

MUNI
PHARM

Klinická biochemie 2024 (2)

Ústav farmakologie a toxikologie
Farmaceutická fakulta
MU, Brno
Ing. Michal Karpíšek, PhD

michal.karpisek@email.cz

Energetický metabolismus

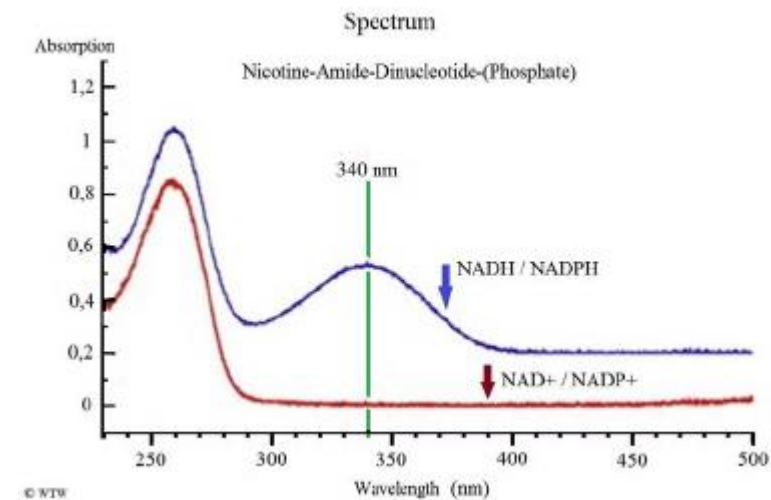
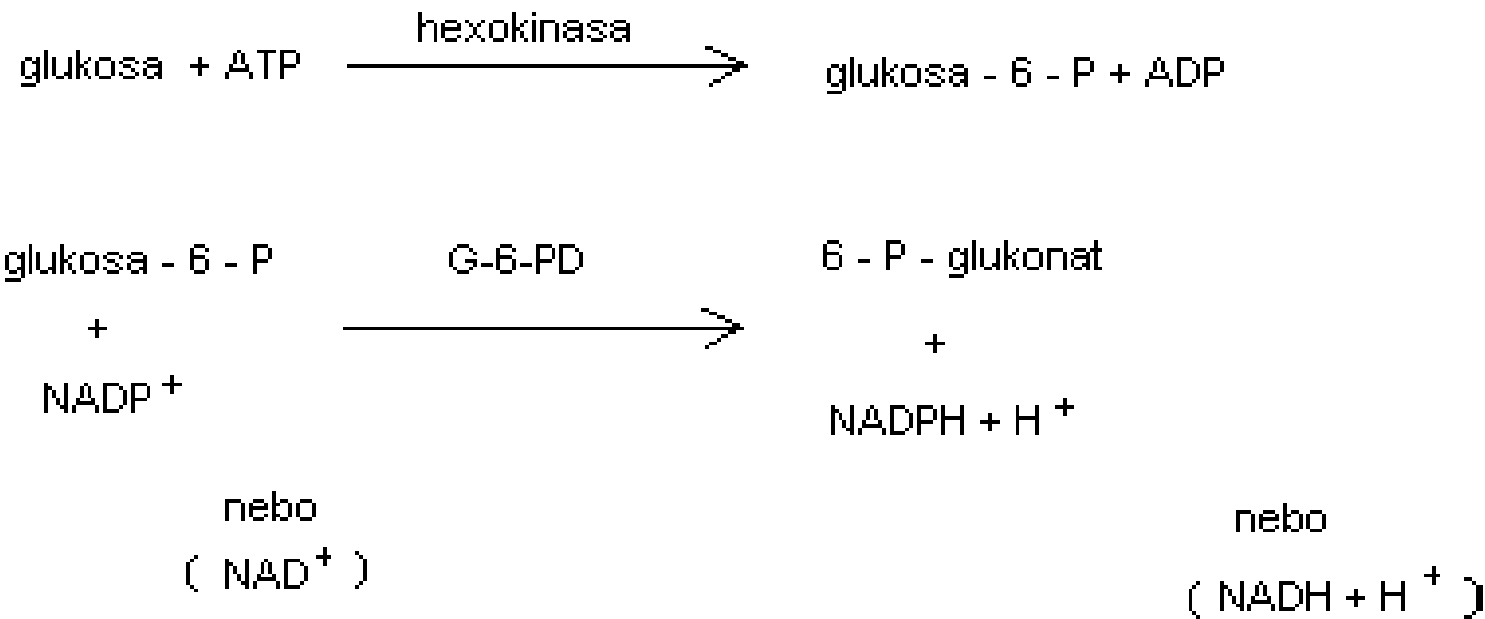
- Glukóza
- Glykované proteiny

- Lipidy: celkový cholesterol (CH), HDL-cholesterol, LDL-cholesterol, triglyceridy (TG)
- Apolipoproteiny

Glukóza

konc. glukózy = glykémie; GLY, metody stanovení:

1) pomocí hexokinázy, detekce NADPH + H⁺ fotometricky při 340 nm



G-6-PD = glukosa - 6 - P - dehydrogenasa

Referenční hodnoty (plná krev):

0-1 měsíc	1.7-4.2 mmol / l
1měsíc – 15 let	3.3 – 5.3 mmol / l
dospělí	3.9 – 5.6 mmol / l

Varovná hodnota - glukóza: 7-10 mmol/l (zvýšená hladina, vyžaduje úpravu léčby)

Kritická hodnota - glukóza: nad 15 mmol/l nebo pod 2 mmol/l (může vést k hypoglykémii nebo hyperglykemické krizi)

Glukóza v diagnóze diabetes mellitus (DM):

dg. DM se vyslovuje tehdy, když:

- hladina krevní glukózy nalačno překročí 2x za sebou 7 mmol/l
- při jednotlivém vyšetření překročí 11.1 mmol / l
- po 2 hod. v „perorální testu tolerance glukózy“ neklesne konc. glukózy pod 11.1 mmol / l

Je-li konc. glukózy nalačno < 7 mmol / l ale v „perorálním testu tolerance glukózy“ po 2 hodinách po podání glukózy překračuje 7.8 mmol / l (ale je menší než 11.1 mmol / l) = hovoříme o zhoršené glukózové toleranci

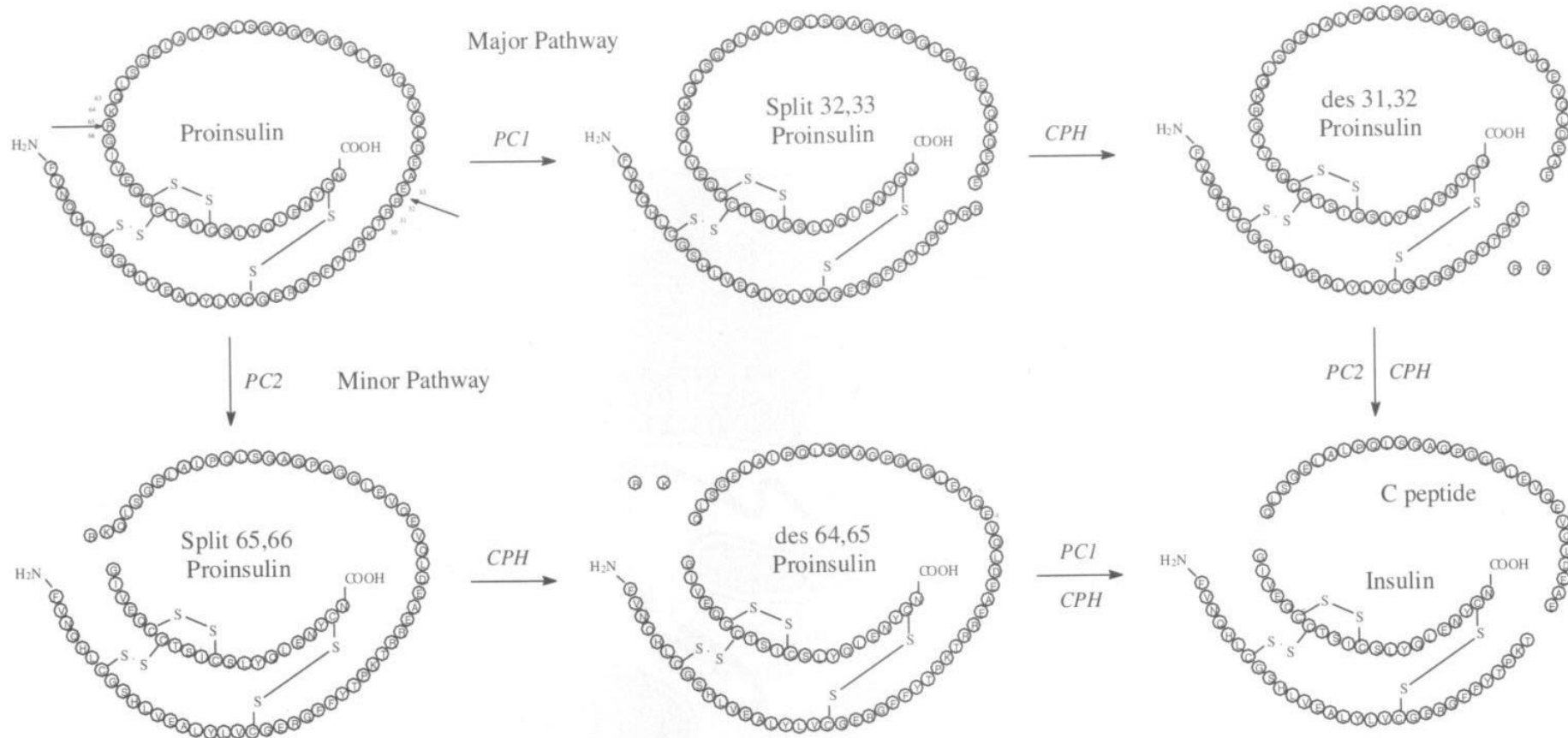
„perorální test tolerance glukózy“ je považován za nejlepší metodu pro stanovení diagnózy DM.

„perorální test tolerance glukózy“:

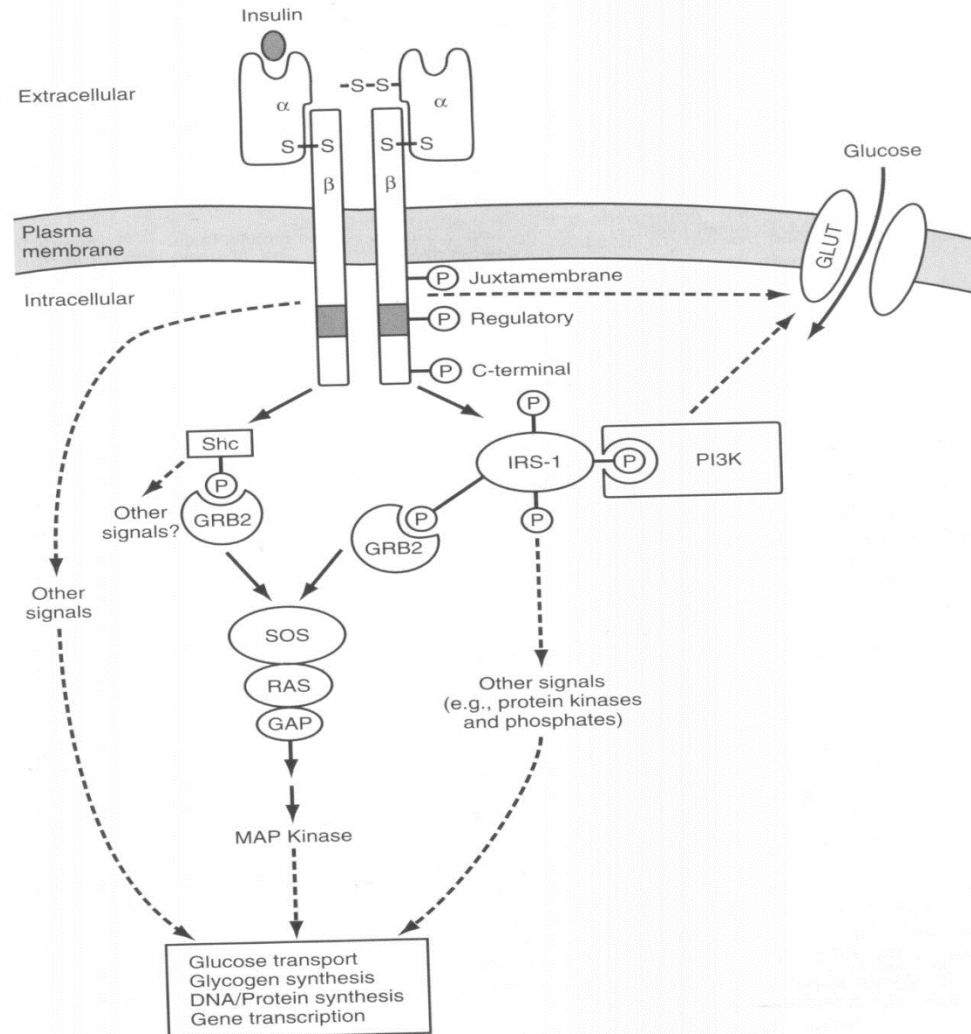
- 1) provede se odběr krve (= nalačno)
- 2) pacient vypije 75g glukózy (100ml vody)
- 3) 2 hodiny v klidu
- 4) provede se odběr krve
- 5) stanovení konc. glukózy

- časový průběh sérové konc. glukózy u zdravých a pacientů s DM

- Inzulín, proinzulín, C-peptid (nejsou kriteria pro stanovení diagnózy DM!!), pouze upřesňují diagnózu



Účinek inzulínu je zprostředkován receptorem pro inzulín, který je v podstatě ve všech tkáních (diabetes mellitus 1. typu x diabetes mellitus 2. typu)



Stanovení insulinu:

- Insulin RIA (mnohem méně ELISA) v heparinové plasmě
- Referenční hodnoty: 2-25 mIU / l (12-150 pmol / l)

Koncentrace insulin je diagnostický nástroj pro

- klasifikaci DM (DM1 vs DM2)
- posouzení aktivity beta buněk
- zjištění insulinové resistance (HOMA index, Quicki index)

Proinsulin:

dg. karcinomu slinivky

familiární hyperproinsulinemie

C-peptid (setrvává v cirkulaci déle než inzulin)

klasifikace DM (DM1 vs MD2)

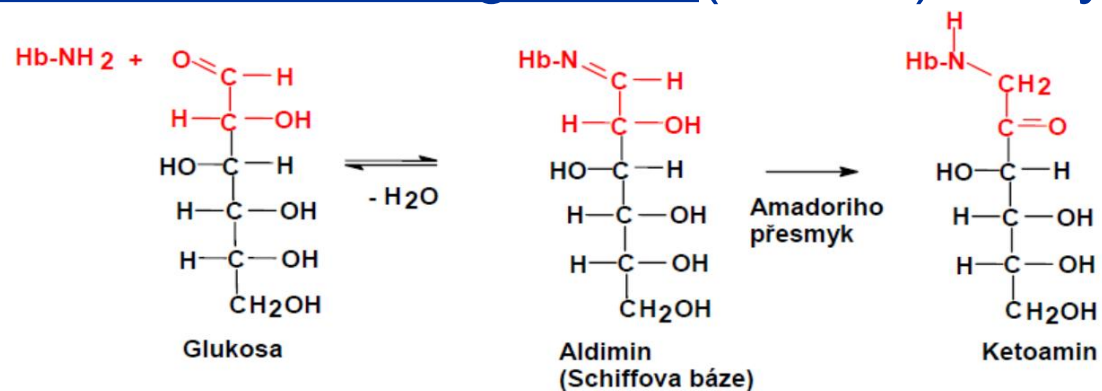
dg. tumoru beta buněk

posouzení aktivity beta buněk

monitorování terapie (transplantace, pankreatektomie)

Glykované proteiny

Jedním z ukazatelů DM je také stupeň glykace některých proteinů krevního séra, jedná se o výsledek neenzymatické chemické reakce mezi proteinem a glukózou (příp. jinými sacharidy). Nejvýznamnější je stanovení glykovaného hemoglobinu (HbA1c), který odráží dlouhodobý stav glykémie.



metoda: HPLC – př. afinitní boronátová chromatografie
referenční rozmezí: nově 2.8-4.0 % v ČR (neuspokojivá kompenzace pacienta: nad 6.5%)

Glykovaný hemoglobin je v klinice používán jako nejlepší parametr posouzení kompenzace DM (tj. jak je aplikovaná léčba účinná).

Pro DM je charakteristický vývoj další řady onemocnění (sítěnice, ledviny, nervového systému....a aterosklerózy)

 u pacientů s DM nutno monitorovat rozvoj komorbidit

!! Pokud jde o kardiovaskulární rizika (resp. kardiovaskulární morbidita a kardiovaskulární mortalita), ty jsou zvýšené již při porušené glukózové toleranci!!

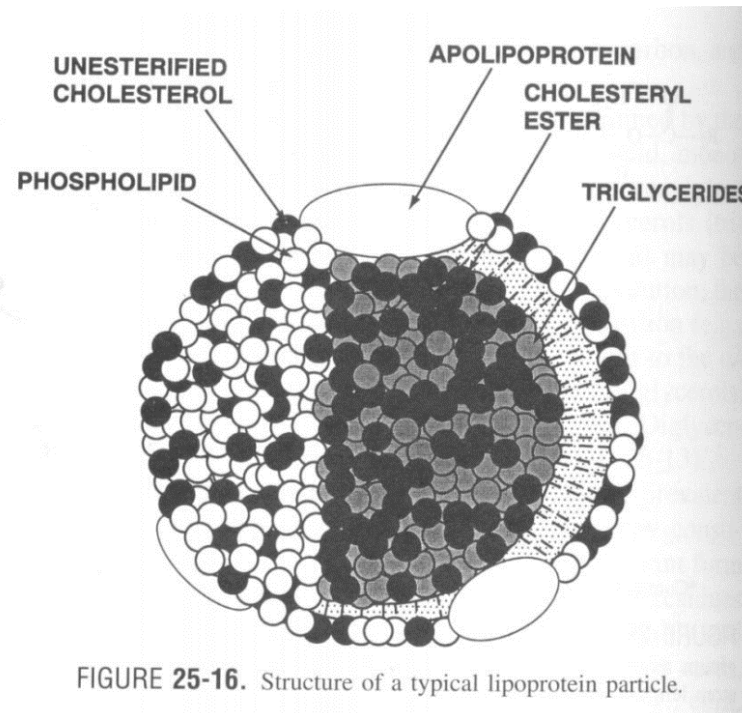
Lipidy

lipidy = tuky + cholesterol (CH) + volné MK (FFA)

triglyceridy (TG) = triacylglyceroly

mono- , di- a triacylglyceroly = tuky

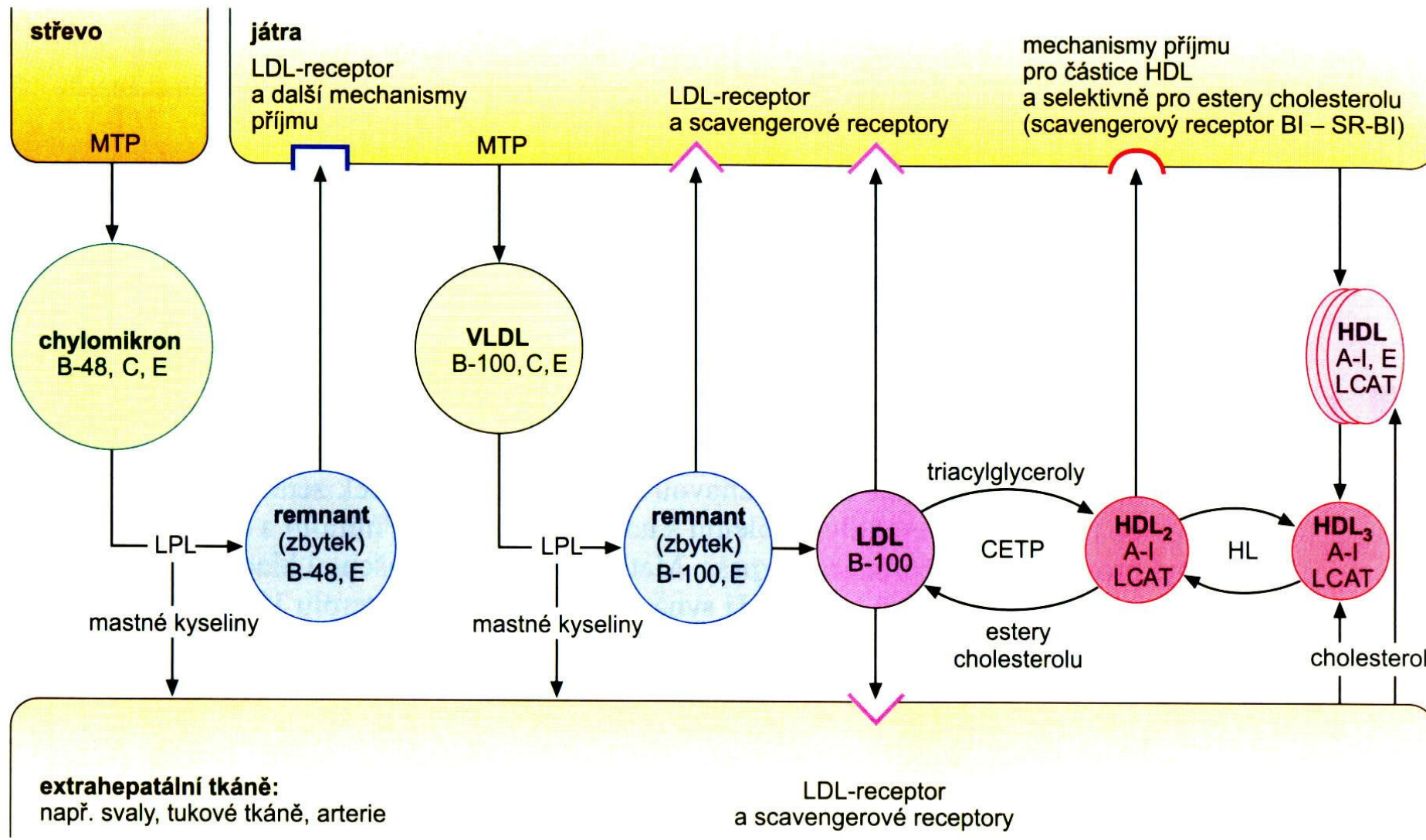
lipoproteiny: lipidová složka (CH, TG, fosfolipidy) + apolipoproteiny



Rozdělení a složení lipoproteinů

Třída	Velikost částic (nm)	Lipidy celkem (%)	TG (%)	Neester. CH (%)	Estery CH (%)	Proteiny celkem (%)	Apoproteiny	Místo syntézy	Funkce
Chylomikrony	> 75	98–99	90	1	2	1–2	A,B-48, C, E	střevo	transport exogenních TG
VLDL	25–70	90–93	54	7	13	7–10	B-100 , C, E	játra	transport endogenních TG
IDL	22–24	89	20	9	34	11	B-100 ,C, E	intravaskulárně z VLDL	transport endogenních TG a esterů CH
LDL	19–23	79	4	11	41	21	B-100	intravaskulárně IDL	transport CH do periferních buněk
HDL	4–10	50–55	3–5	6	30	45–50	A,C, E	játra, střevo, intravaskulárně	transport CH z periferních buněk zpět do jater

Metabolismus lipoproteinů



Stanovení celkového cholesterolu

metoda se vlastně také používá -po eliminaci příslušných frakcí- i pro stanovení LDL-CH a HDL-CH

Stanovení cholesterolu = esterifikovaný + nesterifikovaný cholesterol, proto nejdříve:

esterifikovaný cholesterol + H₂O --- (cholesterolesterhydroláza) ---> cholesterol + MK

cholesterol + O₂ ---- (cholesteroxidáza) ----> cholest-4-en-3-on + H₂O₂

H₂O₂ + fenol + aminofenazon ---- (peroxidáza) ----> barevný produkt (chinonimin)+ 2H₂O

Separace jednotlivých lipoproteinů před analýzou HDL-CH nebo LDL-CH:

- historicky ultracentrifugace
- frakcionace pomocí polymerů
- imunoprecipitace pomocí protilátek proti apolipoproteinům

Stanovení HDL-CH

- 1/ pomocí cyklodextrinsulfátu a PEGem modif. enzymy, pak v reakční směsi podléhá enzymatické reakci jen HDL-CH
- 2/ imunoprecipitace: do vzorku se přidá polyklonální protilátka proti ApoB100 = precipitace (odstranění) VLDL, IDL a LDL; v reakční směsi zbyde HDL

Stanovení LDL-CH

- 1/ precipitace/eliminace LDL-CH pomocí polyvinylsulfátu nebo heparinu + nízké pH; koncentrace LDL se vypočítá jako rozdíl mezi hodnotou před (celkový CH) a po precipitaci (HDL-CH), přičemž se vychází ze zjednodušené rovnice:
$$\text{celkový CH} = \text{LDL-CH} + \text{HDL-CH}$$
- 2/ imunoprecipitace: do vzorku se přidá směs polyklonálních protilátek proti ApoA-I a ApoE = precipitace (odstranění) HDL, VLDL a IDL; v reakční směsi zbyde LDL

Stanovení triacylglycerolu

TG + 3H₂O ---- (lipáza) ----> glycerol + 3 MK

glycerol +ATP ---(glycerolkináza) ---> **glycerolfosfát + ADP**

glycerolfosfát + O₂ --- (glycerolfosfátoxidáza) ---> dihydroxyaceton + H₂O₂

H₂O₂ + fenol + aminofenazon ---- (peroxidáza) ----> barevný produkt (**chinonimin**)+ 2H₂O

Alternativně:

A) glycerolfosfát + NAD⁺ ---- (glycerolfosfátdehydrogenáza) ---> dihydroxyacetonfosfát + NADH + H⁺
(detekce NADH + H⁺ fotometricky při 340nm nebo tetrazolovou barvičkou)

B) stanovení ADP: ADP + fosfoenolpyruvátu ----> ATP + pyruvát, kde pyruvát je LD přeměněn na laktát a měří se úbytek NADH + H⁺ (stanovení NADH + H⁺ viz. výše)

Vzhledem k tomu, že stanovení zahrnuje reakci glycerolu, mohly by se vyskytnout falešně vyšší výsledky u pacientů s vyšší koncentrací volného glycerolu v cirkulaci (diabetici, pacienti s renálním selháním na hemodialýze).

Referenční hodnoty (sérum):

Celk. CH: pod 40r. do 5.2 mmol / l
nad 40r. do 5.8mmol / l

HDL-CH: muži: nad 1.1 mmol / l
ženy: nad1.3 mmol / l

LDL-CH: 1.2 – 4.5 mmol / l

TG: do 25 let do 1.4 mmol / l
25 - 50 let do 1.55 mmol / l
přes 50 let do 1.7 mmol / l

Stanovení apolipoproteinů

imunoanalyticky nebo elektroforeticky v agarózovém gelu, často v rámci dg. familiární lipoproteinémie Apo-A a Apo-B

A-I	Strukturální pro HDL, ligand pro vazbu HDL, koenzym LCAT. "Antiaterogenní".
A-II	Strukturální pro HDL, ligand pro vazbu HDL, modulátor aktivity LL a HTGL.
A-IV	Ligand pro vazbu HDL, aktivátor LCAT.
Apo (a)	Strukturální pro lipoprotein Lp(a), snižuje fibrinolýzu. Vysoce atherogenní.
B-48	Strukturální pro chylomikrony.
B-100	Strukturální pro VLDL, LDL a IDL, ligand pro LDL-receptor. Atherogenní.
C-I	Aktivátor LL a LCAT.
C-II	Aktivátor LL a LCAT.
C-III	Inhibitor LL, modulátor vazby lipoproteinů bohatých na TG na "protein podobný LDL-rec.", LRP
E	Ligand pro LDL-receptor a pro LRP. Atherogenní.

Metabolický syndrom

vychází z předpokladu pravděpodobně stejné etiologie pro inzulínovou rezistenci a obezitu

Kritéria MS (podle NCEP ATP III): dg. MS u pacientů splňujících 3 a více z 5 následujících kritérií:

1. Hypertenze (syst. tlak > 130mm Hg, diastol. tlak > 85mm Hg) a/nebo léčba antihypertenzivy
2. Hyperglykémie (glukóza na lačno > 5.6 mmol/l)
3. Hypertriglyceridémie (TG na lačno > 1.69 mmol/l)
4. Nízká koncentrace HDL-CH (HDL-CH na lačno \leq 1.04 u mužů a \leq 1.29 u žen)
5. Centrální obezita (obvod pasu > 102cm u mužů a > 88cm u žen)

Kritéria AHA: NCEP ATP III (revize 2005)		Kritéria IDF (2005): obvod pasu + přítomnost 2 nebo více dalších kritérií		Kritéria WHO (1998): alespoň jedno z následujících kritérií D2M, GLY, IR nebo OGTT + přítomnost 2 nebo více dalších kritérií		Harmonizace kritérií AHA a IDF (2009): přítomnost 3 nebo více kritérií	
Obvod pasu	muži ≥ 102 cm ženy ≥ 88 cm	Obvod pasu	muži ≥ 94 cm ženy ≥ 80 cm	Obezita	WHR muži > 0,9 WHR ženy > 0,85 Nebo BMI > 30 kg/m ²	Obvod pasu	Podle rasy nebo státu, např. europoidní/ kavkazská (muži: >94 cm, ženy: > 80 cm resp (muži: > 102 cm, ženy: > 80 cm) Mongoloidní/ asijská populace (muži: > 90 cm, ženy: > 80 cm)
TAG	≥ 1,7 mmol/l	TAG	≥ 1,7 mmol/l	TAG nebo HDL-CH	≥ 1,7 mmol/l HDL-CH muži: < 1,0 mmol/l HDL-CH ženy: < 0,905 mmol/l	TAG	≥ 1,7 mmol/l
HDL-CH	muži: < 1,0 mmol/l ženy: < 1,3 mmol/l nebo farmakologická léčba nízkého HFL-CH	HDL-CH	muži: < 1,0 mmol/l ženy: < 1,3 mmol/l nebo farmakologická léčba nízkého HFL-CH	Albuminurie	≥ 20 µg alb /min nebo poměr albumin/kreatinin ≥ 3,5 mg/mmol	HDL-CH	muži: < 1,0 mmol/l ženy: < 1,3 mmol/l nebo farmakologická léčba nízkého HFL-CH
Krevní tlak	≥ 130/85 mmHg nebo farmakologická léčba hypertenze	Krevní tlak	≥ 130/85 mmHg nebo farmakologická léčba hypertenze	Krevní tlak	≥ 140/90 mmHg	Krevní tlak	≥ 130/85 mmHg nebo farmakologická léčba hypertenze
GLY	> 5,6 mmol/l	GLY	> 5,6 mmol/l	D2M, GLY, IR, OGTT	+/-	GLY	> 5,6 mmol/l

Prevalence metabolického syndromu v populaci

Studie:

Z. Du *et al.*, „Prevalence and determinants of metabolic syndrome based on three definitions in rural northeast China“, *Public Health Nutr.*, roč. 23, č. 18, s. 3379–3386, pro. 2020, doi: 10.1017/S1368980019004166.

podle modifikovaných kritérií NCEP ATPIII	41.3 % (95% CI 40.3, 42.2),
kritérií IDF	34.2 % (95% CI 33.2, 35.1)
harmonizované definice AHA a IDF	44.1 % (95% CI 43.1, 45.1)

Vyšší prevalenci měly ženy a nejčastěji se vyskytoval zvýšený krevní tlak.

Význam metabolického syndromu a jeho role v léčbě

E88.81

Syndrom

V prevenci

V léčbě

Léčba vysokého krevního tlaku (antihypertenziva)

- **ACE inhibitory** - účinné u pacientů s hypertenzí a inzulínovou rezistencí.
- **Blokátory receptorů pro angiotensin II (sartany)** - vhodné zejména u pacientů, kteří ACE inhibitory nesnášejí, PPARg
telmisartan x losartanu, valsartanu

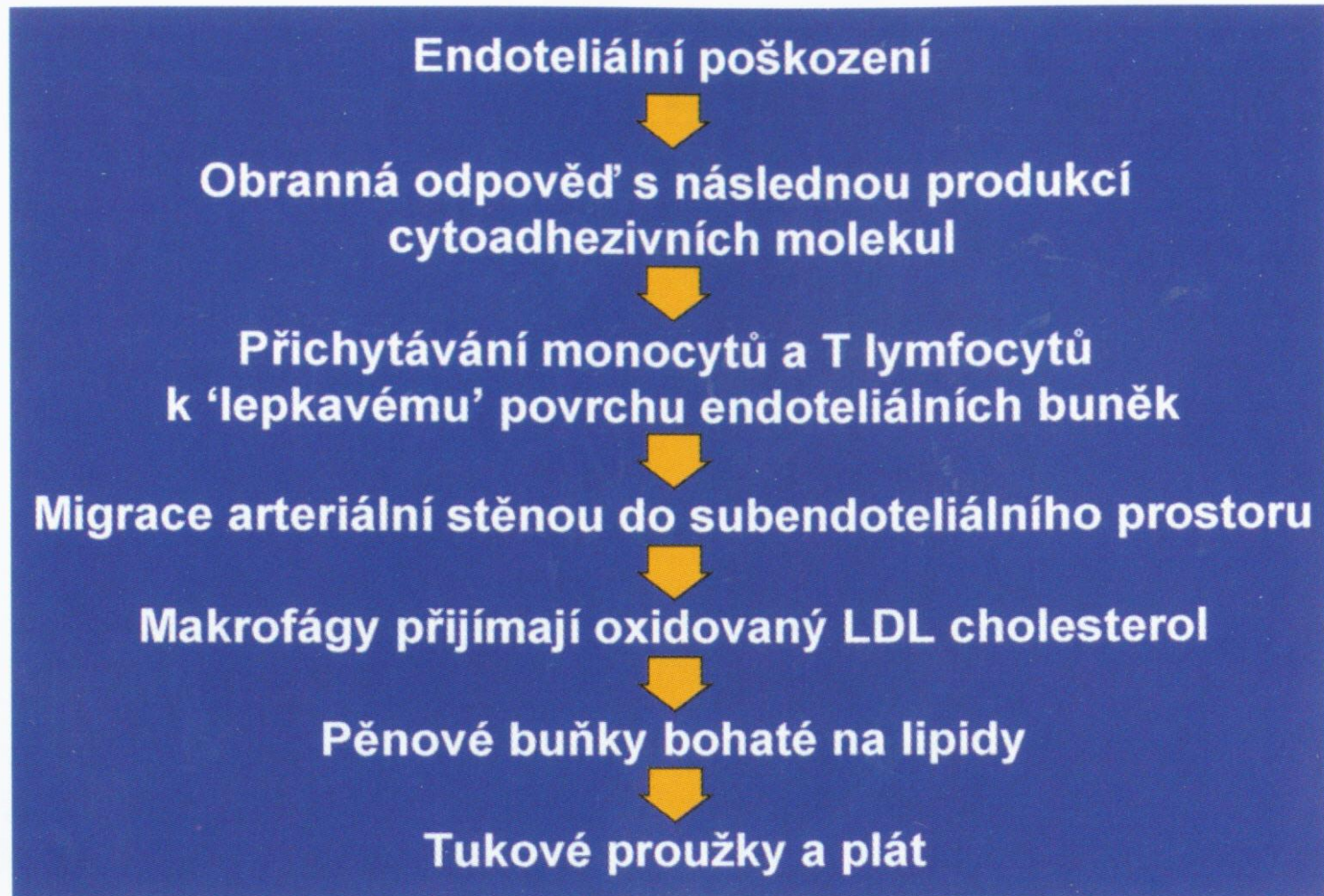
Léčba dyslipidémie

- **Statiny** (např. atorvastatin, rosuvastatin): snižují hladinu LDL cholesterolu a mohou také mírně snižovat hladinu triglyceridů. Mají prokázaný účinek na snížení kardiovaskulárního rizika, což je pro pacienty s metabolickým syndromem důležité. Pleiotropní účinky - PPARg
- **Fibráty** (např. fenofibrát): snížení hladiny TG a mohou zvýšit hladinu HDL cholesterolu,. Mechanismus působení PPARa.

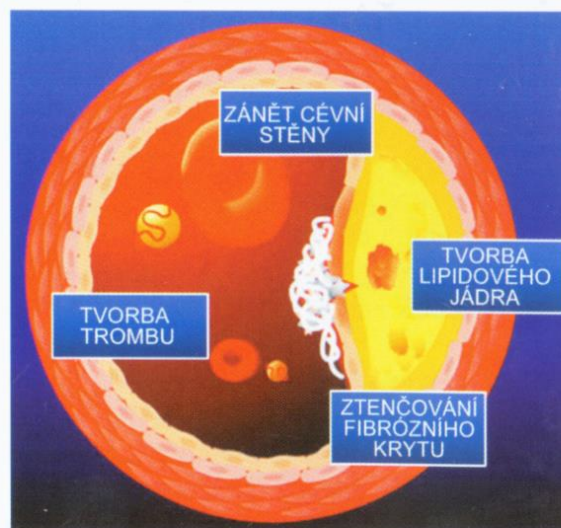
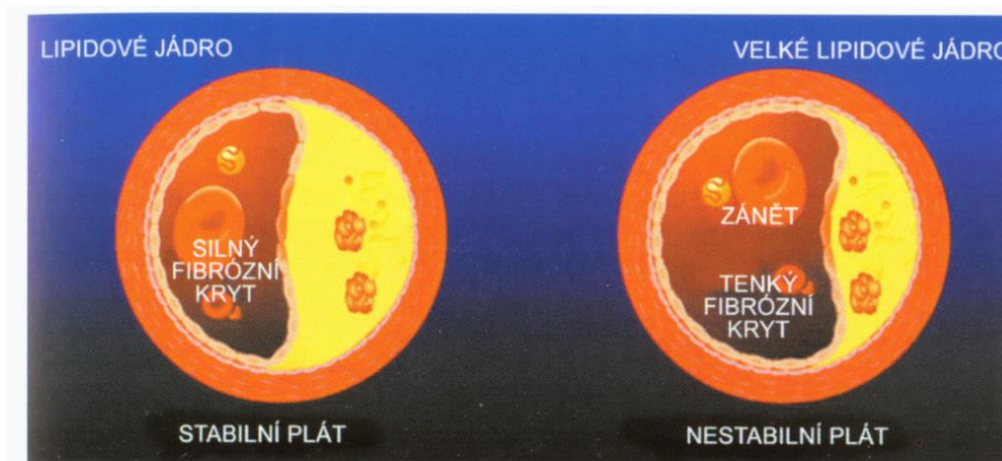
Léčba inzulínové rezistence a regulace hladiny glukózy

- **Metformin**: je základním lékem pro pacienty s prediabetem nebo diabetem 2. typu, zejména pokud je přítomna inzulínová rezistence. Metformin zlepšuje citlivost na inzulín a pomáhá snižovat hladinu krevního cukru, aniž by zvyšoval riziko hypoglykémie.
- **GLP-1 agonisté** (např. liraglutid, semaglutid): kromě regulace hladiny glukózy mohou GLP-1 agonisté také podporovat **úbytek hmotnosti**, což může být pro pacienty s metabolickým syndromem velmi výhodné.
- **SGLT-2 inhibitory** (dapagliflozin, empagliflozin): pomáhají snižovat hladinu krevního cukru, příznivý vliv na **snížování hmotnosti a krevního tlaku**.

Ateroskleróza - patogeneze:

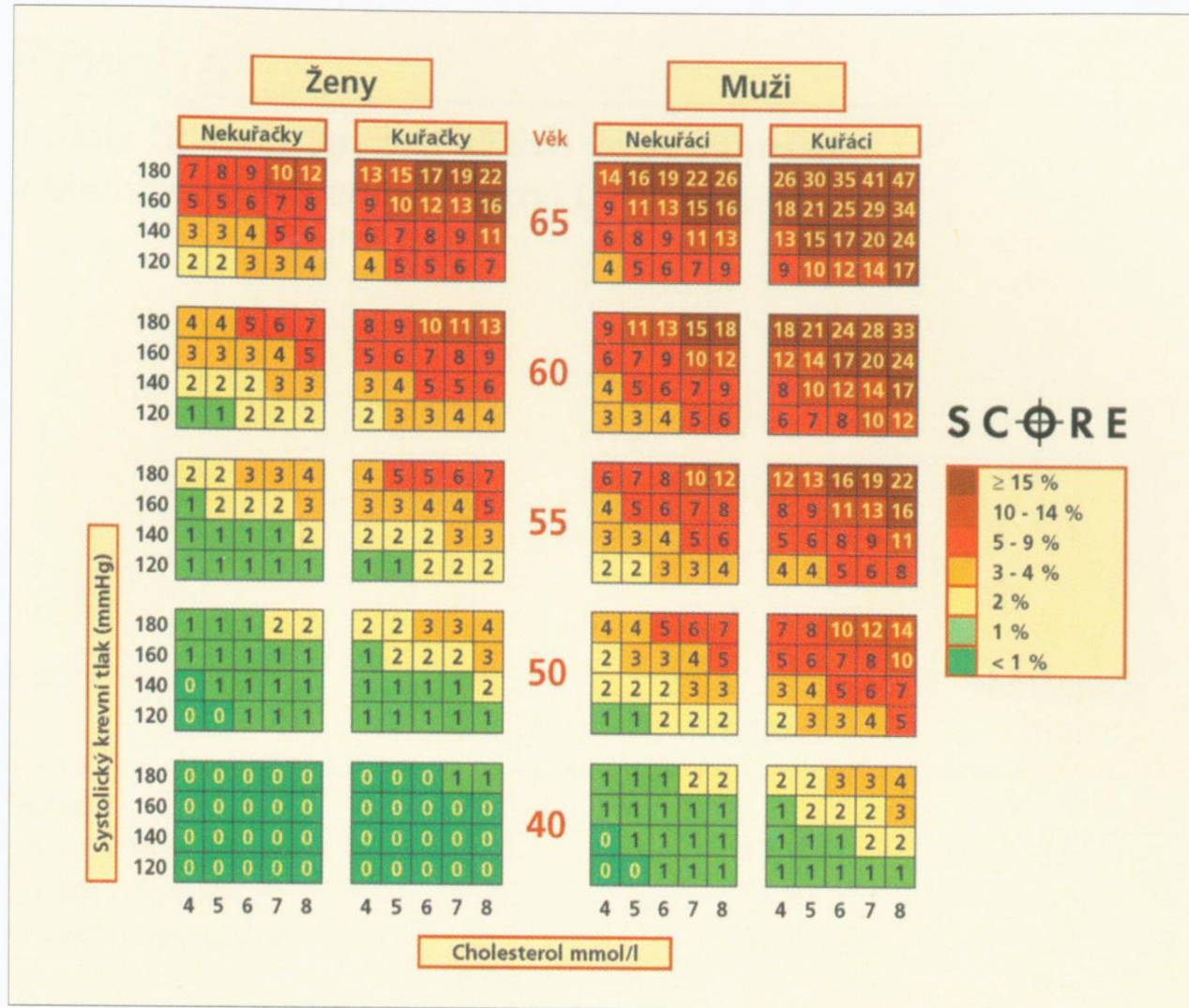


Aterosklerotický plát – posouzení stability plátu slouží k odhadu kardiovaskulárního rizika. Stabilita je v podstatě dána tloušťkou fibrózního plátu.



Odhad CV rizika z hodnot systolického tlaku a hodnoty celk. CH

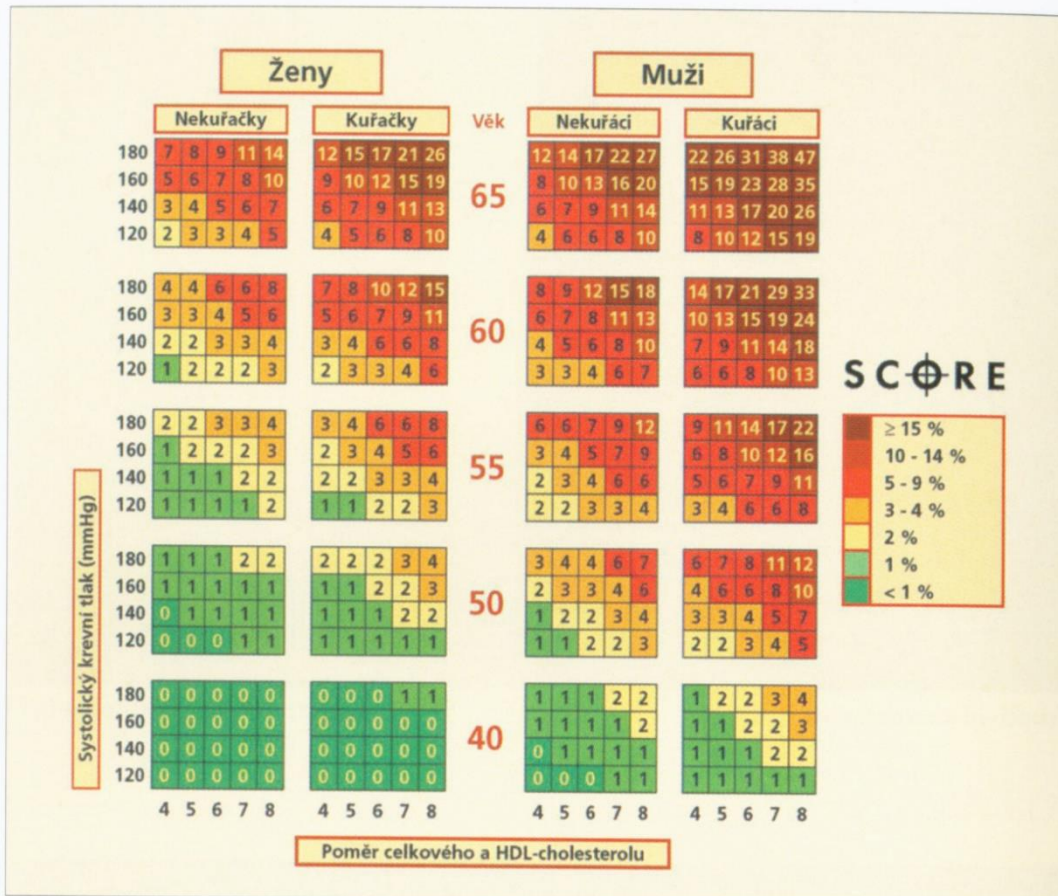
Obrazová příloha



Tabulky rizika kardiovaskulárního úmrtí v příštích 10 letech

– Odhad CV rizika z hodnot systolického tlaku a aterogenního indexu = poměr celk.CH a HDL-CH

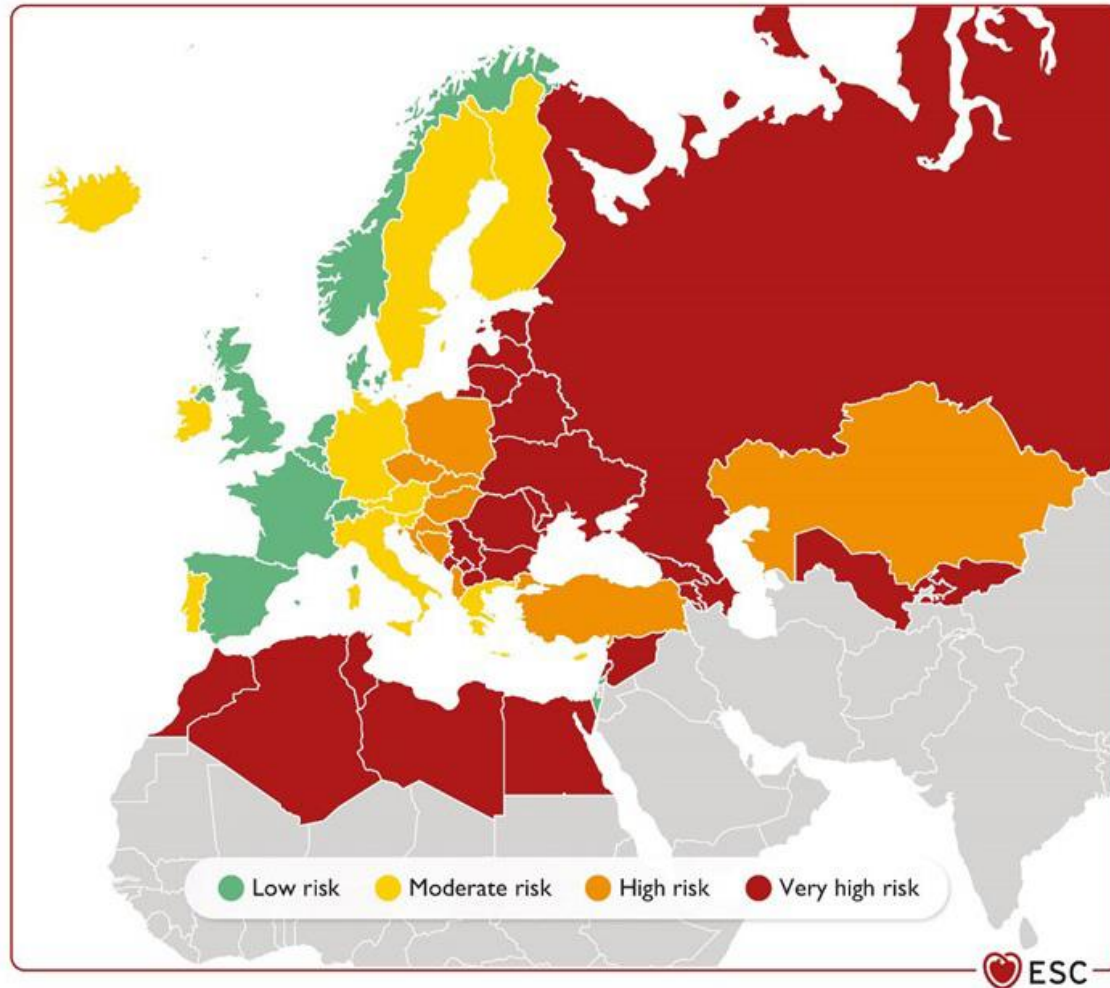
RICHARD ČEŠKA A KOL. / CHOLESTEROL A ATEROSKLERÓZA, LÉČBA DYSLIPIDEMIÍ



patologie: aterogenní index > 5

Tabulky rizika kardiovaskulárního úmrtí v příštích 10 letech

ESC: stratifikace rizika



Risk regions based on
World Health Organization
cardiovascular mortality
rates

©ESC

MUNI
PHARM

European Society of Cardiology (ESC) and European Atherosclerosis Society (EAS)

-doporučení 2019

stratifikace rizika

-upadte 2021:

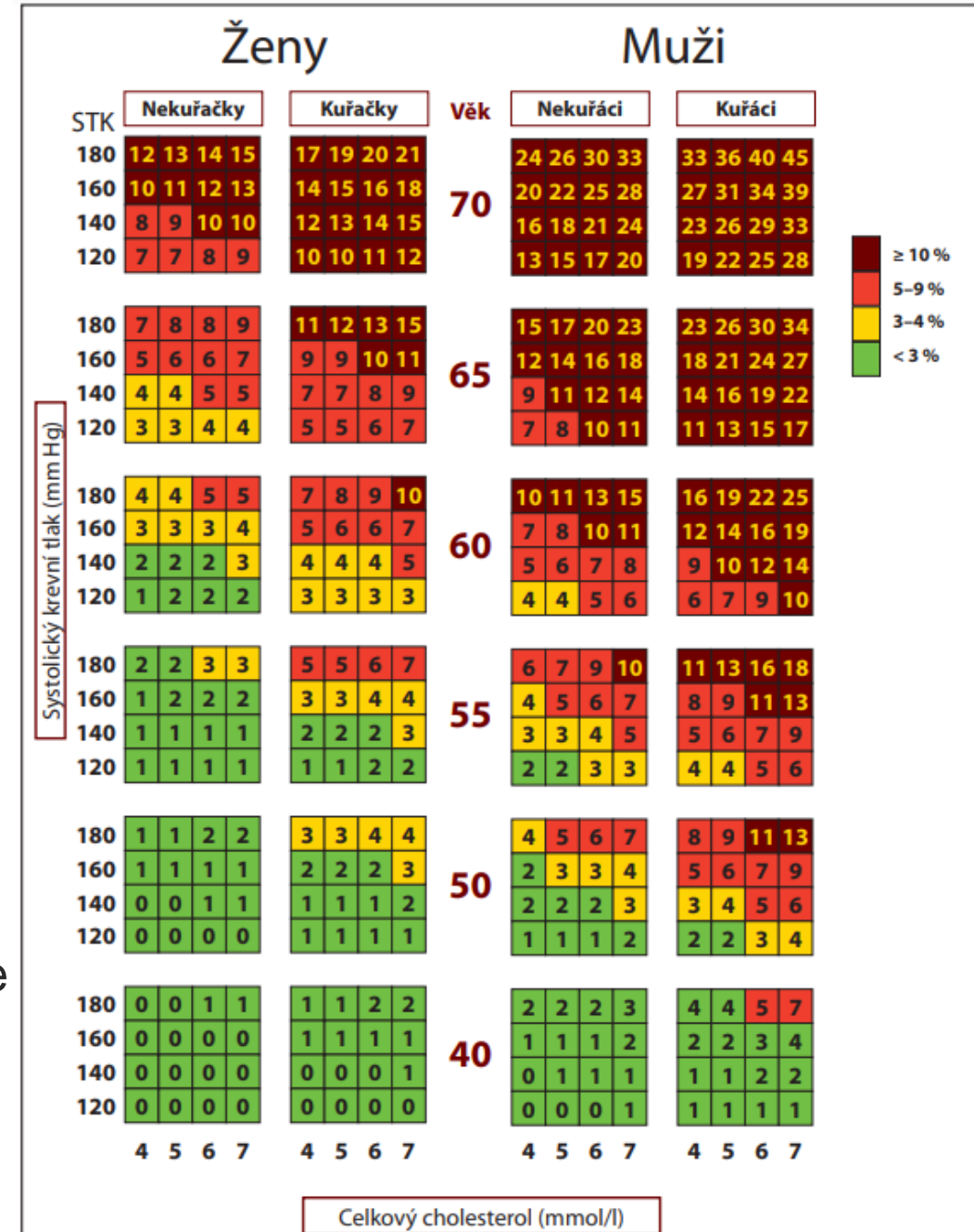
SCORE-2

SCORE-2-OP

kalkulátory, vliv DM, CKD, familiární hypercholesterolemie

číslo udává nejen mortalitu ale i morbiditu (počet

kardiovask. příhod)



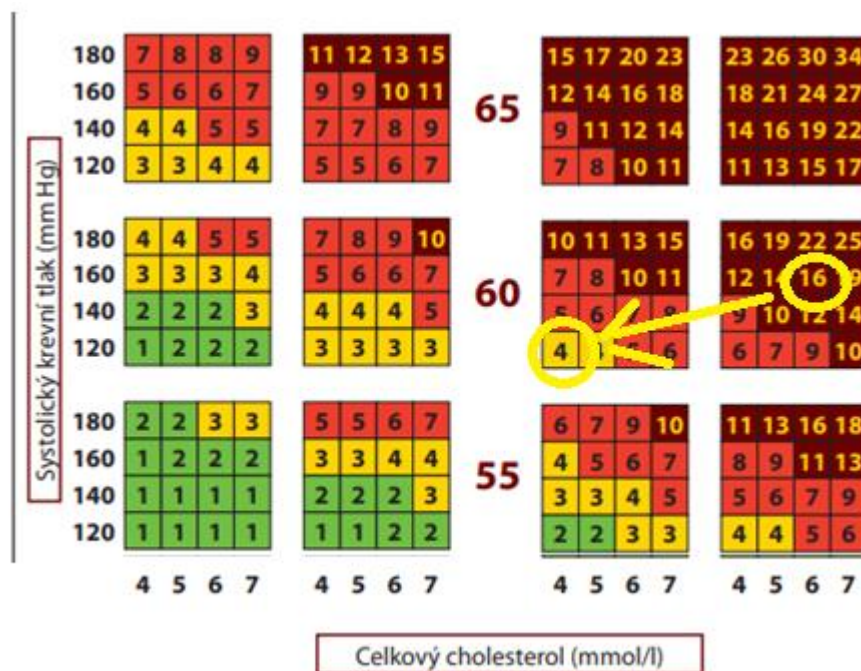
Kazuistika

– Určení KV rizika:

Pacient: muž, 59 let, kuřák, tlak má 155/95 a celkový cholesterol 6 mmol/l

antihypertenziva
statiny
+ přestane kouřit

– Lipidový profil u pacientů s mentální anorexií



snížení KV rizika
z 16% na 4%

Porovnání nákladů na léčbu

1. ACE inhibitory

Orientační měsíční náklady:

- **Perindopril:** kolem 50–150 Kč v závislosti na dávkování a výrobci.
- **Ramipril:** cca 30–100 Kč.
- **Enalapril:** obvykle kolem 20–80 Kč.

Celkový odhad měsíční léčby

Kombinovaná léčba ACE inhibitorem a statinem **cca 200 Kč** při základních variantách léčiv (24 000Kč/10 roků)

2. Statiny

Orientační měsíční náklady:

- **Atorvastatin:** cca 50–150 Kč, v závislosti na dávce a výrobci.
- **Simvastatin:** přibližně 20–100 Kč.
- **Rosuvastatin:** kolem 70–200 Kč.
- **Pravastatin:** cca 50–150 Kč.

Celkový odhad nákladů na léčbu

AIM (akutní..rehabilitace):
100 000Kč – 500 000Kč

Cílové hodnoty u hypolipidemické léčby

Riziko	Nízké	Středně vysoké	Vysoké	Velmi vysoké	Extrémní
LDL-CH (mmol/l)	< 3,0	< 2,6 a snížení o nejméně 50 % hodnot před léčbou	< 1,8 a snížení o nejméně 50 % hodnot před léčbou	< 1,4 a snížení o nejméně 50 % hodnot před léčbou	< 1,0
NonHDL-CH (mmol/l)	< 3,8	< 3,4	< 2,6	< 2,2	< 1,8
ApoB (g/l)	-	< 1	< 0,8	< 0,65	< 0,55

ApoB vs aterogenní index

1 molekula Apo B v 1 lipoproteinové částici

Aterogenní index celkový CH / HDL-CH = 0Kč nad rámec rutinní analýzy, (náklady cca 90Kč)

ApoB náklady cca 200Kč

ApoB u pacientu s komplikovanějšími lipidovými profily a pacientů s hypertriglyceridemií

Stanovení / výpočet LDL cholesterolu může být nepřesné v případech s vysokými hladinami triglyceridů.

Slinivka

Amyláza (pankreatická)

- fyziologická fce: štěpí vysokomolekulární sacharidy na jednoduché (cukry)
- Obecně mezi alfa-amylázy patří P-amyláza a S-amyláza (obě zahrnují několik izoenzymů, P-amyláza: P1, P2 a P3)
- pankreatická amyláza: slinivka → duodenum
- akutní poškození alfa, beta..buněk pankreatu nebo zúžení / uzavření odvodního žlučového kanálku (žlučové kameny, karcinom) vede přes lymfatický systém ke zvýšení koncentrace amylázy v krvi

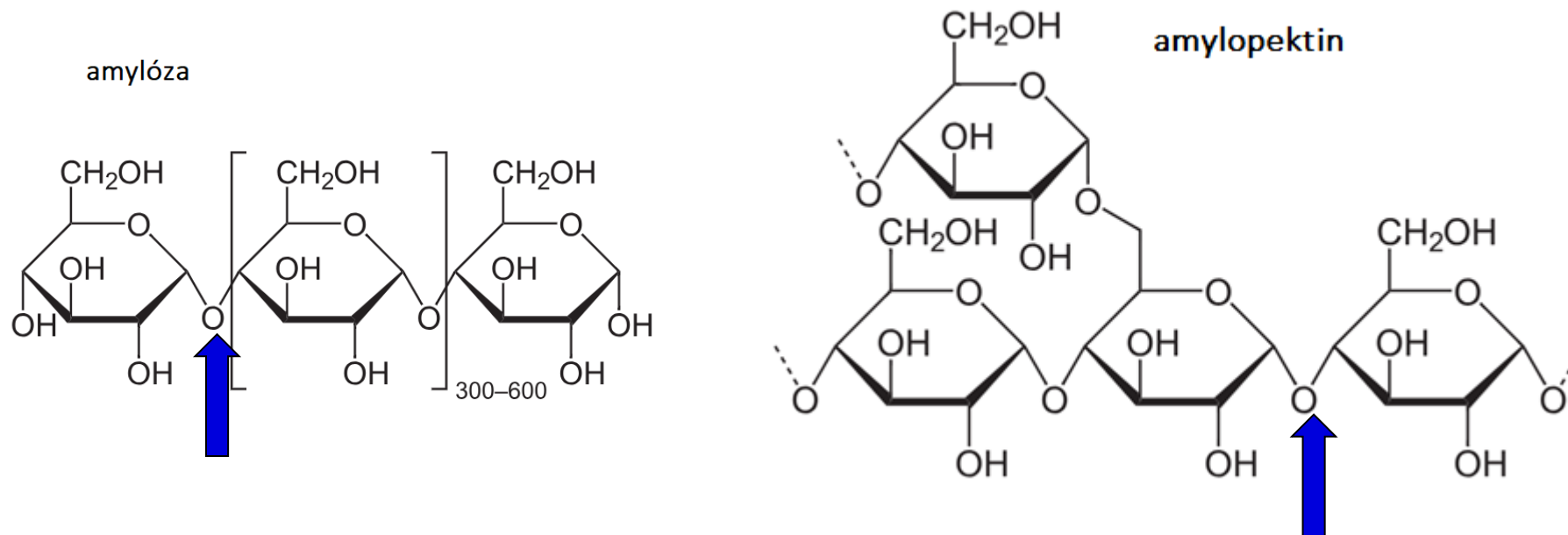
- zvýšené sérové konc. amylázy jsou také: **pankreatitida** (akutní i chronická), diabetická ketoacidóza, **cholecystitida** (zánět žlučníku) a při selhání ledvin (amyláza je odstraňována v ledvinách → při snížené vylučovací schopnosti ledvin vzrůstá její konc.v krvi)
- Stanovení amylázy:
 - V krvi výrazně převažuje P-amyláza, enzymaticky se stanovuje celková aktivita (P1+P2+P3), celkem asi 200 různých metod; pokud je třeba rozlišit izoenzymy nebo příp. příspěvek S-amylázy, pak: iontoměničová chromatografie, IEF, diferenciální inhibice (pomocí deoxymaltotriózy, která inhib. P-amylazu z 87% a S-amylazu z 32%), imunochemicky (protilátky)

Stanovení amylázy:

1) maltopentóza ----- *alfa-amyláza* ----> maltotrióza + maltóza

2) maltotrióza + maltóza ----- *α -1,4 glukosidáza* ---->
5x glukóza

glukóza se pak stanovuje pomocí hexokinázy, glukozaoxidázy ad viz. dříve



Referenční hodnoty (pankreat. amyláza) - sérum:
do 0.9 μ kat/ L

Stanovení amylázy v moči:
v séru má hodnota poměrně vysokou clearance, hodnota v moči se stanovuje pokud se předpokládá pankreatitida, ale sérové konc. jsou již v normě

Lipáza

- fyziologická fce: štěpí TG na nižší acylglyceroly nebo až na glycerol a mastné kyseliny
- lipáza: slinivka → duodenum
- poškození alfa, beta..buněk pankreatu nebo zúžení / uzavření odvodního kanálku (žlučové kameny, karcinom) vede ke zvýšení koncentrace lipázy v krvi
- nejčastější případ, kdy je zvýšená koncentrace lipázy v séru je **akutní pankreatitida**

- stejně jako amyláza je odstr. v ledvinách → při snížené vylučovací schopnosti ledvin vzrůstá jeho koncentrace v krvi
- v klinice se považuje za specifitější ukazatel při vyšetření slinivky než amyláza

Co je ale v tomto ohledu důležité:

- při pankreatitidě je jeho konc. 5-10x vyšší než je limit
- při jiných dg. se zvyšuje na max. 2-3x hodnotu limitu

Referenční hodnota (limit): do 3 μ kat/ L

Stanovení lipázy:

- 1) 1-oleoyl-2,3-diacetylglycerol + H₂O — *lipáza + kolipáza* →
kys. olejová + 2,3-diacetylglycerol
- 2) 2,3-diacetylglycerol + H₂O — *diacetináza* →
glycerol + kys. octová

stanovení glycerolu viz. stanovení triacylglycerolů

Alternativně: měří se vznikající zákal (turbidimetrie, !! ne imunoturbidimetrie): v reakční směsi v kyvetě je emulze vzorku s kys. olejovou (=MK) → během štěpení vznikají ve vodě málo rozp. látky = zákal

Alternativně se také používají i netriacylglycerolové substráty NEBO stanovení pomocí ELISA a RIA

Vyšetření jater

ALT = alanin aminotransferáza

- přítomen především v játrech, ale i ledvinách, srdci a skeletárním svalstvu
- poškození hepatocytů – intracelulární protein se dostává do cirkulace (krve) = míra dysfunkce jater způsobené tzv. hepatocelulárními nemocemi
- výborný ukazatel **infekčních** onemocnění jater a také jejich poškození vlivem užívání (zatížení) řady **léků** (aminosalicylová kys., ampicilin, klofibrát, statiny, antikoncepce, dikumarol, kodein...), stanovení před zahájením léčby a v jejím průběhu

Stanovení ALT: enzymaticky, ALT katalyzuje reakci

alanin + 2-oxoglutarát → pyruvát + glutamát

pyruvát + 2,4-dinitrofenylhydrazin →
hydrazonpyruvát (vykazuje ↑ abs. při 505 nm)

Referenční hodnoty

- muži: max. 0.8 μ kat/ L
- ženy: max. 0.6 μ kat/ L

AST = aspartát aminotransferáza

- v podstatě ve všech tkáních s vysokou metabolickou aktivitou, kromě jater i ledviny, srdce a skeletární svalstvo, slinivka, č. krvinky... zvýšené sérové koncentrace ve větší škále klinických stavů ve srovnání s ALT (AIM)

– stanovení AST: enzymaticky, AST katalyzuje reakci

aspartát + 2-oxoglutarát → oxalacetát + glutamát

oxalacetát samovolně dekarboxyluje za vzniku pyruvátu

pyruvát + 2,4-dinitrofenylhydrazin →
hydrazonpyruvát (vykazuje ↑ abs. při 505 nm)

Referenční hodnoty

- muži: max. 0.65 μ kat/ L
- ženy: max. 0.5 μ kat/ L

Klinické hodnocení ukazatelů ALT a AST

- kromě vlastních referenčních hodnot pro jedn. enzymy se stanovuje jejich poměr

AST / ALT < 1 hepatitida **virového** původu (hepat. A, B, C..G),
infekční mononukleóza (způsobená EBV, CMV nebo HIV)

AST / ALT > 1 onemocnění jater **nevirového** původu ischemie,
hepatotoxicita (léky), tumor (metastáze) , bakteriální infekce, hodnoty
nad 2 typické u pacientů s nadměrným a dlouhodobým užíváním
alkoholu (spolu s GGT)

Potvrzení bakteriální infekce jater pomocí alkalické fosfatázy (ALP) a
gama-glutamyltransferázy (GGT)

Vyšetření ALT, AST je doplňováno o vyšetření bilirubinu, hematologické vyšetření (protrombinový čas)

Rozlišení hepatocelulárního poškození a cholestázy

	ALT	AST	AST/ALT	ALP	GGT	bilirubin
Hepatocelulární poškození	++++	++++	často < 1 nebo > 1	0 / +	0 / +	+ / ++ podle závažnosti
cholestáza	+	+	přibližně 1	++++	+++	++ / +++ podle závažnosti

Vyšetření funkce ledvin

- albumin, kreatinin, celková bílkovina, cystatin C, kys. močová, močovina, vápník, draslík... ionty

kreatinin

kreatinin je katabolický produkt kreatinfosfátu (svalová kontrakce), cirkuluje v krvi a je vylučován ledvinami výhradně glomerulární filtrací. V rámci 24 hod POMĚRNĚ nízká fluktuace hodnot v séru = jeho konc. v séru je přímo úměrná exkreční funkci ledvin a je tedy stanovován v séru a moči pro posouzení poruchy filtrační schopnosti ledvin

Referenční hodnota v séru: 35 – 115 $\mu\text{mol/L}$

Referenční hodnota v moči: 4.5 – 18 mmol/ d

Stanovení kreatininu v séru i moči

Jaffeho reakce: kreatinin + alkalický pikrát → žlutooranžová barva se měří při 510nm

- měření ve dvou časech (korekce na ostatní chromogeny – může rušit GLY, bilirubin, bílkoviny, ketony...), v moči cca 50x vyšší konc. než séru!!

Zvýšené koncentrace kreatinu:

Onemocnění nebo poškození ledvin

- **Akutní nebo chronické selhání ledvin:** Když ledviny nejsou schopné efektivně filtrovat krev, kreatinin se začne hromadit v séru.
- **Glomerulonefritida:** Zánět glomerulů může snížit filtrační schopnost ledvin, což vede k retenci kreatininu.
- **Diabetická nefropatie.**

Dále při dehydrataci, **Intenzivní fyzická aktivita nebo poranění svalu, strava** s vysokým obsahem bílkovin a doplňky kreatinu, **vliv léčiv** (např. NSAID, ACE inhibitory nebo některá antibiotika)

Klinicky významnější než samotná hodnota kreatininu je jeho použití jeho koncentrace k výpočtu clearance, která vyjadřuje tzv. **GFR** (rychlost glomerulární filtrace)

Častěji než samotná hodnota kreatininu se používá jeho koncentrace k výpočtu clearance, která vyjadřuje tzv. **GFR** (rychlost glomerulární filtrace)

Ideálně:

$$\text{Clearance (GFR)} = U \times V / P \quad (\text{jedn.: ml / min})$$

U ... konc. kreatininu vyloučená močí za 24 hod (v jednotce mg / dcl)

V... objem moče sebrané za 24 hod a vztažené na min. (ml / min)

P... sérová konc. kreatininu (v jednotce mg / dcl)

Přes výše uvedenou skutečnost, ale výpočet komplikuje:

vliv množství svalové hmoty a především **věku** na koncentraci kreatininu. Odhaduje se, že po 20. roku života každou „dekádu“ snižuje GFR o 6.5 ml / min

Referenční hodnoty GFR (kreatinin):

věk 20-40: 78 – 150 ml / min

40-50: 75 – 132 ml / min

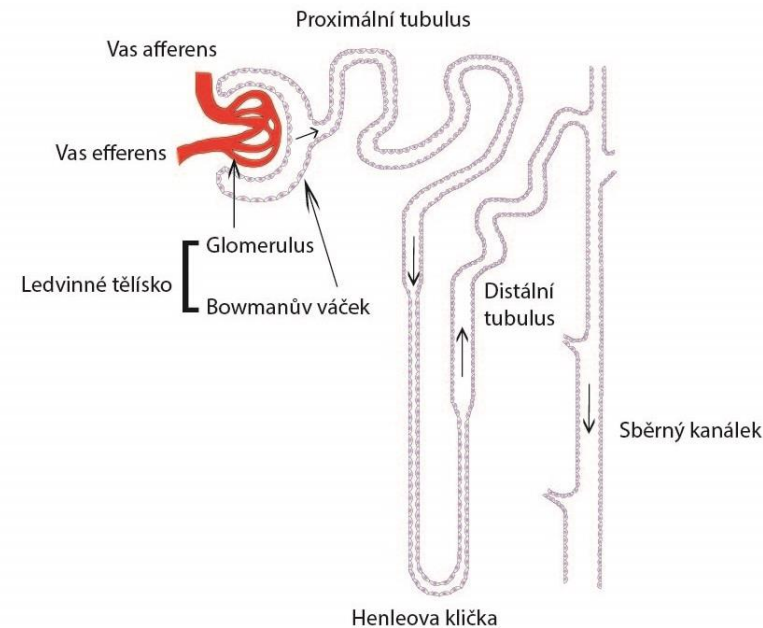
50-60: 69 – 120 ml / min

60-99: 66 – 114 ml / min

ale **závislost GFR na konc kreatininu není v celé oblasti hodnot lineární**: hodnotu GFR lze odhadovat z cca 20 různých rovnic zahrnující různé korekce a nebo se vypočítávají z jiných ukazatelů, především cystatinu C

cystatin C

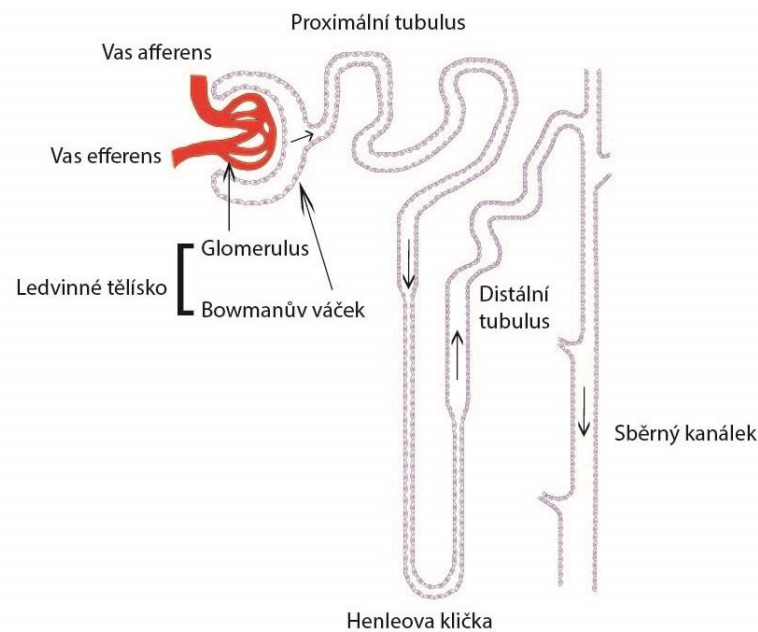
- fyziologický význam: inhibitor cysteinových proteáz, bílkovina s MW 14 000
- volně filtrován glomerulární membránou s následnou reabsorpcí v proximálním tubulu, malé množství je i u zdravých osob vylučováno močí



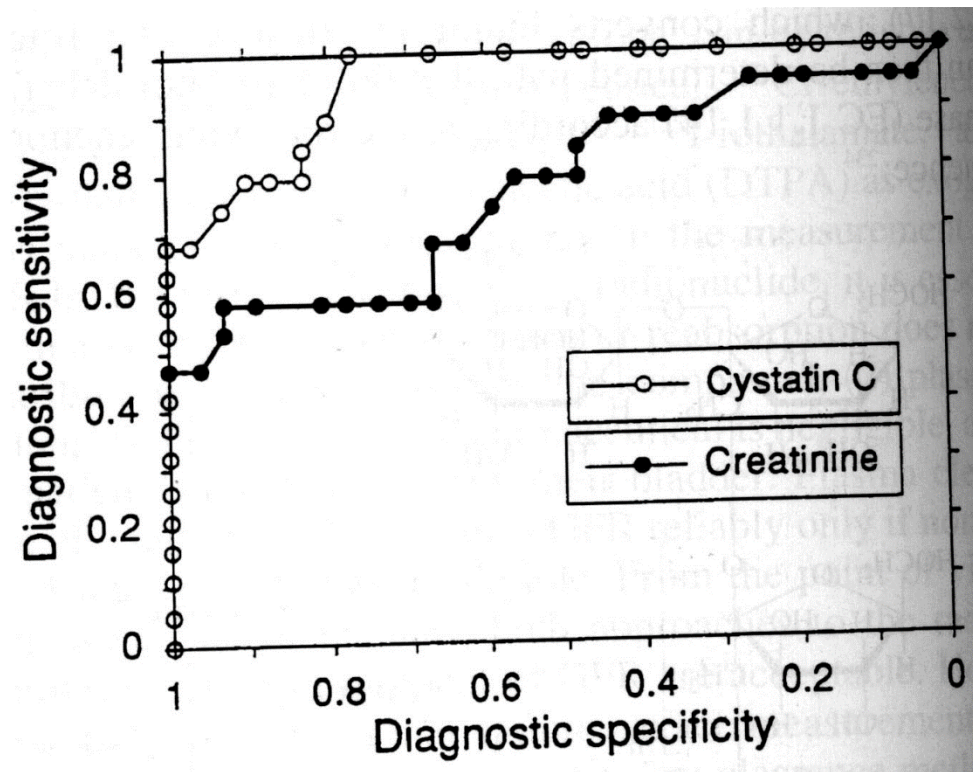
Význam v diagnostice:

snížení glomerulární filtrace = \uparrow CC v séru

renální tubulární dysfunkce = \uparrow CC v moči



Koncentrace cystatinu C v séru a moči: není vliv množství svalové hmoty a jen minimální vliv věku = diagnosticky senzitivnější a specifičtější ukazatel než kreatinin, navíc vhodný i pro posouzení fce tubulů



Klinická specifita a senzitivita

Pokud soubor jedinců zahrnuje zdravé jedince a pacienty s poruchou GFR, pak

- **diagnostická senzitivita** říká kolik % pacientů s poruchou GFR by na základě příslušného parametru (buď kreatininu nebo cystatinu C) bylo falešně negativních (= chybně zařazeno do skupiny zdravých)
- **diagnostická specifita** říká kolik % zdravých by na základě příslušného parametru (buď kreatininu nebo cystatinu C) bylo falešně pozitivních (= chybně zařazeno do skupiny s poruchou GFR)

Stanovení cystatinu C

Nefelometrie, turbidimetrie, ELISA (především vzorky moče, kde se turbidimetrie nebo nefelometrie kvůli nízké citlivosti neuplatní)

Referenční hodnoty (sérum):

muži, ženy (0-50 roků): 0.63 – 1.33 mg / L

muži, ženy (50-99 roků): 0.74 – 1.55 mg / L

Odhad GFR pomocí cystatinu C:

$GFR \text{ (ml /min)} = 89.12 \times (\text{cystatin C})^{-1.675}$

Albumin

- jednoznačně nejvíce zastoupený protein v krvi: 40 g / L
- globulární protein s MW 66 000, poměrně snadno prochází membránami, takže je měřitelný nejen v krvi, ale i CSF (mozkomíšní mok), moči, plodové vodě....
- Fce: pufrční (pH), osmomolární, přenos proteinů, metabolitů... a léků

Referenční hodnoty:

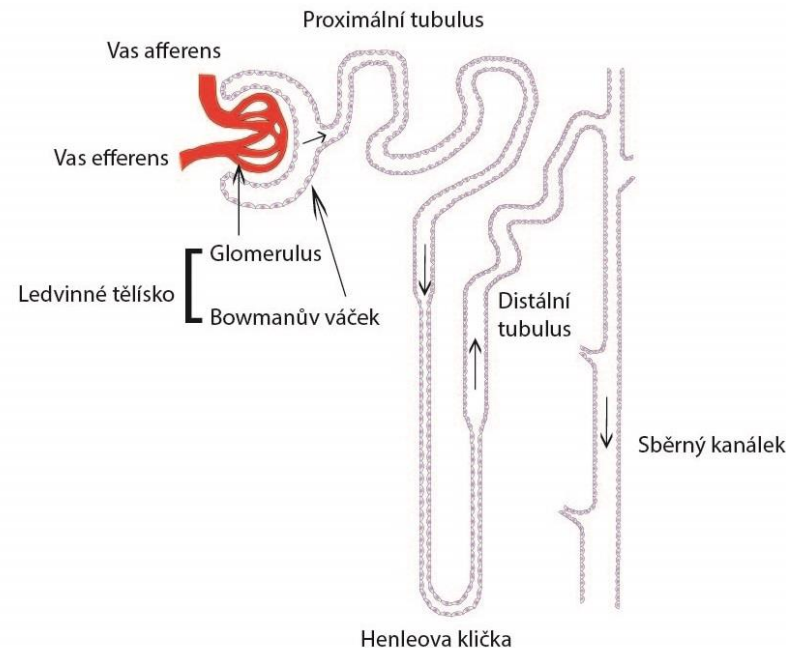
sérum: 32-52 g / L

moč: max. 40 mg / d (30mg/L)

Stanovení albuminu v moči:

-mírně zvýšené hodnoty svědčí pro mikroalbuminurie např. v poč. fázích DM2 (jako následek dysfunkce endotelu)

-nebo může jít o proteinurii a nebo rovnou nefropatii (jako následek dysfunkce proximálních tubulů)



Ranní moč

Normální hodnoty: méně než **20 mg/l.**

Mikroalbuminurie: 20–200 mg/l.

Albuminurie: více než 200 mg/l.

Stanovení albuminu s séru:

- 1/ činidlo bromkresolová zeleň (BCG) nebo bromkresolová červeň (BCP) se přidává ke vzorku, barvička se „specificky“ váže na albumin → posun barevného spektra odpovídá množství albuminu ve vzorku
- 2/ imunochemicky – nefelometrie, imunoturbidimetrie

Stanovení albuminu v moči:

- 1/ testovací proužky (dipstick testy)
- 2/ imunochemicky – nefelometrie, imunoturbidimetrie