

# Klinicko-biochemická vyšetření

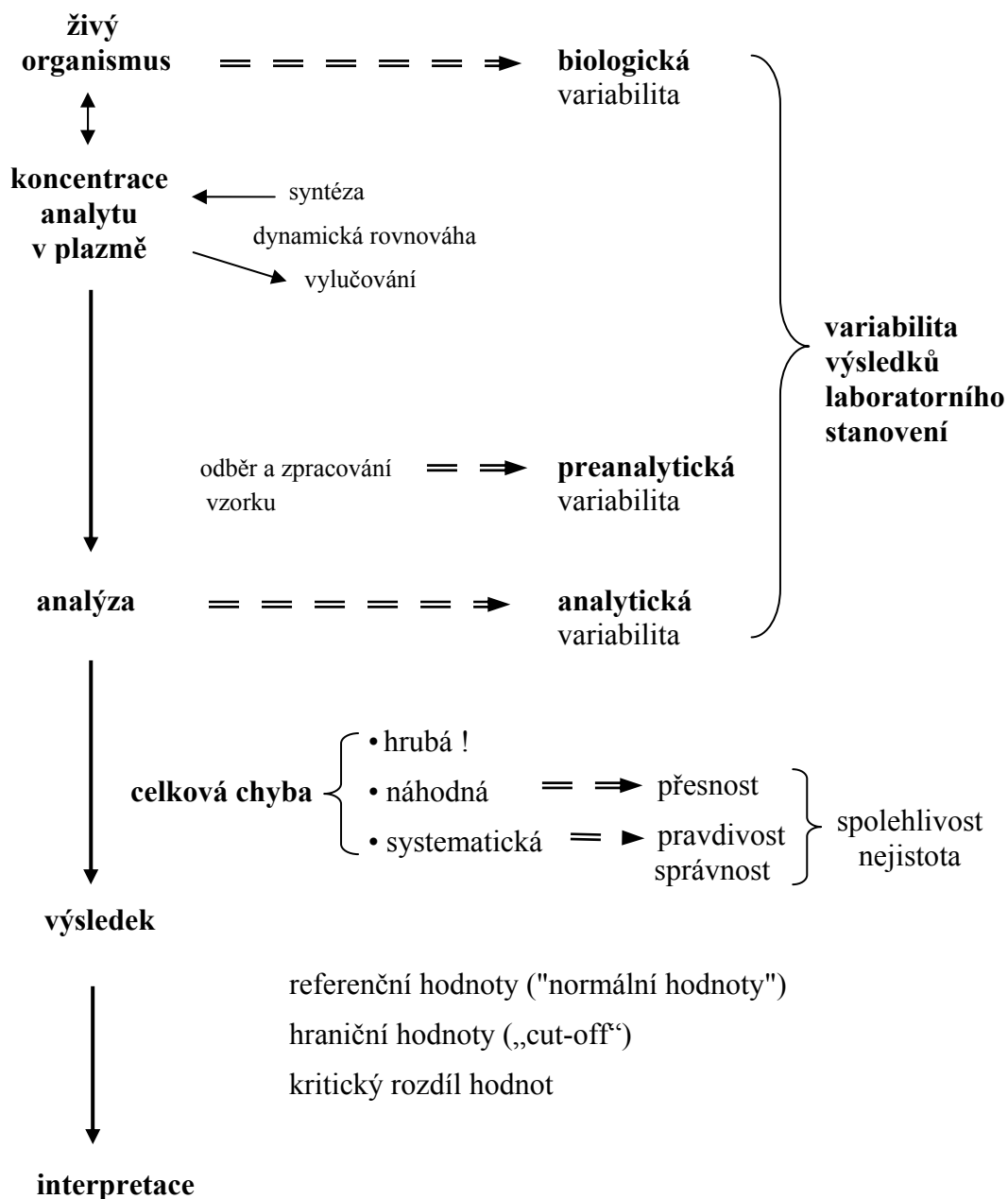
## Enzymy v klinické diagnostice

2



Faktory preanalytické a analytické fáze vyšetření ovlivňující výsledek a jeho interpretaci – přesnost, normální rozložení dat, pravdivost, správnost, bias, nejistota, referenční hodnoty, kritický rozdíl. Diagnostická správnost testu – specifická a citlivost. Enzymy v klinické diagnostice, faktory ovlivňující množství enzymu v krvi. Isoenzymy.

### Faktory ovlivňující výsledek a interpretaci biochemického vyšetření

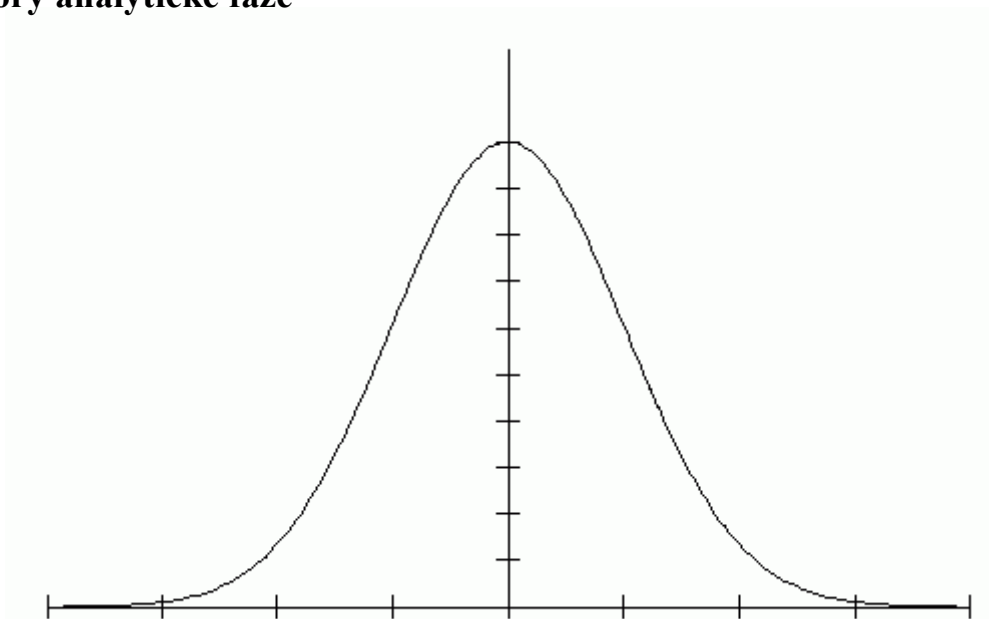


1. Uveďte a charakterizujte tři fáze laboratorního vyšetření.

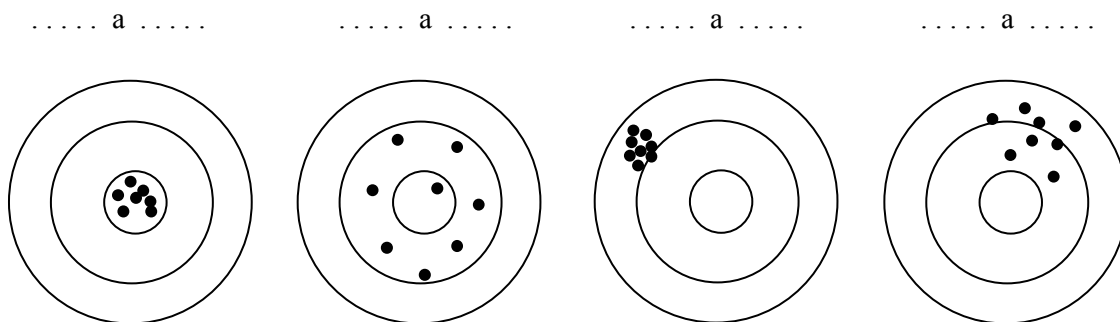
## Faktory preanalytické fáze

2. Prodiskutujte, které faktory preanalytické fáze mohou ovlivnit výsledek laboratorního vyšetření.
3. Charakterizujte biologické vlivy: a) ovlivnitelné b) neovlivnitelné.
4. Uveďte, jak může být výsledek laboratorního vyšetření ovlivněn následujícími faktory:  
a) pohlaví b) věk (dospělí, děti) c) fyzická aktivita d) hmotnost organismu (obezita)  
e) strava (např. dlouhodobá vegetariánská strava) f) léky, alkohol.
5. Čtyřicetiletý muž zkolaboval v průběhu rekreačního fotbalového zápasu. Krev pro laboratorní vyšetření byla odebrána hned po jeho rychlém převezení do nemocnice. Markery srdečního infarktu v krvi byly negativní. Byla zjištěna zvýšená koncentrace bílkovin a hemoglobinu, hypoglykémie a mírná acidosa. Jak lze vysvětlit tyto hodnoty? Jsou závažným nálezem?
6. Fyziologické rozmezí koncentrace albuminu v séru je 35–53 g/l. U těhotných žen klesají tyto hodnoty často až na 32 g /l. Objem krve u těhotných je zvýšen až o 1 500 ml. Čím lze vysvětlit pokles koncentrace albuminu?
7. Jaký vliv má dehydratace organismu na hodnotu hematokritu?
8. Při imobilizaci pacienta dochází k retenci tekutin. Jak se tato skutečnost projeví na koncentraci albuminu v krvi?
9. U pacienta byla stanovena vyšší koncentrace cholesterolu při odběru vsedě v porovnání s odběrem na lůžku. Vysvětlete.
10. V séru byla stanovena koncentrace bílkovin o hodnotě 75 g/l, přičemž odběr krve byl proveden standardním způsobem (vsedě). Odhadněte, jakou lze očekávat koncentraci bílkovin v séru, jestliže by byl proveden odběr krve ve stoje.
11. Uveďte možné příčiny, které by mohly vést k hemolýze vzorku.
12. Odebraná nesrážlivá krev byla v laboratoři odstředěna při 10 000 otáčkách/min. Je možné tímto způsobem získat vzorek plazmy vhodný k analýzám?
13. Jakým způsobem se mají transportovat a skladovat (případně stabilizovat) vzorky krve?

## Faktory analytické fáze



14. Které parametry jednoznačně popisují normální rozložení dat? Popište Gaussovu křivku.
15. Nakreslete do obrázku Gaussovu křivku pro data, která byla získána s větší přesností (tj. menší nepřesností) a stejnou pravdivostí.
16. U dvou experimentálně získaných souborů (albumin v séru a glukosa v séru) rozhodněte, jaké mají rozložení četnosti a uveďte, který soubor má normální rozložení četnosti. První soubor dat – koncentrace albuminu (g/l): 35 (naměřeno 2x), 43 (1x), 33 (1x), 40 (4x), 41 (3x), 35 (2x), 37 (3x), 42 (2x). Druhý soubor dat – koncentrace glukosy (mmol/l): 3,7 (naměřeno 2x), 3,9 (4x), 4,2 (1x), 3,6 (1x), 3,8 (3x), 4,0 (3x), 4,1 (2x).
17. Určete interval, v němž se nachází přibližně 95 % hodnot (tzv. 95% konfidenční interval) pro aritmetický průměr 40 a směrodatnou odchylku 5,0. (30–50)
18. Jaký rozměr má směrodatná odchylka?
19. Jakým způsobem vypočteme relativní směrodatnou odchylku?
20. U referenční skupiny byl zjištěn aritmetický průměr koncentrace albuminu v séru 44 g/l a směrodatná odchylka 4,6 g/l (normální rozložení dat). Určete a) dolní referenční mez; b) 97,5% kvantil; c) referenční interval. (a) 35,0 g/l; b) 53,0 g/l; c) 35–53 g/l)
21. V krevním séru byla u 10 dospělých osob změřena koncentrace albuminu (g/l): 45; 46; 52; 39; 50; 40; 55; 48; 36; 39. Směrodatná odchylka je 6,3 g/l, bias metody 0,5 g/l. Určete a) aritmetický průměr; b) 95% konfidenční interval; c) variační koeficient; d) medián; e) celkovou chybu; f) dohodnutá referenční hodnota. (a) 45 g/l; b) 32,7–57,3 g/l; c) 14 %; d) 45,5 g/l; e) 12,8 g/l; f) 44,5 g/l)
22. U dvou souborů vyšetřovaných osob byla stanovena v krevním séru hodnota glykémie. První soubor měl 9 osob, naměřené hodnoty glykémie (mmol/l): 4,5; 3,8; 5,6; 4,1; 8,2; 5,4; 5,5; 6,1; 3,9. Druhý soubor měl 10 osob, naměřené hodnoty glykémie (mmol/l): 6,5; 4,2; 5,8; 8,3; 3,4; 4,8; 3,8; 7,8; 8,5; 5,3. U obou souborů vyhodnoťte medián. (5,4 mmol/l a 5,6 mmol/l)
23. Jaký je rozdíl mezi pojmy pravdivost a správnost?
24. Doplněte k uvedeným terčům parametry analytické variability:



25. Jaký typ chyb se podílí na výsledku, který je a) nesprávný b) nepřesný?
26. Vysvětlete pojmy a) interní kontrola kvality b) externí kontrola kvality.
27. Je možné, že zdravý jedinec má hodnotu určitého parametru ležící mimo referenční rozmezí?

28. Každá laboratoř má povinnost provádět interní kontrolu kvality. Při měření glukosy byl použit kontrolní vzorek, s očekávanou hodnotou koncentrace glukosy 3,5 mmol/l a směrodatnou odchylkou 0,10 mmol/l. V sérii měření, do které byla kontrola zařazena, byla naměřena hodnota 3,9 mmol/l. Prodiskutujte uvedený příklad.
29. Nejistota vymezuje hranice, v nichž je výsledek považován na určité hladině spolehlivosti za správný, tj. přesný a pravdivý. Na základě dlouhodobých měření byly určeny odhady kombinované standardní nejistoty  $u_c$ . Vypočtete rozšířené nejistoty pro 95 % hladinu spolehlivosti.

Analyty	$u_c$ (%)	Rozšířená nejistota (%)	Naměřené množství v séru	Rozšířená nejistota
Sodík	0,95		140 mmol/l	± mmol/l
Draslík	1,2		5,5 mmol/l	± mmol/l
Vápník	1,69		2,74 mmol/l	± mmol/l
Albumin	1,77		48 g/l	± g/l
Cholesterol	2,24		4,48 mmol/l	± mmol/l
Glukosa	1,55		5,6 mmol/l	± mmol/l
Kreatinin	2,74		118 $\mu$ mol/l	± $\mu$ mol/l
Močová kyselina	2,45		360 mmol/l	± mmol/l
ALT	2,31		0,81 $\mu$ kat/l	± $\mu$ kat/l

30. Kritická hodnota glykémie v krvi (nalačno) pro diagnostiku diabetu je dle doporučení České diabetologické společnosti 7,0 mmol/l. Koncentrace glukosy byla 7 mmol/l a byla stanovena s kombinovanou standardní nejistotou 2,1 %.
- a) Určete rozšířenou nejistotou pro 95% hladinu spolehlivosti. (4,2 %,  $\pm$  0,3 mmol/l)
- b) Od jaké hodnoty by se nemělo uvažovat o diabetu (s 95% pravděpodobností)? (< 6,7 mmol/l)
- c) Od jaké hodnoty už by se mělo uvažovat o diabetu (s 95% pravděpodobností)? ( $\geq$  6,7 mmol/l)

## Kritický rozdíl hodnot

31. Uveďte vzorec výpočtu kritického rozdílu a klinický význam jeho využití.
32. V séru byla u pacienta stanovena koncentrace LDL-cholesterolu 2,8 mmol/l a po měsíci bylo měření zopakováno s výsledkem 3,2 mmol/l. Rozhodněte, zdali jsou tyto hodnoty významně odlišné (CD pro LDL-cholesterol je 26 %). Můžeme hovořit o změně klinického stavu pacienta?
33. V séru byla stanovena koncentrace močoviny 6,5 mmol/l. Pro tento parametr určete meze, které musí být překročeny, abychom mohli dvě po sobě jdoucí hodnoty u téhož pacienta hodnotit jako statisticky odlišné (CD 30 %). (< 4,6 mmol/l nebo > 8,4 mmol/l)

34. Vypočítejte kritický rozdíl pro uvedené analyty v séru (S) nebo moči (U).

Analyt	$CV_i$ (%)	$CV_a$ (%)	$CD$ (%)
pH krve	0,2	0,1	
S-Sodík	0,7	0,4	
S-Albumin	3,1	0,8	
U-Albumin, první ranní moč	36	18	
S-Glukosa	5,7	2,9	
S-Cholesterol, celkový	6,0	3,0	
S-ALT, katal. koncentrace	24,3	0,9	
S-Kortisol	21	11	
S-Adrenalin	48	24	

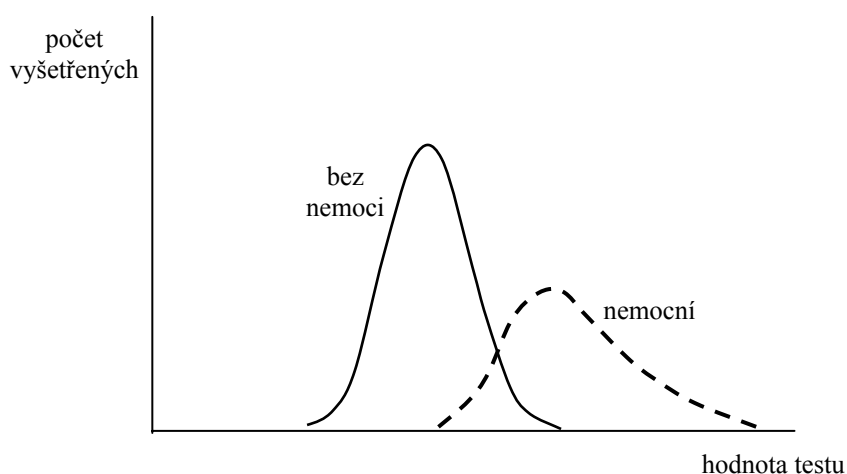
$CV_i$  ... biologická intraindividuální variabilita,  $CV_a$  ... analytická variabilita,  $CD$  ... kritický rozdíl

35. Porovnejte hodnoty  $CD$  v tabulce pro jednotlivé analyty a zamyslete se, který parametr významně ovlivňuje velikost kritického rozdílu.
36. Pacientovi byla zjištěna fyziologická koncentrace celkového cholesterolu v séru 4,5 mmol/l. Intraindividuální variabilita ( $CV_i$ ) cholesterolu v séru činí 6,0 % a výsledek byl v laboratoři zjištěn metodou charakterizovanou opakovatelností mezi dny ( $CV_a$ ) 2,8 %. Určete interval hodnot, v jakém můžeme s 95% pravděpodobností očekávat koncentraci cholesterolu zjištěnou za 2 týdny. (3,7–5,3 mmol/l)
37. U pacienta byla zjištěna koncentrace celkového cholesterolu v séru 7,0 mmol/l. Jakou změnu koncentrace cholesterolu budeme pokládat po 4 týdnech vyšetření za statisticky významnou (na 95% hladině spolehlivosti), pokud pro cholesterol je intraindividuální variabilita 6,0 % a jeho analytická variabilita v dané laboratoři činí 3,0 %. (< 5,7 mmol/l nebo > 8,3 mmol/l)

## Diagnostická správnost laboratorního testu

38. Definujte pojmy diagnostická sensitivita a specifická. Jakým způsobem lze tyto parametry zjistit?
39. Při screeningových vyšetřeních je třeba zachytit všechny nemocné osoby. Který z parametrů validity testu musí být roven 100 %?
40. Načrtněte do grafu rozdělení vyšetřovaných osob pro test jehož senzitivita i specifita se rovnají 100 %.

41. Jak ovlivní zvýšení diskriminační hodnoty (viz obr.): a) specificku testu; b) senzitivitu testu?



42. Vypočítejte diagnostickou senzitivitu a specificku imunochemického stanovení srdečního troponinu I jako markeru infarktu myokardu, pokud jsou známy tyto údaje:

Počet vyšetřených osob	S nemocí	Bez nemocí	Celkem
S pozitivním testem	197	8	...
S negativním testem	3	505	...
Celkem	...	...	...

43. Vyplňte 2x2 tabulku, pokud laboratorní vyšetření vykazuje diagnostickou senzitivitu 70 % a specificku 80 %.

Počet vyšetřených osob	S nemocí	Bez nemocí	Celkem
S pozitivním testem	...	...	...
S negativním testem	...	...	...
Celkem	400	...	1000

44. Těhotenský test byl testován na skupině 800 žen, přičemž 300 žen bylo těhotných a 500 nebylo těhotných. Výsledky těhotenského testu byly následující: Pozitivní test byl prokázán u 250 těhotných žen a také u 4 žen, které nebyly těhotné. Negativní těhotenský test byl zjištěn u 50 těhotných žen a dále u 496 žen, které nebyly těhotné. Doplňte pravdivostní tabulku a vyhodnoťte senzitivitu a specificku testu. Lze tento těhotenský test bez výhrad přijmout jako kritérium pro stanovení těhotenství? (senzitivita 83 %, specificku 99 %)
45. Rozhodněte, jak ovlivní změna hraniční (cut-off) hodnoty počet FN (nemocní s negativním testem) a FP (zdraví s pozitivním testem). Jaký dopad na senzitivitu a specificku testu má vyšší a nižší cut-off hodnota?

## Enzymy v klinické diagnostice

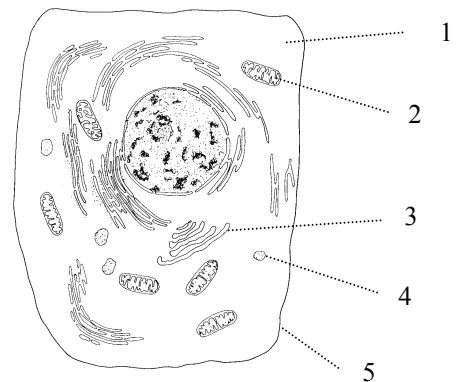
46. Jakým způsobem vyjadřujeme množství enzymu v tělních tekutinách?
47. Uveďte jednotku katalytické koncentrace enzymu.
48. Uveďte, které faktory ovlivňují enzymovou aktivitu.
49. Vysvětlete pojem biologický poločas.
50. Enzymy, které se nachází v krvi dělíme na enzymy podle místa vzniku a účinku. Doplňte tabulku:

Enzymy v krvi	Enzymy se specifickou funkcí v plazmě	Sekreční enzymy	Buněčné enzymy
Příklady	...	...	...
Místo vzniku	...	pankreas, parotis	...
Místo působení	...	...	v místě vzniku
Změna aktivity v krvi při poškození orgánu	...	...	...

51. Uveďte rozdíly mezi sekrečními, buněčnými a specifickými enzymy plazmy.
52. Jaký vliv bude mít vážné poškození jater na hemokoagulaci?
53. Proč se i u "zdravých" lidí dají zjistit nízké aktivity intracelulárních enzymů v plazmě?
54. Napište rovnice reakcí (včetně vzorců), katalyzovaných enzymy: a) *ALT*; b) *AST*; c) *LD*; d) *CK*.
55. Doplňte v tabulce názvy enzymů a na základě rozdílného zastoupení enzymů v tkáních přiřaďte v tabulce k enzymům orgány či tkáně s jejich převládajícím výskytem: játra, myokard, sval, ledviny, kosti, prostata, pankreas, parotis, žlučodod, erytrocyty.

Enzym	Název enzymu	Převažující lokalizace – orgán , tkáň
AST		
ALT		
LD		
LD <sub>1</sub>		
CK		
GMT		
ALP		
ACP		
AMS		
LPS		
CHS		

56. Uveďte příklady enzymů, které jsou specifické pro a) osteoblasty; b) osteoklasty; c) prostatu; d) kardiomyocyty; e) játra.
57. Které enzymy nelze využít pro diagnostické účely při jejich stanovení v hemolytickém séru?
58. Uveďte, které enzymy se uvolňují při a) lehkém; b) těžkém poškození jaterní buňky. Vysvětlete.
59. Pokuste se odhadnout velikost poměru aktivit enzymů AST/ALT v plazmě při: a) lehkém poškození hepatocytů; b) těžkém poškození hepatocytů.
60. Definujte pojmy isoenzym a isoforma.
61. Uveďte význam stanovení isoenzymů v klinické diagnostice.
62. Který isoenzym LD převažuje v a) myokardu; b) játrech?
63. Porovnejte enzymy ALP a ACP, jaký význam mají jejich isoenzymy v diagnostice?
64. Popište kvartérní strukturu a) LD; b) CK.
65. Uveďte podjednotkové složení LD<sub>1</sub>.
66. Aktivita většiny enzymů je u novorozenců a kojenců zvýšená. U kterého enzymu výrazné zvýšení přetrvává až do puberty?
67. Vysvětlete důvod zvýšení hladin některých enzymů v krvi a) při tělesné námaze; b) v období těhotenství.
68. Hepatotoxicita je nežádoucím účinkem některých léků. Které enzymy je nutno sledovat při jejich dlouhodobém podávání?
69. Které enzymy se běžně sledují při podezření na akutní pankreatitidu?
70. Který enzym je velmi snadno indukovatelný a je vhodným testem chronické konzumace alkoholu?
71. Který enzym lze stanovit nejen v séru, ale i v moči?
72. Který enzym je možné hodnotit jako ukazatel jaterní proteosyntézy. Jak se mění jeho aktivita?
73. V tabulce doplňte názvy kompartmentů. Na základě rozdílného zastoupení enzymů v jednotlivých kompartmentech jaterní buňky doplňte do tabulky typicky (převážně) se vyskytující enzymy: ALT, AST, cAST, mAST, ALP, LD, GMD, GMT, AMS, ACP.



Symbol	Kompartment	Enzym
1		
2		
3	Golgiho aparát, ER	
4	Lyzosom	
5		