii štípacíkem při thorakoskopii.

Plicní biopsie lze provádět chirurgicky cestou malé thorakotomie podle Klassena nebo při videothorakoskopii. Dále lze získat vzorek plicní tkáně transbronchiální cestou (Andersenova transbronchiální plicní biopsie) nebo punkční cestou za použití speciálních rotujících jehel a podtlaku. Tenké jehly (např. jehla Chiba o průměru 0,72 mm) umožňují získání materiálu pouze k cytologickému vyšetření.

3.1.5. Izotopová vyšetření v pneumologii

Perfuzní plicní scintigrafie dává přehled o průtoku krve plícemi v závislosti na lokální ventilaci. Neumožňuje sice spolehlivé rozlišení, zda je výpadek

perfuze dán embolizací, nebo omezením ventilace v příslušném plicním segmentu, jako screeningové vyšetření je však indikována vždy při podezření na embolizaci do plicnice. Perfuzní plicní scintigrafii je vhodné kombinovat s ventilační plicní scintografií k odlišení primárních a sekundárních poruch plicní perfuze. Měření epiteliální plicní permeability pomocí ^{99m}Tc – DTPA (diethylenetriaminopentaoctová kyselina ve formě aerosolu) spočívá na principu přestupu radioaktivity z plicních sklípků do cévního řečiště. Průnik radiofarmaka je zrychlen u kuřáků a při intersticiálních plicních procesech. Senzitivita vyšetření je vysoká, ale specifita je velmi nízká.

3.1.6. Analýza vydechaného vzduchu nebo kondenzátu vydechaného vzduchu

V roce 1998 získala trojice vědeckých pracovníků z USA – Furchgott, Ignarro a Murad – Nobelovu cenu za fyziologii a lékařství za objev oxidu dusnatého (NO) jako signální molekuly v kardiovaskulárním systému. Profesor Furchgott dospěl k závěru, že cévy jsou dilatovány na základě neznámé signální molekuly, kterou nazval relaxační faktor odvozený od endotelu (EDRF – endothelium-derived relaxing factor). V roce 1986 identifikovali EDRF nezávisle Furchgott a Ignarro jako oxid dusnatý.

Oxid dusnatý je důležitý nespecifický mediátor zánětu. Účastní se řady fyziologických dějů (regulace periferního krevního průtoku, účast na funkcích trombocytů, neurotransmise a další). U zdravých osob je průběžně syntetizován v nízkých koncentracích v dýchacích cestách. Endogenní NO vzniká z L-argininu působením enzymu NO-syntázy, která existuje ve třech izoformách – endoteliální, neurogenní a inducibilní. Její expresi mohou indukovat prozánětlivé cytokiny v epiteliálních a zánětlivých buňkách. NO je nestabilní a mění se velmi rychle na nitrity a nitráty. V leukocytech je NO produkován ve velkém množství a dosahuje toxických koncentrací potřebných k poškození bakterií a parazitů.

V posledních deseti letech je předmětem rozsáhlého výzkumu využití detekce NO a dalších substancí k monitorování aktivity nebo stanovení diagnózy u některých plicních onemocnění. Lze vyšetřovat vydechaný vzduch nebo kondenzát vydechaného vzduchu. Měření koncentrací NO ve vydechaném vzduchu (analýzátor NIOX) se již používá v několika desítkách klinických center v Evropě a je názorným příkladem zavedení nových poznatků z fyziologie a patofyziologie do pneumologie. Ve vydechaném vzduchu lze analyzovat i další plyny, např. CO, nebo se ochlazením získá tekutý analyt (kondenzát aerosolových částic z vydechaného

vzduchu, který odráží složení bronchoalveolární extracelulární tekutiny), jenž je předmětem laboratorní analýzy s využitím různých separačních a detekčních metod. Vyšetření předpokládá standardní odběr materiálu (vodní páry a aerosoly) do biologicky inertního prostředí. Materiál se zmrazí k pozdějším analýzám. Stabilita jednotlivých látek v kondenzátu je rozdílná, z toho vyplývá i vhodná doba skladování do příslušné analýzy. Stanovení velmi nízkých koncentrací vyžaduje velmi citlivé metody analýzy, nejlépe kombinaci plynové nebo kapalinové chromatografie s hmotnostní spektrometrií či jinou identifikační metodou. V porovnání s indukovaným sputem nebo bronchoalveolární laváží (BAL) jde o neinvazivní metodu, která nemocného nezatěžuje a může se libovolně často opakovat.

Hodnocení **intenzity zánětu** v dýchacích cestách u bronchiálního astmatu nebo chronické bronchitidy je problematické. Vzhledem k tomu, že koncentrace markerů zánětu v krvi nebo moči nabízí nepřesnou informaci, jeví se jako velmi perspektivní možnost stanovení různých markerů ve vydechaném vzduchu. Předmětem vyšetření mohou být plyny (NO, CO, ethan aj.), dále peroxid vodíku, nitrity, nitráty, nitrotyrosin, leukotrieny, prostaglandiny, popřípadě různé cytokiny a další látky. Posledních deset let rozsáhlého výzkumu zpřesnilo informace o využitelnosti NO při monitorování zánětu u bronchiálního astmatu natolik, že Úřad pro potraviny a léčiva USA (Food and Drug Administration – FDA) schválil jeho použití k monitorování zánětu a ověření účinnosti léčby. NO zatím nemá pro diagnózu jednoznačný význam, což poněkud zklamalo původní očekávání klinických pracovníků.

Poprvé stanovil NO ve vydechaném vzduchu Gustafsson v roce 1991 a v roce 1994 bylo publikováno, že nemocní s bronchiálním astmatem bez protizánětlivé léčby mají ve srovnání se zdravými jedinci zvýšené koncentrace NO. Ze všech analytických metod se nejvíce užívá měření NO na základě chemiluminiscenční reakce s ozonem. Koncentrace NO ve vydechaném vzduchu jsou ovlivněny dalšími vlivy, např. kouřením, rinitidou nebo atopií. Měření NO závisí na průtoku. Čím je průtok vzduchu vydechaného pacientem nižší, tím vyšší je koncentrace NO, a naopak. Pro standardizované měření je proto užíván konstantní průtok při výdechu 50 ml/s. Měřit lze on-line i off-line. První způsob dovoluje kontrolu průtoku či tlaku v průběhu měření a tím umožňuje zdravotníkům toto měření opakovat při suboptimálním úsilí nemocného. Jedincům neochotným nebo neschopným spolupracovat je vyhrazena druhá verze. Koncentrace NO je ovlivněna i stupněm plicní inflace. Ani korigované plicní objemy interindividuální variabilitu zcela neodstraní. Většinou se měří výdech z celkové plicní

kapacity (TLC). Hodnoty měřené z funkční reziduální kapacity (FRC) jsou asi o 20 % nižší. Dosud nebyl přesně definován vliv diet, věku, pohlaví. Měření NO je snadné jak pro personál, tak pro nemocného. U zdravých jedinců je rozsah koncentrací NO ve vydechovaném vzduchu 5–20 ppb. Koncentrace NO pozitivně koreluje s eozinofilií ve sputu u astmatiků neléčených steroidy. Zvýšené koncentrace NO mohou předcházet před symptomy astmatu a toho lze využít ke včasným léčebným zásahům.

U chronické obstrukční plicní nemoci (CHOPN) může zvýšená koncentrace NO ve vydechovaném vzduchu signalizovat pravděpodobnou odpověď na léčbu inhalačními kortikosteroidy. Koncentrace NO je užitečnější parametr zánětu než sérový eozinofilní kationický protein (ECP) nebo solubilní receptor pro interleukin 2 (sIL-2R). Inhalační kortikosteroidy a antagonisté leukotrienových receptorů snižují koncentrace NO ve vydechovaném vzduchu. Beta₂-mimetika (krátkodobě i dlouhodobě působící) nemají na koncentrace NO žádný vliv. Vzhledem ke skutečnosti, že vydechovaný NO rychle odpovídá na protizánětlivou léčbu, je NO vhodným nástrojem k hodnocení astmatu a posouzení účinku léčby.

3.2. Diagnostické postupy u vybraných plicních chorob

3.2.1. Tuberkulóza

Tuberkulózou rozumíme všechny chorobné stavy, jejichž příčinou je *Mycobacterium tuberculosis komplex* (*M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. africanum*). Většina nemocných s tuberkulózou vyhledává lékaře pro symptomy choroby, přibližně 25 % onemocnění je zjištěno v asymptomatickém stadiu. U některých chorob je riziko onemocnění tuberkulózou zvýšené – např. alkoholismus zvyšuje riziko onemocnění 4krát, diabetes mellitus a podvýživa rovněž 4krát, gastrektomie a hemodialýza 5krát, hemofilie 10krát, léčba imunosupresivy 12krát, silikóza 30krát, HIV-pozitivita 100krát.

Základem diagnostiky plicní tuberkulózy je skiagram hrudníku a opakované mykobakteriologické (mikroskopické, kultivační) vyšetření sputa. V současnosti lze diagnostiku urychlit průkazem specifických sekvencí DNA nebo r-RNA mykobakterií nebo urychlit výsledek kultivací systémem BACTEC. Laboratorní diagnostika v případech tuberkulózy nabízí pouze málo senzitivní i málo specifické sérologické metody. V případech podezření na tuberkulózní pleuritidu je přínosem vyšetření adenosindeaminázy – ADA (EC 3.5.4.4) – ve výpotku. Tento enzym se účastní purinového metabolismu a katalyzuje přeměnu adenosinu na inosin. Ve výpotku je prokazován ve zvýšené koncentraci. Ve výpotku lze pomocí HPLC prokázat i kyselinu tuberkulostearovou (tab. 3.2.).

Tab. 3.2. Diagnostický postup u tuberkulózy dýchacího ústrojí

1. symptomy + rizikové faktory
2. fyzikální vyšetření
3. skiagram hrudníku, event. tomogramy
4. opakované vyšetření sputa a jiných materiálů na MTB, BACTEC, PCR, RT-PCR, u výpotku vyšetření adenosindeaminázy, kyseliny tuberkulostearové, pleurální biopsie
5. u nevykašlávajících indukce sputa, event. bronchoskopie se sběrem nebo výplachem
6. tuberkulinový test
7. laboratorní vyšetření (krevní obraz, jaterní testy, oční vyšetření – včetně perimetru a barvocitu)

lyzuje přeměnu adenosinu na inosin. Ve výpotku je prokazován ve zvýšené koncentraci. Ve výpotku lze pomocí HPLC prokázat i kyselinu tuberkulostearovou (tab. 3.2.).

3.2.2. Bronchogenní karcinom

Bronchogenní karcinom představuje nejčastější zhoubný nádor u mužů (bronchogenním karcinomem onemocní během roku přibližně jeden z tisíce mužů – 91/100 000 mužů), u žen jeho výskyt postupně stoupá (27/100 000 žen). Tento zhoubný nádor je obtížně ovlivnitelný léčbou, dlouhodobě přežívají pouze radikálně operovaní nemocní. Přibližně u 90 % postižených je příčinou bronchogenního karcinomu kouření cigaret, v 10 % jsou příčiny jiné (radon, arzen, azbest, nikl, šestimocný chrom, asfalt).

Nádor, rostoucí v plicí dlouho, nevyvolává výraznější symptomy, v 95 % je onemocnění v době zjištění již pokročilé. **Symptomy** bronchogenního karcinomu jsou jednak celkové (nechutenství, hubnutí, horečka), jednak funkční (hemoptýza, pleurální bolest, dušnost, pískoty, stridor). Další symptomatologie bronchogenního karcinomu vyplývá z **metastatického postižení jiných orgánů** (mozek – bolesti hlavy, závratě, změna osobnosti, poruchy hybnosti; játra – bolesti břicha, žloutenka; skelet – bolesti v kostech). Celkové spektrum příznaků doplňují tzv. **paraneoplastické syndromy**, způsobené ektopickou produkcí látek podobných hormonům, jako jsou např. hypertrofická osteoartropatie, hyperkalcémie, Cushingův syndrom, hypoglykémie a další. Paraneoplastické syndromy nejčastěji doprovázejí **malobuněčný bronchogenní karcinom**. Nádorové buňky mohou produkovat substance podobné ACTH, ADH, kalcitoninu, hCG, parathormonu, somatotropinu, prolaktinu nebo β-lipotropinmu hormonu. **Nemalobuněčné bronchogenní karcinomy** tvoří 70 % případů, malobuněčný bronchogenní karcinom 30 % případů onemocnění.

Podezření na bronchogenní karcinom lze vyslovit na základě anamnestických údajů (kuřák ciga-

Tab. 3.3. Diagnostický postup u bronchogenního karcinomu

1. anamnéza
2. fyzikální vyšetření
3. skiagram hrudníku ve dvou projekcích
4. nádorové markery (CEA, CYFRA, NSE)
5. cytologie sputa, punkce periferních uzlin
6. bronchoskopie s cílenými odběry
7. hrudní punkce, thorakoskopie
8. transparietální aspirační punkce plic tenkou jehlou
9. excize nebo punkce periferních uzlin
10. mediastinoskopie
11. diagnostická thorakotomie

ret s celkovou zátěží 150 000 a více) včetně symptomů. Lokalizaci patologického nálezu většinou prokáže skiagram hrudníku. U nemocných s nízkým výkonnostním stavem postačí k ověření typu nádoru pouze cytologické vyšetření sputa nebo punktátu periferních mízních uzlin, jinak vždy provádíme bronchologické vyšetření s biopsií. Při současném výskytu pleurálního syndromu provedeme hrudní punkci s cytologickým vyšetřením punktátu nebo thorakoskopií. U periferně lokalizovaných nádorů mimo dosah bronchologického vyšetření indikujeme transparietální aspirační biopsii tenkou jehlou, v případě postižení paratracheálních uzlin je vhodná mediastinoskopie. Pouze ojediněle je k ověření typu nádoru nutno provést diagnostickou thorakotomii (tab. 3.3.). Po ověření typu nádoru musíme provést jeho staging, tzn. zjistit jeho rozsah a zařadit jej do systému TNM. Metody používané k určení stadia nádorového onemocnění jsou uvedeny v tab. 3.4.

Laboratorní vyšetření ukáží u bronchogenního karcinomu biochemické změny, které vyplývají ze zánětlivých a destruktivních změn v okolní tkáni. Dochází ke zvýšení reaktantů akutní fáze (α_1 -anti-trypsin, α_1 -antichymotrypsin, C-reaktivní protein, ceruloplazmin) a koncentrace transferrinu, negativního reaktantu akutní fáze, klesá. Růst nádoru je dále doprovázen sekundární hypochromní anémií. U některých nemocných může být zvýšen některý z nádorových markerů: karcinoembryonální antigen (CEA), tkáňový polypeptidový antigen (TPA), antigen karcinomů z dlaždicových buněk (cytokeratinový fragment – CYFRA), neuron-specifická enoláza (NSE) nebo peptid uvolňující progastrin (progastrin-releasing peptide – proGRP). U takových jedinců je možné monitorování účinku léčby na základě opakovaných stanovení těchto markerů. Ani jeden z nádorových markerů není vhodný k vyhle-

dávání nemocných s bronchogenním karcinomem, protože všechny mají nízkou senzitivitu.

Karcinoembryonální antigen poprvé popsal Gold v roce 1965. Jedná se o glykoprotein s relativní molekulovou hmotností 180 000. Jeho struktura je podobná adhezním molekulám. V literatuře bylo popsáno jeho zvýšení v plazmě nebo séru u osob s karcinomy žaludku, pankreatu, tlustého střeva, rekta, jater, prsu a u bronchogenního karcinomu. Koncentrace CEA se stanovuje radioimunoanalýzou (RIA) nebo enzymovou imunoanalýzou (EIA) či fluorescenční imunoanalýzou (FIA), ale nejvíce luminiscenční analýzou (LIA). Podle metody jsou koncentrace u zdravých nekuřáků od 2,5 do 10 $\mu\text{g/l}$. Kouření zvyšuje koncentraci CEA. Zvýšené koncentrace CEA jsou prokazovány asi u 50 % nemocných s bronchogenním karcinomem, zvláště vysoké koncentrace jsou nacházeny u nemocných, kteří již mají jaterní metastázy. Byly publikovány práce, jež prokazují zkrácené přežívání nemocných s bronchogenním karcinomem v přímé závislosti na koncentracích CEA. Po úspěšné resekci plic, po aktinoterapii nebo chemoterapii se koncentrace CEA snižují nebo normalizují. Opětovný nárůst signalizuje relaps onemocnění.

Tkáňový polypeptidový antigen je podobný keratinu, má relativní molekulovou hmotnost 43 000 a je prokazován ve zvýšených koncentracích u zánětlivých i nádorových onemocnění. Normální koncentrace jsou 80–120 U/l, TPA má u bronchogenního karcinomu ještě nižší specifitu než koncentrace CEA.

CYFRA je glykoprotein, který produkují nádorové buňky u dlaždicobuněčného bronchogenního karcinomu, karcinomu děložního hrdla a některých dalších nádorů. Je prokazován zejména pomocí LIA a RIA. Zvýšené koncentrace jsou podle literatury prokazovány u 55–75 dlaždicobuněčných karcinomů.

Neuron-specifická enoláza (NSE) patří do skupiny enoláz, což jsou glykolytické enzymy, které jsou tvořeny podjednotkami α , β , γ . NSE je dimer γ - γ a je syntetizována nádorovými buňkami, které jsou neuroendokrinního původu (systém APUD). V séru se stanovuje RIA, EIA, a především LIA, normální koncentrace jsou do 15 $\mu\text{g/l}$. Ke zvýšení dochází u malobuněčného bronchogenního karcinomu, medulárního karcinomu štítné žlázy, feochromocytomu, neuroblastomu a některých karcinomů pankreatu, jícnu nebo rekta. U malobuněčného bronchogenního karcinomu je ve stadiu ohraničené nemoci NSE zvýšena asi u 40–60 % případů, ve stadiu rozvinuté nemoci až u 90 %. NSE je zvýšena také asi u 8–17 % nemalobuněčných bronchogenních karcinomů.

Tab. 3.4. Metody určení stadia bronchogenního karcinomu

1. CT hrudníku
2. ultrasonografie břicha
3. scintigrafie skeletu (v budoucnosti tyto metody nahradí pozitronová emisní tomografie – PET)

3.2.3. Emfyzém při deficitu α_1 -antitrypsinu

Deficit α_1 -antitrypsinu je jednou z nejčastějších vrozených metabolických poruch u bělochů v Evropě. Tuto odchylku popsali v roce 1963 Laurell a Eriksson u pěti nemocných, u kterých chyběl pruh α_1 -globulinů při elektroforéze séra. U tří z nich byl přítomen emfyzém.

Alfa₁-antitrypsin představuje jeden z hlavních inhibitorů proteáz. Při chybění tohoto inhibitoru dochází k poškození plicní matrix účinkem proteáz z neutrofilních leukocytů a ke vzniku panacinarního emfyzému. Četnost výskytu mutace Z jako nejčastější mutace při deficitu α_1 -antitrypsinu není v ČR známa, ve Švédsku se tato mutace vyskytuje u 0,02–0,03 % populace, mezi bělochy v Severní Americe u 0,01–0,02 %. Počty diagnostikovaných onemocnění jsou nižší, což potvrzuje domněnku, že řada nemocných není diagnostikována. Normální hodnota α_1 -antitrypsinu je 1,0–2,7 g/l u homozygotů MM, koncentrace pod 0,56 g/l jsou rizikem pro vznik emfyzému. Dosud bylo popsáno více než 20 alel spojených s deficitním stavem, 95 % je v důsledku homozygotního stavu ZZ, kdy koncentrace α_1 -antitrypsinu je 0,26 g/l. K časnému rozvoji emfyzému dochází i u některých heterozygotů SZ. Onemocnění se manifestuje postupně se zhoršující dušností podmíněnou panacinarním (panlobulárním) emfyzémem u kuřáků ve věku od 30 let, postižení umírají ve věku okolo 40 let. Emfyzém tohoto typu je komplikován pneumothoraxem a někdy je sdružen s jaterní cirhózou.

Tab. 3.5. Diagnostický postup u emfyzému v důsledku deficitu α_1 -antitrypsinu

1. anamnéza (věk nad 30 let, kuřák cigaret)
2. fyzikální vyšetření (hypersonorní poklep, oslabené sklípkové dýchání)
3. skiagram hrudníku
4. vyšetření funkce plic
5. elektroforéza séra
6. stanovení koncentrace α_1 -antitrypsinu
7. stanovení typu mutace (izoelektrická fokusace v polyakrylamidovém gelu)

Diagnostika spočívá v přítomnosti emfyzému u mladého kuřáka cigaret, u kterého chybí vrchol α_1 -globulinů při elektroforéze séra. Dále jsou nacházeny nízké plazmatické koncentrace α_1 -antitrypsinu (pod 0,26 g/l). Průkaz typu mutace lze určit izoelektrickou fokusací.

Při **diferenciální diagnostice** je nutno odlišit CHOPN a cystickou plicní malformaci.

Při **léčbě** je nutný zákaz kouření. Je indikována infuzní nebo inhalační substituční léčba koncentráty α_1 -antitrypsinu, která je velmi nákladná, u pokročilých případů dlouhodobá domácí oxygenoterapie, popřípadě transplantace plic. Při současném postižení plic a jater je na místě transplantace plic a jater.

Prognóza onemocnění je závažná. Diagnostický postup u deficitu α_1 -antitrypsinu je uveden v tab. 3.5.

3.2.4. Asthma bronchiale

Asthma bronchiale je zánětlivé onemocnění dýchacích cest, které je charakterizováno bronchiální hyperreaktivitou a variabilní bronchiální obstrukcí, která je reverzibilní buď spontánně, nebo vlivem terapie. Slizniční zánět při bronchiálním astmatu je charakterizován přítomností eozinofilních leukocytů, žírných buněk a aktivovaných T-lymfocytů. Mediátory uvolňované z eozinofilních leukocytů, lymfocytů a žírných buněk poškozují bronchiální epitel, navozují edém a zánětlivé slizniční změny.

Klinicky je pro bronchiální astma typická záchvatovitá dušnost nebo záchvatovitý kašel, který může být vyvolán inhalací alergenů, infekcí, psychickým rozrušením, tělesnou zátěží a dalšími faktory. Asthma bronchiale lze rozdělit na **alergické** (extrinsic), **nealergické** (intrinsic) a **smíšené**. Rozdíly mezi alergickým a nealergickým bronchiálním astmatem jsou uvedeny v tab. 3.6.

U nemocných se suspektním bronchiálním astmatem postupujeme od anamnestických údajů až po specializovanou vyšetření, jak je uvedeno v tab. 3.7.

Nejtěžší stupeň bronchiálního astmatu je **status asthmaticus**, definovaný jako protrahovaný záchvat

Tab. 3.6. Rozdíly mezi alergickým a nealergickým bronchiálním astmatem

	Alergické astma	Nealergické astma
Rodinná anamnéza	výskyt astmatu v rodině	bez zátěže
Věk nemocného	dítě, mladý dospělý	bez závislosti na věku
Příčina	genetická/vliv prostředí	nejspíše virová infekce
Koncentrace IgE	zvýšená	v normě
Autoprotilátky	nepřítomny	často proti epitelům
Krevní obraz	eozinofilie po expozici	eozinofilie trvalá
Subpopulace lymfocytů	CD4+, IL-2R+, CD23+	CD4+, CD8+, IL-2R+, VLA-1+, HLA-DR+, CD45RO
Cytokiny	IL-4, IL-5	IL-2, IL-4, IL-5, RANTES

Tab. 3.7. Diagnostický postup u bronchiálního astmatu

1. anamnéza (rodinný výskyt, atopické projevy, typ obtíží, kdy se objevují)
2. fyzikální vyšetření (atopický ekzém, pískoty, vrzoty)
3. laboratorní vyšetření (eozinofilie v krevním obraze, eozinofilie ve sputu, eozinofilní kationický protein – ECP v séru nebo sputu, Charcotovy-Leydenovy krystaly, Curschmannovy spirály ve sputu, IgE celkový, IgE specifický)
4. kožní provokační testy (prick testy, intrakutánní provokační testy)
5. skiagram hrudníku
6. vyšetření funkce plic (spirometrie, křivka průtok-objem, celotělová pletyzmografie)
7. nespecifické inhalační provokační testy
8. specifické inhalační provokační testy

těžké dušnosti (trvající hodiny) nereagující na běžnou terapii. Lze jej rozdělit podle analýzy krevních plynů do tří stadií (tab. 3.8.).

Při **diferenciální diagnostice** musíme bronchiální astma odlišit od chronické bronchitidy, CHOPN, exogenních alergických alveolitid, sukcesivní plicní embolizace, levostranné kardiální dekompenzace, aspirace cizího tělesa, endobronchiálně rostoucího nádoru, tracheální stenózy, tracheomalacie, tracheálních nádorů, parézy n. recurrens, laryngospazmu, bronchokonstrikce vyvolané inhalací dráždivých plynů a par a polékové bronchokonstrikce.

Při **potvrzení diagnózy** bronchiálního astmatu zařadíme nemocného do určité kategorie onemocnění podle četnosti záchvatů, variability maximálních výdechových rychlostí (PEF) a počtu nočních záchvatů (intermitentní, lehké perzistující, středně těžké perzistující, těžké perzistující asthma bronchiale) a podle toho řídíme **léčbu**. Její nedílnou součástí je úprava domácího, popř. pracovního prostředí a u perzistujícího astmatu monitorování maximálních výdechových rychlostí výdecheměrem. V léčbě bronchiálního astmatu používáme krátkodobě a dlouhodobě účinná β_2 -mimetika (SABA, LABA), inhalační kortikosteroidy nebo kombinované preparáty, teofyliny, antileukotrieny a kortikosteroidy podávané perorálně nebo intravenózně. U dětí lze podat i kromony. Přesnou klasifikaci tíže astmatu a stupňovité léčby obsahují materiály vydané Českou pneumologickou a ftezeologickou společností, Českou iniciativou pro astma, četné naše i zahraniční příručky a publikace.

Laboratorní diagnostika u bronchiálního astmatu spočívá ve stanovení počtu eozinofilních leu-

kocytů v krvi a sputu, ve sputu je možno prokázat Charcotovy-Leydenovy krystaly a Curschmannovy spirály. Dále lze v séru, BALTe nebo sputu zjišťovat koncentraci eozinofilního kationického proteinu (ECP) nebo myelinového bazického proteinu (MBP). Další analýzy týkající se enzymových proteinů (peroxidáza, kolagenáza, arylsulfatáza B, β -glukuronidáza a četné metalloproteinázy) jsou pro rutinní vyšetřování nepřínosné a jsou prováděny pouze v rámci výzkumných studií.

3.2.5. Chronická bronchitida a emfyzém

Chronická bronchitida je podle Fletchera definována jako kašel s expektorací trvající alespoň tři měsíce v roce ve dvou po sobě následujících letech. V případě prokázané bronchiální obstrukce hovoříme o chronické obstrukční bronchitidě.

Emfyzém je definován patologickeoanatomicky jako ireverzibilní rozšíření dýchacích cest s destrukcí jejich stěn distálně od terminálních bronchiolů. Lze jej dělit na **centrilobulární**, **panlobulární**, **senilní** a **nepravidelný**. Ve většině případů se chronická bronchitida a emfyzém vyskytují společně – tuto situaci označujeme jako **chronickou obstrukční plicní nemoc** (CHOPN). Na vzniku CHOPN se podílí řada faktorů, z nichž nejdůležitější je kouření cigaret. Jednotlivé **etiologické faktory** jsou uvedeny v tab. 3.9.

Při CHOPN dochází k hyperplazii submukózních hlenových žlázek, nadměrné tvorbě vazkého bronchiálního sekretu, infiltraci sliznice neutrofilními leukocyty a CD8+ T-lymfocyty a k tvorbě vaziva. Počet CD8+ T-lymfocytů koreluje s tíží bronchiální obstrukce. Emfyzém vzniká v důsledku porušené rovnováhy mezi proteázami a antiproteázami. Kouření cigaret vede k aktivaci alveolárních makrofágů, jež pak produkují chemotaktické substance pro neutrofilní leukocyty (interleukin 8, LTB_4). Neutrofilní leukocyty z plicních kapilár migrují do plic, kde produkují elastázu a dalších proteolytických enzymů dochází k rozrušení elastinu ve stěně alveolů, zánětlivým změnám v bronších a peribronchiální fibróze.

Při **vyšetřování nemocných** s CHOPN jsou důležité anamnestické údaje chronického kašle s expektorací, při fyzikálním vyšetření prokazujeme soudkovitý hrudník, prodloužený výdech, nad plí-

Tab. 3.8. Stadia status asthmaticus

Stadium 1	p_aO_2 v normě	p_aCO_2 snížen (hyperventilace)
Stadium 2	$p_aO_2 < 8$ kPa	p_aCO_2 v normě
Stadium 3	$p_aO_2 < 7$ kPa	$p_aCO_2 > 6,6$ kPa

Tab. 3.9. Etiologické faktory CHOPN

1. kouření cigaret
2. znečištění životního prostředí (SO_2 , prach)
3. pracovní prostředí (páry, prach)
4. virové a bakteriální infekce
5. nízká porodní hmotnost
6. genetické faktory

Tab. 3.10. Diagnostický postup u CHOPN

1. anamnéza (kouření, respirační infekce)
2. fyzikální vyšetření
3. skiagram hrudníku (zvětšení plicních polí, zvětšený retrosternální a retrokardiální prostor)
4. výpočetní tomografie hrudníku s vysokou rozlišovací schopností (HRCT)
5. vyšetření funkce plic (zvýšení RV, TLC, FRC, snížení FEV1/FVC pod 80 %, snížení PEFR a MEFR, snížení DL_{co})
6. vyšetření acidobazické rovnováhy
7. laboratorní vyšetření (sekundární polyglobulie, hypokalcémie, genetické faktory)
8. zátěžový test (6minutová chůze, kyvadlová chůze)

cemi hypersonorní poklep s oslabeným sklípkovým dýcháním nebo převážně expiračními pískoty a vrzoty, v pokročilých stádiích mohou být prokazatelné cyanóza, zvýšená náplň krčních žil, hepatomegalie a otoky dolních končetin (tab. 3.10.).

Genetické faktory se uplatňují na základě dispozic v polymorfismech nebo mutacích v genech pro zmíněné proteiny.

Laboratorní diagnostika u CHOPN prokazuje sekundární polyglobulii v důsledku chronické hypoxémie, hypokalcémii při užívání diuretik a některé dosud známé genetické faktory (tab. 3.11.).

3.2.6. Pleuritidy

Pleurální syndrom může mít mnoho příčin. Nejčastější příčinou přítomnosti tekutiny v pleurální dutině je kardiální dekompenzace, dále rozsev nádoru, záněty plic, plicní embolizace a další onemocnění. Hromadění tekutiny v pleurální dutině je dáno nepoměrem mezi rychlostí tvorby tekutiny a rychlostí jejího vstřebávání lymfatickými cévami hrudní stěny. Při množství tekutiny větším než 500 ml lze výpotek zjistit při fyzikálním vyšetření hrudníku, menší množství tekutiny prokážeme sonograficky nebo na skiagramu hrudníku. Tekutinu získáme hrudní punkcí. Na základě specifické hmotnosti tekutiny (méně než 1,015 transsudát, více než 1,015 exsudát) a některých biochemických vyšetření (celková bílkovina méně než 30 g/l transsudát, více než 30 g/l exsudát) lze materiál rozdělit na **transsudáty** a **exsudáty**. Většinou však používáme kritéria podle Lighta – pokud je alespoň jedno splněno, jedná se o exsudát (celková bílkovina v pleurální tekutině: celková bílkovina v séru více než 0,5; laktátdehydro-

Tab. 3.11. Genetické faktory CHOPN

1. deficit α_1 -antitrypsinu
2. deficit α_1 -antichymotrypsinu
3. zvýšená aktivita mikrosomálních epoxidových hydroláz
4. zvýšená aktivita glutathion-S-transferázy
5. zvýšená aktivita komplementu
6. zvýšená produkce TNF- α

genáza – LD – v tekutině: LD v séru více než 0,6; LD v tekutině více než 2/3 normy v séru). Hodnotíme vzhled tekutiny vizuálně, hemoragická tekutina bývá u plicní embolizace, při nádorových pleuritidách, u indukované pleuritidy při pankreatitidě. Chylózní tekutina v pleurální dutině doprovází lymfomy, lymfangioleiomyomatózu, primární lymfedém nebo syndrom žlutých nehtů. Žlutavá zkalená tekutina je u parapneumonických a metapneumonických výpotků, u empyému získáme hrudní punkcí hnis.

Lze měřit i pH pleurální tekutiny, které je dáno množstvím laktátu. pH méně než 7,0 zjišťujeme u empyému, pH méně než 7,3 může být u tuberkulózní pleuritidy, parapneumonických výpotků, karcinomatózní pleuritidy nebo při postižení pleury v rámci systémových onemocnění pojiva. Koncentrace glukózy je v pleurální tekutině stejná jako v krvi a je dána její difúzí z kapilár. Nižší koncentraci glukózy nacházíme u výpotku při revmatoidní artritidě (selektivní blok difuze glukózy) nebo u empyému (ztluštění pleury, metabolizace glukózy bakteriemi). U indukované levostranné pleuritidy při pankreatitidě je tekutina hemoragická, s vysokou koncentrací pankreatické amylázy. Vysoká koncentrace amylázy je i u výpotku při ruptuře jícnu (slinná amyláza). Při generalizaci adenokarcinomu na pleuru lze prokázat v některých případech vyšší koncentraci CEA (nad 20 $\mu\text{g/l}$). U tuberkulózní pleuritidy je v tekutině vysoká koncentrace adenosindeaminázy (ADA). K dalším nezbytným vyšetřením pleurální tekutiny řadíme mikrobiologické a mykobakteriologické vyšetření. Nelze opominout ani cytologické vyšetření, které často stanoví typ nádoru; potíže vznikají při rozlišení generalizovaného adenokarcinomu od mezoteliomu.

V případě, že diagnóza pleurálního syndromu není stanovena vyšetřením tekutiny získané hrudní punkcí, indikujeme cílenou pleurální biopsii Abramsovou nebo Copeho jehlou. Cílená pleurální biopsie má vyšší výtěžnost u tuberkulózní než u karcinomatózní pleuritidy. Někteří autoři ji z diagnostického algoritmu vynechávají a doporučují po nedignostické hrudní punkci jako další krok thorakoskopii s cílenou pleurální biopsií (tab. 3.12.). Všemi uvedenými metodami jsme schopni stanovit diagnózu u přibližně 95 % případů pleurálních syndromů.

Tab. 3.12. Diagnostický postup u pleurálního syndromu

1. anamnéza
2. fyzikální vyšetření
3. skiagram hrudníku
4. ultrasonografie pleury
5. hrudní punkce (CB, LD, glukóza, amyláza, ADA, CEA, bakteriologie, MTB, cytologie)
6. cílená biopsie pleury
7. thorakoskopie s cílenou pleurální biopsií

3.2.7. Sarkoidóza

Sarkoidóza je systémové granulomatózní onemocnění neznámé etiologie a částečně známé patogenese, které je charakterizováno tvorbou nekaseifikujících epitelioidních granulomů v postižených orgánech. Nejčastěji jsou postiženy nitrohrušní mízní uzliny (téměř ve 100 % případů) a plíce (60 %), proto se se sarkoidózou nejčastěji setkávají pneumologové. **Intrathorakální sarkoidóza** může probíhat asymptomaticky, nebo je doprovázena příznaky. Lze pozorovat formy s akutním horečnatým průběhem, s faryngitidou nebo angínou, s artralgiemi, perimaleolárními otoky. U některých nemocných převažují příznaky ze strany dýchacího ústrojí, např. kašel, dušnost nebo bolesti na hrudi. **Löfgrenův syndrom** tvoří trias bilaterální hilová lymfadenopatie (BHL), nodózní erytém a negativní tuberkulinový test. Intrathorakální sarkoidózu lze podle nálezu na **skiagramu hrudníku** rozdělit do tří stadií podle Wurma:

- 1. stadium – postižení hilových uzlin bez postižení plic;
- 2. stadium – postižení hilových uzlin a plic;
- 3. stadium – izolované plicní postižení.

Příznaky u **extrathorakální sarkoidózy** jsou dány tím, který orgán je postižen (oko, srdce, játra, slezina, centrální nervový systém a další). Pokud klinický a rtg nález není jednoznačný, je nutné diagnózu sarkoidózy podpořit bioticky (punkce uzlin, excize uzlin, mediastinoskopie, kožní excize, bronchobiopsie, transbronchiální plicní biopsie, plicní biopsie při videoasistované hrudní chirurgii – VATS). Při extrathorakální lokalizaci připadají v úvahu biopsie jater, sleziny, svalů, spojivky, endomyokardiální a další. **Objektivně** můžeme u sarkoidózy prokázat zduření slinných žláz, změny na spojivkách, zvětšení periferních mízních uzlin, kožní změny v jizvách, nodózní erytém, hepatomegalii, splenomegalii, perimaleolární otoky. Na snímku hrudníku je nejčastěji nacházeno oboustranné symetrické zvětšení stínů plicních hilů, dále může být přítomno rozšíření stínu mediastina nebo diseminace nodulárních stínů s maximem ve středních plicních polích. Výpočetní tomografie hrudníku upřesňuje rozsah uzlinových změn a charakter plicních změn. U akutních forem sarkoidózy jsou většinou ventilace i difuze v normě. U chronických forem bývá přítomna restriktivní ventilační porucha se snížením DL_{CO}. V BALTe je zvýšen celkový počet buněk, je průkazná lymfocytární alveolitida s převahou CD4+ T-lymfocytů, imunoregulační index je zvýšen (3 až 10). Hodnoty imunoregulačního indexu 3,5 a vyšší mají podle Costabela 92–100% specifitu pro sarkoidózu. Chybění CD4+ T-lymfocytů v periferní krvi je příčinou negativní tuberkulinové reakce.

Epitelioidní granulomy se mohou beze zbytku resorbovat, nebo dojde k aktivaci fibroblastů a produkci vaziva. Prognosticky příznivými faktory jsou ženské pohlaví, věk pod 40 let, akutní začátek onemocnění s nodózním erytémem, stadium 1 nebo 2 podle Wurma, normální parametry ventilace a difuze, normální metabolismus kalcia a trvání nemoci do 24 měsíců. U černochů má sarkoidóza horší prognózu než u bělochů. Sarkoidóza doprovázená hyperkalcémií nebo hyperkalciurií má horší prognózu.

Lieberman v roce 1975 popsal zvýšení koncentrací angiotenzin konvertujícího enzymu v séru (S-ACE) u nemocných s aktivní sarkoidózou. Později se zjistilo, že koncentrace tohoto enzymu je elevována i u jiných granulomatózních procesů (lepra, berylióza, silikóza, Gaucherova nemoc, tuberkulóza, azbestóza, exogenní alergické alveolitidy) a dalších chorob. Procento nemocných se zvýšenými koncentracemi S-ACE u sarkoidózy a jiných chorob udává tab. 3.13.

Sérovou koncentraci ACE lze stanovit spektrofotometricky nebo spektrofotofluorometricky. Normální koncentrace se liší podle metody a typu genového polymorfismu (alely II, ID, DD), nositelé alel DD mají nejvyšší normy. Stanovování S-ACE je vhodné při monitorování aktivity procesu a odráží objem granulomů v organismu.

Stupeň aktivace monocytů a makrofágů lze u sarkoidózy monitorovat měřením koncentrací solubilního CD14, lysozymu, neopterinu v séru nebo měřením koncentrací IL-6 v BALTe.

Solubilní CD14 (sCD14) je glykoprotein specifický pro buňky monocytárního původu. Je uvolňován z buněčné membrány při aktivaci buněk a jeho koncentraci lze měřit metodou ELISA.

Lysozym je enzym uvolňovaný z aktivovaných fagocytů (monocytů, makrofágů, neutrofilních leukocytů) při jejich aktivaci. Lysozym štěpí mukopolysacharidy bakteriální stěny a hraje důležitou úlohu při fagocytóze. Jeho koncentrace je zvýšená asi u 60 až 70 % nemocných se sarkoidózou. Koncentraci lysozymu lze stanovit turbidimetricky nebo radiální imunodifuzí.

Neopterin je nízkomolekulární produkt metabolismu guanosintrifosfátu, jehož koncentrace v séru

Tab. 3.13. Procento nemocných se zvýšenými koncentracemi angiotenzin konvertujícího enzymu v séru

sarkoidóza	70–95 %
hyperthyreóza	90 %
lepra	70 %
Gaucherova nemoc	70 %
silikóza	32 %
chronický alkoholismus	30 %
diabetes mellitus	24 %
primární biliární cirhóza	14 %
tuberkulóza	10 %

Tab. 3.14. Diagnostický postup u sarkoidózy

1. anamnéza
2. fyzikální vyšetření
3. skiagram hrudníku – stadium onemocnění
4. vyšetření ventilace a difuze
5. tuberkulinový test
6. laboratorní vyšetření (KO, AST, ALT, GGT, ALP, Ca, kalcieurie)
7. BAL včetně subpopulací lymfocytů
8. oční vyšetření
9. rtg prstů rukou a nohou
10. biopsie uzlin, kůže, transbronchiální plicní biopsie, biopsie jater, Kveimův test

odráží stupeň aktivace monocytů/makrofágů. Zvýšené koncentrace jsou zjišťovány asi u 60 % nemocných se sarkoidózou. Je stanovován pomocí RIA.

Solubilní forma receptoru pro IL-2 (sIL-2R) v séru je parametrem aktivace T-lymfocytů. Zvýšené koncentrace má 90 % nemocných se sarkoidózou. Koncentraci sIL-2R lze měřit metodou ELISA. Normální hodnoty se liší podle používaných typů souprav (T Cell Sciences, Behring, R&D Systems, Genzyme). U námi používané soupravy (T Cell Sciences) je horní hranice normy 477 kU/l.

Stanovení koncentrace IL-6 v BALte odráží stupeň aktivace alveolárních makrofágů. Ke zjištění koncentrace IL-6 je používána metoda ELISA. Pro nákladnost stanovení je toto monitorování aktivace alveolárních makrofágů vyhrazeno pro experimentální studie.

Diagnostický postup a markery aktivity jsou uvedeny v tab. 3.14. a 3.15.

3.2.8. Kryptogenní fibrotizující alveolitida – idiopatická plicní fibróza

Kryptogenní fibrotizující alveolitida (KFA) nebo idiopatická plicní fibróza (IPF) je celosvětově se vyskytující onemocnění charakterizované poškozením pneumocytů typu I a endotelií, na něž navazuje progredientní zánětlivá a fibroproduktivní reakce, která vede k rozrušení alveolokapilární jednotky a k ukládání vaziva do plicního intersticia. Etiologie onemocnění není známá. Prognóza je velmi závažná, do tří let umírá 50 % nemocných.

Klinicky se onemocnění projevuje suchým kašlem a postupně se zhoršující námahovou dušností. V pokročilých stádiích se přidružuje cyanóza a známky cor pulmonale. Při **fyzikálním vyšetření** může

Tab. 3.15. Markery aktivity sarkoidózy

Markery aktivity monocytů/makrofágů	sCD14, lysozym, neopterin, IL-6
Markery aktivity lymfocytů	sIL-2R
Objem granulomů	ACE v séru

být přítomna tachypnoe a centrální cyanóza, která se zesiluje tělesnou zátěží. V důsledku zvýšené dechové práce při změnách elasticitních vlastností plic lze na nemocných pozorovat vtahování jugulární a nadklíčkových jamek. Nad plicemi je slyšitelný krepitus, někdy jsou přítomny i ojedinělé vysoké pískoty. Při vyšetření srdce lze vidět pulsaci v epigastriu v důsledku hypertrofie pravé komory, může být akcentována druhá ozva nad plicnicí. Někdy má nemocný již známky pravostranného srdečního selhávání (zvýšená náplň krčních žil, hepatomegalie, pozitivní hepatojugulární reflux, perimaleolární otoky). Většina nemocných s KFA má koilonychii nebo paličkovité prsty. Na snímku hrudníku jsou viditelné stíny typu mléčného skla, retikulonodulární stíny s maximem v dolních třetinách plicních polí, někdy až obraz voštiny. Dále mohou být přítomny znaky prekapilární plicní hypertenze. Plicní pole jsou zmenšená, stín mediastina může být rozšířený. V boční projekci je zmenšený retrosternální a retrokardiální prostor. Asi 10 % nemocných má v době zjištění choroby normální nález na skiagramu hrudníku. Rozsah a charakter změn upřesňuje HRCT hrudníku, která je schopna stanovit i aktivitu onemocnění.

Při vyšetřování funkce plic je typická restriktivní ventilační porucha se snížením difúzní kapacity plic, někdy je i v klidu přítomna hypoxémie, jindy lze pokles p_{aO_2} vyvolat i malou zátěží (50 W po dobu 5 min).

V BALte je zmnožen celkový počet buněk, jsou přítomny aktivované alveolární makrofágy, neutrofilní leukocyty a někdy i lymfocyty. Výraznější příměs lymfocytů je nacházena u nemocných s příznivější prognózou. Průkaz alveolitidy potvrzuje aktivitu onemocnění. Přesný typ onemocnění (UIP, DIP a další) lze spolehlivě určit pouze histologickým vyšetřením plicní tkáně získané biopsií plic.

Z **laboratorních parametrů** je u nemocných s pokročilým onemocněním přítomna sekundární polyglobulie, u 30 % nemocných je pozitivní antinukleární faktor (ANF), u 50 % nemocných jsou zvýšené koncentrace cirkulujících imunokomplexů, u téměř 80 % nemocných jsou přítomny autoprotilátky proti plicní tkáni.

Tab. 3.16. Diagnostický postup u kryptogenní fibrotizující alveolitidy

1. anamnéza
2. fyzikální vyšetření (cyanóza, vtahování jugula, krepitus, koilonychie nebo paličkovité prsty)
3. skiagram hrudníku
4. vyšetření funkce plic
5. Ig kvantitativně, CIK, ANF, LD
6. acidobazická rovnováha v klidu a po zátěži
7. HRCT hrudníku
8. BAL
9. plicní biopsie

Aktivitu onemocnění lze monitorovat pomocí BAL nebo HRCT hrudníku, v literatuře jsou jako další parametry doporučovány IL-8 v séru nebo LD v plazmě. Diagnostický postup u KFA je uveden v tab. 3.16.

3.2.9. Plicní alveolární proteinóza

Plicní alveolární proteinóza (PAP) je velmi vzácné plicní onemocnění, které je charakterizováno nahromaděním surfaktantu podobného materiálu v alveolech. Hlavní složkou tohoto materiálu je fosfatidylcholinpalmitát a surfaktantový protein A.

Onemocnění se může vyskytnout u pracovníků s rizikem vdechování volného SiO_2 i po inhalaci jiných anorganických i organických prachů (hliník, titan, tantal, nitroaromatické barvy aj.), u nemocných s defektem imunity navozeným chorobou (hematologické malignity) nebo léčbou (imunosupresiva, cytostatika – busulfan, interferon α). Je popsán i rodinný výskyt. Způsob dědičnosti je v těchto případech autosomálně recesivní. Jedná se o poruchu produkce GM-CSF, u těchto nemocných lze v séru prokazovat autoprotilátky proti GM-CSF.

Podstatou onemocnění je hromadění materiálu podobného surfaktantu v alveolech. Alveolární makrofágy degradují 10–20 % syntetizovaného surfaktantu. V důsledku hromadění surfaktantu dochází k poruše buňkami zprostředkované imunity. Alveolární makrofágy u nemocných s PAP mají nižší schopnost fagocytózy a baktericidie. Nemocní s PAP mají proto častěji plicní infekce. Surfactant od nemocných s PAP se liší svým složením od surfaktantu, který je v plicích za fyziologických podmínek. Jsou přítomny změny ve složení surfaktantových proteinů A a C, u vrozených forem chybí surfaktantový protein B.

Na myším modelu lze vyvolat onemocnění podobné alveolární proteinóze odstraněním genu pro GM-CSF. Tento gen zřejmě reguluje odstraňování surfaktantu z plic. Stejný obraz je možno indukovat i nulovou mutací pro společnou β -podjednotku receptorů pro GM-CSF, IL-3 a IL-5. U myší se závažnou kombinovanou imunodeficiencí (severe combined immune deficiency – SCID mice) jsou alveoly vyplněny lipoproteinovým materiálem. Tato zvířata mají poruchu homeostázy surfaktantu v oblasti alveolů.

Plicní alveolární proteinóza se častěji vyskytuje u mužů, věk nemocných kolísá od 20 do 60 let. Onemocnění však může postihnout i novorozence a děti. Čím dříve onemocnění začne, tím horší má prognózu. Nemocní si stěžují na zhoršující se dušnost, suchý kašel, mohou být přítomny febrilita, hubnutí, hemoptýza nebo bolest na hrudníku. Při-

bližně 50 % nemocných je bez obtíží, prvním nálezem je patologický nálezn na skiagramu hrudníku. Při fyzikálním vyšetření je na hrudníku nad plícemi u dvou třetin postižených fyziologický nálezn, u jedné třetiny nemocných můžeme slyšet jemné chrůpky nad oběma plicními bázemi. Paličkovité prsty nebo cyanózu prokazujeme pouze v 5 % případů.

U jedné třetiny nemocných je přítomna restriktivní ventilační porucha, dvě třetiny mají sníženou difúzní kapacitu plic. Asi u 20 % nemocných prokazujeme v době zjištění choroby již klidovou hypoxémií.

Onemocnění lze diagnostikovat pomocí BAL. Aspirovaná tekutina má makroskopicky mléčný opaleskující vzhled a obsahuje eozinofilní a PAS-pozitivní bílkovinný materiál. Při vyšetření v elektronovém mikroskopu obsahují alveolární makrofágy četné fagolysosomy s lamelárním osmiofilním materiálem. Je důležité vědět, že v BALTe jsou zvýšené koncentrace surfaktantových proteinů A a D (SP-A, SP-D). Jsou rovněž zvýšeny hodnoty některých nádorových markerů v BALTe (CEA, CA19-9, CA125, CA15-3, TPA) a v séru (CEA, CA 15-3, TPA). V séru je přibližně u dvou třetin nemocných zvýšena koncentrace LD a SP-A.

U nemocných s alveolární lipoproteinózou je nejúčinnější léčbou plicní laváž – dialýza plic. K dialýze plic jsou indikováni nemocní s $p_a\text{O}_2$ pod 8,0 kPa.

Dále lze podávat GM-CSF buď injekčně, nebo inhalačně. Diagnostický postup u plicní alveolární proteinózy je uveden v tab. 3.17.

3.2.10. Idiopatická plicní hemosideróza

Idiopatická plicní hemosideróza (M. Ceelen) je velmi vzácné onemocnění charakterizované opakovaným krvácením do plic. Obě pohlaví jsou postižena stejně často. **Příčina onemocnění** není známá. Předpokládá se, že může být vyvoláno insekticidy, inhalací rozpouštědel, podáním některých léků (D-penicilamin) nebo vzniká z imunologických příčin. Dojde k poškození stěny plicních kapilár a ke krvácení do alveolů. Železo z erytrocytů je zabudováno do hemosiderinu a tím se stává nepoužitelným pro syntézu hemoglobinu. V důsledku nedostatku železa trpí nemocní **hypochromní anémií**. Inci-

Tab. 3.17. Diagnostický postup u plicní alveolární proteinózy

1. anamnéza
2. fyzikální vyšetření
3. skiagram hrudníku
4. laboratorní vyšetření (CEA, CA 15-3, TPA, LD a SP-A)
5. vyšetření ventilace, difuze a acidobazické rovnováhy
6. HRCT hrudníku
7. BAL

dence onemocnění není u nás známa. Idiopatická plicní hemosideróza se manifestuje opakovanými hemoptýzami u mladého jedince s anémií. **Hemoptýzy** jsou někdy doprovázeny horečkou a dušností. Asi 25 % nemocných má bolesti kloubů, někdy mohou být jedinými příznaky choroby hypochromní sideropenická anémie a infiltrativní stíny na skiagramu hrudníku. Při fyzikálním vyšetření hrudníku jsou slyšet nad plicemi přízvučné chrůpky, někteří nemocní mohou mít paličkovité prsty, zvětšení periferních mízních uzlin nebo splenomegalii. Na **skiagramu hrudníku** jsou přítomna měkká infiltrativní zastínění, která jsou četnější v dolních třetinách plicních polí. Ve většině infiltrátů lze prokázat vzdušný bronchogram. Na počátku onemocnění je v důsledku volného hemoglobinu v alveolech zvýšen transfer faktor pro CO, v pozdějších stadiích nemoci je přítomna restriktivní ventilační porucha se snížením DL_{CO} . Charakteristická je anémie. Ve sputu nebo v BALte jsou nacházeny četné siderofágy. U některých nemocných jsou zjišťovány zvýšené hodnoty cirkulujících imunokomplexů, pozitivní průkaz autoprotilátek proti bazálním membránám glomerulů svědčí pro diagnózu **Goodpastureova syndromu**. Při typickém klinickém obraze s opakovanými hemoptýzami a anémií je diagnóza snadná. Při **diferenciální diagnostice** je nutno odlišit jiné příčiny opakované hemoptýzy, jako např. bronchiální adenom, kapilaritidu, bronchiektazie nebo mitrální stenózu. U idiopatické plicní hemosiderózy jsou lékem volby glukokortikoidy, někdy je účinná až kombinace glukokortikoidů s azathioprinem. Bylo popsáno zlepšení po opakovaných plazmaferézách nebo po dietě bez mléčných výrobků. Někdy onemocnění přes veškerou terapii progreduje a vede ke smrti. Prognóza idiopatické plicní hemosiderózy je závažná, průběh je horší u dětí.



- BARNES, P., GODFREY, S. *Chronic obstructive pulmonary disease*. London : Martin Dunitz, 1997.
- HALPIN, DMG. *Chronic obstructive pulmonary disease*. Philadelphia : Elsevier, 2002.
- HOMOLKA, J., VOTAVA, V. *Intersticiální plicní procesy*. Praha : Maxdorf, 1999.
- HOMOLKA, J., VOTAVA, V. *Tuberkulóza*. Praha : Karolinum, 2003.
- HOMOLKA, J., ZIEGENHAGEN, MW., GAEDE, KI., et al. *Systemic immune cell activation in a subgroup of patients with idiopathic pulmonary fibrosis*. *Respiration*, 2003, 70, p. 262–269.
- KOLEK, V., et al. *Sarkoidóza – známé a neznámé*. Praha : Grada Publishing, 1998.
- KOLEK, V., KAŠÁK, V., et al. *Pneumologie – vybrané kapitoly pro praxi*. Praha : Maxdorf, 2010.
- KROEGEL, C. *Asthma bronchiale*. Pathogenetische Grundlagen, Diagnostik, Therapie. Stuttgart : Georg Thieme, 1998.
- LAURELL, CB., ERIKSSON, S. *The electroforetic alpha-1-globulin pattern of serum in alpha-1-antitrypsin deficiency*. *Lab Invest*, 1963, 15, p. 132.
- LIEBERMANN, J. *Elevation of serum angiotensin-converting enzyme level in sarcoidosis*. *Am J Med*, 1975, 59, p. 365.
- LIGHT, RW. *Pleural diseases*. Philadelphia : Lea & Febiger, 1983.
- LIGHT, RW., MacGREGOR, MI., LUCHSINGER, PC., et al. *Pleural effusions: the diagnostic separations of transsudates and exsudates*. *Ann Intern Med*, 1972, 77, p. 507.
- MUSIL, J. *Léčba chronické obstrukční plicní nemoci*. Praha : Grada Publishing, 1999.
- NETVAL, M., HOMOLKA, J., KŘEPELKA, J., et al. *Mimoplicní tuberkulóza*. Praha : Grada Publishing, 2004.
- PHAN, SH., THRALL, RS. *Pulmonary fibrosis*. New York : Marcel Dekker, 1995.
- TEŘL, M., KRÁKOROVÁ, G., PEŠEK, M., et al. *Plicní lékařství*. Praha : Karolinum, 2004.
- VONDRA, V., et al. *Péče o nemocné chronickou obstrukční plicní nemocí*. Praha : Jalna, 1996.
- VOTAVA, V. *Pneumologie v praxi*. Praha : Galén, 1996.
- WILSON, R., et al. *Tuberculosis*. ERS Monograph, 1997, 4, p. 354.
- ZATLOUKAL, P., FIALA, P., VOTRUBA, J., et al. *Pneumologie*. Praha : Galén – Univerzita Karlova, 2001.

4. Laboratorní diagnostika v hematologii

**Jan Haber, Kristina Forsterová, Pavel Klener jr., Jan Kvasnička,
Daniela Dušková, Lukáš Darebníček**

4.1. Úvod

Jan Haber, Kristina Forsterová, Pavel Klener jr.

Hematologie je klinicko-laboratorní obor, u kterého stanovení přesné diagnózy závisí jak na pečlivém klinickém vyšetření, tak na kvalitním laboratorním zázemí. Diagnostické postupy však přesahují oblast vlastní hematologie, tj. pro diagnostiku krevních onemocnění využívají metod jiných specializací a komplementu (imunologie, histologie, mikrobiologie, cytogenetiky, molekulární biologie, zobrazovací metody atd.), a současně hematologie poskytuje diagnostický servis mnoha jiným oborům medicíny.

Obor reprezentuje na jedné straně oblast klinické hematologie a na straně druhé oblast imunohematologie a transfuzní služby. Obě součásti se v mnohých aspektech prolínají a v diagnostice i v léčbě se úzce doplňují. Tato kapitola je zaměřena na oblast klinické hematologie.

Na počátku je nutné zdůraznit, že nejčastější změny v krevním obraze jsou druhotné, obvykle nejsou projevem krevního onemocnění, ale jiné základní choroby. I proto se nezřídka prvotní krevní onemocnění ve svých počátcích přehlédne (nemyslíme na ně) a diagnostikuje se již značně pokročilé, se zákonitě horší prognózou. Proto je nutné hodnotit všechny aspekty vyšetření, tj. výsledky vstupních (screeningových) laboratorních vyšetření, vždy ve vztahu ke klinickému stavu nemocného (včetně anamnézy). Pokud po komplexním zhodnocení vznikne naléhavé podezření na krevní onemocnění, pak je indikováno podrobné vyšetření hematologem s využitím celé palety diagnostických možností.

Nedílnou součástí vyšetřovacího postupu jsou:

- anamnéza a fyzikální nález;
- laboratorní vyšetření, které dělíme na
 - rutinní,
 - speciální,
 - doplňkové.

Nejvýznamnější anamnestické údaje vedoucí k podezření na krevní onemocnění:

- **RA:** malignity, splenektomie, krvácení a trombózy.
- **OA:** únava, slabost, nechutenství, úbytek hmotnosti, noční pocení (tj. profuzní s nutností převléci pyžamo – jeden z B-příznaků u maligních lymfomů); bolesti skeletu (myelom); pokles fyzické i psychické výkonnosti (anémie, malignity); krvácení do kůže, sliznic (cévní příčiny, koagulační poruchy, trombocytopenie, trombocytopatie, leukémie); pálení jazyka, pyrůza (sideropenie, anémie); pruritus kůže (pravá polycytémie, maligní lymfomy); intermitentní ikterus (hemolýza); recidivující infekce (lymfomy, leukémie, aplastická anémie); recidivující trombózy, event. embolizace (trombofilní stavy).

Přehled specifických příznaků krevních onemocnění je uveden v interní propedeutice.

Nejvýznamnější objektivní nálezy vedoucí k podezření na krevní onemocnění:

- bledost kůže a spojivek;
- adenomegalie (generalizovaná, nebolestivá!), hepatosplenomegalie;
- slizniční a kožní projevy krvácení;
- recidivující trombózy;
- žloutenka, tachykardie, ortopnoe.

4.2. Rutinní vyšetření periferního krevního obrazu

4.2.1. Vyšetření krevního obrazu na automatických analyzátoch

Automatické analyzátory používané pro vyšetření krevního obrazu jsou v zásadě **dvojího druhu:**

- elektrické impedanční;
- optické.

Tab. 4.1. Různé chorobné stavy, které mohou falešně ovlivnit počet jednotlivých krevních elementů při automatickém zpracování krevního obrazu

Buňky	Patologický stav, nemoc	Falešné ovlivnění výsledku počtu krvinek	Příčina, mechanismus
erytrocyty	mikrocytóza nebo schistocyty	nižší počet erytrocytů	mikrocyty a schistocyty nedosahují objemu dolní hranice detekce erytrocytů
	polycytémie	nižší počet erytrocytů	sčítání agregovaných erytrocytů
	Howellovy-Jollyho tělíska	vyšší počet trombocytů	Howellovy-Jollyho tělíska jsou podobné velikosti jako trombocyty
leukocyty	leukocytóza; nad $50 \cdot 10^9/l$	nižší počet leukocytů; vyšší MCV erytrocytů	sčítání agregovaných leukocytů; některé leukocyty »přečteny« jako erytrocyty
	ALL, CLL virové infekce	nižší počet leukocytů	zvýšená fragilita leukocytů, včetně jejich nezralých forem
	chemoterapie akutní leukémie	vyšší počet trombocytů	fragmenty leukemických buněk jsou sčítány jako trombocyty
trombocyty	destičkové aglutininy	nižší počet trombocytů, někdy i falešně vyšší počet leukocytů	agregáty destiček, mohou být sčítány jako leukocyty
plazma	chladové aglutininy	nižší počet erytrocytů s makrocytózou	dublety, tripletty erytrocytů sčítány jako makrocyty
	kryoglobuliny, kryofibrinogen	variace počtu destiček	bílkovinné precipitáty mohou být sčítány jako trombocyty

ALL – akutní lymfoblastická leukémie; CLL – chronická lymfatická leukémie; MCV – střední objem erytrocytu

Elektrické impedanční metody

Charakteristika: úzkým otvorem mezi platinovými elektrodami, mezi kterými je stejnosměrné napětí, protékají stálou rychlostí krvinky (nevodič) a krátkodobě (podle velikosti, svého objemu) sníží napětí mezi elektrodami. Změny napětí (pulsy) jsou tak detekovány individuálně pro každou krvinku a jsou pak definovány jednotlivé krevní elementy – erytrocyty, leukocyty, trombocyty. Současně jsou automaticky vypočteny některé další hodnoty erytrocytů (Hb, Ht, MCV, MCH, MCHC, RDW), víceparametrové přístroje jsou schopny provádět i diferenciální rozpočet bílých krvinek.

Optické metody

Charakteristika: fotoelektrická čidla detekují lom světla nebo jeho rozptyl (scattering) při průchodu krvinky optickým systémem. Detektor generuje elektrické pulsy, jejichž intenzita odpovídá velikosti částice (krvinky). Intenzita pulsů je vyhodnocena a podle definovaných parametrů je pak určen druh krvinky.

Kombinované technologie nejmodernějších přístrojů využívají jak proudy stejnosměrného (zjištění objemu buňky), tak střídavého (charakter jádra) a optické – laserové – metody (velikost a morfologie buňky, přítomnost granul v cytoplazmě).

Přesnost stanovení je u obou metod stejná a velmi vysoká. Určitá nepřesnost výsledků je důsledkem zprůměrovaných hodnot, ve kterých se ztrácí nepravidelná (fyziologická) distribuce krvinek. Přínos vyšetření krevního obrazu na automatických analyzátoch snižuje individuální chybu ručního zpracování (subjektivní, technickou) a umožňuje

spolehlivé srovnání výsledků mezi různými laboratorními, zejména dnes, kdy se povinně provádějí kontroly kvality a kalibrace laboratorních přístrojů podle jednotných kritérií. Některé chorobné stavy však mohou počty jednotlivých krvinek falešně ovlivnit (tab. 4.1.).

4.2.2. Vyšetření periferního krevního obrazu v mikroskopu

Stanovení krevního obrazu (complete blood count, CBC) znamená kvantitativní vyšetření počtu krvinek a diferenciální rozpočet bílých krvinek (leukocyte differential count).

I když automatizace při vyšetření krevního obrazu (KO) a diferenciálního rozpočtu bílých krvinek přinesla řadu výhod, ve složitějších případech má stále nezastupitelnou roli »ruční diferenciál«, tj. diferenciace buněk v optickém mikroskopu zkušeným laborantem.

Morfologické vyšetření krevního nátěru neprovádíme rutinně, pouze v indikovaných případech. Při mikroskopickém (kvalitativním) vyšetření nátěru získáme informaci o morfologii erytrocytů, o přítomnosti retikulocytů, o velikosti erytrocytů (mikro-, normo- a makrocyty) a jejich tvaru (ovalocyty, sférocyty, eliptocyty, schistocyty – fragmentované erytrocyty tvaru vojenské helmy, akantocyty – svařené erytrocyty s nepravidelnými ostruhovitými výběžky, anulocyty – prstenčité, drepanocyty – srpkovité, leptocyty – terčovité, dakryocyty – slzičky, stomatocyty – unikonkávni – viz tab. 4.12.), o množ-

Tab. 4.2. Normální hodnoty periferního krevního obrazu (complete blood count – CBC)

Červená řada	Muži	Ženy	Obě pohlaví	Rozměr
počet erytrocytů (RBC)	4,2–5,8	3,8–5,2		10 ¹² /l
hemoglobin (Hb)	140–180	120–160		g/l
hematokrit (Ht) ¹⁾	0,38–0,49	0,35–0,46		l/l krve
střední objem erytrocytu (MCV)			80–96	fl
střední hmotnost Hb v erytrocytech (MCH)			27–32	pg/ery
střední koncentrace Hb v erytrocytech (MCHC)			0,32–0,37	g Hb/l ery
šíře rozptylu červených krvinek (RDW) variační koeficient velikosti erytrocytů (VC) ²⁾			11,5–14,5	%
počet retikulocytů (Rtc)			0,003–0,015	
Bílá řada	% zastoupení		Absolutní počet (· 10 ⁹ /l)	
leukocyty (Leu)			4,4–10,5	
tyče	0,005–0,010			
segmenty (neutrofilní)	0,4–0,75		2,5–7,5	
eozinofily	0,01–0,04		0,04–0,11	
bazofily	0,00–0,01		0,015–0,1	
lymfocyty	0,20–0,45		1,5–4,0	
monocyty	0,03–0,10		0,2–0,8	
destičky, trombocyty			150–450	

RBC – red blood cells; MCV – mean cell volume; MCH – mean corpuscular hemoglobin; MCHC – mean corpuscular hemoglobin concentration; RDW – red cell distribution width

¹⁾ Hematokrit vyjadřuje relativní objem, který erytrocyty v plazmě zaujímají. Ve starší literatuře je ještě uváděn výraz PCV (packed cell volume), dnes je však již zcela vytlačen pojmem hematokrit.

²⁾ V literatuře bývá uváděna také zkratka CV (coefficient of variation – variační koeficient); obsah pojmu je týž jako RDW a vyjadřuje variabilitu průměru (velikosti) krvinek, anizocytózu.

ství a zastoupení podtypů bílých krvinek (neutrofilní, bazofilní, eozinofilní leukocyty, monocyty, lymfocyty) včetně nezralých forem bílé krevní řady, které se v periferním krevním obraze objevují za chorobných stavů (myeloblasty, promyelocyty, myelocyty, metamyelocyty, tyče atd.) a o morfologických anomáliích všech krevních řad.

V tab. 4.2. jsou uvedeny normální hodnoty periferního krevního obrazu a některých doplňujících vyšetření, která upřesňují diagnostiku poruch červené krevní řady. Rozpětí zde uvedených normálních hodnot odráží fyziologické variace spojené pouze s pohlavím, věk u zdravého jedince hodnotu krevního obrazu neovlivní. Při hodnocení KO je vhodné vědět, že v noci, během spánku, dochází k hemodiluci s ranní hemokoncentrací po probuzení.

Tab. 4.3. Nejčastější indikace k odběru vzorku kostní dřeně

cytopenie (anémie, zejména makrocytární, leukopenie, trombocytopenie)
leukocytóza, trombocytémie
v rámci stagingu hematologických malignit (staging lymfomů, leukémií)
septické stavy nejasné etiologie (včetně detekce potenciálního infekčního agens)
zjištění stavu zásob a lokalizace železa (sideroblasty versus RES)

ní, což může ovlivnit hodnoty hematokritu. U gravidních žen a u kuřáků jsou obvykle vyšší hodnoty lymfocytů a neutrofilů a nižší hodnoty eozinofilů. Počet leukocytů se zvyšuje po fyzické aktivitě a při stresu.

4.3. Vyšetření kostní dřeně

4.3.1. Metody odběru vzorku

Vyšetření kostní dřeně je integrální součástí diagnostického algoritmu u hematologických i nehematologických onemocnění. Jde o invazivní metodu, proto ji indikujeme uvážlivě až po zhodnocení anamnézy a fyzikálního nálezu, analýze periferního KO, event. po dalších laboratorních vyšetřeních (biochemických, imunologických apod.). Nejčastější indikace k vyšetření kostní dřeně jsou shrnuty v tab. 4.3.

■ Aspirační punkce kostní dřeně

K cytologickému vyšetření krvetvorby stačí aspirace dřeňové krve (bone marrow aspiration), nejčastěji z hrudní kosti.

Sternální punkce je poměrně nerizikové vyšetření, možné komplikace (proniknutí do mediastina přes zadní kompaktu sternu) jsou vzácné. Provádíme ji speciální jehlou ve výši 2.–3. mezižebří. Při dobrém lokálním umrtvení nemocný nepříjemně vnímá pouze první injekci a infiltraci tkáně a periostu anestetikem a následně krátký pocit sevření na hrudi při aspiraci buněk.

Cytologické vyšetření dřeňové krve stačí pro potvrzení či vyloučení diagnózy akutních leukémií. V případě jiných hematologických chorob (lymfomy, myelofibróza, aplastická anémie aj.) však nutně potřebujeme histologickou analýzu vzorku kostní dřeně získaného trepanobiopsií, nejčastěji z crista iliaca posterior superior (odběr lze provést i z crista iliaca anterior, u dětí se dává přednost tuberositas tibiae).

■ Trepanobiopsie

Trepanobiopsie (trephine biopsy, bone marrow biopsy) pánevní kosti slouží prvotně k histologickému vyšetření. Používáme speciální trepanobiopsické jehly (Jamshidi, Israeli). Před vyšetřením je nutné získat informovaný souhlas nemocného. Vzhledem k tomu, že jde o invazivní vyšetření, které často provádíme z obou lopat kyčelní kosti (crista iliaca posterior superior), provádíme jej v lokální anestezii s krátkodobou celkovou analgosedací, a to ve spolupráci s anesteziologem. Dnes většinou z jednoho vpichu provádíme odběr na cytologii i histologii. Nejprve aspirujeme cytologický vzorek a ve druhé fázi pak odebíráme histologický vzorek, váleček kosti přibližně 2–3 cm dlouhý a 2 mm silný (resp. podle světlosti použité trepanobiopsické jehly).

Buňky punktátu kostní dřeně i periferní krve je možné přesněji zařadit k určitému typu jednotlivých vývojových krevních řad pomocí dalších technik.

4.3.2. Cytologické vyšetření punktátu kostní dřeně (examination of bone marrow film)

Po obarvení nátěru (podle Giemsy, Wrighta) hodnotíme morfologii buňky a subcelulárních struktur. U pěti set buněk hodnotíme jejich velikost, tvar a obrysy (výběžky), barvitelnost a bohatost cytoplazmy, vakuolizace, charakter a hustotu granulací, uložení, tvar a strukturu jádra, uspořádání chromatinu, event. přítomnost jadérka. Spojením morfologických vlastností jádra a plazmy určujeme druh krevní buňky. I přes dostupnost dalších moderních metod je morfologické vyšetření nátěru kostní dřeně zcela **nepostradatelné**, neboť kromě výše uvedených údajů získáme informaci o buněčnosti dřeně

Tab. 4.4. Fyziologické zastoupení krevních buněk v kostní dřeni (bone marrow differential counts)

Červená řada	Relativní výskyt	15–25 %
proerythroblast	0,5–3,0	
makroblast	1,0–3,0	
normoblast	2,0–20,0	
bazofilní	1,0–5,0	
polychromatofilní	5,0–20,0	
oxyfilní (ortochromní)	1,0–15,0	
Bílá řada	Relativní výskyt	50–75 %
myeloblast	0,1–3,5	
promyelocyt	1,0–6,0	
myelocyt	8,0–15,0	
metamyelocyt	9,0–25,0	
tyč	10,0–30,0	
segment	7,0–25,0	
eozinofilní metamyelocyt	0,1–3,0	
tyč	0,2–3,0	
segment	0,2–3,0	
bazofil	0,0–0,5	
lymfocyt	5,0–20,0	5–25 %
plazmatická buňka	0,3–3,5	
monocyt	0,0–3,5	
retikulární buňka	0,0–2,0	
megakaryocyt	0,1–0,5	
Fyziologický poměr myeloidní a erytrocytární řady: 3–4:1		

(normocelulární, hypocelulární, hypercelulární), o bohatosti odběru (suchá punkce, chudý vzorek, bohatý vzorek) a o odporu kosti při punkci (osteoporóza, fibróza dřeně atd.).

Poměr myeloidní a červené řady (M/E) je přibližně 3 až 4:1 (tab. 4.4.) a zvyšuje se ve prospěch bílé řady u nemocných s infekcí, při leukemoidní reakci, u maligních myeloproliferací, jen vzácně u čisté aplazie červené řady. Snížení poměru M/E zjišťujeme při hyperplazii červené řady (krváčení, hemolýza) nebo při inefektivní erytropoéze (megaloblastická, sideroblastická anémie).

Morfologie krevních prekurzorů může odhalit poruchy maturace (megaloblastická anémie), přítomnost převažující infiltrace jednoho typu buněk (leukémie, lymfomy, mnohočetný myelom), dysplastické změny. Pro průkaz infiltrace dřeně nádorovými buňkami, přítomnost fibrózy a pro zhodnocení stavu železa je vhodnější trepanobiopsie.

4.3.3. Histologické vyšetření kostní dřeně

Vzorek získáme trepanobiopsií z pánevní kosti. Vyšetření slouží ke zjištění celkové buněčnosti dřeně

(hypo-, normo-, hypercelulární) a stupně fibrózy, u hematologických malignit k posouzení charakteru infiltrace (např. u lymfomů nodulární versus difuzní infiltrace, u myelodysplastického syndromu k lokalizaci nezralých krevních precursorů (ALIP – abnormal localization of immature precursors a další), u leukémií, lymfomů a myelomu je navíc důležitá znalost masivnosti infiltrace. U nádorových chorob zjišťujeme přítomnost nádorových buněk v kostní dřeni při metastatickém procesu, speciálním barvením histologického vzorku jsme schopni zjistit přítomnost a lokalizaci železa (sideroblasty, RES). Vedle morfologických metod je vzorek možné vyšetřit dalšími (imunohistochemickými, molekulárněbiologickými) metodami včetně imunofenotypových.

4.4. Speciální vyšetřovací metody

V současné době převládají metody zaměřené na molekulární úroveň. Reflektují skutečnost, že jsou na této úrovni poznávány mechanismy onkogeneze.

Cytogenetické a molekulárněbiologické metody jsou v hematooknologii důležitou součástí diagnostiky, neboť určité chromosomální aberace jsou specifické pro konkrétní diagnózu (např. translokace t(11;14) a zvýšená exprese cyklinu D1 u lymfomu z plášťových buněk, MCL). Detekce molekulárních markerů se využívá také ke stanovení minimální reziduální nemoci (MRN), kdy využíváme vysokou citlivost těchto metod k detekci malého počtu maligních buněk, které po léčbě zůstávají v organismu pacienta, ale nelze je zachytit běžnými cytologickými metodami. Podobným způsobem detekujeme časný molekulární relaps choroby a můžeme velmi přesně monitorovat léčebnou odpověď. Některé molekulární markery mají význam pro prognostické hodnocení nemoci již v počátku diagnózy a tak přímo ovlivní prvotní léčebný postup (agresivní versus vyčkávací).

4.4.1. Cytochemické vyšetření krevních buněk

Klasická cytochemická vyšetření se při jiných možnostech identifikace buněk používají dnes již omezeně, a to pouze na specializovaných hematologických pracovištích. Jejich hlavní využití je v diferenciální diagnostice myeloproliferací (tab. 4.5.). Vyšetření také indikuje pouze hematolog. Cytochemické vyšetření je založeno na různém enzymatickém vybavení krevních buněk různých zárodečných řad a jejich vývojových stadií. Použité reagens dává se specifickým enzymem jedinečné zbarvení, které tak identifikuje příslušnou buňku.

V širší hematologické diagnostice se cytochemické vyšetření stále využívá, nejčastěji na průkaz železa (sideroblasty, RES dřene), ale i v dalších případech. Diagnostika vlasatobuněčné leukémie se opírá o nález tartarát-rezistentní kyselé fosfatázy (TRAP), v diferenciální diagnostice Ph-negativních myeloproliferativních neoplazií (MPNs) a chronické myeloidní leukémie (CML) se používá stanovení indexu alkalické fosfatázy v neutrofilech (LAP – leucocyte alkaline phosphatase).

Nízkou hodnotu LAP (menší než 20, obvykle 10, ale i nula!) zjišťujeme u CML, vysoké hodnoty (více než 120, obvykle 150–200) u MPNs (a fyziologicky v graviditě). Mimo uvedené krajní hodnoty není vyšetření diagnosticky přínosné a při dalších možnostech diagnostiky (viz níže JAK2 mutace) je i toto vyšetření na ústupu.

Některé cytochemické reakce jsou však i dnes podkladem diferenciálního rozpočtu bílé krvetvorby v optickém multikanálovém automatickém analyzátoru založeném na laserové technice. Při diferenciaci bílé řady se využívá přítomnosti cytoplazmatické peroxidázy (pozitivní reakce) v neutrofilech, eozinofilech a (slabší) v monocitech, které jsou v analyzátoru (peroxidázový kanál) podle specifického zbarvení aktivně detekovány, vzájemně odlišeny od sebe podle velikosti a také od lymfocytů, které jsou peroxidáza-negativní. Princip stanovení bazofilů je

Tab. 4.5. Cytochemická vyšetření užívaná v diagnostice akutních myeloidních leukémií

Cytochemie	M 1–3 (gran)	M 4–5 (mono)	M 6 (erytro)	M 7 (megakar)
peroxidáza (PE)	+	+ – ++	neg.	neg.
sudanová černá (SB)	+	+ – ++	neg.	neg.
chloracetátsteráza (CAE)	+	+ / ++	+	neg.
nespecifická esteráza (acetát) (α-naftylacetátsteráza) (NAE)	+ / –	+++	+ / –	+++
blokáda Na fluoridem (NAE-F) (= NAE s inhibicí Na fluoridem)	–	ano	– – –	ano
nespecifická esteráza (α-naftylbutyrátsteráza) (BE)	–	+++	neg.	neg.
kyselá nespecifická esteráza (ANAE)	+ / –	dif. +++	– – –	– – –
alkalická nespecifická esteráza	+	dif. +	– – –	– – –
PAS	+ / –	+ / ++	+	+
kyselá fosfatáza (KF)	– / +	+	erytroblasty	– – –

jiný, další kanály (jiné použité reagenty) umožní odlišit mononukleární a polymorfonukleární leukocyty (stanovením indexu lobularity, tj. poměru mono- a polynukleárních) včetně blastů, atypických lymfocytů a jaderných forem červené krevní řady.

4.4.2. Cytogenetické a molekulárněbiologické vyšetření buněk kostní dřeně

■ Cytogenetické vyšetření

Zhoubná onemocnění krve tvoří jsou často provázána změnou karyotypu; některé chromosomální změny jsou pro určitou chorobu zcela specifické (tab. 4.6.) a mají **diagnostický význam**. Určitý cytogenetický nálezy má také **prognostický význam**, proto je toto vyšetření **standardní součástí základního vyšetřovacího algoritmu**.

Chromosomální změny mohou být početní (změna v počtu chromosomů), nebo strukturní (zejména translokace, delecce, inverze). Typickou chromosomální abnormitou u hematologických malignit (na rozdíl od solidních nádorů) jsou translokace. U myeloidních leukémií dochází v důsledku těchto chromosomálních translokací nejčastěji ke vzniku fúzních genů a následně fúzních proteinů s aberantní funkcí. Např. pro chronickou myeloidní leukémii (CML) je patognomonická translokace t(9;22), která dává vznik BCR-ABL fúznímu genu, jehož přepisem vzniká BCR-ABL fúzní protein s aberantně konstitutivní tyrosin-kinázovou aktivitou. Následkem exprese BCR-ABL v hematopoetické kmenové buňce dochází k nekontrolované proliferaci leukemického klonu, který normálně vyzrává, což je typické pro CML (obr. 4.1.). Kromě toho může u myeloidních leukémií následkem chromosomálních translokací docházet naopak k zániku funkce určitého genu. Např. nejčastější chromosomální aberace u akutní myeloidní leukémie t(8;21) vede k translokaci genu pro hematopoetický transkripční faktor AML1 k translokační komponentě ETO. Přepisem

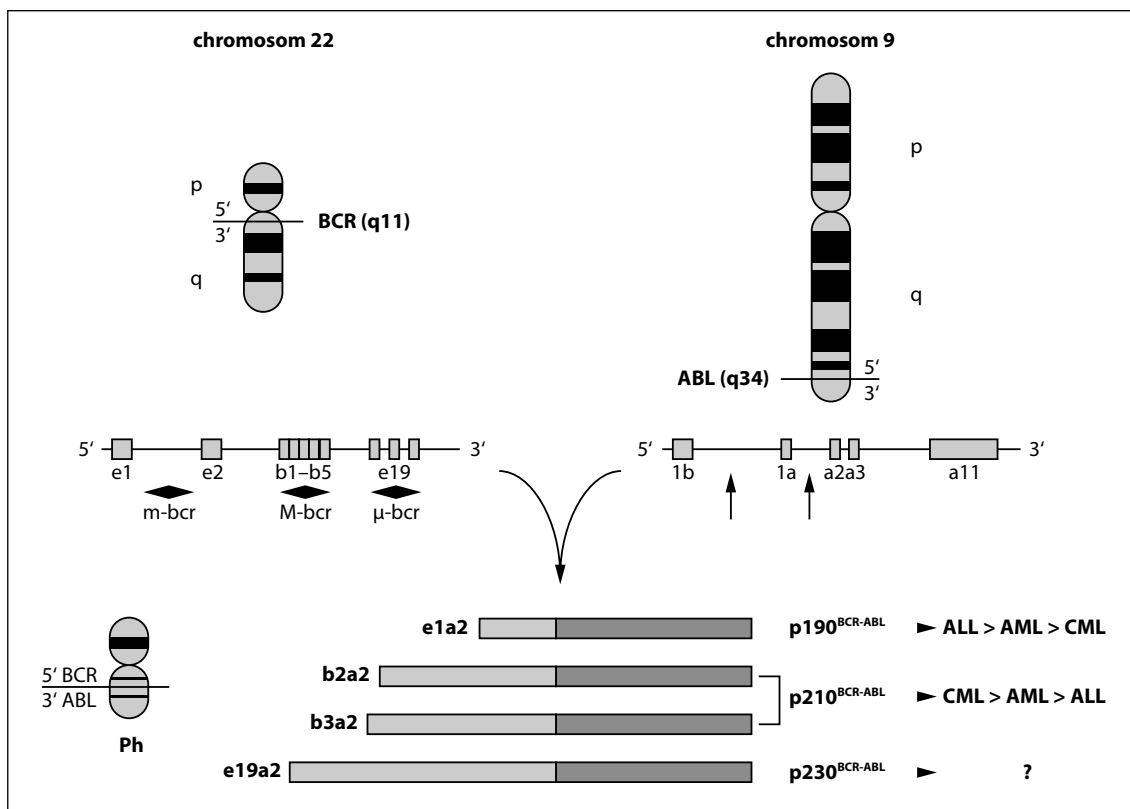
AML1-ETO vzniká fúzní protein, který funguje jako negativní kompetitivní inhibitor nemutovaného hematopoetického transkripčního faktoru AML1. Následkem exprese AML1-ETO v hematopoetické kmenové buňce dochází k zástavě diferenciaci, což je pro akutní leukémii typické (hiatus leukemicus). Na rozdíl od akutních leukémií dochází u zralých lymfoproliferací (lymfomů a myelomu) následkem chromosomálních translokací typicky k aberantně zvýšené expresi translokovaných genů, obvykle onkogenů, aniž by se změnila jejich struktura či funkce. Ke zvýšené expresi onkogenů dochází následkem fyzického přemístění protoonkogenu pod vliv silných transkripčních regulačních elementů genů kódujících těžké a lehké řetězce imunoglobulinů (tj. na chromosom 14, 2, 22) nebo genů pro T-buněčný receptor (TCR) (tj. na chromosom 7, 14). Tento typ translokace následně způsobí abnormálně zvýšenou expresi strukturně normálního genu.

Příkladem tohoto typu aberace je translokace t(14;18) u folikulárního lymfomu, kdy se zvyšuje exprese antiapoptotického proteinu BCL2 následkem přesunu BCL2 genu ke genu kódujícímu těžký imunoglobulinový řetězec. Obdobně se zvyšuje exprese transkripčního faktoru MYC translokací t(8;14) u Burkittova lymfomu či upregulace cyklinu D1 translokací t(11;14) u lymfomu z plášťových buněk (mantle cell lymphoma, MCL).

K detekci chromosomálních aberací jsou využívány metody klasické cytogenetiky i metody molekulárněcytogenetické. Klasická cytogenetická analýza spočívá v kultivaci buněk po 24–72 h, poté je dělení buněk zastaveno přidáním vřetenkového jedu (např. kolcemidu), který zastaví dělení buněk v metafázi mitózy. Dále jsou buňky fixovány a obarveny, nejčastěji podle Giemsy (G-pruhování). Po tomto obarvení lze na každém chromosomu pozorovat světlé a tmavé pruhy (G-pruhy), jejichž uspořádání je charakteristické pro každý chromosom. Následně jsou preparáty vyhodnoceny zkušeným cytogenetikem pod mikroskopem, příp. i s využitím výpočetní techniky. Výhodou pruhovacích technik je analýza celého genomu v rámci jednoho experi-

Tab. 4.6. FAB (French-American-British) klasifikace a cytogenetické charakteristiky akutních myeloidních leukémií (tučným písmem zvýrazněny prognosticky příznivé cytogenetické nálezy)

Typ AL	Cytogenetické nálezy
AML M1 myeloblastická bez vyzrávání (blasty I., II. typu)	
AML M2 myeloblastická s vyzráváním (část: PMC – Seg, pelger. formy)	40 %: t(8;21) (q22;q22)
AML M3 promyelocytární (Auerovy tyče – faggot cells – otýpky)	90 %: t(15;17) (q22;q12)
AML M4 myelomonoblastická	20 %: inv/del (16) (q22)
AML M5 monoblastická (LSDM = lysozym)	5 %: t/del (11) (q23)
AML M6 akutní erytroleukémie (kritéria!)	
AML M7 megakaryoblastická (produkce PDGF)	



Obr. 4.1. Filadelfský chromosom (Ph chromosom). Translokace t(9;22), při které vzniká fúzní gen a následně fúzní protein BCR-ABL (p210^{BCR-ABL}); je lokalizován v oblasti »major breakpoint cluster region« (M-bcr). Na 22. chromosomu může však nastat zlom v oblasti »minor cluster region« (m-bcr) nebo »micro cluster region« (μ-bcr), kde vznikají fúzní onkoproteiny (p190^{BCR-ABL} a p230^{BCR-ABL}). Výsledkem je pak CML s poněkud odlišnými projevy – převahou monocytů, resp. neutrofilů s trombocytémií (p230CML).

mentu, jsou však limitovány pouze pro aktivně se dělící buňky a mají nižší rozlišovací schopnost. Kromě klasické cytogenetické techniky jsou pro diagnostiku a prognostiku hematologických chorob využívány i metody molekulární cytogenetiky, zejména tzv. fluorescenční *in situ* hybridizace, FISH, jejíž výhodou je použití i v nedělících se buňkách (interfázních jádrech). Tato metoda je založena na hybridizaci fluorescenčně značené sondy (syntetický úsek DNA, který je komplementární k určité části chromosomální DNA) s interfázními jádry nebo metafázními chromosomy a lze ji využít k detekci numerických i strukturních aberací. Používány jsou sondy specifické pro konkrétní chromosomy nebo chromosomální oblasti. Po vazbě sondy k cílové sekvenci je tato sekvence vizualizována použitím fluorescenčního mikroskopu, hledaná sekvence je pozorovatelná jako nápadný signál. Na rozdíl od pruhovacích technik lze metodou FISH vyšetřit v jednom experimentu pouze tu část genomu, k níž je použita sonda komplementární, nelze tedy analyzovat různé chromosomální aberace celého genomu. Z tohoto důvodu byly vyvinuty další molekulárně-cytogenetické metody, které umožňují analyzovat celý genom a hledat strukturní i numerické aberace. Jsou to zejména mnohobarevná FISH (mFISH),

spektrální karyotypizace (SKY), mnohobarevné pruhování (mBAND) a srovnávací genomová hybridizace (CGH). Blíže v kap. Cytogenetika.

■ Metody molekulárněbiologické

Rovněž molekulárněbiologické metody jsou nedílnou součástí vyšetřovacích postupů při diagnostice a prognostice hematologických onemocnění. Tyto metody, z nichž nejvýznamnější je polymerázová řetězová reakce (PCR), jsou využívány k detekci klonality B- i T-lymfocytů, a to jak při stanovování diagnózy hematologické malignity, tak při sledování minimální reziduální nemoci. PCR lze využít také pro detekci mutací onkogenů i tumor-supresorových genů a pro detekci některých translokací. Při reakci dochází k amplifikaci DNA za tvorby velkého množství kopií určité sekvence, což umožňuje provést analýzu DNA i z velmi malého množství vzorku. Templátem PCR může být DNA i RNA. V případě RNA je nutné nejprve provést transkripci RNA do komplementární DNA (cDNA), která je následně amplifikována pomocí PCR. Tento typ PCR je označován jako RT-PCR (PCR s reverzní transkripcí). RT-PCR je využívána zejména pro de-

tekci chromosomových translokací (např. detekce chimérické mRNA BCR/ABL u chronické myeloidní leukémie). Blíže v kap. Molekulární diagnostika.

Význam těchto metod pro diagnostiku a prognózu akutních leukémií dokládá tab. 4.6., pro chronickou lymfatickou leukémií tab. 4.23. a 4.24., pro mnohočetný myelom tab. 4.26. a pro myelodysplastický syndrom tab. 4.29.

4.4.3. Imunofenotypizace

Princip: na povrchu membrány jednotlivých krevních buněk jsou přítomny specifické molekuly, které jsou jednak strukturální a jednak vypovídají o specifické buněčné funkci. Některé z těchto povrchových (membránových) znaků (cell surface markers) jsou společné pro celou skupinu buněk (např. markery T- a B-lymfocytů, markery myeloidní řady atd.). Současná exprese dalších znaků umožní blíže specifikovat určitý buněčný podtyp (subpopulaci), resp. jeho vývojové stadium. Každá z buněk má tak svůj specifický imunofenotyp, který je dán souborem specifických diferenciacních znaků (clusters of differentiation, CD). U hematologických malignit

Tab. 4.7. Přehled základních imunofenotypových charakteristik (tučně jsou vyznačeny nejčastěji používané markery v diagnostice maligních lymfoproliferací)

Markery T-lymfocytů	Buňky s pozitivní reakcí
CD 2	Pan T
CD 3	Pan T, zralé T-lymfocyty
CD 4	T _H (pomocné, helper)
CD 5	Pan T-lymfocyty, B-CLL lymfocyty, zralé B-lymfocyty
CD 6	zralé T-lymfocyty, některé B-lymfocyty
CD 7	T-lymfocyty (chybějí na některých zralých T-lymfocytech); T-ALL
CD 8	T _S (supresorové/cytotoxické)
Markery B-lymfocytů	
CD 19	mladé B-lymfocyty; T-ALL; dendritické buňky folikulů
CD 20	B-lymfocyty; některé monocyty aktivované T-lymfocyty
CD 21	B-lymfocyty; některé dendritické buňky
CD 22	B-lymfocyty
CD 23	aktivované B-lymfocyty; monocyty, některé dendritické buňky
CD 24	B-lymfocyty; granulocyty
CD79a	zralé B-lymfocyty; plazmatické buňky
TdT	lymfoidní prekurzory

B-CLL – chronická lymfatická leukémie; TdT – terminal deoxynucleotidyl transferase

tak podle kvantitativního zastoupení imunofenotypu získáme informaci o buněčném původu onemocnění (klonalitě) a podle toho cíleně orientujeme léčbu. Jako příklad imunofenotypové charakteristiky lze uvést společný znak B-lymfocytů (CD 19+, 20+), populace T-lymfocytů (CD3+) a subpopulace lymfocytů pomocných (T_H – helper; CD3+, CD4+) nebo tlumivých (T_S – suppressor; CD3+, CD8+).

Imunofenotypizace (immunophenotypic analysis, IPA) se provádí **pomocí monoklonálních protilátek** (monoclonal antibody, MAb) buď na průtokovém cytometru (FACS – fluorescence-activated cell sorter), nebo imunohistochemicky v tkáních. Při vyšetření na **průtokovém cytometru** jsou specifické MAb označené fluorescenční látkou navázány na odpovídající povrchový buněčný marker CD. Při průtoku jednotlivých buněk úzkou kapilárou přístroje je fluorescenční látka excitovaná laserem, fotony jsou následně přeměněny na elektrický signál a pulsy zaznamenány v počítači a kvantitativně vy-

Tab. 4.8. Přehled základních imunofenotypových charakteristik (tučně jsou vyznačeny nejčastěji používané markery v diagnostice hematologických malignit)

Markery myeloidní řady a NK-buněk	Buňky s pozitivní reakcí
CD 11a, b	B- a T-lymfocyty; granulocyty, monocyty, NK-buňky
11 c	granulocyty, monocyty, trombocyty, HCL
CD 13	granulocyty, monocyty, eozinofily, bazofily; AML
CD 14	monocyty, makrofágy
CD 15	granulocyty, monocyty, RS-buňky
CD 16	NK-buňky
CD 33	nezralé buňky myeloidní řady (kmenové buňky); AML
CD 34	kmenové buňky; některé blasty AML, ALL
Různé	
CD 10	mladé B-lymfocyty folikulárního centra, T-ALL
CD 30	RS-buňky; aktivované T- i B-lymfocyty
CD 38	plazmatické buňky; nezralé T, aktivované T i B; většina hematopoetických buněk ve fázi časně diferenciací
CD 45	leukocytární společný antigen
CD 71	transferrinový receptor
CD 25	receptor pro interleukin 2; HCL
CD 56	NK-buňky
CD 57	NK-buňky

NK-buňky – natural killers (přirození zabijáci, podtyp T-lymfocytů); HCL – hairy cell leukemia (leukémie z vlasatých buněk); RS-buňky – buňky Reedové-Sternberga (Hodgkinův lymfom); AML, ALL – akutní myeloidní leukémie, akutní lymfatická leukémie

hodnoceny. Při znalosti použité MAb (např. proti B-lymfocytům, myeloidní řadě atd.) pak nejen identifikujeme druh buňky, ale také její klonalitu a kvantitu. Výhodou průtokové cytometrie je možnost použít současně více MAb najednou a tak na sledované buňce simultánně vyšetřit více diferenciačních znaků, a tím získat mnohem přesnější určení buňky, resp. celé buněčné populace. K vyšetření je vhodná periferní krev, aspirát kostní dřeně, homogenizované buňky lymfatické uzliny či jiné nativní tkáně. Lze také vyšetřit charakter buněk v jakékoli tělesné tekutině, v praxi nejčastěji maligní výpotky. **Imuno-histochemická metoda** umožní vyšetření tkáně fixované formalinem a zalité v parafinu a současně, vedle imunohistochemie, je možné vyšetření morfologické. Avšak variabilita ošetření vzorku tkáně, použití různých fixačních technik, způsobu detekce a odečtu mohou vést k diskordantním výsledkům nejen v různých laboratořích, ale také ve srovnání s výsledky imunofenotypizace. V diagnostice využíváme obvykle obě metody.

Dnes, kdy je již známo ohromné množství povrchových diferenciačních antigenů specifických pro určitý buněčný typ i jeho vývojová stadia, je možné morfologicky zařadit i velmi mladé a morfologicky nezralé buněčné formy, které prostým morfologickým vyšetřením dřevňového nátěru nebylo možné cytologicky zařadit do určité vývojové řady. V tab. 4.7. a 4.8. je výběrový přehled základních imunofenotypových charakteristik jednotlivých krevních buněk, v tab. 4.9. příklad imunofenotypových a molekulárněgenetických charakteristik některých maligních lymfoproliferací.

4.4.4. Kultivace hematopoetických buněk *in vitro*

Vyšetření slouží ke zjištění typu růstu krevních buněk získaných aspirací kostní dřeně. Prekurzory bílé krevní řady rostou *in vitro* ve shlucích (cluster, 3 až 39 buněk), nebo v koloniích (více než 40 buněk), s mírnou převahou kolonií (55%) proti shlukům. Při krevních onemocněních je tento poměr porušen. Např. pro leukemický typ růstu je charakteristické extrémní snížení růstu kolonií (až nulové hodnoty) proti shlukům. Toto vyšetření se využívá pro diagnostiku nejen akutních (leukémie, myelodysplastický syndrom, blastický zvrát chronické myeloidní leukémie atd.), ale i některých chronických myeloproliferací (polycythaemia vera versus sekundární polycytémie po stimulaci erythropoetinem). Vyšetření poskytne informaci také o regenerační aktivitě kostní dřeně po chemoterapii. Při nízkém počtu obou sledovaných složek může jít o aplastickou anémii nebo o jiný patologický proces v kostní dřeni.

Normální počty kolonií jsou $71 \cdot 10^5$ (19–145), normální počty shluků $59 \cdot 10^5$ (17–118).

Indikace patří pouze do rukou hematologa na specializovaném hematologickém pracovišti.

4.5. Vyšetření jednotlivých krevních řad

Struktura hematopoetického systému je založena – podle experimentálních průkazů – na existenci výchozí pluripotentní kmenové buňky (pluripotent

Tab. 4.9. Příklad diferenciálnědiagnostických nálezů u maligních lymfoproliferací s využitím imunofenotypových molekulárněgenetických metod

Antigen	CLL/SLL	PLL	MCL	HCL	SL/VL	FL	MZL	MALT	LPL	DLBCL
CD5	+	+/-	+	-	-	-	-	-	-	-
CD10	-	-	-/+	-	-	+/-	-	-	-	-/+
CD11c	+slabě/-	+slabě/-	-	+jasně	-/+	-	+/-			
CD19	+	+	+	+	+	+	+			
CD20	+slabě	+	+	+	+	+	+			
CD23	+	+	-	-	-	-/+	-	-/+	-	NA
CD25	+slabě/-	+slabě/-	-	+jasně/-	-	-	-			
CD 43	+/-/+		+	+		-		-/+	+	-/+
CD103	-	-	-	++	-	-	-	-	-	NA
Slg	-slabě	+jasně	+jasně	+	+	+/-	+		+	+/-

CLL – chronická lymfatická leukémie (chronic lymphocytic leukemia); SLL – lymfom z malých lymfocytů (small lymphocytic lymphoma); PLL – prolymfocytární leukémie (prolymphocytic leukemia); MCL – ne Hodgkinský lymfom z plášťových buněk (mantle cell lymphoma); HCL – vlasatobuněčná leukémie (hairy cell leukemia); SL/VL – splenický lymfom / lymfom z vilózních lymfocytů (splenic lymphoma / villous lymphocytes); FL – folikulární lymfom (follicular lymphoma; dříve: FCL – lymfom z buněk centra folikulu, follicle centre lymphoma); MZL – lymfom z buněk marginální zóny (marginal zone lymphoma); MALT – lymfom slizniční lymfoidní tkáně (mucosa associated lymphoid tissue lymphoma); LPL – lymfoplazmocytární lymfom (lymphoplasmocytic lymphoma); DLBCL – difúzní velkobuněčný B-lymfom (diffuse large B-cell lymphoma); Slg – povrchové imunoglobuliny (surface immunoglobulins); NA – nelze aplikovat

stem cell – PSC), která má schopnost sebeobnovy (self-renewal) a schopnost vývoje do další kmenové buňky nižšího řádu. Tou je jednak multipotentní kmenová buňka (multipotent stem cell – MSC), která tvoří základ hematopoézy, a jednak imunoreaktivní pluripotentní kmenová buňka, která tvoří základ imunopoézy. Multipotentní kmenová buňka se dále vyvíjí v progenitorové kmenové buňky (unipotentní) pro jednotlivé zárodečné řady – myeloidní a lymfoidní.

4.5.1. Červený krevní obraz

Z funkčního hlediska (transport kyslíku) je nejvýznamnějším parametrem červeného krevního obrazu (ČKO) hemoglobin (Hb). V klinické praxi je i tento údaj nejpřínosnější, protože např. při sideropenické anémii může být počet erytrocytů ještě v normě, ale protože se jedná o mikrocyty s nízkou koncentrací i hmotností hemoglobinu, jen nízká hodnota Hb odráží deficit transportní kapacity pro kyslík. Proto i anémie (tab. 4.10.) je definována jako snížení množství Hb (zpravidla i hematokritu a počtu erytrocytů) v 1 litru krve pod dolní hranici hodnoty u zdravých jedinců. U mužů je podle WHO tato hranice Hb < 130 g/l, u žen Hb < 120 g/l.

Anemický syndrom (souhrn subjektivních obtíží a objektivního nálezu provázející anémii) je ve většině případů sekundárním projevem jiného základního onemocnění. Anémie je důležitým příznakem nemoci a úkolem klinika je vždy pátrat po příčině, která anémii vyvolala.

Rozdělení anémií respektuje patofyziologické hledisko:

- z nedostatečné krvetvorby – hypoproliferativní (sideropenická, aplastická anémie apod.);
- způsobené nadměrným a předčasným rozpadem erytrocytů (hemolytické);
- z nadměrných krevních ztrát;
- z kombinovaných příčin (anémie chronických chorob), které mají hypoproliferativní charakter.

Mezi nejčastější anémie v našem geografickém pásmu patří:

- anémie z nedostatku železa (iron deficiency anemia, IDA);
- anémie chronických onemocnění (anemia of chronic diseases, ACD);
- anémie hemolytické získané – autoimunitní (z teplotních protilátek – warm antibody) (autoimunní hemolytická anémie, AIHA).

Tab. 4.10. Stupeň anémie podle Světové zdravotnické organizace (WHO)

Stupeň	0	1	2	3	4
Hb (g/l)	> 110	95–109	80–94	65–79	< 65

Stavy a choroby, které ke vzniku anémie vedou, jsou však velmi početné, příčiny jsou často multifaktoriální a s tímto vědomím by měl být veden i diagnostický proces založený na racionálním algoritmu.

V klinické praxi je však diagnostický postup u anémie založen prvotně na analýze kvantitativních a morfologických parametrů ČKO (tab. 4.11.), které jsou pak podkladem patofyziologického zařazení a následně racionálního terapeutického postupu. Pro komplexní posouzení je nezbytné vyšetření retikulocytů.

V některých případech jsou kvantitativní hodnoty ČKO normální a až mikroskopické vyšetření nátěru periferní krve může vést k podezření či odhalit krevní či jiné onemocnění. V tab. 4.12. je přehled nejvýznamnějších morfologických změn ČKO.

■ Algoritmus diagnostického postupu u hypoproliferativních anémií

Prvním krokem je anamnéza a fyzikální nález. Vstupní biochemický screening včetně vyšetření bilirubinu je samozřejmostí. Takto získané údaje a rutinní krevní obraz poskytnou základní informace o stupni a většinou také o charakteru anémie: na základě screeningového vyšetření vytváříme pracovní diagnózu, pro jejíž stanovení je vodítkem velikost krvinek (mikro-, normo-, makrocyty), hmotnost (MCH) a koncentrace (MCHC) hemoglobinu v ery-

Tab. 4.11. Klasifikace anémií podle kvantitativních a morfologických kritérií

Morfologická klasifikace anémie podle velikosti erytrocytu (MCV)			
anémie	mikrocytová	MCV < 80 fl	
	normocytová	MCV = 80–95 fl	
	makrocytová	MCV > 96 (100) fl	
Morfologická klasifikace anémie podle střední koncentrace Hb v erytrocytu (MCHC) ¹⁾			
anémie	normochromní	MCHC = 0,32–0,37 ²⁾	
	hypochromní	MCHC < 0,32 ^{1), 2)}	
Komplexní posouzení anémie podle kvantitativních kritérií			
anémie	mikrocytová hypochromní	normocytová normochromní	makrocytová normochromní
MCV	< 80 fl	80–95 fl	> 96 (100) fl
MCH	< 26 pg	27–31 pg	> 32 pg
MCHC ¹⁾	< 0,31 ²⁾	0,32–0,37 ²⁾	0,32–0,37 ²⁾
Nález u anémie	z nedostatku železa	chronických onemocnění	z deficitu vitamínu B ₁₂ a kyseliny listové

¹⁾ MCHC je relativně pozdní ukazatel hypochromie, dříve se objeví pokles MCH

²⁾ gHb/l ery

Tab. 4.12. Morfologické změny červené krevní řady a jejich výskyt u chorobných stavů

Nález v nátěru periferní krve	Onemocnění, patologický stav
sférocyty, polychromatofilie	hereditární sférocytóza
sférocyty, polychromatofilie, aglutinace erytrocytů	kompensovaná získaná hemolytická anémie
leptocyty (terčovité)	jaterní choroby; obstrukční ikterus; hemoglobin C
eliptocyty	eliptocytóza; téměř všechny druhy anémií
bazofilní tečkování	otrava olovem
oválné makrocyty + hypersegmentace jader neutrofilů	počínající megaloblastická anémie; jaterní choroba; hypothyreóza
penízkovatění erytrocytů (rouleaux)	mnohočetný myelom, makroglobulinémie
schistocyty (fragmentované)	DIC, mechanická hemolýza ¹⁾
drepanocyty (srpkovité)	srpkovitá anémie – hemoglobin S
akantocyty	jaterní cirhóza; porucha lipidového metabolismu (abetalipoproteinémie)
dakryocyty (slzičky)	myelofibróza; myeloidní metaplasie; tuberkulóza; thalasémie
poikilocytóza (různé tvarové anomálie)	myelofibróza
rouleaux (penízkovatění erytrocytů)	hyperproteinémie; myelom, makroglobulinémie
stomatocyty (unikonkávní)	hereditární stomatocytóza; jaterní cirhóza; acidóza
Howellova-Jollyho tělíska (jaderné zbytky)	stav po splenektomii (SPE), hemolytické anémie; megaloblastické anémie
Heinzova tělíska (denaturovaný Hb)	stav po SPE; intoxikace (chemikálie, léky)
Cabotovy prstence	těžké anémie; dyserythropoetické anémie
sideroblasty (vyžaduje barvení na Fe)	dyserythropoetické anémie; MDS-RAS ²⁾

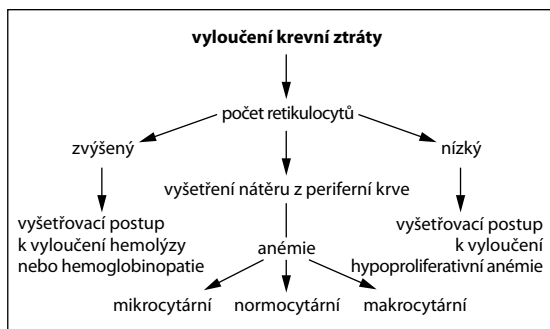
¹⁾ mikroangiopatická hemolytická anémie; hemolýza při umělých srdečních chlopních

²⁾ MDS-RAS – myelodysplastický syndrom typu refrakterní anémie s prstenčitými sideroblasty

trocytu (hypochromní, normochromní) a RDW, jehož hodnota určí stupeň anizocytózy. Schematicky je postup znázorněn na obr. 4.2.

Kvalitativní vyšetření nátěru periferní krve dále doplní údaje o morfologii červené krvinky. Stanovení počtu retikulocytů obecně nepatří mezi běžný screening, ale v případě anémie je vhodné je za rutinní vyšetření považovat! Výpovědní hodnotu o aktivitě dřeňové erythropoézy má až výpočet absolutního počtu retikulocytů (Rtc). Korigovaný počet Rtc (RI) je odrazem reakce kostní dřeně na anémii a ukazuje, zda regenerační aktivita kostní dřeně je úměrná závažnosti anémie. Podle těchto údajů již můžeme anémii zařadit mezi hypoproliferační (např. z nedostatku Fe, anémie chronických one-

mocnění), nebo ztrátové (anamnéza a doplnění dalších vyšetření, jako např. stolice na okultní krvácení, endoskopie, gynekologie apod., susp. hemolýza) a indukujeme cílené speciální vyšetření, zaměřené již určitým směrem. Mezi podrobnější vyšetření při stanovování charakteru anémie dále patří punkce kostní dřeně s cytologickým vyšetřením dřeňového nátěru (hypo-, hyperplastická erythropoéza a krvetvorba vůbec, megaloblastická erythropoéza, přítomnost, počet a morfologický charakter sideroblastů – prstenčité, infiltrace dřeně nádorem, fibróza apod.), event. histologické vyšetření trepanobiopsického vzorku kostní dřeně (buněčnost dřeně, nádorová infiltrace, architektura kosti, fibróza atd.), zjištění stavu železa v organismu – vždy vyšetřit všechny základní parametry (Fe v plazmě, ferritin, transferrin, dále saturaci transferrinu nebo celkovou vazebnou kapacitu transferrinu pro železo – TIBC – total iron binding capacity, fakultativně cirkulující transferri nové receptory). Významným přínosem v diagnostice anémií je zjištění volného nebo zink-protoporfyriu v erytrocytu (FEP). Jeho volné, nespotřebované množství je v erytrocytu tím větší, čím méně substrátu (např. Fe) má červená krvinka při syntéze hemu k dispozici. Toto vyšetření však dosud není běžně dostupné. Dále je možné určit sérové koncentrace vitamínu B₁₂ a kyseliny listové jako snazší cesty zjištění jejich deficitu, než nabízel Schillingův test.

**Obr. 4.2.** Schéma diagnostického postupu u anémie

■ Vypočítané hodnoty červeného krevního obrazu

Není účelem níže uvedené hodnoty vypočítávat, získáme je z automatického analyzátoru. Znalost složení vzorce (údaje v čitateli a jmenovateli zlomku) poslouží ke kritickému posouzení výsledků získaných ze strojového zpracování krevního obrazu. Jako příklad lze uvést makrocytovou anémii. Ta je charakterizována zvýšeným středním objemem erytrocytu (mean corpuscular volume, MCV) a vyšší střední hmotností Hb v erytrocytu (mean corpuscular hemoglobin, MCH). Toto zvýšení je relativně symetrické, nedochází ke zvýšení střední koncentrace («hyperchromii») Hb v erytrocytu (MCHC), tedy k přesycení erytrocytu hemoglobinem. Pokud hodnoty MCHC převyšují normu, je nutné považovat výsledek za chybný. Pouze u sférocytózy (vzácně), a zejména u xerocytózy může být hodnota MCHC vyšší (přehled viz tab. 4.11.).

Střední (průměrný) objem erytrocytu (MCV – mean cell volume):

Jde o zprůměrovanou hodnotu objemu jednotlivých krvinek (vyjádřenou hematokritem) proti počtu erytrocytů ve vyšetřovaném vzorku krve. Vztah je vyjádřen vzorcem:

$$\text{MCV (fl)} = \frac{\text{Ht}}{\text{počet ery (l)}}$$

$$\text{Příklad: } \frac{0,45}{5 \cdot 10^{12}/\text{l}} = 90 \cdot 10^{-15}/\text{l} = 90 \text{ fl}$$

Střední (průměrná) hmotnost Hb v erytrocytu (označovaná také jako barvivo červené krvinčičky – MCH – mean corpuscular hemoglobin):

Jde o zprůměrovanou hmotnost Hb v jednotlivém erytrocytu proti počtu erytrocytů ve vyšetřovaném vzorku krve. Vztah je vyjádřen vzorcem:

$$\text{MCH (pg)} = \frac{\text{Hb (g/l)}}{\text{počet ery (l)}}$$

$$\text{Příklad: } \frac{150 \text{ (g/l)}}{5 \cdot 10^{12}/\text{l}} = 30 \cdot 10^{-12} \text{ g} = 30 \text{ pg}$$

Střední (průměrná) koncentrace Hb v erytrocytu (MCHC – mean corpuscular hemoglobin concentration):

Jde o zprůměrovanou hmotnost Hb v jednotlivém erytrocytu (měřeno na jeden decilitr erytrocytů) proti objemu, který erytrocyty zaujímají v plazmě, tj. proti hematokritu (vyjádřenému v procentech). Vztah je vyjádřen vzorcem:

$$\text{MCHC} = \frac{\text{Hb (g/dl)}}{\text{Ht (\%)}}$$

$$\text{Příklad: } \frac{15}{45} = 0,33$$

■ Retikulocytární index

Retikulocyty (Rtc) jsou ve zvýšené míře vyplavovány do periferní krve při kompenzatorně zvýšené erytropoéze. Např. při substituci železa u sideropenické anémie nebo vitamínu B₁₂ při megaloblastické anémii se mezi 7.–10. dnem od zahájení léčby významně zvýší počet Rtc v periferní krvi – hovoříme o retikulocytární krizi. U hemolytických anémií je počet Rtc zvýšený trvale. V případě anémie při chronických onemocněních je vyplavování Rtc do periferní krve ve vztahu k závažnosti anémie neadekvátně nízké. Příčina je multifaktoriální a podílí se na ní zvýšená koncentrace některých cytokinů (TNF-α, IL-1, IFN-γ, apoferritin, laktoferrin) a snížená koncentrace endogenního erytropoetinu. Počet retikulocytů korigovaný podle hloubky anémie (retikulocytární index – RI) přesněji vystihuje aktivitu (nedostatečnost) dřevňové erytropoézy. Vypočteme jej podle následujícího vzorce:

$$\text{Rtc} \cdot \frac{\text{zjištěná hodnota Hb}}{\text{normální hodnota Hb}} = \text{korigovaný počet retikulocytů}$$

$$\text{Příklad 1: } 0,08 \cdot \frac{80 \text{ g/l}}{160 \text{ g/l}} = 0,04$$

$$\text{Příklad 2: } 0,06 \cdot \frac{80 \text{ g/l}}{160 \text{ g/l}} = 0,03$$

V prvním případě je odpověď na anémii lepší, při stejném stupni anémie je vyplavování Rtc do periferní krve vyšší.

■ Stav železa v organismu

Významnou součástí hodnocení červeného krevního obrazu a důležitým údajem při diferenciální diagnostice hypoproliferačních anémií a kontrole léčby sideropenické anémie je zjištění stavu železa v organismu. K tomu poslouží soubor několika vyšetření (tab. 4.13. a 4.14.). Dynamika nálezů je vodítkem pro lékaře k eventuálnímu zahájení substituční léčby železem.

Fyziologické poznámky

Denní příjem Fe je 10–15 mg, denní potřeba (resorpce) u mužů je přibližně 1,3 mg, u žen 1,8 mg (menzes znamená ztrátu průměrně 0,8 mg/d). Resorpce z gastrointestinálního traktu (GIT) je kolem 10–15 % podaného množství, to je však limitováno omezenými kapacitami aktivního transportu buňkami GIT (obr. 4.3.).

Při sideropenii resorpce stoupá na 20–40 %. Resorpci Fe urychlí přítomnost HCl v žaludku (reduk-

Tab. 4.13. Erytropoéza – doplňující vyšetření při hypoproliferativní anémii

Parametr	Muži	Ženy	Obě pohlaví	Rozměr
Fe v plazmě (!)	7,2–29	6,6–28		μmol/l
transferrin (Trf) (!)			2–4	g/l
celková vazebná kapacita Trf pro Fe (TIBC) (!)			44,8–71,6	μmol/l
% saturace transferrinu (!)			20–60	%
solubilní transferrinové receptory (sTfR)	2–5	1,9–4,4		mg/l
ferritin v plazmě (!)	20–300	20–200		μg /l
sideroblasty v kostní dřeni			20–65	%
resorpce ⁵⁹ Fe z GIT			> 25	%
volný protoporfyrin v erytrocytech (FEP)			350–500	μg/l
kyselina listová (!) ¹⁾			2–6	μg /l
vitamin B ₁₂ (!) ¹⁾			200–900	ng /l
sérový erythropoetin (Epo)			3,3–16,7	U/ml

TIBC – celková vazebná kapacita pro železo (total iron binding capacity); FEP – volný protoporfyrin v erytrocytech (free erythrocyte protoporphyrine); (!) – parametry, které patří mezi základní a měly by být vždy vyšetřeny.
¹⁾ indikace odběru jen při makrocytové anémii

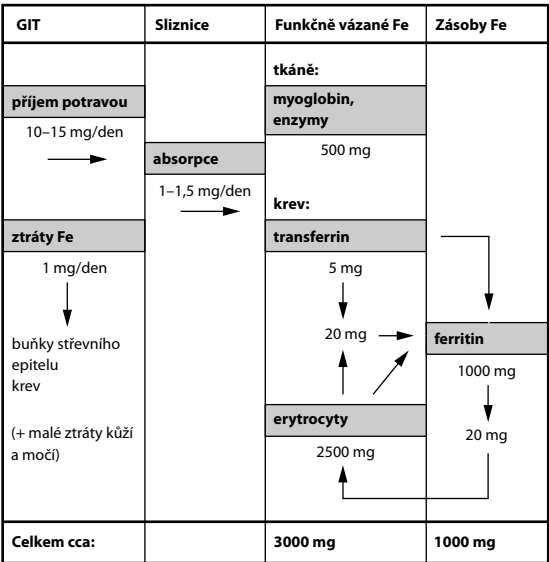
ce Fe³⁺), ale pro vstřebání železa není HCl zásadně nezbytná. Nejvyšší resorpce železa je v duodenu, distálněji v GIT klesá. Z buněk střevního epitelu je železo transportováno ve vazbě na transferrin, který po vazbě na transferrinové receptory předá železo erytroidnímu prekursoru a je pak uvolněn pro další transport železa. Železo je buď okamžitě využito k syntéze hemu (probíhá v mitochondriích), nebo je uloženo v zásobní formě do ferritinu (1 g ferritinu váže přibližně 8 mg železa). Celkové množství železa v organismu je 4000–4500 mg, z toho je 2600 až 3000 mg zabudováno do Hb (asi 66 %), 150–200 mg se nachází v myoglobinu (3–5 %), nepatrné množství je v enzymech a 3–4 mg jsou navázány na transferrin (transportní forma) a 800–1000 mg (asi 30 %) je v zásobách (ferritin, hemosiderin).

Je důležité zdůraznit, že anémie při sideropenii vzniká komplexním mechanismem. Při sideropenii totiž chybí železo také pro optimální aktivitu enzymů porfyrinového metabolismu, proto dochází ke zpomalení syntézy porfyrinů jako součásti hemu. Při anémii je tak snižená kompenzační erythropoetická aktivita kostní dřeně. Červená hematopoéza je aktivována jen 1,5násobně, na rozdíl od stavu, kdy při plné substituci železa je dřeň schopna zvýšit erytropoézu 6–10násobně! Dále při nedostatku železa klesá v erytroidních buňkách kostní dřeně syntéza RNA s omezením syntézy proteinů s následnou defektní tvorbou cytoskeletu erytrocytu. Při porušené strukturní integritě buňky erytrocyt snáze podléhá destrukci, která se projeví časnou hemolýzou (inefektivní erytropoéza). Zkrácené přežívání je tedy

Tab. 4.14. Stav siderémie s vývojem do sideropenické anémie

Ukazatele stavu železa v organismu	Stadium sideropenie		
	prelatentní	latentní	manifestní
zásobní Fe	↓	↓↓	↓↓ – 0
ferritin v séru	↓	↓	↓↓
transferrin	N	N	N – ↑
cTfR	N	↑	↑↑
Fe v plazmě	N	↓	↓↓
% saturace transferrinu	N	↓	↓↓
vazeb. kapacita (TIBC)	N	↑	↑↑
absorpce ⁵⁹ Fe	↑	↑↑	↑↑
sideroblasty ve dřeni	N	N – ↓	↓↓ – 0
FEP	↑	↑↑	↑↑
anémie	není	není	ano ↓ – ↓↓

FEP – volný protoporfyrin v erytrocytech; cTfR – cirkulující transferrinové receptory



Obr. 4.3. Kinetika železa v organismu

dalším z faktorů podílejících se na anémii při nedostatku železa. Z výše uvedeného vyplývá, že substituce železa je nutná nejen pro zabudování železa do hemu, ale i pro další dílčí etapy erytropoézy. Tyto patofyziologické údaje je nutné vzít v úvahu při diagnostice suspektní sideropenické anémie (tj. provést odpovídající soubor vyšetření) a zvážit substituci železem již při známkách latentní sideropenie (viz tab. 4.14.).

■ Vyšetřovací možnosti ke zjištění stavu železa v organismu

V tab. 4.16. jsou shrnuta doplňující vyšetření při suspektní sideropenii a další vyšetření, která doplňujeme při některých hypoproliferativních anémiích. Tab. 4.17. uvádí dynamiku změn ukazatelů železa při prohlubujícím se nedostatku železa.

Plazmatické železo: i když vyšetření plazmatického železa je obligatorní, samotná hodnota Fe v plazmě (6,7–28,3 $\mu\text{mol/l}$) vypovídá o stavu železa využitelného pro erytropoézu zcela nedostatečně, neboť může být ovlivněna dalšími faktory. Snížené hodnoty jsou – kromě sideropenické anémie – také při infekcích nebo při hypoproteinémii, zvýšené pak u jaterní léze, hemochromatózy, při hemolytické anémii, po opakovaných transfuzích a často u perniciózní anémie. Proto je nutné doplnit další vyšetření.

Ferritin: největší diagnostický přínos má vyšetření ferritinu, jehož hodnota odráží množství zásob železa využitelného pro erytropoézu. Ferritin je současně »bílkovinou akutní fáze«, takže pokud jsou hodnoty zvýšeny nad normu (muži: 30–300, průměrně 123 $\mu\text{g/l}$; ženy: 12–125, průměrně 56 $\mu\text{g/l}$), je nutné zhodnotit, zda v organismu neprobíhá zánět. Klinicky relevantní jsou hodnoty snížené, pokud dosahují u žen < 20 $\mu\text{g/l}$, znamenají vyčerpání zásob Fe a jsou indikací k zahájení substituce. Není známa žádná nespecifická příčina snížení koncentrace ferritinu (snížení ferritinu vyvolá pouze sideropenie). Morfologickým korelátem sideropenické anémie je především mikrocytóza, hypochromie a anizocytóza, spojené se vzestupem RDW.

Transferrin: transferrin (polypeptidový řetězec, 75–80 kD) je transportní bílkovina pro Fe (hodnota v plazmě: 2,0–3,7 g/l). Je pravidelně distribuován mezi plazmu a extravaskulární prostor a po vazbě na transferrinové receptory (dvě třetiny z nich jsou na erytroidních prekurzorech, zbytek na buňkách dalších tkání) předává Fe erytroidním buňkám v kostní dřeni. U sideropenické anémie se hodnota transferrinu v plazmě absolutně zvyšuje (stimulovaná syntéza v játrech), u anémie při chronických chorobách je naopak nižší.

Saturace transferrinu: vedle vlastní hodnoty transferrinu v plazmě má významnou výpovědní hodnotu saturace transferrinu železem. Jde o vypočtenou hodnotu poměru koncentrace Fe k transferrinu. Normální kapacita transferrinu vázat železo je mezi 20–60 %. Při poklesu saturace pod 16 % (při sideropenické anémii) jde zjevně o nedostatek železa pro erytropoézu a je nutné zahájit substituční léčbu.

Celková vazebná kapacita séra (transferrinu) pro železo (TIBC – total iron binding capacity): normálně váže transferrin 45–72 $\mu\text{mol/l}$ železa ve 100 ml séra (1 mg transferrinu váže 1,4 μg železa; konverze Fe v mg/l na $\mu\text{mol/l}$: násobit 18; 1 mg = 18 $\mu\text{mol/l}$). TIBC vyjadřuje stejné údaje jako saturace transferrinu, i když vyjádřeno v číselných hodnotách jsou údaje reciproční – tzn., že při poklesu saturace transferrinu vzrůstá TIBC.

TIBC závisí:

- na množství transferrinu;
- na množství plazmatického Fe (při sideropenii není kapacita nasycena).

TIBC je tedy zvýšena u sideropenické anémie, ale také v graviditě nebo při hemodiluci. Vzhledem k tomu, že TIBC vyjadřuje totéž co saturace transferrinu, se od vyšetření TIBC postupně upouští.

Cirkulující transferrinové receptory (cTfR): vyšetření cirkulujících transferrinových receptorů, které se postupně zavádí, je nejpřesnějším ukazatelem siderémie. Koncentrace cirkulujících transferrinových receptorů je přímo úměrná jejich počtu na povrchu buněk. Při sideropenii se se zvýšenou tvorbou transferrinu zvyšuje i počet receptorů, a to přibližně na trojnásobek. Význam stanovení cTfR je zejména ve fázi latentní sideropenie (vzestup cTfR, pokles saturace transferrinu, vzestup TIBC), není vhodný k monitorování substituční léčby Fe (fyziologické kompenzační zvýšení). Vyšší hodnoty jsou zjišťovány během vystupňované erytropoézy, tj. u hemolytických anémií, thalasémie, kdy jsou 5 až 10krát vyšší. Nízké hodnoty jsou naopak při útlumu červené krevní řady, korelace však není přesná. Stanovení cTfR bude moci nahradit ferrokinetické studie s ^{59}Fe , neboť koncentrace cirkulujících receptorů koreluje s kinetikou erytropoézy, tedy nepřímě s obratem železa.

Hepcidin: zatím se rutinně nevyšetřuje, pouze experimentálně. Chemicky polypeptid, funkčně hormon, má hlavní úlohu v regulaci homeostázy železa v organismu – ovlivňuje stupeň resorpce ze střeva, uvolnění železa ze zásob v hepatocytu a distribuci železa do tkání. Při jeho nedostatku hrozí přetížení organismu železem (vrožený deficit je příčinou hereditární hemochromatózy), při nadprodukcii se naopak objevuje nedostatek železa se sideropenickou anémií refrakterní na léčbu železem.

Tab. 4.15. Diferenciálnědiagnostické nálezy u mikrocytárních anémií různého původu

	Sideropenická anémie (IDA)	Anémie chronických chorob (ACD)	Sideroblastická anémie
MCV	< 80	< 80–90	< 80 nebo > 100
RDW	vysoká	normální	normální
ferritin	nízký	zvýšený	zvýšený
transferrin	zvýšený/normální	nízký/normální	normální
Fe ve dřeni	žádné	zvýšené (RES)	zvýšené (prstenčité sideroblasty)
tečkování erytrocytů	není	není	ano (hrubé)
Fe v plazmě	nízké	nízké	zvýšené
TIBC	zvýšená	nízká	normální
FEP	zvýšený	zvýšený	zvýšený

IDA – iron deficiency anemia; ACD – anemia of chronic diseases

Jeho produkce je zásadně ovlivňována hypoxií a anémií, je zvýšeně produkován při infekčních i neinfekčních zánětech (stimulován IL-6) a při chronických chorobách (chronická renální insuficience, systémové choroby pojiva...), je patofyziologickým podkladem anémie chronických chorob. Je produkován především hepatocyty, malé množství produkují makrofágy a další buňky. Cirkuluje v plazmě (koncentrace koreluje s hodnotou ferritinu) a je eliminován převážně ledvinami – po reabsorpci z glomerulárního filtrátu je degradován v proximálních tubulech nefronu.

Tab. 4.15. ukazuje hodnoty některých vyšetření u anémií spojených s mikrocytózou, umožňující jejich diferenciální diagnózu. Při hodnocení uvedených parametrů, zejména RDW, je nutné vyjít z patofyziologie vzniku mikrocytární anémie. U sideropenie je příčinou nedostatek železa, jehož koncentrace s příjmem potravy kolísá, proto jsou některé generace erytrocytů více, jiné méně ochuzené o železo s výslednou anizocytózou (vyšší RDW). U zbývajících dvou uvedených typů anémie jsou krvinky vystaveny »trvalé poruše« (např. u ACD je vlivem cytokinů porušena (re)utilizace železa pro erytropoézu), proto je hodnota RDW stabilní. U sideroblastické anémie v případě mikrocytózy platí stejná argumentace, i když mechanismus je odlišný.

■ Hemolytické anémie – vyšetřovací možnosti, algoritmus

Hemolýzu charakterizuje zkrácené přežívání erytrocytů. Pokud zvýšená destrukce erytrocytů není kompenzována dostatečně zvýšenou erytropoézou (kompenzační kapacita erytropoézy v kostní dřeni je 6–10násobná), dojde k manifestaci anémie.

Příčiny hemolýzy jsou různorodé, jednak vrozené a jednak získané. Vrozené hemolytické anémie mohou být pak způsobeny poruchou na úrovni membrány erytrocytu (u nás nejčastější dědičná

sférocytóza), deficitem enzymů (např. enzymů pentózového cyklu – deficit glukóza-6-fosfátdehydrogenázy – G-6-PD – nebo Embdenova-Meyerhofova cyklu – deficit pyruvátkinázy), nebo poruchou struktury hemoglobinu. Získané hemolytické anémie jsou povahy imunitní, nejčastěji autoimunitní hemolytická anémie (AIHA), nebo komplexní (např. syndrom MAHA – mikroangiopatické hemolytické anémie).

Etiologicky nejrozmanitější skupinu hemolytických anémií tvoří poruchy syntézy Hb (hemoglobinopatie). Hemolýzu mohou způsobit i fyzikální vlivy (termální), chemické sloučeniny (těžké kovy, fenyhydrazin, hypotonické roztoky), infekce (bakteriální toxiny, hemoliziny, paraziti), mechanické příčiny (mikroangiopatická hemolytická anémie při eklampsii, maligní hypertenzi, hemolyticko-uremickém syndromu, při umělých srdečních chlopních, trombotická trombocytopenická purpura – TTP), nebo jsou mechanismy vícečetné, ne zcela jasné (u jaterních a renálních onemocnění, infekcí apod.). Hemolýza je obvykle spojena s vyšším vyplavováním retikulocytů, pokud tomu tak není, je indikováno vyšetření kostní dřene. Možnosti laboratorních vyšetření jsou shrnuty v tab. 4.16.

Fyziologické poznámky

Životnost erytrocytu v periferní krvi je 120 dní. Erytrocyty zanikají **fyziologicky extravaskulárně**, v kostní dřeni, ve slezině, v játrech, jen malá část intravaskulárně. Při extravaskulárním zániku erytrocytů se hemoglobin (Hb) rozpadá v buňkách RES (obr. 4.4.), železo z hemu i aminokyseliny z globinu jsou reutilizovány, protoporfyrin se nakonec přemění v bilirubin (nekonjugovaný, nepřímý), který se uvolňuje do plazmy. Při **intravaskulární** hemolýze, prakticky vždy za patologických stavů, je do plazmy uvolňován volný Hb (hemoglobinémie), který je postupně vychytáván vazbou na haptoglobin (Hp) a Hp/Hb komplex je nakonec eliminován v hepatocyty. Přitom se Hp vyčerpává a dochází tak k pokle-

Tab. 4.16. Laboratorní vyšetření při diferenciální diagnostice hemolytických anémií

Testy k průkazu hemolýzy, zvýšené syntézy Hb a zvýšeného odpadu fragmentů hemoglobinu
Hb (↓)
Rtc (↑)
morfologie erytrocytů (sférocyty, schistocyty, drepanocyty...)
bilirubin, UBG v moči (↑)
volný Hb v plazmě (↑)
hemoglobinurie (↑)
haptoglobin (↓)
hemopexin (↓)
hemosiderin v močovém sedimentu (↑)
Testy ke zjištění osmotické rezistence, přežívání erytrocytů a lokalizaci zániku
*osmotická rezistence, glycerinový test (pink test) (↓)
⁵¹ Cr značené erytrocyty (přežívání, lokalizace zániku)
Testy ke zjištění deficitů enzymů (na specializovaných pracovištích)
G6PD test (↓)
pyruvátkinázový test (↓)
další enzymatické testy
Testy k průkazu autoprotilátek
přímý a nepřímý antiglobulinový test (PAT a NAT; Coombsův test)
krvní skupina (AB0, Rh)
průkaz volných autoprotilátek při 20 °C a 37 °C
průkaz volných chladových a tepelných autoprotilátek
určení třídy protilátek (IgG, IgM)
expoziční testy – inkubace erytrocytů s léčivem podezřelým z indukce (auto)hemolýzy
aktivita komplementu
Různé
PNH – chybění CD55 a CD59, dříve se užíval acidifikační Hamův test a Hartmannův test
testy na hemoglobinopatie thalasémie

PNH – paroxysmální noční hemoglobinurie; G6PD – glukóza-6-fosfátdehydrogenáza

* – testy, jejichž význam je dnes již jen okrajový a postupně se přestávají používat

su jeho koncentrací v plazmě. Podobnou funkci jako Hp má i hemopexin (Hx). Při vysycení haptoglobin-hemopexinového (Hp/Hx) systému je volný Hb oxidován na methemoglobin a následně se váže na albumin v methemalbuminovém komplexu. Po vyčerpání kapacity albuminu se volný Hb dostává do ledvin, kde je z něho zhruba jedna třetina reabsorbována renálními tubuly a obě složky (porfyrin a globin) jsou katabolizovány. Část železa se tak kapilárami vrací zpět do krve, část zůstává ve formě

hemosiderinu v buňkách renálních tubulů a s jejich deskvamací se hemosiderin objevuje v moči. Průkaz buněk barvitelných na železo (hemosiderinurie) v močovém sedimentu svědčí pro chronickou intravaskulární hemolýzu (např. při paroxysmální noční hemoglobinurii). Při tom může dojít ke ztrátě až 15 mg železa do moči. Volný Hb se objevuje v moči (hemoglobinurie), pokud jeho plazmatická koncentrace převyší 300 mg/l plazmy. Cytoplazma erytrocytu je velmi bohatá na izoenzym LD 1, proto při intravaskulárním rozpadu erytrocytů je koncentrace LD v plazmě vysoká. Intravaskulární hemolýzu provází charakteristický laboratorní nález (tab. 4.17.).

■ Přímý antiglobulinový test

Přímý antiglobulinový test (PAT, přímý Coombsův test) slouží k průkazu autoprotilátek (IgG) navázaných na povrch erytrocytu. Sérum proti lidskému globulinu (SAG) nebo anti-C3, přidané do suspenze testovaných krvinek, způsobí aglutinaci erytrocytů senzibilizovaných autoprotilátkou navázanou na jejich povrchu.

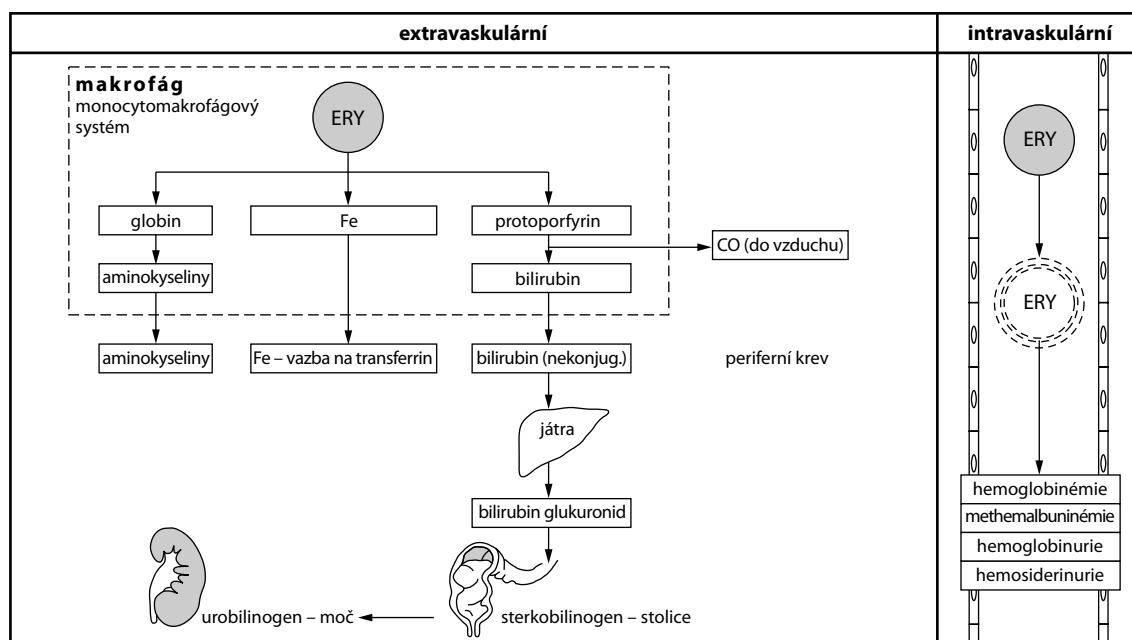
■ Nepřímý antiglobulinový test

Nepřímý antiglobulinový test (NAT, nepřímý Coombsův test) slouží k průkazu volně cirkulujících (na krvinky nenavázaných) autoprotilátek (IgG) v séru nemocného. Kompatibilní krvinky zdravého jedince jsou inkubovány se sérem nemocného a volné protilátky se tak navážou na povrch těchto erytrocytů. Po přidání séra proti globulinům (SAG) nebo anti-C3 do vzorku dojde k aglutinaci – k průkazu volných autoprotilátek. Průkaz volných protilátek svědčí pro závažnější stav s již déle trvající autoimunitní hemolýzou s větším množstvím autoprotilátek.

■ Haptoglobiny

Haptoglobiny jsou α-globuliny, mukoproteiny syntetizované v játrech, s denní obměnou 50 % jejich množství. Volný Hb (tetramer) se v plazmě rozštěpí ve dva dimery a ty tvoří s haptoglobinem komplex. Řadí se mezi bílkoviny akutní fáze. Jsou známy tři základní genotypy (Hp 1-1, Hp 2-1 a Hp 2-2), jež jsou výsledkem polymorfismu haptoglobinového genu. Jejich frekvence je u různých ras odlišná.

U kojenců a dětí jsou plazmatické koncentrace velmi nízké, u některých zdravých lidí jsou dokonce nedetekovatelné. Normální hodnoty jsou interindi-



Obr. 4.4. Extravaskulární a intravaskulární hemolýza (viz text)

Tab. 4.17. Laboratorní charakteristika intravaskulární a extravaskulární hemolýzy

Laboratorní nález	Hemolýza	
	intravaskulární	extravaskulární
volný hemoglobin v plazmě	ano	ne
haptoglobin	výrazně snížený / nulový	normální / hraniční
hemoglobinurie	ano	ne
hemosiderinurie	ano	ne
LD v plazmě	zvýšené	normální
ikterus	ano	ano
retikulocytóza	ano	ano
nepřímý bilirubin	zvýšený	zvýšený

viduálně velmi variabilní (0,3–1,9 g/l), u jednotlivce však jsou koncentrace konstantní (dané geneticky), mírně vyšší u zdravých mužů než u žen. Produkce je snížena vlivem kortikosteroidů, snížené koncentrace haptoglobinu jsou zjišťovány při intravaskulární hemolýze, nulové koncentrace (haptoglobin je plně saturován a vychytán v RES) jsou při masivní hemolýze (když např. přežívání erytrocytů je kratší než 16 dní), při inkompatibilní transfuzi. Snížené koncentrace jsou dále u infekcí (meningokoky, tyfus, malárie), u akutní pankreatitidy (pankreatické enzymy uvolní Hb z haptoglobinu s nálezem jak volného hemoglobinu v plazmě, tak volného, nesaturovaného haptoglobinu). Zvýšení koncentrace haptoglobinu provází nádorová a zánětlivá onemocnění včetně autoimunitních chorob, traumata a chirurgické výkony.

■ ADAMTS13

V souvislosti s intravaskulární hemolýzou a nálezem schistocytů v periferní krvi při mikroangiopatické hemolytické anémii (MAHA) je vhodné připomenout diagnostický význam stanovení ADAMTS13 (a disintegrin and metalloprotease with thrombospondin type 1 repeats). MAHA je syndrom charakterizovaný hemolýzou s fragmentací erytrocytů (schistocyty), trombocytopenií, tvorbou mikrotrombů, horečkou, neurologickými projevy a poškozením ledvin. Do syndromu MAHA se řadí různé klinické podjednotky, nazvané podle převládajícího klinického projevu (HUS – hemolyticko-uremický syndrom; TTP – trombotická trombocytopenická purpura, HELLP – syndrom hemolýzy, zvýšených jaterních enzymů a nízkého počtu destiček) a další. Diagnostické využití ADAMTS13 je především u TTP, kde je hodnota významně snižena, u většiny nemocných s HUS je však koncentrace ADAMTS13 v normě. Nízké plazmatické hodnoty ADAMTS13 se však objevují také za jiných stavů fyziologických (věk nad 65 let, 2. a 3. trimester gravidity) i patologických (cirhóza, urémie, pooperační stavy ad.).

ADAMTS13 je metalloproteáza, jejíž specifickou úlohou v organismu je štěpit von Willebrandův faktor (vWF) a tak bránit vzniku multimerů vWF, a tím i vzniku destičkových agregátů. Při získané formě deficitu ADAMTS13 se u dospělých s TTP vytvářejí – z dosud nejasných důvodů – autoproti-látky proti ADAMTS13, které tak blokují jeho lytickou funkci a vznikají ultravelké multimery vWF s projevy klinicky manifestní TTP. Při rozvinuté TTP je aktivita metalloproteázy významně snižena,

avšak koncentrace ADAMTS13 antigenů jsou kolísavé – od normálních po zvýšené. Prognostický význam stanovení koncentrace ADAMTS13 antigenů spočívá ve zjištění, že nízké koncentrace v akutní fázi onemocnění jsou spojené s vyšší mortalitou, a naopak u nemocných, kteří dosáhli klinického zlepšení v této fázi, významně stoupala i koncentrace ADAMTS13 antigenů. Vedle této získané (sporadické) formy TTP je i forma vrozená, kdy dochází k heterozygotní nebo homozygotní mutaci genu ADAMTS13.

■ Testy, které se při podezření na hemolytickou anémii rutinně nevyšetřují

Níže uvádíme některé z testů, jež pro diagnostiku hemolytické anémie postupně ztrácejí (ztratily) význam (osmotická rezistence, test autohemolýzy). Buď je možné je nahradit moderními diagnostickými postupy, nebo by přinesly stejnou informaci jako jiné vyšetření (haptoglobin – hemopexin), anebo jsou nahrazeny jinými metodami (erytrokinetika; nově: cirkulující transferrinové receptory – cTfR).

Hemopexin

Hemopexin se rutinně nevyšetřuje, má prakticky stejný význam jako haptoglobin. Je to β -globulin, jednořetězcový polypeptid o molekulové hmotnosti 70 000, syntetizovaný v játrech, s denní obměnou 50 %, stejně jako haptoglobin. Nejde o bílkovinu akutní fáze, proto má jeho koncentrace v diagnostice hemolýzy vyšší výpovědní hodnotu než koncentrace haptoglobinu. S velkou afinitou se váže na volný hem v plazmě (jakéhokoli původu) a vzniklý komplex je pak metabolizován v hepatocytu. Podobně jako u haptoglobinu jsou jeho koncentrace v plazmě nízké u novorozenců a malých dětí, po prvním roce života dosahují normálních hodnot mezi 500–1000 $\mu\text{g/ml}$ plazmy. Snížené (až nulové) koncentrace jsou zjišťovány při masivní hemolýze (thalasémie) a po kardiokirurgických operacích (při průvodní mechanické hemolýze nízké hodnoty hemopexinu inverzně korelují s vysokou hodnotou hemosiderinu v moči a vysokým počtem mechanicky poškozených erytrocytů – schistocytů – v nátěru periferní krve). Vysoké plazmatické koncentrace hemopexinu nacházíme u diabetes mellitus, karcinomů, infekcí a revmatoidní artritidy.

Osmotická rezistence erytrocytů

Osmotická rezistence erytrocytů se rutinně nevyšetřuje. Jde o nespecifický test vyšetření kvality erytrocytární membrány, sodíkové pumpy a schopnosti krvinky tvořit ATP. Snížení osmotické rezistence (odolnosti) provází dědičnou sférocytózou, autoimu-

nitní hemolýzy, mechanicky a fyzikálně poškozené erytrocyty.

V hypotonickém roztoku krvinky zvětší svůj objem až o 70 % a potom lyzují. Při vyšetřování osmotické odolnosti jsou vzorky erytrocytů postupně vystaveny roztoku NaCl se zvyšující se hypotonii (0,55–0,30 % NaCl) a v každé porci je zjišťováno procento hemolyzujících krvinek. Normální hodnoty jsou uvedeny v tab. 4.20., hemolýza zdravých krvinek začíná při koncentraci kolem 0,45 % (0,42 až 0,46) a k rozpadu všech krvinek dochází při koncentraci 0,3 % (0,28–0,32).

Test autohemolýzy

Test autohemolýzy se používá v diagnostice dědičné sférocytózy, kdy po inkubaci po dobu 24 nebo 48 hodin při teplotě 37 °C dojde k autohemolýze u 10–50 % sférocytů (jen u 4 % zdravých erytrocytů). Po přidání glukózy do jedné ze dvou testovacích zkumavek je hemolýza s glukózou (energetický substrát pro ATP) zpomalena, vidíme patrný sediment erytrocytů na dně první zkumavky proti homogennímu červenému zbarvení úplné hemolýzy ve druhé zkumavce bez glukózy. Podstata rozdílu spočívá v energetickém zajištění Na^+ pumpy ve vzorku po přidání glukózy.

Erytrokinetika – erytrocyty značené ^{51}Cr (přežívání erytrocytů a lokalizace zániku)

Izotop ^{51}Cr označí všechny generace červených krvinek (naváže se na více než 90 % erytrocytů). Nultý vzorek periferní krve (výchozí 100 % aktivita izotopu) odebíráme za 24 hodin a pak 3krát týdně po dobu čtyř týdnů. Čas, za který poklesne radioaktivita na 50 %, se označuje jako poločas přežívání erytrocytů. Normální hodnoty se pohybují mezi 23 až 32 dny. Zevním měřením nad orgány (játra, slezina, prekordium) se detekuje pokles radioaktivity. Orgán s maximální koncentrací radioaktivní látky je místem nejvyššího zániku erytrocytů. Využití je zejména u autoimunitních anémií a dědičné sférocytózy.

■ Zvýšený počet erytrocytů

Sekundární polycytémie vzniká následkem snížení parciálního tlaku kyslíku (pO_2). Je obvykle spojena s onemocněním plic a srdce, se sníženou saturací Hb kyslíkem (pod 90 %). Koncentrace erytropoetinu bývá kompenzatorně zvýšená, nedochází ke zvyšování počtu leukocytů a trombocytů. Podobné nálezy mohou provázet i některá renální a maligní onemocnění.

Primární polycytémie (polycythaemia vera, PV) je klonální onemocnění krvetvorby vznikající následkem mutace hematopoetické kmenové buňky. PV charakterizuje normální pO_2 , normální kyslíko-

vá saturace Hb, koncentrace endogenního erythropoietinu bývá snižena. Zjišťujeme kromě vysokých hodnot červeného krevního obrazu a zvýšeného indexu alkalické fosfatázy v neutrofilech (LAP) zejména absolutní zvýšení celkové erytrocytární masy (muži: > 36 ml/kg, ženy: > 32 ml/kg). Diagnózu podporuje vedle splenomegalie současná leukocytóza, trombocytémie, nález vyšší koncentrace vitamínu B₁₂, koncentrace kyseliny močové v séru. Mezi speciální vyšetření patří proliferace erytroidních prekurzorů *in vitro* i v nepřítomnosti erythropoietinu v médiu. Moderní metodou je stanovení JAK-2 mutace, která je u PV až v 99 % (viz níže).

4.5.2. Bílá krevní řada

Mezi buňky bílé krevní řady (viz tab. 4.2.) řadíme buňky řady myeloidní (granulocyty, monocyty) a lymfatické (lymfocyty, plazmatické buňky).

Funkce neutrofilních leukocytů jako fagocytujících elementů spočívá v zajištění první obranné linie proti infekci; podobnou úlohu mají monocyty a makrofágy. K plnění fagocytárních funkcí je nutný jak dostatečný počet granulocytů, tak i jejich kvalitativní vybavení. Hraniční hodnoty absolutního počtu granulocytů k zajištění obrany jsou ještě kolem $1,0 \cdot 10^9/l$, při počtu pod $0,5 \cdot 10^9/l$ je fagocytární aktivita již významně oslabena a nemocný je ohrožen bakteriálními a mykotickými infekcemi. V souvislosti s tím je nutné zmínit pojem febrilní neutropenie, která je charakterizována počtem neutrofilních granulocytů pod $0,5 \cdot 10^9/l$ a horečkou nad 38 °C naměřenou dvakrát v intervalu 12 hodin.

Funkční zdatnost granulocytů znamená schopnost chemotaxe, degranulace azurofilních a specifických granul do fagosomu (vakuoly s fagocytovanou infekční partikulí) a správné enzymatické vybavení (lysozym) těchto granul, které spolu s oxidativním mechanismem (oxidativní burst – respirační výbuch) – tvorbou kyslíkových radikálů – zajišťují vlastní baktericidii.

Enzymatické vybavení leukocytů se dříve hojně využívalo v diagnostice podtypů akutních leukémií. Cytochemická diagnostika (viz výše) je dnes vytlačována jinými metodami, zejména imunofenotypizací. Vzhledem k tomu, že některé laboratoře mohou cytochemická vyšetření stále provádět, uvádíme přehled nejvýznamnějších z nich (viz tab. 4.22.).

Celkový počet neutrofilů podléhá fyziologickým změnám během dne, ke zvýšení dochází např. při námaze, při emočním vypětí, při změnách teploty, během trávení, v graviditě, ale také při křečích, po anestezii, po chirurgickém výkonu. Z těchto důvodů odebíráme krev na vyšetření KO vždy za standardních podmínek, tj. ráno nalačno a v klidu.

■ Leukocytóza

Leukocytóza znamená zvýšení počtu (obvykle) neutrofilů (neutrofilie). Je způsobena zvýšenou produkcí neutrofilních leukocytů, urychlením jejich výstupu z kostní dřeně do periferní krve, přesunem marginálního poolu do cirkulace, sníženým odsunem leukocytů z krve do tkání či různými kombinacemi těchto mechanismů.

Leukocytóza, zpravidla spojená s posunem doleva (vzestup tyčí – poměr neutrofilních tyčí k neutrofilním segmentům má být 1 : 16, vyšší počet neutrofilních tyčí značí posun doleva), je nejčastěji (ve více než dvou třetinách případů) průvodním jevem infekcí bakteriálních a fungálních. Zpočátku infekce se obvykle objeví zvýšení absolutního počtu granulocytů, bez současné celkové leukocytózy, což je dáno mobilizací marginálního poolu granulocytů jako odpověď na vyplavení mediátorů zánětu a katecholaminů. Později dochází k leukocytóze z akcelerované novotvorby granulocytů. Většina bakteriálních infekcí s krátkodobým trváním dosáhne celkových hodnot leukocytů mezi $12\text{--}15 \cdot 10^9/l$, avšak těžší a déle trvající systémové infekce často provází leukocytóza dosahující $15\text{--}30 \cdot 10^9/l$. Pokud se v periferním KO objevují ještě mladší formy granulocytů (myelocyty, metamyelocyty) a celkový počet leukocytů je významně vyšší, pak může jít o leukemoidní reakci (viz níže), event. vzniká naléhavé podezření na myeloproliferativní onemocnění – neoplázii (chronická myeloidní leukémie, Ph-negativní myeloproliferativní neoplázie – viz níže). Vyplavení nejmladších forem granulocytů (promyelocytů, myeloblastů) do periferní krve jako reakce na infekční zánětlivý proces je vzácné, není však vyloučené, častěji ale charakterizuje počínající akutní hemoblastózu, resp. akceleraci nebo blastický zvrát chronické myeloidní leukémie.

Na zvýšení počtu leukocytů se dále podílejí i neinfekční zánětlivé procesy (revmatoidní artritida), různé léky (kortikosteroidy), toxiny (endotoxin). Při trvalé a dlouhodobé stimulaci bílé krevetvorby je až trojnásobně zvýšena tvorba bílých krvinek a po počátečním zmnožení mitotického poolu krvinek (promyelocyty, myelocyty) dochází vzápětí k vyplavování postmitotické frakce granulocytů. V tomto případě, kdy je počet bílých krvinek zvýšen dlouhodobě, hovoříme o chronické leukocytóze (neutrofilii).

■ Leukemoidní reakce

Při leukocytóze je nutné odlišit leukemoidní reakci od počínající hemoblastózy. Jde o extrémní leukocytózu v periferní krvi, která je reaktivní. Leuke-

moidní reakce je podle některých zdrojů definována jako vzestup granulocytů na více než $50 \cdot 10^9/l$ (extrémně až $150\text{--}200 \cdot 10^9/l$ např. u diseminované TBC) bez přítomnosti, nebo s přítomností nezralých forem (myelocyty, metamyelocyty), avšak s negativními nálezy vyšetření na akutní leukémii.

■ Leukopenie

Leukopenie (většinou je myšlena granulocytopenie) je definována snížením celkového počtu leukocytů pod $1,5 \cdot 10^9/l$. Pojem agranulocytóza se používá při poklesu granulocytů pod $0,5 \cdot 10^9/l$. K leukopenii (neutropenii, granulocytopenii) dochází při nedostatečné produkci leukocytů v kostní dřeni z různých příčin – často při chronickém vyčerpání a při nutričním deficitu, při zvýšené utilizaci granulocytů, při odsunu granulocytů z cirkulace do marginálního poolu, při infiltraci dřeně maligními buňkami, při fibróze dřeně a po chemoterapii či radioterapii. K neutropenii dochází také při různých infekcích, a to jak bakteriálních (salmonelóza, tularémie, tuberkulóza, tyfus), tak virových (spalničky, zarděnky, varicela, chřipka, virová hepatitida, parvovirus B19, HIV) a protozoárních (malárie). Také velké množství léků může způsobit idiosynkratickou neutropenii.

Při abnormalitách počtu bílých krvinek, a zejména na diferenciálního rozpočtu, které nelze vysvětlit »standardními« příčinami, jako jsou infekce nebo zánět, je indikováno podrobné hematologické vyšetření, které zahrnuje odběr kostní dřeně s celou paletou speciálních vyšetření (imunofenotypizace, cytogenetika, resp. molekulární biologie atd.) k vyloučení hemoblastózy, resp. myelodysplastického syndromu.

Kromě kvantitativních změn bílé krevní řady dochází i ke kvalitativním poruchám, které lze diagnostikovat převážně funkčním vyšetřením a expresí, resp. chyběním exprese některých diferenciálních znaků (CD). Např. porucha adheze neutrofilů je spojena se změnami exprese CD11b u stimulovaných a nestimulovaných leukocytů a poruchou dalších imunologických parametrů (fagocytóza zprostředkovaná C3bi a další) včetně disproporce mezi významnou leukocytózou (až $100 \cdot 10^9/l$) a minimální infiltrací leukocyty v histologickém vzorku zářetlivé nebo infikované tkáně.

■ Pancytopenie

Pancytopenie znamená pokles všech krevních elementů v periferní krvi pod fyziologické hodnoty.

4.6. Algoritmus vyšetření u vybraných hematologických malignit

Maligní krevní onemocnění a algoritmus diagnostického postupu patří do rukou hematologa na specializovaném pracovišti již od prvního zachytu. V praxi se však významné procento hematologických malignit zachytí »v terénu«, odkud jsou pak nemocní posíláni do hematologických center. Aby nedošlo k neadekvátnímu zpoždění v diagnostickém procesu, a naopak aby nebyli do center posíláni nemocní, kterým nebylo provedeno ani screeningové vyšetření (KO, FW, rtg S + P a další) a u nichž je zhoubné krevní onemocnění jen málo pravděpodobné, uvádíme vybrané nejčastější hematologické malignity s jejich základní charakteristikou a používané diagnostické algoritmy.

4.6.1. Lymfoproliferace

Vyšetření orientujeme prvotně na stanovení vlastní histologické diagnózy a dále na určení rozsahu onemocnění, tj. stanovení klinického stadia choroby. Součástí prvního vyšetření je také posouzení celkového stavu nemocného (performance status), stavu orgánů, event. výskyt komorbidit a zhodnocení prognostických ukazatelů, které jsou u většiny malignit definovány a které s ostatními výsledky nakonec ovlivní rozhodování o léčebném postupu (agresivita chemoterapie, event. transplantace kmenových buněk krvetvorby).

■ Diagnostický algoritmus u maligních lymfomů

Maligní lymfomy jsou maligní lymfoproliferativní onemocnění, mezi která se řadí ne Hodgkinovy lymfomy (NHL) vycházející převážně z B- (B-NHL) a méně často z T-lymfocytů (T-NHL), a dále Hodgkinův lymfom. NHL jsou velmi heterogenní skupinou onemocnění, kterou lze zhruba rozdělit na dvě, a to na NHL s vysokým stupněm malignity (high grade), které mají dynamický klinický průběh a vyžadují agresivní terapii, a na skupinu nízké malignity (indolentních, low grade) lymfomů, které probíhají pomalu a nemocní mohou být dlouhodobě pouze sledováni bez nutnosti okamžitého terapeutického zásahu. Tab. 4.9. uvádí příklady diferenciálnědiagnostických nálezů u maligních lymfoproliferací. Mezi T-buněčné lymfoproliferace patří několik klinicky odlišných nozologických jednotek, od kožních forem po systémové, diagnostický postup je principiálně identický.

Tab. 4.18. Stanovení klinického stadia (KS) podle Ann Arbor klasifikace

KS	Rozsah postižení
I	postižení jedné oblasti lymfatických uzlin nebo jednoho extralymfatického orgánu (IE)
II	postižení dvou nebo více skupin lymfatických uzlin na téže straně bránice nebo lokalizované postižení jednoho extralymfatického orgánu (IIE) včetně postižení jedné nebo více skupin lymfatických uzlin na téže straně bránice
III	postižení lymfatických uzlin nebo orgánů na obou stranách bránice, které může být provázeno lokalizovaným postižením jednoho extralymfatického orgánu nebo tkáně (IIIE) nebo sleziny (IIIS) nebo obojího (IIISE)
IV	difuzní nebo diseminované postižení jednoho nebo více extralymfatických orgánů nebo tkání se současným postižením lymfatických uzlin nebo bez něj

1. Základem je vždy **anamnéza**, zejména rodinná anamnéza (RA – výskyt malignit, event. imunodeficiencie v rodině) a osobní anamnéza (OA – infekce v dětství, virózy, infekční mononukleóza atd.). Nynější onemocnění – přítomnost systémových příznaků (A: bez příznaků, B: přítomnost alespoň jednoho z příznaků – horečka neinfekčního původu vyšší než 38 °C, intenzivní noční poty, váhový úbytek větší než 10 % tělesné hmotnosti za posledních 6 měsíců).
2. Při **fyzikálním vyšetření** zjišťujeme zejména hmotnost, výšku, tělesný povrch; lokalizaci a velikost uzlin (cm), (event. ORL vyšetření při postižení Waldeyerova okruhu); organomegalii (játra, slezina, extranodální nádory), stav tělesné aktivity (performance status – WHO, ECOG).
3. Určení **histologického typu** lymfomu – odběr tkáně (uzliny, biopsie žaludeční sliznice, tonzily...) k histologickému vyšetření. Pokud je adenomegalie pouze v abdominální oblasti, je nutné provést i probatorní laparotomii. Jestliže lékař váhá, zda operovat, pozdním stanovením diagnó-

zy často již generalizovaného onemocnění se zhoršují vyhlídky na vyléčení! Z odebraných vzorků provádíme imunohistochemické, imunofenotypizační, molekulárněbiologické a další vyšetření, která jednak pomohou určit buněčný původ lymfoproliferace (B- nebo T-lymfocyt) a jednak stanovit prognostické markery.

4. Určení **rozsahu onemocnění** maligního lymfomu – jde o stanovení klinického stadia (KS), užívá se Ann Arbor klasifikace (tab. 4.18.). Vedle fyzikálního nálezu používáme zobrazovací techniky, standardně US, ale především CT vyšetření a u vybraných diagnóz již vstupně PET/CT (velkobuněčný difuzní NHL, Hodgkinův lymfom...).
5. Zhodnocení **prognostických kritérií** – jako příklad uvedeme určení IPI (International Prognostic Index) u difuzního velkobuněčného B-lymfomu (DLBCL) (tab. 4.19.), podobné existují pro folikulární i další lymfomy. Příklad hodnocení časných stadií Hodgkinova lymfomu přináší tab. 4.20. V ČR je u Hodgkinova lymfomu preferován postup německé GHSG. Prognostický význam mají genetické změny jak u B-, tak i T-lymfoproliferací. Jejich výčet přesahuje rámec této kapitoly, za zmínku však stojí prognostický význam vyšetření přítomnosti fúzního genu *NPM-ALK* (nucleophosmin-anaplastic lymphoma kinase) u anaplastického velkobuněčného T-lymfomu (ALCL), který vzniká translokací t(2;5)(p23;q35) a je přítomen u 60–85 % nemocných. Tato jednotka je považována z hlediska onkogeneze za samostatnou entitu, ALK pozitivní ALCL (ALK⁺ ALCL) má zásadně pozitivní prognózu, na rozdíl od velmi nepříznivého průběhu u nemocných s ALK negativní ALCL (ALK⁻ ALCL).

Laboratorní, zobrazovací a pomocná vyšetření:

- **Rutiní:** sonografie – nitrobřišní orgány (játra, slezina, event. ledviny, pankreas) – postižené oblasti (krční, axilární), rtg srdce a plic, CT (hrud-

Tab. 4.19. Difuzní velkobuněčný B-lymfom (DLBCL). Určení rizika podle IPI (Mezinárodní prognostický index) nebo aalPI (věkově upravený Mezinárodní prognostický index)

	IPI Mezinárodní prognostický index	aalPI Mezinárodní prognostický index věkově upravený (pod 60 let)
	věk nad 60 let	-
	Ann Arbor stadium III/IV	Ann Arbor stadium III/IV
	extranodální postižení dvou a více oblastí	-
	zvýšená koncentrace LD	zvýšená koncentrace LD
	špatný celkový stav (ECOG ≥ 2)	špatný celkový stav (ECOG ≥ 2)
Riziko	IPI skóre	aalPI skóre
nízké	0–1	0
nižší střední	2	1
vyšší střední	3	2
vysoké	4–5	

Tab. 4.20. Přehled příznivých a nepříznivých rizikových faktorů časných stadií Hodgkinova lymfomu

	EORTC	GHSg	NCIC/ECOG	NCCN 2010
rizikové faktory	a) velká mediastinální masa (> 1/3 příčného rozměru na rtg hrudníku) b) věk > 50 let c) FW ≥ 50/h bez B-příznaků nebo FW ≥ 30/h s B-příznaky d) postižení ≥ čtyř uzlinových lokalit	a) velká mediastinální masa b) extranodální postižení c) FW ≥ 50/h bez B-příznaků nebo FW ≥ 30/h s B-příznaky d) postižení ≥ tří uzlinových lokalit	a) histologie jiná než LP/NS b) věk > 40 let c) FW ≥ 50/h d) postižení ≥ čtyř uzlinových lokalit	a) velká mediastinální masa (> 1/3 příčného rozměru na rtg hrudníku nebo > 10 cm b) FW ≥ 50/h nebo B-symptomy c) postižení ≥ tří uzlinových lokalit d) > jedno extranodální postižení
příznivé	KS I–II (nad bránicí) bez rizikových faktorů	KS I–II bez rizikových faktorů	KS I–II bez rizikových faktorů	KS I–II bez rizikových faktorů
nepříznivé	KS I–II (nad bránicí) s ≥ jedním rizikovým faktorem	KS I–II A s ≥ jedním rizikovým faktorem KS II B + c) nebo + d), ale bez a) a b)	KS I–II s ≥ jedním rizikovým faktorem	KS I–II s ≥ jedním rizikovým faktorem (rozlišuje bulky od ostatních rizikových faktorů)

EORTC – European Organization for Research and Treatment of Cancer; GHSg – German Hodgkin Study Group; NCIC/ECOG – National Cancer Institute of Canada/Eastern Cooperative Oncology Group; NCCN – National Comprehensive Cancer Network; KS – klinické stadium; LP – lymfocytární predominance; NS – nodulární skleróza

ník, břicho, malá pánev), dnes již výjimečně přímá bipedální lymfografie (v případě negativního, event. nejasného nálezu uzlin na CT, tj. menších než 1,5 cm, spíše však NMR a PET); invazivní vyšetření: trepanobiopsie z pánevní kosti (oboustranná u ne Hodgkinských lymfomů, jednostranná u Hodgkinova lymfomu).

Laboratorní vyšetření: sedimentace, krevní obraz + diferenciální rozpočet (+ absolutní počet lymfocytů), trombocyty, MCV, INR, APTT; bilirubin, ALT, AST, ALP, GTT, LD, β_2 -mikroglobulin, glykémie, urea, kreatinin, kyselina močová, Na^+ , K^+ , Cl^- , Ca^{2+} , P; elektroforéza bílkovin (celková bílkovina, albumin); sérologie: HIV, anti-HCV, HBsAg, EBV, CMV, HSV; hormonální: fT₄, TSH; spermioqram (k event. kryoprezervaci spermatu u mladých mužů).

- **Speciální vyšetření:** imunofenotypizace (FACS) kostní dřeně (odběr z trepanobiopsie), imunohistochemie histologického vzorku, cytogenetické vyšetření, resp. molekulárněbiologické vyšetření (klonalita, bcl-2, cyklin D1, ALK...), kardiologické vyšetření: EKG, echokardiografie (EF, EDV, ESV), spirometrie (VC, FEV, FRC).
- **Při zvláštní indikaci:** invazivní: biopsie jater (jen při susp. infiltraci jater), laparotomie ± splenektomie (speciální diagnostické indikace), lumbální punkce + vyšetření likvoru (neurologické příznaky, event. při postižení testes, vybrané podtypy lymfomů), endoskopie GIT + biopsie (při postižení ORL oblasti), zobrazovací: FDG-PET (¹⁸F – fluorodeoxyglukóza – PET) při vstupní diagnostice, a zejména při kontrole účinku terapie (dnes již standardně kombinované vyšetření CT-PET), MR cíleně na orgán či oblast (páteřní kanál, postižení CNS, kostní dřeně atd.), scintigrafie skeletu (aligický syndrom, susp. nález na rtg).

■ Diagnostický algoritmus u chronické lymfatické leukémie

Chronická lymfatická leukémie typu B (CLL) je zhoubné lymfoproliferační onemocnění nízkého stupně malignity, charakterizované akumulací (tedy ne rychlou proliferací) monoklonálních, morfologicky zralých, ale imunologicky málo zralých až afunkčních B-lymfocytů, z nichž většina je v klidovém stadiu (G0). K nakupení lymfocytů dochází v kostní dřeni, v periferní krvi a v lymfatických orgánech (lymfatické uzliny, slezina, játra) v důsledku dlouhého přežívání maligních lymfocytů a postupně jsou v těchto orgánech dominující celulární složkou. Onemocnění je standardními postupy nevyléčitelné, charakteristickým znakem je postupná progresse s infekčními komplikacemi jako projevem imunitního deficitu.

Algoritmus vyšetření CLL zahrnuje několik kroků: 1. stanovení diagnózy, 2. stanovení klinického stadia, 3. určení prognostických faktorů, 4. rozhodnutí o léčebném režimu.

1. Stanovení diagnózy – kritéria (tab. 4.21.)

2. Stanovení klinického stadia (tab. 4.22.)

V současné době stále platí klasifikační schéma podle Raie, některá pracoviště užívají klasifikační systém podle Bineta. Je dobré si uvědomit, že v případě hodnocení splenomegalie nebo hepatomegalie se využívá klinické, a nikoli zobrazovací vyšetření.

3. Určení prognostických faktorů

Z »klasických« prognostických faktorů bylo nejvýznamnější klinické stadium (viz tab. 4.22.). Avšak vysoká heterogenita klinické manifestace téhož klinického stadia vedla k nutnosti najít taková kritéria, která by nemocného s CLL jasně prognosticky definovala. Proto je obligatorní sou-

Tab. 4.21. Diagnostická kritéria chronické lymfatické leukémie (CLL)

klonální zmnožení abnormálních B-lymfocytů v periferní krvi
nejméně $5 \cdot 10^9/l$ B-lymfocytů
< 55 % atypických / nezralých lymfoidních buněk
nízká densita povrchových imunoglobulinů (IgM nebo IgD) s kappa nebo lambda řetězcí
povrchové antigeny B-lymfocytů (CD19, CD20, CD 23)
pozitivita povrchového antigenu CD5

částí základního diagnostického postupu také vyšetření prognostických faktorů. Tato vyšetření jsou jednak rutinní (KO, biochemie...) a jednak speciální (molekulárněbiologická, cytogenetická).

a) Rutinní vyšetření ke stanovení celkové nádorové masy a aktivity onemocnění

Z dřívějších »klasických« negativních nezávislých prognostických faktorů stojí i dnes – vedle klinického stadia – za zdůraznění vysoký absolutní počet lymfocytů, zdvojnásobí čas kratší než 12 měsíců (dvojnásobný vzestup počtu lymfocytů v uvedeném časovém období), difuzní (versus nodulární) charakter infiltrace kostní dřeně v trepanobiopsii. Dalším negativním prognostickým faktorem je vyšší hodnota β_2 -mikroglobulinu (B_2M), koncentrace v plazmě korelují s klinickým stadiem nemoci a mají dokonce vyšší prediktivní sílu než klinické stadium, hodnoty nad 3,0–3,5 jsou spojeny s kratším přežitím (vyšší B_2M provází i poruchu renálních tubulů – je nutné odlišit!). Laktátdehydrogenáza (LD) je hodnocena jako kritérium vyššího buněčného obratu při progresi choroby (odlišit vzestup LD jako známky možné průvodní hemolýzy při sekundární AIHA).

Sérová thymidinkináza (s-TK) je celulární enzym, který se uplatňuje při syntéze DNA, a jeho koncentrace proto koreluje s proliferační aktivitou lymfocytů CLL. Stanovení má prognostický význam zejména v počátečních stádiích CLL, kdy hodnoty nad 7,0 U/l predikují progresi choroby.

b) S využitím molekulárněbiologických, cytogenetických a imunofenotypizačních metod byly stanoveny další faktory, souhrnně uvedené v tab. 4.23. a 4.24., které prokázaly statisticky významnou nezávislou prognostickou sílu. Dnes jsou **cytogenetické faktory považovány za prognosticky nejvýznamnější**, zejména delece 11q (incidence přibližně 20 % CLL) a delece 17p. V oblasti 11q jsou regiony (11q22.3–q23), v nichž se nachází (kromě jiných) gen ATM (ataxia teleangiectasia mutated), jeden z hlavních tumorsupresorových genů, jehož inaktivací se ztrácí kontrola buněčného dělení. Delece 11q se objevuje zejména u mladších mužů a je spojena s generalizovanou masivní adenomegalií a nepříznivým průběhem s rychlou progresí. **Delece 17p** (incidence přibližně 8 % CLL) souvisí se ztrátou funkce genu p53, který se v této oblasti nachází, i když mutace a dysfunkce genu p53 je častější (až 23 %) než vlastní ztráta genetického materiálu při deleci 17p13. **Gen p53** je další z hlavních tumorsupresorových genů s klíčovou pozicí v indukci apoptózy, kterou zahajuje jako reakci na poškození struktury DNA (tím umožňuje protinádorový efekt purinových analog a dalších léčiv na leukemické buňky CLL). Ztráta funkce vede k rychlé progresi CLL, event. k transformaci do jiné, agresivnější formy lymfoproliferace. Delece 17p nebo dys-

Tab. 4.22. Určení klinického stadia chronické lymfatické leukémie (CLL)

Klinické stadium – podle Raie	Charakteristika	Medián přežití (měsíce)*	Léčebné opatření
0	lymfocytóza $> 1,5 \cdot 10^9/l$	150	žádné
I	lymfocytóza + lymfadenomegalie	101	jen u pacientů s příznaky nemoci
II	charakteristiky uvedené výše + splenomegalie nebo hepatomegalie	71	jen u pacientů s příznaky nemoci
III	charakteristiky uvedené výše + anémie Hb $< 110 g/l$	19	ano
IV	trombocytopenie $< 100 \cdot 10^9/l$ (i izolovaná)	19	ano

* podle původní práce Raie z roku 1975

Klinické stadium – podle Bineta	Charakteristika	Léčebné opatření
A	méně než tři oblasti zvětšených uzlin	jen u pacientů s příznaky nemoci
B	tři a více oblastí zvětšených uzlin	jen u pacientů s příznaky nemoci
C	anémie Hb $< 110 g/l$ a/nebo trombocytopenie $< 100 \cdot 10^9/l$	ano

Tab. 4.23. Cytogenetické a molekulárněgenetické nálezy u chronické lymfatické leukémie a jejich prognostický význam

Onemocnění	Cytogenetická změna	Prognóza
CLL	+12	nepříznivá
	del (13q14)	příznivá
	del (17p)	nepříznivá
	del (11q)	nepříznivá

CLL – chronická lymfatická leukémie

funkce genu p53 souvisí s rezistencí na purinová analoga, ale také na alkylační látky a rituximab; negativní prognostický význam této genetické změny je silnější než negativní vliv nemutovaného genu IgV_H.

Mutační stav genu pro variabilní část těžkého řetězce imunoglobulinů (IgV_H) je dalším velmi významným prognostickým faktorem. Gen se nachází na 14. chromosomu, segmenty pro variabilní doménu těžkého řetězce se skládají ze tří úseků (V – variable, D – diversity, J – joining), které se při diferenciaci B-lymfocytů různě přeskupují; růzností kombinací VDJ genů je nakonec dána individuální variabilita imunoglobulinových molekul. Další fáze diverzifikace variabilní oblasti, tzv. somatická hypermutace, probíhá až po setkání zralého B-lymfocyty s antigenem; výsledkem jsou zralé buňky se schopností produkce specifických protilátek proti určitému konkrétnímu antigenu, který vedl zpočátku k somatické hypermutaci. Nemocní s mutovanou formou (M-CLL) genu IgV_H mají zásadně lepší prognózu, nekomplikovaný průběh choroby a často nevyžadují dlouhé roky žádnou terapii. Nemutované formy CLL (UM-CLL) jsou velmi nepříznivé, zkušenosti ukázaly, že negativní prognózu UM-CLL neovlivní ani agresivní chemoterapie s autologní transplantací kmenových buněk krvetvorby. Mezi další nepříznivé faktory patří trisomie

chromosomu 12 (+12), a naopak prognosticky příznivá je delece 13q.

Komplementární prognostický význam má stanovení **ZAP-70** (70 kD zeta-asociovaný protein). ZAP-70 je cytoplazmatický protein s tyrosin-kinasovou aktivitou, normálně přítomný jen v NK (přirození zabíječi) a T-lymfocytech. Nemění se s vývojem choroby, pozitivita vysoce (až v 90 %) koreluje s nemutovanou formou genu IgV_H a s významně agresivnějším průběhem onemocnění a kratším mediánem přežití. Laboratorně se stanovuje průtokovou cytometrií jako produkt exprese ZAP-70 genu. Další z nezávislých prediktorů, pozitivita **exprese CD 38**, ve srovnání s ostatními již trochu ztrácí na významu, ale vzhledem ke snadné a rychlé detekci se v prognostice CLL nadále používá.

Souhrnně: při prvním vyšetření je povinností vyšetřit a stanovit následující prognostické faktory: klinické stadium choroby, mutační stav genu pro těžké řetězce IgV_H, zajistit cytogenetické vyšetření a zjištění positivity ZAP-70 a exprese CD 38.

■ Diagnostický algoritmus u mnohočetného myelomu

Mnohočetný myelom (MM) je maligní onemocnění charakterizované klonální proliferací B-lymfocytů v terminálním stadiu vyžívání (myelomová buňka). Existují však určité známky, že původ myelomové buňky je v pluripotentní kmenové buňce (koexprese myeloidních a myelomonocytových antigenů CD11c, CD13, CD15 a pozitivita cytochemické reakce butyrát- a chloracetátesterázy), vedle imunofenotypu B-lymfocytů (CD19, CD20) a specifického imunofenotypu plazmatických buněk CD38, CD138 a cALLA (CD10), antigenu T-buněk.

Tab. 4.24. Souhrn nejvýznamnějších prognostických faktorů CLL a vliv na léčebný postup 1. linie

Prognóza – stupeň rizika / (% incidence)	Rizikový faktor	Incidence na začátku léčby	Doporučený léčebný postup
velmi vysoké riziko / (~ 10–15 %)	delece 17p	5–8 %	klinické studie, experimentální terapie léčivy nezávislými na p53; alogenní SCT
	mutace p53	4–5 %	
	fludarabin refrakterní CLL		
vysoké riziko / (~ 70 %)	nemutovaný IgV _H	60 %	FCR, studie s udržovací léčbou, experimentální léčiva + FCR
	vysoké hodnoty β2M (s-TK)		
	delece 11q	20 %	
nízké riziko / (~ 20 %)	mutovaný IgV _H		FCR, klinické studie deeskalační léčby
	žádný z výše uvedených faktorů		

aloSCT – allogeneic stem cell transplantation, alogenní transplantace kmenových buněk krvetvorby; FCR – kombinovaná chemoterapie obsahující fludarabin + cyklofosamid + rituximab; β2M – β₂-mikroglobulin; s-TK – sérová thymidinkináza

Při diagnostice je obvykle dostatečný průkaz klonality CD38-pozitivních buněk.

Mezi typické projevy patří porucha produkce imunoglobulinů, produkce patologického (monoklonálního) imunoglobulinu (M-komponenty), známky poškození orgánů shrnuté pod zkratku CRAB (hyperkalcemia, renal insufficiency, anemia, bone lesions), tj. hyperkalcémie, renální insuficience, osteolytické změny na skeletu, anémie.

V klinické praxi se při vyšetření setkáváme s rozdílným stupněm kvantitativního vyjádření sledovaných parametrů (hodnota paraproteinu, procento infiltrace kostní dřeně plazmocytů, rozsah kostních lézí atd.) a podle těchto kvantitativních kritérií se plazmocelulární malignity rozdělují do několika forem, jak je uvádí tab. 4.25.

Tak jako u ostatních maligních lymfoproliferací splňuje algoritmus vyšetření jak kritéria diagnostická, tak prognostická.

Při podezření na myelom provádíme komplex vyšetření:

- **diagnostická:** vyšetření kostní dřeně – trepanobiopsie i aspirace, imunofenotypizace (FACS) dřeně i periferní krve, imuno elektroforéza (krev, moč) se stanovením paraproteinu a volných lehkých řetězců (FLC – free light chains), kvantitativně imunoglobuliny, rtg skeletu (páteř, dlouhé kosti, pánev, lebka);
- **prognostická:** CD 10, β_2 -mikroglobulin, renální funkce; cytogenetika; FISH: del 13q, del 17p, t(4;14), t(11;14), t(14;16);

- **doplňující:** kvantitativní proteinurie, KO + diferenciální rozpočet bílých krvinek, metabolismus kosti (Ca, P, ALP), iontogram, kyselina močová, bilirubin, ALT, AST, GTT, elektroforéza bílkovin, EKG, CRP, Fe, transferrin, saturace transferrinu, ferritin;

- **fakultativní:** NMR, PET/CT, biopsie tkáně při extraoseálním postižení, při podezření na amyloid (střevní sliznice, ledviny, myokard...), viskozita séra; HLA typizace.

Při určování klinického stadia se opouští původní systém Durieho a Salmona a užívá se jednodušší ISS (International Staging System) (tab. 4.26.). Ve srovnání i s dalším stážovacím systémem (SWOG – Southwest Oncology Group) je ISS systém spolehlivější, snazší a má přesnější prediktivní hodnotu přežití než tyto dva systémy.

Pro volbu léčebné strategie je nutné zhodnotit pacienta s MM podle prognostických markerů. Tab. 4.27. a 4.28. tato kritéria uvádějí.

■ Monoklonální gamapatie nejasného významu

Výsledky vyšetření, které nedosahují výše uvedených minimálních kritérií pro diagnózu mnohočetného myelomu, nevylučují klonální proliferaci, avšak stav je charakterizován jako monoklonální gamapatie nejasného významu (MGUS – monoclonal gamopathy of unknown significance). Tomu odpovídají nálezy uvedené v tab. 4.25. Je potřeba zdůraz-

Tab. 4.25. Diagnostická kritéria forem plazmocelulárních malignit (podle Kyle 2010)

Diagnóza	Definice
MGUS – monoklonální gamapatie nejasného významu	Musí být splněna všechna tři kritéria: 1. koncentrace M-IgG v séru < 30 g/l M-IgA v séru < 20 g/l 2. proteinurie lehkých řetězců za 24 h < 1 g 3. počet plazmocytů v kostní dřeni < 10 % Dále nesmějí být přítomny žádné z projevů orgánového poškození, které by mohly mít souvislost s monoklonální plazmocytární proliferací: osteolytická ložiska, jakékoliv poškození ledvin (insuficience, selhání), anémie, hyperkalcémie
asymptomatický (doutnající) myelom	Musí být splněna obě kritéria: 1. koncentrace M-IgG, IgA v séru > 30 g/l 2. počet plazmocytů v kostní dřeni > 10 % Dále nesmějí být přítomny žádné z projevů orgánového poškození, které by mohly mít souvislost s monoklonální plazmocytární proliferací: osteolytická ložiska, jakékoliv poškození ledvin (insuficience, selhání), anémie, hyperkalcémie
symptomatický myelom	Musí být splněna všechna tři kritéria: 1. počet monoklonálních plazmatických buněk v kostní dřeni > 10 % a/nebo biopsie kostní dřeně prokazuje plazmocytom 2. je přítomen monoklonální imunoglobulin v krvi a/nebo v moči 3. je přítomna nejméně jedna dysfunkce či poškození orgánu způsobené mnohočetným myelomem: • (C – calcium) zvýšená koncentrace kalcémie nad 2,8 mmol/l či nad horní limit • (R – renal) renální insuficience s kreatininem nad 177 μmol/l • (A – anemia) anémie, hemoglobin pod 100 g/l nebo 20 g/l pod dolní limit normy • (B – bone) osteolytické kostní destrukce nebo osteoporóza

Pozn.: počet mg kreatininu/dl $\times$ 88,4 = počet μ mol/l

Tab. 4.26. Systémy k určení klinického stadia mnohočetného myelomu – podle Durieho a Salmona a ISS (International Staging System)

Stadium	Kritéria podle Durieho a Salmona	ISS kritéria	Medián přežití (měsíce)*
I. (malá celková nádorová masa)	Jsou-li splněny všechny tyto podmínky: Hb > 100 g/l Ca v séru normální (< 3 mmol/l) rtg skeletu – normální, ev. jen solitární ložisko M-komponenta nízká: a) IgG < 50 g/l b) IgA < 30 g/l c) exkrece lehkých řetězců do moči < 4 g/24 h	$\beta 2M < 3,5$ mg/l albumin > 35 g/l	62
II.	nejdou splněny podmínky I. ani III. stadia MM	**ani stadium I, ani stadium III	44
III. (velká celková nádorová masa)	Přítomen alespoň jeden (i více) z uvedených znaků: 1. Hb < 85 g/l 2. Ca v séru zvýšený > 3,0 mmol/l 3. vícečetná osteolytická ložiska v kostech 4. vysoká produkce M-komponenty a) IgG > 70 g/l b) IgA > 50 g/l c) exkrece lehkých řetězců do moči > 12 g/24 h	$\beta 2M > 5,5$ mg/l	29
A. Subklasifikace: B. Subklasifikace:	normální funkce ledvin (kreatinin v séru < 130 μ mol/l) funkční nedostatečnost ledvin (kreatinin > 130 μ mol/l)		

* Podle původní práce ISS (2005); $\beta 2M$ – β_2 -mikroglobulin** jsou dvě kategorie stadia II podle ISS: 1. $\beta 2M < 3,5$ mg/l; albumin < 35 g/l; 2. $\beta 2M 3,5$ – $5,5$ mg/l, bez ohledu na koncentraci albuminu**Tab. 4.27.** Souhrn prognostických ukazatelů u mnohočetného myelomu

Nepříznivá prognóza	Příznivá prognóza
Cytogenetika	
t(4;14) a t(14;16)	t(11;14)
hypodiploidie	hyperdiploidie
Del 13q a del 17p13	normální chromosomy č. 13 a 17
abnormální karyotyp	normální karyotyp
Klinické a biologické projevy uvedených cytogenetických typů	
nižší věk	vyšší věk
vysoké PCLI	nízké PCLI
izotyp IgA	izotyp IgG
lambda LC	kappa LC
rychlá léčebná odpověď	pomalá léčebná odpověď
absence kostních lézí	kostní léze
vysoká hladina LD	normální hladina LD
plazmoblasty	LPL nebo změněná morfologie
cirkulující myelomové buňky	necirkulující myelomové buňky

LC – lehké řetězce (light chains); PCLI – plasma cell labeling index; LPL – lymfoplazmocytární lymfom

nit, že ostatní výsledky musí být negativní (normální plazmatické hodnoty kalcia, Hb, kreatininu, na rtg nejsou osteolytická ložiska, nejsou známky amyloidózy nebo depozice lehkých řetězců (light chain deposition disease). Riziko vývoje MGUS do sym-

Tab. 4.28. Souhrn nejvýznamnějších parametrů u mnohočetného myelomu, které znamenají velmi nepříznivou prognózu

Kritéria	Nepříznivá prognóza
International Staging System (ISS)	stadium 3
$\beta 2$ -mikroglobulin	> 5,5 mg/l
plazmablastová leukémie	ano
delece 17p	přítomna

ptomického MM je celkově 1 % ročně, nemocní však mohou být častěji ohroženi jinými interními komplikacemi.

Odborníci v oblasti myelomu nepovažují v současnosti rutinní screening MGUS za indikovaný. Obvyklá klinická praxe, která odhalí MGUS, spočívá v tom, že mezi rutinní laboratorní vyšetření je bez jasné argumentace zařazeno vyšetření ELFO a Imunoelfo. IMWG (International Myeloma Working Group) rozlišuje skupiny MGUS s vysokým a nízkým rizikem vývoje do symptomatického MM podle výskytu sledovaných rizikových faktorů. MGUS s nízkým rizikem charakterizuje nízké procento (5 %) vývoje do MM za 20 let a příznivé laboratorní nálezy (0 rizikových faktorů) (tab. 4.29.). Mezi nemocné s nízkým rizikem se řadí ti, kteří nemají žádný z definovaných rizikových faktorů progresu do symptomatického myelomu, tj: 1. M-protein v séru < 15 g/l, 2. M-protein typu IgG, 3. normální poměr lehkých řetězců (FLC) (0,26–1,65) (tab. 4.29.).

Opatření, která je podle současných názorů nutno u nemocných s diagnózou MGUS v rámci dispen-

Tab. 4.29. Riziko vývoje MGUS do symptomatického myelomu podle výskytu rizikových faktorů

Rizikové faktory – počet		Riziko	
		nízké (žádný rizikový faktor)	střední / vysoké (1–3 rizikové faktory)
1.	M-protein	< 15 g/l	< 30 g/l
2.	izotyp M-proteinu	IgG	IgM, IgA
3.	FLC	normální	abnormální
% vývoje MGUS do MM za 20 let		0 rizikových faktorů: 5 %	3 rizikové faktory: 58 % 2 rizikové faktory: 37 % 1 rizikový faktor: 21 %

FLC – volné lehké řetězce (free light chains); rf – rizikový faktor

Tab. 4.30. Doporučený sledovaný algoritmus u nemocných s MGUS (podle Kyle 2010)

Doporučený klinický postup sledování	Nízké riziko*	Střední / vysoké riziko (1–3 rizikové faktory)
vyšetření kostní dřene při dg MGUS: trepanobiopsie + aspirační punkce	ne	ano**
kontrolní ELFO	za 3–6 měsíců	za 3–6 měsíců
nález bez vývoje – kontrola ELFO	za 2–3 roky (ev. při nových obtížích)	za 6–12 měsíců

* viz charakteristika nízkého rizika v tab. 4.29.; FLC – volné lehké řetězce (free light chains)

** vždy po posouzení věku, celkového stavu a event. komorbidit nemocného

zarizace provést, se liší podle stupně rizika a jsou shrnuta v tab. 4.30. Názor na tento postup však není jednotný (Berenson 2010), postup se liší i na jednotlivých pracovištích v ČR. Doporučený postup je proto třeba chápat jako orientační, zásadně se však řídí podle výskytu rizikových faktorů, podle věku, celkového stavu a event. komorbidit nemocného. Riziko vývoje MGUS do MM stoupá s vyšším počtem rizikových faktorů, jak je uvedeno v tab. 4.29.

4.6.2. Myeloproliferace

Mezi **myeloproliferativní choroby** řadíme chronickou myeloidní leukémií (CML), skupinu Philadelphia negativních myeloproliferativních neoplazií (MPNs) a další. O CML bylo dosti podrobně pojednáno v kapitole o molekulárněgenetické diagnostice, akutní leukémie jsou natolik diagnosticky i klinicky specifickou oblastí hematologie, že přesahují rámec této monografie.

■ Ph-negativní myeloproliferativní neoplazie

Z hlediska moderních diagnostických možností jsou dnes předmětem většího zájmu právě Ph-negativní myeloproliferativní neoplazie (MPNs Ph-neg), neboť objevením JAK2 mutace (2005) se zásadně změnil pohled na patofyziologii, rozdělení i diagnostiku jednotek této skupiny myeloproliferací.

Mutace JAK2 (Janus dinase; Janusova kináza): JAK2 mutace (JAK2V617F) je společná široké skupině Philadelphia negativních (Ph-neg, také: BCR-

-ABL-negativních) myeloproliferativních neoplazií (MPNs), dříve označovaných jako myeloproliferativní onemocnění (MPD). Gen pro JAK2 je lokalizován na 9. chromosomu (9p24) a kóduje proteinovou tyrosinkinázu JAK2, která je jednou z rodiny čtyř Janusových proteinkináz (JAK1, JAK2, TYK2 a JAK3). JAK2 je exprimována ubikvitně na všech buňkách, včetně hematopoetických, kde se uplatňuje při transdukci signálu a jako aktivátor transkripce (JAK STAT – signal transduction and transcription activator) v mnoha buněčných procesech (proliferace, přežití...). Funkční důsledek této mutace vede k deregulaci JAK-STAT a následné abnormální akumulaci onkoproteinů s fenotypovými projevy MPNs. Stanovuje se metodou real-time PCR.

Mezi MPNs se řadí původní nozeologické jednotky esenciální trombocytémie (ET) s výskytem JAK2 mutace u 55 %, polycythaemia vera (PV) s průkazem JAK2 mutace až u 99 % a primární myelofibróza (PMF) s mutací JAK2 u 65 %. JAK2 mutace byla objevena také u podtypu myelodysplastického syndromu (MDS) s prstenčitými sideroblasty (MDS-RS). Objev společné JAK2 mutace jednak významně ulehčil diagnostiku MPNs a jednak podpořil koncepci společného původu myeloproliferativních neoplazií v geneticky transformované hematopoetické kmenové buňce, která si zachovala schopnost multilineární diferenciaci a efektivní myelopoézy. Proto jsou uvedené nozeologické jednotky chápány spíše jako fenotypové kontinuum s různými klinickými projevy závislými na určité fázi vývoje. Také výskyt JAK2 mutace u PMF, která se vyvine z předchozí PV, je zachycen téměř u všech nemocných, tak jako u původní PV, zatímco u PMF po ET je JAK2 muta-

ce zachycena v polovině případů, tedy tak jako u ET. Také navrhovaná nová klasifikace MPNs tuto skutečnost odráží a zahrnuje jen dvě skupiny – MPN JAK2 pozitivní a MPN JAK2 negativní.

Diagnóza esenciální trombocytémie (ET) vyžaduje přítomnost několika kritérií:

- trvale zvýšený počet trombocytů $> 450 \cdot 10^9/l$;
- průkaz získané JAK2 mutace;
- vyloučení jiné myeloproliferace (PV, PMF, CML, MDS);
- vyloučení reaktivní trombocytémie;
- trepanobiopsický nález ukazuje zvýšený počet megakaryocytů, zejména hyperlobárních forem, hustota retikulinu nepřevyšuje stupeň 2.

Dříve byla diagnóza ET stanovena až po vyloučení jiných možných příčin, dnes je diagnostika aktivní, opřená u 50 % o přítomnost JAK2 mutace.

Primární myelofibróza: je charakterizována abnormální proliferací více myeloidních linií (viz výše), zejména granulocytů a megakaryocytů, dále masivní depozicí kolagenu v kostní dřeni (fibrózu), splenomegalií, extramedulární hematopoézou a leuko-erytoblastickým obrazem v periferní krvi. Diagnóza obvykle nečiní obtíže, základní diferenciálnědiagnostická vyšetření musejí odlišit chronickou myeloidní leukémií.

Z laboratorních a pomocných vyšetření provádíme zejména:

- nátěr periferní krve (morfologické atypie erytrocytů);
- vyšetření kostní dřene jak aspirační (cytologie – přítomnost mladších forem bílé řady, megakaryocytů a destiček), tak trepanobiopsické (histologické vyšetření – stupeň fibrózy, resp. celularity kostní dřene);
- speciální vyšetření (vyloučení Ph chromosomu, resp. translokace bcr-abl) a obligatorně stanovení JAK2 mutace.

Polycythaemia vera je zmíněna v kap. 4.5.1.7.

■ Kritéria pro diagnózu myelodysplastického syndromu

Myelodysplastický syndrom (MDS) charakterizují

- **periferní cytopenie** (jedné až tří vývojových řad);
- **dysplastické změny** jedné a více zárodečných řad;
- **cytogenetické změny** (např. 5q-) a další, často hyperplastická krvinek v dřeni, ale také snížení růstu prekursorů bílé řady (CFU-GM) *in vitro*.

Tab. 4.31. Nová klasifikace myelodysplastického syndromu (MDS) podle Světové zdravotnické organizace (WHO) a srovnání s dřívější FAB (French-American-British) klasifikací

FAB klasifikace	MDS – WHO klasifikace	Nálezy v krevním obraze
refrakterní anémie (RA)	refrakterní anémie (RA)	anémie blasty: žádné nebo ojedinělé monocyty $< 1 \cdot 10^9/l$
	refrakterní cytopenie s multilineární dysplazií (RCMD)	bicytopenie – pancytopenie blasty: žádné nebo ojedinělé Auerovy tyče: nejsou monocyty $< 1 \cdot 10^9/l$
refrakterní anémie s prstenčitými sideroblasty (RARS)	refrakterní anémie s prstenčitými sideroblasty (RARS)	anémie blasty: žádné
	refrakterní cytopenie s multilineární dysplazií a prstenčitými sideroblasty (RCMD-RS)	bicytopenie – pancytopenie blasty: žádné nebo ojedinělé Auerovy tyče: nejsou monocyty $< 1 \cdot 10^9/l$
refrakterní anémie s excesem blastů (5–19 % blastů ve dřeni)	refrakterní anémie s excesem blastů – 1 (RAEB-1)	cytopenie blasty: $< 5 \%$ Auerovy tyče: nejsou monocyty $< 1 \cdot 10^9/l$
	refrakterní anémie s excesem blastů – 2 (RAEB-2)	cytopenie blasty: 5–19 % Auerovy tyče: +/- monocyty $< 1 \cdot 10^9/l$
refrakterní anémie v transformaci do AML (RAEB-t) 20–29 % blastů ve dřeni	není stanovena, RAEB-t jednotka je již zařazena jako AML	
	5q syndrom, neklasifikovaný (MDS-U)	cytopenie blasty: žádné nebo ojedinělé Auerovy tyče: nejsou
CMML	MDS/MPs, CMML, atypická CMML, juvenilní CMML	

MGC – megakaryocyty; CMML – chronická myelomonocytární leukémie; MDS/MPs – smíšený myelodysplastický a myeloproliferativní syndrom

Tab. 4.32. (A) Mezinárodní prognostický index podle WHO (W IPSS – International Scoring System for Evaluating Prognosis in Myelodysplastic Syndromes) a **(B)** prognostická stratifikace podle výskytu rizikových faktorů**(A)**

BODY	0	0,5	1	1,5	2
% blastů v kostní dřeni	< 5	5–10	–	11–20	21–30
karyotyp	dobrý	střední	nepříznivý		
počet cytopenií	0/1	2/3			

(B)

Riziko	Skóre	Medián přežití (roky)	AL roky
nízké	0	5,7	9,4
střední I	0,5–1,0	3,5	3,3
střední II	1,0–2,0	1,2	1,1
vysoké	≥ 2,5	0,4	0,2

Diagnóza vyžaduje komplexní přístup, prognosticky zásadní jsou cytogenetické nálezy, velmi nepříznivý je nález komplexních změn karyotypu. Z hlediska praktického postupu v terénu by podezření na MDS měla vzbudit nejasná (pan)cytopenie, makrocytóza (i bez anémie) s normálními hodnotami vitamínu B₁₂ a kyseliny listové, monocytóza. Diagnostický postup u MDS reflektuje nové rozdělení WHO (tab. 4.31.) a jeho součástí jsou jak rutinní, tak speciální vyšetřovací metody. Prognosticky je MDS zařazen do tří skupin, podle histologického typu MDS a cytogenetických změn (tab. 4.32.). Diagnostický postup patří plně do rukou hematologa.

4.7. Vyšetření hemostázy a hemokoagulace

Jan Kvasnička

Při vyšetřování hemostázy a hemokoagulace rozdělujeme testy do skupin **podle kvality poskytnuté informace** na:

- **globální** (používáme je jako screeningové, jejich výsledek může být ovlivněn poruchou na různé úrovni celé hemostázy, a proto je při patologických nálezech musíme doplnit podrobnějším vyšetřením);
- **skupinové**, které jsou zaměřeny již na určitý systém (např. vnitřní versus zevní koagulační systém);
- **specifické**, kdy stanovujeme cíleně např. jednotlivé koagulační faktory.

Z hlediska vyšetřovacích metod lze testy rozdělit na:

- **funkční**, kdy hodnotíme čas, za který dojde k vytvoření sraženiny (APTT, TT atd.);
- **imunologické**, kdy různými metodami (vazba protilátek na latexové partikule, imunoelektroforéza, radiální difuze atd.) prokazujeme přítom-

nost struktury, substrátu (FDP, fibrin-monomery apod.);

- **biochemické** s použitím syntetických chromogenních nebo fluorogenních substrátů, které se po enzymatickém odštěpení uvolní z vazby na bílkoviny nebo peptidy. Intenzita zbarvení nebo fluorescence je pak úměrná koncentraci enzymu (koagulační faktory, složky fibrinolýzy, antitrombin).

Při vyšetřování hemostázy (krevní srážlivosti) hodnotíme všechny složky, které se na ní podílejí, tj. funkce cévní stěny (schopnost vazokonstrikce) a stav cirkulace, funkce krevních destiček a stav plazmatické koagulace. Další skupina testů slouží k vyšetření fyziologických faktorů zajišťujících koagulační homeostázu, tj. přirozených inhibitorů koagulace (antiproteázy – antitrombiny) a fibrinolytického systému. Současně využíváme vyšetření ke kontrole terapie poruch koagulace při krvácení a při hyperkoagulačních (trombofilních) stavech. Součástí vyšetřovacích postupů u trombofilních stavů je vyšetření endoteliálních funkcí, využívající metod molekulární biologie a dalších.

V následující kapitole dělíme z praktického hlediska testy podle oblasti hemostázy a koagulace, kterou mapují:

- primární hemostáza;
- hemokoagulace;
- fibrinolýza;
- inhibitory krevního srážení.

Fyziologické poznámky

Počátečního období hemostázy (**primární hemostáza**) se účastní cévní stěna (vazokonstrikce) a krevní destičky s následným vytvořením primárního destičkového trombu, který umožňuje provizorní zástavu krvácení. Na vzniku primárního destičkového trombu se podílejí i některé faktory zevního koagulačního systému, kalcium a fibrinogen. Aktivace destiček začíná adhezí na endotel a subendoteliální kolagen, kterou zprostředkuje von Willebran-

dův faktor. Při adhezi dojde ke změně tvaru destiček (dříve byla tato fáze popisována jako viskózní metamorfóza) a k uvolňovací reakci, tj. k degranulaci a vypravení destičkových faktorů.

Současně je aktivován cyklus kyseliny arachidonové, z jejíchž produktů má pro následnou agregaci největší význam tromboxan A_2 . Při této první fázi se již aktivují prokoagulační faktory, z nichž některé jsou adsorbovány na destičkovém povrchu. Součástí cytoskeletu destiček je systém proteinových mikrotubulů, které tvoří kontraktilní aparát destičky (trombostenin), a ten v další fázi umožní kontrakci destičkových agregátů a fibrinového koagula.

Plazmatické **koagulační faktory** se účastní krevního srážení postupnou aktivací. Schéma srážení je všeobecně známo a rozlišuje vnitřní a zevní koagulační systém. Výsledkem aktivace je přeměna protrombinu na (enzym) trombin a ten zajišťuje přeměnu fibrinogenu na fibrin, jehož monomery se spojují v polymery a jsou součástí definitivní hemostatické zátky.

K udržení homeostázy se současně aktivují **fibrinolytické mechanismy**, jejichž základem je plazminogen aktivovaný množstvím tkáňových aktivátorů (t-PA) na proteolytický plazmin, který zahájí fibrinolýzu. Cílovou strukturou (i když ne specifickou) pro plazmin je fibrin (při vyšších koncentracích i fibrinogen a některé koagulační faktory – V, VIII). Při štěpení fibrinu a fibrinogenu vznikají degradační produkty fibrinu (FDP), které zpětně tlumí polymerizaci fibrin-monomerů, adhezivitu a agregaci krevních destiček a účinek trombinu na fibrinogen. Plazmin sám je inaktivován přirozenými **inhibitory fibrinolýzy** – α_2 -makroglobulinem a antitrombinem (AT). Mechanismy srážení krve a fibrinolýzy jsou tak vzájemně úzce propojeny a probíhají paralelně již od samého počátku procesu hemostázy.

4.7.1. Koagulační faktory

Koagulační faktory jsou v plazmě v neaktivní formě a jsou postupně aktivovány v procesu krevního srážení. Některé faktory (II, VII, IX, X, XI, XII, prekalkrein) se uplatňují jako enzymy (serinové proteázy), jiné jsou součástí aktivních komplexů, tj. uplatňují se jako kofaktory (VIII, V, vysokomolekulární kininogen) při tvorbě komplexů koagulačních faktorů s fosfolipidy.

Faktory II, VII, IX a X jsou vitamin K-dependní, v přítomnosti vitaminu K je karboxylována jejich molekula, což umožní vazbu těchto faktorů na fosfolipidy buněčné membrány a jejich další aktivaci s výslednou funkční schopností serinové proteázy, která aktivuje kaskádovitým způsobem další faktory.

Nejvýznamnějším faktorem je fibrinogen, který po rozštěpení trombinem vytváří v dalším procesu fibrinovou síť jako základ definitivního trombu.

Rozeznáváme vnitřní koagulační systém (aktivace koagulační kaskády bez přítomnosti tkáňového faktoru), kam patří faktory XII, XI, IX, VIII, a vnější koagulační systém (vnější aktivace tkáňovým faktorem tromboplastinem – lipoproteinem přítomným ve většině tkání), kde je klíčový faktor VII. Oba systémy směřují k aktivaci faktoru X, od něhož je cesta mířící k aktivaci trombinu stejná.

■ Protrombin

Protrombin (faktor II) je chemicky glykoprotein a jeho syntéza v játrech je závislá na vitaminu K. Pro normální funkci v procesu hemostázy stačí 40 % jeho normální koncentrace. Je aktivován faktorem f. Xa (proteáza), za přítomnosti f. Va, kalciových iontů a fosfolipidu a podstata této aktivace spočívá ve dvoustupňovém odštěpení fragmentů s výsledným vznikem trombinu s proteolytickým účinkem na fibrinogen (viz dále).

Koncentrace protrombinu jsou sniženy u stavů spojených s malabsorpcí vitaminu K, při jaterních chorobách nebo při léčbě dikumariny. Vrozené hypoprotrombinémie jsou vzácné. Při recidivujících trombózách, zejména s výskytem u dalších členů rodiny, je nutné zvažovat vrozenou trombofilii při mutaci 20210G>A genu protrombinu (viz dále).

■ Fibrinogen

Fibrinogen (faktor I) je glykoprotein o molekulové hmotnosti 340 000, syntetizovaný v játrech, s poločasem 3–4 dny. Normální plazmatická koncentrace je 2–4 g/l. Malé množství se nachází také v α -granulech trombocytů. Fibrinogen se řadí mezi bílkoviny akutní fáze, po maximální stimulaci (IL-6, vliv dexametazonu) může být jeho produkce až 20násobná.

Molekula fibrinogenu se skládá ze tří párů polypeptidových řetězců (α , β , γ , resp. A, B, M). Trombin štěpí fibrinogen na fibrinopeptidy A, B a fibrinové monomery, které následně polymerizují a tvoří základ fibrinové sítě.

Plazmin štěpí fibrinogen a fibrin za vzniku »degradačních produktů« – nejprve vzniká fragment X (240 000 kD), potom menší fragmenty Y + D (150 + 80 000 kD) a E + D (53 000 + 80 000 kD). Již fragmenty Y + D (a menší) mají schopnost inhibovat polymerizaci fibrinu (prodlouží trombinový čas). Stanovení D-dimerů se využívá v diagnostice jak hyperkoagulačních stavů (trombózy, embolie – viz

tab. 4.30.), tak stavů spojených s krvácením (diseminovaná intravaskulární koagulace).

Zvýšení hodnot fibrinogenu:

- fyziologicky s věkem, u žen po menopauze a také ve třetím trimestru gravidity (4–6,5 g/l);
- po perorálních kontraceptivech;
- při zánětlivých procesech (infekčních i neinfekčních, kolagenózách, infarktu myokardu, pankreatitidě apod.);
- při chorobách jater;
- při diabetes mellitus;
- u kuřáků;
- při hypertriacylglycerolémii.

Zvýšení hodnoty nad 5 g/l je provázeno vyšší incidencí arteriálních trombóz.

Snížení hodnot fibrinogenu:

- při diseminované intravaskulární koagulaci (DIC) (konzumpce);
- při těžkých chorobách jater (nedostatečná syntéza);
- po lécích, alkoholu;
- při afibrinogémii, dysfibrinogémii.

■ Von Willebrandův faktor

Von Willebrandův faktor (vWF) je syntetizován v trombocytech (α -granula) a endoteliích. Uvolňuje se z endotelií současně s tkáňovým aktivátorem plazminogenu (t-PA) při indukci (adenosindifosfát – ADP, trombin, kolagen, ristocetin) a váže se na povrch aktivovaných trombocytů. Zprostředkuje adhezi destiček na poškozený subendotel, slouží jako nosič faktoru VIII.

Deficit vWF je spojen:

- s prodloužením krvácivosti;
- poruchou adheze destiček;
- poruchou agregace po ristocetinu (na rozdíl od hemofilie A).

4.7.2. Inhibitory koagulačních faktorů

Jde o systém přirozených inhibitorů, které inhibují aktivitu koagulačních faktorů a pomáhají tak udržovat rovnováhu hemostatických mechanismů.

Podle cílového účinku se dělí na:

- inhibitory serinových proteáz;
- inhibitory kofaktorů koagulačních faktorů.

■ Inhibitory serinových proteáz

Antitrombin

Antitrombin (AT), nejvýznamnější inhibitor koagulačních faktorů, se tvoří v játrech a v endoteliích. Spolu s kofaktorem heparinu II naplňuje až 80 %

inhibiční aktivity plazmy. Chemicky jde o glykoprotein. Není to enzym a s koagulačními faktory tvoří stabilní inaktivní komplexy, které jsou pak vychytávány v RES. Nejvyšší aktivitu má vůči trombinu, se kterým vytvoří bimolekulární komplex – trombin nejprve rozštěpí molekulu AT – a následně se s ním váže za vzniku neaktivního komplexu. Dále inhibuje aktivitu faktorů Xa, IXa, XIa a XIIa, neovlivňuje faktor VIIa. Inhibiční vazba na trombin je významně urychlována heparinem, nedostatek AT vede často k selhání léčby heparinem. Za ještě normální koncentraci v plazmě je považováno 70 %.

Snížené koncentrace AT jsou nacházeny u DIC (konzumpce), při léčbě heparinem, ke snížení dochází u jaterních chorob (syntéza), po perorálních kontraceptivech a u diabetiků. Kongenitální defekt syntézy AT (autosomálně dominantní dědičnost, homozygotie je obvykle neslučitelná se životem) je spojen s recidivujícími žilními trombózami dolních končetin a komplikující plicní embolií již v mladém věku (10–35 let). Nedostatek AT se řadí mezi tzv. trombofilní stavy. Je vhodné poznamenat, že pro úspěšnou léčbu heparinem je nutná normální koncentrace AT. Vzhledem k tomu, že heparin působí antikoagulačně prostřednictvím AT, je při nedostatku AT heparinizace neúčinná.

Kofaktor heparinu II

Stejně jako AT tvoří kofaktor heparinu II inaktivní komplex s trombinem, neinhibuje faktor Xa. Jeho fyziologická úloha je tedy stejná jako u AT – inaktivuje trombin, ale reakce je pomalejší. Urychluje ji heparin, dermatansulfát a heparoidy přítomné na povrchu endotelií.

Heparin

Jde o polysacharid fyziologicky vytvářený v heparinocytech, zejména plic a tenkého střeva. Za fyziologických podmínek není v plazmě přítomen. Je tvořen několika nízkomolekulárními frakcemi od 5 do 40 000. Velikost molekuly ovlivňuje afinitu k jednotlivým serinovým proteázám. Nízkomolekulární frakce mají vyšší afinitu k faktoru Xa, vysokomolekulární k trombinu. Vysoká ionizace molekuly (negativní povrchový náboj) je podstatou jeho reakce s krevními destičkami (může vyvolat agregaci destiček se sekundární trombocytopenií) a bílkovinami plazmy.

Alfa₁-antitrypsin

Alfa₁-antitrypsin inhibuje faktor Xa a leukocytární a pankreatické proteázy.

C1-inhibitor esteráz

C1-inhibitor esteráz inhibuje faktory XIIa, XIa a kalikrein, faktory kontaktní fáze počátku koagulač-

ní kaskády. Fyziologicky jde o první komponentu komplementu.

Alfa₂-antiplazmin

Cílem inhibice je především plazmin, méně pak ostatní proteázy (XIIa).

Alfa₂-makroglobulin

Alfa₂-makroglobulin je vysokomolekulární inhibitor všech koagulačních faktorů. Vazbou na jejich molekulu nezpůsobí jejich úplnou inaktivaci, ale zabráni jejich účinku. Jde o bílkovinu akutní fáze, jeho zvýšená koncentrace se inhibičně uplatňuje při infekcích, kdy může být snížena aktivita AT, kterou α₂-makroglobulin může nahradit.

■ Inhibitory kofaktorů koagulačních faktorů

Protein C

Protein C je glykoprotein, enzym, serinová proteáza závislá na vitamínu K. Jeho syntéza probíhá v játrech. Funkčně je inhibitorem kofaktorů koagulačních faktorů (faktory V, VIII). Je aktivován trombinem, resp. komplexem trombinu a trombomodulinu (bílkovina tvořená v endoteliích plicních cév a placenty). Aktivovaný protein C zabraňuje uvolnění inhibitoru aktivátoru fibrinolýzy (PAI-1) z endotelií a tak usnadňuje fibrinolýzu. Sám může být inaktivován antitrombinem.

Získaný deficit provází jaterní nemoci či poruchy metabolismu vitamínu K, někdy pozdní gestózu. Vrozený deficit se v heterozygotní formě projeví (již v dětství) recidivujícími »idiopatickými« žilními trombózami dolních končetin a atypických míst, u dospělých i kožními nekrózami po léčbě dikumariny. Homozygotní forma často končí smrtelně rozsáhlou mikrotrombózou kapilár (purpura fulminans). Nedostatek proteinu C se řadí mezi tzv. trombofilní stavy s až 10krát vyšším rizikem vzniku trombózy.

Kromě deficitu proteinu C se v poměrně vysoké prevalenci (3–15 %) zjišťuje rezistence na aktivovaný protein C (APC-rezistence – APC-R). Většinou se jedná o dědičnou trombofilii při tzv. leidské mutaci genu koagulačního faktoru V. Při této mutaci je porušena zpětně vazebná inhibice aktivovaného FVa s aktivovaným proteinem C. Tato mutace se určuje molekulárněgenetickým vyšetřením. Více je uvedeno níže.

Získanou APC-R pozorujeme v těhotenství, po perorálních kontraceptivech, při lupus antikoagulans, při zvýšené koncentraci faktoru VIII a nízké koncentraci proteinu S.

Protein S

Protein S je strukturně podobný proteinu C, nejde však o enzym, ale o proteinový kofaktor proteinu C

při inaktivaci faktorů V a VIII. Je syntetizován v játrech a v megakaryocytech a endoteliích.

Nedostatek proteinu S se klinicky projeví stejně jako nedostatek proteinu C, riziko trombofilie u vrozeného deficitu je asi 5krát vyšší.

4.7.3. Fibrinolytický systém

Význam fibrinolytického systému spočívá ve včasném odstranění fibrinu vzniklého při prokoagulační aktivitě. Tak je usměrňována homeostáza krevního srážení.

Plazminogen, plazmin

Plazminogen je jednořetězcová bílkovina, ze které po dvoufázovém odštěpení části molekuly vzniká plazmin, který se pak váže na fibrin a štěpí jej. V plazmě je rychle inaktivován antiplazminem.

Plazmin je serinová proteáza, která štěpí především fibrinogen, fibrin, ale také faktory VIII a V. Fibrinogen je štěpen postupně na menší fragmenty, které můžeme detekovat (viz výše).

Aktivátory plazminogenu

Tkáňový aktivátor plazminogenu (t-PA) je glykoprotein syntetizovaný v endoteliích, z nichž se uvolňuje po podnětu vyvolaném různými mediátory (trombin, adrenalin, desmopresin), ale i mechanickými inzulty (tělesná zátěž, komprese cév). V oběhu se váže na fibrin, s nímž pak tvoří komplex s plazminogenem. Je rychle inaktivován PAI-1 (inhibitorem aktivátoru plazminogenu). Rekombinantní t-PA se používá v léčbě tromboembolické nemoci.

Urokináza

Jde o endogenní aktivátor plazminogenu, enzym, serinovou proteázu. Vytváří se především v ledvinách, ale i v jiných tkáních. Inaktivní forma (pro-urokináza) je v plazmě štěpena plazminem nebo trombinem na dva řetězce, které se aktivně vážou na plazminogen a štěpením jej aktivují. Dvouřetězcová urokináza je aktivnější než lehký řetězec.

Inhibitory tkáňového aktivátoru plazminogenu

Inhibitory tkáňového aktivátoru plazminogenu se fyziologicky vytvářejí zejména v endoteliích (PAI-1), v placentě (PAI-2), v hepatocytech a v destičkách. Při fibrinolýze se plazminogen a aktivátory plazminogenu (t-PA) vážou na fibrin a při tom jsou současně aktivovány inhibitory aktivátoru plazminogenu (PAI), které významně převyšují koncentraci plazminu, a tak blokují nadměrnou fibrinolýzu. Působení inhibitorů plazminogenu je především lokální, místně lokalizované na fibrin. PAI-1 je nejvýznamnějším regulátorem fibrinolýzy. Polymorfismus

genu PAI-1 (synonymum serpin E1) 4G/5G (-675 4G/5G, rs1799889) souvisí s delecí nebo inzercí guaninu G v pozici -675 v promotorové oblasti genu PAI-1, který je lokalizován v oblasti chromosomu 7q21.3-q22. Alela 4G (s delecí guaninu) vede k zvýšenému přepisu genu PAI-1, protože ztrácí represorovou funkci, a tím i ke zvýšení produkce inhibitoru aktivátoru plazminogenu typu 1 (PAI-1). Alela 5G (s inzercí guaninu) naopak represorovou funkci plní. Osoby s genotypem 4G/4G pak mají hladinu plazmatického PAI-1 o 25 % vyšší než homozygoti s genotypem 5G/5G a při zátěži u nich dochází k vyšší inhibici aktivity aktivátoru plazminogenu a tím ke snížení fibrinolýzy.

4.7.4. Testy používané k vyšetření hemostázy, koagulace a fibrinolýzy

Uvádíme především testy standardně používané, z metod stanovení speciálních faktorů jen některé a spíše informativně, neboť ty jsou indikovány a prováděny pouze specializovanými hematologickými pracovišti.

■ Testy primární hemostázy

K testům primární hemostázy patří:

- počet destiček;
- krvácivost (Duke, Ivy);
- morfolgie destiček nátěru;
- konzumpce protrombinu;
- retrakce koagula;
- odolnost kapilár (Rumpelův-Leedehe test);
- funkce destiček (agregace, adheze, uvolňovací reakce, destičkové faktory 3 a 4);
- trombin generační test.

Některé z těchto testů se již prakticky nepoužívají, proto jen velmi stručně uvedeme jejich principy. Některé speciální testy (stanovení glykoproteinů destičkové membrány průtokovou cytometrií, uvolňovací reakce trombocytárních granul, stanovení trombocytárních faktorů, vyšetření trombocytárních aloantigenů, aloprotilátek a autoprottilátek) přesahují rámec této publikace.

Počet destiček

Provádí se při rutinním vyšetření periferního krevního obrazu. V souvislosti s poklesem počtu destiček zde jen připomeneme heparinem indukovanou trombocytopenii II. typu a v souvislosti s trombocytémií reaktivní stavy (infekce, malignity, zánětlivé procesy).

Vyšetření krvácivosti (bleeding time, metody podle Dukeho a Ivyho)

Charakteristika: globální test primární hemostázy.

Princip: určení doby, za kterou dojde na kůži (ušní lalůček) v místě vpichu ke spontánní zástavě krvácení (Duke). V současné době se dává přednost metodě podle Ivyho (souprava Simplate), při které se na předloktí stažením manžetou při 40 torrech provedou tři příčné povrchní mělké řezy speciální žiletkou. Test je citlivější při zjišťování poruch destičkových funkcí. Výsledek je ovlivněn jak destičkovou, tak i cévní složkou (vazokonstrikce). Délka krvácivosti koreluje s počtem destiček do $75 \cdot 10^9/l$, při hlubší trombocytopenii se čas progresivně prodlužuje.

Hodnocení: normální čas do zástavy krvácení je 2–5 min, při hodnotě v rozmezí 5–10 min je vhodné vyšetření před definitivním závěrem zopakovat.

Prodloužení:

- trombocytopenie – trombocytémie, trombocytopenie;
- vaskulární příčiny, léčba vazodilatancii (chybí kontrakce prekapilár po poranění);
- deficit vWF;
- hypo- a afibrinogenémie;
- léčba salicyláty (inhibují agregaci).

Doplňková (diferenciálnědiagnostická) speciální vyšetření: **morfolgie a funkce destiček** (indukovaná agregace destiček), konzumpce protrombinu, retrakce koagula, tromboplastinový generační test, vWF, vyšetření fibrinogenu (afibrinogenémie), Rumpelův-Leedehe test.

Současný význam testu: test se stále používá, standardně při předoperačním vyšetření. Podává informaci o primární hemostáze.

Test konzumpce protrombinu (konzumpční protrombinový test – serum prothrombin consumption)

Charakteristika: skupinový test – postihuje destičkovou i plazmatickou aktivitu (na přeměně protrombinu v trombin se účastní jak destičky – destičkový faktor 3, tak i složky krevní plazmy).

Princip: stanovení množství protrombinu, které zůstane v séru po vysrážení vyšetřované krve. Normálně obsahuje sérum jednu hodinu po skončení koagulace 3 % hodnoty protrombinu plazmy. Při poruše destičkových nebo koagulačních faktorů zůstává protrombinu více, neboť nebyl spotřebován při defektní koagulaci.

Hodnocení: normální koagulační časy neklesnou pod 35 sekund. Ke snížení konzumpce protrombinu (kratší časy) dochází při:

1. trombocytopenii, trombocytopatii, trombastenii;
2. deficitu koagulačních faktorů (V, VIII, IX, X, XI, XII);

3. přítomnosti cirkulujícího antikoagulans.

Doplňková (diferenciálnědiagnostická) vyšetření:

ad 1. krvácivost, morfologie a funkce destiček – agregace destiček *in vitro*, retrakce koagula, tromboplastinový generační test;

ad 2. PTT, faktory VIII, IX, faktory V, XI, XII;

ad 3. PTT, TT (trombinový čas).

Současný význam testu: test je dnes už zastaralý, význam byl zejména pro zjištění funkce destiček.

Retrakce koagula (clot retraction)

Princip: stanoví se podle množství séra vypuzeného z koagula po jeho retrakci.

Provedení: do graduované zkumavky ve vodní lázni se napipetuje 5 ml žilní krve, vloží se skleněná tyčka. Za hodinu se vytáhne koagulum, zkumavka se odstředí a na stupnici se odečte množství (ml) vypuzeného séra, které ve zkumavce zůstalo. Po vynásobení dvaceti se získá množství séra v procentech.

Hodnocení: normální hodnoty dosahují 40 % (30–50 %).

Snížení retrakce: při trombocytopenii, trombocytopenii.

Současný význam testu: dnes se test již prakticky nepoužívá.

Test fragility kapilár – Rumpelův-Leedehe test (capillary fragility)

Tento test má omezený diagnostický význam. Je silně pozitivní při trombocytopenii, trombocytopenii, u vaskulární purpury, jaterních onemocnění a někdy při diabetu.

Provádí se stažením manžety tonometru na paži při 100 torrech po dobu 10 minut a na ploše 10 cm² se počítá počet petechií (pozitivita při počtu petechií nad 10). Dnes je test již zastaralý.

Srážlivost celé krve (Leeova-Whiteova metoda – whole blood clotting time)

Jde o zastaralou metodu, která se dnes už neužívá pro nedostatečnou senzitivitu. Při nedostatku koagulačních faktorů může být doba srážení krve ve zkumavce prodloužena nad 8 minut.

Agregace destiček (platelet aggregation)

Charakteristika: speciální test primární hemostázy zjišťující kvalitativní poruchy destičkové funkce.

Princip: zjištění schopnosti destiček přilnout vzájemně k sobě (na rozdíl od vyšetření adheze, tj. schopnosti přichytit se na jiné než »nedestičkové« povrchy, např. sklo). Fyziologická agregace za přítomnosti ADP je v laboratorních podmínkách pro rozlišení různých patologických stavů indukována i jinými substráty, např. adrenalinem, kolagenem, trombinem, ristocetinem, arachidonovou kyselinou

(AA), kationickým propylgalátem (CPG), peptidem aktivujícím trombinový receptor (TRAP-6).

Hodnocení: turbidimetricky na optickém agregometru nebo impedančně podle změny impedance v závislosti na velikosti destičkového agregátu.

1. Optická transmisní agregometrie

(LTA – light transmission aggregometry)

Transmisní agregometrie je standardní metoda pro stanovení funkce destiček. Stanovení probíhá na optickém analyzátoru, který měří změnu průchodu světla (transmise) v kyvetě se vzorkem plazmy bohaté na destičky (PRP) inkubovaným při 37 °C po vyvolání agregace induktorem. Po přidání induktoru destičky změni tvar z disků na kulatý s pseudopodií (malý pokles v průchodu světla) a poté vytvoří agregáty (velký vzestup intenzity prošlého světla). Agregace je vyjádřena v procentech.

Normální hodnoty: 60–90 %.

2. Impedanční agregometrie

(MEA – multiplate electrode aggregometry)

Impedanční agregometrie je standardní metoda především pro sledování účinnosti protideštičkové léčby, dále pro stanovení funkce destiček, HIT, von Willebrandovy choroby. Ke stanovení se používá vzorek plné krve v hirudinu, popř. v citrátu. Měří se rychlost a rozsah vzestupu impedance po přidání agregačního činidla. Impedance roste v důsledku agregace destiček ve vzorku a nasedání agregátů na měřicí elektrody v kyvetě. Výsledná aktivita destiček se vyjadřuje jako plocha pod agregační křivkou AUC (AU*min), nověji se zavádějí jednotky U (Units).

Nejčastěji používané testy:

ADPtest: agregace destiček po indukci ADP, vysoce specifický test vhodný pro sledování účinnosti inhibitorů receptoru pro ADP P2Y₁₂ i antagonistů Gp IIb/IIIa.

ADPtest HS: vysoce senzitivní ADPtest, pro zvýšení senzitivity testu se ke vzorku před ADP přidává prostaglandin E₁ (PGE₁).

TRAPtest: kontrola funkčnosti destiček neovlivněná ASA a klopido-grelem, induktorem je TRAP 6, vliv antagonistů GpIIb/IIIa.

ASPItest: agregace destiček po indukci AA, test vhodný pro sledování účinnosti inhibitorů cyklooxygenázy – kyselina acetylsalicylová, vliv antagonistů GpIIb/IIIa.

ASPI ASA: agregace destiček po indukci kyselinou arachidonovou s ASA přidanou *in vitro*, kontrolní test pro rezistenci na ASA.

Další testy: RISTOtest, COLtest,...

Normální hodnoty:

ADPtest 569–1130 AU*min

ADPtest HS 425–998 AU*min

TRAPtest 836–1280 AU*min

ASPItest 706–1148 AU*min

ASPI ASA 0–100 AU*min

V některých laboratořích se normální hodnoty uvádějí zvlášť pro muže a ženy, protože se podle dostupné literatury liší.

3. Rychlé vyšetření funkce destiček na PFA 100 (platelet function analyzer)

Systém PFA tvoří přístroj a měřicí část, do které se vkládá testovací cartridge, v níž se v umělém prostředí simuluje proces adheze a agregace destiček. Vzorek plné citrátové krve prochází v cartridge kapilárou k bioaktivní membráně. Destičky následně agregují v důledku stimulace induktory přítomnými na membráně. Dochází k uzavření membrány, vytvoření trombu. Měří se doba od počátku reakce do uzavření otvoru na membráně – čas uzavření CT (closure time).

Testovací cartridge Col/ADP a Col/EPI obsahují na své bioaktivní membráně kolagen, který vyvolá adhezi destiček, a dále fyziologický induktor, ADP nebo epinefrin, který způsobí agregaci destiček. Cartridge Col/ADP je určena pro stanovení normální funkce destiček, Col/EPI pro sledování účinnosti protideštičkové léčby ASA.

Cartridge **Innovance PFA P2Y** je určena ke zjištění blokace destičkového receptoru pro ADP P2Y₁₂ u pacientů, kteří jsou léčeni antagonistou receptoru P2Y₁₂. Aktivní membrána uvnitř cartridge je pokryta ADP a pro zlepšení diagnostického účinku také ionty vápníku a PGE₁.

Normální hodnoty:

CT (Col/ EPI) = 84–160 s

CT (Col/ADP) = 68–121 s

CT (PFA P2Y) < 106 s

4. VerifyNow systém

VerifyNow System je na turbidimetrickém principu založený optický detekční systém, který měří indukovanou agregaci trombocytů. Systém se skládá z přístroje, jednorázového testovacího zařízení a materiálů pro kontrolu kvality. Přístroj provádí postupně všechny úkony – temperuje, míchá vzorek a reagencii, provádí diagnostiku. Po dokončení testu vyhodnotí funkci trombocytů a výsledek zobrazí na displeji.

Vzorek plné antikoagulované krve přístroj převádí přímo z odběrové zkumavky do jednorázového testovacího zařízení. Toto zařízení obsahuje mikročástice s navázaným lidským fibrinogenem, reagenicii startující agregaci trombocytů a pufr.

Dostupné testy

VerifyNow IIb/IIIa: test pro měření stupně blokady funkce receptorů GP IIb/IIIa u nemocných léčených abciximabem nebo eptifibatidem.

Výsledek je vydáván v jednotkách PAU (platelet aggregation units).

VerifyNow Aspirin: test umožňující detekci dysfunkce trombocytů navozené podáváním ASA, induktorem je arachidonová kyselina.

Výsledek je vydáván v jednotkách ARU (aspirin reaction units). Interpretace výsledku je založena na cut-off 550 ARU. Výsledek > 550 ARU – nebyla detekována dysfunkce trombocytů odpovídající efektu ASA. Výsledek < 550 ARU – byla detekována dysfunkce trombocytů odpovídající efektu ASA.

VerifyNow P2Y₁₂: test pro měření stupně blokady funkce P2Y₁₂ receptorů trombocytů.

V tomto testu dochází ke stanovení agregace po indukci ADP/PGE₁, který aktivuje trombocyty bez formování fibrinu. Tato změna optického signálu je vyjádřena v jednotkách PRU (platelet reaction units). V jiném měřicím prostoru jsou další induktory – iso-TRAP (thrombin receptor activating peptid) společně s PAR4-AP (PAR4 aktivující peptid) a mikročástice s navázaným fibrinogenem. Výsledkem změny průchodu světla v tomto prostoru je BASE vzorku – základní destičková funkce.

Z PRU a BASE se spočítá % inhibice, tj. procentuální změna agregace.

Různé chorobné stavy vykazují různý stupeň poruchy agregace při použití různých induktorů (využití např. při zjištění podtypu von Willebrandovy choroby podle agregace destiček po ristocetinu; diagnostika Bernardova-Soulierova syndromu). Abnormální hodnoty podpoří diagnózu Glanzmannovy trombastenii, Bernardova-Soulierova syndromu, von Willebrandovy choroby, různých kongenitálních trombocytopenií (z nedostatku cyklooxygenázy, nedostatku skladovacích granúl, poruchy uvolňovací reakce, syndrom Heřmanského-Pudlák).

Abnormální hodnoty:

- výše uvedené jednotky;
- léčba salicyláty, nesteroidními antirevmatiky, antagonisty destičkového receptoru pro ADP P2Y₁₂ (klopidogrel, tiklopidin), antibiotiky (peniciliny, cefalosporiny), blokátory vápníkových kanálů, dextranem, některými antidepresivy aj.

Současný význam testů: provádějí se ve vysoce specializované laboratoři. Dnes slouží spíše k odhalení neodpovídavosti pacientů léčených protideštičkovými léky (zejména po intervenčních kardiologických postupech po prodělané akutní koronární příhodě), kde zejména u klopidogrelu je známa až ve 30 % snížená odpověď na tuto léčbu. Neodpovídavost, tj. normální hodnoty, nebo nedostatečně snížená agregace po přidání ADP vede u těchto nemocných k zhoršení jejich klinického stavu a vyšší úmrtnosti.

Adheze destiček (platelet adhesion)

Slouží k vyšetření destičkových funkcí. Jde o ireverzibilní přilnutí destiček na jiné povrchy než destičkové. Kvalita a stupeň adheze závisí na mnoha faktorech, kromě jiného na destičkových glykoproteinech a počtu erytrocytů. Adheze *in vivo* na cévní endotel závisí na kvalitě endotelu a plazmatické koncentraci vWF.

Test se provádí různými technikami, obvykle ve sloupci skleněných kuliček, a rozdíl počtu destiček po průchodu kolonou je měřítkem adheze. Využití u von Willebrandovy choroby dnes ustupuje do pozadí.

Současný význam testu: provádí se již jen výjimečně, pouze ve vysoce specializované laboratoři.

Trombin generační čas

Sledování generace trombinu je univerzální metoda pro monitorování funkce hemostatického systému.

Test je založen na monitorování formace trombinu s fluorogenním substrátem při aktivaci koagulační kaskády tkáňovým faktorem.

Při sledování generace trombinu se vyhodnocují tyto parametry:

- lag phase (**t lag**)
čas do začátku generace trombinu (min)
- time to peak (**t peak**)
čas dosažení maximální formace trombinu (min)
- peak (**peak trombin**)
maximální koncentrace formace trombinu (nM)
- slope (**VI**)
Rychlost formace trombinu za minutu:

$$\text{velocity index (nM/s)} = \frac{\text{peak trombin}}{t_{\text{peak}} - t_{\text{lag}}}$$

- AUC = ETP (endogenní trombinový potenciál)
Použitím reagensů o různém obsahu tkáňového faktoru (TF) a fosfolipidů (PL) můžeme sledovat různé poruchy koagulačního systému.

Reagencii TGA RB (nízký obsah TF a PL) je vhodné používat při sledování koncentrace faktoru VIII, event. inhibitorů faktoru VIII, reagensii TGA RC low (nízký obsah PL a vyšší obsah TF) u trombofile nebo naopak u krvácivých stavů a reagensii TGA RC high (vysoký obsah PL a vyšší obsah TF) pro monitorování antikoagulační terapie.

■ Hemokoagulační testy

A. Globální, skupinové, vyhledávací

1. parciální tromboplastinový čas (PTT), resp. aktivovaný parciální tromboplastinový čas (APTT);
2. protrombinový test – Quickův test (hodnotí se International Normalized Ratio – INR), syno-

nymum: tromboplastinový test, protrombinový komplex (prothrombin time);

3. trombinový čas (TT);
4. konzumpční protrombinový test;
5. retrakce koagula.

B. Specifické

1. izolované určení faktorů (I, II, V, VII, VIII, IX, X, XI, XII, XIII);
2. tromboplastinový generační test;
3. určení antitrombinu.

Parciální tromboplastinový čas (partial thromboplastin time – PTT, synonymum parciální tromboplastinový kefalinový test)

Charakteristika: skupinový test vnitřního koagulačního systému.

Princip: určíme rekalcifikační čas citrátové plazmy zbavené krevních destiček, k níž jsme přidali extrakt mající vlastnosti tkáňového tromboplastinu (fosfolipid). (Parciální tromboplastin = kefalinový extrakt – fosfolipid – tkáňového tromboplastinu. Má stejné koagulačně stimulující vlastnosti jako destičkový faktor 3 – fosfolipid membrány.)

Hodnocení: normální hodnoty kolísají podle užitého kefalinu mezi 50 a 80 sekundami.

Prodloužení: nedostatek faktorů XII, XI, IX, VIII, dále X, V, II, I.

Současný význam testu: nepoužívá se pro pomalé časy, byl nahrazen APTT (viz dále).

Aktivovaný parciální tromboplastinový čas (APTT – plasma-activated partial thromboplastin time)

Princip: stejně jako PTT, reagensie může obsahovat fosfolipidy živočišné, rostlinné nebo syntetické a zároveň se jako aktivátor, jenž zvětšuje kontaktní povrch a maximálně aktivuje faktory XII a XI, přidává kyselina elagová nebo křemičitany.

Hodnocení: normální hodnoty 25–40 s.

Komentář: APTT je závislý především na činitelích počátečních období koagulace – na faktorech XII, XI, IX, VIII – a teprve ve druhé řadě jsou zachyceny faktory X, V, II, I.

Prodloužení:

- hemofilie A, B (nedostatek faktorů VIII, IX), vzácně XII, XI;
- DIC, hyperfibrinolýza (konzumpce faktorů);
- získaný (většinou přechodný) nedostatek faktoru VIII při masivní krevní transfuzi, po PNC;
- nedostatek faktorů I, II, V, X;
- podávání inhibitorů krevního srážení (heparinu);
- fyziologicky u kojenců.

Současný význam testu: používá se rutinně, standardně při předoperačním vyšetření, při kontrole léčby heparinem, dává se mu přednost před trombinovým časem (viz dále). Může se také použít

k orientační kontrole účinnosti přímého inhibitoru trombinu dabigatran etexilate.

Trombinový čas (TT – thrombin time)

Charakteristika: globální orientační test vnitřního koagulačního systému.

Princip: vyjadřuje rychlost tvorby fibrinu *in vitro*. Jde o koagulaci plazmy za přítomnosti konstantního množství přidaného trombinu, zachycující poslední fázi koagulace s výslednou tvorbou fibrinu.

Trombinový čas zachycuje první dvě ze tří fází při tvorbě fibrinu:

1. fáze: trombin odštěpuje z fibrinogenu fibrinopeptidy A a B (které působí současně jako antitrombiny);
2. fáze: polymerizace fibrinu;
3. fáze: zpevnění fibrinu účinkem faktoru XIII.

Výsledná doba srážlivosti závisí na koncentraci a reakci fibrinogenu, na okamžité inaktivaci přidaného trombinu, tj. na přítomnosti antitrombinů (heparin, degradační produkty fibrinu).

Použití:

- test ke kontrole léčby heparinem;
- monitorování fibrinolytické léčby;
- vyhledávací test při nedostatku fibrinogenu;
- vyhledávací test při podezření na poruchy tvorby fibrinu.

Hodnocení: normální hodnoty kolísají podle síly použitého trombinového reagentu mezi 12–22 sekundami.

Prodloužení:

- heparin (okamžitě působící antitrombin);
- degradační produkty fibrinogenu/fibrinu (FDP);
- trombolytická léčba;
- primární hyperfibrinolýza, DIC se sekundární hyperfibrinolýzou;
- snížení koncentrace fibrinogenu a kvalitativní poruchy molekuly fibrinogenu (dys-, hypo-, afibrinogenémie – fibrinogen pod 0,6 g/l);
- těžká jaterní onemocnění (virová hepatitida, cirhóza, nádor);
- vzácně paraproteinémie.

Současný význam testu: rutinně se používá, standardně při předoperačním vyšetření, při kontrole léčby heparinem je specifičtější.

Reptilázový čas (reptilase time)

Princip: test analogický TT, avšak s přidáním nikoli trombinu, ale reptilázového reagens k vyšetřované plazmě. Reptiláza (extrakt hadího jedu) štěpí molekulu fibrinogenu na fibrinopeptidy stejně jako trombin, ale na rozdíl od něj není reptiláza inaktivována antitrombinem (FDP, heparin).

Prodloužení: viz body uvedené u TT, s výjimkou heparinu, který reptilázový čas neovlivní.

Použití: k odlišení, zda prodloužení TT je v důsledku léčby heparinem, nebo zda se uplatňují jiné faktory.

Současný význam testu: stále se používá, indikuje hematolog.

Quickův test (synonymum protrombinový čas – prothrombin time, PT)

Charakteristika: skupinový (záchytný) test zevního systému plazmatické koagulace, aktivace protrombinového komplexu (F II, VII, IX, X) a tvorba trombinu s následnou přeměnou fibrinogenu na fibrin.

Princip: určujeme rekalcifikační čas citrátové plazmy zbavené krevních destiček, k níž jsme přidali tkáňový tromboplastin (fosfolipid, extrakt z mozku, placenty, plic apod.). Jde o určení času k vytvoření protrombinového komplexu jako výsledku kaskády zevního systému koagulace.

Hodnocení: koagulační doba závisí na množství protrombinu – faktoru II a aktivitě faktorů V, VII, X a faktoru I – fibrinogenu a na druhu (aktivitě) použitého tromboplastinu. Normální hodnoty se dříve vyjadřovaly v procentech aktivity normální plazmy (70–110 %) nebo ve zlomku, kde čitatelem je naměřený čas, jmenovatelem normální čas v sekundách (15–20 s); dnes je standardním vyjádřením INR.

Současný význam testu: rutinně se používá, standardně při předoperačním vyšetření, při kontrole léčby kumarinovými antikoagulanty (warfarin), je možné jej použít orientačně i ke kontrole účinnosti inhibitorů FXa (rivaroxabanu a apixabanu).

Mezinárodní normalizovaný poměr (INR – International Normalized Ratio): INR je poměrné číslo, v jehož čitateli je čas naměřený u pacienta a ve jmenovateli průměrný normální protrombinový čas v sekundách, tento poměr je umocněn na hodnotu ISI (index senzitivity použitého tromboplastinu). INR standardizuje výsledky protrombinového času také s ohledem na rozdílné aktivity různých šarží použitých reagensů. Umožňuje tak reprodukovatelnost výsledků, tj. jednotné hodnocení intenzity a kvality léčby všemi laboratořemi.

Prodloužení Quickova testu (INR)

- nedostatek a chybění faktorů II, VII, X, V;
 - poškození jaterního parenchymu;
 - DIC v přítomnosti FDP;
 - trombolytická léčba;
 - léčba heparinem, je-li koncentrace heparinu vyšší než 1 IU/l plazmy.
- Význam spočívá zejména v kontrole léčby dikumariny (warfarin), kdy se hodnoty udržují podle základní indikace;
- terapie trombózy, profylaxe (ortopedické) operace, prevence kardioembolického iktu nebo systémové embolizace při fibrilaci síní: INR = 2,0–3,0.

■ Vyšetření fibrinolýzy

Euglobulinová fibrinolýza (euglobulin clot lysis)

Charakteristika: test ke zjištění aktivity plazminogenu.

Princip: z plazmy izolovaná (vysrážená) euglobulinová frakce obsahující fibrinogen se rozpustí a po přidání reagens (kalciumchlorid) se opět vysráží. Měří se doba do opětovného rozpuštění.

Normální časy: > 120 minut

Časy se obvykle pohybují nad hranicí 240 minut. Zkrácení pod 120 minut je projevem zvýšené fibrinolýzy.

Urychlení (zkrácení) fibrinolýzy:

- trombolytická léčba (urokináza, streptokináza atd.);
- DIC;
- po operaci orgánů bohatých na plazminogen (plíce, pankreas, prostata, děloha, srdce);
- cirhóza jater,
- fyziologicky u kojenců.

Současný význam testu: stále se používá, mezi hlavní indikace patří první dva body.

Vyšetření degradačních produktů fibrinu

Latexový aglutinační test k průkazu degradačních produktů fibrinu

Charakteristika: semikvantitativní určení přítomnosti degradačních produktů fibrinu (FDP) v séru.

Princip: aglutinace pomocí latexových částic pokrytých protilátkami proti fragmentům fibrinu D a E.

Hodnocení: při přítomnosti FDP kapka zkoumaného séra na podložním sklíčku aglutinuje do dvou minut. Pozitivní test však nerozliší fibrinogen od FDP. Falešně pozitivní je až u 90 % nemocných se séropozitivním revmatoidním faktorem.

Pozitivní test:

- fibrinolytická léčba;
- hyperfibrinolýza;
- po operacích orgánů s vysokou koncentrací aktivátorů plazminogenu (plíce, prostata, děloha);
- DIC;
- tromboembolická nemoc.

Současný význam testu: po zavedení přesnějších testů na průkaz FDP se již prakticky nepoužívá.

Trombinový čas (TT)

Viz výše. V této indikaci jen hrubě orientační test na průkaz FDP.

Vyšetření fibrin-monomerů

A. Parakoagulační testy

Protaminsulfátový test

Charakteristika: test parakoagulace. Jde o průkaz fibrin-monomerů a časných degradačních produktů

fibrinogenu/fibrinu (nezachytí pozdní degradační produkty fibrinogenu/fibrinu).

Princip: štěpením fibrinu trombinem vznikají fibrinové monomery, které se v plazmě objevují pouze za patologických okolností (DIC, trombóza, šok apod.). Fibrinové monomery se vážou na jiné monomery, na fibrinogen a štěpné produkty fibrinogenu/fibrinu. Všechny tyto složky jsou součástí tzv. parakoagulace. Po přidání protaminsulfátu (nebo ethanolu – viz dále, ethanolový test) tvoří vločky a vlákna, jejichž průkaz svědčí pro přítomnost FDP-monomerů.

Hodnocení: pozitivní test při vytvoření (ve zkumavce) gelu nebo fibrinového vlákna během 15 až 30 minut. Pozitivita testu znamená přítomnost 0,01 mg/ml fibrin-monomerů.

Použití: zejména při DIC.

Ethanolový gelifikační test

Charakteristika: test parakoagulace. Jde o průkaz fibrin-monomerů a malých rozpustných polymerů v plazmě.

Princip: fibrin-monomery tvoří v přítomnosti ethanolu komplexy, které tvoří gel.

Hodnocení: pozitivní test při vytvoření (ve zkumavce) gelu do 10 minut. Pozitivita testu svědčí pro přítomnost fibrin-monomerů a je důkazem aktivace intravaskulární koagulace (DIC).

B. Speciální testy

Stanovení fibrinopeptidu A

Charakteristika: nepřímé stanovení fibrin-monomerů metodou radioimunoanalýzy nebo metodou ELISA.

Použití: speciální konfirmační test při podezření na DIC.

Hodnocení: nevýhodou je vysoká citlivost detekce i malého množství fibrin-monomerů, takže je pozitivní také při tromboembolické nemoci, u metastazujících karcinomů, sepse a dalších – bez projevů DIC.

Současný význam testu: speciální test, není rutinně prováděn.

Vyšetření D-dimerů

Charakteristika: imunochemické stanovení neoantigenů mezi D-doménami fibrinu a faktorem XIIIa.

Většina testů využívá monoklonální myši protilátky proti fragmentům D-dimeru navázané na latexové částice. V přítomnosti fragmentů D-dimeru latexové částice aglutinují a mění se propustnost světla při prostupu vzorkem.

Použití: jednoduchý a nejcitlivější konfirmační test DIC se senzitivitou 85 % a specifitou 97 %.

Hodnocení: pozitivita D-dimerů koreluje s pozitivitou FDP, kombinace obou testů dosahuje 100 %

senzitivity a 97 % specificity. V tab. 4.30. jsou uvedeny hodnoty při kvantitativním a semikvantitativním hodnocení a jejich klinická interpretace.

Stanovení antitrombinu

Princip: do naředěné plazmy s nadbytkem heparinu je přidáno známé množství trombinu a chromogenní substrát. Reziduální trombin reaguje se specifickým substrátem a odštěpená část substrátu, jejíž množství inverzně koreluje s koncentrací AT, je detekována spektrofotometricky.

Normální hodnoty: dolní limit 70–80 %, horní 120–140 %; snížení méně než 70 %.

Použití: snížené hodnoty nacházíme:

- u DIC;
- při léčbě heparinem;
- u rozsáhlých trombóz;
- u těžké jaterní léze;
- při užívání orálních kontraceptiv;
- u pooperačních stavů.

Stanovení tkáňového aktivátoru plazminogenu (t-PA)

Princip: stanovuje se imunologickými (detekce volného t-PA i vázaného s PAI-1) a funkčními testy (po eliminaci inhibitorů z euglobulinové frakce). Normální hodnoty široce kolísají v rozmezí 1,2 až 8,6 ng/ml při stanovení imunologickými metodami, funkční testy jsou metodicky obtížné a jsou zatíženy větší chybou, i přes mezinárodní standardy t-PA.

Snížení hodnot: u recidivující hluboké žilní trombózy.

Použití testu: dosud v experimentálních podmínkách.

Stanovení inhibitoru tkáňového aktivátoru plazminogenu 1 (PAI-1)

Princip: stanovuje se funkčními metodami, které jsou založeny na využití interakce mezi PAI-1 a t-PA s výslednou bloádou štěpení plazminogenu na funkční plazmin. Stupeň inhibice t-PA, který se projevuje kvantitativním omezením tvorby plazminu, je indikátorem plazmatické koncentrace PAI-1. K detekci se využívá chromogenních substrátů.

Použití: PAI-1 je reaktant akutní fáze, proto je interpretace jeho zvýšených hodnot (infarkt myokardu, trombóza) obtížná a využití je omezené.

■ Vyšetření inhibitorů krevního srážení

Stanovení proteinu C (PC)

Princip: stanovuje se:

- antigen metodou ELISA;
- funkční aktivita chromogenní nebo koagulační metodou.

Abnormální hodnoty: u heterozygotního deficitu proteinu C jsou hodnoty kolem 50 %, u homozygotního kolem 5 % a méně.

Hodnocení: vždy v souvislosti s rodinnou a osobní anamnézou recidivující tromboembolie, s léčbou dikumarinovými antikoagulancii. Při stanovení funkční aktivity proteinu vzít v úvahu vysoké procento poruch u hospitalizovaných pacientů při léčbě dikumariny a heparinem.

Vyšetření rezistence k aktivovanému proteinu C (APC-R)

Princip: jde o vyšetření rezistence vůči aktivovanému proteinu C.

Charakteristika: orientační koagulační test.

Hodnocení: normální hodnoty nad 2,0. Při snížení je indikováno vyšetření DNA k odhalení leiden-ské mutace faktoru V (FVL) (viz dále).

Stanovení proteinu S (PS)

Nejpřesnější je imunologická metoda, která umožní stanovit volný protein S. Je možné ji provádět na automatických analyzátorech.

Stanovení změny inhibice FXa (monitorování podávání LMWH – chromogenní testy nebo koagulační testy PiCT – protrombinázou indukovaný čas koagulace)

Použití a aplikace: anti Xa je chromogenní test pro stanovení aktivity heparinu v plazmě a pro monitorování heparinové terapie.

Heparin významně urychluje inaktivaci koagulačního faktoru Xa a trombinu antitrombinem III. Z tohoto důvodu jsou nefrakcionované a nízkomolekulární heparinové preparáty užívány jako terapeutické antikoagulanty. V důsledku různých vlivů se účinek stejné dávky heparinu u různých pacientů liší. Pokud použijeme chromogenní testy antiXa, je možné monitorovat terapii s nízkomolekulárními i nefrakcionovanými heparinovými preparáty.

Princip: faktor Xa je během inkubační fáze testu inaktivován antitrombinem III. Tato reakce je katalyzovaná heparinem. Dextranulfát (DS) uvolňuje heparin navázaný na přítomné faktory, a tudíž ho činí přístupným pro stanovení. Množství faktoru Xa zbylého po inkubační fázi je možné odvodit ze vzrůstu absorbance při 405 nm za použití chromogenního substrátu v kinetickém testu.

Podle doporučení 8. ACCP 2008 je třeba při léčbě a profylaxi s LMWH dodržet tyto hodnoty a pokyny k odběru:

Čas náběru pro monitorování léčby žilní trombózy: pokud se LMWH podává po 12 hodinách, je to 4. hodina po podání LMWH s.c. Koncentrace anti-Xa se má pohybovat mezi 0,6–1,0 IU/ml.