

Sborník

X. celostátní sjezd České společnosti klinické biochemie ČLS JEP s mezinárodní účastí

25.–27. září 2011

Plzeň

Abstrakta přednášek a posterů

Seřazeno podle programu, o zařazení abstraktu do sborníku rozhodl vědecký výbor sjezdu.

Za obsah plně odpovídají autoři příspěvků.

Editor sborníku: Jaroslava Vávrová

Vážené kolegyně, vážení kolegové, milí přátelé,

dostáváte do ruky abstrakta přednášek a posterů X. sjezdu České společnosti klinické biochemie ČLS JEP, který se koná v Plzni. Významná akce v našem oboru – celostátní sjezd biochemických laborantů Biolab – se v Plzni naposledy konala před 10 lety. Je pro nás ctí a potěšením, že nyní můžeme přivítat účastníky jubilejního X. sjezdu ČSKB ČLS JEP právě v Plzni.

Organizátoři vybrali pro přednášky osm aktuálních témat a garantům jednotlivých bloků se podařilo získat skutečné odborníky v daných oblastech. Na přednáškách se podílejí i odborníci z ostatních laboratorních oborů a řada kolegů-kliniků. Byli bychom rádi, kdyby přednášky vyvolaly diskusi a staly se inspirací pro naši další práci. K diskusi ostatně mohou inspirovat i další problémy, kterými náš obor žije – namátkou jmenuji: akreditace, vzdělávání, personální zajištění, aktualizaci seznamu výkonů. Odborný program doplňují tři plenární přednášky, desítky plakátových sdělení a tradičně i výstava firem a firemní workshopy. Abstrakta přednesených či vystavených prací vycházejí jako součást třetího čísla časopisu Klinická biochemie a metabolismus.

Konání sjezdu bude také příležitostí ocenit významné osobnosti oboru, které přispěly a přispívají k dobrému jménu ČSKB doma i ve světě. Sjezd je důležitým místem nejen pro odborné bloky a přednášky, ale také pro společenská setkání a neformální diskuse s kolegy a přáteli. Věříme, že připravený společenský program v překrásných prostorách secesní budovy Měšťanské besedy k přátelské a kolegiální atmosféře patřičně přispěje. Přejeme si, aby se Vám odborný a společenský program líbil a věříme, že X. „plzeňský“ sjezd se zařadí k úspěšným akcím ČSKB.

*Prof. MUDr. Tomáš Zima, DrSc.
předseda ČSKB ČLS JEP*

*Prof. MUDr. Jaroslav Racek, DrSc.
předseda organizačního výboru X. sjezdu ČSKB*

Ocenění

Nejvyšší ocenění České společnosti klinické biochemie – Hořejšího cena – letos udělena panu prof. MUDr. Josefu Hyánkovi, DrSc.

Prof. MUDr. Josef Hyánek, DrSc., se narodil 27. 7. 1933. Medicínu začal studovat na lékařské fakultě v Olomouci, odkud přestoupil na Fakultu dětského lékařství do Prahy, kde v roce 1957 promoval. Během studia pracoval jako demonstrátor nebo pomocný vědecký asistent na lékařské biochemii, fyziologii a v klinické laboratoři dětských klinik Na Karlově. Po promoci působil jako sekundární lékař na dětském a infekčním oddělení nemocnice v Uherském Hradišti. V letech 1959–1968 pracoval na oddělení klinické biochemie Fakultní nemocnice II v Praze u doc. MUDr. J. Homolky. Z pediatrie atestoval v r. 1960 a z laboratorních metod vyšetřovacích (pozdější klinické biochemie) o tři roky později. Titul kandidát věd obhájil prací „Diagnostika dědičných metabolických poruch (DMP) aminokyselin“ na Fakultě všeobecného lékařství (1973), doktorát věd z biochemie o 10 let později na téma „Diferenciální diagnostika DMP v klinicko-biochemické laboratoři“ na prezidiu ČSAV. Habilitoval se v roce 1980 z klinické biochemie na Fakultě všeobecného lékařství UK, kde byl r. 1985 jmenován profesorem klinické biochemie a vedoucím katedry lékařské chemie a biochemie. Věnoval se především aplikaci klinicko-biochemických metod v oblasti prevence, diagnostiky a léčby DMP. V letech 1984–1992 byl přednostou oddělení klinické biochemie Všeobecné fakultní nemocnice (VFN) a vedoucím Diagnostického centra DMP VFN v Praze 2. Stál u zrodu Národní kontrolní referenční laboratoře MZ ČR, především jejího finančního a organizačního zabezpečení

a celonárodní kontroly kvality. V letech 1988–1989 byl zastupujícím vedoucím katedry pediatrie 1. LF UK a vybudoval metabolický box pro monitorování pacientů s DMP. Absolvoval řadu stáží v metabolických laboratořích dětských klinik v Uppsale, Heidelbergu, Utrechtu, Bostonu, Berlíně, Greifswaldu aj. V období 1992–2009 byl přednostou Oddělení klinické biochemie, hematologie a imunologie Nemocnice Na Homolce v Praze 5. V té době se orientoval na rozvoj laboratorního zajištění kardiovaskulárních programů, díky pochopení ředitele vybavil laboratoře moderní technikou a zajistil všem lékařům oddělení ambulantní praxi v lipidové, hematologické, imunologické a metabolické ambulanci. Inicioval a aktivoval práci Komise pro dětskou aterosklerózu při České pediatrické společnosti ČLS JEP a zasadil se o selektivní screening dyslipidemií u dětí z rizikových rodin. V metabolické ambulanci dosud sám pracuje.

Budoval organizovanou péči o děti s dědičnými metabolickými vadami v našem státě, čímž získal vědecký respekt v zahraničí. Po 28 let vedl komise pro dědičné metabolické poruchy při odborných společnostech lékařské genetiky, klinické biochemie a pediatrie. Byl členem řady odborných společností. Z domácích to byly Společnost klinické biochemie (člen výboru 1980–1993), Společnost lékařské genetiky (člen výboru 1975–1997), Pediatrická společnost, Společnost pro vady pohybového ústrojí, Společnost pro patofyziologii – sekce pro aterosklerózu, Společnost pro aterosklerózu, ze zahraničních

pak Society for Study of Inborn Errors of Metabolism (Liverpool), American Association for Clinical Chemistry, European Atherosclerosis Society, International Society of Human Genetics, International Society for Neonatal Screening, International Society of Medical Genetics, European Society for Phenylketonuria.

Je a nebo byl členem redakčních rad časopisů Klinická biochemie a metabolismus (Praha), Locomotor System (Praha), Journal of Inherited Metabolic Diseases (Liverpool, 1984–1994), Screening (Sendai, 1990–1997).

Úspěšně odvedl 11 grantů IGA MZČR hodnocených v kategorii A. Oponoval více než 300 doktorských disertačních prací a stejný počet grantových přihlášek domácích i zahraničních badatelů, vysoký počet domácích i zahraničních recenzí. Je členem poradního sboru Ministerstva školství, mládeže a tělovýchovy ČR pro hodnocení výzkumných programů.

V letech 1983–1984 byl konzultantem WHO. Aktivně pracoval v komisích SZO vydávajících směrnice pro účelné laboratorní vyšetřování. Jako vedoucí Národní kontrolní laboratoře MZ ČSR a vedoucí čl. delegace východoevropských zemí (RVHP) řídil zasedání při jednání o komplexním úkolu XII: laboratorní diagnostika, účelná laboratorní vyšetřování, včetně kontroly kvality v rámci celoevropských jednání.

Prof. Hyánek publikoval 2 monografie. Byly to Vybrané kapitoly z dědičných metabolických poruch (Avicenum 1975) a Dědičné metabolické poruchy (Avicenum 1990). Dále byl 6krát spoluautorem monografií a skript pro lékaře i nelékaře s problematikou dědičných metabolických poruch. Celkem publikoval 245 prací, z toho téměř 50 v zahraničí. Opakovaně získal ceny odborných společností za nejlepší publikaci nebo přednášky na zahraničních kongresech.

Měl cca 350 přednášek doma a v zahraničí (3 : 1). Je autorem cca 170 populárně vědeckých sdělení o DMP, jejich dietní léčbě a správné výživě v časopisech a sdělovacích médiích i na seminářích praktických a dětských lékařů. Organizoval 32 národních i mezinárodních sympozií, seminářů a workshopů; byl vědeckým sekretářem II. evropského kongresu klinické biochemie v Praze 1976.

Největší pozornosti v odborných aktivitách profesora Hyánka si zasluhují:

- ustavení Diagnostického centra dědičných metabolických poruch ve VFN (1986) a Mezinárodní diagnostické laboratoře východoevropských zemí „Intermetab“ s kontrolou kvality a diagnostikou pomocí GC/MS;
- zavedení a realizace screeningu fenylketonurie v ČSR (1961) a jeho legalizace 1975;
- zavedení fakultativního screeningu mateřských hyperfenylalaninemií (1984) – první na světě;
- úspěšná dietní léčba těhotných fenylketonuriček s narozením prvního zdravého dítěte (1985);
- první diagnostika dědičné cystathioninurie u dítěte z incestu a jeho úspěšná léčba (1986);
- inicializace a zavedení selektivního screeningu dětských dyslipidemií a vypracování metodické i organizační sítě lipidových pediatrických poraden v ČR (1994);
- cena za vyžádanou vítěznou přednášku o mateřských hyperfenylalaninemiích na International Symposium Inherited Metabolic Disorders Miami (1989);
- plenární přednáška o screeningu a léčbě těhotenských hyperfenylalaninemií ESIMD v Tatranské Lésné (1989);
- Brdlíkova cena za vyžádanou přednášku o dětské dyslipidemiích Bratislava (2010).

V současné době se věnuje práci v metabolické laboratoři Nemocnice Na Homolce, je garantem Klubu rodičů nemocných dětí s dyslipidemií, předsedou celorepublikového Sdružení chronicky nemocných dětí; organizuje rekondiční a výchovné tábory pro děti s familiární hypercholesterolemii. Nedávne publikace jsou věnovány tromboembolickým komplikacím dyslipidemických adolescentek s hyperhomocysteinemií z deficitu holotranskobalaminu. Je konzultantem pro obor laboratorních vyšetřovacích metod ve VZP a zůstává komisařem ČIA pro akreditaci klinických laboratoří.

Antonín Kazda

Prof. MUDr. Jaroslav Racek, DrSc.

Prof. MUDr. Jaroslav Racek, DrSc., absolvoval Lékařskou fakultu UK v Plzni v letech 1969–1975. Po promoci nastoupil na oddělení klinické biochemie Fakultní nemocnice v Plzni, kterému je věrný dodnes. Řadu let působil jako zástupce primáře a od roku 1991 jako vedoucí oddělení, později od roku 1997 jako přednosta společného pracoviště lékařské fakulty a fakultní nemocnice – Ústavu klinické biochemie a hematologie. Deset let působil jako LP náměstek ředitelky FN pro laboratorní obory. Je zastupujícím přednostou Ústavu lékařské chemie a biochemie LF UK v Plzni skoro již 15 let.

Mohlo by se zdát, že profesor Racek je spojen s laboratořemi jak základního, tak klinického výzkumu či rutinní diagnostiky, ale není tomu tak. Profesor Racek mnoho let též pracoval na Interní klinice a hemodialyzačním středisku, kde byl v každodenním kontaktu s pacienty, což významně ovlivnilo jeho pohled na postavení laboratorní diagnostiky v klinické medicíně a na klíčovou roli pacienta při laboratorní práci. Jeho nejvýznamnější vědecké práce jsou spojeny s problematikou poškození ledvin a léčbou pomocí různých očistovacích metod krve při selhání funkce ledvin.

Vědeckou průpravu získal při aspirantuře na 3. LF UK, kde obhájil dizertační práci na téma „Biosensor pro stanovení laktátu“. V roce 1991 se habilitoval v oboru biochemie prací Buněčné biosensory v klinické biochemii a profesorem byl jmenován v roce 1997.

Jeho prioritní výsledky v oblasti oxidačního stresu vedly k úspěšné obhajobě doktorské dizertační práce v roce 2001 na 1. LF UK v oboru vnitřní nemoci.

Prof. Racek publikoval více než 300 vědeckých sdělení, z toho řadu monografií, kapitol v monografiích, učebních textů, je autorem 3 vynálezů. Jeho publikace byly více než 600krát citovány podle SCI a jeho Hirschův index je 13.

Je členem řady domácích i zahraničních odborných společností, je člen výboru naší společnosti a jejím místopředsedou. Zastupuje nás po mnoho let v evropské i světové organizaci – EFCC, IFCC. Významně se zasloužil o českou verzi Lab Tests On Line, kde je před-

sedou Národní koordinační rady a úspěšně se stará o rozvoj tohoto vzdělávacího portálu pro odborníky, ale zejména širokou veřejnost, která tak má možnost se seznámit s naším oborem.

Vědecká práce prof. Racka souvisí, jak jsem již zmínil, s problematikou vlivu antioxidantů na ovlivnění oxidačního stresu, zejména u nemocí ledvin, ale zasahuje též do řady oblastí klinické biochemie. Jaroslav Racek patří mezi velmi zkušené pedagogy a jeho učebnice – monografie Klinická biochemie – nachází uplatnění na řadě vysokých škol u nás i na Slovensku. Zavádí a organizuje též moderní způsoby vzdělávání, jako je koordinace projektu E-klinická biochemie nebo BioHema.

Jarda Racek miluje přírodu a hory, kam vyráží pěšky, na kole, či v zimě na běžkách, ale nedá mu, aby měl prázdné ruce a vždy s sebou nosí fotoaparát, aby zachytil krásy přírody, zejména však květů. Jeho herbář květů zahrnuje více než 800 položek a kdyby měl více času, jistě by v něm měl systematicky utříděno více než 1000 květů.

Profesora Racka jsem měl možnost poznat již jako student na konferencích a setkáních zaměřených nejen na problematiku oxidačního stresu, ale zejména na nefrologických národních i mezinárodních fórech, kde nefrologů-biochemiků je poskrovnu. Vzájemně společně diskutujeme otázky odborné, ale též problematiku vzdělávání a dalších oblastí chodu naší společnosti, kdy Jarda je mi vždy ochoten pomoci a poradit v různých situacích.

Profesor Jaroslav Racek patří k nejvýznamnějším českým klinickým biochemikům a výsledky jeho vědecké práce jsou uznávány u nás i v zahraničí. Udělení Čestného členství České společnosti klinické biochemie ČLS JEP je výrazem poděkování a uznání vědecké a organizační práce prof. Racka při příležitosti jeho významného životního jubilea.

Milý Jardo, ad multos annos.

Tomáš Zima

Při příležitosti životního jubilea je na návrh výboru ČSKB prof. MUDr. Jaroslavu Rackovi, DrSc., uděleno čestné členství České společnosti klinické biochemie.

Ohlédnutí za prací a odkazem paní primářky RNDr. Ludmily Nováčkové

Dne 3. března 2011 nás ve věku 53 let nečekaně a navždy opustila primářka RNDr. Ludmila Nováčková. Téměř 30 let pracovala na Oddělení klinické biochemie v ostravské Krajské, později Fakultní nemocnici. Lída byla celý život věrna jedinému zaměstnavateli, jedinému pracovišti a oboru klinické biochemie. Nikdy ani na okamžik neuvažovala o tom, že by opustila Ústav klinické biochemie a Fakultní nemocnici v Ostravě.

RNDr. Ludmila Nováčková prošla ve své kariéře téměř všemi posty laboratorního pracovníka od absolventky vysoké školy (Přírodovědecké fakulty, současné MU v Brně, oboru biochemie) až po přednostku Ústavu klinické biochemie.

Ve Fakultní nemocnici v Ostravě vybudovala špičkové likvorologické pracoviště poskytující základní i speciální likvorová vyšetření. Zasloužila se o zavedení cytologického screeningu všech vzorků likvoru a v poslední době trpělivě bojovala proti absurdnímu rozhodnutí VZP zrušit jeho proplácení. Pracoviště bylo jedním z prvních v republice, kde byla zavedena detekce oligoklonálních IgG pásů v likvoru a v séru metodou izoelektrické fokusace s následnou specifickou detekcí IgG imunofixační technikou. Vždy dbala na operativní řešení technických problémů a co možná nejkratší dobu odezvy od požadavku laboratorního vyšetření až po jeho interpretaci klinickým pracovníkem. Ve spolupráci s Neurochirurgickou klinikou se věnovala problematice stanovení transformujícího růstového faktoru beta v likvorech dětských pacientů s hydrocefalem. Z její iniciativy byl soubor speciálních vyšetření likvoru neustále rozšiřován, naposledy o detekci intratekální syntézy specifických protilátek, zejména proti virům spalniček, zarděnek a varicella zoster v rámci tzv. MRZ, reakce významné v některých případech pro diferenciální diagnózu mezi infekčním a autoimunitním zánětem. V poslední době se významně se podílela na návrhu i koncepci grantového projektu Moravskoslezského kraje „Detekce oligoklonálních imunoglobulinů v biologických tekutinách: Využití přístroje Multiphor II“ i na zahájení projektu po jeho schválení.

Další oblastí zájmu dr. Nováčkové byla problematika elektroforetických metod, zejména diagnostiky a sledování monoklonálních gamapatií. Četnost indikací elektroforetického vyšetření sérových bílkovin ve Fakultní nemocnici v Ostravě je bezesporu výsledkem její pečlivých popisů. Zavedla do nich některé užitečné termíny, zejména termín „migrační mikroheterogenita gama frakce“, který posléze extrapolovala i na hodnocení oligoklonálních IgG pásů v likvoru a v séru při vyšetření izoelektrickou fokusací. Vedla rozsáhlou kartotéku laboratorních nálezů pacientů s monoklonálními gamapatiemi umožňující dohledat výsledky i s podrobným komentářem řadu let nazpět. Ve Fakultní nemocnici Ostrava zavedla do praxe stanovení volných lehkých řetězců u těchto pacientů, které má významnou úlohu v diagnostice i monitorování léčby.

„Úsek analýzy likvoru“ Ústavu klinické biochemie, který kromě vlastní likvorologické laboratoře zahrnuje elektroforetické metody a nefelometrické stanovení bílkovin v séru a v moči, byl celoživotní láskou prim. Nováčkové, vedla jej i poté, co převzala vedení ÚKB v létě roku 2008 prakticky ze dne na den, pečovala o jeho rozvoj a po celodenní organizační činnosti sem s úsměvem přicházela strávit pozdní odpolední a večerní hodiny laboratorní prací. Vybudovala vynikající specializované pracoviště s vynikající pověstí, kterou bude bez ní do budoucna velmi těžké obhájit.

I v organizační práci si počínala velmi zdařile, ač určitě nebyla roditělm manažerem. Hloubka znalostí provozu laboratoří Ústavu klinické biochemie ji umožňovala s přehledem řešit i velmi složité situace, které nepřetržitý provoz laboratoře denně přináší. Používala k tomu nástroje, které by se daly nazvat ženské nebo rodičovské, přesto byla manažersky velmi úspěšná a nikdy neměla vyložené nepřátele. Jako člověk se dokázala povznést nad drobné problémy a jako pravý vedoucí v laboratoři dokázala od sebe oddělit podstatné a nepodstatné problémy.

Byla rovněž zapojena do výuky bakalářů na LF Ostravské univerzity, kde byla platnou členkou Katedry biomedicínských oborů. Mezi studenty byla velmi oblíbená, věnovala jim extrémně mnoho svého volného času v rámci vypracovávání přednášek, prezentací a zejména při vedení bakalářských prací. Studenti někdy neradi opouštěli její cvičení a semináře.

Přestože pracovala intenzivně i 12 hodin denně, přednášela, podílela se stále aktivně na práci v laboratoři, tak si našla čas i na své koníčky. Od mládí vedla turistu a dokázala se skupinami dětí cestovat a relaxovat na letních táborech.

Tak jak žila, tak odešla. Uprostřed práce, kdy její zdravotní stav ji donutil jít si lehnout přímo na jednotku intenzivní péče. Ztratili jsme čestného a pracovitého člověka, kterému nic lidského nebylo cizí. Snad jsme si stihli něco zapamatovat z jejích zasvěcených výkladů. Na stěnách zůstala její moudrá novoroční přání, na stolech i na počítačích fotografie z jejích cest do přírody. Vděčně vzpomínáme, protože víme, že s tak vzácným člověkem se dost možná už nikdy v životě nesetkáme. Cítíme závazek k přání paní prim. Nováčkové, který k nám v posledních dnech svého života, přes veškeré své osobní zdravotní potíže vysílala, aby jí započatá práce zdárně pokračovala dál.

*Pracovníci ÚKB Centra laboratorní diagnostiky,
FN Ostrava*

Na návrh výboru ČSKB bylo prim. RNDr. Ludmile Nováčkové uděleno čestné členství České společnosti klinické biochemie in memoriam.

Letošní jubilantka je v kontaktu s laboratorní medicínou od dob svých studií na střední zdravotní škole v Českých Budějovicích. Tam složila úspěšně v r. 1972 maturitní zkoušku. Od té doby zůstala klinickým laboratořím věrná až dodnes.

Po dvanáctiletém působení v laboratoři v Českých Budějovicích se přesunula o zhruba 50 km na sever do krásného, historického města se zlatou pětistou růží v erbů. Čtenář jistě pozná, že je řeč o Jindřichově Hradci.

Tam, na mírném kopečku, tyčícím se nad téměř 700 let starým rybníkem Vajgar, působí od roku 1989 jako vedoucí laborantka. Samotný fakt, že úspěšně a se zdarem spolupracovala s prim. MUDr. Jaroslavem Čechem svědčí o její kvalitě jak odborné, tak lidské. Své odborné znalosti posílila a potvrdila úspěšným složením atestačních zkoušek na tehdejší „doškolovku“ v Brně. Svou náročnou roli vedoucí laborantky plní vytrvale a úspěšně již 22 let. To představuje obrovské množství každodenní usilovné práce. Tímto konstatováním ovšem nevyčerpáme celou oblast činnosti Jitky Švecové. Věnuje úsilí nejen řízení své laboratoře, ale obětavě věnuje svůj čas, energii a úsilí i rozvoji odborné vzdělanosti kolegů a kolegyň. Svůj čas a organizační talent, zejména v posledních letech, věnuje významnému podílu na organizaci pracovních dnů biochemických laborantů ČSKB. Tyto pracovní dny přispívají nejen k informovanosti laborantů o nejnovějších trendech laboratorní medicíny, ale i ke kooperaci a k lepšímu vzájemnému poznání laboratorních pracovníků různých kategorií.

Dobrým zvykem těchto akcí v posledních letech je, že na realizaci příslušných přednáškových bloků se podílejí všechny kategorie laboratorních pracovníků.

Odbornou a společenskou úroveň si vzdělávací akce v poměrně malém okresním městě naprosto nezapadají s akcemi pořádanými ve velkých městech s fakultními nemocnicemi a fakultami.

Jitka Švecová má velkou zásluhu na skutečnosti, že v kouzelné, dříve poněkud odlehle a opomíjené oblasti jižních Čech, vzniklo místo, kam laboratorní pracovníci rádi přijíždějí, aby si zvýšili svoji odbornou zdatnost. Přitom se nejedná o ledajaké místo, ale o historicky neobyčejně cenný, zrenovovaný areál kostela sv. Jana Křtitele.

Jaká je Jitka Švecová jako člověk? Myslím, že její pozitivní vlastnosti lze vyjádřit trojicí: pracovitost, skromnost a tolerance. Nelze u ní najít stopy sobectví a prospěchářství.

V dnešní složité a zmatené době mají tyto málo se vyskytující vlastnosti cenu zlata.

Řečeno prostě, Jitka Švecová je dobrý a pilný člověk. Kéž by bylo takových víc.

Milá Jitko, jménem výboru biochemických laborantů Ti přejeme, a celé Tvé rodině, všechno nejlepší v Tvém dalším životě.

Martina Bunešová

Na návrh výboru sekce biochemických laborantů ČSKB je paní Jitce Švecové uděleno čestné členství České společnosti klinické biochemie.

V laboratorní medicíně obecně není mnoho mužů a v profesi zdravotní laborant tím méně. Pan Jiří Hlaváč se pohybuje v klinické laboratoři od roku 1971, kdy odmaturoval na Střední zdravotnické škole v Ústí nad Labem, kde ukončil nástavbové studium. Svoji odbornou praxi započal v laboratoři OÚNZ v Semilech. Krátce poté, v roce 1974, přešel pracovat na klinickou biochemii OÚNZ v Mostě, kde setrval do současné doby. Profesní životopis Jiřího Hlaváče dokládá jeho zájem o obor, a to i v období, kdy povinnost „celoživotního vzdělávání“ nebyla dána zákonem. Kde jinde, než v Kladně na biochemii u primáře Nejedlého absolvoval v roce 1976 kurz acidobazické rovnováhy a minerálního metabolismu. V následujícím roce prošel kurzem toxikologie v Brně na „doškolováku“ a v téže vzdělávací instituci úspěšně ukončil závěrečnou zkouškou specializační pomaturitní studium v oboru klinická biochemie. Zdálo by se, že pro svoji teoretickou průpravu byl optimálně vzdělán. Rozhodl se ale jinak. V roce 1990 reflektoval na další profesní výzvu a úspěšně se ucházel o místo vedoucího laboranta. V souvislosti s novými pracovními povinnostmi absolvoval roku 1990 funkční kurz – Příprava pro výkon vedoucí funkce.

Pracovní povinnosti vedoucího laboranta vykonává dosud. Motivací pro Jiřího byla především užitečnost a prospěšnost nejen klinické biochemii, ale

i kolegyním a kolegům v laboratoři – což má ostatně velkou souvislost. S politováním nutno říci, že ale ne vždy a ne u každého vedoucího pracovníka je tato užitečnost a prospěšnost na jednom z čelních míst žebříčku hodnot. Vždy podporoval vzdělávání a rozvoj dovedností u „svých“ laborantek. To mimo jiné dokázal i velkým podílem své práce na perfektní přípravě sjezdu biochemických laborantů, Biolabu, který proběhl 29. 6.–1. 7. 1994 v Mostě. V této aktivitě pokračuje a aktivně se účastní na nemocničních a krajských seminářích, a to nejen se svojí přednáškovou činností, ale i podporou odborných aktivit zdravotních laborantů.

Jiří, připojujeme se ke gratulantům, přejeme především hodně zdraví, spokojenosti a spoustu dalších cest za poznáním.

Marie Vémolová
Martina Bunešová

Na návrh výboru sekce biochemických laborantů ČSKB je panu Jiřímu Hlaváčovi uděleno jako výraz poděkování za jeho činnost v oboru laboratorní medicíny a profese zdravotní laborant čestné členství České společnosti klinické biochemie.

Program

NEDĚLE, 25. 9. 2011 – BIG HALL

13.30 – 14.30

Plenární přednáška

PL-1

Diagnostika a léčba hypercholesterolémií u dětí a adolescentů

Hyánek J., Dubská L., Pehal F., Dvořáková J., Tábořský L., Martiníková V., Privarová J.

14.30 – 15.00

Přestávka

15.00–16.30

B1 – Hodnocení laboratorních testů v neonatologii, pediatrii a geriatrii (Interpretation of laboratory tests in neonatology, pediatrics and geriatrics)

Koordinátor: Ing. Dalibor Novotný, Ph.D.

B1-1

Odlišnosti klinické interpretace biochemických nálezů ve stáří

Zadák Z., Tichá A., Hyšpler R.

B1-2

Diagnostika infekce Parvovirem B19 v pediatrii

Pospíšilová D., Ludíková B., Luhový M.

B1-3

Vybrané parametry metabolismu železa u nezralých novorozenců

Dubrava L., Kantor L., Hálek J., Pospíšilová D., Houda J.

B1-4

Stanovení secretagoginu a pNFH-1 u zdravých fyziologických novorozenců

Stejskal D., Švesták M., Kantor L.

16.30 – 18.00

B2 – Pojetí kvality jako integrované činnosti lékařů, analytiků, laborantů a vedení ZZ (Quality concept as integrated activity of physicians, scientists, laboratory technicians and management of health care institutions)

Koordinátor: RNDr. Bedřich Friedecký, Ph.D.

B2-1

Nástrahy a záludnosti vnitřní kontroly kvality

Jelínek R., Fialová C.

B2-2

Omezení laboratorních chyb – komunikace za hranicí laboratoře

Šolcová M., Rajdl D., Petříková V.

B2-3

Biochemický laborant – nedílná součást kvality klinické laboratoře

Kotrbatý J., Blažková J., Bunešová M.

B2-4

Geneze diagnostického zdravotnického prostředku in vitro

Šmíd P.

B2-5

Kvalita z pohledu vedení zdravotnického zařízení

Ludvík M.

NEDĚLE 25. 9. 2011 – SÁL BELLEVUE

15.00 – 16.30

Workshop SYNLAB CZECH

Moderní pojetí preanalytiky a analytiky v laboratorní praxi

17.00 – 17.30

Přednáška Tecom Analytical Systems CS

Měření glukózy v nemocnicích – jediný správný způsob, nejen moderní trend

PONDĚLÍ 26. 9. 2011 – BIG HALL

8.30 – 10.00

B3 – Nové markery kardiovaskulárního rizika (New cardiovascular risk markers)

Koordinátor: prof. MUDr. Miroslav Engliš, DrSc.

B3-1

Myeloperoxidáza (MPO) a kardiální troponin I (cTnI) u nemocných s bolestí na hrudi a podezřením na akutní koronární syndrom

Racek J., Brož P., Lhotská J., Rokyta R., Trefil L.

B3-2

Některé méně obvyklé kardiální markery

Vašatová M., Tichý M., Pudil R., Horáček J. M., Bartošková I.

B3-3

Natriuretické peptidy v klinické praxi

Pudil R.

B3-4

Doporučené postupy pro akutní koronární syndromy a tvrdá realita života

Brodská H., Benáková H., Janota T., Zima T.

B3-5

Mezilaboratorní srovnatelnost měření troponinů a natriuretických peptidů v programu externího hodnocení kvality

Friedecký B., Budina M.

10.00 – 11.00

Plenární přednáška

PL-2

Patogeneze, diagnostika a léčba dědičných metabolických poruch

Kožich V.

11.00 – 11.30

Přestávka

11.30–13.00

Biochemická genetika aneb když genetik používá biochemické testy (Biochemical genetics or when the geneticist uses biochemical tests)

Koordinátor: Doc. MUDr. Viktor Kožich, CSc.

B4-1

Screening Downova syndromu v těhotenství

Springer D.

B4-2

Výsledky novorozeneckého screeningu v České republice

Votava F., Chrastina P., Kožich V., Pešková K., Šťastná S., Adam T., Friedecký D., Hlídková E., Vinohradská H., Kračmar P., Dejmeš P., Krulišová V., Holubová A., Balaščíková M., Piskáčková T., Macek M. Jr., Gaillyová R., Truellová I., Švagera Z.

B4-3**Selektivní screening dědičných metabolických poruch**

Pešková K., Kožich V.

B4-4**Biochemical genetic testing in Centre of Inherited Metabolic Diseases of University Children's Hospital Bratislava**

Behúlová D., Holešová D., Šalingová A., Škodová J., Vasilenková A., Šebová C., Perečková J., Syrová D., Ostrožlíková M.

13.00 – 14.00

Oběd

14.00 – 15.30

B5 – „-omické“ metody – současnost a perspektivy

(“-omics“ – present and perspectives)

Koordinátor: RNDr. David Friedecký, Ph.D.

B5-1**Lipidomika – úvod do problematiky**

Pól J., Volný M., Vidová V., Strohalm M., Novák P., Holopainen J., Havlíček V.

B5-2**Možnosti proteomických metod v klinické diagnostice**

Lenčo J., Tambor V., Kacerovský M.

B5-3**Možnosti využití dvojrozměrné plynové chromatografie v analýze lidského metabolomu**

Wojtowicz P., Dostálová E., Šťastná V., Zdráhalová M., Friedecký D., Adam T.

15.30 – 16.00

Přestávka

16.00 – 17.00

Plenární schůze**PONDĚLÍ 26. 9. 2011 – SÁL BELLEVUE**

08.30 – 10.00

Workshop DIASORIN Vitamin D, 1-84 PTH a Renin- klinické aplikace**Vitamin D: clinical applications**

Pilz S. (Medical University of Graz)

Jak častá je nedostatečná hladina vitaminu D – data z klatovského regionu

Pikner R., Fejfarčková Z., Černá V., Heidenreichová M., Vacíková M. (Nemocnice Klatovy)

Nová metoda DiaSorin LIAISON 1-84 PTH 3. generace: Stanovení referenčních mezí

Fejfarčková Z., Černá V., Sládková O. (Nemocnice Klatovy)

Renin: implications in hypertension and cardiovascular diseases

Tomaschitz A. (Medical University of Graz)

10.30 – 12.00

Workshop SIEMENS**Analýzátory řady Dimension s unikátní LOCI technologií**

Přednášející: Čech M.

12.30 – 14.00

Workshop ABBOTT LABORATORIES

14.30 – 16.00

Workshop ROCHE

08.00 – 09.30

**B6 – Laboratorní diagnostika anémií
(Laboratory diagnostics of anaemia)**

Koordinátor: doc. MUDr. Jaroslav Čermák, CSc.

B6-1

Laboratorní metody v diferenciaci diagnostice anémií

Čermák J.

B6-2

Diagnostika vrozených anémií u dětí

Pospíšilová D.

B6-3

Deficit mědi spojený s anémií u sedmiměsíčního dítěte – kazuistika

Dastych M., Štarha J.

09.30 – 10.30

Plenární přednáška

PL-3

Feochromocytom a příbuzná nádorová onemocnění a jejich laboratorní diagnostika

Pacák K.

10.30 – 11.00

Přestávka

11.00 – 12.30

**B7 – Vyšetření mozkomíšního moku a laboratorní diagnostika v neurologii
(Examination of cerebrospinal fluid and laboratory diagnostics in neurology)**

Koordinátor: Ing. Jana Ženková

B7-1

Detekce oligoklonálních IgG pásů: srovnání komerčně dostupné imunofixační metody s „home-made“ metodou s afinitním imunoblottingem a posouzení shody mezi dvěma hodnotícími

Nováčková L., Zeman D.

B7-2

Postižení centrálního nervového systému a vyšetření likvoru u novorozenců

Dort J., Ženková J., Dortová E., Petříková V., Matas M.

B7-3

Praktické zkušenosti s laboratorní diagnostikou Alzheimerovy nemoci pomocí tau proteinu, fosfo-tau proteinu a beta amyloidu v likvoru

Koudelková M.

B7-4

Vyšetření likvoru u pacientů s mozkovou kryptokokózou – kazuistiky pacientů

Čermáková Z., Gottwaldová J., Dastych M.

B7-5

Automatická morfologická analýza buněk v mozkomíšním moku pomocí digitální mikroskopie na analyzátoru CellaVision DM 96

Ženková J., Bršlicová K., Ševčíková J., Štambachová A.

12.30 – 13.30

**B8 – Varia – fórum mladých klinických biochemiků
(Varia – forum of young clinical biochemists)**

Koordinátor: MUDr. Pavel Malina

B8-1

Indikace a interpretace laboratorních testů

Šálek T.

B8-2

Role (mladého) lékaře v oboru klinická biochemie – možnosti a limitace

Cibiček N., Palička V., Soška V.

B8-3**Těžká akutní pankreatitida a její laboratorní monitorování**

Malina P., Cejp V., Jabor A.

B8-4**Kazuistika – případ extrémní metabolické alkalózy**

Kosová H.

ÚTERÝ 27. 9. 2011 – SÁL BELLEVUE

09.00 – 10.30

Workshop BECKMAN COULTER

11.00 – 12.00

Workshop ERBA LACHEMA

12.30 – 13.30

Workshop SYSMEX

Seznam posterů

P1

Poškození DNA a koncentrace homocysteinu ve spermích

Matejovičová M., Králíková M., Melounová J., Žáková J., Crha I.

P2

Izoelektrická fokusace apolipoproteinu C-III jako screeningová metoda poruch O-glykosylace

Ondrušková N., Hansíková H., Horová E., Honzík T., Zeman J.

P3

Expres biliverdinreduktázy A a efekt antivirové terapie u chronické hepatitidy C

Subhanová I., Muchová L., Leníček M., Vítek L., Zima T., Urbánek P.

P4

Deficit YME1L proteinu vede k mitochondriální dysfunkci

Wenchich L., Stibůrek L., Česneková J., Fornůsková D., Zeman J.

P5

Kongenitální cytomegalovirová infekce – kazuistika

Roubalová L., Novotný D., Bartková M., Zrníková L., Dubrava L.

P6

Problematika všeobecného vyšetřování poruch štítné žlázy v těhotenství – výsledky dvouletého pilotního projektu

Springer D., Límanová Z., Zima T.

P7

Změny v metabolismu železa u pacientů po transplantaci ledviny

Sedláčková T., Racek J., Teplan V., Viklický O., Štěpánková J., Štollová M.

P8

Porovnání vlivu cyklosporinu A a tacrolimu na markery oxidačního stresu po transplantaci ledviny

Kajabová M., Zdražil J., Štrebl P., Horák P., Vostálová J., Galandáková A., Schneiderka P.

P9

Těhotenský protein (PAPP-A) jako nezávislý prediktor mortality chronicky hemodialyzovaných nemocných

Kalousová M., Benáková H., Kuběna A. A., Dusilová-Sulková S., Tesař V., Zima T.

P10

Zaměnitelnost reagensů a její vliv na nejistotu stanovení koagulačního faktoru XI

Mareček F., Hrachovinová I., Novotná H.

P11

Vztahy mezi clearancí kreatininu a cystatinu C

Novák M., Rozsypálek V., Frkalová Z., Neshyba P.

P12

CEVA – nová generace vzdělávání

Rajdl D., Klečková M., Trbušek J., Racek J., Pikner R.

P13

Systém kompletní automatizace sběru a zpracování dat vnitřní kontroly kvality

Stančík L., Paclt M.

P14

Závažné klinické projevy deficitu vitamínu B₁₂ u plně kojeného dítěte veganky

Bekárek V., Ševčíková J., Kittlová L., Tóukálová L., Adam T.

P15

Stanovení kyseliny lipové v lidské plazmě metodou vysokoúčinné kapalinové chromatografie s elektrochemickou detekcí

Bencová S., Žáková P., Ventura K.

P16

Genetický polymorfismus D1853N v genu ATM u radiosenzitivních osob s cervikálním karcinomem v porovnání se zdravou českou populací

Beránek M., Drastíková M., Pětera J., Brokešová S., Sirák I., Vošmik M.

P17

Význam matrixových metaloproteináz na hojení ran po operaci vrozeného rozštěpu rtu

Bláha K., Borský J., Průša R., Štekláčová A., Otoupalová E., Matějová R., Pechová M., Kotaška K., Dostálová T.

P18

Výskyt mutací C282Y, H63D a S65C v genu HFE v české populaci a v souboru pacientů se suspektní diagnózou vrozená hemochromatóza

Drastíková M., Beránek M., Hegerová J., Putzová D., Červinková B.

P19

Nová metoda DiaSorin LIAISON® 1-84 Parathormon 3. generace – stanovení referenčních mezí

Fejfarová Z., Černá V., Zábranský M., Heidenreichová M., Pikner R.

P20

Vyšetření neutrofilního s gelatinázou asociovaného lipokalinu v moči u dětských pacientů s akutním a chronickým onemocněním ledvin

Fořtová M., Bláhová K., Fencel F., Stará V., Pechová M., Průša R.

P21

Porovnání albuminurie stanovené imunoturbidimetricky a vysokoúčinnou kapalinovou chromatografií

Fořtová M., Klapková E., Průša R.

P22

Vliv amlodipinu a atorvastatinu na kostní metabolismus u samců potkanů kmene Wistar

Gradošová I., Živná H., Hubená S., Švejková K., Palička V., Živný P.

P23

Histochemické stanovení katalytické aktivity enzymů oxidativní fosforylace v Blue-Native polyakrylamidovém gelu

Hájková Z., Horová E., Rodinová M., Spáčilová J., Hansíková H.

P24

Tissue copper content in children with isolated cytochrome C oxidase deficiency

Hansíková H., Veselá K., Tesařová M., Vondráčková A., Fornůsková D., Honzík T., Stiburek L., Zeman J.

P25

Jak stanovovat glomerulární filtraci u dětí

Hauerová V., Barcalová J.

P26

Antioxidační kapacita v potravinách a nápojích

Holeček V., Racek J.

P27

Analýzátor ABL 90 FLEX

Hupáková I., Hrachová M., Rubášová L.

P28

Rozšířené vyšetřování DMP u novorozenců

Kapustová M., Hlídková E., Friedecký D., Bekárek V., Růžicková V., Ševčíková J., Kittlová L., Adam T.

P29

Orální glukózový toleranční test u těhotných v MN Privamed, a. s., Plzeň

Králová H., Pánek J., Jeřábek Z.

P30

Prvotní vzácné metabolické choroby morbus Gaucher u ženy středního věku – popis případu

Lavičková A., Malinová V.

P31

Vyšetření neutrofilního s gelatinázou asociovaného lipokalinu v moči po kardiochirurgických výkonech

Lejsek J., Průša R., Pechová M., Fořtová M.

P32

První zkušenosti s analyzátozem SPA Plus – srovnání a verifikace metod

Lochman P.

P33

Stanovení lithia s využitím dvou analytických metod: plamenové fotometrie a přímé potenciometrie na iontově selektivních elektrodách

Maláková J., Beran J., Pavlíková L., Palička V.

P34

Porovnání kapilárních kolon při kvantitativní analýze alkoholu metodou plynové chromatografie s headspace technikou dávkování

Maláková J., Jokešová I., Voříšek V.

P35

Glutathion jako citlivý parametr oxidačního stresu a jaterní steatózy

Malínská H., Oliyarnyk O., Kahleová H., Seidlová H., Urbanová J., Kazdová L.

P36

Cystatin C

Pánek J., Králová H., Reisinger J., Jeřábek Z.

P37

Cholestáza indukovaná estrogeny – protektivní vliv glykosfingolipidů a hemoxygenázy-1

Petr T., Šmíd V., Váňová K., Vítek L., Šmíd F., Muchová L.

P38

Zhodnocení modifikované metody WAKO pro stanovení CRP

Šprongl L.

P39

Determination of selected antioxidants (ascorbic acid, uric acid) in seminal plasma

Štramová X., Drábková P., Kandár R., Žáková P.

P40

Vliv diety obohacené o železo na mechanické vlastnosti kostí potkanů

Švejková K., Živná H., Gradošová I., Doubková K., Živný P., Palička V.

P41

Volné mastné kyseliny během clampu u pacientů s diabetem 1. typu

Tichá A., Hyšpler R., Musil F., Lesná J., Zádák Z.

P42

Defect in the neurotransmitter biosynthesis due to novel mutations in the tyrosine hydroxylase gene

Szentiványi K., Hansíková H., Honzík T., Krijt J., Vinšová K., Rozsypalová E., Klement P., Ješina P., Magner M., Zeman J.

P43

Widely targeted metabolomics for diagnosing inherited metabolic disorders

Krätschmerová H., Hron K., Wojtowicz P., Barešová A., Hlídková E., Friedecký D., Horník P., Behulová D., Procházková D., Vinohradská H., Pešková K., Adam T.

P44

Základní parametry koagulace, protein C a volný protein S u novorozenců

Kantor L., Procházka M., Procházková J., Úlehlová J., Dubrava L., Slavík L., Hálek J.

P45

Doporučení České společnosti klinické biochemie pro příjem a odmítnutí vzorků biologických materiálů pacientů klinickými laboratořemi

Bunešová M., Blažková J., Coufal P., Friedecký B., Kapustová M., Kotrbatý J., Malina P.

PL-1

Diagnostika a léčba hypercholesterolémii u dětí a adolescentů

Diagnostic and treatment of hypercholesterolemias in children and adolescents

Hyánek J., Dubská L., Pehal F., Dvořáková J.,
Táborský L., Martiníková V., Privarová J.
*Metabolická ambulance Oddělení klinické biochemie
Nemocnice Na Homolce, Praha*
josef.hyanek@homolka.cz

Cíl: Laboratorně diferencovat a metabolicky diagnostikovat nejčastější dědičné metabolické onemocnění v naší populaci dětí a adolescentů a doložit 20leté zkušenosti s dietní či medikamentózní léčbou.

Pacienti a metody: Naší metabolickou ambulanci prochází ročně skoro 1000 dětských pacientů a jejich rodičů s podezřením na familiární hypercholesterolémii (FH). U 350 dětí byla diagnóza FH potvrzena na základě metabolického či molekulárně-genetického nálezu včetně rodinné anamnézy a vyšetření rodičů či prarodičů. Medikamentózní léčba rizikových pacientů je monitorována kromě lipidového spektra i stanovením cholesterolových prekurzorů, hladinami kritických vitaminů a pohlavních hormonů, měřením tloušťky intimy, růstovou a hmotnostní křivkou atd. Molekulárně-genetické vyšetření je zajišťováno agenturou MedPed Brno. Dietní léčba vedena podle NCEPped (step II) 1992, medikamentózní léčba zajišťována nízkými dávkami statinů v kombinaci s ezetimibem.

Výsledky: Stanovili jsme referenční hodnoty necholesterolových sterolů v dětské i dospělé populaci, aby mohly být využity k monitorování. Předkládáme harmonogram laboratorních vyšetření k odlišení časté alimentární hypercholesterolémie od FH; dokládáme metabolické záznamy skupin pacientů s různými formami FH podle druhu deficitu LDL-receptorů a způsobu léčby. Správný stravovací a pohybový režim je zajištěn v Klubu rodičů a dětí s poruchami lipidů, který 15 let aktivně funguje při ambulanci.

Závěr: Pouze důkladné laboratorní metabolické a molekulárně genetické vyšetření dokáže správně určit FH, která u dětí ještě nemá vyvinuty klinické příznaky jako v dospělosti. Použití cholesterolových prekurzorů pomáhá určit jak dávku statinu, tak vhodnost či škodlivost dietní nízkocholesterolové léčby.

B1-1

Odlišnosti klinické interpretace biochemických nálezů ve stáří

Interpretation of the biochemical parameters in the elderly patients

Zadák Z., Tichá A., Hyšpler R.
*Centrum pro výzkum a vývoj, Fakultní nemocnice
Hradec Králové, Klinika gerontologická a metabolická,
Fakultní nemocnice Hradec Králové*
zadak@fnhk.cz

Stárnutí je komplexní, většinou dlouhodobý proces, při kterém časté biochemické změny vznikají z těchto důvodů:

1. Involuční změny spojené se stářím:
 - úbytek svalstva (5 % svalové hmoty ubývá každou dekádu života),
 - úbytek ledvinového parenchymu,
 - pokles počtu glomerulů a snížení funkční kapacity tubulů,
 - involuce žláz s vnitřní sekrecí (hypotyreóza, hypofunkce nadledvinek, snížení funkce hypofýzy);
2. Malnutrice: ve věku nad 80 let je malnutriční každý jedinec bez ohledu na jeho socioekonomické postavení. Důsledky:
 - snížení plazmatických bílkovin (změna koloidně osmotické rovnováhy a poruchy transportu léků);
 - snížená odolnost k infekcím, imunosuprese, vznik dlouhodobých zánětlivých procesů s humorální odezvou;
 - dysbalance vitaminů.
3. Iatrogenní změny při polymorbiditě: chronický abúzus projímadel a diuretik, z toho vyplývající hypokalemie s následnou hypokalemickou nefrózou.
4. Statinová myopatie se zvýšením CPK (kreatinfosfokináza).
5. Metabolické změny:
 - porucha glukózové tolerance při metabolickém syndromu,
 - metabolický syndrom při relativně zvýšeném příjmu energie ve vztahu k malému fyzickému zatížení,
 - metabolická acidóza při chronické hypoxii (respirační insuficience, chronické kardiální selhání),
 - hypofosforémie při sníženém příjmu potravy s následnou poruchou centrálních nervových funkcí, porucha vazby kyslíku na hemoglobin.

Komplexní metabolické změny v průběhu stárnutí činí organismus velmi zranitelný z hlediska udržování metabolické rovnováhy v organismu. Znalost odlišností reakcí organismu ve stáří umožňuje správnou diagnostickou interpretaci výsledků a současně s tím racionální a šetrnou léčbu.

Práce byla podpořena VZ MZO 00179906.

B1-2

Diagnostika infekce Parvovirem B19 v pediatrii Diagnosis of Parvovirus B19 infection in paediatrics

Pospíšilová D.¹, Ludíková B.¹, Luhový M.²

¹Dětská klinika LF Univerzity Palackého a FN Olomouc;

²Laboratoře Mikrochem, a. s., Olomouc
pospisid@fnol.cz

Parvovirus B19 patří mezi nejmenší DNA viry infikující lidské buňky. Je původcem řady onemocnění: páté nemoci (erythema infectiosum) u dětí, horečnaté infekce s polyartralgii u dospělých, tranzitní aplastické krize (TAC) u pacientů s hemolytickou anémií a neimunitního hydropsu plodu. U imunosuprimovaných pacientů může vyvolat chronickou anémii, vzácně trombocytopenii nebo leukopenii. Byl popsán jako příčina některých případů myokarditidy, hepatitidy, aseptické meningitidy a vaskulitidy.

Pro diagnostiku infekce se používá průkaz protilátek třídy IgG a IgM metodou ELISA. Diagnóza perzistující infekce u imunodeficitních jedinců však vyžaduje molekulárně genetické vyšetření k průkazu DNA viru, protože u těchto pacientů je tvorba protilátek výrazně opožděna, nebo nejsou vytvářeny protilátky žádné, proto jejich negativní nález nevylučuje probíhající infekci. K přímému průkazu DNA viru je možno použít metod hybridizace DNA, které jsou spolehlivé a mohou detekovat klinicky významné titry DNA viru s více než 106 kopiemi genomu/mililitr. Nejcitlivější metodou přímé detekce virové DNA jsou metody amplifikace DNA, hlavně polymerázová řetězová reakce (PCR). Průkaz DNA viru je možno provádět z plné krve, séra nebo kostní dřeně. Pozitivitu nálezů při vyšetření séra je možno očekávat jen při masivní infekci s vysokým stupněm virémie. Vhodnějším materiálem je proto plazma a leukocyty periferní krve. U některých pacientů s nízkým stupněm virémie je možný průkaz pouze z kostní dřeně. PCR techniky jsou schopny prokázat i velmi nízké koncentrace viru u perzistující infekce, jejich nevýhodou je riziko kontaminace s falešně pozitivními výsledky. Přímý průkaz virových partikulí je možný při vyšetření kostní dřeně elektronovou mikroskopií.

Podporováno Výzkumným záměrem
MSM 6198959205.

B1-3

Vybrané parametry metabolismu železa u nezralých novorozenců

Selected parameters of iron metabolism in premature infants

Dubrava L., Kantor L., Hálek J., Pospíšilová D., Houda J.
Novorozenecké oddělení FN Olomouc, Dětská klinika FN Olomouc
dubrava@fnol.cz

Cíl studie: Zhodnotit parametry metabolismu železa ve skupině nedonošených novorozenců s rizikem rozvoje anémie z nezralosti v časném postnatálním období, kteří nebyli léčeni rekombinantním humánním erythropoetinem.

Metody: V letech 2008 a 2009 jsme u 254 dětí narozených mezi 23. – 37. týdnem gestace, které byly hospitalizovány na Jednotce intenzivní péče Novorozeneckého oddělení FN Olomouc, vyšetřovali hodnoty červeného krevního obrazu a parametry metabolismu železa: sérové železo, feritin, celkovou a volnou vazebnou kapacitu železa, solubilní transferinové receptory. Vyšetření jsme prováděli 1., 10., 21. den života a dále každý 21. den až do propuštění domů.

Výsledky: Zjištěné hodnoty jsou dávány do vztahu k porodní hmotnosti, gestačnímu týdnu, postnatálnímu věku a objemu podané transfuze erytrocytů.

Závěr: Zásoby železa u nedonošených novorozenců stoupají v poměru ke gestačnímu věku a porodní hmotnosti. Spodní hranice pro normální hladinu feritinu v plazmě u nezralých dětí není přesně definována. S rostoucím postnatálním věkem hladiny feritinu klesají, ale mohou být opačně ovlivněny podáváním transfuzí erytrocytů. Zhodnocení parametrů metabolismu železa u nedonošeného novorozence je důležité pro načasování zahájení podávání železa a zabránění vyčerpání jeho zásob v souvislosti s rychlou expanzí intravaskulárního objemu.

B1-4

Stanovení secretagoginu a pNFH-1 u zdravých fyziologických novorozenců

Determination of secretagogin and pNFH-1 in healthy physiological newborns

Stejskal D., Švesták M., Kantor L.
Oddělení laboratorní medicíny, Středomoravská nemocniční, a. s.
david.stejskal@nemsne.cz

Úvod: Ke stanovení zralosti a zdravotního stavu novorozence je využíváno řada klinických testů (Apgar-skóre) i laboratorních testů (pH, laktát, S-100 atp.). Především pro odhad zralosti CNS, který může být zatížen chybou, se hledají další ukazatele, které by mohly v budoucnu sloužit jako parametry rozvoje či poškození CNS. Mezi zajímavé ukazatele s potencionálním diagnostickým efektem by mohl patřit pNFH-1 nebo secretagogin. Z to-

hoto pohledu se jeví jako slibný především pNH-H, který se vyskytuje jako abundanční protein ve vysokých koncentracích v axonem a je dobře stanovitelný.

Cíl: Zjistit fyziologické hodnoty pNF-H a secretagoginu u zdravých, fyziologických novorozenců

Metodika: Bylo vyšetřeno 397 novorozenců mužského pohlaví a 386 novorozenců ženského pohlaví. U všech se Apgar-skóre mezi 1.-10. minutou pohybovalo mezi 8–10. Při porodu byl odebrán biologický materiál na stanovení pH a laktátu. Secretagogin a pNH-H byly stanoveny metodou ELISA s uspokojivými diagnostickými charakteristikami.

Výsledky: Jak secretagogin, tak pNH-H vykazovaly normální rozložení dat a nesouvisely s žádným z měřených ukazatelů. Hodnoty pNF-H se mezi mužským a ženským pohlavím nelišily (314,3 vs 272,1 ng/l). Podobně nevykazovaly pohlavní disociace ani hodnoty secretagoginu. Jediné souvislosti, které jsme našli, byly mezi hodnotami Apgar-skóre a pH.

Závěry: Hodnoty secretagoginu i pNF-H vykazují u zdravých fyziologických novorozenců normální rozložení dat a nesouvisí s dalšími stanovenými parametry. Vzhledem k jejich patofyziologickému účinku je možné, že by bylo možno tyto parametry využít ke sledování některých funkcí novorozenců. Tyto údaje budou dále došetřeny a prezentovány ve sdělení.

B2-1

Nástrahy a záludnosti vnitřní kontroly kvality

Wiles and deepness of internal quality control

Jelínek R., Fialová C.

RNDr. Vladimír Komárek, s. r. o., Laboratoř klinické biochemie a hematologie, Brno

roman.jelinek@vladimir-komarek.cz

Autoři se snaží postihnout hlavní problémy s IKK v každodenním laboratorním provozu.

Přednáška si nedává za cíl na otázky odpovídat, ale upozornit na nejasnosti, paradoxy, zamlčené nedostatky kontrolních materiálů, tolerované nesmysly, nevyužívané poznatky, tradované mýty, nechut k sofistikovaným nástrojům.

Témata jsou v rozsahu téměř celé problematiky IKK: statistika, metrologie, stabilita kontrolních materiálů, biologická variabilita, kontinuální kontrolování kvality.

Předmětem bude: zmatená terminologie v metrologii; variační koeficienty u kontrol s nízkou koncentrací analytu; kontraproduktivita stanovení preciznosti z příliš vysokého počtu opakování; vícečetné hodnoty koncentrace jednoho analytu u kontrolního (i kalibračního) materiálu; Westgardova pravidla vs biologická variabilita – analytická vs klinická významnost; podhodnocení TEa u analytů bez návaznosti; nestabilita analytů v kontrolních materiálech – přiznané a nepřiznané výrobcem; kontinuální kontrola kvality pomocí X-B analýzy; diskuse o možnosti automatického uvolňování bezproblémových nálezů pomocí definovaných nástrojů: plausibilita dat, delta-check, kritická difference, kritické hodnoty, sérové indexy.

B2-2

Omezení laboratorních chyb – komunikace za hranicí laboratoře

Reducing errors in a clinical laboratory – communication beyond the lab

Šolcová M., Rajdl D., Petříková V.

Ústav klinické biochemie a hematologie LF UK

a FN Plzeň

solcovam@fnplzen.cz

Studiem laboratorních chyb bylo zjištěno, že nejčastější jsou chyby preanalytické, méně časté chyby postanalytické a nejméně časté chyby analytické. Většina „laboratorních chyb“ vzniká mimo laboratoř. K omezení těchto chyb byly v naší laboratoři vypracovány postupy pro odběr a transport materiálu, základní indikace a interpretace biochemických výsledků, byly provedeny revize referenčních hodnot, zautomatizoval se příjem požadavků na vyšetření (zavedením elektronické žádanky) a online přenos výsledků mezi laboratorním a nemocničním informačním systémem. Snažíme se zautomatizovat kontrolu výsledků – optimálně nastavit kritické hodnoty, trendy, rozpory, výpočty, interpretační komentáře, řešení interferencí a hlášení kritických hodnot. Opakovaně organizujeme edukační semináře a tvoříme e-learningové prezentace pro zdravotní sestry a lékaře. Za nejdůležitější považujeme spolupráci laboratoře a klinického pracoviště, vstřícnou komunikaci, okamžité řešení sporných výsledků a zavedení vyžádaných konzultací.

B2-3

Biochemický laborant – nedílná součást kvality klinické laboratoře

Biochemistry Laboratory Technician – an integral part of quality of clinical laboratory

Kotrbatý J.¹, Blažková J.², Bunešová M.³

¹PLM IKEM, Praha; ²ÚKBD LF UK a FN Hradec

Králové; ³ÚKBP 2. LF a FN Motol, Praha

jiri.kotrbaty@ikem.cz

Zdravotní laborant je součástí řetězce: požadující lékař-zdravotní sestra-zdravotní laborant-VŠ biochemik (analytik, lékař). Podílí se na zajištění kvality všech částí vyšetřovacího procesu – preanalytické, analytické i postanalytické fáze. V rámci preanalytické fáze hodnotí shodu doručeného vzorku s provázející dokumentací, kontroluje kvalitu dodaného vzorku a řeší odchylky. Je nejvíce ve styku s primárním vzorkem a odpovídá za sdělení možných odchylek odpovědnému VŠ. Provádí preanalytickou úpravu vzorku. V analytické fázi provádí vlastní analýzu vzorku, kterou ve spolupráci s analytikem zahajuje po změření a vyhodnocení kontrolních vzorků. V postanalytické fázi se ve spolupráci s lékařem podílí na hodnocení naměřených výsledků a komunikuje v rámci pravomocí s klinickým oddělením. Důsledně uplatňuje pravidlo, že „než špatný výsledek,

radši žádný výsledek“. Kvalifikovaný zdravotní laborant pro práci v biochemické laboratoři je zdravotní laborant registrovaný k výkonu zdravotnického povolání bez odborného dohledu se specializací v odbornosti 801. Udrzuje si svůj odborný pohled, neustále se vzdělává, sleduje aktuální dění v odborné společnosti, seznamuje se s nově vydanými doporučeními odborných společností a má celkový přehled o své činnosti.

B2-4

Geneze diagnostického zdravotnického prostředku in vitro

Genesis of in vitro diagnostic medical device

Šmídl P.
CZEDMA
psmidl@beckman.com

Výrobce diagnostického zdravotnického prostředku in vitro (IVD) označeného ve shodě se Směrnicí 98/79/ES evropskou značkou shody CE musí postupovat ve shodě se Směrnicí 98/79/ES. To znamená dodržet nejen požadavky obsažené přímo v textu Směrnice a jejích příloh, ale rovněž vyhovět nárokům řady harmonizovaných norem, které se ke konkrétnímu IVD vztahují.

Počínaje vstupy pro návrh a vývoj (design input), přes jejich přezkoumání, až po schválení výstupů z návrhu a vývoje (design output) je výrobce povinen neustále dokumentovat shodu s plánem a s platnou legislativou a normami.

Výrobce musí prokázat, že výrobek (IVD) je bezpečný, že dosahuje parametrů požadovaných v návrhu, že tyto parametry byly verifikovány a že je výrobek schopen plnit na něj kladené požadavky, tzn. že je byl návrh validován.

Změny návrhu a vývoje, ke kterým dojde poté, kdy byl výrobek uveden na trh, musí být řízeny, tzn. přezkoumány, dokumentovány a je-li to žádoucí validovány a nakonec schváleny.

B2-5

Kvalita z pohledu vedení zdravotnického zařízení

Quality management in terms of medical facilities

Ludvík M.
FN v Motole, Praha
Miloslav.Ludvik@fnmotol.cz

Do kategorie „Továrny na zdraví“, jak někteří nazývají velká zdravotnická zařízení, lze zařadit i Fakultní nemocnici v Motole (FNM), kde pracuje přes 5000 zaměstnanců, je zde 2410 lůžek a ambulantně je ošetřeno přes 860 tisíc pacientů ročně. Vedení FNM denně řeší otázku udržitelnosti nastavené vysoké kvality léčebné a ošetrovatelské péče. To nelze jinak než ve spolupráci celého týmu lidí.

Oblast péče o zdraví není samospasitelná a nelze pouze vycházet z předpokladu, že práce ve zdravotnictví je posláním. Stav ve zdravotnictví je obrazem

společnosti, ve které funguje (má fungovat). Možno říci, že je zatíženo očekávanou morálkou, morálkou všech účastníků zdravotnického řetězce. Nejen poskytovatele a uživatele, ale i plátce zdravotní péče. Nemalou oblastí velmi ekonomicky náročnou je i laboratorní medicína – laboratorní komplement. Tvrdě prosazovaná protikorupční politika zvolila za jednu z možných úspor elektronické aukce a veřejně prezentuje názor, že hlavní oblastí při výběru je „cena“. Toto je jistě velmi dobrá myšlenka, kdy ovšem neopominutelnou podstatou je kvalitní vypsání technické specifikace. Nelze cenu povýšit nad kvalitu. Kritérium nejnížší ceny, které přišlo do módy cca v r. 2008, není optimální v žádné oblasti lidského počínání a ve zdravotnictví může snadno vést k nepředpokládanému zvýšení rizika péče. Jako jedna z možných cest, vedoucích k úsporám, se ukazuje řádné využívání vnitřních zdrojů zařízení. Tam patří spolupráce mezi odděleními, odbornými společnostmi, smysluplné požadování vyšetření s využitím diferenciální diagnostiky. Co je třeba dělat? Odpoutat se od alibismu, komunikovat, diskutovat. U akreditačních a certifikačních procesů maximálně využít výsledky z auditů. Bez zbytečných předsudků využít metody plánování, udržet ekonomický základ regulovaný zákony trhu. Nezapomínat základní a nejvyšší poslání, kterým je léčit a ošetřovat nemocné v souladu se současnými dostupnými poznatky lékařské vědy.

Středem naší pozornosti by měl být za každých okolností a v každé situaci prospěch nemocných. Poskytujeme spektrum služeb od základní péče až po vysoce specializovanou zdravotní péči nemocným z celé České republiky – od prenatálního období až po období vysokého stáří. V podmínkách ekonomické recese to vskutku není jednoduchý úkol.

B3-1

Myeloperoxidáza (MPO) a kardiální troponin I (cTnI) u nemocných s bolestí na hrudi a podezřením na akutní koronární syndrom

Myeloperoxidase (MPO) and cardiac troponin I (cTnI) in patients with chest pain and suspicion of acute coronary syndrome

Racek J.¹, Brož P.¹, Lhotská J.², Rokyta R.², Trefil L.¹
¹Ústav klinické biochemie a hematologie LF UK; ²I. interní klinika LF UK a FN Plzeň
racek@fnplzen.cz

Cíl studie: MPO je tvořena aktivovanými neutrofily a makrofágy v nestabilním plátu. Cílem studie bylo zhodnotit změny plazmatické MPO a cTnI u osob přijatých s bolestí na hrudi a podezřením na akutní koronární syndrom (ACS).

Metody: Koncentrace MPO a cTnI (Architect 2000, Abbott) byly stanoveny u 57 nemocných s bolestí na hrudi, přijatých na I. interní kliniku FN v Plzni. Krev byla odebrána při přijetí (vzorek A), 6–8 h (B) a 12–16 h po přijetí (C). Hladiny MPO a cTnI byly porovnány u nemocných s dg. IM potvrzenou podle „univerzální definice AIM“ (skupina I, n = 33) a bez IM (skupina II, n = 24).

Výsledky: Pacienti s IM měli vysokou hladinu MPO již při přijetí (vzorek A, medián 1104 pmol/l) a její koncentrace postupně klesala (medián vzorků B a C: 376; 213 pmol/l). Hladiny cTnI měly opačný trend (mediány vzorků A, B, C: 0,70; 4,77; 12,36 µg/l). 20 % pacientů s IM mělo cTnI pod cut-off hodnotou pro IM (0,04 µg/l) ve vzorku A a 33 % mělo cTnI < 0,1 µg/l; jen jeden z nich měl normální hladinu MPO (< 250 pmol/l). Pacienti bez IM měli nižší MPO (mediány vzorků A, B, C: 180; 227; 224 pmol/l) a jejich cTnI stoupal jen mírně (mediány vzorků A, B, C: 0,04; 0,07; 0,08 µg/l). 15 nemocných (62,5%) mělo normální MPO při přijetí a zbylých 9 pacientů mělo MPO > 250 pmol/l; jen u jednoho však MPO přesáhla 400 pmol/l. Koncentrace MPO při přijetí byly významně nižší ve srovnání s nemocnými s IM ($p < 0,001$).

Závěr: Vysoká koncentrace MPO při přijetí může u nemocných s bolestí na hrudi spolu s cTnI s vysokou pravděpodobností identifikovat osoby s IM. Vysoká MPO může sloužit jako časný, i když nespecifický marker ACS.

B3-2

Některé méně obvyklé kardiální markery Some of the less common cardiac markers

Vašatová M.¹, Tichý M.¹, Pudil R.², Horáček J. M.³, Bartošková I.¹

¹Ústav klinické biochemie a diagnostiky, LF UK a FN, Hradec Králové; ²I. interní klinika, LF UK a FN, Hradec Králové; ³Oddělení klinické hematologie, II. interní klinika, LF UK a FN, Hradec Králové
ulrycmar@fnhk.cz

Kardiovaskulární onemocnění jsou celosvětově nejčastější příčinou úmrtí. Pro diagnostiku poškození myokardu existuje v dnešní době široké spektrum biochemických markerů. V první řadě jsou to kardi specifické srdeční troponiny, které jsou preferovány pro průkaz nekrózy myokardu. Dále se v klinické praxi ještě využívá stanovení myoglobinu a CK-MB mass. Přesto v současné době prochází oblast laboratorní medicíny zabývající se kardiálními markery dynamickým vývojem a hledají se nové perspektivní molekuly využitelné pro kardiologickou diagnostiku.

V rámci výzkumných projektů jsme měli možnost vyzkoušet soupravu Cardiac array na imunochemickém biočipovém analyzátoru Evidence Investigator (Randox). Z nových kardiálních markerů jsme sledovali BB izoenzym glykogen fosforylázy (GPBB) a protein vázající volné mastné kyseliny (h-FABP) u různých patologických stavů. Testovány jsou však i další biomarkery, které mají vztah k průběhu různých patologických dějů poškození myokardu od zánětlivých změn cévní stěny (prozánětlivé cytokiny IL-6, TNF- α), přes markery destabilizace koronárního plátu (myeloperoxidázy, adhezní molekuly), markery ruptury sklerotického plátu (CD40 ligand, PIGF, PAPP-A), markery ischemie (IMA, FFA, cholin) a nekrózy kardiomyocytů (GPBB, h-FABP) až po molekuly odrážející funkci myokardu (natriuretické peptidy, adrenomedulin).

Vzhledem k současnému rychlému rozvoji této problematiky je na místě určité shrnutí stávajícího stavu a ohlédnutí se po nových molekulách.

B3-3

Natriuretické peptidy v klinické praxi Natriuretic peptides in a clinical practice

Pudil R.

1. interní klinika LF UK a FN Hradec Králové
pudilradek@yahoo.com

V posledních letech byla zaznamenána expanze poznatků o natriuretických peptidech (NP) a jejich využití v diagnostice a terapii onemocnění kardiovaskulárního systému. Přednáška se soustřeďuje na vlastní zkušenosti s využitím stanovení NP v diferenciální diagnostice prvního kontaktu v podmínkách akutních provozů nemocnic, kde má stanovení NP významný diferenciálnědiagnostický význam u stavů provázených dušností s nejasným klinickým nálezem (diagnostika kardiální a nekardiální dušnosti). Druhou oblastí, ve které je doporučeno stanovení NP, jsou nemocní s plicní embolizací. Stanovení NP pomáhá při indikaci trombolytické terapie. Sdělení připomíná význam stanovení hladin NP u nemocných s akutními koronárními syndromy, u kterých se v případě zvýšení hladiny NP doporučuje časnější provedení revaskularizace. Přednáška se dále věnuje potenciálním možnostem využití stanovení NP v klinické praxi. Mezi tyto indikace patří monitorování efektu terapie srdečního selhání, zejména pak při ambulantním vedení terapie, dále monitorování vzniku kardiotoxicity (antracykliny ale i psychofarmaka), posouzení progresu srdečních vad a jejich indikace k operaci a další.

V závěru je podán souhrn doporučení kardiologických společností, ve kterých je stanovení NP součástí diagnostického algoritmu.

B3-4

Doporučené postupy pro akutní koronární syndrom a tvrdá realita života

Guidelines for acute coronary syndrome and hard reality of life

Brodská H., Benáková H., Janota T., Zima T.
Ústav klinické biochemie a laboratorní diagnostiky, VFN v Praze; III. interní klinika VFN v Praze
Helena.Brodská@vfn.cz

Cíl studie: Ve spolupráci s kardiology Všeobecné fakultní nemocnice (VFN) byly aktualizovány v naší nemocnici indikační postupy pro kardiomarkery při akutním koronárním syndromu (ACS). Současně jsme vyhodnocovali dodržování stávajících indikačních postupů.

Metody: Retrospektivní analýzou za období 6 měsíců jsme hodnotili indikace kardiomarkerů v kontextu stávajícího doporučení u pacientů ze všech lůžkových oddělení v rámci VFN bez ohledu na diagnózu. Stejně

jsme pak postupovali ve skupině pacientů se vstupní diagnózou I20-I25 při hodnocení prvního náběru. Byly hodnoceny tyto vyšetřované parametry: CK, CK-MB, CK-MB mass, troponin I, myoglobin, BNP a jejich kombinace dle doporučení, ale i zcela chybné, nicméně požadované.

Výsledky: V období 11/2010 až 4/2011 bylo indikováno celkem 19 237 náběrů s kardiomarkery. Z toho 15 456 CK, 4098 CK-MB, 1095 CK-MB mass, 2825 myoglobin, 5153 troponin I a 1811 BNP. Ve skupině s diagnózou I20-25 byla u 1336 pacientů v prvním náběru požadována tato vyšetření: CK 1017krát, CK-MB 404krát, CK-MB mass 98krát, troponin I 559krát, myoglobin 113krát a BNP 103krát. Kombinace CK a troponin I 469krát (35,1 %), CK, myoglobin a troponin I 91krát (6,8 %), ale i CK-MB a CK-MB mass 39krát (2,9 %), CK-MB mass a troponin I 95krát (7,1 %).

Závěr: Respektování stávajících doporučení by přinášelo nejen větší diagnostický, ale i ekonomický profit. Z uvedeného vyplývá potřeba větší propagace a praktické užívání těchto postupů, větší komunikace mezi klinikem a laboratoří.

B3-5

Mezilaboratorní srovnatelnost měření troponinů a natriuretických peptidů v programu externího hodnocení kvality

Interlaboratory comparability in measurement of troponins and natriuretic peptides by means of EQA data

Friedecký B., Budina M.
SEKK Pardubice
friedecky@sekk.cz

Výsledky měření troponinů a natriuretických peptidů jsou nesrovnatelné a striktně závislé na použitém systému měření (přístroj, reagentie, kalibrace). Nesrovnatelnost je dána absencí standardizace a ta zase neznalostí přesného složení a struktury analytu. Za těchto podmínek lze dosáhnout srovnatelné úrovně lékařské interpretace výsledků pouze s použitím dobře ustanovených a důsledně aplikovaných hodnot rozhodovacích limitů. Přesnost měření ve skupinách laboratoří používajících identických systémů měření má dosahovat hodnot $CV\% \leq 10$. Hodnoty $CV\% \leq 20$ se považují za klinicky ještě použitelné, vyšší hodnoty $CV\%$ jsou nepoužitelné ke klinické interpretaci. V roce 2010, kdy byl v plném rozmachu proces pronikání ultrasenzitivních metod stanovení troponinů, byly výsledky dosažené v EHK vyhodnoceny podle těchto měřítek. Hodnoty $CV\% \leq 10$ bylo dosaženo u 81 % výsledků cTnI, 75 % výsledků NTproBNP a jen u 25 % výsledků cTnT. Hodnoty rozhodovacích limitů, které laboratoře používají, se pohybovaly v intervalech lišících se o jeden řád. Komentáře supervizorů programů EHK výsledky podrobně rozebraly a ukázaly jak na zdroje chyb, tak i na možnou nápravu. Významná část možnosti zlepšení špatné situace je v rukou pracovníků laboratoří a spočívá zejména ve znalosti a důsledné aplikaci mezinárodních

doporučení. Na používání různých hodnot rozhodovacích limitů se podílí nedobrá kvalita informací některých výrobců v jejich pracovních dokumentacích.

PL-2

Patogeneze, diagnostika a léčba dědičných metabolických poruch

Pathogenesis, diagnosis and treatment of inherited metabolic disorders

Kožich V.

Ústav dědičných metabolických poruch VFN

a 1. LF UK v Praze

viktor.kozich@lf1.cuni.cz

Dědičné metabolické poruchy (DMP) představují nepřesně vymezenou skupinu přibližně 700–800 nozologických jednotek způsobených alelickými variantami se závažným dopadem na funkci genu a příslušného genového produktu. Dysfunkčními genovými produkty jsou typicky enzymy intermediárního metabolismu či jejich aktivátory, dále membránové či intracelulární transportéry metabolitů, podjednotky respiračního řetězce a mnohé jiné. Tyto choroby jsou většinou děděné autozomálně či gonozomálně recesivním způsobem, u některých je však dědičnost mitochondriální s maternálním přenosem. Výskyt DMP v evropských populacích se odhaduje na nejméně 1 : 500 až 1 : 1000 novorozenců, část pacientů se diagnostikuje presymptomaticky celopopulačním novorozeneckým screeningem, větší podíl pacientů se však diagnostikuje speciálními vyšetřeními až po objevení příznaků selektivním screeningem jak v dětském věku, tak i v dospělosti.

Po stránce klinické se tyto nemoci projevují širokým spektrem příznaků s postižením různých orgánů. První příznaky nerozpoznané DMP se mohou projevit v jakémkoliv věku, na jedné straně spektra se manifestují akutní život ohrožující poruchou vnitřního prostředí v raném novorozeneckém období, na straně opačné se mohou projevit až v dospělosti či ve stáří pomalu progredujícím onemocněním nervosvalové soustavy či vnitřních orgánů. Kromě klinických projevů mohou na možnost DMP upozornit i abnormální výsledky celé řady běžných laboratorních vyšetření.

V patogenezi DMP hrají důležitou úlohu dva faktory – vlastnosti metabolitů, jejichž přeměna či transport jsou postižené (tj. malé nebo komplexní molekuly) a dále převažující katabolická či anabolická úloha příslušného enzymového kroku (tj. nemoci z hromadění toxických metabolitů či nemoci z nedostatku produktu). Nemoci malých molekul jsou obvykle způsobeny poruchami metabolismu látek přiváděných exogenně potravou (např. aminokyseliny, sacharidy nebo mastné kyseliny) a zpravidla se manifestují akutně v novorozeneckém období nebo opakovanými atakami v pozdějším věku. Nemoci komplexních molekul jsou naproti tomu způsobované poruchami metabolismu endogenně syntetizovaných makromolekul, mívají chronický progresivní průběh po bezpříznakovém období. U nemocí s převážným postižením katabolické funkce enzymu je v po-

předí patogeneze hromadění metabolitů s různou mírou akutní či chronické toxicity a léčba spočívá především v restrikci přívodu metabolitu v potravě. Naproti tomu nemoci s dysfunkcí v anabolické dráze se obvykle projevují postižením energetického metabolismu a velmi často se manifestují při hladovění.

Léčba je v současnosti účinná u celé řady DMP a vychází ze znalosti patofyziologie nemoci. Klasickým postupem je dietní ovlivnění toku látek postiženou metabolickou dráhou (restrikce vybraných živin v potravě nebo naopak dodávání produktů anabolické reakce), novější postupy ovlivňují i samotnou enzymovou dysfunkci (enzymová náhradní terapie lysosomálních nemocí, stabilizace misfoldingu pomocí chaperonů nebo transplantace orgánů).

B4-1

Screening Downova syndromu v těhotenství

Antenatal screening of Down syndrome

Springer D.

ÚKBLD VFN a 1. LF UK Praha

springer@vfn.cz

Screening Downova syndromu (DS) byl zaveden v 90. letech minulého století a dnes je na území České republiky nabízen všem těhotným. Jedná se o vyšetření dvou, respektive tří biochemických markerů AFP, hCG, respektive uE3 ve druhém trimestru těhotenství. Po roce 2000 se začíná rozšiřovat vyšetřování do prvního trimestru těhotenství, které spojuje vyšetření dvou biochemických markerů PAPP-A a free β podjednotky hCG spolu s ultrazvukovým měřením šijového projasnění plodu – nuchální translucence (NT). Ačkoliv tento nový tzv. kombinovaný test má mnoho nesporných výhod, má omezenou dostupnost pro všechny těhotné kvůli stále nízkému počtu certifikovaných ultrazvukistů, kteří mohou vyšetření NT provádět, a nelze ho tedy považovat za test celopopulační. Zahraniční studie na desítkách tisíc těhotenství ukázaly, že jako nejvýhodnější – jak z hlediska finančního, započítáme-li cenu zbytečně provedených amniocentéz u pozitivních výsledků screeningu, tak z hlediska bezpečnosti (nebezpečí potratu po provedené amniocentéze) i výtěžnosti (počet prenatalně odhalených těhotenství s DS) – lze jednoznačně považovat tzv. integrovaný test. Jde o spojení výsledků z prvního trimestru těhotenství s výsledky z druhého trimestru. I když studie uvažují ve druhém trimestru tzv. quadruple test (AFP, hCG, uE3 a inhibin A) a v naší republice se inhibin A nestanovuje, jde o genetiky preferovanou metodu screeningu. Variantou integrovaného testu je pak sérum integrovaný test, který zahrnuje pouze biochemická vyšetření v obou trimestrech bez provedení UZ. Tento test má podobnou výtěžnost jako samotný kombinovaný test.

V naší republice jsou dnes využívány všechny shora uvedené varianty testování a je snahou odborných společností postupy sjednotit a formou metodického pokynu zavést doporučení pro provádění tohoto screeningu vrozených vývojových vad.

B4-2

Výsledky novorozeneckého screeningu v České republice

Results of the newborn screening program in the Czech Republic

Votava F.¹, Chrastina P.², Kožich V.², Pešková K.², Šťastná S.², Adam T.³, Friedecký D.³, Hlídková E.³, Vinohradská H.⁴, Kračmar P.¹, Dejmek P.¹, Krulišová V.⁵, Holubová A.⁵, Balaščíková M.⁵, Piskáčková T.⁵, Macek M. Jr.⁵, Gaillyová R.⁶, Truellová I.⁷, Švagera Z.⁸

¹Klinika dětí a dorostu, UK 3. LF a FN Královské

Vinohrady, Praha; ²ÚDMP, UK 1. LF a VFN, Praha;

³Laboratoř DMP, OKBI, UP LF a FN, Olomouc;

⁴OKBH, pracoviště Dětská nemocnice, MU LF a FN,

Brno; ⁵Ústav biologie a lékařské genetiky, UK 2. LF

a FN Motol, Praha; ⁶Oddělení lékařské genetiky, MU

LF a FN, Brno; ⁷Odbor zdravotních služeb,

MZ ČR, Praha; ⁸ÚKB, FNsP, Ostrava

votava@fnkv.cz

Úvod: Od roku 1975 jsou celoplošně metodou suché kapky krve (SKK) vyhledávání pacienti s fenylketonurií (PKU); od 1985 s vrozenou hypotyreózou (CH); od 2006 s kongenitální adrenální hyperplazií (CAH) a od X/2009 s cystickou fibrózou (CF), leucinózou (MSUD), glutarovou acidurií typu I (GA I), izovalerovou acidurií (IVA), deficitem dehydrogenázy acyl-CoA se středně dlouhým, 3-hydroxyacyl-CoA s dlouhým a acyl-CoA s velmi dlouhým řetězcem (MCADD, LCHADD a VLCADD), deficitem karnitinpalmitoyltransferázy I a II (CPTD I a II) a deficitem karnitinacylkarnitintranslokázy (CACTD). Předkládáme výsledky novorozeneckého screeningu (NS) za období I/2002 až XII/2010.

Metodika: Na PKU a CH bylo vyšetřeno 961 887 novorozenců; koncentrace fenylalaninu byla měřena bakteriálně inhibiční metodou, enzymoimunoesejí, chromatograficky a od X/2009 tandemovou hmotnostní spektrometrií (MS/MS); koncentrace tyreotropinu pomocí fluoroimunoeseje (FIA). U 535 673 dětí byla změřena koncentrace 17-hydroxyprogesteronu (17OHP) pomocí FIA. U 138 780 dětí byl změřen imunoreaktivní trypsin (IRT) pomocí FIA a u 1485 s vysokým IRT byla provedena analýza CFTR genu v originálních SKK. U 145 404 novorozenců byly analyzovány metabolity pro záchyt dalších 9 dědičných metabolických poruch pomocí MS/MS.

Výsledky: U 120 novorozenců byla diagnostikována PKU (prevalence 1 : 8015); u 248 CH (prevalence 1 : 3878); u 47 CAH (prevalence 1 : 11397); u 27 byla potvrzena CF (prevalence 1 : 5140); u 14 MCADD (prevalence 1 : 10386); po dvou pacientech bylo detekováno s LCHADD a s GA I (prevalence 1 : 72 702) a po jednom s VLCADD a s MSUD (prevalence 1 : 145 404). Kumulativní četnost záchytů narůstala z 1 : 2701 v letech 2002–2005 přes 1 : 2072 v letech 2007–2008 až na 1 : 1085 v roce 2010.

Závěr: NS je účinný nástroj včasné diagnostiky závažných vzácných onemocnění. Další zvyšování jeho efektivity je předmětem výzkumu.

B4-3

Selektivní screening dědičných metabolických poruch

Selective screening for inherited metabolic disorders

Pešková K., Kožich V.

Ústav dědičných metabolických poruch VFN a 1. LF UK v Praze

karolina.peskova@vfn.cz

Systém selektivního screeningu v Ústavu dědičných metabolických poruch VFN a 1. LF UK spočívá ve vyšetření vybraných jedinců na základě jejich klinického stavu, jenž vede k podezření na dědičnou metabolickou poruchu (DMP).

Kromě základních klinických situací o pacientovi mohou k podezření na DMP vést i abnormální výsledky některých běžně dostupných biochemických vyšetření.

Například nález hypoglykémie nalačno nebo při katabolickém stavu může svědčit pro poruchu beta-oxidace mastných kyselin, jaterní glykogenózu nebo poruchu glukoneogeneze, nález hyperamonémie pro poruchu cyklu močovinny či některou organickou acidurii, ponáhlová myoglobinurie pro poruchu beta-oxidace mastných kyselin a nález hypourikémie či hyperurikémie pro poruchu metabolismu purinů.

Laboratorní diagnostika DMP probíhá na několika úrovních, postup je od méně specifických vyšetření k vyšetřením, které diagnózu mohou potvrdit či vyvrátit.

Prvotní je vyšetření profilu metabolitů v tělních tekutinách, výsledky těchto vyšetření obvykle nevedou ke konečné diagnóze, ale zacílí na určitou skupinu onemocnění. Další úroveň vyšetření jsou stanovení enzymových aktivit v buňkách krve či kultivovaných fibroblastech a vyšetření mutací v příslušných genech.

Vyšetření profilu metabolitů je prováděno na různých specifických přístrojích metodami kvalitativními a kvantitativními, používané techniky jsou tandemová hmotnostní spektrometrie, různé druhy chromatografie, spektrofotometrie a jiné. Aktivita enzymů se stanovuje převážně fluorimetricky či fotometricky a ověřování diagnózy probíhá pomocí sekvenování genů.

Tato práce byla podpořena projektem MZOVFN2005 Ministerstva zdravotnictví České republiky.

B4-4

Biochemical genetic testing in Centre of Inherited Metabolic Diseases of University Children's Hospital Bratislava

Biochemické genetické testování v Centru dědičných metabolických poruch v Dětské fakultní nemocnici v Bratislavě

Behúlová D., Holešová D., Šalingová A., Škodová J., Vasilenková A., Šebová C., Perečková J., Syrová D., Ostrožlíková M.

A Centre of Inherited Metabolic Diseases, Department of Laboratory Medicine, University Children's Hospital, Bratislava, Slovakia

The aim of the report is to present results, weaknesses and perspectives of diagnostic Centre of Inherited Metabolic Diseases (IMD). Since 1993 the Centre has been built up gradually as a part of Department of Clinical Biochemistry in the largest Slovak University Children's Hospital Bratislava. At present, the Centre provides biochemical genetic testing including selective screening for IMD as well as lifelong biochemical monitoring of patients with confirmed IMD. Routine and urgent biochemical diagnostics is available in Centre on the level of metabolites: ammonia, lactate, 3-OH-butyrate, uric acid, creatinine, aminoacids, organic acids, carnitine, orotic acid, biotinidase, saccharides, oligosaccharides, mucopolysaccharides and other metabolites. Enzymatic, molecular genetic and partially biochemical genetic testing is carried out in other specialized laboratories in the country and abroad. The qualified staff of the Centre providing also consultations and expertises for the whole Slovakia. The number of examined patients has been growing enormously. There were investigated 30843 patients in the Centre until May 2011. Over this period of 17 years, 315 cases of IMD were detected and/or followed up in the Centre. The most frequent diseases registered were LSDs, aminoacidopathies, organic acidurias, FAO disorders, mitochondrial disorders, UCDs and other IMD. The results of selective screening are not satisfactory. Majority of IMD which are treatable or preventable diseases remain very probably undiagnosed in the country. We are convinced that it is necessary to increase equipment and staff of the Centre.

Lipidomika – úvod do problematiky

Lipidomics – introduction

Pól J., Volný M., Vidová V., Strohmalm M., Novák P., Holopainen J., Havlíček V.

Thermo Fisher Scientific (Praha), s. r. o.;
Mikrobiologický ústav, AV ČR; Eye Clinic,
University of Helsinki Hospital
jaroslav.pol@thermofisher.com

Klíčová role lipidů v buňkách, tkáních a fyziologii orgánů je zřejmá z vysokého počtu genetických studií a lidských onemocnění, která zahrnují poruchy enzymů v metabolismu lipidů a metabolických cest lipidů. Mezi takovými nemocemi je cukrovka, rakovina a také neurodegenerativní a infekční nemoci. V porovnání s rozvinutými obory, jako je genomika a proteomika, je lipidomika ve svých počátcích. Znalosti v oblasti lipidů nebyly s ostatními omickými obory doposud plně korelovány. Nové postupy a instrumentace v analytické chemii – zejména kapalinová chromatografie, MALDI a hmotnostní spektrometrie – výrazně přispěly ke studiu systému lipidů a jejich interakcí s okolím (lipidomika). Tato přednáška podá úvod do lipidomiky, uvede postupy analýzy lipidů a způsoby softwarového vyhodnocení lipidomu. Bude uveden příklad analýzy lipidů v očních čočkách za použití zobrazování hmotnostní spektrometrií. Tato metoda umožňuje identifikaci lipidů a jejich prostorové zobrazení ve tkáňových řezech. Díky této moderní technologii je možné určovat lokální změny ve složení lipidů a korelovat je s histologií dané tkáně.

B5-2

Možnosti proteomických metod v klinické diagnostice

The potential of proteomic methods for clinical diagnostics

Lenčo J., Tambor V., Kacerovský M.
Ústav molekulární patologie, Fakulta vojenského
zdravotnictví Hradec Králové, Univerzita obrany;
Porodnická a gynekologická klinika, Lékařská fakulta
a Fakultní nemocnice Hradec Králové
lenco@pmfhk.cz

Moderní proteomické metody umožňují analyzovat velkou skupinu proteinů, a to bez nutnosti znalosti jejich vztahu ke sledovanému ději. Jejich aplikace do klinického prostředí již v mnoha případech úspěšně vedla k identifikaci nových polypeptidových molekul s diagnostickým potenciálem. Pouhé objevení takových molekul je však jen prvním nezbytným krokem v dlouhé a náročné cestě ke klinicky použitelným markerům. Ačkoliv hledání nových potenciálních markerů je

asi stěžejní aplikací pokročilých proteomických metod v klinickém prostředí, v posledních letech proteomické přístupy začaly promlouvat i do fáze validační a téměř jistě v budoucnu najdou uplatnění i pro rutinní stanovení vybraných polypeptidových molekul v klinické praxi. Přehled proteomických přístupů, které lze využít v různých fázích výzkumu polypeptidových markerů, bude tvořit první část přednášky. Ve druhé části přednášky pak budou představeny výsledky proteomické analýzy plodové vody zaměřené na identifikaci nových potenciálních markerů intraamniální infekce a zánětu. Práce byla podpořena grantem IGA MZ NS/10382-3.

B5-3

Možnosti využití dvojrozměrné plynové chromatografie v analýze lidského metabolomu

Possibilities of two-dimensional gas chromatography usage in human metabolome analysis

Wojtowicz P., Dostálová E., Šťastná V., Zdráhalová M., Friedecký D., Adam T.

Laboratoř dědičných metabolických poruch, Univerzita
Palackého v Olomouci a Fakultní nemocnice Olomouc
petr.wojtowicz@gmail.com

Cíl studie: Plynová chromatografie se v klinické biochemii užívá především pro speciální stanovení, jako je např. profilování organických kyselin v moči nebo séru. Tato metoda ovšem umožňuje, zejména pak ve svém dvojdimenzionálním uspořádání (GCxGC), mnohem ucelenější pohled na vybraný biologický materiál. Cílem práce bylo vyvinout postup pro komplexní analýzu biologického materiálu založenou na metabolomických přístupech v souvislosti s diagnostikou metabolických poruch.

Metody: Analýzy byly provedeny na GCxGC (Agilent 7890) spojeném s průletovým hmotnostním analyzátozem (TOF MS) (LECO Pegasus 4D). Automatické zpracování dat bylo provedeno programem ChromaTOF (LECO) za použití „reference“.

Výsledky: V této studii byla vytvořena tzv. reference metabolitů, obsahující zejména organické kyseliny, aminokyseliny a látky podobné povahy, které byly derivatizovány dvěma postupy – silylací nebo alkylací metylchloroformiátem. Aplikací reference na naměřené vzorky bylo možno automaticky identifikovat a kvantifikovat více než 100 analytů v každém vzorku. Studovanými biologickými matricemi byly moč, plazma a extrakt kultivovaných lidských fibroblastů. Získané výsledky byly zpracovány metodami vícerozměrné statistiky. **Závěr:** GCxGC-TOF je vhodná metoda pro metabolomickou analýzu mnoha biologických maticí a může být také uplatněna v diagnostice metabolických onemocnění. Zpracování dat lze plně automatizovat.

Tato práce byla podpořena granty
 CZ.1.05/2.1.00/01.0030, MSM6198959205
 a LF_2010_013.

Laboratorní metody v diferenciální diagnostice anémii

Laboratory methods in the differential diagnosis of anemia

Čermák J.

Ústav hematologie a krevní transfuze, Praha

cermak@uhkt.cz

Anémie lze dělit podle patofyziologických kritérií na anémie z nedostatečné či porušené tvorby červených krvinek a anémie ze zvýšeného zániku erytrocytů. Podle velikosti krvinky rozeznáváme anémie makrocytární, normocytární či mikrocytární, důležitým kritériem diferenciální diagnostiky je počet retikulocytů, který svědčí o zachovalé krvetvorné schopnosti dřeně a pomáhá odlišit skupinu hemolytických anémií. Důležitým parametrem v diferenciální diagnostice mikrocytárních anémií je vyšetření hladiny Fe a feritinu v séru, které spolu s vyšetřením hladiny cirkulujících transferinových receptorů v séru umožňuje odlišit anémie z nedostatku Fe a anémie při chronickém onemocnění. U heterozygotních forem talasémie je nápadná výrazná hypochromie a makrocytóza při normálním počtu erytrocytů a normálních zásobách Fe. V diferenciální diagnostice makrocytárních anémií se při odlišení tzv. megaloblastových anémií uplatňuje vyšetření sternální punkce, hladiny vitamínu B₁₂ a kyseliny listové v séru. Vyšetření kostní dřeně je nutné i u normocytárních anémií daných buď primární poruchou krvetvorné buňky (aplastická anémie, MDS, PNH), či sekundární poruchou kostní dřeně (infiltrace nádory krvetvorby či metastázami solidních nádorů). Pro hemolytické anémie je kromě zvýšeného počtu retikulocytů typický i nález zvýšené hladiny přímého i nepřímého bilirubinu. U tzv. korpuskulárních hemolytických anémií je příčina v defektu membrány krvinky či v poruše enzymatických systému krvinky. Skupina tzv. hemoglobinopatií je dána poruchou syntézy globinu, krom talasemií sem řadíme např. i srpkovitou anémii, v diagnostice se uplatňuje elfo hemoglobinu, eventuálně molekulárně genetické vyšetření. Příčinou extrakorpulární hemolýzy je nejčastěji tvorba protilátek proti erytrocytům, tzv. hemolyticko-uremický syndrom je dán mechanickým poškozením krve při afekcích zužujících průsvit cévy.

B6-2**Diagnostika vrozených anémií u dětí**

Diagnosis of congenital anaemias in children

Pospíšilová D.

Dětská klinika LF Univerzity Palackého a Fakultní nemocnice Olomouc

pospid@fnol.cz

Dětský věk je charakterizován rychlým růstem organismu jako celku a postupnou diferenciací tkání a orgánů. Anémie může negativně významně ovlivnit růst a vývoj, vzácně může ohrozit i život dítěte.

Při diagnostice anémií u dětí je nezbytné respektovat fyziologické hodnoty krevního obrazu pro příslušnou věkovou kategorii, které jsou pro různá věková období odlišné. K nejvýraznějším změnám dochází hlavně v průběhu prvního roku života. Znalost dynamiky změn během období růstu a vývoje je nezbytná ke správné interpretaci výsledků. Úkolem dětského hematologa je především diagnostika vrozených anémií, které se většinou manifestují již v dětském věku.

Při nálezů mikrocytární anémie u dětí je nejprve nutné odlišit nejčastější typ anémie: anémii z nedostatku železa, jejíž diagnostika obvykle nečiní potíže. Při atypických nálezech je však nutno vyloučit jiné vrozené mikrocytární anémie: talasémie, vrozené poruchy proteinů účastnících se regulace transportu Fe (např. DMT1 protein a TMRSS1) a vrozenou sideroblastickou anémii. Úskalí diagnostiky těchto anémií je uvedeno na konkrétních příkladech.

Při nálezů makrocytární anémie je nutno pomýšlet vedle vzácné anémie z nedostatku vitamínu B₁₂ na vrozené syndromy selhání kostní dřeně, jako je Diamondova-Blackfanova nebo Fanconiho anémie. Převahu normocytárních anémií tvoří vrozené hemolytické anémie. Vedle – v našich podmínkách nejčastější hereditární sférocytózy – je nutno odlišit i poruchy erytrocytárních enzymů, mikroangiopatické hemolytické anémie, srpkovitou anémii, případně jiné vzácné hemolytické anémie.

Všechna speciální vyšetření je třeba velmi racionálně zvážit, neboť jsou často finančně i technicky náročná a při neuvážené indikaci zbytečně zatěžují dětského pacienta. Přesné zařazení a určení příčiny anémie je zásadní pro volbu správného léčebného postupu. Podporováno Výzkumným záměrem MSM 6198959205 a grantem IGA MZ NT 11059.

B6-3**Deficit mědi spojený s anémií u sedmiměsíčního dítěte – kazuistika**

Cooper deficiency associated with anaemia by seven months-old child – case report

Dastych M.¹, Štarha J.²*Oddělení klinické biochemie, FN Brno; Pediatrická**klinika FN Brno*

mdast@fnbrno.cz

Po proběhlé gastroenteritidě ve dvou měsících života dítěte následovalo pětiměsíční období neprospívání s postupným rozvojem anémie. I přes dostatečný příjem různě modifikované mléčné stravy se stav nelepšil.

Při přijetí do nemocnice byly zjištěny laboratorní známky mikrocytární hypochromní anémie (Hb 85,0 g/l, hematokrit 0,28; Ery 4,28 x 10⁹/l), na RTG zjištěny rachitické změny, pohárkovitě rozšířené metafýzy s rozvlákněním kostní struktury a rozsáhlé periostální apozice. Aktivita alkalické fosfatázy (ALP) v séru 22,0 µkat/l.

Přes substituci železa a normalizaci jeho sérové hladiny přetrvával nález mikrocytární hypochromní anémie. Neměnil se ani RTG nález a aktivita ALP při podávání Calciferolu.

Při vyšetření stopových prvků byly zjištěny výrazně snížené hodnoty mědi v séru (0,8 µmol/l), v moči (0,08 µmol/24 hod) a ceruloplazminu v séru (0,01 g/l).

Po substituci 200 µg Cu²⁺ denně perorálně ve formě CuSO₄ došlo po třech týdnech k úpravě krevního obrazu a ke známým úpravě kostních změn na RTG snímku s poklesem aktivity ALP na hodnotu 7,2 µkat/l. Hodnota mědi i ceruloplazminu v séru se rovněž vrátila do referenčních mezí.

B7-1

Detekce oligoklonálních IgG pásů: srovnání komerčně dostupné imunofixační metody s „home-made“ metodou s afinitním imunoblottingem a posouzení shody mezi dvěma hodnotícími

Detection of oligoclonal IgG bands: comparison between commercially available immunofixation method and home-made affinity immunoblotting method and evaluation of interobserver agreement

Nováčková L., Zeman D.

Ústav klinické biochemie, Fakultní nemocnice Ostrava
david.zeman@fno.cz

Cíl studie: Porovnání dvou různých metod detekce oligoklonálních IgG pásů v likvoru a séru izoelektrickou fokusací: komerčně dostupné (Sebia) metody s imunofixací (IF) a „home-made“ metody na přístroji Multiphor II s afinitním imunoblottingem (AIB). Posouzení shody výsledků mezi dvěma hodnotícími.

Metody: 114 konsekutivních párových vzorků likvorů a sér bylo vyšetřeno oběma metodami. Výsledky byly srovnávány pomocí koeficientu kappa.

Výsledky: Pokud jde o přítomnost intratekální syntézy oligoklonálního IgG, byla shoda mezi metodami i mezi hodnotícími velmi dobrá (kappa 0,870–1,000, 0 až 5 rozdílně klasifikovaných nálezů). Shoda v typu nálezu podle mezinárodní klasifikace (typ 1–5) byla již slabší: kappa 0,389–0,596 mezi metodami, 0,791 (IF) a 0,478 (AIB) mezi hodnotícími. Shoda v počtu IgG pásů v likvoru nepřítomných v séru byla jen mírná (kappa 0,413–0,519) a shoda v počtu pásů v likvoru a počtu pásů v séru ještě slabší.

Závěr: Přítomnost intratekální syntézy oligoklonálního IgG detekovaly obě metody rovnocenně a rovněž shoda mezi hodnotícími byla výborná. Při použití IF metody bylo dosaženo lepší shody mezi hodnotícími, pokud jde o zařazení nálezu do typu 1–5 podle mezinárodní klasifikace než u AIB metody. Poměrně špatná reprodukovatelnost hodnocení počtu pásů v likvoru a séru by měla být známa klinickým lékařům, protože skýtá nebezpečí zavádějících interpretací.

Projekt byl spolufinancován z rozpočtu Moravskoslezského kraje v rámci dotačního programu „Podpora vědy a výzkumu v Moravskoslezském kraji 2010“.

B7-2

Postižení centrálního nervového systému a vyšetření likvoru u novorozenců

Central nervous system lesions and cerebrospinal fluid examination in newborns

Dort J.¹, Ženková J.², Dortová E.¹, Petříková V.², Matas M.¹

¹Neonatologické oddělení FN v Plzni; ²Ústav klinické biochemie a hematologie, Fakultní nemocnice v Plzni
dortj@fnplzen.cz

Cílem přehledové přednášky je prezentovat základní demografická data o nedonošených novorozencích, podat přehled časně neonatální morbidit postihující centrální nervový systém (CNS) novorozenců, a poukázat na možnosti a význam vyšetření mozkomíšního moku. Podíl nedonošených dětí s porodní hmotností pod 2500 g v posledních 15 letech stále stoupá. Jsou ohrožené závažnou mozkovou morbiditou s rizikem dlouhodobých poruch psychomotorického vývoje. Jedná se o mozková krvácení a periventrikulární leukomalacie, perinatální encefalopatii, infekce CNS prenatální i postnatální a vrozené vývojové vady mozku a míchy. V pátrání po etiologii mozkové léze konkrétního pacienta zaujímá významné místo vyšetření mozkomíšního moku. Vyšetření likvoru může rozhodujícím způsobem přispět ke stanovení diagnózy. Jsou prováděna vyšetření základních biochemických parametrů a cytologických parametrů. Nedílnou součástí u všech vyšetřovaných likvorů neonatologických pacientů se stalo zhotovení trvalého preparátu po cytocentrifugaci likvoru, která umožňuje využít k vyšetření i minimální objemy likvoru (řádově 0,1 ml). K obarvení preparátu se kromě základního barvení podle Pappenheima používá ještě speciální barvení na průkaz lipidů. Preparát umožňuje odlišit jednak skutečné krvácení od arteficiální příměsi krve a dále určit i jeho stáří. **Závěr:** Postižení CNS představuje často vážné ohrožení zdraví i života novorozence s rizikem dlouhodobého postižení. Včasná diagnóza získaná pomocí vyšetření moku, je předpokladem úspěšné léčby a snížení uvedených rizik.

B7-3

Praktické zkušenosti s laboratorní diagnostikou Alzheimerovy nemoci pomocí tau proteinu, fosfo-tau proteinu a beta-amyloidu v likvoru

Practical experience with laboratory diagnosis of Alzheimer's disease using tau protein, phospho-tau protein, and beta-amyloid in cerebrospinal fluid

Koudelková M.

Laboratoř pro likvorologii a neuroimunologii – Topelex, s. r. o., Areál ÚVN, Praha
martina.koudelkova@volny.cz

Cíl: Souhrnná informace o podstatě biomarkerů tzv. likvorového tripletu u Alzheimerovy nemoci, dále je podrobněji vysvětlen princip a metodika vyšetření likvoru, včetně zhodnocení vlastní skupiny pacientů, srovnání se zahraničními studiemi.

Metody: INNOTEST hTau Ag protilátky AT120, HT7 a BT2, INNOTEST PHOSTHO-Tau 181P Ag protilátky HT7, AT270bio a INNOTEST β -AMYLOID(1-42) protilátky 21F12,3D6 firmy INNOGENETICS (ELISA).

Výsledky: Z 41 pacientů s uvedenou diagnózou demence přesvědčivě splňuje 3 nebo 2 parametry NINCDS-ADRDA kritérií (The National Institute of Neurologic, Communicative Disorders and Stroke – Alzheimer's Disease and Related Disorders Association) 21 pacientů. U 6 pacientů je pouze snížena koncentrace A β 42. Dále u 4 pacientů byla nalezena zvýšená koncentrace fosfo-tau proteinu, konkrétně fosfo-tau 181, který je vysoce specifický pro Alzheimerovu nemoc.

Závěr: Při současném vyšetření tripletu u Alzheimerovy nemoci se zvýší senzitivita na 85–94 % a specifita na 83–100 %. Velký profit z vyšetření biomarkerů je možno očekávat pro pacienty s minimálním kognitivním deficitem, kteří jsou ve vyšším riziku rozvoje Alzheimerovy nemoci.

B7-4

Vyšetření likvoru u pacientů s mozkovou kryptokokózou – kazuistiky pacientů

Examination of cerebrospinal fluid in patients with cerebral cryptococcosis – case reports

Čermáková Z., Gottwaldová J., Dastych M.
Oddělení klinické biochemie FN Brno, Katedra laboratorních metod LF MU Brno
zcermak@fnbrno.cz

Cíl: Prezentace kazuistik pacientů, u kterých byla diagnostikována kryptokoková meningitida. Kryptokoková meningitida je závažné onemocnění, které postihuje nejčastěji pacienty s poruchou imunity.

Kazustika 1: 43letý muž byl přijat pro podezření na neuroinfekci. Při mikroskopickém vyšetření likvoru byla zjištěna mírná mononukleární pleiocytóza s masivním nálezem atypických kulatobuněčných útvarů. Podezření na přítomnost kvasinky *Cryptococcus neoformans* bylo patrné z vyšetření trvalého cytologického preparátu. Latexová aglutinace na průkaz kapsulárního antigenu kryptokoka a kultivace na Sabouradově agaru potvrdila etiologické agens. Následovalo vyšetření protilátek proti HIV, které bylo rovněž pozitivní, byl prokázán buněčný imunodeficit. Neodkladně zahájená léčba byla bohužel neúspěšná. Dvanáctý den od přijetí do nemocnice pacient zemřel. V sekčním materiálu byl kultivačně prokázán *Cryptococcus neoformans* v mozku a v plicní tkáni.

Kazustika 2: 58letý muž byl rehospitalizován po přeléčené serózní meningoencefalitidě, kdy se etiologické agens nepodařilo prokázat. Z mikroskopického vyšet-

ření kontrolní lumbální punkce vzniklo podezření na přítomnost kryptokoka, které bylo opět potvrzeno kultivací a průkazem antigenu. Další provedená vyšetření neobjasnila příčinu rozvoje těžké kryptokové infekce. Nebyl zjištěn imunodeficit ani tumorózní onemocnění. Po třech měsících intenzivní terapie byl pacient propuštěn do domácího ošetřování s trvalými následky onemocnění.

Závěr: U obou pacientů vedlo k diagnóze důsledné mikroskopické vyšetření mozkomíšního moku. Diagnóza byla potvrzena průkazem antigenu a kultivací. Imunodeficit se potvrdil u pacienta, který onemocnění nepřežil.

B7-5

Automatická morfologická analýza buněk v mozkomíšním moku pomocí digitální mikroskopie na analyzátoru CellaVision DM 96

Automated morphological analysis of cells in cerebrospinal fluid by the digital microscopy system CellaVision DM 96

Ženková J., Bršlicová K., Ševčíková J., Štambachová A.

Ústav klinické biochemie a hematologie FN a LF UK
Plzeň
zenkova@fnplzen.cz

Cíl studie: Posoudit možnost automaticky diferencovat pomocí digitální mikroskopie buněčné elementy v mozkomíšním moku i z hlediska vlivu preanalytické fáze.

Metody: V současné době je zpracováno 153 vzorků mozkomíšního moku na analyzátoru CellaVision DM 96 firmy Sysmex. Cytologické preparáty jsou připravovány pomocí cytocentrifugační techniky, barveny základním barvením, část preparátů speciálním barvením k průkazu lipidů.

Výsledky: Do hodnocení cytologických preparátů jsou zahrnuty vlivy preanalytické fáze: byla zjištěna průměrná výtěžnost použité cytocentrifugace 61 %, maximální počet elementů vhodný ke klasifikaci na DM 96 je 250 000 buněk na plochu terče cytopsinu, důležitý je použitý protokol barvení. Pro elementy myeloidní, lymfocytární a monocytární řady bylo provedeno porovnání výsledků mezi automatickou klasifikací softwarem CellaVision a následnou manuální korekcí klasifikace laboratorním pracovníkem. Pro uvedené elementy byly změřeny variační koeficienty za podmínek opakovatelnosti. Testování v současnosti ještě probíhá, statistické výsledky budou doplněny.

Závěr: Přínosem digitální morfologie je automatizace, standardizace, urychlení zpracování cytologických preparátů, zvýšení úrovně archivace (ukládání snímků do databáze), možnost propojení jednotlivých systémů CellaVision a konzultací odborníků i na mezinárodní úrovni. Přes nesporné výhody, které přináší digitální morfologie, zůstává část cytologických preparátů mozkomíšního moku (např. vzorky s příměsí erytrocytů), u které upřednostňujeme hodnocení optickým mikroskopem.

Indikace a interpretace laboratorních testů

Indication and interpretation of laboratory test results

Šálek T.

*Oddělení klinické biochemie, Krajská nemocnice
T. Bati, a. s., Zlín
tsalek@seznam.cz*

Cíl: Práce shrnuje hlavní chyby v indikaci testů a hlavní činitele ovlivňující interpretaci laboratorních testů.

Metody: Rozbor vychází z jednotlivých fází laboratorního testu: indikace testu, preanalytická fáze, analytická fáze, interpretace testu a převedení výsledku v lékařskou akci.

Výsledky: Jsou dvě hlavní chyby v indikaci testů: lékař indikuje neadekvátní test a nadbytečné ordinování testů. Interpretaci testu ovlivňuje biologická variabilita, preanalytická variabilita, analytická variabilita – dnes především bias, diagnostická efektivita testu a v neposlední řadě pacient samotný – jeho nemoci a terapie.

Závěr: U každého testu je nutné znát všechny jeho silné a slabé stránky, což je nezbytné pro bezpečnost pacienta.

B8-2

Role (mladého) lékaře v oboru klinická biochemie – možnosti a limitace

The role of a (young) physician in the field of clinical biochemistry – capacities and limitations

Cibiček N.¹, Palička V.², Soška V.³

*¹Oddělení klinické biochemie, Nemocnice Hranice, a. s.; ²Ústav klinické biochemie a diagnostiky, LF a FN Hradec Králové; ³Oddělení klinické biochemie, FN u sv. Anny v Brně
cibicek@seznam.cz*

Přednáška přehledně shrnuje historii, současnost a vizi role lékaře v oboru klinická biochemie z pohledu mladého lékaře. Vychází ze současné české koncepce oboru, individuálních zkušeností (vlastních, neoficiálních i publikovaných) a statistických dat (ÚZIS) se pokouší identifikovat hlavní faktory a posoudit jejich vliv na možnosti a limitace lékařské profese v klinické biochemii. V diskusi kladou autoři důraz na problematiku pre- i postgraduálního vzdělávání a klinických kompetencí lékařů-biochemiků. Součástí přednášky je srovnání (některých dat) se situací v SRN.

Těžká akutní pankreatitida a její laboratorní monitorování

Laboratory monitoring of severe acute pancreatitis

Malina P.¹, Cejp V.², Jabor A.³

*¹Oddělení klinické biochemie; ²Chirurgické oddělení, Nemocnice Písek, a. s.; ³Pracoviště laboratorních metod, IKEM
malina@nemopisek.cz*

Těžká akutní pankreatitida (TAP) je akutním zánětem exokrinního pankreatu s lokální komplikací nebo orgánovým selháním. Mortalita TAP se pohybuje od 10–20 % (u sterilní nekrózy, SN) po 20–85 % (u nekrózy infikované, IN).

Cíl studie: Sdělení pojednává o možnostech laboratorní diagnostiky při predikci tíže akutní pankreatitidy a rozlišení SN a IN. Průkaz infikované nekrózy je klinicky velmi důležitý, často však obtížný, a proto jsou stále hledány nové laboratorní markery. Infekce pankreatické nekrózy zhoršuje prognózu pacientů s těžkou akutní pankreatitidou a ztrojnásobuje mortalitu. Na druhou stranu profylaktické použití antibiotik pro prevenci infekce pankreatické nekrózy zůstává kontroverzní pro závažné nežádoucí účinky širokospektrých antibiotik, jako jsou mykotické infekce, pseudomembranózní kolitida a selekce multirezistentních bakterií.

Metody: Provedli jsme retrospektivní sběr dat u 59 pacientů s těžkou akutní pankreatitidou. Statistické vyhodnocení bylo provedeno pomocí Fisherova testu a chí-kvadrát testu.

Výsledky: Data prokázala při analýze hodnot 2 dny před potvrzením infekce nekrózy schopnost IL-6 diskriminovat při cut-off 150 ng/l sterilní a infikovanou nekrózu se senzitivitou 90% a specificitou 85%. Tento cut-off je použitelný od 5. dne hospitalizace, kdy dojde k poklesu původních vysokých hodnot IL-6. Podle literárních údajů je přesným parametrem pro diskriminaci sterilní a infikované pankreatické nekrózy procalcitonin (cut-off 1,2 µg/l).

Závěr: Rozlišení sterilní a infikované pankreatitidy je podle našeho názoru možné za pomoci interleukinu-6. Podle literárních dat má schopnost rozlišit SN a IN i procalcitonin.

B8-4

Kazuistika – případ extrémní metabolické alkalózy

Case report – extreme metabolic alkalosis

Kosová H.

*OKB Nemocnice Valašské Meziříčí, a. s.
helena.kosova@valmez.cz*

Cíl studie: Kazuistika dokumentující využití způsobu hodnocení poruch acidobazické rovnováhy podle modelu elektroneutality plazmy podle Stewarta a Fencla v praxi.

Metody: Model elektroneutality plazmy vychází při hodnocení poruch acidobazické rovnováhy z nezávislých proměnných: parciálního tlaku oxidu uhličitého (respirační složka) a koncentrací, respektive nábojů kationtů a aniontů plazmy (metabolická složka). Tím má širší a výhodnější uplatnění než klasický model pracující se závislými proměnnými pH, base excess a koncentrací bikarbonátu. V principech modelu elektroneutality plazmy je následně podrobněji popsán mechanismus vzniku, klinický obraz, kompenzační reakce organismu a kauzální terapie u metabolické alkalózy jako příkladu poruchy acidobazické rovnováhy.

Výsledky: Na příkladu reálné kazuistiky extrémní metabolické alkalózy při úporném zvracení je proveden rozbor poruchy acidobazické rovnováhy. Na základě hodnocení nálezů klinickým biochemikem v rámci konzilia byla upravena léčba pacienta.

Závěr: Uvedená kazuistika potvrzuje výhody použití modelu elektroneutality plazmy v hodnocení poruch acidobazické rovnováhy v podmínkách běžné klinické praxe.

Testy TOKS (FOBT) třetí generace a screening kolorektálního karcinomu

Three generation FOBT tests and colorectal cancer screening

Kocna P.

Ústav klinické biochemie a laboratorní diagnostiky 1.

LF UK a VFN Praha

kocna@lf1.cuni.cz

Detekce okultního krvácení je v klinické praxi indikována především jako screeningová metoda záchytu kolorektálních nádorů. První generace testů byla před

40 lety založena na chemickém principu, pseudoperoxidázové reakci hemu, druhá generace imunochemických testů byla před 15–20 lety postavena na specifické reakci proteinu – globinu s monoklonální protilátkou.

Třetí generace FOBT testů je kvantitativní analýzou, latexovou, aglutinační reakci s mnohanásobným monoklonálním antigenem k proteinu lidského hemoglobinu. Analyzátoři OC-Sensor kombinují kvantitativní analýzu s kvantitativním odběrem vzorku stolice. Kvantitativní analýza umožňuje definovat optimální cut-off hodnotu. ROC křivky prokazují specifitu pro kolorektální karcinom 89% a senzitivitu 90% při cut-off hodnotě 75 ng Hb/ml.

V letech 2008–2009 byla tato nová varianta imunochemických testů ověřována v mnoha evropských zemích – National Cancer Screening Service Board Ireland, Centre for Evidence-based Purchasing of the NHS – UK a The Health Council of the Netherlands. Metoda kvantitativní iFOBT je doporučena v „European guidelines for quality assurance in colorectal cancer screening and diagnosis“.

V České republice proběhla v roce 2008 pilotní studie ve VFN a FTN Praha, která ověřila spolehlivost testu OC-Sensor na souboru 813 kolonoskopovaných pacientů a stanovila optimální cut-off hodnotu na 75 ng Hb/ml. Od března 2009 je test OC-Sensor rutinním vyšetřovacím testem okultního krvácení ve VFN Praha a automatické analyzátoři OC-Sensor Mikro japonské firmy Eiken byly již instalovány v 15 nemocnicích v České republice.

Rada pro screening kolorektálního karcinomu ČGS v prosinci 2010 odsouhlasila a doporučuje používání kvantitativního iFOBT pro screening KRCA v České republice.

P1

Poškození DNA a koncentrace homocysteinu ve spermiích

DNA damage and homocysteine concentration in sperm

Matejovičová M., Králíková M., Melounová J., Žáková J., Črha I.

Biochemický ústav, Lékařská fakulta; Centrum asistované reprodukce, Gynekologicko-porodnická klinika Masarykovy univerzity Brno
matejovic@med.muni.cz

Cíl studie: Zjistit korelaci mezi koncentrací homocysteinu (Hcy) a poškozením DNA spermií pacientů Centra asistované reprodukce.

Metody: Ke sledování poškození DNA byla použita alkalicko-neutrální modifikace metody kometové analýzy. Úroveň poškození je vyjádřena jako procento DNA v ohonu komety po lýze, alkalické denaturaci a neutrální elektroforéze jader spermií imobilizovaných v agarózovém gelu. Koncentrace Hcy byla stanovována v seminální plazmě a intracelulárně ve spermiích metodou vysokoúčinné kapalinové chromatografie s fluorescenční detekcí. Seminální plazma se připravovala odstředěním ejakulátu při 2790g. Pro lýzu spermií byl použit postup suspendování sedimentu maximálně 10 milionů spermií v 50 µl 80% metanolu, hodinová inkubace a 5násobné zmrazení a rozmrazení v ultrazvukové lázni. Po odstředění byla v supernatantu stanovena intracelulární koncentrace Hcy. Pro stanovení korelací mezi naměřenými koncentracemi Hcy, poškozením DNA a parametry spermiogramu byla provedena regresní analýza.

Výsledky: U 30 pacientů, 9 s normálním a 21 s patologickým spermiogramem, byly stanoveny koncentrace Hcy a poškození DNA. Poškození se pohybovalo v rozmezí 57–87 % DNA v ohonu komety (medián 78,5 %). Nebyl nalezen statisticky významný rozdíl v poškození DNA mezi skupinou normospermiků a pacientů s patologií (průměrné poškození 72,8 oproti 78,3 %). Koncentrace Hcy ve spermiích se pohybovaly v rozmezí 76–528 nmol/milion spermií (medián 166,5 nmol), v seminální plazmě byly naměřeny koncentrace 0,5 až 9,3 µmol/l (medián 1,5 µmol/l).

Závěr: Regresní analýza nevyjevila významnou závislost poškození DNA na koncentraci Hcy ve spermiích ani v seminální plazmě.

Grant IGA NS/9661-4.

P2

Izoelektrická fokusace apolipoproteinu C-III jako screeningová metoda poruch O-glykosylace

Apolipoprotein C-III isofocusing as a screening method for O-glycosylation defects

Ondrušková N., Hansíková H., Horová E., Honzík T., Zeman J.

Laboratoř pro studium mitochondriálních poruch, KDDL, 1. LF UK a VFN v Praze
ondruskova.nina@gmail.com

Úvod: Dědičné poruchy glykosylace (CDG) jsou rozsáhlá skupina závažných metabolických onemocnění, způsobených deficitem proteinů glykosylační dráhy. Zatímco k detekci poruch N-glykosylace se standardně využívá isoelektrická fokusace (IEF) transferinu, jako marker porušené biosyntézy O-glykanů byl vybrán sérový apolipoprotein C-III (ApoC-III). ApoC-III je mucinový O-glykoprotein, který v terminální poloze připojeného glykanu může obsahovat dva zbytky kyseliny sialové a podle jejich množství rozlišujeme di-, mono- a asialoformu. Podezření na poruchu O-glykosylace lze vyslovit v případě detekce zvýšeného podílu nízkosialovaných forem ApoC-III.

Cílem studie bylo zavést metodu IEF ApoC-III a stanovit referenční rozmezí relativního zastoupení sialovaných izoform ApoC-III v séru za účelem využití při hodnocení profilů pacientů s podezřením na poruchu O-glykosylace.

Materiál a metody: Kontrolní soubor tvořilo 100 vzorků sér od zdravých jedinců mužského (n = 54) a ženského (n = 46) pohlaví ve věku 2–42 let. Vzorky byly analyzovány pomocí IEF, Western blotu a imunodetekce. Kvantifikace získaných profilů ApoC-III byla provedena pomocí programu Quantity One (Bio-Rad).

Výsledky: Byly stanoveny referenční intervaly pro relativní zastoupení sialovaných forem ApoC-III v séru: di- (41,9 ± 10,0 %), mono- (53,4 ± 9,5 %) a asialoApoC-III (4,7 ± 2,3 %). V intervalu 2–10 let byla nalezena pozitivní korelace zastoupení asialoApoC-III s věkem.

Závěr: Nově zavedená metoda IEF ApoC-III poslouží při screeningu poruch O-glykosylace proteinů u pacientů s podezřením na CDG syndrom.

Podporováno GAČR 305/08/H037, IGA MZ NT 12166 a SVV 262502.

Expres biliverdinreduktázy A a efekt antivirové terapie u chronické hepatitidy C

Biliverdin reductase a gene expression and response to antiviral therapy in chronic Hepatitis C

Subhanová I., Muchová L., Leníček M., Vítek L., Zima T., Urbánek P.

Ústav klinické biochemie a laboratorní diagnostiky VFN a 1. LF UK Praha; Interní klinika ÚVN a 1. LF UK Praha
iva.subhanova@seznam.cz

Cíl studie: Stanovení exprese biliverdinreduktázy A (B-VRA) v játrech a mononukleárech periferní krve (PBMC) u chronické infekce virem hepatitidy C (HCV) v souvislosti s efektem standardní antivirové terapie.

Metodika: PBMC byly izolovány z krve 55 kontrol a 47 nově diagnostikovaných pacientů s HCV infekcí v týdnu 0 ($n = 47$), 12 ($n = 47$), 24 ($n = 23$) a 36 ($n = 17$) od zahájení standardní antivirové terapie pegylovaným interferonem a ribavirinem. Vzorky jaterní tkáně byly analyzovány u 30 pacientů s chronickou hepatitidou C a u 8 kontrol s minimálními histopatologickými změnami. U 31 pacientů bylo po standardní antivirové léčbě dosaženo setrvalé virologické odpovědi (SVR), 13 bylo rezistentních, 3 dosáhli virologické odpovědi na konci léčby s následným relapsem. HCV RNA a mRNA BVRA v jaterní tkáni a PBMC byla určena pomocí Real-Time RT-PCR.

Výsledky: HCV infikovaní pacienti vykazovali ve srovnání s kontrolami významně zvýšenou expresi BVRA v jaterní tkáni ($0,25 \pm 0,15$ vs $0,16 \pm 0,06$, $p = 0,03$) i v PBMC před zahájením léčby ($1,65 \pm 0,67$ vs $1,28 \pm 0,36$, $p = 0,001$). Skupina pacientů se SVR vykazovala významně zvýšenou expresi BVRA v PBMC ve srovnání s pacienty neodpovídajícími na terapii v týdnu 0 ($p = 0,006$), 12 ($p = 0,03$) a 36 ($p = 0,004$). Expres BVRA v jaterní tkáni korelovala s expresí BVRA v PBMC ($p = 0,03$).

Závěr: HCV infikovaní pacienti mají významně zvýšenou expresi BVRA v jaterní tkáni, která koreluje s expresí v PBMC. Zjištěné rozdíly v PBMC mezi respondéry a non-respondéry před zahájením terapie i v jejím průběhu by mohly přispět k zpřesnění predikce výsledku léčby.

Studie byla podpořena grantem IGA MZ ČR NR 9412-3.

Deficit YME1L proteinu vede k mitochondriální dysfunkci

Loss of YME1L protein leads to mitochondrial dysfunction

Wenchich L., Stibůrek L., Česneková J., Fornůsková D., Zeman J.

Klinika dětského a dorostového lékařství, 1. LF UK v Praze a VFN v Praze
laszlo.wenchich@vfn.cz

Two ATP-dependent proteolytic complexes, the m- and i-AAA protease, were identified in the inner membrane of mitochondria. It was shown, that mutations in paraplegin, which is one of the two subunits of the m-AAA protease, cause hereditary spastic paraplegia. Fibroblasts from patients with hereditary spastic paraplegia exhibit complex I deficiency and increased sensitivity to oxidative stress. The aim of this work was to study the effect of knockdown of YME1L, the subunit of the i-AAA protease, on the mitochondrial energy metabolism. Methods Blue Native PAGE and SDS PAGE combined with Western blotting were used for the characterization of the amount and subunit composition of the respiratory chain complexes. For the evaluation of the function of the OXPHOS complexes we applied high resolution respirometry. Electrophoretic analysis had demonstrated increased steady-state level of NDUFB6 subunit in YME1L knockdown cells, however the amount of the fully assembled respiratory chain complexes was not altered. The polarographic analyses had exhibited diminished rotenone-sensitive respiration in YME1L knockdown cells. Finally, increased carbonylation of mitochondrial proteins in YME1L knockdown mitochondria was observed upon hydrogen peroxide treatment. Our results suggest that not only decreased biosynthesis but also affected proteolysis of the mitochondrial proteins may cause impaired mitochondrial functions.

This work was supported by grants GACR P305/10/P414 and 1M6837805002.

Kongenitální cytomegalovirová infekce – kazuistika

Congenital cytomegalovirus infection – case report

Roubalová L., Novotný D., Bartková M., Zrníková L., Dubrava L.

OKB, Fakultní nemocnice Olomouc; Novorozenecké oddělení, Fakultní nemocnice Olomouc
lucie.roubalova@fnol.cz

Cíl studie: Cytomegalovirus (CMV) je nejběžnějším původcem kongenitální infekce postihující 0,5–2 % novorozenců. Většina novorozenců je asymptomatických, přesto se u 15 % z těchto novorozenců vyvinou poruchy sluchu. U symptomatických novorozenců je infek-

ce příčinou postižení mozku, poruch sluchu a vysoké úmrtnosti. Optimální řešení léčby těchto pacientů zatím neexistuje a je individuální pro každý případ. Cílem této kazuistiky je popsat záchyt, průběh onemocnění a monitorování léčby předčasně narozeného novorozence s kongenitální CMV infekcí.

Metody: Hladina virémie byla stanovena metodou Real time PCR na analyzátoru Light Cycler 2.0 firmy Roche. Protilátky ve třídách IgG, IgM byly stanoveny metodou ELISA.

Výsledky: Během těhotenství byly u matky prokázány protilátky proti CMV ve třídě IgM s možností přenosu infekce na plod. Matka nebyla v těhotenství léčena. Pacient se narodil předčasně. 2. den po narození byla u něj prokázána virémie CMV jak v periferní krvi 2,1 x E3 kop/ml, tak i v moči 4,38 x E3 kop/ml. Následně byly opakovaně prokázány nárůsty virémie v krvi, v moči i v likvoru. Maximální virémie byla naměřena 24. den po narození, a to v moči 57 000 x E3 kop/ml. Následně došlo k poklesu až k postupnému vymizení měřitelné virémie. Poslední záchyt byl naměřen 30. den po narození v periferní krvi.

Závěr: Popsali jsme jeden z možných průběhů kongenitální CMV infekce. Přestože pacient nebyl po celou dobu léčen gancyklovirem či jiným antivirotem, došlo u něj k spontánnímu poklesu virémie. V současné době je pacient v péči infekčního oddělení. Součástí kazuistiky je i pohled pediatra na možnosti, přínos nebo naopak možné následky léčby u tohoto pacienta.

P6

Problematika všeobecného vyšetřování poruch štítné žlázy v těhotenství – výsledky dvouletého pilotního projektu

Problems of universal thyroid-dysfunction screening in pregnancy – results of 2 years project

Springer D., Límanová Z., Zima T.

Ústav klinické biochemie a laboratorní diagnostiky

VFN a 1. LF UK Praha;

3. interní klinika VFN a 1. LF UK Praha

springer@vfn.cz

Úvod: Tyroidální dysfunkce v těhotenství je známou příčinou mírných i významných problémů v těhotenství, stejně jako má spojitost s problematickým výsledkem těhotenství, zvláště s ohledem na správný vývoj plodu nebo dítěte. Vzhledem k výsledkům dřívějších studií, které potvrdily poměrně vysoký výskyt tyreopatií v naší republice, byl připraven pilotní projekt vyšetřování štítné žlázy v těhotenství ve spojení se screeningem vrozených vývojových vad v I. trimestru ve 13 regionech ČR. Projekt probíhal za podpory VZP v letech 2009–2010 s tím, že ve druhém roce projektu se účastnily jen 4 vybrané laboratoře.

Metodika: Vyšetření štítné žlázy (TSH, FT4 and TPO-Ab) bylo prováděno mezi 9. a 11. týdnem těhotenství,

přičemž všechny ženy podepisovaly informovaný souhlas s tímto vyšetřením.

Výsledky: Vyšetřeno bylo celkem 2 877 asymptomatických žen v 1. trimestru těhotenství. Celkem 197 (6,8 %) vyšetřených žen mělo TSH vyšší než laboratorní používaný referenční interval. Hladina FT4 nižší než 11,5 pmol/l byla nalezena u 96 žen (3,3 %). TPO-Ab byly pozitivní u 9 % vyšetřovaných žen.

Závěr: Tento projekt potvrdil užitečnost všeobecného vyšetřování poruch štítné žlázy v těhotenství. Celkový záchyt pozitivit byl 556/2877. Základním požadavkem takového vyšetřování zůstává požadavek stanovení specifických referenčních intervalů v těhotenství, zvláště pro TSH. Spolupráce s oslovenými endokrinology byla všeobecně velmi dobrá, největší problémy byly ve spolupráci s některými gynekology, kteří neinformovali své těhotné klientky dostatečně.

P7

Změny v metabolismu železa u pacientů po transplantaci ledviny

Variation in iron metabolism in patients after kidney transplantation

Sedláčková T., Racek J., Teplan V., Viklický O., Štěpánková J., Štollová M.

*Ústav klinické biochemie a hematologie LF UK a FN v Plzni; Klinika nefrologie IKEM Praha
sedlackovat@fnplzen.cz*

Východisko: Lidé s terminálním onemocněním ledviny velmi často trpí tzv. anémií z chronického renálního selhání, která je způsobena tím, že železo v jejich organismu nemůže být využito pro tvorbu červených krvinek, protože zůstává vlivem regulačních mechanismů uzamčeno uvnitř buňky.

Cíl: Zjistit, jak se mění jednotlivé parametry metabolismu železa po transplantaci ledviny.

Metodika: Do studie bylo zařazeno 71 pacientů, kteří prodělali transplantaci ledviny. Byly u nich stanoveny jednotlivé parametry železa (železo, transferrin, ferritin, solubilní transferrinové receptory, hepcidin) v den transplantace, 1 den po transplantaci, týden, 14 dní, 3 měsíce, eventuálně 6 měsíců po transplantaci.

Výsledky: Po transplantaci ledviny došlo k pozvolnému nárůstu koncentrace železa a poklesu koncentrace ferritinu a hepcidinu. U solubilních transferrinových receptorů a transferrinu došlo k postupnému nárůstu jejich koncentrace.

Závěr: U pacientů po transplantaci ledviny došlo k postupné úpravě v metabolismu železa, která byla daná zejména funkcí samotného štěpu a snížením závažného stavu, což umožnilo lepší využitelnost železa pro erytropézu.

Porovnání vlivu cyklosporinu A a tacrolimu na markery oxidačního stresu po transplantaci ledviny

Comparison of influence of cyclosporin A and tacrolimus on oxidative stress markers after kidney transplantation

Kajabová M., Zadražil J., Štrebl P., Horák P., Vostálová J., Galandáková A., Schneiderka P. Oddělení klinické biochemie a imunogenetiky FN Olomouc; III. interní klinika FN a LF UP Olomouc; Ústav lékařské chemie a biochemie, LF UP Olomouc marketa.kajabova@fnol.cz

Cíl: Cílem práce bylo sledovat oxidované lipoproteiny s nízkou hustotou (OxLDL), produkty pokročilé oxidace proteinů (AOPP) a celkový antioxidační status (TAS) u pacientů po transplantaci ledviny (TL), a posoudit vliv imunosupresivní terapie na úroveň rozvoje oxidačního stresu.

Metody: Do studie byli zařazeni pacienti po transplantaci kadaverózní ledviny. 29 pacientů užívalo cyklosporin A (skupina A), 24 pacientů tacrolimus (skupina B). Stanovení AOPP v séru bylo založeno na spektrofotometrické metodě podle Witko-Sarsat. Oxidované LDL v plazmě byly stanoveny ELISA soupravou firmy Mercodia a TAS v séru soupravou firmy Randox. Odběry krve pro vyšetření byly provedeny před TL (-1) a 1., 7., 30., 90., 180. a 360. den po TL.

Výsledky: Během ročního sledování ve skupině A se změnila hodnota oxLDL z $69,2 \pm 32,9$ na $65,1 \pm 17,1$ U/l ($p = 0,665$), zatímco AOPP se snížily z $233,0 \pm 159,6$ na $156,5 \pm 90,1$ $\mu\text{mol/l}$ ($p = 0,025$) a TAS z $1,87 \pm 0,31$ na $1,68 \pm 0,20$ mmol/l ($p = 0,030$). Ve skupině B se hodnoty oxLDL změnila z $62,9 \pm 29,7$ na $61,4 \pm 14,6$ U/l ($p = 0,168$), AOPP se snížily z $180,5 \pm 90,0$ na $123,9 \pm 37,7$ $\mu\text{mol/l}$ ($p = 0,019$). Hladiny TAS ve skupině B se snížily z $1,87 \pm 0,51$ na $1,68 \pm 0,20$ mmol/l ($p = 0,168$).

Závěr: Pozorovali jsme signifikantní pokles AOPP v průběhu 12 měsíců po TL v porovnání s hladinou AOPP před TL. Pacienti s cyklosporinem (skupina A) a tacrolimem (skupina B) se statisticky významně neliší v hodnotách parametrů OxLDL, AOPP a TAS 180. den a 360. den po TL.

Poděkování: Studie byla podpořena grantem IGA MZ ČR č. NS/9964-4.

Těhotenský protein (PAPP-A) jako nezávislý prediktor mortality chronicky hemodialyzovaných nemocných

Pregnancy-associated plasma protein A (PAPP-A) as an independent mortality predictor in long-term hemodialysis patients

Kalousová M., Benáková H., Kuběna A. A., Dusilová-Sulková S., Tesař V., Zima T. ÚKB LD a Klinika nefrologie 1. LF UK a VFN Praha; IKEM Praha marta.kalousova@seznam.cz

Cíl studie: Těhotenský protein (pregnancy-associated plasma protein A, PAPP-A) je biomarkerem cévního poškození. Cílem práce bylo studovat vztah PAPP-A a s ním souvisejících látek k prognóze chronicky hemodialyzovaných nemocných (HD).

Metodika: Jedná se o prospektivní observační kohortovou studii, do které bylo zařazeno 261 chronicky hemodialyzovaných nemocných sledovaných po dobu 5 let a 66 zdravých kontrol. PAPP-A, PIGF (placentální růstový faktor), matrix metalloproteinázy 2 a 9 (MMP-2, MMP-9), IGF-1 (insulinu-podobný růstový faktor 1), IGFBP-4 (vazebný protein 4 pro insulinu-podobný růstový faktor), kardiomarkery a zánětlivé a nutriční parametry byly změřeny na začátku studie a testovány jako prediktory mortality.

Výsledky: PAPP-A, PIGF, IGF-1, IGFBP-4 a MMP-2 jsou u HD nemocných významně zvýšeny ve srovnání s kontrolami (PAPP-A $27,6 \pm 15,5$ mIU/L u HD vs $9,4 \pm 2,5$ mIU/L u kontrol, $p < 0,001$). Zvýšený PAPP-A se v multivariální Coxově regresi ukázal jako nezávislý prediktor celkové mortality a mortality z důvodu infekce (HR (95% CI): 1,237 (1,060–1,444), $p = 0,007$ a 1,416 (1,115–1,798), $p = 0,004$, na standardní odchylku), ale neměl vztah ke kardiovaskulární mortalitě.

Závěr: Zvýšený PAPP-A je u chronicky hemodialyzovaných nemocných signifikantní nezávislý prediktor celkové mortality a mortality z důvodu infekce, ale v naší studii neměl vztah ke kardiovaskulární mortalitě.

Poděkování: Práce byla podpořena grantem IGA MZ ČR NS/10043-4/2008 a výzkumným záměrem MSM0021620807.

Zaměnitelnost reagentů a její vliv na nejistotu stanovení koagulačního faktoru XI

Impact of reagent compatibility on coagulation factor XI measurement uncertainty

Mareček F., Hrachovinová I., Novotná H. Ústav hematologie a krevní transfuze, Praha Frantisek.Marecek@uhkt.cz

Cíl studie: Stanovení koagulačního faktoru XI (FXI) má význam pro potvrzení hemofilie C. Cílem pokusu bylo určit analytické parametry a korelaci výsledků diagnos-

tických systémů (A) a (B), které se lišily použitou FXI-deficitní plazmou (FXI-DP).

Metody: Při koagulačním stanovení se používá FXI-DP. Oba diagnostické systémy byly testovány analýzou referenčních materiálů (RM). Korelace výsledků byla zjišťována u 34 patientských vzorků (2–132 % normálu FXI).

Výsledky: Stanovení RM bylo opakovaně vychýleno od deklarované hodnoty. Vychýlení s FXI-DP A bylo přibližně 2krát větší než vychýlení s FXI-DP B. Směrodatná odchylka i variační koeficient výsledků byl s FXI-DP A až 2krát větší než s FXI-DP B. U FXI-DP B závisí variační koeficient i vychýlení na ředění RM. Hodnoty patientských vzorků jsou při použití FXI-DP A systematicky nižší než při použití FXI-DP B. Korelační koeficient všech patientských vzorků je 0,92, u vzorků s aktivitou FXI pod 70 % normálu (potenciální patologie) je koeficient korelace 0,78. U vzorků s aktivitou FXI nad 70 % normálu je korelační koeficient 0,99.

Závěr: Zkoušené FXI-DP ovlivňují vychýlení (systematická chyba měření) i směrodatnou odchylku výsledků (náhodná chyba). Důsledkem je zvýšení nejistoty měření. Testované systémy mají také špatnou korelaci patientských vzorků, zejména v klinicky důležitém rozmezí aktivit FXI. Oba výrobci FXI-DP deklarují použití imunodeplece. Technologické zásahy do nativní plazmy mohou vysvětlovat rozdílné interakce FXI-DP plazmy se složkami analytického systému a vzorku (výskyt matricového efektu). Výsledky vzniklé za použití diagnostických prostředků různého původu (složení) nejsou apriori srovnatelné bez provedení validační studie.

P11

Vztahy mezi clearancí kreatininu a cystatinu C

Relationships between clearance of the creatinine and cystatine C

Novák M., Rozsypálek V., Frkalová Z., Neshyba P.
*Oddělení klinické biochemie,
Kroměřížská nemocnice a.s.
pavel.neshyba@nem-km.cz*

Cíl studie: Srovnání clearance kreatininu (Cl_{Kr}) a cystatinu C (CIC). Posouzení vhodnosti CIC k odhadu glomerulární filtrace (GF).

Metody: V metabolické ambulanci OKB bylo vyšetřeno 101 pacientů, a to za přesně dodržovaných a přísně kontrolovaných podmínek. V následné analytické fázi byly použity diagnostické soupravy a analytická technika ROCHE. Clearance kreatininu byla vyhodnocena klasickým postupem, clearance cystatinu C pomocí výpočtu deklarovaného výrobcem.

Výsledky: Mezi oběma markery GF byl prokázán jistý statisticky významný vztah:

$Y(CIC) = 1,042 \times X(Cl_{Kr}) - 0,111$ $r = 0,4116$ $p < 0,05$.

Závěr: Toto je druhá fáze našich aktivit směřujících k posouzení možnosti kvantifikovat GF na podkladě znalosti CIC. A tudíž možností nahradit tímto vyšetřením klasic-

ké vyšetření CL_{Kr}, v rutinní klinické praxi osvědčenou míru GF. Tím spíše, že prelaboratorní fáze Cl_{Kr} je často zatížena značnými chybami plynoucími z nedostatečné spolupráce jak pacientů, tak personálu klinických oddělení. V první, analytické fázi byly vyhodnoceny málo uspokojivé vztahy mezi sérovými koncentracemi kreatininu a cystatinu C stanovenými dvěma, v tuzemsku etablovanými metodami (literatura u autorů). V této následné klinické fázi byly vyšetřovány clearance obou sloučenin u pacientů, u nichž byly prelaboratorní chyby spolehlivě minimalizovány. Ukázalo se, že korelační vztah clearancí obou sloučenin je příliš volný, a to do té míry, že pro klinické potřeby nelze na základě znalosti CIC spolehlivě kvantifikovat GF.

P12

CEVA – nová generace vzdělávání

CEVA – new generation of education

Rajdl D., Klečková M., Trbušek J., Racek J., Pikner R.
*Ústav klinické biochemie a hematologie FN Plzeň
a LF UK v Plzni; Centrum Edukace a Výzkumu Abbott
(<http://ceva-edu.cz>); Oddělení klinických laboratoří,
Klatovská nemocnice, a. s.
rajdl@fnplzen.cz*

Postgraduální kontinuální vzdělávání je povinností každého lékaře, analytika a laboranta. Elektronické vzdělávání (e-learning) nabízí moderní a efektivní cestu, jak pravidelně získávat odborné informace. CEVA (Centrum Edukace a Výzkumu Abbott) je internetová aplikace dostupná z <http://ceva-edu.cz>, která poskytuje kvalitní zdroj pravidelně aktualizovaných odborných informací z oblasti laboratorní medicíny. Jde o společný projekt Lékařské fakulty Univerzity Karlovy v Plzni, Klatovské nemocnice, a. s., a firmy Abbott Laboratories, s. r. o., Česká republika. Portál je zdarma přístupný všem zájemcům o klinické laboratorní výsledky – jejich indikaci, metody stanovení a interpretaci. Svě posluchače proto CEVA nachází jak v odbornících z klinických laboratoří (analytici, kliničtí biochemici, laboranti), tak i v lékařích mnoha dalších oborů (praktičtí lékaři, internisté, onkologové ...). Každý týden je uživatelům k dispozici nový příspěvek, tzv. Novinka. Jde o krátké sdělení, které uživatelům nabízí novinky z literatury, komentář k doporučením odborných společností, příklady z klinické praxe (kazuistiky), záznam přednášky z kongresu. apod. Jedinečnou součástí portálu CEVA jsou i odborná diskusní fóra, kde uživatelé pokládají svoje dotazy a konzultanti z CEVA (nebo i ostatní uživatelé) odpovídají a diskutují. V portálu najdete různé druhy studijních materiálů – od klasických hypertextů přes ozvučené prezentace až po interaktivní testy. Mezi služby uživatelům patří i pravidelně aktualizovaný kalendář odborných akcí. Na podzim roku 2011 plánujeme zveřejnění prvních e-learningových kurzů s přidělenými kredity celoživotního vzdělávání pro lékaře i nelékařské zdravotnické pracovníky.

Systém kompletní automatizace sběru a zpracování dat vnitřní kontroly kvality

Fully automated system for internal quality control data collection and management

Stančík L., Paclt M.

Oddělení klinické biochemie, Nemocnice Valašské Meziříčí a. s.; MP Program – Ing. Miroslav Paclt
lubor.stancik@valmez.cz

Optimální systém vnitřní kontroly kvality v klinické laboratoři by měl při provádění rutinních operací, pokud možno, co nejméně zatěžovat kvalifikovaný laboratorní personál. Za pomoci middleware pro převod formátu dat vnitřní kontroly kvality LISu INFOLAB byl vytvořen ucelený systém, který zajišťuje sběr dat vnitřní kontroly kvality z laboratorních analyzátorů, konverzi dat do formátu Bio-Rad (Bio-Rad point format) a následný přenos do programu Unity Real Time. Veškerý převod dat se děje čistě elektronickou formou, riziko chyby dané ručním přepisem hodnot bylo zcela eliminováno. Vhodnou modifikací komunikačních rozhraní laboratorních analyzátorů byl zabezpečen elektronický přenos výsledků vnitřní kontroly kvality i u takových přístrojů, které standardně touto funkcí nedisponují. Díky plné implementaci Bio-Rad kódování přenosu kvalitativních a semikvantitativních dat je realizován korektní přenos také u údajů, které se v Unity Real Time jinak zadávají ručně volbou z menu (proužkové metody). Kromě zpracování v Unity Real Time je možno získaná data díky kompatibilitě formátu zpracovat také v programu KuDu QC Validator, který obsahuje komplexní aparát pro management dat vnitřní kontroly kvality a rovněž nástroje pro tvorbu validačních a verifikačních protokolů.

P14

Závažné klinické projevy deficitu vitamínu B₁₂ u plně kojeného dítěte veganky

Severe clinical manifestation of cyanocobalamin deficiency in full breastfed child of veganic mother

Bekárek V., Ševčíková J., Kittlová L., Ťoukálková L., Adam T.

Lab. DMP OKB FN Olomouc; DO KNTB Zlín
bekarek@gmail.com

Popisujeme kazuistiku a monitorování léčby pacienta s deficitem B₁₂ a metilmalonovou acidurií. Čtrnáctiměsíční chlapec, třetí dítě matky veganky, byl na popud sociální pracovnice přijat na Dětském oddělení Krajské nemocnice Tomáše Bati ve Zlíně. Při přijetí bylo dítě silně podvyživené (hmotnost jen 4 800 g), dystrofické a jeho psychomotorický vývoj byl těžce opožděn (asi na 4. měsíc věku). V počátku hospitalizace matka z důvodů přesvědčení odmítala pro dítě jinou stravu než kojení a kozí mléko a rovněž většinu vyšetření, včetně neinvazivních. Pro nespolečnou práci a kladení překážek v péči o dítě a na základě zuboženého stavu dítěte

soud vydal předběžné opatření a chlapec byl svěřen do péče dětského oddělení. Byl odeslán vzorek moči do laboratoře DMP v Olomouci, kde byla prokázána významná patologie v organických kyselinách v moči. Metodou GCMS byla zjištěna metilmalonová acidurie, přičemž byla významně zvýšena i exkrece metylcitrátu, 3-hydroxy-propionátu a 3-hydroxyvalerátu, propionyl-glycin nebyl nalezen. Další vyšetření prokázala především těžký nedostatek vitamínu B₁₂, a CT CNS pak bohužel nezvratně prokázalo očekávanou atrofii mozku. Dítě bylo substituováno vitamínem B₁₂, živeno Nutrilonem, zaváděny zeleninové příkrmy, matka odmítala maso, ale s podáváním žlutku souhlasila, dále byly podávány obilné kaše, ovoce. Efekt stravy a substituce B₁₂ vitamínu byl okamžitý, dítě pravidelně přibývalo na hmotnosti, zklidnilo se, začalo jevit zájem o okolí a rehabilitovalo. Chlapec během 6 týdnů pobytu na oddělení přibral skoro 2 kg. Nicméně psychomotorický vývoj pokračoval velmi pomalu. Rovněž nález v organických kyselinách v moči se upravil již po 6 dnech substituce vitamínem B₁₂.

P15

Stanovení kyseliny lipoové v lidské plazmě metodou vysokoúčinné kapalinové chromatografie s elektrochemickou detekcí

The determination of lipoic acid in human plasma using high-performance liquid chromatography method with electrochemical detection

Bencová S., Žáková P., Ventura K.

Katedra biologických a biochemických věd a Katedra analytické chemie, FCHT, Univerzita Pardubice
bencova.sona@seznam.cz

Cílem této studie je pokusit se vypracovat jednoduchou a účinnou metodu pro stanovení kyseliny lipoové v lidské plazmě pomocí vysokoúčinné kapalinové chromatografie (HPLC) s elektrochemickou detekcí na principu coulometrie.

Kyselina lipoová je dithiolová sloučenina, která se používá v klinické medicíně a experimentálních modelech jako významný antioxidant. Zachovává si své anti-oxidační vlastnosti v obou jejích formách, oxidované i redukované.

Pro toto stanovení byla použita chromatografická kolona s obrácenými fázemi LiChroCart® 254-4, Purospher® (RP-C 18,5 µm) a mobilní fáze se skládala z 65 % 20 mmol/l NaH₂PO₄ a 35 % acetonitrilu (pH 2,7).

Suplementační koncentrace kyseliny lipoové v lidské plazmě je v rozmezí 50 nmol/l až 50 µmol/l. Kalibrační přímka byla lineární v rozsahu 500–20 000 nmol/l.

Podařilo se nám vypracovat metodu, která je použitelná k analýze endogenních koncentrací i koncentrací po suplementaci celkové volné kyseliny lipoové a metodu pro stanovení její oxidované formy v exogenních koncentracích po suplementaci. V současné době pracujeme na metodě použitelné pro simultánní stanovení oxidované a redukované formy kyseliny lipoové.

Tato práce byla podpořena grantem SG FChT07/2011.

Genetický polymorfismus D1853N v genu ATM u radiosenzitivních osob s cervikálním karcinomem v porovnání se zdravou českou populací

Genetic polymorphism D1853N in the ATM gene in radiosensitive patients with cervical carcinoma in comparison with healthy Czech population

Beránek M., Drastíková M., Petera J.¹, Brokešová S.¹, Sirák I., Vošmik M.

Ústav klinické biochemie a diagnostiky LF a FN Hradec Králové, Onkologická klinika LF a FN Hradec Králové
beranek@lfhk.cuni.cz

Chemoradioterapie cervikálního karcinomu je u části pacientek doprovázena nežádoucími účinky vůči dávám použité radioterapie. Cílem této studie bylo určit frekvenci genotypů a alel v polymorfním místě 5557G>A (D1853N) genu ATM u hypersenzitivních pacientek a porovnat dosažené výsledky se zdravou českou populací. DNA z periferní krve (Qiagen) byla získána s informovaným souhlasem od 38 pacientek (FIGO stage IIB-IIIb; medián věku 54 roků, rozsah 33–71 roků) a 101 dobrovolníků (26 mužů a 75 žen, medián věku 24 roků, rozsah 20–62 roků). Genetická analýza byla provedena pomocí PCR/RFLP metody. V souboru pacientek bylo nalezeno 30 wild-type homozygotů (78,9 %), 7 heterozygotů (18,4 %) a jedna homozygotní osoba s kombinací alel 5557A/5557A (2,6 %). Frekvence wild-type alely (5557G) byla 88% a frekvence alely 5557A byla 12%. V souboru zdravých osob jsme našli 74 zdravých homozygotů (73,2 %), 25 heterozygotů (24,8 %) a dva homozygoty 5557A/5557A (2,0 %). Frekvence wild-type alely v tomto souboru byla 86% a alely 5557A 14%. Naše studie nepotvrdila vyšší výskyt alely 5557A v genu ATM jako rizikový faktor pro radiosenzitivitu u osob s cervikálním karcinomem. Studie byla finančně podpořena grantem IGA MZ NT11334-4/2010.

P17

Význam matrixových metaloproteináz na hojení ran po operaci vrozeného rozštěpu rtu

Role of matrix metalloproteinases in wound healing after cleft lip surgery

Bláha K., Borský J., Průša R., Štekláčová A., Otoupalová E., Matějová R., Pechová M., Kotaška K., Dostálová T.

Ústav klinické biochemie a patobiochemie, 2. LF UK v Praze a FN v Motole, Praha; Klinika plastické chirurgie, FN Královské Vinohrady, Praha; Dětská stomatologická klinika, 2. LF UK Praha
blaha.karel@fnmotol.cz

Cíl studie: Cílem studie bylo porovnat koncentrace matrixových metaloproteináz (MMP) a tkáňových inhibitorů

matrixových metaloproteináz (TIMP) ve vzorcích tkáně odstraněných při operaci rozštěpu rtu v závislosti na době operace.

Metody: MMP a TIMP byly stanoveny u 48 vzorků (29 chlapců a 19 dívek). 28 dětí bylo operováno během sedmi dnů po narození a 20 dětí bylo operováno podle klasického protokolu ve 2.–4. měsíci. Vzorky tkáně byly extrahovány v kakodylátovém pufru po dobu 24 hodin. V extraktech byly stanoveny koncentrace celkové bílkoviny Lowryho metodou a změřeny koncentrace MMP a TIMP metodou ELISA (GE Healthcare). Koncentrace MMP a TIMP-1 byly vztaženy na koncentraci celkové bílkoviny ve vzorcích.

Výsledky: Výsledky jsou uvedeny jako průměr ± směrodatná odchylka. MMP-1: $0,017 \pm 0,023$ µg/g bílkoviny a $0,028 \pm 0,026$ µg/g bílkoviny. MMP-3: $0,200 \pm 0,142$ µg/g bílkoviny a $0,155 \pm 0,093$ µg/g bílkoviny. Výsledky MMP-9 u všech pacientů: $0,219 \pm 0,160$ µg/g bílkoviny (celkové MMP-9) a $0,007 \pm 0,038$ µg/g bílkoviny (aktivní MMP-9). TIMP-1 u všech pacientů: $0,073 \pm 0,138$ mg/g bílkoviny.

Závěr: Nebyly pozorovány signifikantní rozdíly v koncentracích MMP-1 a MMP-3 vzhledem k časnosti operace. Výsledky MMP-9 a TIMP-1 hodnocené u všech pacientů bez rozlišení časnosti operace také nevykazují signifikantní rozdíly.

Práce vznikla za podpory grantu IGA MZČR č. 10012-4.

P18

Výskyt mutací C282Y, H63D a S65C v genu HFE v české populaci a v souboru pacientů se suspektní diagnózou vrozená hemochromatóza

Incidence of C282Y, H63D and S65C in the HFE gene in the Czech population and in patients with suspicious diagnosis of hereditary hemochromatosis

Drastíková M., Beránek M., Hegerová J., Putzová D., Červinková B.

Ústav klinické biochemie a diagnostiky LF a FN Hradec Králové
beranek@lfhk.cuni.cz

Primární hemochromatóza je dědičné autozomálně recesivní onemocnění charakterizované zvýšenou absorpcí železa ve střevě s jeho následným ukládáním v parenchymových buňkách tkání a orgánů. Hemochromatóza má souvislost s bodovými mutacemi v HFE genu (lokalizace 6p21.3). V kavkazské populaci se jedná zejména o mutace C282Y, H63D a S65C. Cílem studie bylo zjistit rozdíly ve výskytu těchto mutací mezi zdravou českou populací a pacienty vyšetřovanými pro podezření na hemochromatózu. Soubor zdravých osob tvořilo 114 dobrovolníků (37 mužů a 77 žen, medián věku 24 roků, rozsah 18–62 roků). Soubor pacientů se skládal z 95 mužů a 45 žen (medián věku 55 roků, rozsah 20–83 roků). Genetická analýza byla provedena pomocí PCR/RFLP metody. Frekvence rizikových alel v souboru zdravé populace byly: 5,7 % pro mutaci C282Y; 12,3 % pro H63D a 0,4 % pro S65C. Frekvence rizikových alel v souboru pacientů byly:

18,2 % pro mutaci C282Y; 17,9 % pro H63D a 1,8 % pro S65C. Výsledky svědčí především o velkém rozdílu ve výskytu mutace C282Y (5,7 % u zdravé populace vs 18,2 % u pacientů). Tato mutace je z hlediska klinických příznaků hemochromatózy považována za nejzávažnější.

Studie byla provedena v rámci projektu Specifického vysokoškolského výzkumu 2011-49050.

P19

Nová metoda DiaSorin LIAISON® 1-84 Parathormon 3. generace – stanovení referenčních mezí

A new immunoassay of DiaSorin LIAISON® 1-84 Parathormon 3rd generation: Determination of reference ranges

Fejfarová Z., Černá V., Zábranský M., Heidenreichová M., Pikner R.

Oddělení klinických laboratoří a kostního metabolismu, Klatovská nemocnice, a. s.
fejfarova@nemkt.cz

Cíl studie: Stanovení referenčních mezí 1-84 Parathormon (PTH) 3. generace, porovnání s metodou N-tact PTH 2. generace.

Metody: Stanoveno chemiluminiscenční imunoanalýzou (CLIA) LIAISON 1-84 PTH Assay, N-tact PTH Assay (DiaSorin).

Výsledky: Pro stanovení referenčních mezí byla zvolena skupina dárců krve (N = 96) s výběrovým kritériem 25-OH vitamin D Total > 30 nmol/l, celkové kalcium: 2,1–2,7 mmol/l. Referenční meze byly stanoveny ze souboru naměřených dat (bez odlehklých hodnot). N-tact PTH 2. generace: 23,8–72,3 pg/ml, 1-84 PTH 3. generace: 8,8–25,9 pg/ml. Hodnoty 1-84 PTH 3. generace a N-tact PTH 2. generace měřené na systému LIAISON se významně liší. Klinická interpretace výsledků u potenciálně zdravých jedinců je pomocí Spearmanova korelačního koeficientu ($r = 0,91$) prakticky shodná.

Závěr: Prezentovaná metoda detekuje molekulu PTH 1-84 bez zkřížené reaktivity s fragmenty, jako je fragment 7-84. Přínos metody LIAISON 1-84 PTH 3. generace je spíše očekáván u pacientů s chronickým renálním selháním, u kterých se tento fragment kumuluje.

P20

Vyšetření neutrofilního s gelatinázou asociovaného lipokalinu v moči u dětských pacientů s akutním a chronickým onemocněním ledvin

The examination of urine neutrophil gelatinase-associated lipocalin in childrens' patients with acute and chronic renal disease

Fořtová M., Bláhová K., Fencel F., Stará V., Pechová M., Průša R.

Ústav klinické biochemie a patobiochemie; Pediatrická klinika 2. LF UK a FN Motol; Klinika nefrologie 1. LF UK a VFN, Praha

MagdalenaFortova@seznam.cz

Cíl studie: Neutrofilní s gelatinázou asociovaný lipokalin (NGAL) je časným markerem akutního poškození ledvin různé etiologie, u chronického onemocnění ledvin jeho koncentrace korelují s glomerulární filtrací. Cílem studie bylo porovnání močových koncentrací NGAL u pacientů s akutním a chronickým onemocněním ledvin s kontrolním souborem zdravých osob.

Metody: Koncentrace močového NGAL byla stanovena chemiluminiscenční imunoanalýzou (analýzátor Architect i4000, Abbott) u 24 dětských pacientů: 14 s akutním onemocněním ledvin (hypoxické poškození, akutní tubulární nekróza), 10 s chronickým onemocněním ledvin (nefrotický syndrom, IgA neuropatie) a 3 s prerenální azotémií. Kontrolní soubor tvořilo 10 zdravých dětí. Hodnota cut-off byla 131,7 µg/l.

Výsledky: U pacientů s akutním selháním ledvin byla zjištěna statisticky významně vyšší hodnota mediánu močového NGAL (1700 µg/l; maximum > 6000 µg/l) ve srovnání jak se zdravými kontrolami (7,1 µg/l; maximum 51,9 µg/l), tak i se souborem pacientů s chronickým postižením ledvin (9,7 µg/l; maximum 99,4 µg/l), $p < 0,0001$. Medián u pacientů s prerenální azotémií byl 50,9 µg/l (vzhledem k malému počtu pacientů skupina nebyla statisticky hodnocena).

Závěr: Zvýšené koncentrace močového NGAL byly zjištěny pouze u pacientů s akutním onemocněním ledvin „renální etiologie“. Byly vyšetřeny moče pouze 3 pacientů s prerenální azotémií, výsledky však naznačují na vhodnost NGAL také jako biomarkeru k rozlišení „prerenální“ a „renální“ příčiny selhání ledvin.

Porovnání albuminurie stanovené imunoturbidimetricky a vysokoúčinnou kapalinovou chromatografií

The comparison of immunoturbidimetric and high performance liquid chromatographic assessment of albuminuria

Fořtová M., Klapková E., Průša R.

Ústav klinické biochemie a patobiochemie 2. LF UK a FN Motol; Klinika nefrologie 1. LF UK a VFN
MagdalenaFortova@seznam.cz

Cíl studie: V minulosti bylo zjištěno, že albuminurie (AU) stanovená vysokoúčinnou kapalinovou chromatografií (HPLC) je vyšší než AU stanovená imunochemicky. Rozdíl mezi metodami se vysvětluje: 1. sníženou imunoreaktivitou močového albuminu, 2. nespecifičností HPLC metody. Cílem studie bylo zavést HPLC metodu pro stanovení AU; potvrdit či vyvrátit tvrzení, že HPLC poskytuje falešně vyšší hodnoty AU díky interferenci dalších bílkovin; porovnat hodnoty AU stanovené imunoturbidimetricky (IT) a HPLC v patientských vzorcích. **Metody:** Metodu HPLC jsme zavedli za následujících podmínek: složení mobilní fáze: složka A) voda, B) acetonitril, C) 100 mmol/l NaH_2PO_4 a D) 1% trifluoroctová kyselina; kontinuální gradient mobilní fáze; průtok mobilní fáze 1 ml/min; teplota analýzy 22 °C; UV detekce při 280 nm; kolona Zorbax 300SB-C3. Soubor tvořilo 340 pacientů (věk $43,2 \pm 25,3$ let, 199 mužů a 141 žen, 182 diabetiků a 158 nediabetiků).

Výsledky: Zavedenou metodou lze od albuminu účinně separovat orosomukoid, α -1-antitrypsin, α -1-antichymotrypsin, transferin a hemopexin. Pík prealbuminu se štěpí na několik píků, z nichž 1 z nich koreluje s albuminem. Vzhledem k nízkým sérovým i močovým koncentracím prealbuminu lze usuzovat, že je tato interference nevýznamná. Byl zjištěn statisticky významný rozdíl mezi metodami (IT: $185,0 \pm 627,6$ mg/l vs HPLC: $212,9 \pm 693,2$ mg/l, $p < 0,0001$), nejmarkantnější u „normoalbuminurických“ diabetiků.

Závěr: Naše dosavadní výsledky naznačují, že diskrepance mezi HPLC a IT je způsobena spíše vyšší specifičností HPLC metody. V budoucnu by HPLC metoda mohla najít uplatnění u vybraných rizikových skupin pacientů.

Vliv amlodipinu a atorvastatinu na kostní metabolismus u samců potkanů kmene Wistar

Effects of amlodipine and atorvastatin on bone metabolism in male albino Wistar rats

Gradošová I., Živná H., Hubená S., Švejkovská K., Palička V., Živný P.

Ústav klinické biochemie a diagnostiky, LF UK a FN Hradec Králové; Vivárium a Radioizotopové laboratoře, LF UK Hradec Králové
gradosovai@lfhk.cuni.cz

Cíl studie: Cílem studie bylo sledovat vliv často užívaných léčiv ze skupiny antihypertenziv – amlodipinu (blokátor kalciového kanálu; dihydropyridinový derivát) a hypolipidemik – atorvastatinu (inhibitor 3-hydroxy-3-methylglutaryl-koenzym A reduktázy) na kostní metabolismus u samců potkanů kmene Wistar.

Metody: Potkani byli rozděleni do 2 skupin po 8. Kontrolní skupině (KON) byla podávána aqua pro injectione (0,2 ml/100 g BW), experimentální skupině byl podáván amlodipin a atorvastatin (AML – 0,3 mg a AT – 0,3 mg v 0,2 ml aqua pro inj./100 g BW) ve formě suspenze žaludeční sondou po dobu 8 týdnů. Vyšetřovali jsme sérové hladiny markerů kostního obratu: karboxyterminální telopeptid kolagenu I (CTX-I), osteokalcin (OC), kostní formu izoenzymu alkalické fosfatázy (BALP) a aminoterminální propeptid prokolagenu typu I (PINP) pomocí metody ELISA. Z homogenátu proximální části tibie byl stanoven BMP-2 metodou Western blot. Změřili jsme hustotu kostního minerálu (BMD) pomocí dvouenergiové RTG absorpciometrie (DXA) a na femurech jsme testovali mechanickou odolnost kostní tkáně.

Výsledky: U experimentální skupiny došlo po 8 týdnech k nesignifikančnímu poklesu sérové koncentrace OC ($p = 0,25$), CTX-I ($p = 0,14$), PINP ($p = 0,51$) a statisticky významnému snížení aktivity BALP ($p = 0,03$) na 34 % vs KON. Expres BMP-2 se zvýšila. V hodnotách BMD a mechanické odolnosti kostní tkáně nebyly zaznamenány statisticky významné změny.

Závěr: Z našich výsledků vyplývá, že léková kombinace amlodipin a atorvastatin zasahuje do kostního metabolismu u samců potkanů kmene Wistar především ovlivněním buněk osteoblastů – snížením aktivity BALP s následnou expresí BMP-2.

Histochemické stanovení katalytické aktivity enzymů oxidativní fosforylace v Blue-Native polyakrylamidovém gelu

Histochemical staining of the catalytic activity of enzymes of oxidative phosphorylation in the blue-native polyacrylamide gel

Hájková Z., Horová E., Rodinová M., Spáčilová J., Hansíková H.

Klinika dětského a dorostového lékařství 1. LF UK a VFN Praha

zuuzi-hayekova@seznam.cz

Úvod: Histochemické barvení se používá k prokázání aktivity enzymů v tkáních včetně enzymů oxidativní fosforylace (OXPHOS). Kombinace Blue-Native polyakrylamidové elektroforézy (BN-PAGE) a katalytického stanovení aktivity enzymů poskytuje kvalitativní charakteristiku funkce mitochondriálních komplexů, a lze ji proto s úspěchem využít pro detekci deficeince enzymů OXPHOS. Cílem studie bylo optimalizovat metodu histochemické analýzy aktivity jednotlivých komplexů I, II, IV a V ve svalu, srdci, játrech a kultivovaných fibroblastech.

Materiál a metody: Materiálem sloužily kultivované fibroblasty a izolované mitochondrie od 3 pacientů, u kterých nebylo prokázáno mitochondriální onemocnění a od 3 pacientů s biochemicky potvrzenou poruchou OXPHOS. Vzorky byly separovány na jednotlivé komplexy pomocí gradientové BN-PAGE, jednotlivé stripky gelu byly inkubovány v reakční směsi po dobu 1 až 12 hodin v závislosti na typu tkáně a komplexu. Výsledný barevný produkt byl analyzován denzitometricky.

Výsledky: Byla zavedena metoda pro histochemické stanovení katalytické aktivity komplexů OXPHOS a stanovena minimální množství vstupního proteinu: 70 µg pro sval, 40 µg, pro srdce, 100 µg pro játra a 120 µg pro fibroblasty. U pacientů s poruchami komplexů OXPHOS výsledky histochemického stanovení aktivity v gelu korelovaly s výsledky spektrofotometrie.

Závěr: Histochemická detekce aktivity jednotlivých komplexů OXPHOS v nativním gelu je vhodným doplňkovým diagnostickým nástrojem pro potvrzení poruchy při podezření na mitochondriální onemocnění.

Podporováno MSM 002162.

Tissue copper content in children with isolated cytochrome C oxidase deficiency

Obsah mědi v tkáních pacientů s izolovanou poruchou cytochrom C oxidázy

Hansíková H., Veselá K., Tesařová M., Vondráčková A., Fornusková D., Honzík T., Stiburek L., Zeman J.
Department of Pediatrics and Adolescent Medicine, First Faculty of Medicine, Charles University in Prague and General University Hospital in Prague, Czech Republic

hhansikova@seznam.cz

Human cytochrome C oxidase (COX) is composed of 13 structural subunits and contains two copper centers CuA and CuB that are essential for enzyme catalytic activity.

Aim of our study was to analyze copper content and COX activity and amount in muscle, liver, heart and brain from 17 children with isolated COX deficiency due to mutations in genes for various COX assembly factors: in SURF1 (7x), SCO2 (9x) and SCO1 (1x) gene.

Methods: Copper content was analyzed by atomic absorption spectrometry. COX activity and amount were analyzed by spectrophotometric and immunoelectroforetic methods.

Results: The copper content was more than 4-fold reduced in SCO2 and SURF1 liver in comparison with age related controls and more than 3-fold in SURF1 skeletal muscle. The severe copper deficiency of SCO1 muscle (5-fold) was accompanied by 6-fold decrease of COX activity. The SCO2 heart showed 3-fold reduction of copper content and 10-fold reduction of COX activity. The SCO2 and SURF1 frontal cortex specimens displayed either normal or borderline copper levels although all of the SCO2 and SURF1 patients suffered from severe CNS involvement.

Conclusion: While the copper deficient phenotype of SCO1/SCO2 tissues appears consistent with the function of both gene products in regulation of cellular copper homeostasis, the severe copper deficiency of SURF1 deficient tissues remains elusive.

Supported by IGA MZ NT/11186-5, IGA MZ NS/10581-3, GAUK28410.

Jak stanovovat glomerulární filtraci u dětí

How to determine glomerular filtration rate with children

Hauerová V., Barcalová J.

Ústav klinické biochemie a laboratorní diagnostiky

1. LF UK a VFN Praha

v.hauerova@seznam.cz

Cíl studie: V současné době se u dětí k posuzování funkce ledvin běžně používá clearance endogenního kreatininu (CLkr) a výpočet glomerulární filtrace (eGFR) podle Schwartz. Ty však přestávají vyhovovat současnému stavu analytiky kreatininu (rekalibrace na ID-MS metodu, enzymatické metody, kompenzace na přítomnost bílkovin – u dětí „over“ kompenzace). Důsledkem je snížení koncentrace kreatininu a nadhodnocení GFR. Práce porovnává stávající postupy s nově doporučovanými výpočtovými vztahy – nová „bedside“ Schwartzova rovnice a Lund-Malmö rovnice.

Metody: U souboru 165 dětských pacientů (2–17 let) z nefrologické ambulance byl stanoven kreatinin v séru (a v moči) Jaffé standardizovanou metodou, enzymaticky, cystatin C PETIA, provedeny výpočty CLkr, eGFR podle původního a nového Schwartz, Lund-Malmö (LM) s korekcí na LBM (lean body mass) a bez LBM. Jako srovnávací hodnota byla použita eGFR z cystatinu C podle Grubba, která nejlépe koreluje s clearance inulinu.

Výsledky: Největší rozptyl výsledků vykazuje clearance kreatininu, nejhůře koreluje s eGFR cyst (r = 0,81). Původní Schwartzova rovnice významně nadhodnocuje výsledky (až o 34 %). Ostatní výpočty (LM s LBM, bez LBM, bedside Schwartz) velmi dobře korelují s eGFR cyst. Nejlépe koreluje LM s LBM (r = 0,96).

Závěr: Nejméně vhodné pro praxi se jeví clearance kreatininu se sběrem moče a stará Schwartzova rovnice. Doporučuje se použít 2 nezávislé parametry jak eGFR z cystatinu C, tak některou z nových rovnic vycházející z kreatininu, stanoveného enzymatickou nebo standardizovanou Jaffé metodou. Pokud se hodnoty eGFR od sebe liší, měl by se upřednostnit ten z výpočtů, který lépe vyhovuje klinickému stavu pacienta.

P26

Antioxidační kapacita v potravinách a nápojích

Antioxidant capacity of foods and beverages

Holeček V., Racek J.

Mulačova nemocnice Plzeň; Ústav klinické biochemie a hematologie FN a LF UK Plzeň

vholecek@volny.cz

Cíl studie: Zvýšené množství volných radikálů ze škodlivin ve vzduchu a radiace, ale i jejich endogenní produkce zvyšují nebezpečí oxidačního stresu a jeho vlivu na vznik mnoha nemocí, zvláště u nedostatku antioxidantů. Hlavní přísun antioxidantů představuje potrava a nápoje, dalším zdrojem je endogenní tvorba antioxi-

tantů v lidském těle. Ve výživě bývá uváděna kalorická hodnota, množství bílkovin, cukrů, glykemický index aj., ale není udávána antioxidační kapacita (AOC). Ta často bývá nízká u mnoha nemocí, po velké fyzické zátěži a zvláště u starých lidí.

Metoda stanovení: Stanovení antioxidační kapacity není běžným vyšetřením, metody se značně liší, proto jsme využili pro možnost porovnání výsledky metodou FRAP založenou na schopnosti antioxidantů redukovat sloučeniny trojmocného železa. Touto relativně levnou metodou je stanovena AOC potravin v literatuře nejčastěji.

Výsledky: Stanovení umožňuje některé závěry. Rostlinná potrava má několikanásobně vyšší AOC než strava živočišná. Mateřské mléko má cca 3krát vyšší AOC než mléko kravské. Bohatými zdroji antioxidantů z nápojů jsou červené víno, džusy, zelený čaj. Sušením ovoce se neztrácí AOC. Významné množství antioxidantů je v jahodách, borůvkách, brusinkách, ořechách, hořké čokoládě. Velmi vysoké hladiny má koření a byliny jako sušený hřebíček, máta, šafrán, tymián a další.

Závěr: Na množství vstřebaných antioxidantů však má vliv mnoho faktorů jako stav GIT, jejich původ, skladování a zpracování potravy, věk, složení antioxidantů aj. Nepochybujeme o tom, že v blízké budoucnosti stanovení AOC získá důležité místo v klinické biochemii.

P27

Analyzátor ABL 90 FLEX

ABL 90 FLEX analyzer

Hupáková I., Hrachová M., Rubášová L.

ÚKBH FN a LF UK Plzeň

hupakova@fnplzen.cz

V současné době uvádí firma Radiometer na náš trh nový typ bed-side analyzátoru ABL 90 FLEX pro měření pH, krevních plynů, elektrolytů, glukózy a laktátu. Analyzátor má rovněž zabudován co-oximetr, který umožňuje stanovit nejen hemoglobin a jeho deriváty, ale i novorozenecký bilirubin.

Cíl práce: Otestovat přístroj ABL 90 FLEX ve srovnání s analyzátozem ABL 835 FLEX téže firmy a s analyzátozem GEM Premier 3000 firmy IL. Zároveň byly získány zkušenosti s obsluhou a údržbou analyzátoru, který obsahuje dvě kazetové jednotky (kazeta se senzory a kazeta s roztoky).

Metody: Testování bylo realizováno na 207 vzorcích krve. Krev byla odebrána do stříkaček Pico 50 na kardiochirurgické JIP, kde je v provozu bed-side analyzátor GEM Premier 3000. Bezprostředně po analýze na kardiochirurgii byly vzorky testovány na obou analyzátozech fy Radiometer na ÚKBH.

Výsledky: Výsledky všech tří analyzátorů ukazují velmi dobrou shodu. Korelační faktory se u jednotlivých parametrů pohybují v rozmezí 0,9896–0,9995 při vzájemném porovnání analyzátorů fy Radiometer. Korelace mezi ABL 90 FLEX a Gem Premier 3000 jsou rovněž velmi dobré a byly zjištěny korelační faktory v rozmezí 0,9577–0,9947.

Závěr: Analyzátor ABL 90 FLEX se vyznačuje velmi jednoduchou obsluhou. Vyžaduje minimální údržbu, výměna kazet je jednoduchá a velkou předností přístroje je odezva výsledku – 35 sekund. Pouze několik hodin po výměně senzorové kazety se může odezva výsledku zpočátku prodloužit až na 3 minuty v důsledku častějších kalibrací. Množství nasávané krve je 65 µl jak při měření ze stříkačky, tak i při měření z kapiláry. Interní kontrola kvality je prováděna průběžně a automaticky na 3 hladinách kontrol. V případě umístění jako bedside analyzátoru na jednotlivá oddělení je možné pro kontrolu chodu přístroje nainstalovat dálkovou supervizi z laboratorního počítače.

P28

Rozšířené vyšetřování DMP u novorozenců Advanced investigation of DMP in newborns

Kapustová M., Hlídková E., Friedecký D., Bekárek V., Růžičková V., Ševčíková J., Kittlová L., Adam T.
FN Olomouc
miloslava.kapustova@fnol.cz

Úvod: Od října roku 2009 probíhá v České republice nově koncipovaný, celoplošný novorozenecký laboratorní screening všech narozených dětí s cílem odhalení možných dědičných poruch metabolismu. V roce 2011 chce LDMP, OKB ve Fakultní nemocnici Olomouc zavést rozšířené vyšetřování metabolických poruch u novorozenců. Na základě rozhodnutí a požadavku rodičů o rozšířené vyšetření, bude využito odběru vzorku tzv. suché kapky krve na novorozenecké screeningové kartičce odebrané v rámci celoplošného screeningu a bude provedeno další vyšetření metodou tandemové hmotnostní spektrometrie. Na základě tohoto rozšířeného vyšetřování je možno kromě deseti základních chorob, jejichž screening plyne ze zákona, vyšetřit u dětí rozšířenou sadu metabolitů a vyhledat dalších 43 onemocnění.

Metoda: Rozšířené vyšetřování by využilo odběru tzv. suché kapky krve na novorozenecké screeningové kartičce a na žádost rodičů bude provedeno další vyšetření metodou tandemové hmotnostní spektrometrie. Krev se odebírá za definovaných podmínek všem novorozencům narozeným na území České republiky.

Závěr: Rozšířené vyšetřování DMP je aktivní vyhledávání chorob v jejich předmanifestním stadiu tak, aby se tyto choroby diagnostikovaly a léčily dříve, než se stačí projevit a způsobit dítěti nevratné poškození zdraví. Hovoříme-li o zdraví dítěte, každá informace má svůj význam. Pokud je diagnostikována některá z těchto chorob, včasný léčebný zásah může hrát klíčovou roli a umožnit dítěti vést normální život. Rozšířené vyšetřování metabolických poruch je prvním krokem v tomto procesu.

P29

Orální glukózový toleranční test u těhotných v MN Privamed, a. s., Plzeň

Oral glucose tolerance test for pregnant women in City Hospital Privamed Pilsen

Králová H., Pánek J., Jeřábek Z.

Oddělení klinické biochemie MN Privamed, a. s., Plzeň
hkralova@privamed.cz

Již několik let se v těhotenství provádí orální glukózový toleranční test k zachytu gestačního diabetu. U většiny gravidních žen se doporučuje provést test mezi 24.–28. týdnem těhotenství, u rizikových dříve. Cílem naší práce je statisticky zhodnotit provedené OGTT gravidních na našem pracovišti za roky 2009 a 2010. Vyhodnocení výsledků a srovnání obou roků bude prezentováno na posteru.

P30

Prvotní vzácné metabolické choroby morbus Gaucher u ženy středního věku – popis případu

Detection of the rare metabolic disease Morbus Gaucher in middle-aged women – a case report

Lavičková A., Malinová V.

Ústav klinické biochemie a hematologie Fakultní nemocnice v Plzni, Ústav dědičných metabolických chorob Praha
lavickovaa@fnplzen.cz

Úvod: Gaucherova choroba je autozomálně recesivně dědičné onemocnění spojené s deficitem enzymu glukocerebrosidázy. Projevuje se stádáním glukocerebrosidu zejména v mikrofázích jater, sleziny a kostní dřeně. Onemocnění má širokou variabilitu a závažnost projevů – od invalidizujících forem po asymptomatické jedince.

Popis případu: U pacientky (nar. 1964) s dlouholetou hepatosplenomegalií a zvýšenou únavností byla tato vzácná metabolická choroba diagnostikována až ve 46 letech. Pro protrahované krvácení po zubní extrakci bylo provedeno hematologické vyšetření. V krevním obraze chronická středně významná trombocytopenie. K diagnóze stádající choroby hematologa přivedlo vyloučení jiných příčin hepatosplenomegalie a rozvoj nejasných kostních změn (aseptická nekróza hlavičky humeru). Onemocnění bylo potvrzeno laboratorním vyšetřením: vysoká hodnota biomarkeru – chitriosidázy, enzymologické vyšetření v leukocytech periferní krve – snížená aktivita betaglukosidázy, verifikace molekulárně genetickým vyšetřením – průkaz 2 patogenních mutací v genu GBA.

Výsledky: Po roce enzymatické substituční léčby velaglucerázou došlo k ústupu subjektivních potíží a organomegalie, poklesu aktivity biomarkerů a normalizaci krevního obrazu.

Závěr: Nejčastější typ Gaucherovy choroby (adultní, viscerální typ I) se může projevit až v pozdním dětství i dospělosti. Vzhledem k možnosti účinné léčby je nutno na tuto diagnózu myslet při neobjasněné splenomegalii, trombocytopenii, bolestech kostí a kloubů. Prevalence onemocnění v naší populaci je 1 : 60 000. V České republice by na počet obyvatel mělo být téměř 200 případů.

P31

Vyšetření neutrofilního s gelatinázou asociovaného lipokalinu v moči po kardiokirurgických výkonech

The examination of urine neutrophil gelatinase-associated lipocalin after cardiac surgery

Lejsek J., Průša R., Pechová M., Fořtová M.
Ústav klinické biochemie a patobiochemie 2. LF UK a FN Motol; Klinika anesteziologie a resuscitace 2. LF UK a FN Motol, Praha; Zdravotnická záchranná služba Libereckého kraje, Liberec; Klinika nefrologie 1. LF UK a VFN, Praha
MagdalenaFortova@seznam.cz

Cíl studie: Neutrofilní s gelatinázou asociovaný lipokalin (NGAL) představuje časný marker akutního renálního selhání. U kardiokirurgických pacientů dochází k diagnosticky významnému zvýšení koncentrace NGAL v moči již 2 hodiny po operaci. Zavedení tohoto vyšetření by bylo vhodnou metodou časně detekce renálního selhání. Cílem studie bylo stanovení vhodného schématu vyšetření.

Metody: Soubor tvořilo 10 pacientů (8 mužů a 2 ženy) průměrného věku 60,7 let. Devíti pacientům byla provedena revaskularizace myokardu, jednomu náhrada aortální chlopně. Vzorky moči byly odebírány v časech: 1. po úvodu do celkové anestezie, 2. 1 h, 3. 5 h a 4. 10 h od konce operace. Koncentrace močového NGAL byla stanovena chemiluminiscenční imunoanalýzou (analýzátor Architect i4000, Abbott), hodnota cut-off byla 131,7 µg/l.

Výsledky: Průměrné hodnoty NGAL (µg/l) byly v čase 1. 8,2; 2. 7,9; 3. 10,1 a 4. 16,4. Poměry koncentrací NGAL/kreatinin v moči (µg/mmol) byly následující: 1. 0,54; 2. 2,22; 3. 3,20 a 4. 4,51. U pacientů s postoperačními renálními komplikacemi byly hodnoty NGAL (µg/l): 1. 10,7; 2. 4,4; 3. 7,7 a 4. 8,0 µg/l a poměry NGAL/kreatinin v moči (µg/mmol): 1. 0,52; 2. 1,10; 3. 2,54 a 4. 1,87.

Závěr: Výsledky naznačují, že renální komplikace by bylo možné predikovat na základě dvoj- a vícenásob-

ného vzestupu poměru koncentrace NGAL a kreatininu v moči u vzorků odebraných hodinu po skončení operace a s odstupem 5 hodin od konce operačního výkonu. K potvrzení tohoto závěru je však třeba dalších sledování.

P32

První zkušenosti s analyzátozem SPA Plus – srovnání a verifikace metod

First experience with a SPA Plus analyser
– method comparison and verification

Lochman P.
Oddělení klinické biochemie, Fakultní nemocnice Olomouc
pavel.lochman@fnol.cz

Cíl studie: V únoru 2011 byl na OKB Fakultní nemocnice Olomouc uveden do provozu imunoturbidimetrický analyzátor SPA Plus firmy The Binding Site. Prvním zaváděným vyšetřením bylo stanovení volných lehkých řetězců (VLŘ) kappa a lambda v séru, do té doby prováděné na nefelometru Delta firmy Radim. Následovala stanovení polyklonálních imunoglobulinů tříd IgG, IgA a IgM, prováděná na nefelometru Immage 800 firmy Beckman Coulter. Posledním dosud zavedeným vyšetřením je stanovení beta-2-mikroglobulinu (B2M) v séru a v moči, prováděné dosud na analyzátoru Immulite 2000 firmy Siemens.

Metody: Verifikace převáděných vyšetření byla koncipována jako analýza série reálných vzorků provedená na stávajícím a novém přístroji, kdy byly výsledky obou postupů vyhodnoceny graficky prostým vynesemím hodnot proti sobě s vyčíslením korelačního koeficientu a sestrojením Blandova-Altmanova grafu pro sledování rozdílů mezi metodami v závislosti na koncentraci analytu. Následovaly analýzy sérií vzorků validovaných kontrolních materiálů na SPA Plus pro vyčíslení analytických parametrů stanovení opakovatelnosti, mezilehlé preciznosti a pravdivosti.

Výsledky: Pro stanovení VLŘ kappa a lambda byly nalezeny korelační koeficienty mezi původní a novou metodou $r = 0,96$ pro VLŘ kappa, $r = 0,99$ pro VLŘ lambda a $r = 0,99$ pro index VLŘ kappa/lambda. Variační koeficienty pro opakovatelnost a mezilehlou preciznost u metody VLŘ kappa jsou $CV = 3,18\%$ a $CV = 4,47\%$ a u metody VLŘ lambda $CV = 1,3\%$ a $CV = 2,55\%$. Pro imunoglobuliny IgG, IgA a IgM byly nalezeny korelační koeficienty $r = 0,99$, $r = 0,99$ a $r = 0,98$ a variační koeficienty pro mezilehlou preciznost $CV = 2,71\%$, $CV = 2,25\%$ a $CV = 3,07\%$. Stanovení B2M vykazuje $r = 0,99$, $CV = 0,95\%$ pro opakovatelnost a pro mezilehlou preciznost $CV = 4,66\%$.

Závěr: Uvolněno do provozu.

Stanovení lithia s využitím dvou analytických metod: plamenové fotometrie a přímé potenciometrie na iontově selektivních elektrodách

Comparison of lithium determination using two analytical methods: flame emission spectrometry and direct potentiometry with ion selective electrode

Maláková J., Beran J., Pavlíková L., Palička V.
Ústav klinické biochemie a diagnostiky LF a FN
Hradec Králové, KU v Praze
Malakovaj@lfhk.cuni.cz

Cíl studie: Prezentovaná studie uvádí porovnání měření koncentrací lithia při terapeutickém monitorování v séru u psychiatrických pacientů.

Metody: Vzorky séra ($n = 79$) byly souběžně analyzovány metodou plamenové fotometrie (FP) na přístroji Effox 5053 (Eppendorf) a metodou přímé potenciometrie (ISE) za využití iontově-selektivních elektrod na přístroji Integra 400 Plus (Roche).

Výsledky: Parametry preciznosti a správnosti mezi sériemi experimentálně ověřené na kontrolních vzorcích u obou metod vyhovovaly limitním hodnotám: u FP byl variační koeficient v rozmezí 1,2–1,54 % a u ISE byl variační koeficient od 1,73 do 1,76 %, bias byl u FP od -1,2 do 0,4 % a u ISE v rozmezí od -3,0 do -3,7 %. Průměrné koncentrace lithia ($\pm$ SD) ve vzorcích séra pacientů u metody FP (X) byly změřeny $0,64 \pm 0,30$ mmol/l a u metody ISE (Y) $0,64 \pm 0,32$ mmol/l. Párovým t-testem nebyly zjištěny rozdíly v koncentracích mezi oběma metodami ($p = 0,95$, $t = -0,058$). Porovnání obou metod potvrdila Passingova-Bablokova regrese ($Y = -0,048 + 1,067 X$), korelační koeficient $r = 0,9948$ pro $p < 0,0001$) a Blandův-Altmanův graf.

Závěr: Studie prokázala, že metoda přímé potenciometrie poskytuje koncentrace lithia v séru srovnatelné s koncentracemi změřenými plamenovou fotometrií. Jedním z možných vysvětlení je nastavení kalibrace a korekce interference na ISE elektrodě podle koncentrace (respektive aktivity) iontů draslíku a sodíku.

P34

Porovnání kapilárních kolon při kvantitativní analýze alkoholu metodou plynové chromatografie s headspace technikou dávkování

Comparison of three capillary columns for gas chromatography headspace analysis of alcohol

Maláková J., Jokešová I., Voříšek V.
Ústav klinické biochemie a diagnostiky LF a FN
Hradec Králové, UK v Praze
Malakovaj@lfhk.cuni.cz

Cíl studie: Cílem studie bylo optimalizovat chromatografické podmínky při analýze alkoholu v biologických vzorcích za využití headspace techniky dávkování

a metody plynové chromatografie s plamenově-ioni-zační detekcí (GC FID).

Metody: Provedli jsme porovnání tří kapilárních kolon určených pro analýzu alkoholu v biologických vzorcích z hlediska validačních parametrů – především parametru selektivity. Kolona HP-B ALC (7,5 m x 0,53 mm ID, 20 μ m smáčivost) Kolona DB-ALC1 (30 m x 0,53 mm ID, 3 μ m smáčivost) Kolona ZB-BAC-2 (30 m x 0,53 mm ID, 2 μ m smáčivost).

Výsledky: GC FID analýza alkoholu byla optimalizována s využitím kolony HP-B ALC. Metoda byla lineární v rozsahu koncentrací od 0,2 do 4 g/kg. Preciznost vyjádřená variačním koeficientem (CV) byla 1,0–8,5 % a bias byl -1,0 až 0,4 %. Při testování selektivity kolony byla vyloučena interference metanolu, 2-propanolu, acetonu a toluenu. Pík vnitřního standardu t-butanolu byl však asymetrický a tvar píku se zhoršoval se stárnutím kolony. Při testování selektivity u kolony DB-ALC1 však docházelo ke koeluci t-butanolu s acetonem a acetonitrilem. Pík metyletylketonu jako alternativního vnitřního standardu byl symetrický, ale jeho vyšší těkavost zhoršovala validační parametry. Kolona ZB-BAC-2 se vyznačovala selektivitou a dobrou symetrií píků včetně vnitřního standardu t-butanolu. Preciznost byla změřena v rozmezí CV 1,7–2,9 % a bias 1,6–5,2 %.

Závěr: Z testovaných kapilárních kolon určených pro analýzu alkoholu se nejlépe osvědčila kolona ZB-BAC-2, která umožňovala i analýzu pitevních vzorků.

P35

Glutathion jako citlivý parametr oxidačního stresu a jaterní steatózy

Glutathione as a sensitive parameter of oxidative stress and fatty liver

Malínská H., Oliyarnyk O., Kahleová H., Seidlová H., Urbanová J., Kazdová L.
Oddělení metabolismu diabetu, Institut klinické a experimentální medicíny, Praha
haml@ikem.cz

Úvod: Akumulace lipidů v játrech – nealkoholická jaterní steatóza – postihuje 30–40 % pacientů s metabolickým syndromem nebo diabetem 2. typu. Patogeneze této poruchy ani vhodná biochemická kritéria pro její včasnou diagnózu nejsou známy.

Cíl: Sledování parametrů antioxidačního systému a lipoperoxidace u pacientů s diabetem 2. typu a kontrolních osob a u experimentálního modelu metabolického syndromu.

Metodika: Vitaminy E, C a glutathion byly stanoveny HPLC metodou s fluorescenční nebo UV detekcí. Sérové a tkáňové koncentrace triacylglycerolů a NEMK byly stanoveny komerčně dostupnými soupravami. Lipoperoxidace byla hodnocena podle hladin TBARS. **Výsledky:** Diabetici měli oproti kontrolní skupině zvýšené hodnoty lačné glykémie ($p < 0,001$), triacylglycerolů ($p < 0,01$) a NEMK ($p < 0,05$). Hodnoty vitamínu E (alfa-a gama-tokoferolu) přepočtené na hladinu triacylglycerolů byly u diabetiků sniženy. Obě skupiny se

nelišily v sérových koncentracích kyseliny askorbové. Diabetici vykazovali snížené hodnoty redukované formy glutathionu ($p < 0,05$) a zvýšené hladiny oxidované formy, svědčící pro oxidační stres. Zvýšená akumulace triacylglycerolů v játrech u experimentálního modelu metabolického syndromu byla spojena se snížením poměru redukované a oxidované formy glutathionu v játrech ($p < 0,05$), který negativně koreloval s hodnotami lipoperoxidace měřené jako TBARS ($p < 0,05$).

Závěr: Poměr redukované a oxidované formy glutathionu je citlivým a včasným ukazatelem oxidačního stresu, negativně koreluje s lipoperoxidací a akumulací triacylglycerolů v játrech. Snížený poměr redukované a oxidované formy glutathionu může být ukazatelem rizika rozvoje jaterní steatózy.

Podpořeno MZO 00023001.

P36

Cystatin C

Cystatine C

Pánek J., Králová H., Reisinger J., Jeřábek Z.
Oddělení klinické biochemie MN Privamed, a. s., Plzeň
jpanek@privamed.cz

Cystatin C je polypeptid ze skupiny cysteinových proteinázových inhibitorů. Je tvořen všemi jadernými buňkami a jeho syntéza je konstantní, není ovlivněna zánětem, dietou, pohlavím, věkem, svalovou hmotou apod. Z krevního oběhu je odstraňován glomerulární filtrací a je kompletně degradován a reabsorbován v proximálním tubulu. Jeho stanovení v séru je vhodným indikátorem glomerulární filtrace, hlavně při jejím mírném snížení.

Testovali jsme imunoturbidimetrické stanovení cystatinu C v séru setem od firmy Dialab na přístroji Aeroset (Abbott) na souboru 50 pacientů z kostní ambulance MN Privamed, a. s., Plzeň. Cílem bylo zjistit korelaci mezi vyšetřeními cystatinu C, kreatininu v séru a odhadů glomerulární filtrace. Vyhodnocení a porovnání výsledků bude prezentováno na posteru.

P37

Cholestáza indukovaná estrogény – protektivní vliv glykosfingolipidů a hemoxygenázy-1

Estrogen induced cholestasis – protective effect of glycosphingolipids and heme oxygenase-1

Petr T., Šmíd V., Váňová K., Vitek L., Šmíd F., Muchová L.
Ústav klinické biochemie a laboratorní diagnostiky 1. LF UK v Praze
petr.tomas@centrum.cz

Cíl studie: Popsat vzájemný hepatoprotektivní vztah mezi glykosfingolipidy a hemoxygenázou-1 (HO-1) v jaterní tkáni potkana při cholestáze indukované estrogény.

Metodika: U samic potkanů kmene Wistar ($n = 6$ v každé skupině) byla vyvolána cholestáza 17- α ethinyl-

estradiolem (EE) po dobu 18 dnů. Aktivace HO-1 bylo dosaženo heminem a inhibice mesoporfyrinem cínu. Kontrolám byl aplikován pouze propandiol (vehikulum pro EE). Žlučové kyseliny (ŽK) a gangliosidy byly stanoveny spektrofotometricky a jejich změny ve složení chromatografií na tenké vrstvě (TLC). Aktivita HO-1 byla měřena metodou GC.

Výsledky: Aplikace EE vedla ve srovnání s kontrolami ke zvýšení cholestatických markerů (ŽK 11x, bilirubin 13x, $p < 0,05$). Inhibice HO u cholestatických zvířat signifikantně snížila ŽK na 43% ($p < 0,03$), jaterní gangliosidy a aktivita ALP zůstaly beze změny. U kontrolních vzorků bylo pozorováno snížení: ŽK na 53% ($p = 0,12$), gangliosidů na 79% ($p = 0,15$) a ALP na 88% ($p = 0,42$). Aktivace HO u cholestatických zvířat vedla k mírnému zvýšení ŽK na 117% ($p = 0,65$), gangliosidů na 108% ($p = 0,40$) a aktivity ALP na 109% ($p = 0,63$). U kontrolních vzorků nedošlo k významným změnám ŽK, gangliosidů a ALP. TLC chromatografií cholestatických vzorků bylo zjištěno zvýšení gangliosidů B větve ($p < 0,05$).

Závěr: Ve vzorcích s inhibovanou HO-1 dochází k poklesu ŽK. Vzhledem k aktivitě ALP se zřejmě jedná o specifický inhibiční efekt mesoporfyrinu cínu. Po aktivaci HO-1 ke změnám v koncentraci ŽK, gangliosidů, ani aktivitě ALP nedochází. TLC analýzou cholestatických vzorků byla prokázána vyšší biosyntéza hepatoprotektivních gangliosidů, konkrétně větve B.

P38

Zhodnocení modifikované metody WAKO pro stanovení CRP

The evaluation of modified method WAKO for determination CRP

Šprongl L.
Centrální laboratoř, Šumperská nemocnice, a. s.
sprongl@nemspk.cz

Cílem práce byla validace a zhodnocení použití nové metody pro stanovení CRP s rozšířeným pracovním rozsahem. Byla testována souprava LT CRP- HS II (Wako Pure Chemical Industries Ltd, Osaka, Japonsko) za použití kalibrátoru LT CRP-HS Calibrator Set. Principem stanovení je imunoturbidimetrická metoda založená na reakci proteinu se specifickou protilátkou proti lidskému CRP proteinu za přítomnosti latexových částic. Testování proběhlo na biochemickém analyzátoru ADVIA 1800 (Siemens Healthcare Diagnostics, Tarrytown, USA). Validační protokol vychází z: „Doporučení k provádění validace a verifikace analytických metod v klinických laboratořích“ vydaného ČSKB ČLS JEP v listopadu 2010. Hodnoceny tedy byly: Mez detekce, mez stanovitelnosti, horní mez pracovního rozsahu, výtěžnost, opakovatelnost, mezilehlá preciznost, pravdivost, vliv interferencí séra, stabilita reagentů v přístroji a bylo provedeno porovnání se stávající metodou. Mez detekce a stanovitelnosti: výsledná mez detekce je 0,12 mg/l, výsledná mez stanovitelnosti je 0,39 mg/l. Pracovní rozsah: Jako vzorky se použily patientské

vzorky. Zjištěná linearita je minimálně do 420 mg/l. Výťažnost: Zjištěná výťažnost je 99,5 %. Opakovatelnost: 1,61 % na hladině 6,6 mg/l a 0,65 % na hladině 51 mg/l. Mezilehlá preciznost: 1,38 % na hladině 6,6 mg/l a 0,74 % na hladině 51 mg/l. Porovnání metod: K vyhodnocení použita lineární regresní analýza podle Passinga-Babloka; $n = 40$; $y = 1,008x + 0,88$ mg/l; $r = 0,999$. Materiálové interference: Bez vlivu bilirubin do 1,0 g/l; hemoglobin do 10 g/l; TG do 5 mmol/l. Metoda plně vyhovuje požadavkům na ní kladeným z hlediska analytické účinnosti. Vzhledem k těmto parametrům a dostatečné stabilitě je vhodná pro použití v klinických laboratořích.

P39

Determination of selected antioxidants (ascorbic acid, uric acid) in seminal plasma

Stanovení vybraných antioxidantů (kyselina askorbová, kyselina močová) v seminální plazmě

Štramová X., Drábková P., Kandár R., Žáková P.
*Department of Biological and Biochemical Sciences,
Faculty of Chemical Technology,
University of Pardubice
xeniestramova@gmail.com*

The aim of study is to validate high-performance liquid chromatography method with spectrophotometric detection (HPLC with UV detection) for simultaneous determination of seminal plasma ascorbic and uric acids in men.

For the determination, a reversed-phase column (250 x 4 mm i.d., 5 μ m) and a mobile phase 25 mmol/L NaH_2PO_4 – ethanol (97.5:2.5 v/v), pH 4.69 were used.

A calibration curve was linear in the whole range of concentrations for both acid standards.

The levels of seminal plasma ascorbic acid of the individual patients were in the following ranges: all patients (23.6–1120.2) $\mu\text{mol/L}$ (median 362.0 $\mu\text{mol/L}$), smokers (23.6–908.6) $\mu\text{mol/L}$ (median 327.4 $\mu\text{mol/L}$), nonsmokers (59.0–1120.2) $\mu\text{mol/L}$ (median 400.0 $\mu\text{mol/L}$).

The levels of seminal plasma uric acid of the individual patients were in the following ranges: all patients (109.7–651.6) $\mu\text{mol/L}$ (median 303.9 $\mu\text{mol/L}$), smokers (163.0–557.6) $\mu\text{mol/L}$ (median 298.7 $\mu\text{mol/L}$), nonsmokers (109.7–651.6) $\mu\text{mol/L}$ (median 304.2 $\mu\text{mol/L}$).

Presented method is useful for routine simultaneous determination of selected antioxidants in special clinical laboratories.

This study was supported by grant SG FChT07/2011.

P40

Vliv diety obohacené o železo na mechanické vlastnosti kostí potkanů

The effect of iron on bone biomechanical properties in rats

Švejková K., Živná H., Gradošová I., Doubková K., Živný P., Palička V.

*Ústav klinické biochemie a diagnostiky, LF UK a FN Hradec Králové; Vivárium a Radioizotopové laboratoře, LF UK Hradec Králové
klasvej@seznam.cz*

Cíl studie: Cílem této studie bylo sledovat ovlivnění kostního metabolismu podáváním diety obohacené o železo u samců potkanů kmene Wistar.

Metody: Potkani ($n = 24$) ve věku 8 týdnů byli rozděleni do tří skupin. Zvířata byla po dobu 8 týdnů krmena standardní laboratorní dietou (SLD) nebo SLD obohacenou o železo. 1. skupina: SLD, 2. skupina: Fe + (SLD + 400 mg železa/100 g diety), 3. skupina: FE+ (SLD + 5 g železa/100 g diety). Byl vyšetřen krevní obraz, koncentrace železa, feritinu a markery kostního obratu v séru: osteokalcin, N-terminální propeptid prokolagenu typu I, C-terminální telopeptid kolagenu typu I. Byla změřena hustota kostního minerálu (BMD), obsah vápníku a železa v kosti a biomechanické vlastnosti femuru (tříbodové ohýbání kosti, odolnost krčku femuru v tlaku).

Výsledky: Vlivem diety obohacené o železo došlo k nárůstu koncentrace hemoglobinu (FE + vs SLD; $p < 0,05$; FE + vs Fe+, $p < 0,001$), hladiny železa v séru (FE+ vs SLD $p < 0,001$; FE+ vs Fe+, $p < 0,001$), obsahu železa a vápníku v kosti (FE + vs SLD, $p < 0,001$; Fe vs SLD, $p < 0,01$). Počty erytrocytů vlivem obou diet se železem poklesly (FE+ vs SLD, $p < 0,001$; Fe vs SLD; $p < 0,05$). Nedošlo ke změnám v koncentraci feritinu, kostních markerů, BMD ani mechanických vlastností kostí.

Závěr: Dieta obohacená o železo vedla ke zvýšení koncentrace hemoglobinu a koncentrace železa v séru, jehož nadbytek se následně ukládal do kostí. Zvýšení koncentrací železa v kostech neovlivnilo negativně kostní tkáň a tím ani nebyla zhoršena jejich mechanická odolnost.

P41

Volné mastné kyseliny během clampu u pacientů s diabetem 1. typu

Free fatty acids during clamp in type 1 diabetes patients

Tichá A., Hyšpler R., Musil F., Lesná J., Zadák Z.
*Klinika gerontologická a metabolická, Fakultní nemocnice Hradec Králové
tichaa@lfhk.cuni.cz*

Cíl studie: Stanovit koncentraci volných mastných kyselin (FFA) během clampu u obézních pacientů s diabetem 1. typu (T1DM), kteří podstoupili léčbu obezity

hladovkou, kdy bylo předpokládáno zlepšení inzulinové rezistence.

Metody: Soubor byl tvořen 14 obézními pacienty T1DM (věk $42,6 \pm 9,4$ let, BMI $32,4 \pm 2,1$ kg.m⁻²) a kontrolní skupinu tvořilo 13 štíhlých T1DM (věk $36,9 \pm 13,9$ let, BMI $22,6 \pm 2,1$ kg.m⁻²). K měření utilizace glukózy byla použita kombinace 6hodinového dvoufázového hyperinzulinemického euglycemického clampu (1 a 10 mU/kg/min Humulin R). Krev na stanovení FFA byla odebírána v hodinových intervalech. FFA byly stanoveny enzymatickým kitem NEFA –C (WAKO, Japonsko) a spektrofotometrem Pharma-Spec (Shimadzu). Získaná data byla vyhodnocena statistickým software SigmaStat (Systat, USA).

Výsledky: Data jsou prezentována jako medián (25%, 75%). U obézních T1DM během clampu byly tyto koncentrace FFA (mmol/l) – před hladovkou: 0. h – 0,513 (0,343; 0,583) 2. h – 0,107 (< 0,05; 0,162) 6. h 0,056 (< 0,05; 0,125); po hladovce: 0. h – 0,895 (0,750; 1,321), 2. h – 0,355 (0,131; 0,426), 6. h 0,163 (0,108; 0,270), po měsíci: 0. h – 0,397 (0,350; 0,659), 2. h – 0,147 (0,076; 0,176) a 6. h 0,031 (< 0,05; 0,105). U štíhlých kontrol T1DM dále pak 0. h – 0,194 (0,139; 0,291), 2. h – 0,062 (< 0,05; 0,170), 6. h <0,05 (< 0,05; 0,117).

Závěr: Byly nalezeny statisticky odlišné koncentrace FFA u štíhlých vs obézních T1DM během celého clampu. U obézních T1DM před hladovkou a po měsíci nebyly nalezeny signifikantní rozdíly.

Práce byla podpořena výzkumným záměrem MZO 00179906.

P42

Defect in the neurotransmitter biosynthesis due to novel mutations in the tyrosine hydroxylase gene

Porucha biosyntézy neurotransmiterů způsobená novými mutacemi v genu pro tyrosinhydroxylázu

Szentiványi K., Hansíková H., Honzík T., Krijt J., Vinšová K., Rozsypalová E., Klement P., Ješina P., Magner M., Zeman J.

Department of Pediatrics, Institute of Inherited Metabolic Disorders, First Faculty of Medicine, Charles University and General University Hospital in Prague
hhansikova@seznam.cz

The diagnostics of neurotransmitter disorders is almost exclusively based on the quantitative determination of the neurotransmitters or their metabolites in cerebrospinal fluid (CSF). The implementation of neurotransmitter analysis in clinical praxis is necessary for early diagnosis and adequate treatment.

Material and methods: Neurotransmitter metabolites in CSF were analyzed in 82 children (at the age 1 months to 17 years) with clinical suspicion for neurometabolic disorders using HPLC with electrochemical detection.

Results: The CSF level of homovanillic acid (HVA) was markedly decreased in three children (64, 79 and 94 nmol/l) in comparison to age related controls (lower

limit 218–450). Neurological finding including severe psychomotor retardation, quadraparesis and microcephaly accompanied with marked dystonia, excessive sweating in the first patient was compatible with the diagnosis of tyrosine hydroxylase (TH) deficiency (type B phenotype) and subsequent molecular analysis revealed two novel heterozygous mutations c.636A>C and c.1124G>C in the TH gene. The treatment with L-DOPA/carbidopa resulted in the improvement of dystonia. MRI studies in two other patients with microcephaly revealed postischemic brain damage, therefore secondary HVA deficit was considered in these children.

Conclusion: Diagnostic work-up in patients with neuro-metabolic disorders should include analysis of neurotransmitter metabolites in CSF.

Supported by IGA MZ NS 10561-3/2009 and MZOVFN2005.

P43

Widely targeted metabolomics for diagnosing inherited metabolic disorders

Metabolomika – široké zaměření pro diagnostiku dědičných metabolických poruch

Krätschmerová H., Hron K., Wojtowicz P., Barešová A., Hlídková E., Friedecký D., Horník P., Behulová D., Procházková D., Vinohradská H., Pešková K., Adam T.

Palacký University, Olomouc; Charles University, Prague; University Children's Hospital, Bratislava; Masaryk University, Brno; University Hospital, Brno
tomasadam@gmail.com

Objective: Metabolomics becomes an important tool in clinical research and diagnosing human diseases. In this work we focused on diagnosis of inherited metabolic disorders (IMDs) in plasma samples using a targeted metabolomic approach.

Methods: Plasma samples were analysed using the AbsoluteIDQ p 150 Kit (BIOCRATES Life Sciences AG, Austria). The standard flow injection method of the kit comprising two subsequent 20 µl injections (one for positive and one for negative detection mode) was applied for all measurements. All experiments were performed on an QTRAP 5500 tandem mass spectrometer (AB SCIEX, USA) with electrospray ionization. Multiple reaction monitoring detection was used for quantification.

Results: We analyzed 50 control samples and 34 patient samples (phenylketonuria, maple syrup urine disease, tyrosinemia I, argininemia, homocystinuria, carbamoyl phosphate synthetase deficiency, ornithine transcarbamylase deficiency, non-ketotic hyperglycinemia, methylmalonic acidemia, propionic acidemia, glutaric aciduria I, 3-hydroxy-3-methylglutaric aciduria, isovaleric acidemia, medium-chain acyl-coenzyme A dehydrogenase deficiency and carnitine palmitoyltransferase II deficiency). Control samples were distinguished from patient samples by principle component analysis and hierarchical clustering.

Conclusion: This study shows that targeted metabolomics can be applied for diagnosing broad IMDs. Supported by grants CZ.1.05/2.1.00/01.0030, MSM6198959205 and IG UP Olomouc LF_2010_013.

P44

Základní parametry koagulace, protein C a volný protein S u novorozenců

Basic parameters of coagulation, protein C and free protein S in newborns

Kantor L., Procházka M., Procházková J., Úlehlová J., Dubrava L., Slavík L., Hálek J.

Novorozenecké oddělení FN Olomouc, Porodnicko-gynekologická klinika, FN a LF UP Olomouc; Hemato-onkologická klinika FN a LF UP Olomouc
lumir.kantor@fnol.cz

Cíl studie: Stanovit parametry koagulace, proteinu C a volného proteinu S v souborech nezralých a zralých novorozenců bezprostředně po porodu.

Metody: V průběhu dvou let jsme u 100 dětí narozených mezi 23. až 37. gestačním týdnem a u 100 novorozenců narozených v termínu vyšetřovali hodnoty koagulace, proteinu C a volného proteinu S. Vyšetření byla provedena během prvních dvanácti hodin života. Laboratorní vyšetření bylo provedeno v koagulační laboratoři Hemato-onkologické kliniky FN Olomouc. Hladina proteinu C byla stanovena chromogenně, volný protein S imunolochemicky.

Výsledky: Průměrné hodnoty jednotlivých koagulačních parametrů u sledované skupiny předčasně narozených novorozenců: protein C $17,3 \pm 6,5\%$ (4–43 %), volný protein S $39,8 \pm 12,2\%$ (22–78 %), Quick $46\% \pm 8,5$ (20–57), INR $1,81 \pm (1,32-2,02)$, aPTT 44,05 (19–53) s, fibrinogen $0,92 \text{ g/l} \pm (0,83-1,08) \text{ g/l}$.

U skupiny zralých zdravých novorozenců: protein C 33 (28–39) %, volný protein S 37 (29–39) %, INR 1,19 (1,14–1,33), aPTT 37,5 (33,8–45,3) s, fibrinogen 2,58 (1,99–3,58) g/l.

Zjištěné hodnoty jsou v souladu s literárně udávanými hodnotami. Údaje při spodní hranici referenčních mezí korelují s poporodním komplikovaným stavem novorozenců.

Závěr: Nižší hodnoty koagulačních parametrů v důsledku nezralosti jaterního parenchymu jsou částečně kompenzovány nižšími hodnotami antikoagulačních

působků. Lepší poznání poruch hemostázy by mohlo přispět i ke snížení výskytu nitrolebního krvácení. Podpořeno grantem NR 9282-3(2007).

P45

Doporučení České společnosti klinické biochemie pro příjem a odmítnutí vzorků biologických materiálů pacientů klinickými laboratořemi

Recommendations for handling with unsuitable patients samples in clinical laboratories

Bunešová M., Blažková J., Coufal P., Friedecký B., Kapustová M., Kotrbatý J., Malina P.
Autorský kolektiv ČSKB ČLS JEP, Praha
martina.bunesova@fnmotol.cz

Cíl: Cílem práce bylo vytvoření dokumentu ČSKB shrnujícího zásady příjmu a odmítání vzorku klinickými laboratořemi.

Materiál a metody: Východiskem vytvořeného doporučení byla ČSN ISO 15189, aktuální informace z literatury pojednávající o preanalytické fázi a informace soustředěné na adrese www.specimencare.com. Součástí našeho sdělení je pilotní studie analýz počtu a druhů neshod v oblasti přijetí (odmítnutí) biologického vzorku. Studie byla provedena v laboratořích tří českých fakultních nemocnic (2. LF UK Praha Motol, FN Hradec Králové a FN IKEM Praha).

Výsledky: Výsledkem práce bylo doporučení České společnosti klinické biochemie pro příjem a odmítnutí vzorků biologických materiálů pacientů klinickými laboratořemi. Návrh byl uveřejněn na webových stránkách společnosti a podroben diskusním připomínkám odborné veřejnosti. Doporučení poté vešlo v platnost. Typická frekvence odmítnutých vzorků se pohybovala kolem 0,5 %. Nejčastěji se vyskytovaly případy nedodaných vzorků nebo žádanek (téměř 60 % všech chyb). Počet identifikačních chyb se pohyboval kolem 5 %. Výsledky pilotní studie jsou v zásadě podobné výsledkům dosaženým v jiných zemích a potvrzují podobnost problémů klinických laboratořích v preanalytické fázi.

Závěry: V předkládané práci uvádíme základní důvody k odmítnutí chybného vzorku klinickou laboratoří, které chrání pacienta před rizikem diagnostické péče, nebo dokonce před poškozením zdravotního stavu.

Autorský rejstřík

A

Adam, T. 184 (B4-2), 186 (B5-3),
197 (P14), 203 (P28), 208 (P43)

B

Balaščíková, M. 184 (B4-2)
Barcalová, J. 202 (P25)
Barešová, A. 208 (P43)
Bartková, M. 193 (P5)
Bartošková, I. 182 (B3-2)
Behúlová, D. 185 (B4-4), 208 (P43)
Bekárek, V. 197 (P14), 203 (P28)
Benáková, H. 182 (B3-4), 195 (P9)
Bencová, S. 197 (P15)
Beran, J. 205 (P33)
Beránek, M. 198 (P16, P18)
Bláha, K. 198 (P17)
Bláhová, K. 199 (P20)
Blažková, J. 180 (B2-3), 209 (P45)
Borský, J. 198 (P17)
Brodská, H. 182 (B3-4)
Brokešová, S. 198 (P16)
Brož, P. 181 (B3-1)
Bršlicová, K. 189 (B7-5)
Budina, M. 183 (B3-5)
Bunešová, M. 180 (B2-3), 209 (P45)

C-Č

Cejp, V. 190 (B8-3)
Cibiček, N. 190 (B8-2)
Coufal, P. 209 (P45)
Crha, I. 192 (P1)
Čermák, J. 187 (B6-1)
Čermáková, Z. 189 (B7-4)
Černá, V. 199 (P19)
Červinková, B. 198 (P18)
Česneková, J. 193 (P4)

D

Dastych, M. 187 (B6-3), 189 (B7-4)
Dejmek, P. 184 (B4-2)
Dört, J. 188 (B7-2)
Dortová, E. 188 (B7-2)
Dostálová, E. 186 (B5-3)
Dostálová, T. 198 (P17)
Doubková, K. 207 (P40)
Drábková, P. 207 (P39)
Drastíková, M. 198 (P16, P18)
Dubrava, L. 179 (B1-3), 193 (P5), 209 (P44)
Dubská, L. 178 (PL-1)
Dusilová-Sulková, S. 195 (P9)
Dvořáková, J. 178 (PL-1)

F

Fejfarová, Z. 199 (P19)
Fencl, F. 199 (P20)
Fialová, C. 180 (B2-1)
Fornůsková, D. 193 (P4), 201 (P24)
Fořtová, M. 199 (P20), 200 (P21), 204 (P31)
Friedecký, B. 183 (B3-5), 209 (P45)
Friedecký, D. .. 184 (B4-2), 186 (B5-3), 203 (P28), 208 (P43)
Frkalová, Z. 196 (P11)

G

Gaillyová, R. 184 (B4-2)

Galandáková, A. 195 (P8)
Gottwaldová, J. 189 (B7-4)
Gradošová, I. 200 (P22), 207 (P40)

H

Hájková, Z. 201 (P23)
Hálek, J. 179 (B1-3), 209 (P44)
Hansíková, H. 192 (P2), 201 (P23, P24), 208 (P42)
Hauerová, V. 202 (P25)
Havlíček, V. 186 (B5-1)
Hegerová, J. 198 (P18)
Heidenreichová, M. 199 (P19)
Hlídková, E. 184 (B4-2), 203 (P28), 208 (P43)
Holeček, V. 202 (P26)
Holešová, D. 185 (B4-4)
Holopainen, J. 186 (B5-1)
Holubová, A. 184 (B4-2)
Honzík, T. 192 (P2), 201 (P24), 208 (P42)
Horáček, J. M. 182 (B3-2)
Horák, P. 195 (P8)
Horník, P. 208 (P43)
Horová, E. 192 (P2), 201 (P23)
Houda, J. 179 (B1-3)
Hrachová, M. 202 (P27)
Hrachovinová, I. 195 (P10)
Hron, K. 208 (P43)
Hubená, S. 200 (P22)
Hupáková, I. 202 (P27)
Hyánek, J. 178 (PL-1)
Hyšpler, R. 178 (B1-1), 201 (P41)

Ch

Chrastina, P. 184 (B4-2)

J

Jabor, A. 190 (B8-3)
Janota, T. 182 (B3-4)
Jelínek, R. 180 (B2-1)
Jeřábek, Z. 203 (P29), 206 (P36)
Ješina, P. 208 (P42)
Jokešová, I. 205 (P34)

K

Kacarovský, M. 186 (B5-2)
Kahleová, H. 205 (P35)
Kajabová, M. 195 (P8)
Kalousová, M. 195 (P9)
Kandár, R. 207 (P39)
Kantor, L. 179 (B1-3, B1-4), 209 (P44)
Kapustová, M. 203 (P28), 209 (P45)
Kazdová, L. 205 (P35)
Kittlová, L. 197 (P14), 203 (P28)
Klapková, E. 200 (P21)
Klečková, M. 196 (P12)
Klement, P. 208 (P42)
Kocna, P. 191
Kosová, H. 190 (B8-4)
Kotaška, K. 198 (P17)
Kotrbatý, J. 180 (B2-3), 209 (P45)
Koudelková, M. 188 (B7-3)
Kožich, V. 183 (PL-2), 184 (B4-2), 185 (B4-3)
Kračmar, P. 184 (B4-2)
Králíková, M. 192 (P1)
Králová, H. 203 (P29), 206 (P36)
Krätschmerová, H. 208 (P43)

Krijt, J.	208 (P42)
Krulišová, V.	184 (B4-2)
Kuběna, A. A.	195 (P9)

L

Lavičková, A.	203 (P30)
Lejsek, J.	204 (P31)
Lenčo, J.	186 (B5-2)
Leníček, M.	193 (P3)
Lesná, J.	201 (P41)
Lhotská, J.	181 (B3-1)
Límanová, Z.	194 (P6)
Lochman, P.	204 (P32)
Ludíková, B.	179 (B1-2)
Ludvík, M.	181 (B2-5)
Luhový, M.	179 (B1-2)

M

Macek, M. Jr.	184 (B4-2)
Magner, M.	208 (P42)
Maláková, J.	205 (P33, P34)
Malina, P.	190 (B8-3, P45)
Malinová, V.	203 (P30)
Malínská, H.	205 (P35)
Mareček, F.	195 (P10)
Martiníková, V.	178 (PL-1)
Matas, M.	188 (B7-2)
Matějová, R.	198 (P17)
Matejovičová, M.	192 (P1)
Melounová, J.	192 (P1)
Muchová, L.	193 (P3), 206 (P37)
Musil, F.	201 (P41)

N

Neshyba, P.	196 (P11)
Nováčková, L.	188 (B7-1)
Novák, M.	196 (P11)
Novák, P.	186 (B5-1)
Novotná, H.	195 (P10)
Novotný, D.	193 (P5)

O

Oliyarnyk, O.	205 (P35)
Ondrušková, N.	192 (P2)
Ostrožlíková, M.	185 (B4-4)
Otoupalová, E.	198 (P17)

P

Pacít, M.	197 (P13)
Palička, V.	190 (B8-2), 200 (P22), 205 (P33), 207 (P40)
Pánek, J.	203 (P29), 206 (P36)
Pavlíková, L.	205 (P33)
Pehal, F.	178 (PL-1)
Pechová, M.	198 (P17)
Pechová, M.	199 (P20), 204 (P31)
Perečková, J.	185 (B4-4)
Pešková, K.	184 (B4-2), 185 (B4-3), 208 (P43)
Petera, J.	198 (P16)
Petr, T.	206 (P37)
Petríková, V.	180 (B2-2), 188 (B7-2)
Pikner, R.	196 (P12), 199 (P19)
Piskáčková, T.	184 (B4-2)
Pól, J.	186 (B5-1)
Pospíšilová, D.	179 (B1-2, B1-3)
Pospíšilová, D.	187 (B6-2)
Privarová, J.	178 (PL-1)
Procházka, M.	209 (P44)

Procházková, D.	208 (P43)
Procházková, J.	209 (P44)
Průša, R.	198 (P17), 199 (P20), 200 (P21), 204 (P31)
Pudil, R.	182 (B3-2, B3-3)
Putzová, D.	198 (P18)

R-Ř

Racek, J.	181 (B3-1), 194 (P7), 196 (P12), 202 (P26)
Rajdl, D.	180 (B2-2), 196 (P12)
Reisinger, J.	206 (P36)
Rodinová, M.	201 (P23)
Rokyta, R.	181 (B3-1)
Roubalová, L.	193 (P5)
Rozsypálek, V.	196 (P11)
Rozsypalová, E.	208 (P42)
Rubášová, L.	202 (P27)
Růžicková, V.	203 (P28)

S-Š

Sedláčková, T.	194 (P7)
Seidlová, H.	205 (P35)
Schneiderka, P.	195 (P8)
Sírák, I.	198 (P16)
Slavík, L.	209 (P44)
Soška, V.	190 (B8-2)
Spáčilová, J.	201 (P23)
Springer, D.	184 (B4-1), 194 (P6)
Stančík, L.	197 (P13)
Stará, V.	199 (P20)
Stejskal, D.	179 (B1-4)
Stibůrek, L.	193 (P4), 201 (P24)
Strohalm, M.	186 (B5-1)
Subhanová, I.	193 (P3)
Syrová, D.	185 (B4-4)
Szentiványi, K.	208 (P42)
Šálek, T.	190 (B8-1)
Šalingová, A.	185 (B4-4)
Šebová, C.	185 (B4-4)
Ševčíková, J.	189 (B7-5), 197 (P14), 203 (P28)
Škodová, J.	185 (B4-4)
Šmíd, F.	206 (P37)
Šmíd, V.	206 (P37)
Šmídl, P.	181 (B2-4)
Šolcová, M.	180 (B2-2)
Šprongl, L.	206 (P38)
Štambachová, A.	189 (B7-5)
Štarha, J.	187 (B6-3)
Šťastná V.	186 (B5-3)
Šťastná, S.	184 (B4-2)
Štekláčová, A.	198 (P17)
Štěpánková, J.	194 (P7)
Štollová, M.	194 (P7)
Štramová, X.	207 (P39)
Štrebl, P.	195 (P8)
Švagera, Z.	184 (B4-2)
Švejkovská, K.	200 (P22), 207 (P40)
Švesták, M.	179 (B1-4)

T

Táborský, L.	178 (PL-1)
Tambor, V.	186 (B5-2)
Teplan, V.	194 (P7)
Tesarova, M.	201 (P24)
Tesař, V.	195 (P9)
Tichá, A.	178 (B1-1), 201 (P41)
Tichý, M.	182 (B3-2)
Ťoukálová, L.	197 (P14)

Trbušek, J.	196 (P12)
Trefil, L.	181 (B3-1)
Truellová, I.	184 (B4-2)

U

Úlehlová, J.	209 (P44)
Urbánek, P.	193 (P3)
Urbanová, J.	205 (P35)

V-W

Váňová, K.	206 (P37)
Vasilenková, A.	185 (B4-4)
Vašatová, M.	182 (B3-2)
Ventura, K.	197 (P15)
Vesela, K.	201 (P24)
Vidová, V.	186 (B5-1)
Viklický, O.	194 (P7)
Vinohradská, H.	184 (B4-2), 208 (P43)
Vinšová, K.	208 (P42)
Vítek, L.	193 (P3), 206 (P37)
Volný, M.	186 (B5-1)
Vondráčková, A.	201 (P24)

Voříšek, V.	205 (P34)
Vostálová, J.	195 (P8)
Vošmik, M.	198 (P16)
Votava, F.	184 (B4-2)
Wenchich, L.	193 (P4)
Wojtowicz, P.	186 (B5-3), 208 (P43)

Z-Ž

Zábranský, M.	199 (P19)
Zadák, Z.	178 (B1-1), 201 (P41)
Zadražil, J.	195 (P8)
Zdráhalová M.	186 (B5-3)
Zeman, D.	188 (B7-1)
Zeman, J.	192 (P2), 193 (P4), 201 (P24), 208 (P42)
Zima, T.	182 (B3-4), 193 (P3), 194 (P6), 195 (P9)
Zrníková, L.	193 (P5)
Žáková, J.	192 (P1)
Žáková, P.	197 (P15), 207 (P39)
Ženková, J.	188 (B7-2), 189 (B7-5)
Živná, H.	200 (P22), 207 (P40)
Živný, P.	200 (P22), 207 (P40)

Poznámky
