

## Odběr krve a její zpracování. Klinicko-biochemická vyšetření.

Analýzy krve, krevního séra nebo plazmy tvoří nejrozsáhlejší a nejvýznamnější část klinicko-biochemických vyšetření. Krev je poměrně snadno dostupným materiálem a v jejím složení se odráží řada biochemických pochodů probíhajících v různých tkáních. Pro biochemická vyšetření se krev odebírá z žil, tepen nebo kapilár. Nejčastěji se odebírá žilní krev, méně často kapilární. Arteriální krev se odebírá pouze výjimečně, hlavně pro analýzy krevních plynů.

### **Příprava pacienta**

Poučení pacienta hraje klíčovou roli v celém procesu laboratorního vyšetření a je nezbytné pro správnost vyšetření. Spolupráce začíná informací o plánovaném odběru. Pacient má vědět, proč se mu bude krev odebírat, kdy a jaká opatření má před odběrem dodržovat. Lékař současně vypisuje žádanku na vyšetření. V žádance je uvedeno jméno, příjmení, rodné číslo, odesílající oddělení se jménem lékaře, datum a hodina odběru, diagnóza číselným kódem podle mezinárodně platného seznamu a číslo zdravotní pojišťovny. V žádance jsou předtištěny metody a jejich provedení lékař vyznačí zaškrtnutím příslušné rubriky. Do volných rubrik vpisuje lékař další požadavky.

Obecně platí, že pacient se k odběru dostaví zpravidla ráno, po předchozím 10-12 hodinovém lačnění. Pacient by rovněž 24 hodin před odběrem neměl pít alkohol. Pacient by však měl mít dostatečný příjem tekutin. Je vhodné, napije-li se před odběrem neslazeného čaje, nejlépe ovocného.

Pro některá vyšetření jsou předepsána zvláštní dietní opatření.

Nedodržením dietních zásad vznikají falešné nálezy zejména v sacharidovém a lipidovém metabolismu.

Výsledky analýz může ovlivnit rovněž výrazná fyzická aktivita před odběrem.

Přichází-li pacient na vyšetření v mrazivém počasí, měla by mezi jeho příchodem do čekárny a odběrem krve uplynout přiměřená doba, aby se cévy stažené chladem rozšířily.

### **Bezpečný odběr krve**

Z hlediska postupu a vybavení při odběru žilní krve rozlišujeme dva způsoby odběru:

Při použití **otevřeného** odběrového systému byl pracovník provádějící odběr v přímém styku s biologickým materiálem. Krev se odebírala buď jehlou přímo do zkumavky nebo se natahovala do stříkačky a pro další zpracování se přenesla do zkumavky. Oba tyto způsoby odběru představovaly vysoké riziko pro osobu provádějící odběr. Na většině pracovišť je již zavedeno použití uzavřeného odběrového systému, při němž je riziko podstatně sníženo.

Z hlediska postupu a vybavení při odběru žilní krve rozlišujeme dva způsoby odběru:

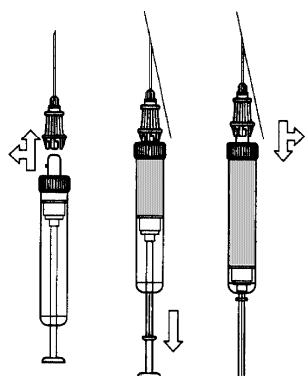
- Při použití **otevřeného** odběrového systému byl pracovník provádějící odběr v přímém styku s biologickým materiálem. Krev se odebírala buď jehlou přímo do zkumavky nebo se natahovala do stříkačky a pro další zpracování se přenesla do zkumavky. Oba tyto způsoby odběru představovaly vysoké riziko pro osobu provádějící odběr. Na většině pracovišť je již zavedeno použití uzavřeného odběrového systému, při němž je riziko podstatně sníženo.

- **uzavřený** odběrový systém - manipulace se vzorkem po odběru se provádí přímo v odběrové stříkačce/zkumavce. Pracovník je tak při odběru chráněn před kontaminací krví pacienta, samotný biologický materiál je chráněn před možnou kontaminací zvenčí a proti případnému rozbití během transportu a centrifugace. Jednotlivé uzavřené stříkačky/vakuované zkumavky jsou barevně označeny podle druhu uvnitř přítomné preparační látky (akcelerátory hemokoagulace, separační gel, heparin, EDTA, ...). Separací gel umožňuje po centrifugaci (vytvořením mezivrstvy) dokonalé oddělení séra od krevního koagula. Zkumavky je tak možné přímo nasadit do analyzátoru. Použitý materiál se snadno likviduje spálením. Odběr se provádí:

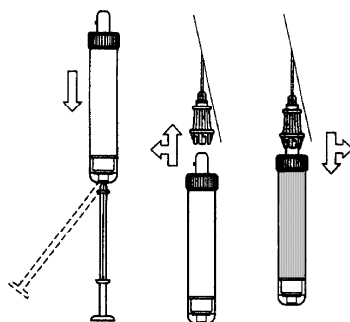
- do uzavřené stříkačky – krev je natažena pomocí pístu (obr. 1-1a) nebo bezprostředně před odběrem připraveným vakuem (vytažení a zaaretování pístu na stříkačce, obr. 1-1b). Po odběru se píst ulomí a ze stříkačky se tak stává uzavřená zkumavka. Způsob odběru volíme podle stavu žil pacienta. Pomocí pístu odebíráme krev u pacientů s tenkými žilami. Vakua použijeme, jsou-li žíly dostatečně silné.

- do vakuované zkumavky (obr. 1-1c)

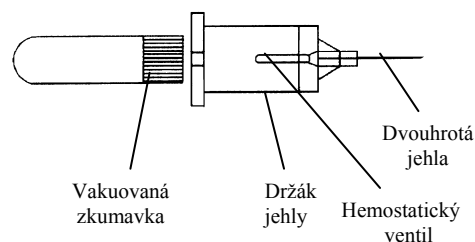
Obr. 1-1a



Obr. 1-1b



Obr. 1-1c



Pracovník je při tomto způsobu odběru chráněn před kontaminací krví pacienta, samotný biologický materiál je chráněn před možnou kontaminací zvenčí a proti případnému rozbití během transportu a centrifugace.

Jednotlivé uzavřené stříkačky jsou barevně označeny podle druhu uvnitř přítomné preparační látky. Stříkačky s hnědým uzávěrem obsahují separační gel, který po odstředění vytvoří rozhraní mezi krvinkami a vrstvou séra. Je tak umožněno dlouhodobé uložení séra v primární zkumavce, aniž by docházelo ke kontaktu mezi sérem a krvinkami. Stříkačky s bílým uzávěrem obsahují aktivátory srážení. Ve stříkačkách pro získání plazmy jsou přítomny antikoagulanty, např. Lithium-heparin, citrát sodný, EDTA. Stříkačky pro odběr glukosy obsahují fluorid draselný, který působí jako inhibitor glykolýzy.

### Odběr žilní krve.

Před odběrem je třeba připravit a pečlivě popsat štítky k označení zkumavek.

Odběr žilní krve se provádí v sedě nebo vleže. Poloha pacienta při odběru a určitou dobu před ním je velmi významná a může ovlivnit koncentraci řady látek. Ve stoje dochází k přesunu

tekutiny z intravazálního prostoru do intersticia a koncentrace vysokomolekulárních látek ( a látek na ně v krvi vázaných) může stoupnout až o 10-15%. Pokud nejde o ležící nemocné, má pacient před odběrem sedět alespoň půl hodiny.

Vlastní odběr krve se provádí v rukavicích.

K odběru se používají povrchové žíly horních končetin. Nejčastěji provádíme venepunkci v oblasti předloktí. Vhodné jsou zejména kubitální žíla ve fossa antebrachii nebo žíla v loketním ohbí. Je možné využít i žíly na hřbetu ruky.

Před odběrem je třeba místo vpichu dezinfikovat. Používají se přípravky lihové, jodové nebo na bázi kvartérních amoniálních bází. Na správnou volbu desinfekčního činidla je třeba dbát zejména při vyšetření alkoholu. Po nanesení desinfekčního činidla musí kůže oschnout.

Jsou-li žíly dobře viditelné, paži nestahujeme turniketem. Pokud použijeme turniket, stažení paže a tzv. cvičení paží by mělo být co nejkratší a turniket je třeba po nabodnutí žíly uvolnit. V opačném případě dochází k přesunům tekutiny z cévního řečiště do intersticia.

Bezprostředně před odběrem se jehla nasadí na odběrovou stříkačku, provede se vpich. Po venepunkci se objeví v hrdle stříkačky krev. Uvolníme zaškrcení a tahem na píst se provádí náběh krve. V případě potřeby se po zaplnění první stříkačky na jehlu nasadí další. Píst na konci stříkačky se zaaretuje a táhlo pístu se odlomí.

Jehly po odběru je nutné bezpečně zlikvidovat. Nezbytnou součástí vybavení odběrového pracoviště je **kontajner** na likvidaci použitého materiálu, který musí být řádně označen.

Po odběru na místo vpichu přiložíme tampon s desinfekčním prostředkem. Na zkumavky nalepíme štítky se jménem a rodným číslem pacienta.

### **Transport a uchování vzorků**

Vzorky krve by měly být nejpozději do 2 hodin po odběru dopraveny do laboratoře. Po odběru srážlivé krve je vhodné, aby vzorek nebyl transportován okamžitě, ale aby se srazil na místě odběru během 5- 10 minut.

Vzorky krve nesmí být uchovávány na přímém slunečním světle nebo v blízkosti zdroje tepla. K transportu vzorků z odlehlých pracovišť nebo od praktických lékařů je používán centrální svaz. Rovněž při transportu je třeba vzorky chránit před světlem a teplem. Materiál se ukládá do termosek nebo chladicích boxů.

Není-li možné po odběru krev odeslat do laboratoře, je třeba z ní odstředěním oddělit erythrocyty a připravit plazmu nebo sérum. Ty mohou být ve většině případů uchovány v ledničce při +4°C po dobu několika dní. Při delším skladování se sérum nebo plazma uchovávají zmrazené při -20°C nebo -80°C.

### **Sérum a plazma**

Krev odebraná bez použití protisrážlivých prostředků se po kratší době sráží, v důsledku přeměny rozpustného fibrinogenu na vláknitou síť fibrinu. Kompletní srážení vyžaduje při pokojové teplotě dobu 15-30 minut. Srážení krve je možné urychlit použitím plastických granulí obsažených v odběrové zkumavce (akcelerátory srážení). Zkumavky s krví vloží do centrifugy

Sérum se oddělí od krevní sraženiny centrifugací po dobu 10 minut při 2000 otáčkách/min.

Odstředí-li se krev dříve než je srážení úplné, dojde k hemolýze. Masivní hemolýza může ovlivnit koncentraci řady analytů zejména proto, že do séra přejdou některé látky z erytrocytů, nebo že načervenalé zbarvení interferuje při stanovení.

Pro některá vyšetření je třeba získat nesrážlivou krev. V takovém případě se do odběrové nádoby přidávají látky zabraňující srážení.

Nejčastější protisrážlivé prostředky jsou heparin, šťavelan lithný nebo draselný, citran sodný, sodné a draselné soli EDTA.

S výjimkou heparinu brání protisrážlivé prostředky srážení krve tím, že váží vápenaté ionty, které jsou pro srážení krve nezbytné. Uzavřené odběrové systémy jsou plněny antikoagulačními činidly již při výrobě.

Pro každou metodu je nutné použít předepsaný antikoagulant a zachovat jeho správný poměr k množství krve. Krev odebraná do nádoby s antikoagulantem se ihned dokonale promíchá mírným otáčením nádoby. Nesmí se protřepávat, aby nedošlo k hemolýze.

Odstředěním nesrážlivé krve se získá plazma. Krev je možno odstředit hned po odebrání. Tím je možno u akutního stavu urychlit biochemické vyšetření až o 20 minut.

### **Odběr kapilární krve**

Kapilární krev se používá v případech, kdy je potřeba jen malé množství vzorku. Dodržují se tyto hlavní zásady:

Prohřátím místa vpichu se zabezpečí dobré prokrvení

Místo vpichu je třeba dezinfikovat, dezinfekční prostředek musí zaschnout. Ke vpichu je lepší použít lancetu

Vpich lancetou směřuje do bříška prstu ze strany, kde je lepší prokrvení než ve středu

První kapka po nabodnutí lancetou se otře, poněvadž obsahuje příměs tkáňového moku, další tvorba kapek se podpoří lehkým tlakem. Při silném vymačkávání se v krvi objeví příměs tkáňového moku nebo dochází k hemolýze.

Krev se obvykle odebírá do speciálních kapilárních krevních zkumavek nebo do malých plastových či skleněných zkumavek. U proužkových testů se kapka krve aplikuje přímo.

Po odběru se na místo vpichu přiloží tampon.

Při odběru arterializované kapilární krve na vyšetření acidobazické rovnováhy je nezbytné pracovat anaerobně. Kapka krve musí být odebrána rovnou do kapiláry a v kapiláře nesmějí zůstat bubliny.

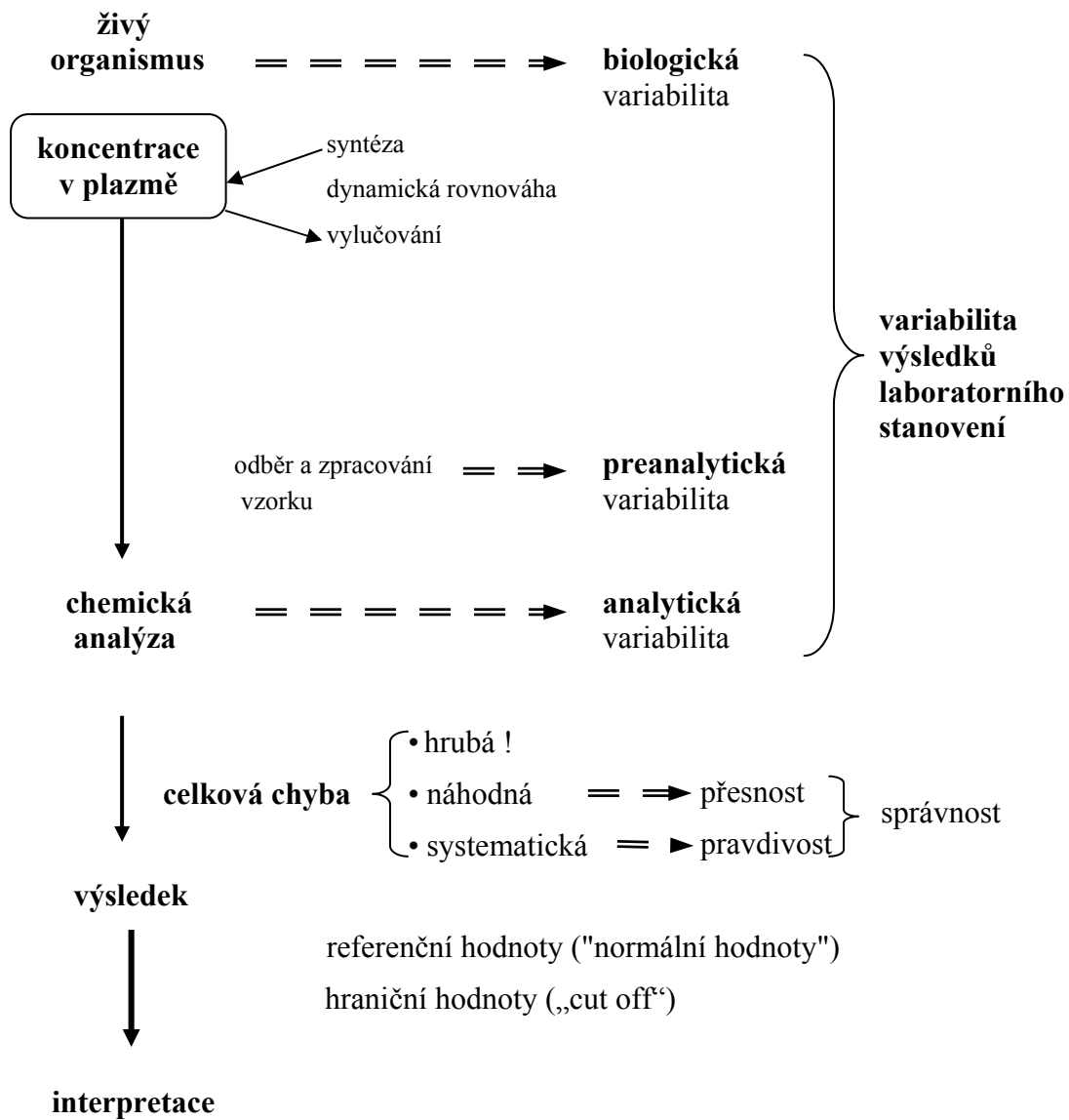
Odběr se provádí buď tradičním natažením krve pístem po zavedení jehly do žíly nebo evakuací stříkačky těsně před odběrem. Způsob odběru volíme podle stavu žil pacienta. Pomocí pístu odebíráme krev u pacientů s tenkými žilami. Vakua použijeme, jsou-li žíly dostatečně silné. Stříkačky jsou opatřeny stupnicí, takže lze přesně odebrat potřebné množství krve.

### **Odběr krve u novorozenců**

U novorozenců se nabírá krev nejčastěji z prstu nebo patičky. Velmi důležité je před vpichem kůži zahřát. Tak se získá směs arteriální, venózní a kapilární krve. K prevenci nosokomiálních infekcí si musí osoba provádějící vpich odložit veškeré šperky na ruku, umýt si ruce až k loketnímu ohbí a použít nový pár latexových rukavic. Po zahřátí je místo vpichu dezinfikováno 75% vodným roztokem izopropanolu. Po té je místo nutno osušit sterilní gázou. Po vpichu musí být první kapka krve otřena, poněvadž obsahuje velké množství tkáňové tekutiny. Dostatečný objem vzorku krve může být problémem.

U novorozenců s nižší vahou už odběr jednoho ml krve, odpovídá značné ztrátě krve. Z toho plyne nezbytnost užití mikrometod při zpracování vzorků krve. Z krve novorozenců se nejčastěji získává plazma, objem séra je vzhledem k vyššímu hematokritu (i přes 60%) malý a erythrocyty snáze podléhají hemolýze. Značným problémem souvisejícím s malými objemy vzorků může být vypařování vzorků. Vzorky proto musí být uzavřeny a co nejrychleji zpracovány. V poslední době je zavedena řada vyšetření z plné krve.

## Faktory ovlivňující výsledek a interpretaci biochemického vyšetření



## Biologická variabilita

- Celková biologická proměnlivost ( $s_B$ )  $s_B = \sqrt{s_I^2 + s_G^2}$
- Intraindividuální proměnlivost ( $s_I$ ) - rozptyl hodnot sledovaného parametru v čase u jednotlivce daný biologickými faktory
- Interindividuální proměnlivost ( $s_G$ ) - rozptyl sledovaného parametru mezi jednotlivci navzájem

## Preanalytická variabilita

### Faktory neovlivnitelné

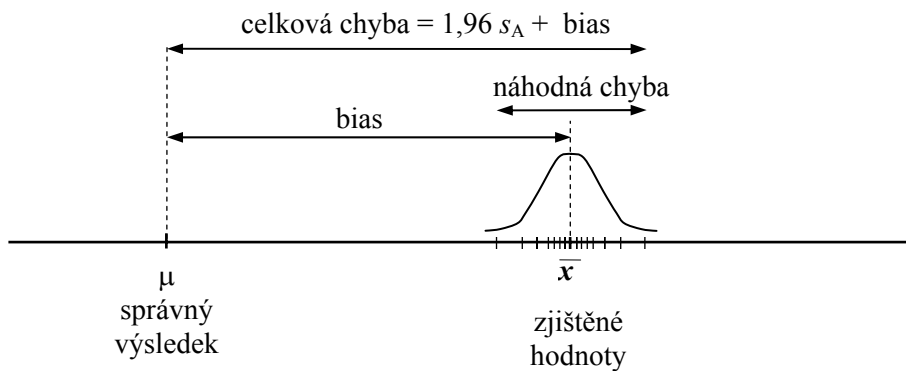
- Pohlaví - věk - rasa (rozdíly mezi pohlavími se mění s věkem, např. hormony)
- Hmotnost/tělesný povrch
- Gravidita: změny v tvorbě hormonů a jejich účinku na organismus, vliv placenty, přestup z plodové vody
- Biorytmy - cyklické variace (denní, měsíční, ...), jevy lze s určitou pravděpodobností předpovídat  
- intraindividuální variabilita (necyklické, nepředvídatelné jevy)
- Dědičnost

### Faktory ovlivnitelné

- Fyzická aktivita
- Stres (vliv na produkci hormonů)
- Dieta/hladovění
- Léky (indukce jaterních enzymů, interference s metodou)
- Alkohol
- Nadmořská výška (adaptace na výšku)
- Mechanické trauma (svalové trauma, intramuskulární injekce, digitální vyšetření)
- Odběr biologického materiálu:
  - technika odběru (použití turniketu; cvičení paží; komprese žíly/prstu)
  - poloha pacienta při odběru (při poloze vestoje oproti vleže asi 10% redukce krevního objemu a výrazné zvýšení koncentrace některých hormonů)
  - doba odběru
  - doba a způsob srážení, resp. použití protisrážlivého prostředku
  - skladování (stabilita analytu, délka skladování): 4 °C, -20 °C, -75 °C

## Analytická variabilita

**Analytická spolehlivost** = správnost (pravdivost + přesnost)



Správný výsledek  $\mu$  neznáme, pomocí referenční metody odhadujeme tzv. **očekávanou hodnotu  $x_0$** .

**Nepřesnost** (odchylka od správné hodnoty) je způsobena systematickou chybou:

absolutní chyba (**bias**)

$$(\bar{x} - x_0)$$

relativní chyba

$$\frac{(\bar{x} - x_0)}{x_0} (\cdot 100\%)$$

**Nepřesnost** je způsobena náhodnou chybou (celková nepřesnost  $s_A = \sqrt{s_{v \text{ série}}^2 + s_{\text{mezi dny}}^2}$ )

kde  $s_{v \text{ série}}^2$  je rozptyl hodnot získaných danou metodou v jednom dni v sérii měření;  $s_{\text{mezi dny}}^2$  je rozptyl výsledků získaných stejnou metodou během několika dnů měření

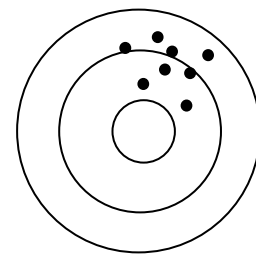
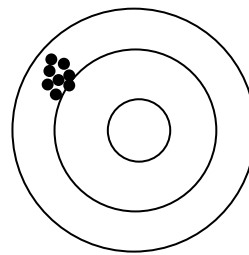
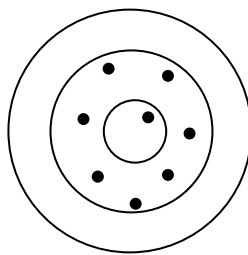
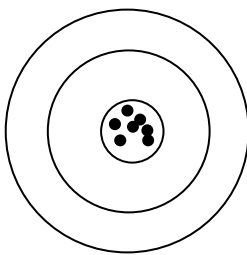
1. Doplňte k uvedeným terčům parametry analytické variability (přesnost, pravdivost)

pravdivě a přesně

..... a .....

..... a .....

..... a .....



2. Jaký typ chyb zapříčiňuje nepřesnost výsledku?

3. Uveďte příklady, jaké typy chyb způsobují nepřesnost výsledků.



## Referenční hodnoty

Referenční populace (soubor jedinců splňující určité předpoklady - bez nemoci, odběr krve nalačno, tělesný klid, ...)

- Referenční jedinec NE :
1. těhotné ženy
  2. věk: dítě/dospělý?
  3. pohlaví: muž/žena?
  3. pohybová aktivita / stres
  4. po požití potravy (výjimka zátěžové testy)
  5. abúzus kouření, alkoholu, kofeinu a léků
  6. nemoc/rizikové faktory
  7. tzv. "zdraví dárci krve"

Referenční rozmezí (interval): 95 % výsledků referenčního souboru

Faktory ovlivňující referenční hodnoty: - použitá metoda,  
- preanalytické faktory (uchovávání vzorků, transport, ...)

## Biochemická vyšetření

Biochemická vyšetření se rozdělují na:

- **základní**, která umožňují základní hodnocení zdravotního stavu nemocných, potvrzení nebo vyloučení suspektní diagnózy, určení nejpravděpodobnější diagnózy, stanovení vhodného léčení a sledování jeho účinku (žádoucího i nežádoucího);
- **speciální**, která pomáhají při složitější diferenciální diagnostice, stanovení podrobné diagnózy, hodnocení vybraných biochemických (metabolických) funkcí, monitorování medikamentózní terapie, sledování určitých klinických situací (jako např. stav vnitřního prostředí, aktuální metabolické a energetické situace, stav výživy apod.) a dále vyhodnocování bilančních vyšetření;
- **vysoce speciální** vyšetření, která provádějí stanovení vzácných (neobvyklých) diagnóz, řeší velmi složité diferenciálně diagnostické problémy, složité funkční vyšetření, komplexní bilanční sledování nemocných, monitorování metabolických funkcí a sledování hladiny speciálních léků.

Podle zaměření můžeme biochemické soubory dělit takto:

- a) *Obecný biochemický soubor (screeningový soubor)*, jehož úkolem je obsáhnout co možná nejvíce metabolických funkcí. Ordinuje se v případech, kdy je podezření na celkové onemocnění, kdy ošetřující lékař o nemocném nemá žádné informace doplňující anamnestické údaje a fyzikální vyšetření. Slouží tedy k orientaci o předběžné diagnóze. Bývá též součástí různých screeningových akcí (populační nebo nemocniční screening).

Příklad:

**Obecný biochemický soubor (screeningový)**

| Analyt   | Informační obsah                                       |
|--|--|
| S-urea<br>S-kreatinin  | <i>LEDVINY</i>   |
| U-protein, krev, pH, leukocyty, nitrity                          | <i>MOČOVÉ CESTY</i>                                    |
| S-ALT (AST)<br>S-GMT<br>S-ALP, (S-bilirubin)                     | <i>JÁTRA, ŽLUČOVÉ CESTY</i>                            |
| S-AST  | <i>(MYOKARD. KOSTERNÍ SVALY)</i>                       |
| S-cholesterol, (HDL-cholesterol)<br>S-triacylglyceroly           | <i>LIPIDOVÝ METABOLISMUS</i>                           |
| S-(P, B)-glukosa<br>U-glukosa, ketolátky                         | <i>SACHARIDOVÝ<br/>METABOLISMUS</i>                    |
| S-protein<br>S-albumin   | <i>HYDRATAČE<br/>STAV PROTEOSYNTÉZY</i>                |
| S-Ca   | <i>PARATYROIDEA</i>                                    |
| S-reaktant akutní fáze:kupř. CRP<br>(B-rychlost sedimentace ery) | <i>AKTIVITA ZÁNĚTLIVĚHO (nekrotického)<br/>PROCESU</i> |

b) Cílené (orgánové) biochemické soubory jsou zaměřeny na z hodnocení funkčního stavu určitého orgánu nebo systému (např. soubor pro vyšetření ledvin).

| <b>I</b>       |         |
|----------------|---------|
| ALT            | AST/ALT |
| AST            | GMT/AST |
| GMT            |         |
| ALP            |         |
| bilirubin      |         |
| (TZR)          |         |
| U-urobilinogen |         |
| U-bilirubin    |         |

c) Soubory syndromově specializované jsou určeny pro ověření diagnózy určitého syndromu nebo skupiny syndromů, pro diferenciální diagnostiku určité skupiny chorob, pro určení "metabolického rizika" určitého onemocnění (např. soubor pro odhalení rizika urolitiázy).

## **Zvláštnosti metabolismu při těhotenství**

V těhotenství nastává v organismu matky řada metabolických a hormonálních změn, které zajišťují dostatečný přívod kyslíku a živin k embryu nebo plodu. Na druhé straně fetoplacentární jednotka podává prostřednictvím hormonů a jiných látek matce informaci o svém vývoji.

Krevní objem je zvýšen o 1500 ml. Dochází k hemodiluci, což vede k poklesu koncentrace hemoglobinu a vzestupu glomerulární filtrace. Od 12.týdne se snižuje osmolalita séra o 8-10 mmol/kg. Většina minerálů – železo, vápník, fosfor, hořčík, draslík, síra, sodík, chlor – má v graviditě pozitivní bilanci (je jich přijímáno více), čímž se zabezpečí potřeby plodu. Koncentrace těchto iontů v séru je vesměs na dolní hranici hodnot u netěhotných.

V elektroforeogramu sérových bílkovin nacházíme nižší podíl albuminu, frakce alfa-1, alfa-2 a beta-1 jsou zvýšeny díky zvýšené koncentraci  $\alpha_1$ antitrypsinu, ceruloplasminu a transferinu. Zvyšuje se hladina alkalické fosfatázy, která pochází z placenty.

V průběhu těhotenství stoupá koncentrace celkového cholesterolu a i triacylglycerolů. Jejich koncentrace před porodem může být zvýšena až o 250%.

Počátkem těhotenství se zvyšuje produkce insulinu, ve druhé polovině vzrůstá produkce glukagonu, kortizonu, prolaktinu a dalších hormonů. Naopak ve druhé polovině těhotenství se zvyšuje se resistance vůči insulinu.

Hlavním proteinem krevní plazmy u fetu je do počátku druhého trimestru  $\alpha_1$ -fetoprotein. Je to glykoprotein podobný albuminu (fetální albumin). Postupně je pak v těle plodu nahrazován albuminem. Do plodové vody se vylučuje močí, do séra matky se dostává v omezené míře transplacentárně. Jeho změněné (zvýšené i snížené) hodnoty signalizují poruchy plodu.

Imunologickými metodami bylo prokázáno, že v těhotenství se v krvi těhotných objevují látky bílkovinné povahy, které se v ní mimo gestaci nenacházejí, a jsou proto označovány jako **těhotenské proteiny**. Jsou (až na alfa-fetoprotein) vytvářeny placentou. Mezi tyto specifické těhotenské proteiny patří i placentární laktagen hPL, alfa-fetoprotein, karcinom-embryonální antigen CEA a další.

## **Biochemická vyšetření při těhotenství**

### **Diagnostika těhotenství**

Laboratorní potvrzení těhotenství je založeno na detekci choriogonadotropinu hCG v krvi nebo v moči. Citlivost testů je různá, nejcitlivější dávají pozitivní výsledky asi týden po implantaci zárodku. (Vysoká koncentrace hCG může být i u některých nádorů).

### **Základní vyšetření**

Základní vyšetření se provádí na počátku těhotenství s cílem včas podchytit hepatopatii, neuropatii, diabetes a další choroby.

### **Screening vrozených vývojových vad plodu**

Vzhledem k tomu, že existuje více jak tři tisíce typů vrozených defektů, je nutno metodami **sekundární prevence** zasáhnout u těch, které se vyskytují s relativně vysokou frekvencí.

Mezi tyto relativně časté počítáme **chromozomální numerické aberace** jako je např. Downův syndrom (trisomie 21. chromozomu – viz obr. č. 1), Edwardsův syndrom (trisomie 18. chromozomu), či některé další patologické stavy (karyotyp 45,X0, trisomie 13. chromozomu, triploidie apod.).

Uvedené chromozomální defekty vážně narušují fyziologický vývoj postižených jedinců, způsobují

četné vrozené defekty, mentálně handicapují a mohou výrazně omezit délku postnatálního života. Dominantní metodou diagnostiky je genová analýza

- **Vyšetření krve matky**

Ve druhé polovině 80.let se zjistilo, že matky, které nosí plod s Downovým syndromem, mají odchylné hodnoty některých látek v krvi. Jde především o stanovení tzv. alfa 1 fetoproteinu (**AFP**) a choriogonadotropinu (**hCG**). Obecně lze říci, že v krevním séru matek se syndromem Down, je u plodu ve druhém trimestru těhotenství hladina AFP asi o 25 % snižena proti střední hodnotě, zatímco hladina HCG je téměř dvakrát vyšší.

Zvýšená koncentrace AFP může signalizovat podezření na přítomnost rozštěpů CNS nebo defektů abdominální stěny plodu. Zvýšená koncentrace AFP však může být pozorována i při vícečetném těhotenství.

- **Vyšetřování plodové vody**

Plodová voda se získává amniocentézou – punkcí amniální tekutiny 12 cm jehlou o průsvitu 0,9 mm pod kontrolou ultrazvuku, nejčastěji po 15.týdnu. Zvýšené riziko výskytu vrozených vad mají ženy těhotné po 35. roce života. Vyšetření se provádí i v případech, kdy se v rodině jednoho nebo obou rodičů vyskytla některá vrozená vada nebo geneticky přenosná choroba. Buňky obsažené v plodové vodě je možno vyšetřovat cytogeneticky (stanovení karyotypu), imunofluorescenčně (genová detekce pomocí imunofluorescenčních sond) a DNA analýzou. Před cytogenetickým vyšetřením je nutná asi 10denní kultivace amniocytů, která je v dobrých laboratořích neúspěšná v méně než 1 %. Přesnost chromosomální analýzy amniocytů je 99,9%. Biochemické vyšetření plodové vody zahrnuje určení hladiny a-fetoproteinu a acetylcholinesterázy, jež je indikováno při zvýšeném riziku defektu neurální trubice.

V plodové vodě se mohou dělat i další vyšetření, např. bilirubin, při podezření na hemolytickou chorobu novorozence, nebo kreatinin, který je mírou gestační zralosti plodu.

### **Zvláštnosti metabolismu novorozenců**

Koncentrace některých parametrů v době narození odpovídá koncentraci v krvi matky, jiné se liší a odrážejí vlastní biochemický profil novorozence.

Voda tvoří u novorozence 70-75% tělesné hmotnosti. Je to způsobeno zvětšeným objemem extracelulární tekutiny, která u novorozence činí téměř 40%. Během prvních týdnů života dochází ke kontrakci extracelulárního prostoru, což má za následek pokles tělesné hmotnosti u donošených novorozenců o 5-10%, u nedonošených až o 10-20%.

Kojenci jsou rovněž mnohem náchylnější k dehydrataci – může k ní dojít např. při průjmech a zvracení.

Obsah tuku v těle novorozence je výrazně menší než v těle dospělého a závisí na gestačním věku. Novorozenec má také malé zásoby glykogenu v játrech. To vede k rychlému poklesu glykémie při hladovění.

Hladina plazmatického vápníku roste s gestačním věkem a v době porodu je vyšší než u matky. Pak nastává pokles s minimem 24-48 hodin po porodu, v důsledku nezralosti příštítných tělísek. Později hladina vápníku opět stoupá, souběžně s aktivací parathormonu.

Pro novorozenecké období je typická nezralost některých enzymových a transportních systémů. Např. jednou z příčin přirozené žloutenky novorozence je nedostatečná schopnost jater vychytávat bilirubin z krve a konjugovat ho. K tomu přistupuje dále zvýšená produkce hemoglobinu v důsledku kratší životnosti erytrocytů.

Vyšší jsou také hladiny alkalické i kyselý fosfatázy, které souvisí s růstem kostí.

## **Screeningová vyšetření novorozence**

### **Fenylketonurie**

Neschopnost organismu přirozeně metabolizovat aminokyselinu fenylalanin. Do moče se vylučují charakteristické metabolity fenylalaninu.

Projevují se toxické účinky fenylalaninu a jeho metabolitů.

Projevy po 6.měsíci života – křeče, porucha pigmentace, porucha psychického vývoje.

Skrínink všech novorozenců – Guthrieho test. Založen na podpoře růstu bakteriálního kmene *Bacillus subtilis* v okolí terčíku s krví novorozence v případě, že obsahuje zvýšenou koncentraci fenylalaninu.

### **Hypotyreóza**

Vrozená hypotyreóza může mít za následek závažné poruchy psychického i tělesného vývoje dětí. Příčinou může být dědičná porucha nebo častěji získané poškození štítné žlázy, nejčastěji při nedostatku jodu v těhotenství a v prvních měsících života.

Kriteriem deficitu jodu je hodnota jodurie. Koncentrace jodu ve vzorku první ranní moče moči by měla být  $>100 \mu\text{g/l}$ . Hodnota  $<50 \mu\text{g/l}$  znamená závažný nedostatek a při koncentraci  $<20 \mu\text{g/l}$  hrozí porucha vývoje dětí.

Při podezření na dědičnou metabolickou poruchu zjištěném na základě klinických příznaků nebo neobvyklých laboratorních nálezů, se pak provádí screeningové vyšetření dalších chorob.

Otázky:

1. Jaké jsou hlavní zásady, které musí pacient dodržet před odběrem krve ?
2. Popište odběr krve u novorozenců.
3. Jaký je rozdíl mezi plazmou a sérem, jak se získají ?
4. Jaké jsou hlavní problémy při zpracování krve novorozenců?
5. U pacienta byla stanovena vyšší koncentrace cholesterolu při odběru vsedě v porovnání s odběrem na lůžku. Vysvětlete.
6. Při imobilizaci pacienta dochází k retenci tekutin. Jak se tato skutečnost projeví na koncentraci albuminu v krvi?
7. Fyziologické rozmezí koncentrace albuminu v séru je 35-53 g/l. U těhotných žen klesají tyto hodnoty často až 32 g /l. Čím lze vysvětlit pokles?
8. Při těhotenství dochází často ke snížení natremie. Čím lze tuto skutečnost vysvětlit?

9. Proč je osmolalita séra u těhotných žen nižší než fyziologické hodnoty ?
10. Čím lze vysvětlit mírnou anemii těhotných žen?
11. U ženy v 8. měsíci těhotenství byla zjištěna koncentrace cholesterolu v séru 10,5 mmol/l. Hraníční hodnota pro běžnou populaci je udávána 5,2 mmol/l. Jak lze vysvětlit uvedený nález?
12. Čím lze vysvětlit častý pocit hladu v počátcích těhotenství?
13. Které stanovení je využíváno k časné diagnostice těhotenství?
14. Které biochemické parametry jsou stanovovány v krvi matky při screeningu vývojových vad plodu?
15. Která vyšetření se provádí z plodové vody?
16. Která bílkovina je hlavním proteinem plodu v prvním trimestru?
17. Jaký podíl vody zaujímá voda v těle novorozenců? Srovnajte s podílem u dospělých.
18. Čím lze vysvětlit pokles hmotnosti novorozenců během prvních týdnů života?
19. Která vyšetření se provádí v rámci novorozeneckého skreeningu dědičných poruch ?

Použitá literatura: J.Racek:Klinická biochemie, Galén 1999

T.Zíma: Laboratorní diagnostika , Galén 2002