

**MUNI**  
**PHARM**

# **Klinická biochemie 2024 (3)**

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

[michal.karpisek@email.cz](mailto:michal.karpisek@email.cz)

# Vyšetření funkce ledvin- dokončení

- Snížení fce ledviny (filtrační schopnost ledviny) ovlivnujě eliminaci léčivých látek anebo produktů jejich transformačních reakcí
- KI: často se řeší jako kontraindikace
  - ➔ intoxikace při cca 10-30 násobku terapeutické dávky (uhlí, řízená diuréza, hemodialýza, antidota)
- Nejčastěji u pacientů s CKD (prevalence 10-15%), často poddiagnostikováno

# Algoritmus stanovení dávky léčiva při onemocnění ledvin

1/ stanovení GFR <https://www.egfrcalculator.com/>  
významné snížení: pod 60ml/min

2/ zjistit údaje o eliminaci léčiv v Souhrnu údajů o přípravku (SPC) v databázích na SUKL nebo EMA

3/ výpočet iniciální a udržovací dávky:

$D_{adj} = (\text{aktuální glomerulární filtrace} \times \text{normální dávka}) / \text{normální glomerulární filtrace}$

$T_{adj} = (\text{normální glomerulární filtrace} \times \text{normální interval}) / \text{aktuální glomerulární filtrace}$

4/ TDM

# Příklady léčiv, kde hrozí intoxikace při snížené GFR

- digoxin: snížení dávky na  $\frac{1}{2}$
- betablokátory: snížení dávky, může dojít k bradykardii, kolaps
- trombolytika: není třeba úprava
- heparin: snížení dávky, monitorování pomocí aPTT
- ACE inhibitory: perindopril / ramipril za fosinopril (vylučuje se ledvinami i játry)

## Kazuistika

Pacientka, 55 let, s hypertenzí a diabetem 2. typu byla hospitalizována kvůli zhoršení stavu a zvýšené únavě. V minulosti měla **chronické onemocnění ledvin 2. stupně**, což je častý důsledek diabetu. Při vyšetření bylo zjištěno, že užívá ACE inhibitory (inhibitory angiotenzin-konvertujícího enzymu) k léčbě hypertenze a zlepšení srdeční funkce. Poslední týden brala Ibalgin pro snížení bolesti hlavy.

GRF typicky  
60-89 ml/min



# Zánět a infekce

Zánět – soubor reakcí organismu na poškození jeho integrity, které vedou k ochraně před infekcí a následnému zhojení:

- zvýšení permeability cév
- zvýšení adhezivity endotelií – zachycení fagocytů (cytokiny), později lymfocytů
- aktivace koagulačního, fibrinolytického a komplementového systému
- změna regulace teploty

Zánět – klinické projevy: zčervenání (rubor), otok (tumor), bolest (dolor), zvýšení teploty (calor)

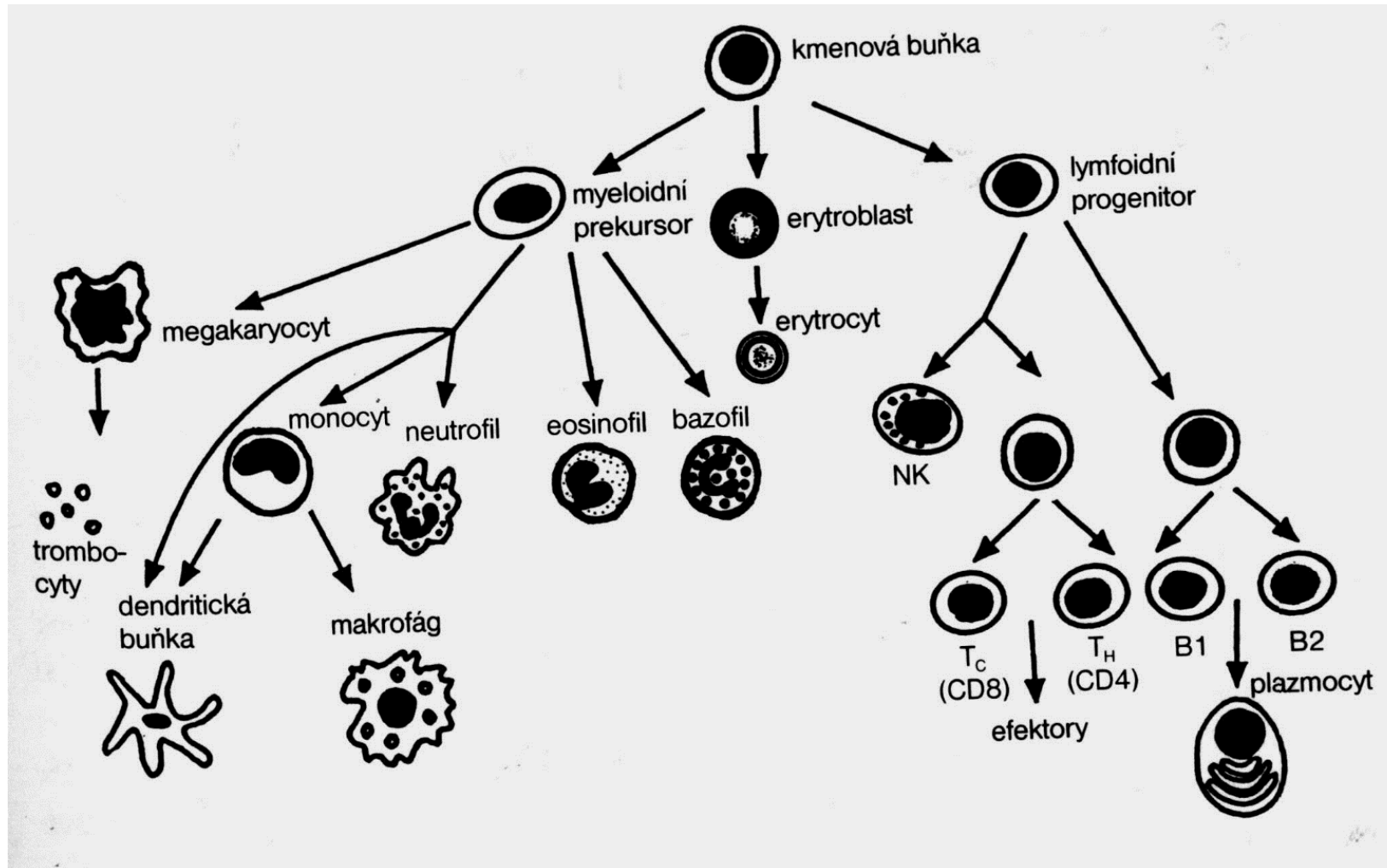
a systémově může dojít: septický (infekční agens přímo do krve) a anafylaktický šok (antigen neinfekčního charakteru, např. endotoxiny = lipopolysacharidy, produkované G- baktériemi)

Infekce – proniknutí bakterií, virů, plísní do organismu

Imunitní systém:

- 1/ humorální (komplementový systém, **cytokiny**, chemokiny, opsoniny – **proteiny akutní fáze, protilátky**)
- 2/ buněčná (krvinky s chemotaktickými účinky a schopností fagocytózy, také lymfocyty... *NK*)

# Schéma tvorby krevních buněk





# cytokiny

Význam v diagnostice je totožný s funkčním (fyziologickým) významem cytokinů

- interleukiny(IL), interferony (IFN), faktory stimulující kolonie (CSF), tumor nekrotizující faktory (TNF), chemokiny a jiné

Proto rozdělení podle funkce:

1) prozánětlivé: IL-1alfa, IL-1beta, **IL-6, IL-8, IL-12, TNF-alfa**

2) protizánětlivé: **IL-1R, IL-4, IL-10**

3) cytokiny s antivirovým účinkem: IFN-alfa, IFN-beta, IFN-gama

4) cytokiny s růstovou aktivitou hematopoietických buněk:  
IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-9, IL-11, IL-14, IL-15,  
CSF, EPO

Stanovení: imunochemicky, koncentrace v séru/plasmě  
nejčastěji desítky ng/l, proto je třeba velmi citlivý systém =  
sandwich ELISA s chemiluminiscenční detekcí  
(=chemiluminiscenční enzymový substrát)

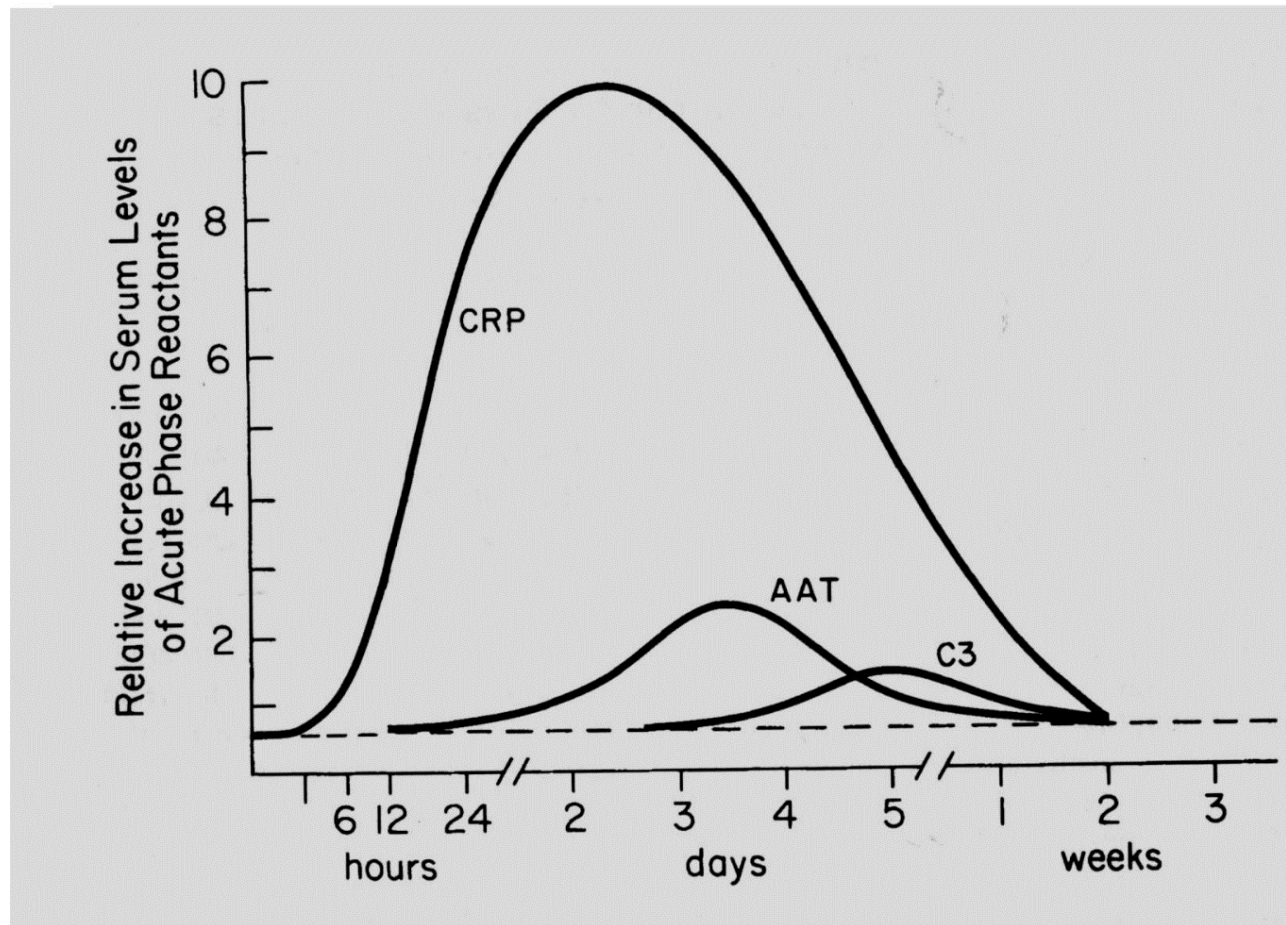
# Proteiny akutní fáze

- **CRP, alfa1-antichymotrypsin, alfa1-antitrypsin, orosomukoid, ceruloplasmin, komplement C3** atd. nově PCT, MxA
- Funkce: opsonizace antigenu v místě , aktivace komplementu
- nejsou specifické pro učité onemocnění!!
- stanovení: imunochemicky, koncentrace v séru/plasmě nejčastěji desítky mg/l, proto se využívá imunoturbidimetrie a latexem podporovaná imunoturbidimetrie

## Přehled proteinů akutní fáze:

<b>Reaktant</b>	<b>Patologické zvýšení (krát)</b>	<b>Fyziologické hodnoty (g/l)</b>	<b>Typická koncentrace (g/l)</b>	<b>Rychlost odpovědi (hodiny)</b>
<b>CRP</b>	až 100	0,005	0,4	6 - 10
<b>SAA</b>	až 1000	0,001-0,030	2,5	6 - 10
<b>alfa<sub>1</sub>-anti-chymotrypsin</b>	2 - 4	0,3 - 06	3,0	10
<b>alfa<sub>1</sub>-antitrypsin</b>	2 - 4	1,0 - 2,0	7,0	
<b>alfa<sub>1</sub>-kyselý glykoprotein (orosomukoid)</b>	2 - 4	0,5 - 1,4	3,0	24
<b>haptoglobin</b>	2 - 4	1 - 3	6,0	
<b>fibrinogen</b>	2 - 4	2 - 4,5	10	
<b>ceruloplasmin</b>	1,5	0,15 - 0,6	2,0	
<b>C-3 komplement</b>	1,5	0,55 - 1,2	3,0	48-72
<b>C-4 komplement</b>	1,5	0,20 - 0,50	1,0	

- časový průběh sérové koncentrace CRP, alfa1-antitrypsin a komponenty C3 komplementu



# CRP (C-reaktivní protein)

- Protein s mol. velikosti 105 000, pět jednotek
- Fyziologická fce: má schopnost aktivovat komplementový systém, váže se na různé ligandy např. polysacharidový obal pneumokoků C - odtud C-reaktivní protein - a tím chrání organismus před jejich škodlivým účinkem
  
- CRP u vybraných onemocnění:

# CRP (C-reaktivní protein)

<i>Onemocnění</i>	<i>CRP (mg/l)</i>	<i>Patofyziologické poznámky</i>
Těžká bakteriální infekce (seps)	až 200-300	Začátek 6-8 hod, maximum 24-48 hod. Pokles při úspěšné terapii
Virová infekce	ne více než 50 u velmi těžkých; obvykle 5 - 20	U 50 % není zvýšení; lze tak rozlišit virovou pneumonii od bakteriální
Revmatoidní artritida	nad 15 obvykle 50, někdy i 100	Osteoartritida nemá zvýšení (!)
Akutní pankreatitida	až 100	Při přetrvávajícím zvýšení 2 a více týdnů předzvěst komplikací: cysty, pseudocysty
Infarkt myokardu, chirurgická operace	15-50	Začátek vzestupu 6-8 h; maximum 24-36 h, návrat u nekompl. případů po 1 týdnu. U těžkých abdominálních operacích bývá maximum 3. den (50-150mg/l). Při komplikacích (infekce, trombóza, nekrózy) zvýšení přetrvává
Nádorové onemocnění	5-100	Obvykle méně výraznější zvýšení, než je zvýšení haptoglobinu a kyselého $\alpha$ 1-glykoproteinu. Výraznější zvýšení ukazuje na ev. metastázy.

- hsCRP
- CRP POCT

# Současné vyšetření CRP a alfa<sub>1</sub>- kyselého glykoproteinu – odhad fáze onemocnění

<i>CRP</i>	<i>alfa<sub>1</sub> - kyselý glykoprotein</i>	<i>Hodnocení</i>
vysoký	normální	začátek onemocnění
vysoký	vysoký	vrchol onemocnění
normální	zvýšený	odeznívající onemocnění
normální	normální	úplná úzdrava



## – alfa1-antitrypsin

Fyziologie: inhibitor proteás (trypsinu) uvolněných z lysozomů po rozpadu buněk, alfa1-antitrypsin eliminuje jejich proteolytický účinek na okolní buňky

Hlavní využití při diagnostice:

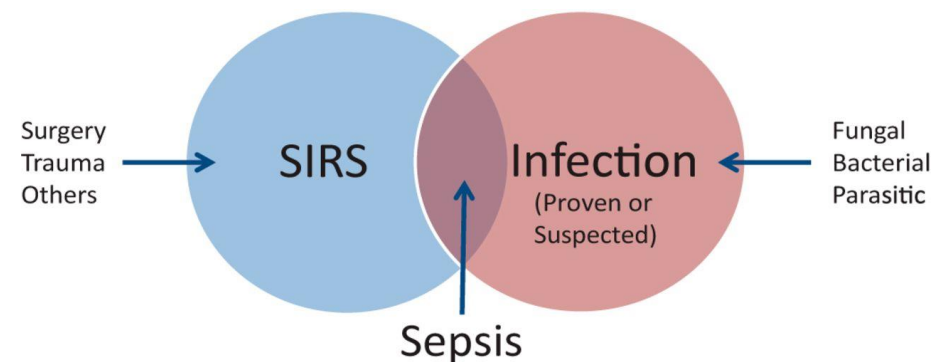
- postoperační monitoring: na rozdíl od CRP a alfa1-kyselého glykoproteinu zůstává po operaci nezvýšen
- !! snížená konc. při CHOPN, neonatální hepatidě a cirhóze

## – PCT, MxA

# Diagnostika systémové infekce

1/ zánět a infekce: CRP

2/ rozlišení neinfekčního SIRS a sepse: prokalcitonin, presepsin  
(podle kritérií Sepsis-2)



# Sepsis-2

## Procalcitonin

Normal range: PCT < 0,05ng/ml

Viral or local bacterial infections:  $0,05 \leq \text{PCT} < 0,5\text{ng/ml}$

Risk of sepsis:  $0,5 \leq \text{PCT} < 2\text{ng/ml}$

Sepsis: PCT  $\geq 2\text{ng/ml}$

Heavy sepsis: PCT  $\geq 10\text{ng/ml}$

## CRP

Normal range: 0 – 5 mg/l

Viral infections: typical value 5 – 20 mg/ml,

Bacterial infections:  $\geq 50 \text{ mg/l}$

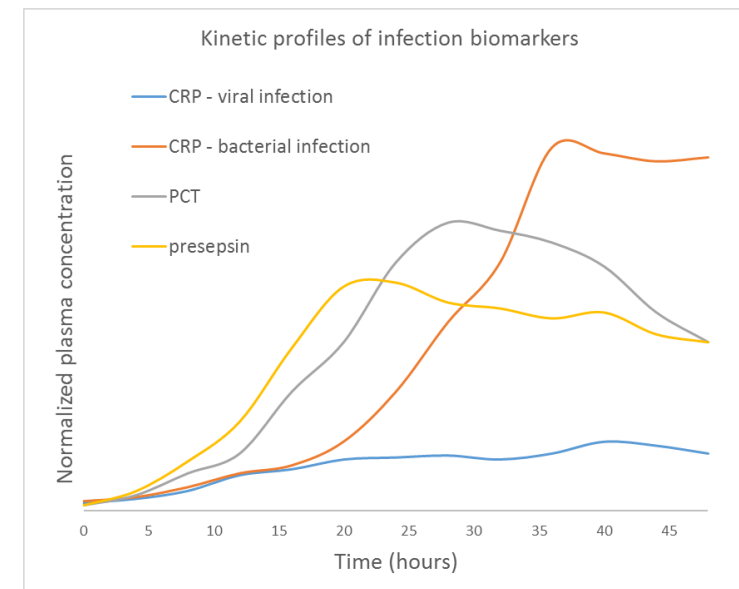
(heavy bacterial infections  $\geq 100\text{mg/l}$ )

## Presepsin

Normal range: presepsin < 337pg/ml

Sepsis: presepsin  $\geq 337\text{pg/ml}$

Heavy sepsis: presepsin  $\geq 950\text{pg/ml}$



# Sepsis-3: nová kritéria pro diagnostiku sepse

Nová kritéria (2016)



... jako život ohrožující orgánová dysfunkce způsobená dysregulovanou reakcí hostitele na infekci...evaluace orgánové dysfunkce pomocí skóre SOFA


Table. Sequential (Sepsis-Related) Organ Failure Assessment (SOFA) score


Organ system	Objective measurement	Points				
		0	1	2	3	4
Respiration	PaO <sub>2</sub> /Fio <sub>2</sub>	≥400	<400	<300	<200*	<100*
Coagulation	Platelets (cells/mm <sup>3</sup> )	>150,000	<150,000	<100,000	<50,000	<20,000
Liver	Bilirubin (mg/dL)	<1.2	1.2-1.9	2.0-5.9	6.0-11.9	>12.0
Cardiovascular	MAP (mm Hg) or vasopressor	MAP ≥70	MAP <70	DPA ≤5	DPA 5.1-15	DPA >15
Central nervous system	GCS	15	13-14	10-12	6-9	3-6
Renal	Creatinine (mg/dL) or urine output	<1.2 -	1.2-1.9 -	2.0-3.4 -	3.5-4.9 <500 mL/d	>5.0 <200 mL/d

Adapted from reference 1. DPA=dopamine in mcg/kg/min for ≥1 hour (note that SOFA also includes vasopressors other than dopamine in cardiovascular criteria), GCS=Glasgow Coma Scale score, MAP=mean arterial pressure.

\*With respiratory support.

# Sepsis-3: nová kritéria pro diagnostiku sepse

PCT / presepsin  laboratorní ukazatel **prognózy**  
(již ne diagnostika sepse)

 **monitorování léčby**

# Protilátky

- 5 tříd: IgG, IgM, IgA, IgE, IgD
- V malém množství jsou přítomny v séru již při narození (IgM, IgG + mateřské Ig), během 1 roku dosahují ustálených koncentrací
- Sleduje se především:
  - A) specifita protilátek (IgG, IgM, IgE)
  - B) nárůst jejich kvantity (IgE)

# Metodika vyšetření protilátek

– ELISA, turbidimetrie, western blotting, Ab x ?? **molekulární diagnostika**

1/Alergie a autoimunita

2/Infekční onemocnění:

CMV, EBV, borrelióza, hepatitidy, HIV a Helicobacter pylori,  
?tuberkulóza, chlamydie

.. Vyšetření na přítomnost protilátek „pouze doplňují“ základní laboratorní vyšetření = počet leukocytů v periferní krvi, diferenciální rozpočet leukocytů, sedimentace erytrocytů, CRP, TNF, IL-1, IL- -6, IL-8, C3 komplementu

3/Onkologické: mnohočetný myelom (monogamapatie)

WB x ELISA v dg.

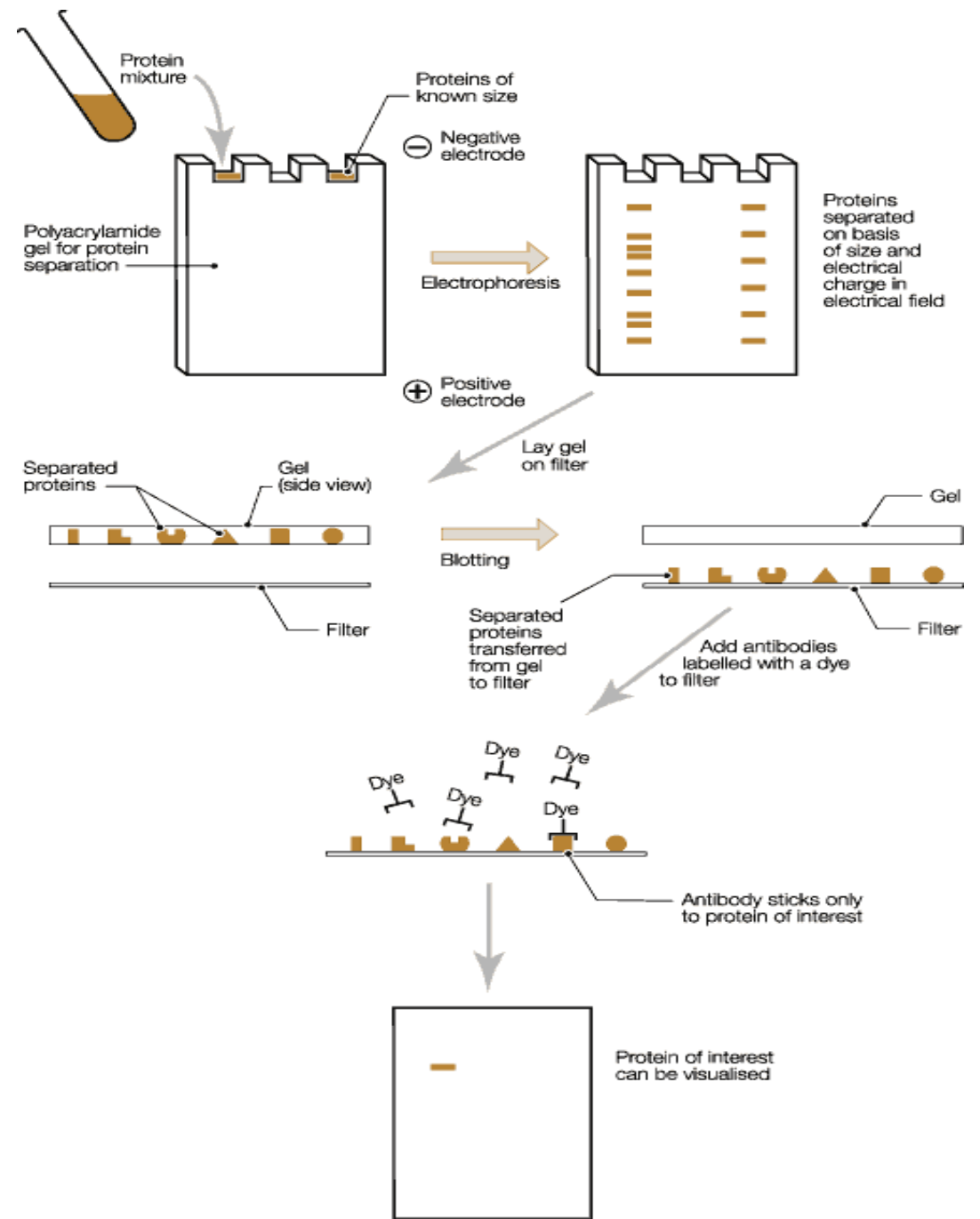
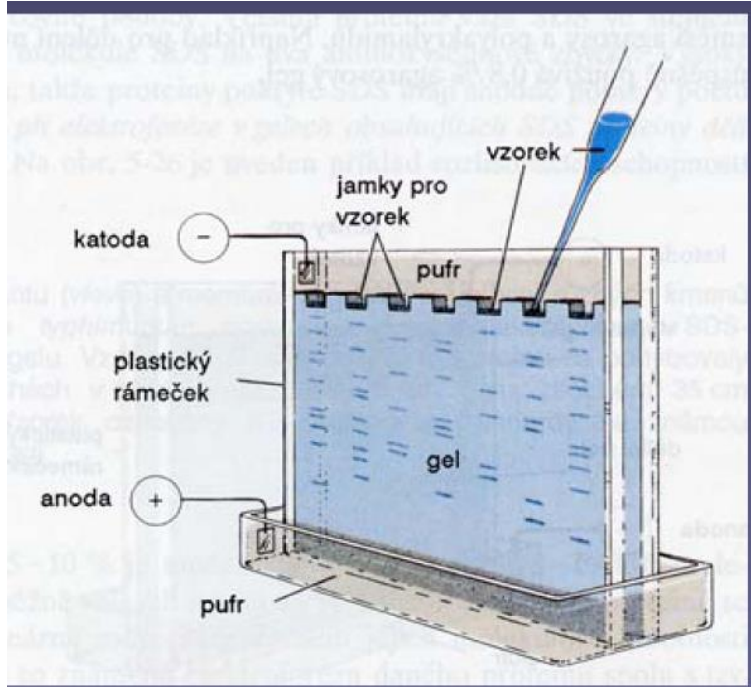
Lymeská borelioza (B. burgdorferi, afzelii, garinii)

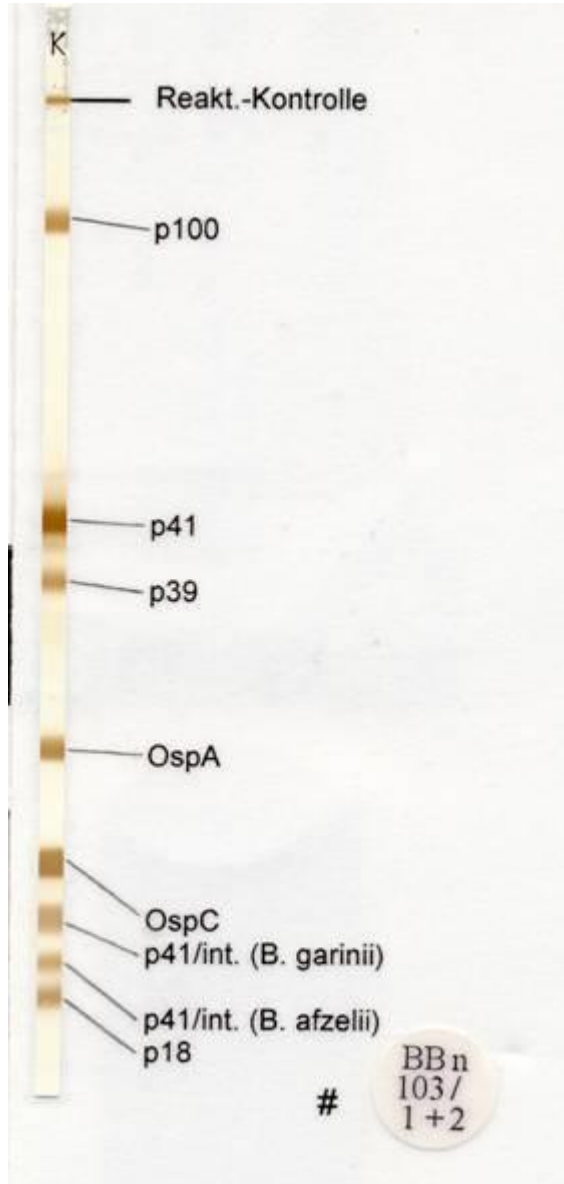
Obecně: vyšetření na Ab, Ag, NK (RFLP)

WB patří mezi metody stanovující přítomnost Ab v krvi



# WB s imunochemickou detekcí



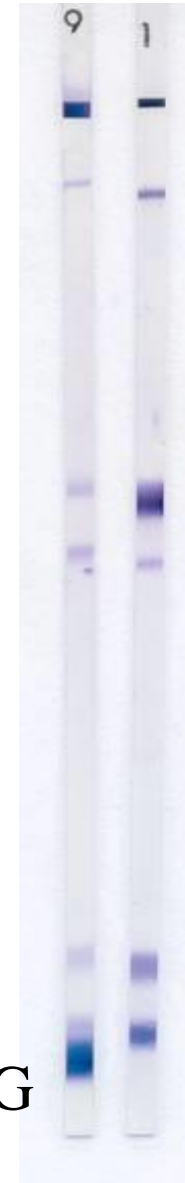


IgM



KLINICKÉ  
VZORKY

IgG

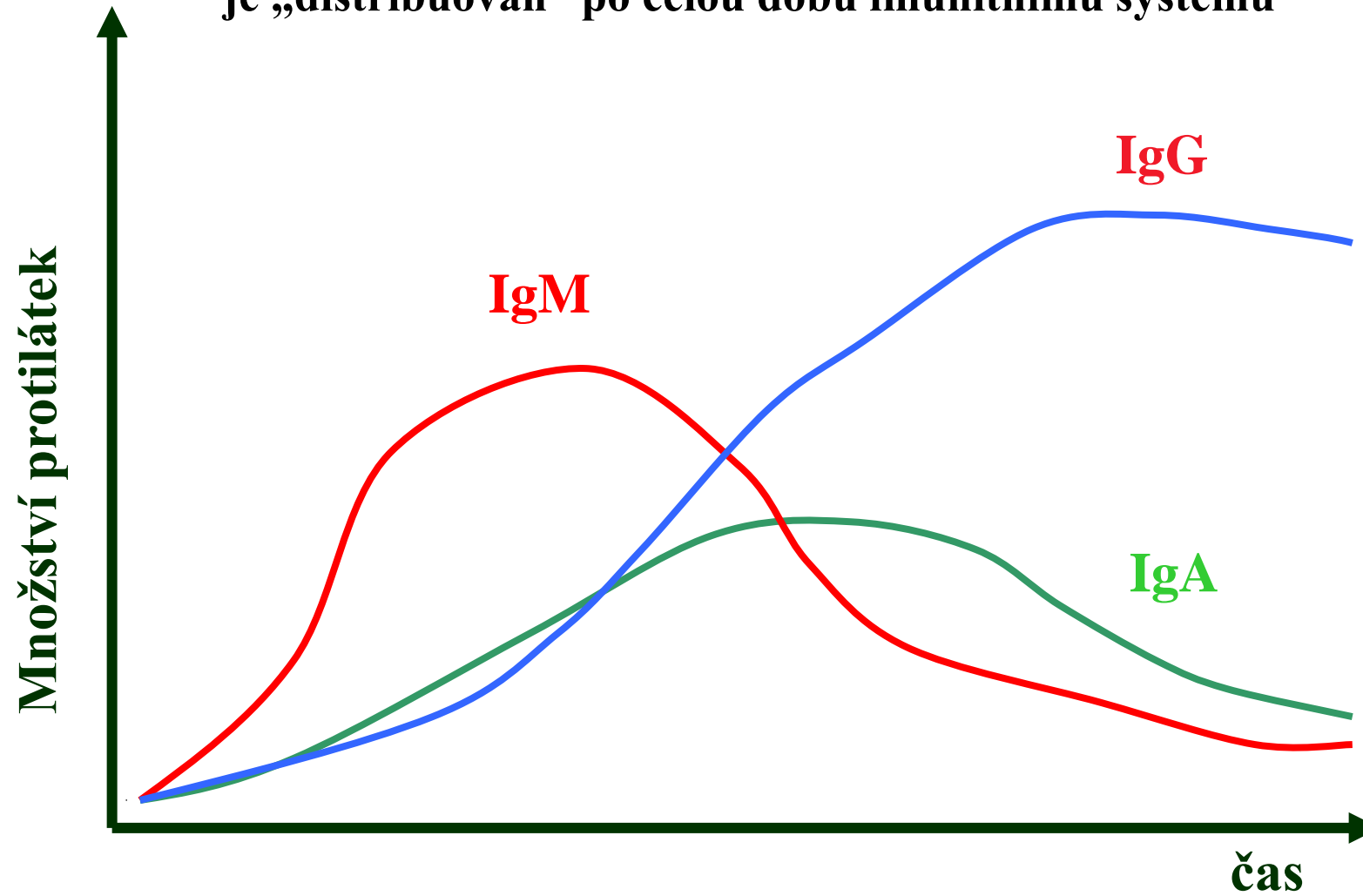


## Imunoglobuliny

- IgG, IgM, IgE, IgA, IgD –dělení podle těžkých řetězců
- struktura
- biologický poločas
- afinita, avidita

Typ	Konc. v krvi (zdravý jedinec) (g/L)	M. W. (kDa)	Biol. poločas (dny)	Fce
IgG	8 - 18	155	21	opsonizace, akt. komplementu, sekundární Ab odpověď
IgA	1 - 3,5	160-1000	6	ochrana sliznic, opsonizace
IgM	1 - 2,5	900	6	aktivace komplementu, primární Ab odpověď
IgD	0,1	180	3	receptor pro antigen, na povrchu B-lymfocytů, po navázání antigenu B-lymfocyty aktivují
IgE	0,0003	190	2	ochrana proti parazitům

Výskyt protilátek v séru při onemocnění – antigen je „distribuván“ po celou dobu imunitnímu systému



# Imunopatologické reakce

v dg. humorálních imunopatol. reakcí se uplatňuje:

- 1) imunopatologie založená na tvorbě IgE (typické pro dg. alergie)
- 2) imunopatologie založená na tvorbě IgG a IgM (typické pro dg. autoimunitních onemocnění)
- 3) imunopatologie založená na tvorbě imunokomplexů (typické pro dg. autoimunitních onemocnění)

# Imunopatologie založená na tvorbě imunokomplexů

Protilátka IgG s antigenem (exo nebo endo, vysoká dávka antigenu) tvoří imunokomplex, který se váže na Fc receptory fagocytů nebo aktivují komplement – spouští se imunitní reakce. Tato reakce trvá 10-14 dní, při patologickém stavu (při příliš vysoké koncentraci patogenu v krvi a výsledně vysoké konc. imunokomplexu) může docházet k ukládání imunokomplexu – glomerulonefritida (ledviiny), vaskulitida (endotel), artritida (kloubní synoviální tekutině)

# Alergie a autoimunita

- jsou součástí imunopatologických reakcí organismu
- Alergie: přehnaná imunitní odpověď organismu na antigeny ze **zevního** prostředí
- Autoimunita: tvorba protilátek proti organismu **vlastním** proteinům, NK, sacharidům

Alergologie představuje 3-5% objemu měření v klinických laboratořích!



Biologická fce IgE: je klíčový pro obranu proti **helmintům**  
(parazitickým červům) a jiným **parazitárním infekcím**

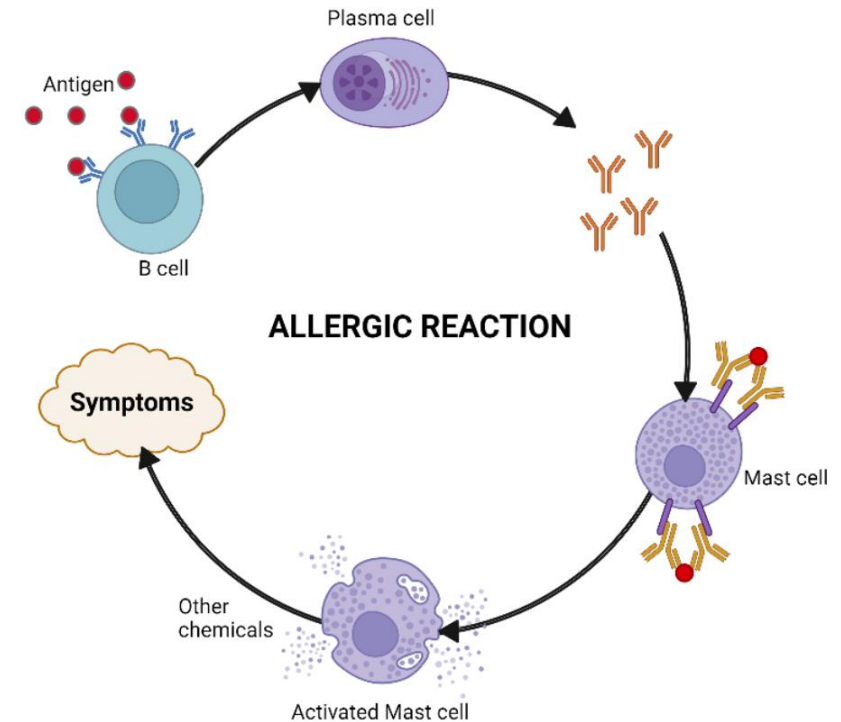
Alergie - imunopatologie založená na tvorbě IgE

- antigen (obecně je „neškodný“), pochází ze zevního prostředí =  
atopie
- systémově = anafylaktický šok, lokálně = astma, alergická rýma,  
ekzem
- imunologická odpověď řádově v minutách
- nejčastější přístup v léčbě je profylaxe (=snaha vyhnout se antigenu)

IgE: tvorba v B-Imfocytech aktivovaných IL-4 a IL-5

Vazba na mastocyty nebo bazofily

Aktivace mastocytů a bazofilů při opětovném kontaktu s alergenem →  
uvolnění histaminu → zánět, otok, svědění



# Vznik alergie

## Geneticke faktory

- HLA genů, genů pro interleukiny

## Struktura antigenu

- typicky obsahuje struktury, které umožňují snadné pronikání do sliznice

## Stanovení IgE

- konc. v krvi u zdravých **100 kU/L (300 ng/mL)** , u jedinců s alergiemi jsou bazální hodnoty 5x – 10x vyšší
- akutní fáze:
- buď nespecifického IgE („celkové IgE) – ukazuje jen na možnou přítomnost alergie, ne diagnosticky
- nebo specifické IgE, stanovení tzv. panelů alergenů (základních je 12 panelů, celkem se stanovuje více jak 300 alergenů) – snaha specifikovat alergen, volba panelu vychází především ze sociální anamnézy

## Panely - alergie, specifické IgE

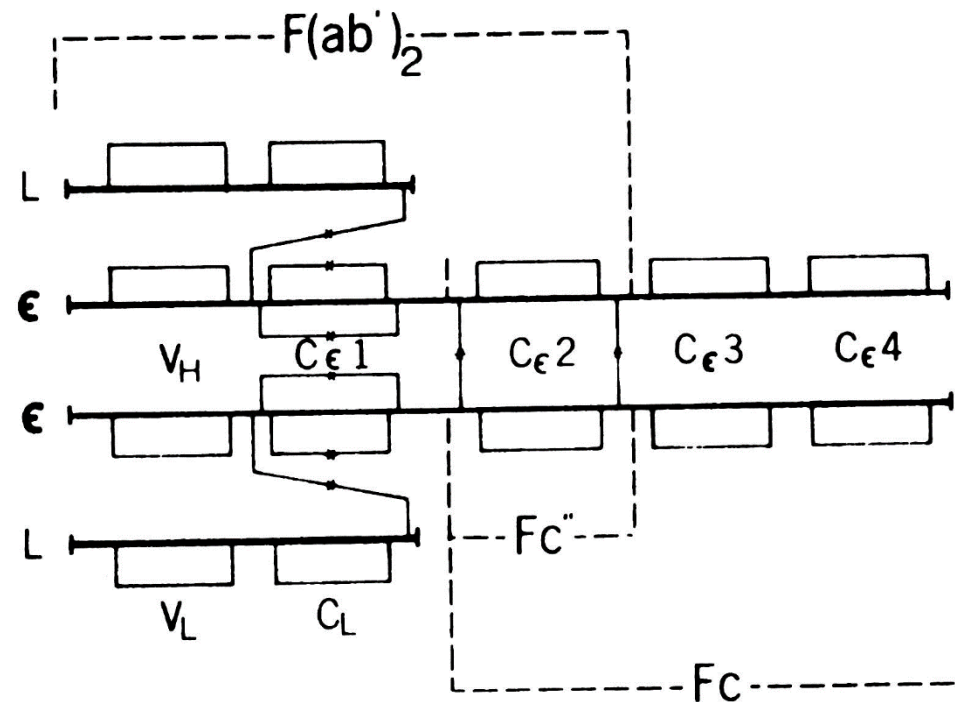
1	epitelie (E)	kočiči, koňská, hovězí, psí srst
2	potraviny (F)	vaječný bílek, kravké mléko, treska, pšenice, pozemnice olejná, sója
3	trávy (G)	srha říznačka, kostřava, jílek, bojínek luční, žito, lipnice luční
4	trávy (G)	tomka vonná, jílek, bojínek luční, žito, meddyněk
5	roztoči	domácí prach, dermatophagoides pteronyssium a farinae, šváb
6	inhalační panel	Cladosporium, bojínek luční, Alternaria, bříza, pelyněk
7	inhalační panel	králičí koňská, kočičí a psí srst, dermatophagoides
8	plísně (M)	Penicillium, Cladosporium, Aspergillus, Candida, Alternaria
9	stromy (T)	olše, líska, jilm, jíva, topol
10	stromy (T)	javor, bříza, buk, dub, ořešák
11	stromy (T)	olše, bříza, líska, dub, jíva
12	byliny (W)	pelyněk, jitrocel, merlík, zlatobýl, kopřiva

# Lékové skupiny nejčastěji vyvolávající lékovou alergii

- penicilinová antibiotika
- sulfonamidy
- rentgen-kontrastní látky
- lokální anestetika (zejména esterového typu)
- nesteroidní antiflogistika (ibuprofen, naproxen aj.)
- antiepileptika (carbamazepin, lamotrigin aj.)
- cytostatika
- monoklonální protilátky (rituximab, cetuximab aj.)
- vakcíny, vitamíny

Nezaměňovat s NÚ a  
nebo klinickými projevy  
při předávkování

Stanovení IgE - vychází ze struktury – pomocí protilátek specifických na epsilon řetězec



# Stanovení IgE

- celkové IgE
- specifické IgE
  
- kožní testy
- ImmunoCAP
- ELISA
- multiplex: Alex

**! celkové IgE není specifickým ukazatelem alergie**

vs

**specifické IgE se používá pro diagnostiku alergie**

**! falešně nízké koncentrace při použití klasické ELISA s antigenem navázaným na destičce při stanovení specifické IgE**

Vyhodnocení: kvantitativní vs kvalitativní, někdy se vyhodnocuje semikvantitativně. Kvalitativní: negativní x šedá zóna x pozitivní vzorek

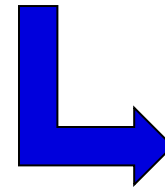
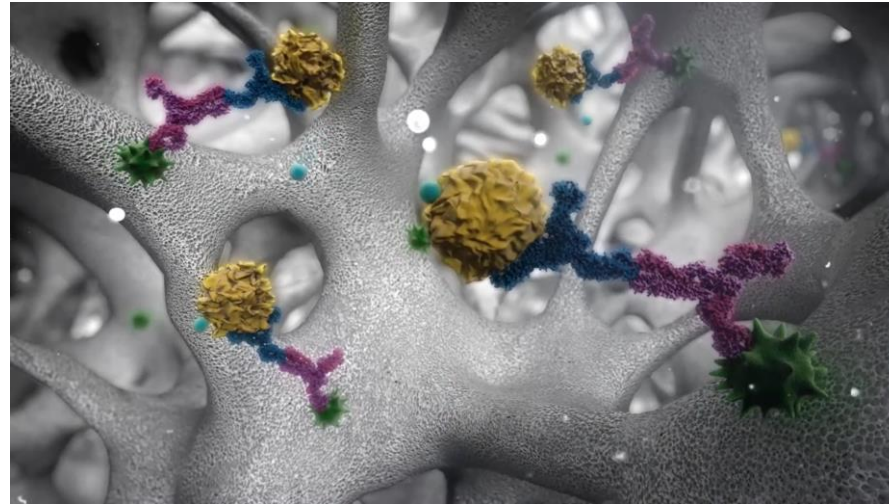


# Kožní testy

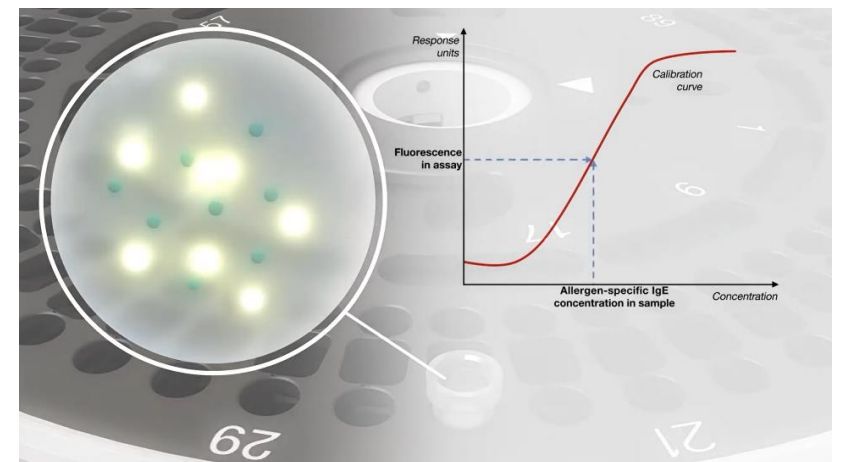
- Prick testy: 3mm a větší červený flíček = pozitivita
- Náplastě – tehdy pokud se potravinu jako alergen projeví až dlouho po konzumaci



# ImmunoCAP



Detekce: přeměna fluorogenu na fluorescenční látku, pak přenos do detektoru

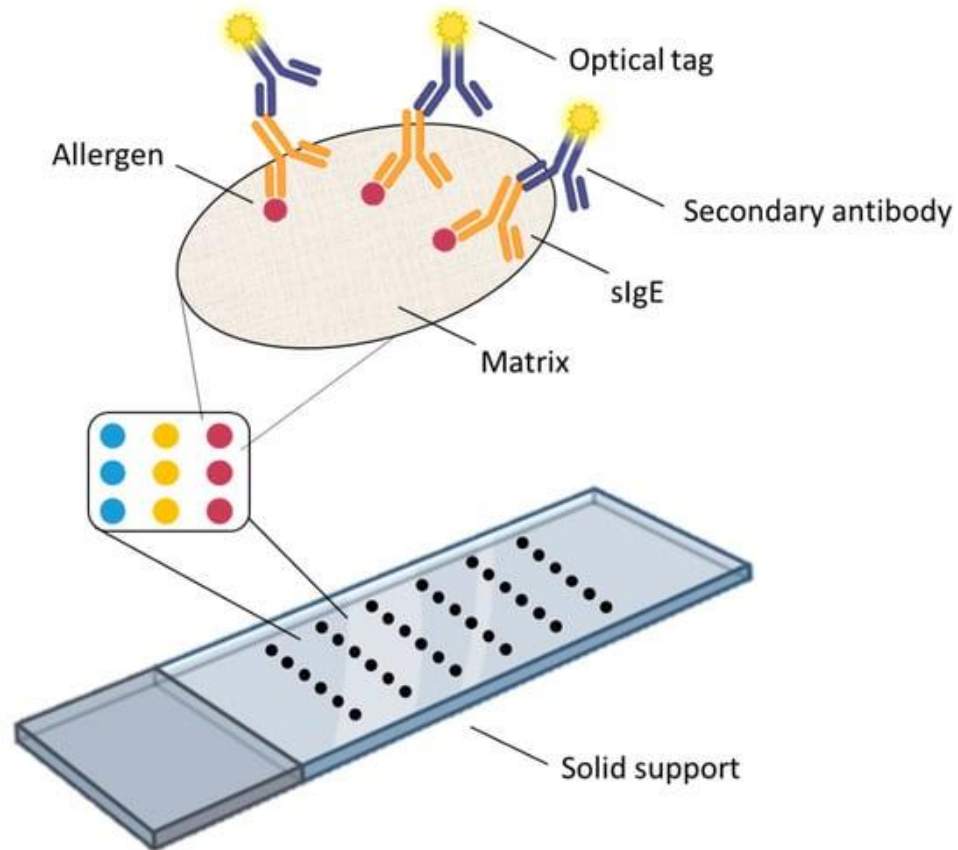


# Immulite CLIA (Siemens)



- specifické na IgE
- až 500 alergenů
- kapacita přístroje: max 138 alergenů
- vazba jiných tříd může ovlivnit dg., řeší se významným nadbytkem antigenu v reakci

# ALEX



- specifické na IgE
- reakce na reaktivní karbohydrátové determinanty (CCD) je vyloučena přidáním syntetického blokátoru – eliminuje se vliv IgE s nespecifickou reakcí
- 300 alergenů na jednom čipu



# Autoimunitní onemocnění

- selhání mechanismu eliminace lymfocytů produkující autoprotilátky
- má poměrně silný genetický podklad
- jedná se o imunopatologické reakce založené na tvorbě IgG a IgM nebo založená na tvorbě imunokomplexů (SLE, Sjoegrenova choroba)
- stanovení nepřímá ELISA nebo IIFM (indirect immunofluorescent microscopy)

Specifita autoprotilátek	Onemocnění
Jaderným antigenům Sm, Ro, La, dsDNA a a krevním elementům napr kardiolipin	SLE
proti Fc imunoglobulinů, anti-CCP	RA
extrahovatelným nukleárním antigenům SS-A a SS-B (i ANA, ale není specifické)	Sjoegenova choroba
extrahovatelným nukleárním antigenům Scl-70	systémová sklerodermie
extrahovatelným nukleárním antigenům Jo-1, PM/SCL	dermatomyositis
fosfolipidy	antifosfolipidový syndrom

# Profil autoprotilátek u pacientů SLE

Pohlaví	věk	ANA	typ IFT	ANA titr	aCCP	dsDNA	dsDNA IIFT	ENAt IB
ž	65	poz	z, DZC	1:10000	neg		poz	Ro52+++,RNP/Sm+++, Sm+++
ž	32	poz	jz/h	1:3200	neg	3,14	poz	dsDNA++,aNUKL++, aHiston++
ž	49	poz	jz/h	1:1000	neg	5,53	poz	dsDNA++,aNUKL+++, aHiston+
ž	53	poz	h	1:3200	neg	5,98	poz	SSA+++,aRo52++, dsDNA++,aNUKL+++, aHiston+++.aDSF70+
ž	52	poz	h	1:1000	neg	4,43	poz	RNP/Sm++.dsDNA++.RvPb+ +
ž	72	poz	h	1:10000		6,64	poz	dsDNA++,aNUKL++
ž	27	poz	jz/h	1:3200	neg	4,65	poz	aRo52++.dsDNA+,aNUKL+. RbPb+++
ž	72	poz	jz	1:320	neg	5,36	poz	dsDNA+++,aNukl+,AMAM2 (+)
ž	74	poz	jz	1:1000	neg	1,09	poz	SSA+++,aRo52++, dsDNA++,aNUKL+, aHiston+++.AMAM2+
ž	18	poz	jz/h	1:10000	neg	3.15	poz	aRo52++.RNP/Sm++.Sm++. dsDNA++.aNUKL(+).RbPb++
m	8	poz	jz/h	1:10000	neg	6,45	poz	RNP/Sm+++.aNUKL+++,aHI STO+,aDFS70++

Hlavní skupiny protilátek proti intracelulárním proteinům:

**ANA** = antinuclear antibody (př. ssDNA a dsDNA)

**ANCA** = antineutrophil cytoplasmatic antibody

**AMA** = antimitochondrial antibody

Protiláky proti funkčním proteinům: thyreoglobulin, receptor TSH (Gravesova choroba), inzulin



# Laboratorní ukazatele v onkologii

## Vznik nádoru

- několik fází, každá může mít i desítky roků = taková onemocnění jsou proto spjata s postupnými a v prvních fázích velmi malými změnami v metabolismu
- průběh: **iniciace / promotor / vznik mutace**
- stadia vzniku a vývoje nádoru: T1-T4- zobrazovací metody + klinické vyšetření, Gleason score – stanoveno na základě bioptického odběru vzorku a jeho histologické vyšetření, 2-10 kde 10 je nejzávažnější)

- 40% diagnostiky se provádí neinvazivně: MR (magnetická rezonance), CT (počítačová tomografie), PET (pozitronová emisní tomografie)
- Přítomnost možného tumoru je možné odhadnout i z dlouhodobě zvýšené koncentrace tkáňově nespecifických (např. proliferačních a prozánětlivých) proteinů

Ale samozřejmě při doplňujícím vyšetření se stanovují specifické laboratorní ukazatele:

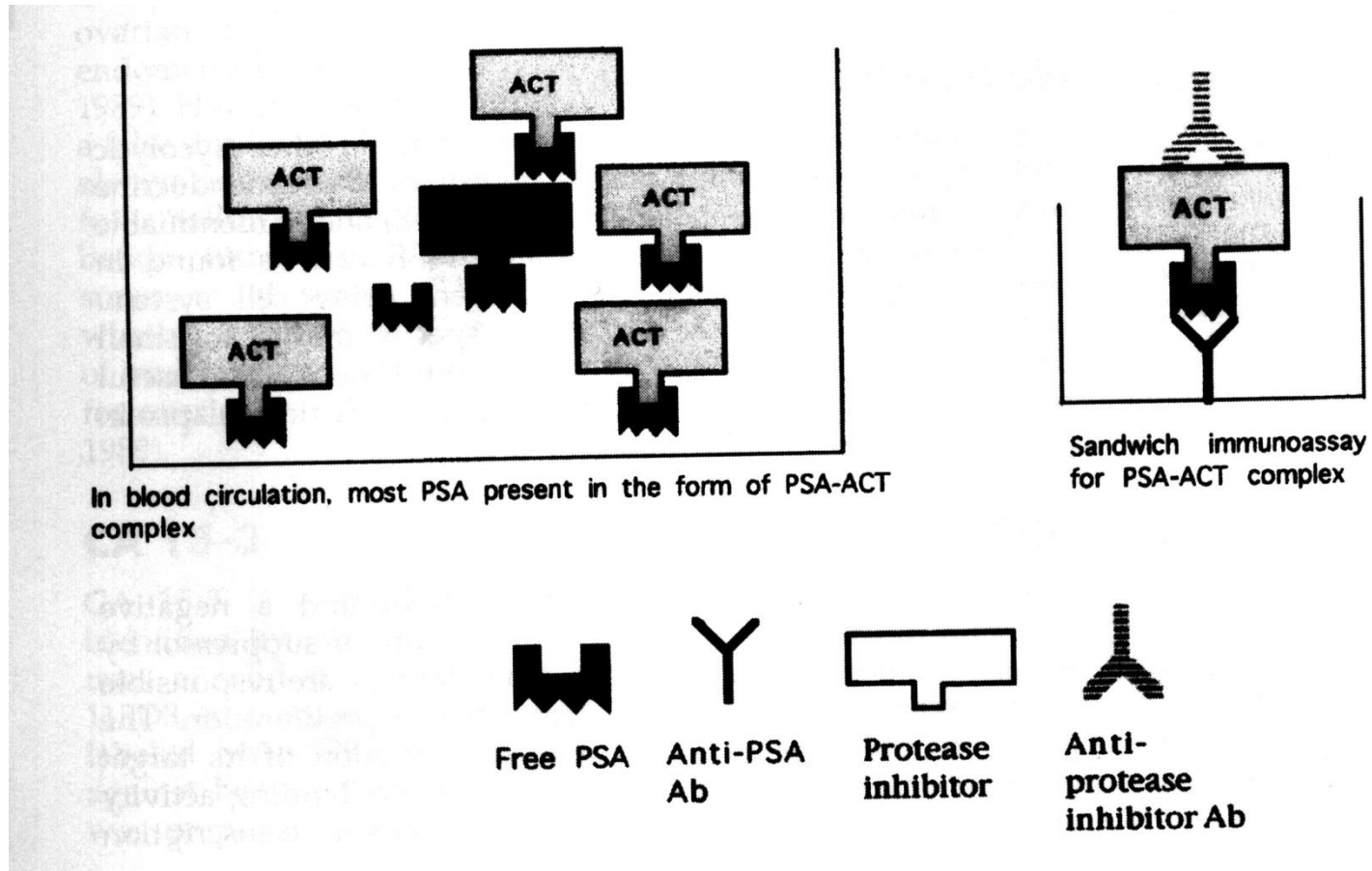
**PSA, p53, CA-markery, AFP**, paraprotein,  
 $\beta$ 2-mikroglubulin, CYFRA-21, Bence-Johnsonův Protein.

## PSA (Prostate Specific Antigen)

- je to JEDINÝ screening-ový protein, jehož vyšetření hradí pojišťovna u mužů nad 50 roků (a pak každé 4 roky) – dg. karcinomu prostaty
- kombinace lab. vyšetření na PSA + digitální rektální vyšetření (nebo ultrazvuk) prostaty v ordinaci = více jak 90% záchyt pacientů
- po léčbě: monitorování remise nebo relapsu

- Fyziologická fce: glykoprotein syntetizovaný u mužů pouze v epiteliálních buňkách prostaty, je to vlastně serinová proteáza, podílí se na ejakulaci
- může být zjištěn u kteréhokoli zdravého muže ale zvýšené jsou koncentrace u hyperplazie prostaty a podstatně zvýšené v přítomnosti zhoubného nádoru
- PSA tvoří komplex především s ACT ( $\alpha$ 1-antichymotrypsin) nebo méně často s B2M ( $\beta$ 2-makroglobulin)

- Stanovení PSA: fluorescenční nebo chemiluminiscenční EIA, většina testů měří PSA-ACT komplex



Hodnoty PSA jsou závislé na věku pacienta, proto referenční hodnoty jsou

muži -věk (roky)	PSA ( $\mu\text{g} / \text{L}$ )
20-40	do 1.8
40-50	do 2.2
50-60	do 3.9
60-70	do 6.9

Pro zlepšení diagnostické specifity se provádí adjustace hodnoty koncentrace PSA na velikost prostaty:

$$\text{adj. PSA} = 0.12 \times \text{objem prostaty (cm}^3\text{)} \times \text{naměř. konc. PSA}$$

Potřeba lépe diferencovat mezi pacienty s benigní hyperplazií (označováno též jako nezhoubný nádor (adenom)) a nádorem zhoubným (karcinom):  
měřením tzv. volného PSA (free PSA, fPSA) – proč volný PSA může diferencovat hyperplazii od karcinomu se ale neví

Na rozdíl od PSA je pro stanovení volného PSA používá např. protilátky, jejíž epitop je v místě vazby ACT na PSA

Často se pak používá tzv. %fPSA, který je vypočtený z rovnice:

$$\%fPSA = fPSA / PSA \times 100$$

Referenční hodnota pak:

dg. karcinomu prostaty při hodnotě %fPSA < 15%

tzv. šedá zóna: %fPSA 15 - 25%

benigní zvětšení prostaty: %fPSA > 25%

Jinými slovy **fPSA má** -na rozdíl od PSA- **POZITIVNÍ** dg./prognostický význam.



# Stockholm 3 test

5 proteinů  
Více než 120 SNPs  
Klinické vyšetření



Snížení (nepotřených)  
biopsií na 1/2

## p53

- je proteinový produkt protoontogenu p53

Obecně protoontogeny: gen, jehož porucha vede ke změně exprese proteinu nebo jeho účinku, a který se podílí na regulaci buněčného cyklu, takže způsobí maligní transformaci buňky

- biologická fce: p53 brzdí přechod buňky do S-fáze buň. cyklu

Mutace genu p53, která vede k ztrátě jeho exprese nebo biologické aktivity → zahájí karcinogenezi.

Stanovení mutantního proteinu p53 pomocí 2 monoklonálních protilátek (ELISA), jakýkoli + signál = dg. karcinomu (zhoubný nádor) nejčastěji prsu, střeva, plic, jater, močového měchýře, ledviny nebo sarkom

## **CA markery** (Carcinoma-associated Antigen)

- jedná se o vysokomolekulární glykoproteiny (muciny) nebo vysokoglykosylované proteiny např. proteiny krevních skupin
- jsou buď sekretované tumory nebo jsou na povrchu tumorových buněk
- nová generace tumorových markerů, pro stanovení je potřeba protilátek proti sacharidům
- nejčasteji glykoproteiny CA 15-3 a CA 125, dále CA 19-9
- stanovení: nejčastěji pomocí EIA

## vysokomolekulární muciny

## typ karcinomu

CA 125	vaječník, příp. slinivka
CA 15.3	prs, vaječník
CA 549	prs, vaječník

## antigeny vztahující se ke krevním skupinám

CA 19.9	slinivka, játra, GIT
CA 19.5	slinivka, GIT, vaječník
CA 50	slinivka, GIT, tračník

# AFP (alfa1-fetoprotein)

- produkován fetálními játry, 1 rok po narození již produkován ve velmi malém množství (tj. !!vysoké konc. v sérech těhotných žen)
- zvýšené hladiny: u nenádorových onemocnění jater (hepatitida, cirhóza) a především u **primárního karcinomu jater**
- stanovení: EIA (enzymoimunoanalýza)

Referenční hodnoty:

do 4 $\mu$ g/L, onkologická indikace: nad 10 $\mu$ g/L