

Spadia News



Úvodní slovo



Vážení kolegové,

Vánoce se blíží tak neuvěřitelným tempem, že si často říkám, zda se stihneme aspoň na chvíli zastavit. Žijeme v uspěchané době a tento spěch je ještě více katalyzován moderními komunikačními prostředky.

Jistě jste zaregistrovali výpadek telefonních linek v naší centrální laboratoři, který způsobil velký problém – v prvním okamžiku jsme nebyli schopni okamžitě reagovat. Jako bychom již zapomněli na to, že před 20 lety jsme čekali na výsledek glukózy 2-3 dny, na hormony měsíc a některá vyšetření, např. z genetiky byla pouze v sci-fi knihách. Je pravda, že chtít teď řešit laboratoř jako před 20 lety by bylo „lehce výstřední“ a tudíž trend, mít všechno velmi rychle a někdy 24 hodin a 7 dní v týdnu, je rutinně vyžadován.

Tato velká „komunikační nepříjemnost“ – nefunkčnost telefonních linek, ještě více dává za pravdu našemu rozhodnutí rozšířit komunikační možnosti naší laboratoře. Vyvinuli jsme specializovaný software, který umožní automaticky, po individuálním nastavení, posílat jednak kritické hodnoty u důležitých analytů, ale i výsledky vyšetření, která mají pro lékaře speciální význam. Tyto zprávy může náš program poslat buď SMSkou, e-mailem nebo se může tato informace objevit na liště počítače. Tímto chceme obejít často velmi zdržující telefonování a zajistit, že se důležité informace o vašich pacientech, resp. klientech, dostanou k vám co nejdříve a zejména i v době, kdy nejste přímo v ordinaci. Věřím, že tuto službu, která je součástí našeho komunikačního programu, budete využívat. Jako pádný důvod pro využívání této služby uvádím komentář jednoho auditora při akreditaci k jeho otázce „co uděláme s hodnotou vyšetření u pacienta PT (QUICK) větší než 6 a nedovoláme se lékaři“. Správná odpověď na jeho otázku měla znít: zavoláte policii České republiky nebo městskou policii a s pomocí těchto složek předáte tuto informaci lékaři nebo pacientovi. Zní to jistě absurdně, ale i takto může vypadat předání výsledků s kritickými hodnotami.

Naše laboratoř úspěšně absolvovala náročný, tři týdenní reakreditační audit. Chci vás ujistit, že přestože můžeme udělat chybu, tak díky nastaveným procesům, můžeme tyto chyby najít a v budoucnu se jim vyvarovat.

Během celého roku jsme průběžně investovali do nových technologií, které používáme v každodenní práci v naší laboratoři. Zejména oddělení lékařské genetiky se může pyšnit přístroji, které se na severní Moravě v klinických laboratořích mimo SPADIA LAB nevyskytují. Rovněž oddělení hematologie má přístroj pro stanovení krevního obrazu poslední generace.

Laboratoře, obdobně jako celé zdravotnictví nemají na různých ustláno. Úhradová vyhláška laboratořím nepřidala a navíc se na hospodaření velmi negativně podepsalo zvýšení DPH. Je pravda, že této situace – nedostatku financí - využívají zejména velké řetězce ovládané investičními skupinami, které si „kupují“ trh. Chci věřit, že omezené prostředky našeho zdravotnictví nebudou končit, prostřednictvím zahraničních majitelů zdravotnických zařízení, v daňových rájích.

Ale zpět k vánocům, protože tyto svátky si zaslouží, abychom nemysleli jen na práci a stres, který z toho plyne, ale naopak, abychom si dopřáli trochu méně spěchu, trochu méně nepřátelství a trochu více času věnovaného svým blízkým.

Vážení kolegové, za celou laboratoř SPADIA LAB Vám přeji pohodové svátky a vše nejlepší, hodně zdraví a osobních i profesionálních úspěchů a na naší další spolupráci v roce 2014.

Martin Radina
ředitel

Alfa-1 - mikroglobulin v moči

Mgr. Peter Loučka, laboratoř biochemie oddělení instrumentálních metod

Alfa-1-mikroglobulin je nízkomolekulární protein (26kDa) ze skupiny lipofilních transportních proteinů lipokalinů. Biologická funkce není dosud spolehlivě známa. Navržený model popisuje alfa-1-mikroglobulin jako „odpadkový koš“, který ze tkání kontinuálně odstraňuje volné radikály a oxidační agens, zejména hem. Následně je transportován do ledvin, kde je degradován. Tímto způsobem chrání buňky a tkáň před poškozením abnormálně vysokými koncentracemi volného hemoglobinu a oxidačním stresem. Je popisována také imunoregulační funkce: imunitní odpověď lymfocytů a neutrofilů je částečně potlačována alfa-1-mikroglobulinem.

Je syntetizován v játrech, volně filtrován v glomerulech a resorbován buňkami proximálního tubulu, kde je degradován. Za normálních podmínek proniká do moči velmi malé množství α -1-mikroglobulinu.

Zvýšená exkrece α -1-mikroglobulinu může indikovat poškození renálních tubulů spojené s renální tubuloin-

tersticiální nefritidou nebo toxickým působením těžkých kovů či nefrotoxických léčiv. Také glomerulonefropatie a renální vaskulopatie jsou často asociovány s poškozením resultujícím ve zvýšení koncentrace alfa-1-mikroglobulinu v moči. U pacientů s infekcí urotraktu mohou zvýšené koncentrace alfa-1-mikroglobulinu indikovat rozšíření infekce do ledvin (pyelonefritida).

Z výše uvedeného vyplývají indikace k vyšetření koncentrace alfa-1-mikroglobulinu v moči: hodnocení renálního tubulárního poškození nebo dysfunkce; screening tubulárních abnormalit; detekce chronické asymptomatické renální tubulární dysfunkce.

Alfa-1-mikroglobulin vyšetřujeme denně ze vzorku raní moče. Stabilita vzorku je 7 dní při 15-25°C, 14 dní při 2-8°C, 3 měsíce při -20°C. Vyšetření provádíme imunoturbidimetrickou metodou. Výsledky vydáváme v jednotkách mg/g kreatininu.



Celiakie a její laboratorní diagnostika

RNDr. Ivo Lochman, laboratoř imunologie a sérologie

Celiakie je definována většinou jako enteropatie způsobená u geneticky predisponovaných jedinců zvýšenou vnímavostí na **gliadin**, jednu ze základních složek lepku, na jejíž patogenезi se podílí imunitní systém. Může mít širokou klinickou manifestaci od typických gastrointestinálních potíží nalézáných především u dětí, až po neurologické, kožní (Morbus Düring – dermatitis herpetiformis) aj. potíže, převážně u dospělých. Celiakii tak můžeme také definovat jako systémové autoimunitní onemocnění vyvolané u vnímavých jedinců gliadinem. Nejtypičtějším průvodními patologickými gastrointestinálními změnami jsou destrukce klků a zbytnění krypt na sliznici tenkého střeva. Tento histologický nálezn založený na invazivním biotickém vyšetření byl až donedávna pokládán za základní diagnostické vyšetření, specifické pro celiakii. Destrukce střevní sliznice, jejíž rozsah je hodnocen podle Marshových kritérií, však není pro celiakii specifická a může být vyvílena i jinými spouštěči než gliadin. Se stále dokonalejší, dostupnou a spolehlivější sérologickou diagnostikou se požadavek na biotické vyšetření jako nezbytného vyšetření pro diagnostiku celiakie postupně upouští. **Jediným spolehlivým diagnostickým kritériem celiakie je však stále i dnes zůstává vymizení klinických příznaků tohoto onemocnění po nasazení**

bezlepkové diety.

Gliadin je jedna ze základních stavebních složek lepku. Prolamin přítomný v pšenici obsahuje antigenní determinanty (epitopy), vyvolávající vznik protilátek účastnících se v patogenезi celiakie. Existují různé typy gliadinu (α/β , γ , $\omega 2$ a $\omega 5$), z nichž v patogenезi celiakie se uplatňují především některé epitopy α -gliadinu. U alergií jsou to pak některé epitopy ω -gliadinů. Různé výsledky laboratorních testů na stanovení protilátek proti gliadinu způsobuje mj. i nejednotnost a nedefinovanost gliadinů používaných v různých komerčních soupravách. V patogenезi celiakie hrají významnou úlohu deamidované epitopy/peptidy gliadinu (**DGP**), které jsou produkovány po jeho interakci a vazbě s **tkáňovou transglutaminázou (tTG)**. Protilátky proti DGP mají v diagnostice celiakie daleko vyšší specifčnost než protilátky proti nativnímu gliadinu. DGP mají totiž k rizikovým HLA DQ alelám, pomocí nichž jsou antigeny nabízeny buňkám imunitního systému, až 400x vyšší aviditu (vazebnou sílu) než nativní nedeamidované epitopy gliadinu. Přítomnost těchto rizikových alel u postiženého jedince je podmínkou vzniku celiakie. Jen 0,5% jedinců postižených celiakií nemá **rizikové DQ2 nebo DQ8 alely**.

.. pokračování na str. 3

.. pokračování ze str. 2

Transglutaminázy (TG) jsou ubikvitární enzymy, které jsou lokalizovány v různých tkáních organismu. Jsou součástí endomysia a bylo prokázáno, že jsou hlavními autoantigeny u celiakie. Málo se ví a uvádí, že mají nejen deaminační aktivitu, ale, jsou-li součástí buněčných membrán, i aktivitu translokázovou (GTP-ázovou). Je známo 8 různých transglutamináz. Přestože jsou TG především intracelulární enzymy, jak již bylo zmíněno, vyskytují se některé z nich také v buněčných membránách a jsou uvolňovány do mimobuněčného prostoru. Hlavní TG v tenkém střevě je TG2 nazývaná také tkáňová transglutamináza (**tTG**). Tkáňová transglutamináza je ubikvitární enzym, který je syntetizován v řadě buněk a je uvolňován také do mezibuněčného prostoru. Mezi buňky syntetizující tTG patří i epitelální buňky, buňky hladkého svalu a enterocyty tenkého střeva. Vazby vytvořené transglutaminázou při deamidaci peptidů obsahujících glutamin vykazují vysokou odolnost vůči proteolytické degradaci. To hraje důležitou úlohu např. při hojení ran (viz níže).

U pacientů s celiakií jsou produkovány protilátky nejen proti gliadinu, ale i protilátky proti tTG, která po průchodu střevní sliznicí gliadin odbourává. Jak již bylo řečeno, tkáňové transglutaminázy jsou součástí **endomysia**, což je jemná pojivová tkáň obklopující svalová vlákna jako pochva. Obsahuje kolagen, retikulin a další endomysální antigeny včetně tTG. Nález protilátek proti tTG proto koreluje dobře s nálezem protilátek proti endomysiu (**EMA**), které lze detekovat metodou nepřímé imunofluorescence (IFA) na řadě substrátů. V současné době je preferováno před vyšetřováním EMA, které nelze ještě plně automatizovat a jejichž odečítání vyžaduje zkušeného pracovníka, vyšetřování **anti-tTG** protilátek, které se stanovují imunoenzymatickými metodami (různé formy ELISA, imunoblotu, ALBIA apod.), které lze poměrně dobře standardizovat a provádět na analyzátoch. Vyšetření protilátek proti tTG je dnes považováno podle doporučení ESPGHAN jako nejvhodnější screeningové vyšetření na celiakii, kdy dostatečně vysoké koncentrace anti-tTG ve třídě IgA svědčí s >95% pravděpodobností pro celiakii.

Definujeme-li celiakii jako systémové autoimunitní onemocnění vyvolané gliadinem, pak bychom měli také prokázat, že gliadin je spouštěcím faktorem onemocnění. Před tím, než byly objeveny EMA a následně anti-tTG a jejich souvislost s celiakií, bylo vyšetřování **anti-gliadinových protilátek (AGA)** základním sérologickým vyšetřením při podezření na celiakii. Dnes je toto vyšetření z výše uvedených důvodů v souvislosti s celiakií opouštěno a je nahrazováno vyšetřováním

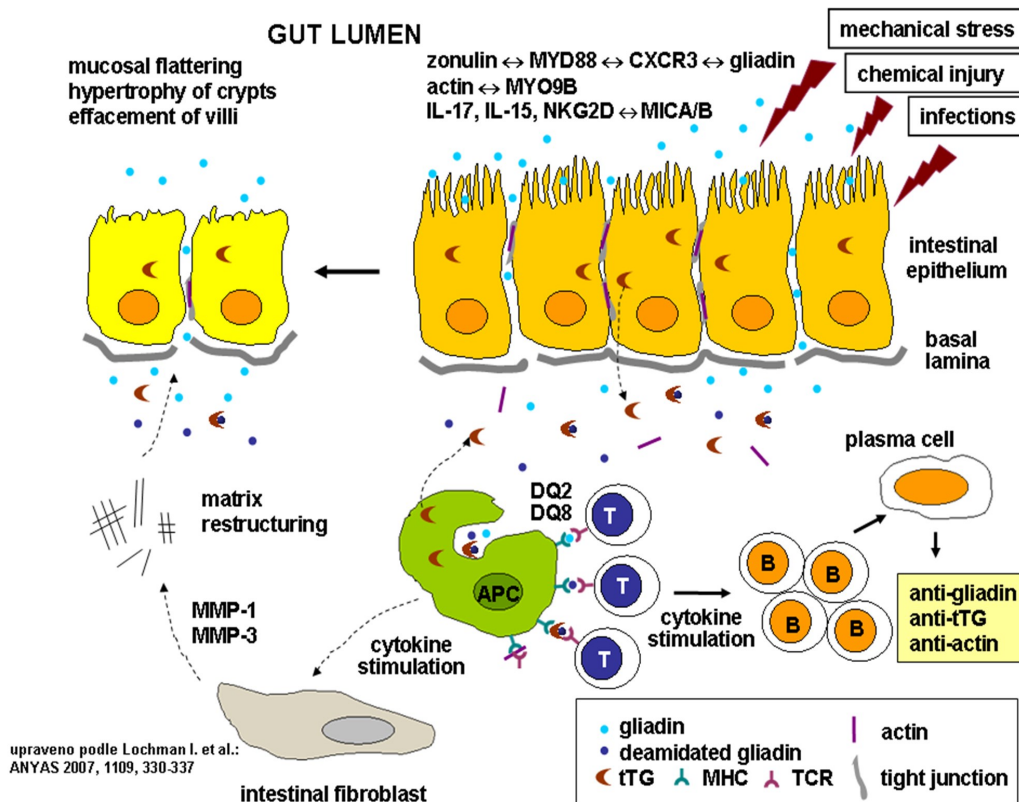
anti-DGP protilátek. Ukázalo se, že stanovení anti-DGP protilátek ve třídě IgG má pro diagnostiku celiakie zhruba stejnou senzitivitu a specifčnost jako stanovení anti-tTG ve třídě IgA. Vyšetřování anti-DGP protilátek je také vhodné vyšetření pro ověřování, zda pacient skutečně dodržuje bezlepkovou dietu. Při jejím dodržování musí anti-DGP postupně klesat, až zcela vymizí. Jako optimální screeningové vyšetření na celiakii se dnes proto jeví současné vyšetření anti-DGP ve třídě IgG (potvrzení účasti gliadinu v patogenezi onemocnění) a anti-tTG nebo EMA ve třídě IgA (potvrzení autoimunitní reakce probíhající ve střevě). Jsou-li anti-DGP ce třídě IgG zvýšené a anti-tTG ve třídě IgA v normě (popř. IgA EMA negativní), je zapotřebí ověřit, zda se nejedná o pacienta s IgA deficitem. U pacientů s IgA deficitem nebo velmi nízkými koncentracemi sérového IgA je pak zapotřebí provést také vyšetření anti-tTG popř. EMA ve třídě IgG.

Při interpretaci výsledků vyšetření v diagnostice celiakie si je také zapotřebí uvědomit, že lepek není z hlediska evoluce přirozenou a základní složkou lidské potravy a tím také gliadin není základním specifickým antigenem pro tTG. Evoluce člověka trvá cca 2,5 miliónů let, zatímco lepek se jako významná složka jeho potravy začal objevovat ve zvýšené míře až v souvislosti se zemědělstvím, tj. zhruba před 10 000 lety. Na zvýšený přísun lepku v potravě se musel organismus člověka i jeho imunitní systém teprve postupně adaptovat.

Vzhledem k vysoké homologii TG a jejich ubikvitárnímu rozložení v tkáních člověka není překvapivé, že protilátky vytvořené proti TG v jedné tkáni/orgánu, se tělními tekutinami dostávají i do dalších tkání a orgánů a mohou reagovat s příslušnými epitopy TG v těchto tkáních, pokud se tyto vyskytují v extracelulárních prostorech nebo na membránách buněk. To platí i o protilátkách proti tTG vytvořených v zažívacím traktu. Předpokládá se, že tyto protilátky mohou reagovat i s jinými transglutaminázami přítomnými např. v kůži (TG3) nebo nervové tkáni (TG6). Jak již bylo řečeno, jsou-li TG součástí membrán buněk, mají také GTP-ázovou aktivitu a mohou působit jako G-proteiny přenášející signál během reakce na některé hormony. Při tom protilátky proti tTG od pacientů s celiakií stimulují její transamidační/deamidační aktivitu i více než 2x, ale snižují její GTP-ázovou aktivitu až na polovinu. Tak lze vysvětlit různé mimogastrointestinální potíže způsobené celiakií.

Tkáňová transglutamináza se v extracelulárním prostoru podílí aktivně v procesu koagulace (podporuje vazbu mezi fibronectinem a integriny).

.. pokračování na str. 4



Obr. 1:
Schéma patogeneze celiakie

Zonulin – protein účastnící se na pevných spojích (tight junctions) mezi stěnami buněk trávicího traktu. Objeven byl v r. 2000 jako cílová struktura toxinu zonula occludens produkovaného *Vibrio cholerae*. **MYD88** – adapterový protein kódovaný „Myeloid differentiation primary response“ genem 88 podílející se na přenosu signálu prostřednictvím TLR a aktivaci NF-κB. **CXCR3** – chemokinový receptor. Vazba chemokinů na tento receptor indukují mnoho různých buněčných odpovědí včetně aktivace integrinů, chemotaktickou migraci leukocytů, zrání Th1 lymfocytů a cytoskeletární změny. **MYO9B** – myosin IXB. Ovlivňuje na funkci aktinových vláken. Má rovněž rho-GTP-ázovou aktivitu. Polymorfismus MYO9B genu je asociován s vnímavostí jedince k celiakii a ulcerativní kolitidě. **NKG2D** – integrální membránový protein NK buněk a γδ-T lymfocytů kódovaný u lidí KLRK1 genem. Je označován také CD134. Je ligandem pro MICA a MICB a jeho aktivace spouští cytolytickou aktivitu. **MICA** a **MICB** – vysoce polymorfní proteiny strukturálně podobné MHC proteinům exprimované především na epiteliích GIT, endoreliálních buňkách a fibroblastech kódované MICA a MICB geny (major histocompatibility complex class I chain-related gene)

upraveno podle Lochman I. et al.:
ANYAS 2007, 1109, 330-337

.. pokračování ze str. 3

Podílí se výrazně i na procesu apoptózy. Proto jsou i projevy celiakie, především u dospělých, tak různorodé. Protilátky proti tTG jsou nacházeny u řady onemocnění zánětlivého charakteru, neurologických, nádorových, ale jen v některých případech může být takovéto onemocnění kladně ovlivněno bezlepkovou dietou (GFD) a tudíž lze takovéto onemocnění pokládat za celiakii. Prevalence anti-tTG ve třídě IgA u zdravé populace je 0,69 – 1,10%.

Málo na zřetel se zatím bere skutečnost, že celiakie může u vnímavých jedinců často vzniknout jen tehdy, nastává-li zvýšený přísun gliadinu ze střeva do extraintestinálního prostoru, kde interaguje s tTG a vyvolává zánětlivou a autoimunitní reakci se všemi jejich klinickými příznaky, delší dobu, tj. více než několik dnů. Biopsický nález hodnocený podle Marshe dává statickou informaci o aktuálním stupni destrukce střevní sliznice. O aktuální intenzitě destrukčního procesu se lze informovat stanovením protilátek proti F-aktinu ve třídě IgA, neboť F-aktin se podílí významně na stavbě střevní stěny a sliznice, která je zodpovědná za její propustnost.

Diagnostiku celiakie je zapotřebí oddělit od diagnostiky potravinové intolerance a potravinové alergie. V diagnostice potravinové intolerance zůstávají i nadále důležité protilátky proti nativnímu gliadinu ve třídě IgA a IgG, u potravinových alergií ve třídě IgE.

Laboratoře Spadia Lab nabízejí v diagnostice celiakie tato vyšetření:

- 1) Screeningové vyšetření, které se sestává z vyšetření anti-tTG ve třídě IgA a anti-DGP ve třídě IgG
- 2) Samostatná vyšetření IgA anti-tTG, IgG anti-tTG, IgA EMA, IgG EMA, IgA anti-DGP, IgG-anti-DGP a jejich libovolné kombinace
- 3) Vyšetření rizikových alel pro celiakii – HLA DQ2 cis (DQA1*05 - DQB1*02 - DRB1*03), HLA-DQ2 trans (DQA1*05 - DQB1*0301 - DRB1*11/DRB1*12-DQA1*02 - DQB1*02 - DRB1*07) a HLA DQ8 (DQA1*03 - DQB1*0302 - DRB1*04)

Laboratoře Spadia Lab nabízejí také vyšetření IgG a IgA protilátek proti nativnímu gliadinu v rámci diagnostiky potravinových intolerancí a IgE protilátek proti gliadinu v rámci diagnostiky potravinových alergií.



Diferenciální diagnostika hyperbilirubinemií

Metabolismus bilirubinu a jeho exkrece

Mgr. Kateřina Andelová, laboratoř biochemie

Bilirubin řadíme mezi žlučová barviva vznikající ve tkáni rozpadem hemu z hemoglobinu v systémové cirkulaci u všech placentárních živočichů, v menší míře vzniká i z jiných sloučenin obsahující hem (cytochromy, kataláza, myoglobin apod.). Primárním místem degradace erytrocytů a metabolismu bilirubinu je slezina. Katabolismem hemu vzniká nejprve *biliverdin*, který ještě ve slezině podléhá redukci na *bilirubin*. Hydrofobní (ve vodě nerozpustný) bilirubin se v krevní cirkulaci váže na svůj transportní nosič – albumin. Bilirubin vázaný na albumin se označuje jako **nekonjugovaný** nebo též **nepřímý bilirubin**, který není filtrován ledvinami a hlavní cestou jeho vylučování je sekrece játry do žluče po konjugaci s kyselinou glukuronovou. U jedinců s analbuminemií (vrozená absence albuminu v krevní cirkulaci v důsledku genetické mutace) přebírá transportní funkci albuminu HDL- lipoprotein, event. další proteiny krevní plazmy.

Vzniklý bilirubin-albuminový komplex je vychytáván jaterními buňkami, kde dochází v disociaci a uvolněný bilirubin podléhá konjugaci s kyselinou glukuronovou v reakci katalyzované enzymem *UDP-glukuronyltransferázou (UGT)*, přičemž bylo identifikováno několik transkriptů v odlišných izoformách. Výše popsanou reakci katalyzuje enzym označovaný jako *UGT1A1* (důležité pro diferenciální diagnostiku). Bilirubin esterifikovaný s kyselinou glukuronovou se označuje jako **konjugovaný** nebo též **přímý bilirubin**, v krevní cirkulaci je přítomen ve stopovém množství a ve slabé vazbě na albumin, při zvýšené koncentraci v krevní cirkulaci volně proniká do moči. Při déletrvajícím konjugovaném hyperbilirubinémii vzniká kovalentní vazba mezi konjugovaným bilirubinem a albuminem – tzv. **d-bilirubin**. Většina konjugovaného bilirubinu se dostává žlučovými cestami do duodena (tenkého střeva), kde dochází k jeho redukci na řadu produktů tzv. *urobilinoidy*, z nichž největší podíl tvoří urobilinogen a sterkobilinogen. Část těchto barviv je resorbována zpět do portálního oběhu, přičemž jaterní buňky urobilinogen vychytávají a dále metabolizují. Při jejich poškození prochází urobilinogen do systémového oběhu a je vyloučeno močí. Majoritní část urobilinoidů je vylučována stolicí (Obr. 1).

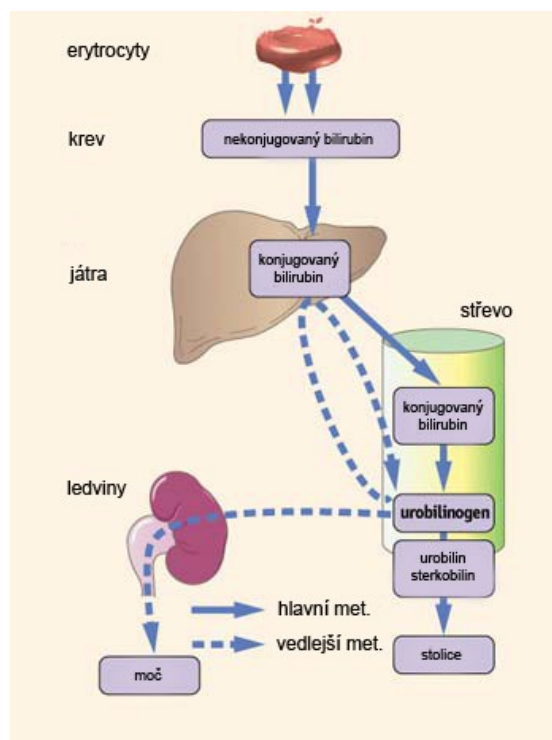
Ačkoli byl bilirubin v minulosti označován jako látka potenciálně toxická pro organismus, mírná elevace hodnot v krevní cirkulaci má v důsledku silných antioxidačních vlastností bilirubinu pro organismus protektivní význam

a to především u onemocnění, v jejichž patogenezi sehrává velkou roli *oxidační stres*. Ochranné účinky nekonjugovaného bilirubinu při jeho mírně zvýšených hodnotách byly popsány u aterosklerózy, některých onkologických a zánětlivých chorobách, autoimunitních a neurodegenerativních onemocnění. Recipročně se také ukazuje, že snížené koncentrace bilirubinu v krevní cirkulaci jsou asociovány s vyšším rizikem vzniku těchto chorob. Důvody těchto asociací nejsou t.č. zcela jasné.

Definice hyperbilirubinemie

Elevací bilirubinu v krevní cirkulaci nad horní hranici referenčního intervalu vzniká hyperbilirubinemie, která se klinicky manifestuje ikterem (žloutenkou) a dochází k typickému žlutému zabarvení kůže, sliznic a sklér (Obr. 2). Příčina hyperbilirubinemie, vzhledem ke složitému metabolismu bilirubinu, může vznikat při poruchách na různých etážích transportu a metabolismu bilirubinu. Obecně je diferencujeme na nekonjugované hyperbilirubinemie a konjugované hyperbilirubinemie. Kombinací obou typů vznikají smíšené hyperbilirubinemie.

.. pokračování na str. 6



Obr. 1: Metabolická přeměna bilirubinu

.. pokračování ze str. 5

• Nekonjugované hyperbilirubinemie

Nekonjugované hyperbilirubinemie zahrnují stavy, které dělíme z hlediska etiologie na 3 základní skupiny:

1) Stavy spojené s nadprodukcí bilirubinu

- ⇒ hemolytické anemie,
- ⇒ inefektivní erytropoéza (talasemie, megaloblastové anemie, MDS),
- ⇒ extravaskulární hemolýza (tkáňové infarkty, krvácení z cév po kanylacích, katetrizacích, opakovaných venepunkcích a/nebo operačních výkonech).

2) Stavy spojené s poruchou vychytávání bilirubinu játry

- ⇒ hyperbilirubinemie v novorozeneckém období

3) Stavy spojené s poruchou konjugace bilirubinu

- ⇒ Vrozené defekty konjugace bilirubinu v játrech (familiární nekonjugované hyperbilirubinemie) – Gilbertův syndrom, Criglerův-Najjarův syndrom I a II typu.
- ⇒ Získaný defekt konjugace bilirubinu, tedy snížená aktivita UGT1A1 (glukuronyltransferázy). Dochází při difúzním hepatocelulárním poškození (steatóza, jaterní cirhóza a/nebo fibróza) a při medikamentózních působení některých xenobiotik.

• Konjugované hyperbilirubinemie

Konjugované hyperbilirubinemie vznikají na podkladě obstrukce žlučových cest a jsou nejčastějším typem ikteru. Stavy spojené s konjugovanou hyperbilirubinemií dělíme na:

1) Získané konjugované hyperbilirubinemie:

- a) sdružené s intrahepatální cholestázou (primární biliární cirhóza, alkoholová hepatitida, cholangitida, postoperační stavy, převážně kardiochirurgické výkony na otevřeném srdci aj.)
- b) sdružené s extrahepatální cholestázou (nádory podjaterní krajiny, záněty žlučových cest, komprese a/nebo traumata žlučových cest, cholelitiáza aj.).

2) Familiární konjugované hyperbilirubinemie (Dubinův-Johnsonův syndrom, Rotorův syndrom).

• Smíšená hyperbilirubinemie

Ke smíšené hyperbilirubinemií dochází při kombinaci etiopatogenetických faktorů uplatňujících se při vzniku nekonjugované a konjugované hyperbilirubinemií. Typicky se jedná o onemocnění difúzně poškozující jaterní parenchym, řadíme zde i polékové či jiné toxické po-

škození jater (akutní virová a/nebo chronická hepatitida).

Diferenciální diagnostika hyperbilirubinemií

U každého ikterického nemocného je prvním a nejjednodušším krokem vyšetření celkového a konjugovaného bilirubinu v séru, doplněné chemickým vyšetřením vzorku moče. Nepřítomnost bilirubinu v moči a elevace celkového bilirubinu v séru svědčí pro nekonjugovanou hyperbilirubinemii. Při vyšetření séra označujeme jako nekonjugovanou takovou hyperbilirubinemii, která má více než 50% celkového bilirubinu nekonjugovaného.

Smíšená hyperbilirubinemie je doprovázena zvýšením koncentrace nekonjugovaného (a tedy i celkového) i konjugovaného bilirubinu. V moči nalézáme pozitivní průkaz bilirubinu i urobilinogenu těžce poškozené hepatocyty nevychytají všechen urobilinogen z portální krve). Současně dochází k elevaci transamináz (ALT, AST), LDH a vyšší koncentraci železa.

Odlišit smíšenou a konjugovanou hyperbilirubinemii lze v první linii nepřítomností urobilinogenu v moči. Při konjugované hyperbilirubinemií v krevním séru nacházíme zvýšené hodnoty konjugovaného i celkového bilirubinu, ALP, GGT, nejsou zvýšeny (nebo jen minimálně) aminotransferázy. Při déletrvajícím obstrukci nalézáme hypercholesterolemii. V moči signifikantní pozitivní průkaz bilirubinu bez urobilinogenu. V diferenciální diagnostice při podezření na akutní hepatocelulární lézi je nutné dovyšetřit markery virových hepatitid (anti-HAV IgM, HBsAg, anti-HBc IgM, anti-HCV), ukazatele chronického abúzu alkoholu (CDT), markery akutního zánětu (CRP, FW, leukocytóza) a vyloučit polékové poškození.

Maligní infiltrace i možné biliární obstrukce jsou diagnostikovány použitím zobrazovacích technik (USG, CT či ERCP). Není-li etiologie jasná, bývá nutná biopsie jaterní tkáně.



Obr. 2: Ikterus – klinická manifestace
Převzato z: Topinková Eva,
Obrazový atlas chorobných stavů, 2006.

.. pokračování na str. 7

.. pokračování ze str. 6

Analytické aspekty laboratorní stanovení bilirubinu

Oddělení klinické biochemie Spadia Lab, včetně satelitních laboratoří využívají totožné reagenční soupravy pro stanovení celkového a konjugovaného bilirubinu v krevní cirkulaci. Bilirubin je v rutinní praxi stanovován tzv. diazoreakcí, přičemž reakcí vznikají azopigmenty (barevné produkty), které mají typické absorpční maximum při definovaném pH. Podle reakce s činidlem bylo v minulosti použito u označení a diferenciaci bilirubinu, zda reagoval přímo či nepřímo s reagenčním činidlem (odvození nekonjugovaného, nepřímého bilirubinu vs. konjugovaného, přímého bilirubinu).

Rutinní stanovení bilirubinu v séru zahrnuje součet konjugovaného a nekonjugovaného bilirubinu. Přičemž u závažné konjugované hyperbilirubinémie může být výsledek celkového bilirubinu nižší než konjugovaného bilirubinu.

Reagenční souprava určená pro stanovení konjugovaného bilirubinu reaguje s konjugovaným bilirubinem v krevním séru za vzniku červeného azobarviva. d-bilirubin reaguje taktéž přímo s reagenčním činidlem při biochemickém stanovení konjugovaného bilirubinu, což se projeví falešnou pozitivitou výsledků stanovení. U těchto pacientů je pozorována konjugovaná hyperbilirubinémie při absenci bilirubinu v moči (způsobenou elevací d-bilirubinu). Přímé stanovení d-bilirubinu není rutinně prováděno a při diskrepanci výsledků konjugovaného bilirubinu a průkazu, resp. při absenci bilirubinu v moči, je nutné pomýšlet na zvýšení d-bilirubinu u nemocných po odstranění příčiny cholestázy. d-bilirubin se přirozeně nevylučuje do moče a biologický poločas je uváděn 14-24 dnů. Takto dlouhý poločas je také důvodem pomalého snižování konjugované hyperbilirubinémie u cholestázy.

Bilirubin a urobilinogen v moči

Pozitivní reakce na přítomnost bilirubinu v moči indikuje konjugovanou (přímou) hyperbilirubinémii, protože do

moče se vylučuje pouze konjugovaný bilirubin. Detekční limit je výrobcem uváděn jako 8,5 $\mu\text{mol/l}$. Ačkoli se jedná

o semikvantitativní stanovení, v literatuře bývá metoda označována jako spolehlivá. Problémy činí pouze expozice vzorku moče světlu a teple a rychlost zpracování materiálu. Vzorek moče by měl být zpracován během jedné hodiny po odběru. Existují však další interferující látky a to: kyselina askorbová nebo nitrity, které mohou způsobit falešnou pozitivitu průkazu bilirubinu v moči.

Urobilinogen slouží spolu s průkazem bilirubinu v moči jako indikátor v diagnostice hyperbilirubinémie s ostatním laboratorním nálezem v krvi. Průkaz je založen na azokopulační reakci se stabilizovaným činidlem – tzv. Ehrlichova reakce. Pozitivní reakce indikuje přítomnost urobilinoidů v moči (urobilinogenu i sterkobilinogenu). Detekční limit je výrobcem uváděn jako 35 $\mu\text{mol/l}$. Průkaz urobilinogenu v moči doprovází nekonjugované a smíšené hyperbilirubinémie, zcela chybí u konjugované hyperbilirubinémie. Výsledky stanovení jsou ovlivněny světelnou i tepelnou expozicí.

Literatura:

Masopust, Jaroslav. *Klinická biochemie*. Požadování a hodnocení biochemických vyšetření. 1. vyd. Praha: Karolinum, 1998. ISBN 80-7184-649-3. 429 s.

Souček, Miroslav et al. *Vnitřní lékařství 1. díl*. Praha: Grada Publishing, 2011. ISBN 978-80-247-2110-1. 805 s.

Topinková, Eva. *Obrazový atlas chorobných stavů: diferenciální diagnostika*. 1. vyd. Praha: Grada Publishing, 2006. ISBN 80-247-1670-4. 348 s.

Vítek, Libor. *Bilirubin a interní choroby*. Význam pro kliniku a praxi. Vyd. 1. Praha: Grada Publishing, 2009. ISBN 978-80-247-2351-8. 136 s.

Reakreditace

Ing. Janíčková R., Ing. Mročková D., oddělení řízení kvality

Diagnostická laboratoř SPADIA LAB, a.s. v listopadu 2013 úspěšně obhájila reakreditaci. Náročný proces probíhal v jednotlivých odbornostech.

Diagnostická laboratoř SPADIA LAB, a.s. prokázala svou odbornou způsobilost a Osvědčení o akreditaci tak prodloužila do roku 2018. Kromě stávajícího počtu

vyšetření, přidala Diagnostická laboratoř SPADIA LAB, a.s. další nové metody a další pracoviště: laboratoř klinické biochemie, Frýdek – Místek a odběrová a sběrná místa viz. platné Osvědčení o akreditaci najdete na www.spadia.cz od 12.12.2013.

**Kontakty**

Příjem materiálu:	+420 599 524 800, 802	
	+420 739 342 298	nyňí nově!
Odběrová místnost:	+420 599 524 801	
Laboratoř biochemie:	+420 599 524 803	
	+420 739 342 300	nyňí nově!
Laboratoř hematologie:	+420 599 524 804	
	+420 739 342 299	nyňí nově!
Laboratoř imunologie a sérologie:	+420 599 524 805	
	+420 739 342 301	nyňí nově!
Laboratoř biochemie OIM:	+420 599 524 806	
Laboratoř mikrobiologie:	+420 599 524 809	
	+420 739 342 302	nyňí nově!
Lab. molekulární biologie	+420 595 530 232 - 234	
Cytogenetická laboratoř:	+420 595 530 235 - 236	
IT oddělení:	+420 556 794 120	
Další kontakty:	http://www.spadia.cz	

Zelená linka: 800 100 329