

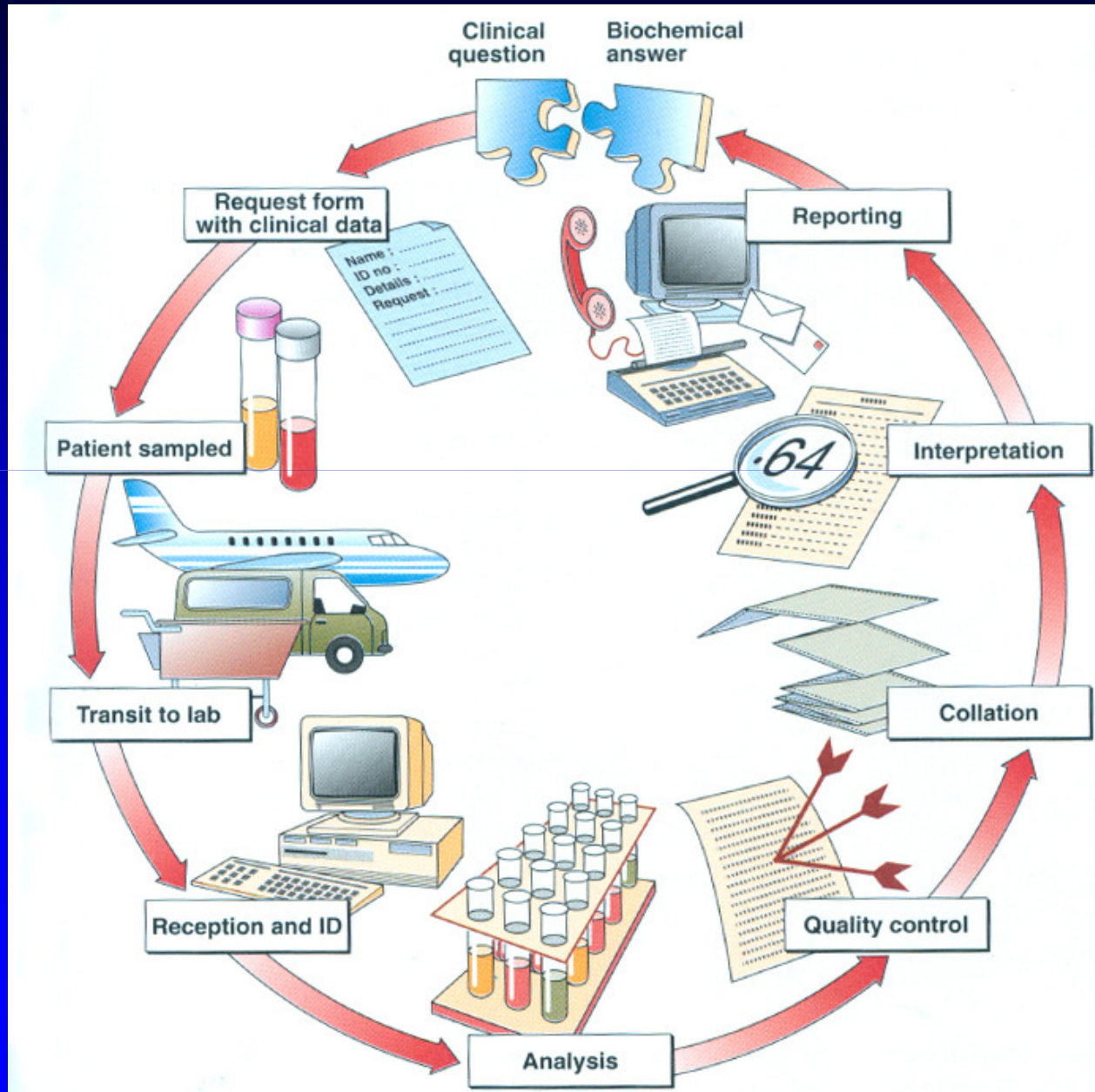
Preanalytika. POCT. Metabolická onemocnění.

Ivan Šebesta

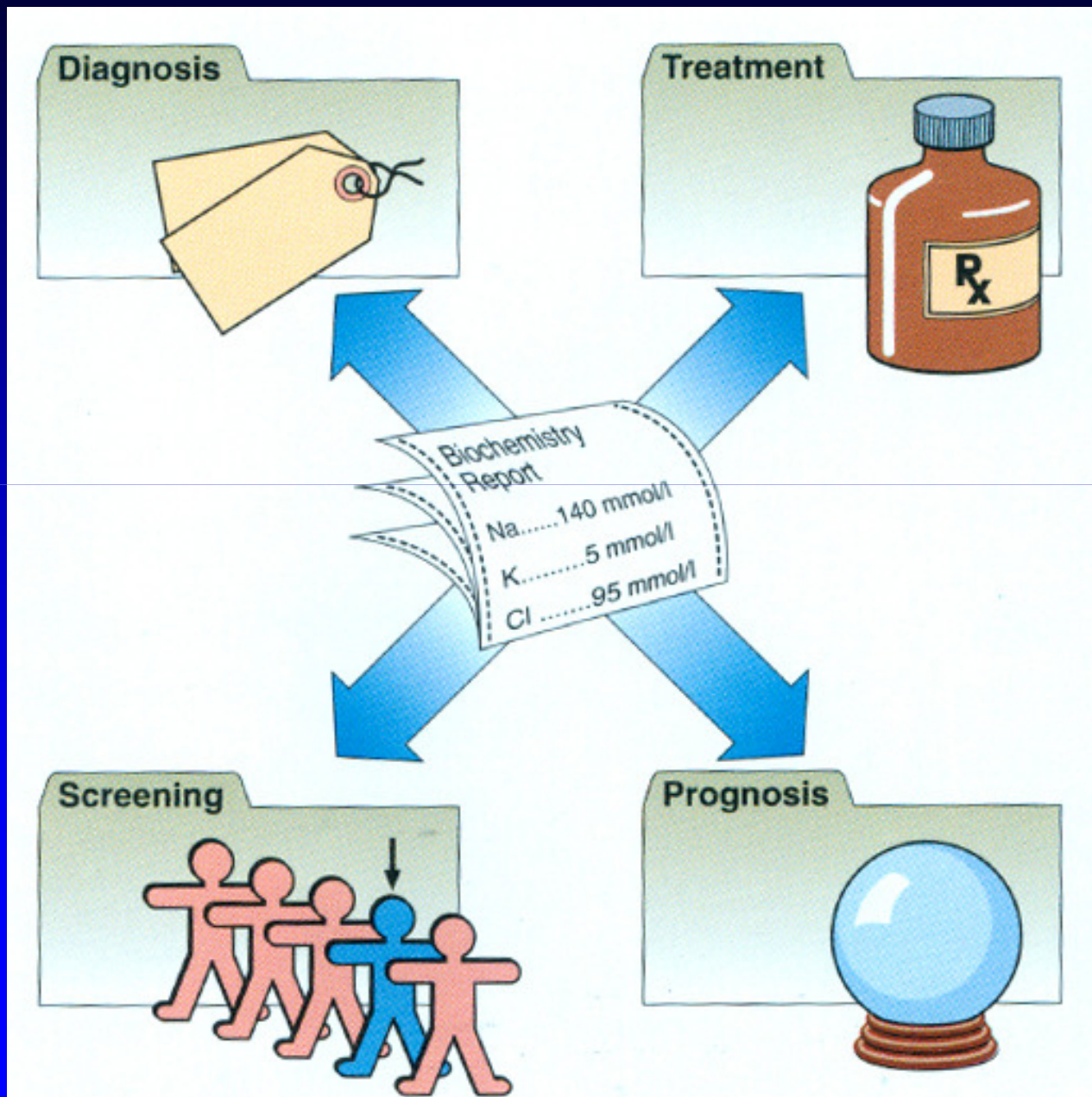


ÚLBD 1.LF UK

Circuit diagram of the clinical biochemistry process



How biochemical tests are used



INFORMACE O STAVU PACIENTA

- anamnéza
- fyzikální vyšetření (poklep, poslech, ...)
- přístrojové vyšetření (rtg, EKG, ...)
- laboratorní vyšetření
 - biochemické (60 – 70%)
 - hematologické
 - mikrobiologické
 - imunologické
 - radioizotopové

Výsledek biochemického vyšetření se stává skutečnou informací za těchto podmínek:

- cílená a účelná indikace
- co nejrychlejší dostupnost
- spolehlivost (správnost a přesnost)
- správná interpretace

RYCHLOST VYŠETŘENÍ

nejužitečnější je informace okamžitá

testy prováděné přímo u pacienta (POCT)

- testovací papírky
- kombinace papírkových testů s přístrojovým vyhodnocením

(stanovení glukózy v krvi – GLUKOCHIR)

A portable bench analyser







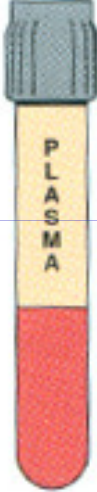

ZPŮSOBY REALIZACE „SUCHÉ CHEMIE“

- 1) Jednoduchá laboratorní vyšetření přímo u lůžka nemocného
(„bed side testing“)
- 2) Jednoduchá vyšetření v minilaboratořích přímo v pracovně praktického lékaře
(„general practitioners office“)
- 3) Centralizované nebo decentralizované laboratorní zajištění primární léčebné péče
(„primary health care laboratory“)

KLINICKO – BIOCHEMICKÁ INFORMACE

- informuje o metabolických funkcích
- má široký rozsah i vysokou specifitu
- je kvantifikovatelná
- je relativně snadno dostupná
(krev – B, P, S moč – U , CSF ...)
- nezatěžuje příliš pacienta

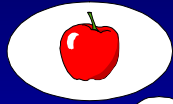
Blood specimen tubes for specific biochemical tests

Plain tube: no anticoagulant Clot forms	Plain tube: contains SST gel	EDTA anticoagulant	Lithium heparin anticoagulant	Fluoride oxalate	Heparinized syringe
					
<ul style="list-style-type: none">• General	<ul style="list-style-type: none">• General	<ul style="list-style-type: none">• Whole blood analysis• Red cell analysis• Lipids and lipoproteins	<ul style="list-style-type: none">• General	<ul style="list-style-type: none">• Glucose• Lactate	<ul style="list-style-type: none">• Arterial blood sampling

Some of the factors that can cause a test result to misrepresent the physiology of the patient

Interpreting a Test

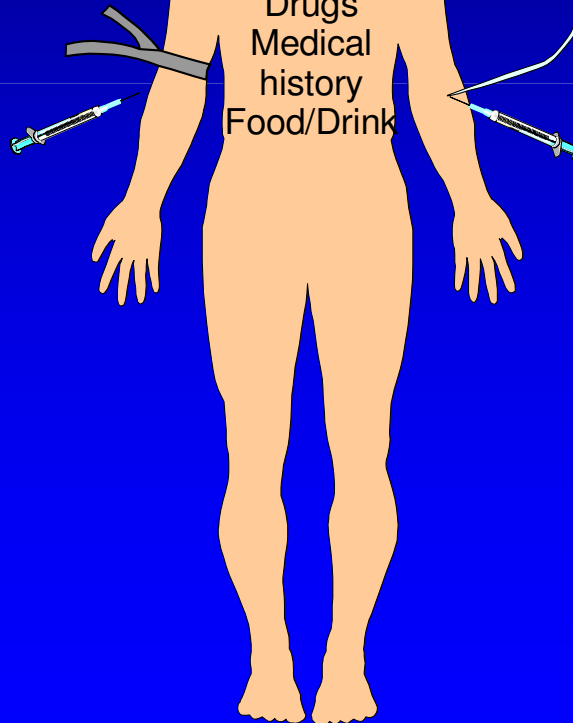
Inappropriate Reference Range



Misreported

Patient Preparation

Stress
Sex
Age
Drugs
Medical history
Food/Drink

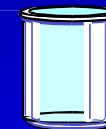


Sample Site

Wrong Patient

Wrong Container

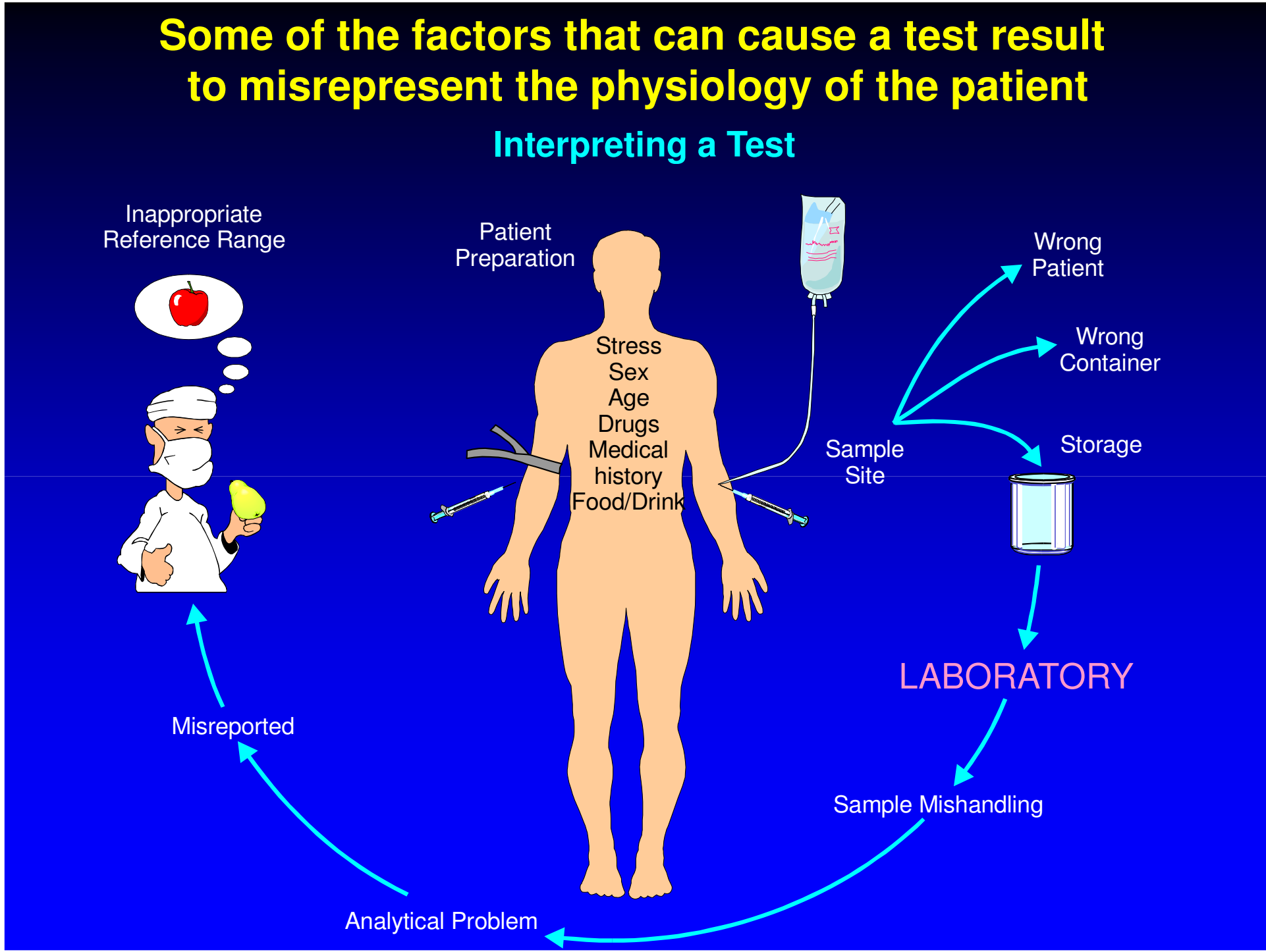
Storage



LABORATORY

Sample Mishandling

Analytical Problem



Celková bílkovina

- ↑ • dehydratace
- nárůst globulinových frakcí

- ↓ **Zvýšené ztráty**
 - močí- nefrotický syndrom
 - stolicí –exudativní enteropatie
ulcerativní colitis
 - kůží – popáleniny

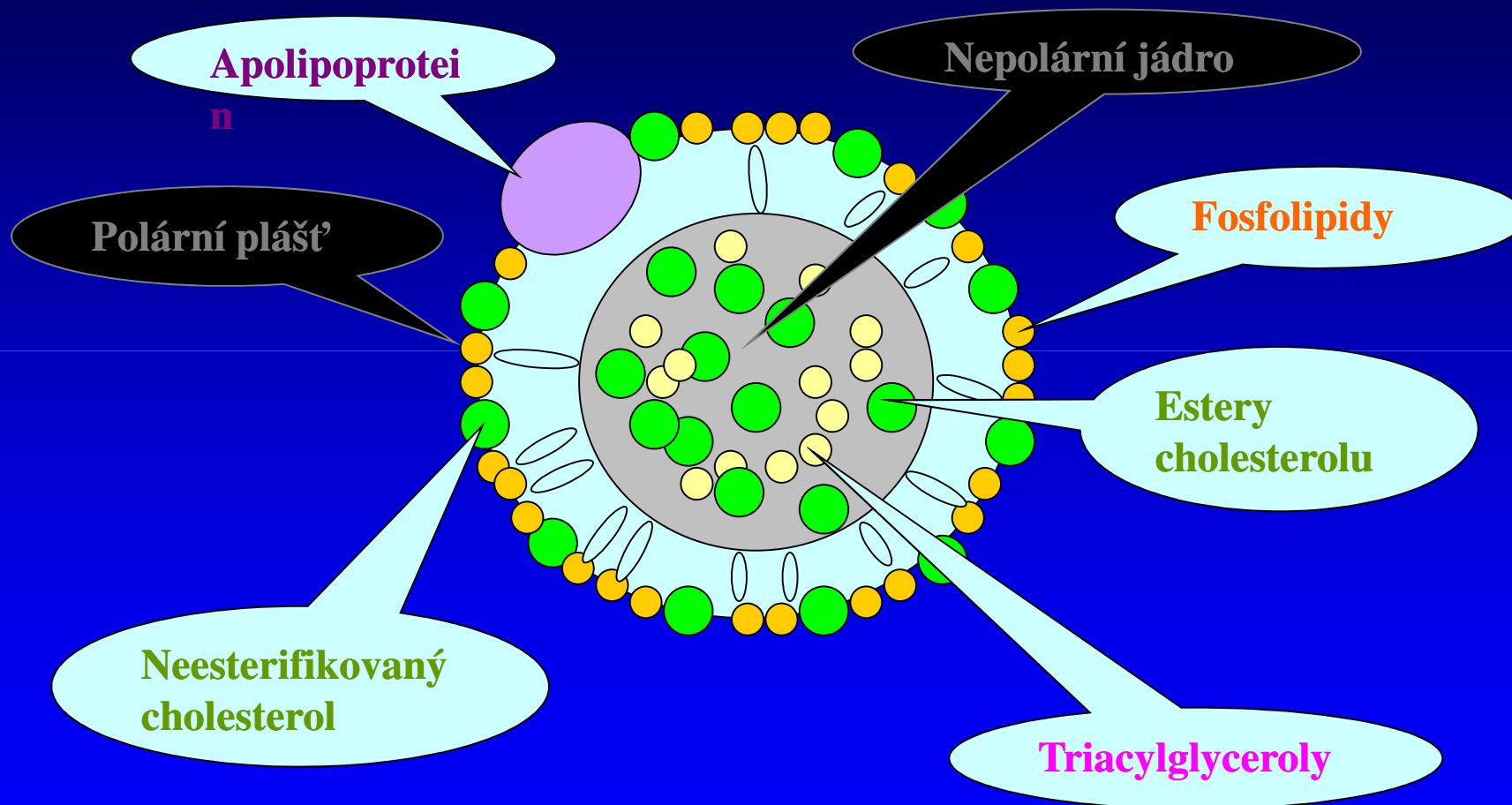
Snížená syntéza

- hepatopatie
- kachexie
- malnutrice

Zvýšení cirkulujícího objemu bez přísunu bílkovin při edémech, ascitu, exudátech

- srdeční selhání
- peritonitis
- jaterní cirhóza

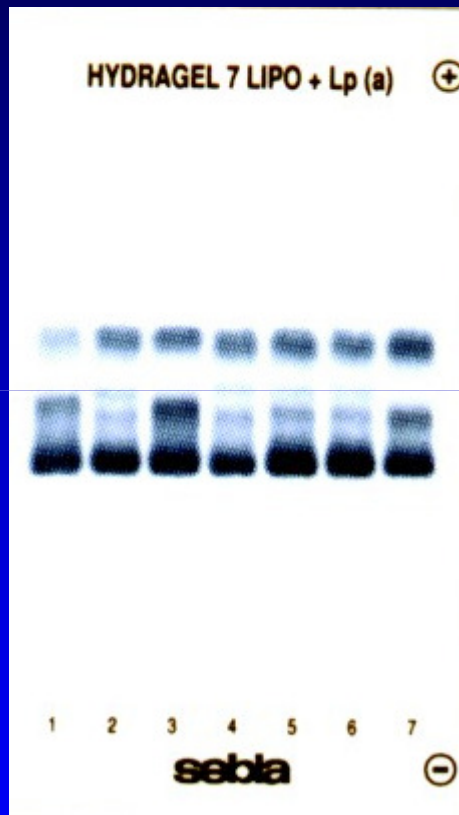
Schéma lipoproteinové částice:



Lipoproteiny - detekce

-
- **Pomocí ultracentrifugace:**
- na základě hustoty: **VLDL, IDL, LDL, HDL**
- **Elektroforeticky:** alfa-lipoproteiny,
pre-beta-lipoproteiny,
beta-lipoproteiny,
chylomikrony
- **Imunochemickými metodami:** apo A,
apo B, apo C, apo D, apo E, ...

Elektroforéza lipoproteinů



α lipoproteiny *HDL*

Lp (a)

Pre- β lipoproteiny
VLDL

β lipoproteiny
IDL, LDL

chylomikra

- **Základní vyšetření lipidového metabolismu**

- Cholesterol 3.8 - 5.2 mmol/l

- TAG 0.9 - 1.7 mmol/l

- HDL > 1.1 mmol/l

- LDL < 4.5 mmol/l

- **Cílové hodnoty české společnosti pro aterosklerosu**

- Cholesterol 4.5 – 5.0 mmol/l
(u osob s nízkým rizikem do 6.0 mmol/l)

- HDL > 1.1 mmol/l

- LDL < 2.5 mmol/l při sekundární prevenci

- < 3 – 3.5 mmol/l při vysokém riziku

- < 4 – 4.5 mmol/l při nízkém riziku

- TAG < 2.3 mmol/l (2.0)

Další vyšetření

- *výpočet LDL cholesterolu podle Friedwalda*
- (vzorec se nedá použít, pokud hladina TAG > 4,5 mmol/l)

LDL-chol. = celkový chol. - (HDL- chol. + TAG x 0.37) mmol/l

aterogenní index (AI) **AI = $\frac{\text{celkový cholesterol} - \text{HDL}}{\text{HDL}}$**

- koncentrace apo A-I a apo B-100
- Elektroforéza lipoproteinů

Primární hypercholesterolemie

➤ Familiární hypercholesterolemie

- porucha LDL receptorů
- cholesterol:

➤ *heterozygoti 7-10(15) mmol/l*

- (ICHS 30-50 l.)

➤ *homozygoti 15-30 mmol/l (IM do 20 l.)*

- zvýšená hladina LDL cholesterolu a Apo B

Primární hypercholesterolemie

➤ Familiární defekt Apo B100

- bodová mutace a záměna jedné aminokyseliny v poloze 3500 v obrovské molekule Apo B100
- cholesterol: 7-10 mmol/l

➤ Polygenní hypercholesterolemie

- kombinace nepříznivých genetických a zevních faktorů
- cholesterol: asi 8 mmol/l

Kombinované hyperlipidemie

➤ Familiární kombinovaná hyperlipidemie

- vysoká syntéza Apo B v játrech provázená zvýšenou produkcí VLDL a tvorbou malých denzních, velmi aterogenních částic LDL
- častá příčina ICHS a IM do 60 let
- cholesterol 10 - 15 mmol/l
TAG 2.3 - 5.7 mmol/l

➤ Familiární dysbetalipoproteinemie

- defekt genu pro ApoE-
patologický lipoprot. beta VLDL
- cholesterol 7.5 - 25 mmol/l
TAG 2 - 10(20) mmol/l

Primární hypertriacylglycerolemie

➤ Familiární hyperlipoproteinemie typ V.

- onemocnění poměrně vzácné
- častěji u dospělých, obézních, s DM a s hyperurikémií
- Vyvolávající faktor: alkohol, léky s estrogeny, renální insuficience
- na ELFO zvýšení pre-beta a chylom.
- cholesterol 7 - 13 mmol/l
TAG 10 - 20 mmol/l

➤ Familiární hyperchylomikronemie

- deficit lipoproteinové lipázy, nebo Apo CII
- TAG 20 - 120 mmol/l
- terapie MCT tuky (obsahují MK se středně dlouhými řetězci)

Familiární hypertriacylglycerolemie

- autozomálně dominantně přenášené onemocnění
- zvýšená koncentrace VLDL a snížená HDL
- ve vyšším věku se přidává DM II. typu
- cholesterol normální TAG do 6 mmol/l

Hypolipoproteinemie

- Familiární hypo-beta-lipoproteinemie
- Abetalipoproteinemie
- Hypoalfalipoproteinemie
- Analfalipoproteinemie (Tangierská nemoc)

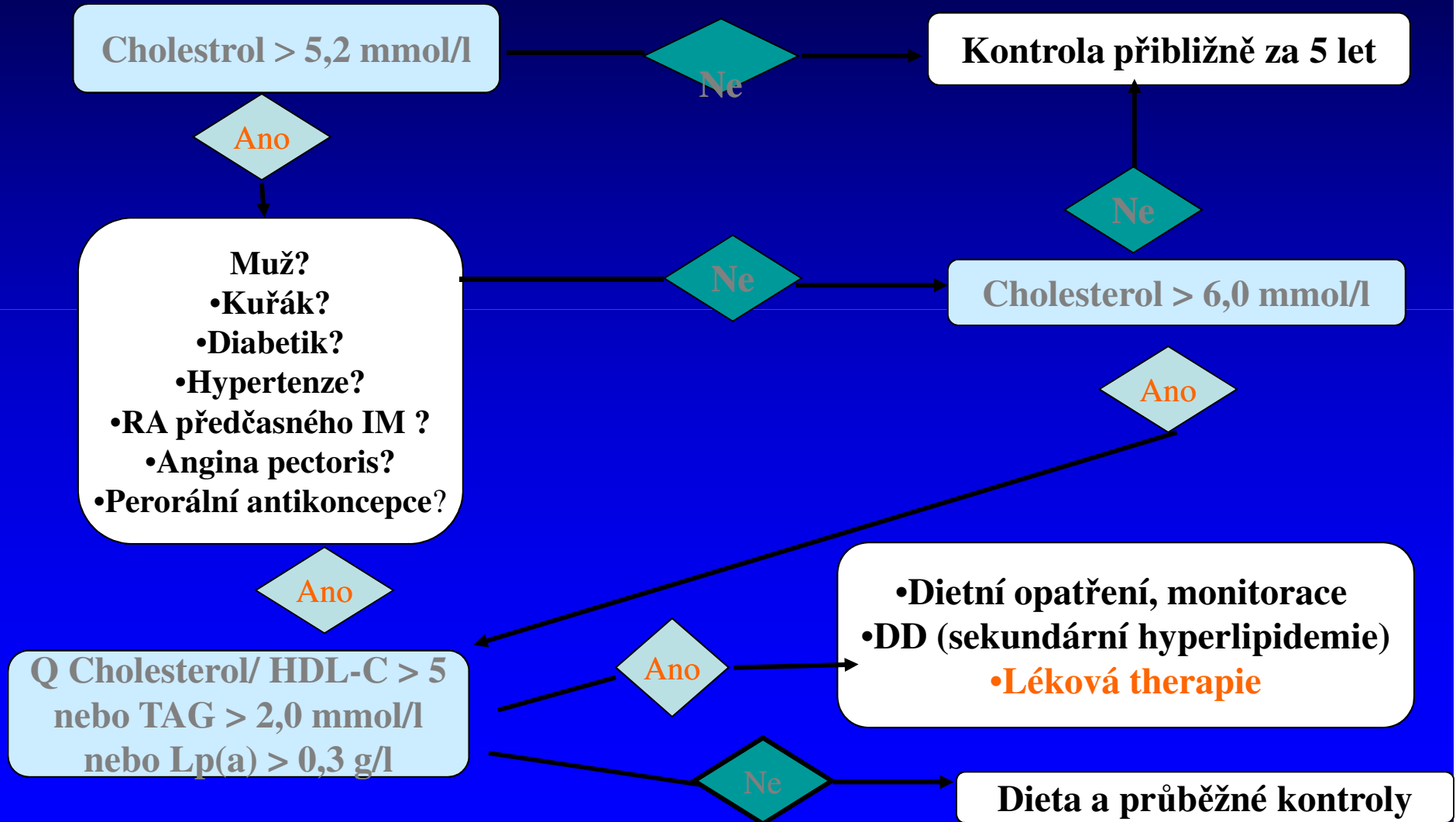
Poruchy z ukládání cholesterolu

- Wolmanova choroba
- deficit lysosomální kyselé lipasy
- Choroba z ukládání esterů cholestrolu
- Familiární deficit LCAT
- Hyperalfalipoproteinemie
- Familiární hyper-alfa-lipoproteinemie

Sekundární hyperlipoproteinemie

- ☆ Diabetes mellitus I. typu
- 🕒 Diabetes mellitus II. typu
- 🕒 Hypothyreóza
- 🕒 Nefrotický syndrom
- 🕒 Chronická renální insuficience
- 🕒 Primární biliární cirhóza
- 🕒 Obezita - TAG
- 🕒 Alkoholismus - TAG
- 🕒 Léčba hormony, diuretiky
- 🕒 Mentální anorexie

Diagram k rozpoznání pacientů s rizikem postižení koronárního řečiště



URIC ACID

Symptoms and findings referring to the presence of a hyperuricemia and indicating a serum uric acid determination:

- overweight
- disturbance of carbohydrate tolerance
- disturbances in lipid metabolism
- urolithiasis
- hypertonia
- renal diseases
- early severe atherosclerosis
- fatty liver infiltration
- family predisposition
- hemoblastoses
- cytostatic therapy and x-ray radiation
- pre-eclampsia

DNA JE ONEMOCNĚNÍ CHARAKTERIZOVANÉ

zvýšenou hladinou močové kyseliny v tělesných tekutinách a přítomností urátových krystalů.

KLINICKÝ OBRAZ DNY

- 1) Období asymptomatické hyperurikémie**
- 2) Akutní dnavý záchvat**
- 3) Interkritické období**
- 4) Chronická tofosní dna**



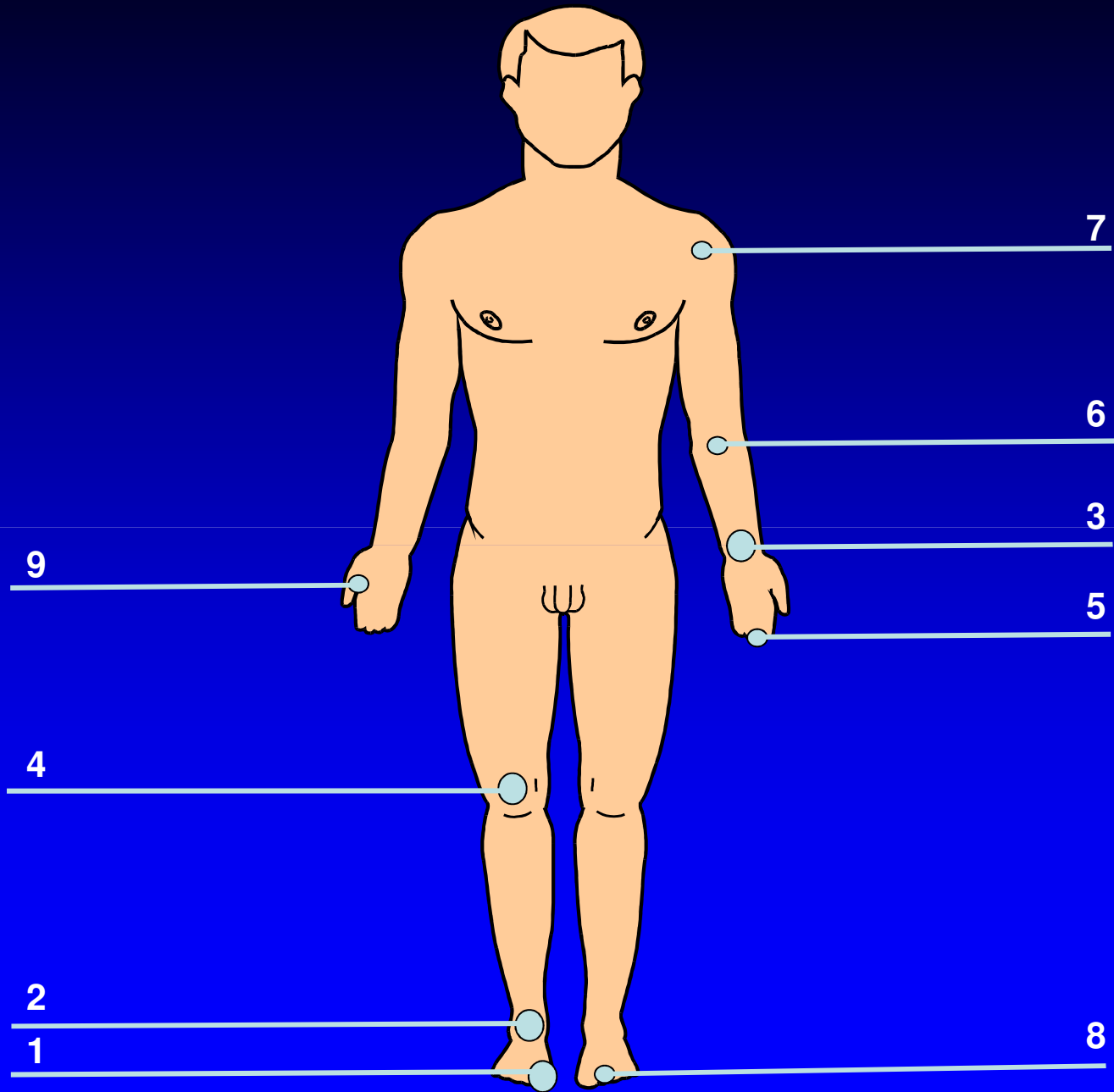


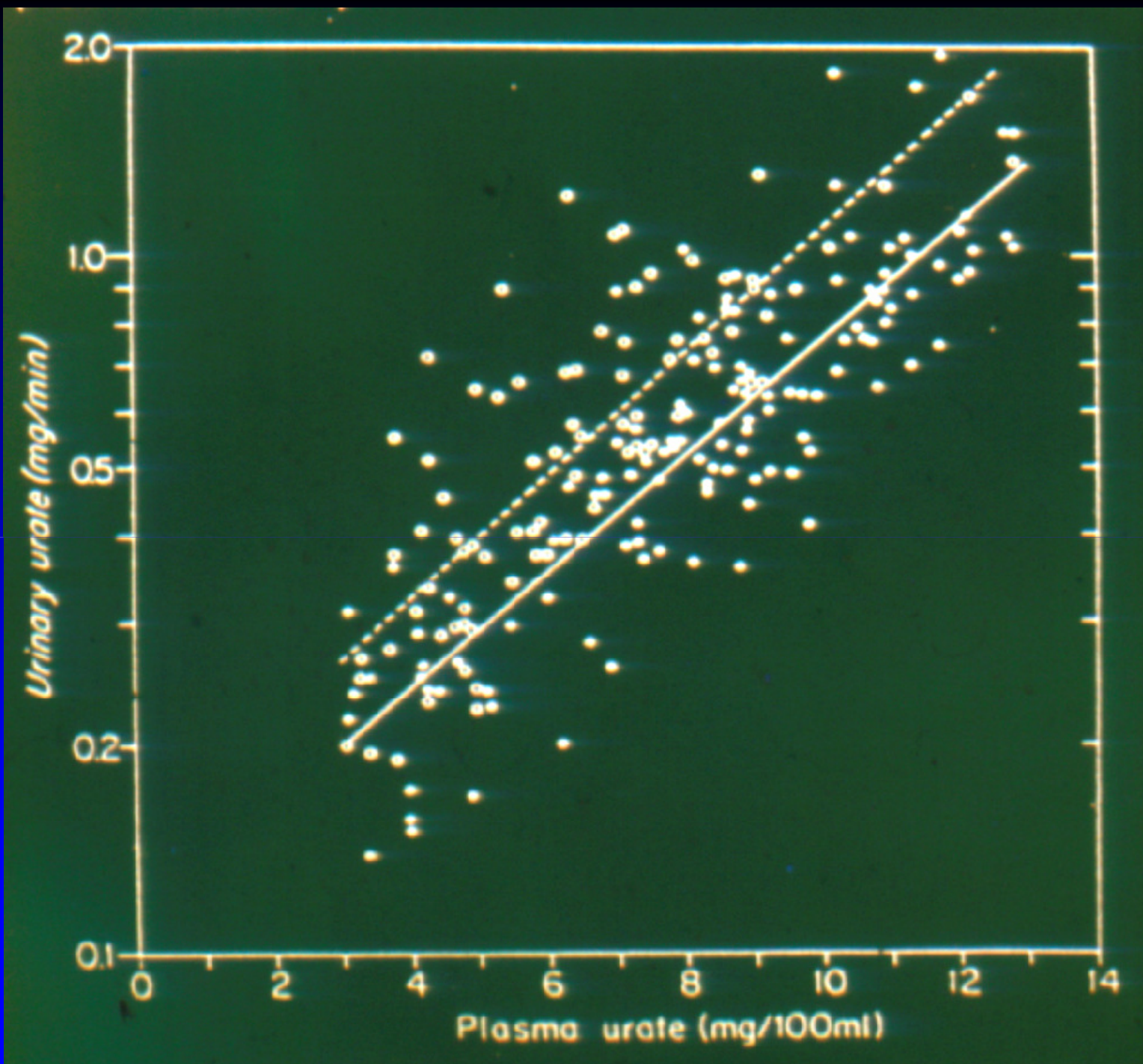
GOUT: THE PROTOTYPICAL CRYSTAL DEPOSITION ARTHROPATHY

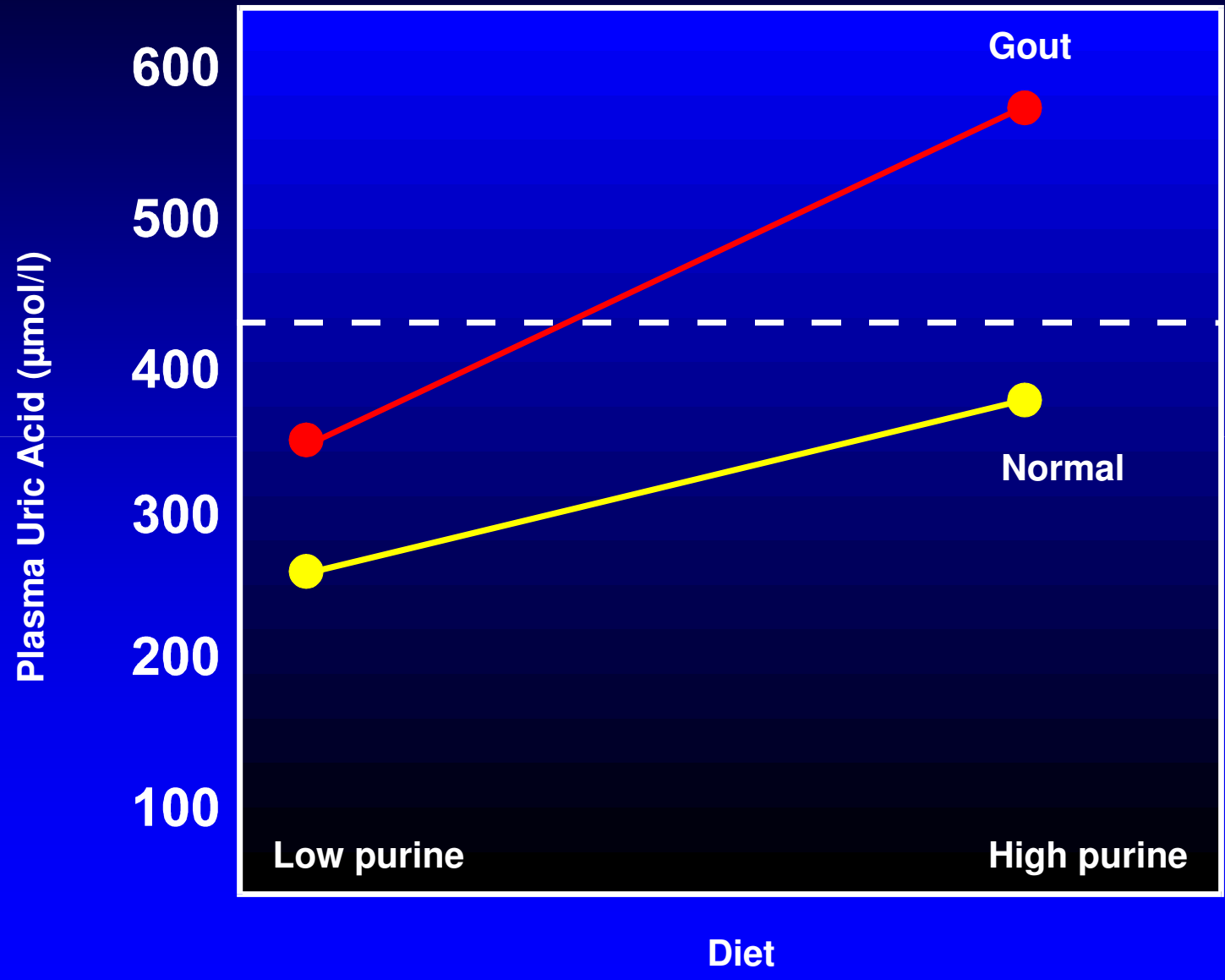
Monosodium
Urate
Crystal

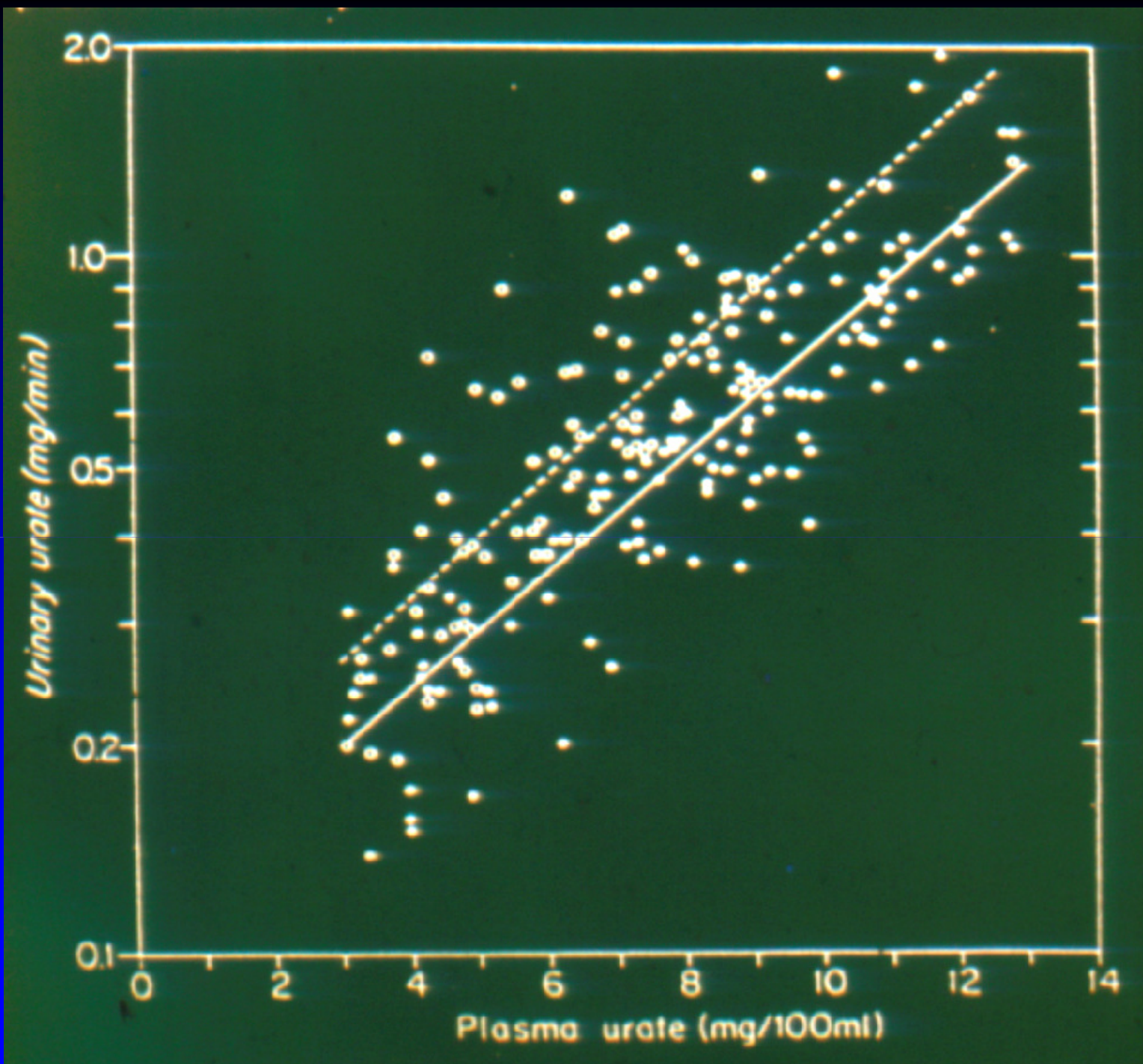




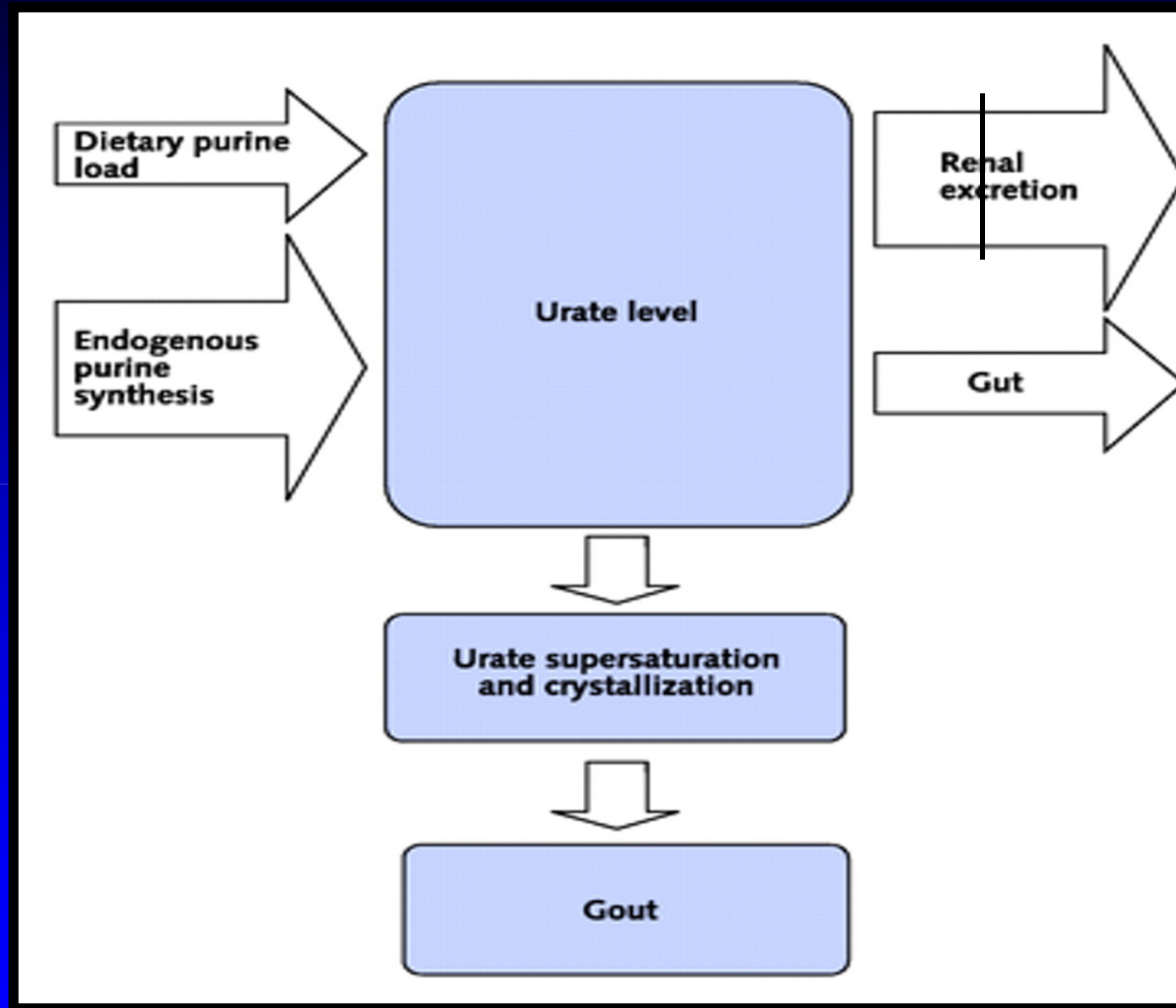








Overview of the pathogenesis of gout



NÍZKOPURINOVÁ DIETA

JE DOVOLENO:

2000 mg kys.močové/týden

Jedenkrát denně normální porce (cca 150 g) masa, mléko a mléčné produkty.

Jedna sklenička alkoholového nápoje, káva, čaj.

JE ZAKÁZÁNO:

**Vnitřnosti , některé druhy ryb (humr, krevety..) , luštěniny,
Větší množství alkoholu**

TYPY DNY

- * **primární dna**

- * snížené vylučování KM v ledvinách
- * nadměrný přívod purinů ve stravě

- * **deficit hypoxanthin-guanin fosforibosyltransferasy (HGPRT)**

kompletní - Lesch-Nyhanův sy.

částečný - Kelley-Seegmiller sy.

genetický defekt

- * **zvýšená aktivita fosforibosylpyrofosfát syntetasy (PRPPs)**

genetický defekt

- * **familiární juvenilní hyperurikemická nefropatie (FJHN)**

patogeneze není známa

FAMILIÁRNÍ JUVENILNÍ HYPERURIKEMICKÁ NEFROPATIE (FJHN)

- * nefropatie

- * dna

sdružené s: - časným nástupem
- manifestací u mužů i žen
- pozitivní genetickou anamnézou

- * hyperurikémie

- * velmi nízká exkreční frakce kys. močové *

pozn. nález nejasné hyperurikémie se sníženou exkreční frakcí kys. močové je rizikovým faktorem závažného postižení ledvin

Postup vyšetření pro diferenciální diagnostiku dny

**klinicko-revmatologické vyšetření
(důležitý údaj – rodinná anamnéza)**



vyšetření koncentrací kys. močové v krvi a moči



detailní vyšetření purinového metabolismu

HYPERURICAEMIA

Exclude

Secondary causes

24h urinary urate
(after 3 days purine-free diet)

> 5 mmol/d

Secretors

primary gout (~20%)
HGPRT deficiency
PRPPs superactivity

< 5 mmol/d

Non-secretors

primary gout (~80%)

Detailní vyšetření purinového metabolismu

1. Stanovením hladin kys. močové v krvi a moči

- * opakované
- * po dietě (nízkopurinové, bezpurinové)



2. Kvantitativní stanovení purinových metabolitů pomocí HPLC v

- * moči
- * krvi
- * CSF



3. Stanovení enzymových aktivit v ery, lymfocytech

- * hypoxanthin-fosforibosyltransferasy (HGPRT)
- * fosforibosylpyrofosfátsyntetasy (PRPPs)
- * adenin-fosforibosyltransferasy (APRT)
- * adenosindeaminasy (ADA)
- * purinnukleosidfosforilasy (PNP)

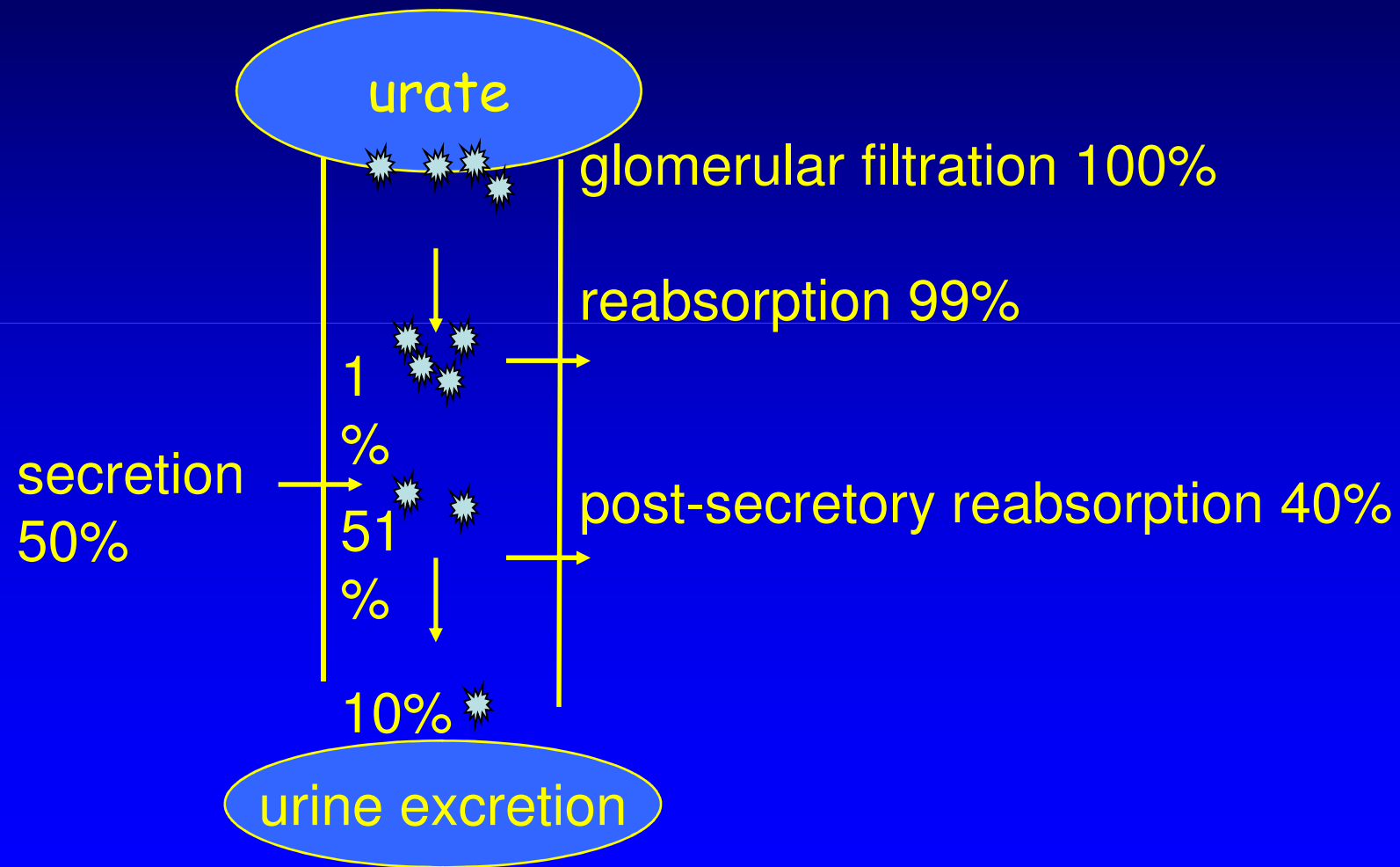


4. DNA analýza



URAT1 (SLC22A12)

4-component model of urate handling



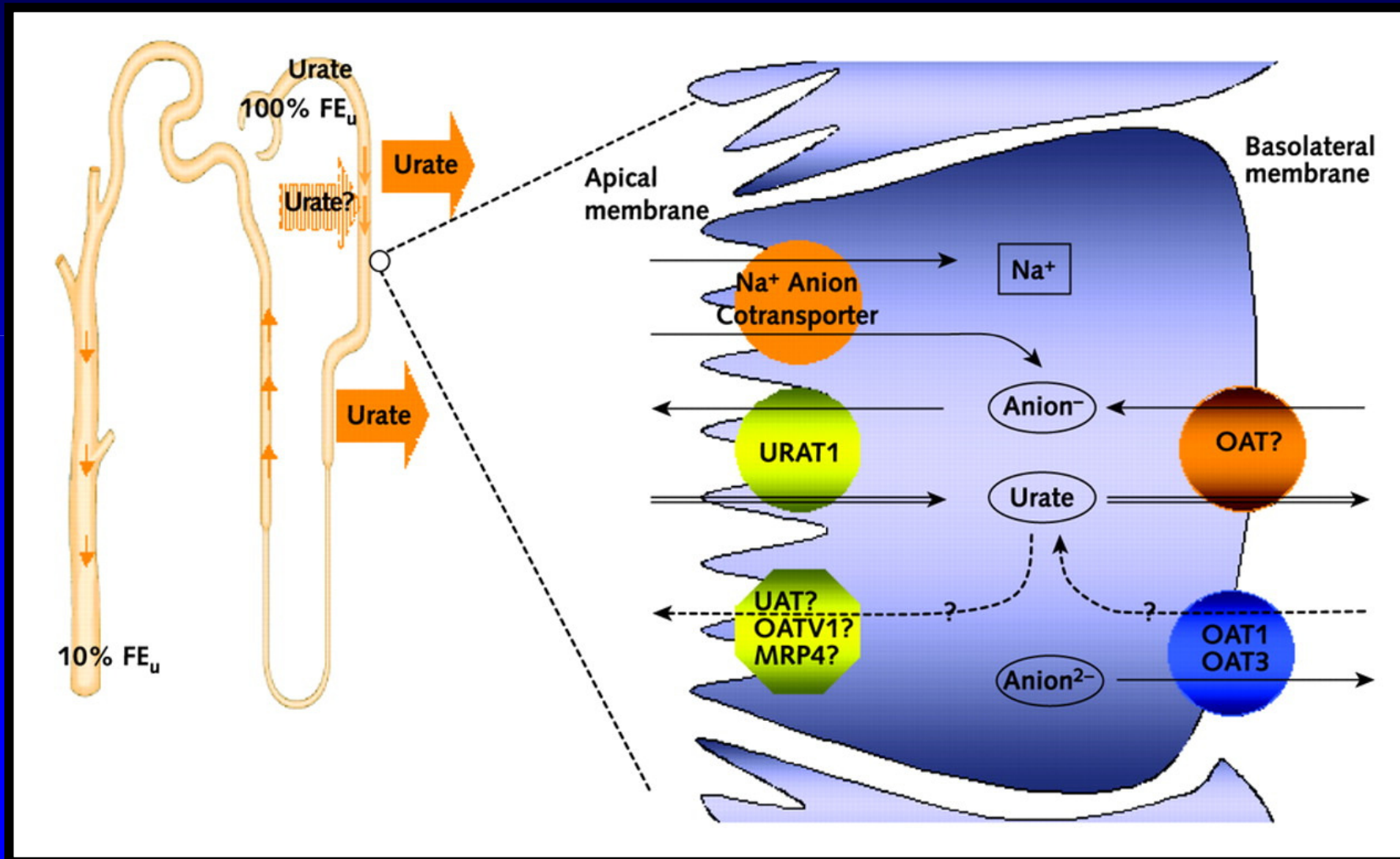
- *Enomoto, A., et al., Molecular identification of a renal urate anion exchanger that regulates blood urate levels. Nature, 2002. 417(6887): p. 447-52.*

Urátový transportér

URAT 1-genSLC22A12

- OMIM 607096, GeneID 116085
- 11q13, 2 transkripční varianty (3206 and 2940 bp)
- 553 aminokyselin
- exprimován v apikální membráně buněk epitelu proximálního tubulu

Transportní mechanismy kyseliny močové v lidském proximálním tubulu ledvin





Dědičná renální hypourikémie

mutace v genu SLC22A12
W258X- prevalentní mutace

Enomoto, A., et al., Nature, 2002. 417(6887): p. 447-52.

Dědičná renální hypourikémie, OMIM #220150

- nové onemocnění purinového metabolismu
- biochemické markery
 - hypourikémie ($S_{KM} < 120 \mu\text{mol/l}$)
 - zvýšená exkreční frakce kys. močové ($EF_{KM} > 10\%$)
- klinické projevy
 - urolitiáza
 - akutní selhání ledvin (indukované svalovou činností)

VYŠETŘENÍ PŘI UROLITIÁZE

- 1) dostupný konkrement → poslat k analýze
- 2) vyloučit hyperkalcémii a hyperurikémii
- 3) při normální S-Ca → vyšetřit dU-Ca
- 4) při negativě těchto vyšetření (a zvláště při pozitivní RA):
screening moče na cystin → při pozitivě dU-cystin
- 5) při alkalické moči u metabolické acidózy
→ renální tubulární acidóza?
- 6) u dětí:
 - při hypourikémii → vyšetření dU-xanthin
 - dU-oxalát
 - 2,8-dihydroxyadenin
 - kyselina orotová