

# **Sborník**

## **XII. celostátní sjezd České společnosti klinické biochemie ČLS JEP s mezinárodní účastí**

20.–22. září 2015

Brno

## **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

## **Nejvyšší ocenění České společnosti klinické biochemie – Hořejšího cena – letos udělena panu doc. RNDr. Petru Šternovi, CSc.**

Doc. RNDr. Petr Štern, CSc. absolvoval Přírodovědeckou fakultu Univerzity J. E. Purkyně v Brně, obor organická chemie. Po krátkém působení ve Výzkumném ústavu čistých chemikálií v Brně nastoupil jako aspirant a později jako odborný asistent na VŠCHT v Praze, odkud přechází na Oddělení klinické biochemie FN na Bulovce jako vedoucí úseku automatizovaných metod a na Bulovce pracuje do roku 1999. V roce 1988 byl jmenován docentem pro obor biochemie. Od roku 1978 do roku 2013 vyučoval na Katedře klinické biochemie ILF, nyní IPVZ, a několik let stál v jejím čele. Jeho práce na katedře byla na bulovském pracovišti, později v Thomayerově nemocnici a nakonec na Karlově náměstí. Ve fakultní Thomayerově nemocnici působil řadu let též jako vedoucí úseku imunochemie, v oboru, který má nejraději.

Od roku 2000 do konce června 2013 byl zástupcem přednosty pro vědeckou a výzkumnou činnost na našem ústavu (ÚKBLD 1. LF UK a VFN), kde byl hlavním řešitelem tří grantových projektů a spoluřešitelem řady dalších. Kromě působení na 1. Lékařské fakultě, kde vyučoval magisterský a bakalářský obor, byl zapojen do výuky na 2. LF UK, PřF UK a VŠCHT Praha. Byl školitelem či konzultantem mnoha bakalářských, magisterských i doktorských prací.

Docent Štern je autorem a spoluautorem více než 250 odborných publikací, je spoluautorem 13 monografií, z nichž řada získala ocenění nejen České společ-

nosti klinické biochemie, ale též České lékařské společnosti JEP a České internistické společnosti. Zmíním alespoň tři vydání monografie Laboratorní diagnostika, kde byl jedním z hlavních editorů.

Petr rád poznává nové kraje, miluje svoji rodinu a vnoučata, která jej odvedla od klinické biochemie.

Petr Štern zasvětil svůj profesní život klinické biochemii a své životní znalosti a zkušenosti získané v laboratořích předával a předává studentům a kolegům více než třicet let. Vychoval několik generací klinických biochemiků – lékařů, analytiků, laborantek a laborantů. Jeho studenty byli a jsou významní představitelé klinické biochemie, lékařské chemie a biochemie. Poznal jsem jej jako začínající klinický biochemik před více než 20 lety a necelých patnáct let pařil mezi mé nejbližší spolupracovníky na ústavu. Vždy jsem se na něho mohl obrátit s radou či prosbou a věděl jsem, že Petr mi pomůže obětavě a bez ohledu na čas.

Doc. RNDr. Petr Štern, CSc. patří mezi nejvýznamnější osobnosti našeho oboru a udělení Hořejšího medaile České společnosti klinické biochemie ČLS JEP je výrazem poděkování a uznání jeho práci pro českou klinickou biochemii.

*Tomáš Zima*

## Čestné členství ČSKB - Prof. Maurizio Ferrari

Prof. Maurizio Ferrari je vedoucím oddělení klinické patologie Vita-Salute San Raffaele univerzity v Miláně. Jeho vědecké zájmy jsou orientovány především na molekulární diagnostické metody, nukleové kyseliny cirkulující v plazmě, molekulární studie několika genetických patologických stavů (oční onemocnění, neurologická onemocnění, onemocnění srdce arytmie, metabolismus železa a hematologická onemocnění). Vyvinul metody pro analýzu DNA - multiplex PCR a kapilární elektroforézy, dále novou metodu známou jako double-gradient DGGE (DG-DGGE) pro identifikaci z neznámé

mutace. V současné době je jeho výzkum zaměřen na rozvoj diagnostických testů s aplikací mikroelektronických čipovou technologií a sekvenování nové generace. Od roku 2015 je prezidentem IFCC (International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine).

*Milan Dastych*

*Na návrh výboru ČSKB bylo prof. Maurizio Ferrarimu uděleno čestné členství České společnosti klinické biochemie.*

## Čestné členství ČSKB - Prof. Michael Neumaier

Prof. Michael Neumaier je předsedou DGKL a vedoucím Vědecké rady Referenzinstitut für Bioanalytik Bonn jako zařízení patřícího společnosti DGKL. Je zde též supervizorem moderních kontrolních cyklů molekulární biologie. Těchto cyklů se v současnosti zúčastňuje dlouhodobě několik desítek klinických laboratoří z ČR. Jako vedoucí vědecké rady RfB Bonn spolupracuje dlouhodobě i s organizátory programu externího hodnocení kvality České republiky; organizace RfB Bonn je strategickým partnerem českého programu EHK SEKK. V posledních letech patří prof. Neumaier k hlavním organizátorům výročních kongresů DGKL (zejména těch v Mannheimu/Heidelbergu, kde pracovně

působí), na jejichž programu se často aktivně účastní i pracovníci české laboratorní medicíny. Jeho činnost má velký podíl na rozvoji a autoritě české laboratorní medicíny, ČSKB a zejména oblastí molekulární biologie a onkologické diagnostiky, tedy oborů, patřících k nejprogresivnějším částem moderní medicíny.

*Milan Dastych*

*Na návrh výboru ČSKB bylo prof. Michaelu Neumaierovi uděleno čestné členství České společnosti klinické biochemie.*

## Čestné členství ČSKB - MUDr. Petr Kocna, CSc.

MUDr. Petr Kocna, CSc. je vedoucím Gastroenterologické laboratoře Centrálních výzkumných laboratoří Ústavu lékařské biochemie a laboratorní diagnostiky 1. Lékařské fakulty Univerzity Karlovy a Všeobecné fakultní nemocnice v Praze. Jeho celoživotním vědeckým zájmem je především biochemická a funkční diagnostika gluténové enteropatie a poruch exokrinní funkce slinivky břišní. Je popularizátorem screeningového vyšetřování přítomnosti krve ve stolici, v současnosti je odborným garantem externí kontroly kvality pro kvantitativní imunochemické metody stanovení hemoglobinu ve stolici.

Vede přednášky pro pregraduální i postgraduální studenty 1. LF UK, FPBT VŠCHT a kurzy IPVZ a odborných společností ČLS JEP. Je členem několika českých a československých odborných společností se zaměřením na chemii a zdravotnickou informatiku, dále členem mezinárodní pracovní skupiny SIGN - Stable Isotopes in Gastroenterology and Nutrition, čtyři

roky zastupoval naši odbornou společnost v pracovní skupině IFCC - Working Group on Distance Education, v letech 2008 - 2010 byl předsedou výboru IFCC C-ECD (Committee on Education and Curriculum Development), 2009 - 2010 členem pracovní skupiny IFCC - CPD Internet & Distance Learning (WG-IDL), od roku 2012 je členem IFCC komise pro Internet a e-Learning (C-leL) a rovněž korespondujícím členem IFCC komise pro Distance Learning (C-DL). Petr ve volném čase rád a dobře fotografuje přírodu.

MUDr. Petr Kocna, CSc. patří mezi významné osobnosti našeho oboru a udělení čestného členství ČSKB ČLS JEP je výrazem poděkování a uznání jeho práci pro českou klinickou biochemii.

*Milan Dastych*

*Na návrh výboru ČSKB bylo MUDr. Petru Kocnovi, CSc. uděleno čestné členství České společnosti klinické biochemie.*

## PROGRAM

NEDELE 20. 9. 2015

od 12.30

**Prohlídka laboratoří OKB FN Brno**

15.00 – 15.30

**Zahájení**

*J. Racek, T. Zima, M. Dastych*

15.30 – 16.30

**Hořejšího přednáška**

doc. RNDr. Petr Štern, CSc.

**Analytika protilátek a použití protilátek v analytice**

**Antibodies analytics and antibodies used in analytic procedures**

16.30 – 17.00

**Přestávka na kávu**

17.00 – 18.00

**Plenární přednáška**

**PL-1** prof. Maurizio Ferrari, president IFCC, Itálie

**The future of molecular biology in the diagnostic laboratories**

20.00

**Uvítací večer v Besedním domě**

PONDĚLÍ 21. 9. 2015

08.30 – 10.00

**B1 – Vnitřní prostředí organismu pohledem specialistů různých oborů  
(Internal environment with a view from specialists from various branches)**

Koordinátoři: A. Jabor, R. Průša

**B1-1** Teplan V.

**Změny vnitřního prostředí při onemocnění ledvin  
Changes of internal environment in renal diseases**

(25 min.)

**B1-2** Kazda A.

**Vnitřní prostředí pohledem klinického biochemika  
Internal environment - clinical chemist's point of view**

(25 min.)

**B1-3** Kopecký J.

**Vnitřní prostředí organismu pohledem diabetologa – hyperosmolární  
hyperglykemický stav a diabetická ketoacidóza  
Internal environment of the organism viewed by a diabetologist – hyperosmolar  
hyperglycemic state and diabetic ketoacidosis**

(25 min.)

10.00 – 10.40

**Plenární přednáška**

**PL-2** prof. Michael Neumaier, president DGKL, Německo

**Advances in molecular diagnostics and their respective analytical quality assurance**

10.40 – 11.00

**Přestávka na kávu**

11.00 – 12.30 hod.

**B2 – Spolupráce klinické biochemie s klinickou osteologií  
(Cooperation of clinical biochemistry with clinical osteology)**

Koordinátoři: V. Palička, J. Racek

- B2-1** Palička V.  
**Metabolismus kostní tkáně a možnosti jeho sledování**  
**Bone metabolism and its laboratory reflection** (15 min.)
- B2-2** Pikner R.  
**Význam laboratorních vyšetření v klinické osteologii**  
**Clinical utility of laboratory assessment in osteologic patients** (15 min.)
- B2-3** Friedecký B.  
**Požadavky na analytickou a postanalytickou kvalitu laboratorního vyšetření markerů kostní formace**  
**Requirements on analytical and postanalytical quality for the analysis of bone markers turnover** (15 min.)
- B2-4** Vávrová J., Friedecký B., Pavlíková L., Palička V.  
**Vitamin D – možnosti stanovení a jejich specifika pro interpretaci hodnot u pacientů**  
**Vitamin D – possibilities of determination and their specific features for interpretation of values in patients** (15 min.)
- B2-5** Dusilová Sulková S., Palička V.  
**Metabolismus kosti, funkce ledvin a odraz v laboratorních výsledcích**  
**Bone metabolism, kidney function and reflection in laboratory results** (15 min.)

12.30 – 13.30

**Oběd**

13.30 – 15.00

**B3 – Kardiomarkery v klinice a experimentu v roce 2015  
(Cardiomarkers in the clinic and in the experiment during 2015)**

Koordinátoři: R. Pudil, V. Soška

- B3-1** Pudil R.  
**Srdeční troponiny v diagnostice strukturálních změn myokardu v klinické praxi v roce 2015**  
**Cardiomarkers in the diagnostics of structural changes of the myocardium in a clinical practice** (15 min.)
- B3-2** Horáček J. M., Vašatová M., Tichý M., Pudil R.  
**Kardiomarkery v diagnostice kardiotoxicity onkologické léčby – přehled a vlastní zkušenosti**  
**Cardiomarkers in the diagnostics of cardiotoxicity of oncology treatment – review and own experience** (15 min.)
- B3-3** Vašatová M., Pudil R.  
**Kardiální markery u pacientů s jaterní cirhózou**  
**Cardiac markers in cirrhosis patients** (15 min.)
- B3-4** Adamcová M.  
**Role srdečních troponinů v experimentální kardiologii**  
**Role of cardiac troponins in experimental cardiology** (15 min.)
- B3-5** Řehulková H., Fučíková A., Řehulka P., Řeháček V., Pudil R., Stulík J.  
**Využití proteomických nástrojů pro identifikaci markerů kardiovaskulárních chorob**  
**Application of proteomic tools for identification of cardiovascular disease markers** (15 min.)

15.00 – 15.30

**Přestávka na kávu**

15.30 – 16.30

**B4 – Hepatologie  
(Hepatology)**

Koordinátoři: L. Vitek, P. Kocna

- B4-1** Urbánek P.  
**Pokroky v léčbě virové hepatitidy C**  
**Recent advances in chronic hepatitis C antiviral treatment** (15 min.)

- B4-2** Vítek L.  
**Bilirubin, stále nepoznaný žlučový pigment**  
**Bilirubin, still unknown bile pigment** (15 min.)
- B4-3** Jirsa M.  
**Molekulární diagnostika metabolických nemocí jater**  
**Molecular testing for metabolic liver diseases** (15 min.)

16.30 – 16.45  
**Přestávka**

16.45 – 17.30  
**Plenární schůze**

20.00  
**Společenský večer v Moravské chalupě**

## ÚTERÝ 22. 9. 2015

09.00 – 10.00  
**B5 – Indikátory analytické kvality v klinické laboratoři**  
**(Indicators of analytical quality in clinical laboratory)**  
Koordinátoři: B. Friedecký, D. Springer

- B5-1** Friedecký B., Kratochvíla J.  
**Od analytické kvality ke kvalitě postanalytické fáze laboratorních vyšetření**  
**From analytical quality to quality of postanalytical processes** (20 min.)
- B5-2** Špírková J., Friedecký B., Pavlíková L.  
**Problémy analytické kvality vyšetření v režimu POCT**  
**Problems on the analytical quality of laboratory analysis by POCT** (15 min.)
- B5-3** Plíšková L., Kutová R., Pavlíková L.  
**Nový pohled na vnitřní kontrolu kvality v molekulární biologii**  
**A new view of the internal quality control in molecular biology** (15 min.)

10.00 – 11.15  
**B6 – Dyslipidémie a ateroskleróza: laboratorní a klinické aspekty**  
**(Dyslipidemia and atherosclerosis: laboratory and clinical aspects)**  
Koordinátoři: V. Soška, M. Vrablík

- B6-1** Bláha V.  
**PCSK9 - rozhodný pokrok v možnostech ovlivnění metabolismu LDL-cholesterolu**  
**PCSK9 - its role in the treatment of LDL metabolism disorders** (15 min.)
- B6-2** Vrablík M.  
**Lp-PLA2 a Lp(a) - co si počít s výsledky měření?**  
**LP-PLA2 and LP(a) - what to do with the results of measurement** (20 min.)
- B6-3** Soška V.  
**LDL-cholesterol nebo apolipoprotein B?**  
**LDL-cholesterol or apolipoprotein B?** (20 min.)
- B6-4** Novotný D., Budina M.  
**Kam dospěla standardizace měření LDL cholesterolu, apolipoproteinu B a lipoprotein (a)**  
**Standardization of LDL cholesterol, apolipoprotein B and lipoprotein (a) measurements: current state** (20 min.)

11.15 – 11.45  
**Přestávka na kávu**

11.45 – 13.15

**B7 – Automatizace a robotizace laboratorního provozu - současnost a perspektivy  
(Automation and robotization in a laboratory - the present and future)**

Koordinátoři: M. Dastyh, P. Štern

- B7-1** Štern P.  
**Automatizace po roce 2000**  
**Automation after the year 2000** (15 min.)
- B7-2** Kopecký P., Klimíček I.  
**Automatizace a robotizace laboratorních provozů ve velkých laboratořích - poslední trendy z pohledu společnosti Roche**  
**Automation and robotization in a big laboratory -last trends from Roche perspective** (15 min.)
- B7-3** Čech M.  
**Možnosti automatizace pro různé segmenty laboratoří**  
**Automation for various lab size** (15 min.)
- B7-4** Humpal M.  
**Redukce chybovosti a optimalizace pre- a postanalytické práce se vzorky pomocí systému INDEXOR**  
**Reduction of error rate and optimalization of pre- and postanalytical work with samples by the INDEXOR system** (15 min.)
- B7-5** Bischof M.  
**Nové trendy v automatizaci Beckman Coulter**  
**New trends in Beckman Coulter automation** (15 min.)
- B7-6** Stávek P., Táborský L.  
**Elektronická žádanka – krok k automatizaci přijetí laboratorního vzorku**  
**Electronic requisition - a step towards automating acceptance of the laboratory sample** (10 min.)

13.15 – 14.15

**B8 – POCT - partner klinických laboratoří?  
(POCT - clinical laboratories partner?)**

Koordinátoři: Springer D., Wahlstedt J.

- B8-1** Wahlstedt J.  
**Odpovědnost laboratoří za systémy POCT - Příklad z Finska**  
**Laboratories responsibility of POCT – Example from Finland** (15 min.)
- B8-2** Budina M.  
**Systémy POCT a jejich výsledky v EHK**  
**Results of POCT systems in EQA** (15 min.)
- B8-3** Kocna P.  
**POCT analýza FIT testů pro screening KRCA v České republice**  
**POCT analysis of FIT tests for CRC screening in the Czech republic** (15 min.)
- B8-4** Honěk P.  
**Proplácení výkonů prováděných POCT systémy ze zdravotního pojištění**  
**Reimbursement of interventions performed by POCT system from medical insurance** (15 min.)

14.15

**Závěr sjezdu**



---

## Workshopy firem

---

PONDĚLÍ 21. 9. 2015

08:30 – 10:00

**Workshop BECKMAN COULTER**

11:00 – 12:00

**Workshop ABBOTT**

12:30 – 13:30

**Workshop ROCHE**

13:45 – 14:45

**Workshop SIEMENS**

15:00 – 15:30

**Workshop SYSMEX**

15:45 – 16:15

**Workshop ROCHE**

ÚTERÝ 22. 9. 2015

10:30 – 11:30

**Workshop DIASORIN**

---

## SEZNAM POSTERŮ

---

### P-1

**Využití ultra-rychlého SPE-MS/MS systému pro stanovení čtyř tyrosin-kinasových inhibitorů v lidské plazmě**  
**Ultra-fast on-line SPE-MS/MS method for quantification of four tyrosine kinase inhibitors in human plasma**

Vrobel I., Mičová K., Šíroková J., Friedecký D., Faber E., Adam T. (*Olomouc*)

### P-2

**Folátem ovlivnitelné hyperhomocysteinemie (HHC) v rutinní praxi metabolické ambulance**  
**Hyperhomocysteinemias effectively treated by folate in the routine metabolic unit**

Hyánek J., Matoška V., Dubská L., Míková B., Pejznochová H., Dvořáková J., Táborský L., Martiníková V., Privarová J. (*Praha*)

### P-3

**Enzymová aktivita ceruloplazmínu v sére pacientov s Wilsonovou chorobou**  
**Enzymatic activity of ceruloplasmin in patients with Wilson's disease**

Turecký L., Kupčová V., Netriová J., Ščigulinský P., Uhlíková E. (*Bratislava*)

### P-4

**Cholinesteráza v sére experimentálnych zvierat so steatózou pečene**  
**Cholinesterase in sera of experimental animals with liver steatosis**

Turecký L., Kupčová V., Otrubová O., Muchová J., Uhlíková E. (*Bratislava*)

### P-5

**Enzymová aktivita ceruloplazmínu v priebehu gravidity a u žien s intrahepatálnou cholestázou gravidných**  
**Enzymatic activity of ceruloplasmin during pregnancy and in women with intrahepatic cholestasis of pregnancy**

Uhlíková E., Kupčová V., Divéky L., Sotáková L., Turecký L. (*Bratislava*)

### P-6

**Enzymová aktivita ceruloplazmínu u pacientov po transplantácii pečene - kazuistika**  
**Enzymatic activity of ceruloplasmin in patients after liver transplantation**

Uhlíková E., Kupčová V., Turecký L. (*Bratislava*)

### P-7

**Vliv kyseliny ursolové získané z přírodních zdrojů na regenerační schopnost jater**  
**Influence of ursolic acid from nature origin on liver regeneration**

Žaloudková L., Tichá A., Hyšpler R., Živný P. (*Hradec Králové*)

### P-8

**Pět let novorozeneckého screeningu dědičných metabolických poruch v České republice**  
**Five years of newborn screening of inherited metabolic disorders in the Czech Republic**

Chrastina P., Jandová J., Friedecký D., Hlídková E., Příbylová M., Zoulová V., Vlášková H., Pešková K., Pazdírková R., Procházková D., Ješina P., Hrubá Z., Adam T., Kožich V. (*Praha, Olomouc*)

### P-9

**Nástrahy testování POCT systémů stanovení glukózy**  
**Pitfalls of testing glucose POCT systems**

Springer D., Omastová K., Zima T. (*Praha*)

### P-10

**Testování volně cirkulující nukleové kyseliny v krevní plazmě**  
**Testing free circulating nucleic acids in blood plasma**

Beránek M., Totzauerová K., Vaňková R., Palička V. (*Hradec Králové*)

### P-11

**Vliv transportu potrubní poštou na cytobiochemické a spektrofotometrické vyšetření mozkomíšního moku.**  
**Influence of pneumatic tube system transport on cytochemical and spectrophotometric parameters of cerebrospinal fluid.**

Brož P., Rajdl D., Ženková J., Petříková V. (*Plzeň*)

### P-12

**Výsledky sledování indikátorů kvality preanalytické fáze v České republice versus Evropa**  
**Monitoring the indicators of preanalytical phase**

Bunešová M., Moravcová L. (*Praha*)

### P-13

**Deficit galaktokinázy a stanovenie galaktitolu na Slovensku**  
**Galactokinase deficiency and galactitol determination in Slovakia**

Ferency V., Behúlová D., Šebová C., Zahorcová M., Gerinec A., Tomčíková D., Bzdúch V. (*Bratislava*)

**P-14**

**iFABP jako potenciální marker poškození tenkého střeva v průběhu resekce tlustého střeva**

**iFABP as a potential markers of small bowel damage after large intestine resection**

Hyšpler R., Tichá A., Svobodová I., Kaška M., Drahošová M., Zadák Z. (*Hradec Králové*)

**P-15**

**Analýza galaktitolu a sacharidů v moči pomocí GC/MS**

**Analysis of urinary galactitol and saccharides by GC/MS**

Jáčová J., Bekárek V., Friedecký D., Hlídková E., Petrželová S., Adam T. (*Olomouc*)

**P-16**

**Stanovení manganu a selenu v mozkomíšním moku u dětských a dospělých pacientů**

**Investigation of manganese and selenium in cerebrospinal fluid of children and adults**

Kotaška K., Jiráková L., Pospíšilová R., Franěk T., Průša R. (*Praha*)

**P-17**

**Role proteinu ACBD3 v mitochondriálním energetickém metabolismu**

**Role of ACBD3 protein in mitochondrial energy metabolism**

Kratochvílová H., Rodinová M., Stránecký V., Marková M., Vondráčková A., Sládková J., Honzík T., Hansíková H., Zeman J., Tesařová M. (*Praha*)

**P-18**

**Hodnocení možného přínosu vyšetření Hevylite u mnohočetného myelomu s lehkými řetězci (LCMM)**

**Analysis of potential contribution of Hevylite assessment in light-chain only multiple myeloma**

Lochman P., Ščudla V., Píka T., Minařík J. (*Olomouc*)

**P-19**

**Vyšetření DNA v mateřské plasmě u těhotenství dosažených metodami asistované reprodukce.**

**Maternal plasma DNA testing for aneuploidy in pregnancies achieved by assisted reproductive technologies**

Loucký J., Lambert-Messerlian G., Kloza M.E., Williams J., O'Brien B., Wilkins-Haug L., Mahoney J. M., De Biasio P., Borrell A., Ehrich M., Van den Boom D., Bombard T. A., Deciu C., Palomaki E. G. (*Zlín, Providence, Los Angeles, Boston, New Haven, Genova, Barcelona, San Diego, Praha*)

**P-20**

**Stanovení iohexolu jako ukazatele glomerulární filtrace**

**Determination of iohexol as a marker of glomerular filtration**

Malínská H., Kazdová L., Štollová M., Teplan V. (*Praha*)

**P-21**

**Kolorimetrický a voltametrický průkaz peroxidázové aktivity magnetických částic: základní platforma pro konstrukci peroxidázových biosenzorů**

**Colorimetric and voltammetric demonstration of peroxidase-like activity of magnetic particles: basic platforms for peroxidase biosensors**

Martinková P., Pohanka M. (*Hradec Králové*)

**P-22**

**Vybrané parametry oxidačního poškození DNA u pacientů s těžkými popáleninami**

**Selected parameters of oxidative DNA damage in patients with severe burns**

Matejovičová M., Hlaváčová M., Lipový B., Novotná L., Paulová H. (*Brno*)

**P-23**

**Zvýšená exprese mRNA biliverdinreduktázy A v játrech a periferních leukocytech u pacientů s hepatocelulárním karcinomem podmíněným HCV infekcí**

**Upregulated biliverdin reductase A mRNA expression in HCV-associated hepatocellular carcinoma in the liver and peripheral blood leukocytes**

Matoušová L., Kubíčková K., Urbánek P., Vítek L., Zima T., Subhanová I. (*Praha*)

**P-24**

**Významné změny O-glykosylace sérového apolipoproteinu C-III u pacientů s dědičnými poruchami metabolismu glykogenu**

**Changes in O-glycosylation of serum apolipoprotein C-III in patients with glycogen storage diseases**

Ondrušková N., Honzík T., Kolářová H., Poupětová H., Zeman J., Hansíková H. (*Praha*)

**P-25**

**Analýza močových konkrementů rastrovací elektronovou mikroskopií**

**Scanning electron microscopy in analysis of urinary stones**

Racek J., Racek M., Hupáková I. (*Plzeň, Praha*)

**P-26**

**Změny energetického metabolismu a ultrastruktury mitochondrií v kultivovaných kožních fibroblastech od 15 pacientů s Huntingtonovou chorobou**

**Disturbances in mitochondrial ultrastructure and energetic metabolism in cultivated skin fibroblasts from 15 patients with Huntington's disease**

Rodinová M., Spáčilová J., Kratochvílová H., Marková M., Daňhelovská T., Tesařová M., Lišková I., Klempíř J., Zeman J., Hansíková H. (Praha)

**P-27**

**Srovnání dvou ELISA kitů pro vyšetření celkového tau proteinu and beta-amyloidu**

**Comparison study of two ELISA kits for total tau protein and beta-amyloid**

Roubalová L., Prošková J. (Olomouc)

**P-28**

**Výběr vhodných testů pro diagnostiku hypokortizolismu**

**Selection of suitable hypothalamic-pituitary-adrenal axis tests for diagnostic of hypocortisolism**

Simunkova K., Duskova M., Kosak M., Krsek M., Hana V., Zanova M., Springer D. (Praha)

**P-29**

**Citrulin jako marker komplikací u perioperativního poškození střeva**

**Citrulline as a marker of perioperative damage of intestine**

Tichá A., Hyšpler R., Žaloudková L., Vašatová M., Kaška M., Zadák Z. (Hradec Králové)

**P-30**

**Srovnání dvou přístrojů na stanovení glykovaného hemoglobinu metodou iontoměničové chromatografie**

**The comparison of two devices for an evaluation of a glycated haemoglobin by the method of ion exchange chromatography**

Kubíčková V., Bednaříková J., Pospíšilová I. (Olomouc)

**P-31**

**Vyšetření synoviální tekutiny na oddělení klinické biochemie Thomayerovy nemocnice**

**Synovial Fluid Examination in Clinical Biochemistry Department of Thomayer's Hospital**

Vítovcová M., Pavlová Z., Bořecká K. (Praha)

**P-32**

**Analytické a postanalytické parametry interference Dicynonu u metod s Trinderovou reakcí**

**Analytical and postanalytical parameters of Dicynone interference in methods with Trinder reaction**

Wiewiorka O., Plešková V., Čermáková Z., Dastych M. (Brno)

**P-33**

**Normativní studie S100B a NSE v likvoru**

**Biomarkers of Brain Damage: S100B and NSE Concentrations in Cerebrospinal Fluid- A Normative Study**

Hajduková L., Sobek O., Prochalová D., Bílková Z., Koudelková M., Lukášková J., Matuchová I. (Praha, Kladno)

**P-34**

**Metabolické profilování vzorků plasem a leukocytů u pacientů s chronickou myeloidní leukémií**

**Metabolite profiling of plasma and leukocytes of chronic myeloid leukemia patients**

Šíroká J., Karlíková R., Hrdá M., Friedecký D., Faber E., Mičová K., Gardlo A., Janečková H., Adam T. (Olomouc)

**P-35**

**Lehké řetězce neurofilament a protilátky proti lehkým řetězcům u pacientů s roztroušenou sklerózou**

**Relationship between neurofilament light chains and antibodies against them in cerebrospinal fluid in patients with multiple sclerosis**

Švarcová J., Fialová L., Bartoš A., Zimová D., Malbohan I., Illner J. (Praha)

**P-36**

**Diagnostický algoritmus karcinomu prostaty pomocí výpočtu Indexu zdravé prostaty (PHI)**

**The Diagnostic Algorithm for Prostate Cancer using Prostate Health Index (PHI)**

Fuchsová R., Topolčan O., Dolejšová O., Hora M., Kučera R., Eret V., Ferda J. (Plzeň)

### Hořejšího přednáška

#### **Analytika protilátek a použití protilátek v analytice**

Antibodies analytics and antibodies used in analytic procedures

Štern P.

e-mail: petr.stern@atlas.cz

Pro pochopení průběhu imunoreakce je nutné mít alespoň základní představu o prostorové konfiguraci protilátky (Ab). Významnou funkci ve stabilizaci struktury hrají disulfidické můstky. Při reakci Ab s antigenem (Ag) mohou interferovat endogenní Ab. Nejvíce používané Ab IgG a IgM reagují v imunoreakci odlišně. IgM nemá na rozdíl od IgG pant, a při reakci se musí z planární hvězdicovité struktury překlomit do svorkové krabí konfigurace. Na Ab působí elektrostatické interakce, vodíkové můstky, hydrofobní vazby a van der Waalsovy síly. Oblast Fc fragmentu blokuje před navázáním Ag sacharidy. Konstantní a variabilní domény lehkých a těžkých řetězců Fab mají navzájem podobnou strukturu. Každá doména obsahuje zdrojové datové soubory na dvojici tří a pěti plátů. Oba soubory plátů jsou spojeny disulfidickým můstkem. Diverzitu struktury pro imunitní odezvu zajišťuje sekvence aminokyselin (AA) variabilní domény lehkých řetězců. Vazebné místo pro Ag tvoří hypervariabilní smyčka snadno ovlivnitelná pořadím AA. Oblasti určující komplementaritu (CDR) jsou hypervariabilní. Lehké a těžké řetězce vytvářejí vždy 3 CDR, tvořící stěny s drážkou pro Ag. Na Ab se obvykle váží 2 Ag. Kontaktní povrch mezi Ag a Ab může být rozlehlý a umožnit pevné a vysoce specifické spojení. Počet epitopů může být u velkých Ag poměrně značný. Pro stanovení lidských Ab je velká komerční nabídka zvířecích Ab, přičemž převládají myší a králíčí Ab; více se nabízejí polyklonální než monoklonální Ab. Senzitivita při stanovení Ab je až 100 ng/l. Syntetické peptidy se známou sekvencí AA nemusí odpovídat prostorovému uspořádání nativní Ab, a proto se nehodí jako standardy k validaci při imunoprecipitaci a v imunohistochemii. Monoklonální Ab nemusí být specifické jen vůči cílovému Ag, nebo jej naopak nemusí zachytit (dokonce i jednotlivé šarže se mohou lišit mezi sebou). Trh s protilátkami je obrovský a ověření specifity je reálně věcí zákazníka a nikoliv výrobce.

**MODERNÍ METODY:** Příprava čipů pro imunanalýzy je komplikovaná. Avidita Ab se liší podle nosiče a pro vyjádření senzitivity není žádná standardizace. Současná metodologie (s krátkou inkubací a bez míchání) vede ke snížení reakční rychlosti 300x (ve srovnání s ideálními podmínkami). Senzitivitu ovlivňuje: inkubační čas, velikost reakční plochy, povrch v místě reakce, hustota vazebných míst, účinnost míchání, geometrie inkubační komůrky, množství vzorku a způsob detekce. Senzitivita může být definována jako míra změny odezvy na malou změnu podnětu, nebo nejmenší kvantita podnětu, která může být rozlišena s daným

stupněm spolehlivosti. Paralelní kompetitivní imunanalýza s přímým nebo nepřímým značením umožňuje stanovit současně až stovky Ag, ale je méně citlivá než sendvičový postup, kdy je ovšem počet stanovovaných Ag limitovaný, vzhledem k vzájemné interakci detekčních Ab. Kapilární elektroforéza (CE) se provádí jak v homogenním (kompetitivní nebo nekompetitivní), tak v heterogenním uspořádání (s izolací analytu před CE). CE se používá k separaci imunokomplexu a volného reaktantu, nebo k eluci značené Ab při afinitní chromatografii po imunanalýze (s ochranou paratopu Ab). Možnosti detekce jsou na principu: fluorescence, UV/VIS spektrofotometrie, chemiluminiscence, elektrochemie, hmotnostní spektrometrie nebo povrchové plazmonové rezonance. Luminiscence je běžně používaná metoda, ale rozvoj luminometrů posledních 20 let stagnuje. Luminiscence rozložená v čase může být uspořádána tak, že anténový ligand absorbovanou excitační energii přenáší přes tripletovou hladinu na chelát trojmocného europia. Anténový ligand může zvýšit absorpci záření až 100 000x. Luminiscenci lanthanoidu lze zvýšit také enzymovou reakcí, např. s ALP. Další postupy mohou být založeny na zhášení luminiscence koloidním zlatem, nebo fluorescence při kontaktu se zhášečem. Na druhé straně může koloidní zlato iniciovat, po oxidaci, luminiscenci luminolu (senzitivita 3,1 pmol/l IgG). Kromě luminolu se jako značky hojně používají estery akridinu. Elektroluminiscence je často používaná pro vysokou senzitivitu (10 pmol/l) a dobrou časovou i prostorovou kontrolu reakce na povrchu elektrody. Pro kompetitivní imunoreakce lze použít i nevyčištěnou Ab, i když sendvičový postup je mnohem specifitější. Takto lze stanovit např. 0,1 mg/l CRP. Pro stanovení receptorů se využívá metody přímé vazby značené Ab. Detekční limit elektroluminiscence lze podstatně snížit zabudováním bipyridylruthenia do liposomu, který se použije jako marker (senzitivita 1 pg/l AFP). Značkou může být také zhášeč (např. nanokrystal CdSe/ZnS), které zháší elektroluminiscenci křemíkového nanokrystalu. Novinkou je použití uhlíkových elektrod ve tvaru mikrotitračních destiček, umožňujících stanovit až 10 Ag na každé elektrodě. Při simultánní elektroluminiscenci se upřednostňuje prostorově rozlišená analýza více analytů s univerzálním značením před stanovením analytů s více markery. V elektrochemických imunanalýzách se jako markery používají apoferritin, liposomy, polovodičové nanočástice, uhlíkové nanotrubičky plněné enzymem nebo zlato. Detekce se provádí obvykle ampérometricky. Nanočástice mohou také deformovat po imunoreakci křemíkové krystaly; deformace se sleduje piezoelektrickým oscilátorem. Imunochromatografie na nitrocelulózové membráně se může použít i pro kvantitativní analýzy s fluorimetrickou detekcí v kompetitivním, inhibičním nebo sendvičovém uspořádání. Polovodičové nanokrystaly mají mnohem lepší fluorescenční vlastnosti (fluorescence nastavitelná podle velikosti částice, široké absorpční a úzké emisní

spektrum, intenzivní fluorescence a vlastnosti zabráňující zeslabování světla). Nanokrystaly (např. CdSe/ZnS) se mohou použít také jako kapacitní adsorbens pro Ab (20x vyšší hustota vazeb než u koloidního zlata). HPLC s tandemovou MS separuje peptidy na základě hydrofobicity. Dále 1. kvadrupól vybere peptidy na základě m/z, 2. kolizní kvadrupól provede fragmentaci a 3. kvadrupól vybere zvolený fragment. V detektoru se pak k fragmentu přiřadí jeho prekursor. Cílový Ag lze zachytit také specifickou Ab ve špičce nebo na kuličce a po eluci stanovit MS (s matricí zprostředkovanou laserovou desorcí a následnou ionizací). Extrémně citlivé imunoanalýzy využívají tranzistor řízený polem s detekcí imunogenu na hradle (senzitivita 0,1 fmol/l), nebo senzor obřího elektrického odporu magnetického pole, kde malá změna pole vyvolá velký pokles elektrického odporu (senzitivita 5 fmol/l). Závěrem přednášky jsou uvedeny příklady široké nabídky metod pro stanovení Ab vůči imunogenům a použití Ab ke stanovení imunogenů a haptenu. Při imunoanalýzách se objevují nejvíce tyto problémy: nedostatek shody mezi různými analytickými soupravami, blokáce epitopů Ag endogenními imunoglobuliny při stanovení autoprotilátek, vazba endogenních nespecifických nebo multispecifických imunoglobulinů na Ab použitou jako činidlo, efekt přebytku Ag při imunoreakci.

## PL-1

### The future of molecular biology in the diagnostic laboratories

prof. Maurizio Ferrari  
*president IFCC, Itálie*

Abstrakt nedodán.

## PL-2

### Advances in molecular diagnostics and their respective analytical quality assurance

prof. Michael Neumaier  
*president DGKL, Německo*

Abstrakt nedodán.

## B1-1

### Změny vnitřního prostředí při onemocnění ledvin

Changes of internal environment in renal diseases

Teplan V.  
*Klinika nefrologie IKEM, Praha*  
*e-mail: vladimir.teplan@medicon.cz*

Ledviny mají nezastupitelnou roli v organismu. Při jejich poruše jsou postiženy následující funkční systémy:

- 1) Funkce endogenně-exkreční: vylučování endogenních katabolitů (např. dusíkatých látek), kontrola a řízení homeostázy vnitřního prostředí, udržení stálého objemu a složení extracelulární tekutiny z hle-

diska jejího elektrolytového složení, osmotické koncentrace a acidobazické rovnováhy.

- 2) Funkce exogenně-exkreční: vylučování cizorodých látek, které narušují normální složení vnitřního prostředí. Do této skupiny látek patří i četné léky.
- 3) Funkce metabolicko-endokrinní. V ledvinách se tvoří látky hormonálního charakteru nebo díky metabolické přeměně v ledvině se tvoří z látek neúčinných (nebo méně účinných) látky vysoce biologicky aktivní.

Ledviny mohou být poškozeny akutně či chronicky, a s tím souvisí i dynamika a rozsah změn vnitřního prostředí. Současná klasifikace akutního poškození ledvin (AKI) se dělí do 5 stadií (RIFLE) či nověji dle AKIN do 3 stadií. Klasifikace chronického onemocnění ledvin (CKD) z původního CKD 1-5 se nyní dle KDIGO dělí do 6 stadií (G1, 2, 3a, 3b, 4, 5) a průvodná albuminurie do stadií 3 (A1-3). O zařazení rozhoduje funkční vyšetření ledvin, kde vedle sérového kreatininu stanovujeme cystatin C a hodnoty odhadnuté (estimated) glomerulární filtrace (eGFR) se počítají dle výpočtových vzorců např. CKD-MDRD, CKD-EPI, CKD-Lund-Malmö, CKD-EPI cys, CKD-EPI kr-cys, či dalších modifikovaných vzorců (historický výpočet dle Cockcroft- Gaulta či BIS1 a BIS2 pro seniory nebo CKD-MDRD pro obézní pacienty). Přesné měření renální funkce provádíme clearancí inulinu, a to klasicky se sběrem moči nebo formou plazmatické clearance. Současně můžeme posoudit i koncentrační schopnost ledvin, dnes pouze zkráceným DDAVP testem s podáním Minirinu. Funkční vyšetření umožňuje i posouzení tubulárních funkcí stanovením frakčních exkrecí Na a K a osmolality séra a moče. Acidifikační a alkalizační schopnost ledvin je spojena se stanovením bikarbonátu a titrovatelné acidity.

## B1-2

### Vnitřní prostředí pohledem klinického biochemika

Internal environment - clinical chemist's point of view

Kazda A.  
*Ústav lékařské biochemie a laboratorní diagnostiky*  
*1. LF UK a VFN Praha*  
*e-mail: kazda@vfn.cz*

Cíl: Vnitřní prostředí (VP) vytváří pro organismus podmínky, umožňující jeho aktivity a přežití. Proto má včasná diagnóza a úprava poruch VP zásadní význam.

Metody: Sdělení hodnotí problematiku VP ze tří hledisek:

1. Uvádí závažné poruchy parametrů VP, které vedou ke komatózním stavům a jsou spojeny s rizikem úmrtí.
2. Upozorňuje na provázanost vztahů mezi parametry, vyžadující komplexní hodnocení nálezů. To se týká např. vztahů mezi kalemii a pH nebo mezi iontovými systémy a acidobazickou rovnováhou (ABR). Za jejím zdánlivě fyziologickým nálezem se mohou skrývat dvě těžké poruchy, metabolická acidóza "kompenzovaná" stejně závažnou metabolickou alkalózou. Nálezy iontogramu upozorňu-



jí na řadu patologických vlivů na ABR. Informaci z kvalitní výpočty: difference silných iontů, neměřených aniontů, anion gap. Při hypo a hypernatremiích se zpravidla stejným směrem pohybují i hodnoty chloridů, ale pokud je jejich výchylna větší nebo menší než odpovídá změně natremie, lze to jednoduchým výpočtem zjistit. Taková změna chloridů potencuje nebo tlumí poruchu ABR, k níž při dysnatremiích došlo. Toto poznání má význam pro výběr infuzí solných roztoků. Další vztahy plynou ze změn efektivní osmolality. Např. hyperglykemie přetahuje vodu z buněk do extracelulárního prostoru a natremii naředí.

3. Parametry VP nelze hodnotit bez znalosti příčin poruch a dalších údajů anamnestických a klinických. To se týká např. rychlosti úpravy dysnatremie (délka trvání) i hodnocení vývoje poruch ABR.

Výsledky: častá závažnost poruch VP, provázanost vztahů mezi parametry a propojení VP s klinickým průběhem vyžadují komplexní přístup k diagnóze i terapii. Závěr: Spolupráce biochemika s klinickými lékaři formou konzultací, účasti na vizitách a seminářích je přínosná nejen pro pacienty, ale i obě profesní strany.

### B1-3

#### **Vnitřní prostředí organismu pohledem diabetologa – hyperosmolární hyperglykemický stav a diabetická ketoacidóza**

Internal environment of the organism viewed by a diabetologist – hyperosmolar hyperglycemic state and diabetic ketoacidosis

Kopecký J.  
Centrum Diabetologie IKEM, Praha  
e-mail: jan.kopecky@ikem.cz

Hyperglykemický hyperosmolární stav je komplikací především diabetu 2. typu a je charakterizován hyperglykemií, těžkou dehydratací, často renální insuficiencí a v závislosti na závažnosti změn poruchami vědomí různé intenzity. Typickou příčinou je relativní nedostatek inzulínu v kombinaci se stavem znemožňujícím dostatečný přísun tekutin při narůstající osmotické diuréze z hyperglykemie. Množství inzulínu však stále dostatečně na zabránění výraznější ketogeneze. Klinicky dominuje žízeň, polyurie a progredující porucha vědomí až kóma. Laboratorně nalezneme sérovou hyperosmolaritu danou hyperglykemií a dehydratací. Diferenciálně diagnosticky je závažná záměna s cerebrovaskulární příhodou, stav je zároveň stran rozvoje tromboembolických příhod velmi rizikový. Diabetická ketoacidóza je komplikací častější u diabetu 1. typu, deficit inzulínu je zde výraznější, oproti výše uvedenému stavu již nestačí na potlačení ketogeneze a rozvíjí se zde kromě hyperglykemie i acidóza

z produkce ketolátů. Mastné kyseliny jsou uvolňovány ve zvýšené míře do krevního oběhu, oxidovány v játrech, konečný produkt (acetyl-CoA) ale není při deficitu inzulínu využíván v citrátovém cyklu ale tvoří silné organické kyseliny, acetoacetát a 3-hydroxybutyrát. Klinické obtíže spojené s acidózou – nevolnost, zvracení a dušnost mohou přivést pacienta k lékaři dříve, než se stačí rozvinout výrazná hyperglykémie a dehydratace. V laboratorním nálezu dominuje metabolická acidóza se zvýšením „anion gap“ v důsledku hromadění organických kyselin. Diferenciální diagnóza zahrnuje m. j. některé typy otrav (methylalkohol, ethylenglykol, salicyláty), alkoholickou ketoacidózu, laktátovou acidózu a uremii. Mezi oběma uvedenými stavy není ostrá hranice, plynule mezi sebou přecházejí. Léčba je v základních principech stejná, spočívá zejména v úhradě deficitu vody, elektrolytů a podání inzulínu.

### B2-1

#### **Metabolismus kostní tkáně a možnosti jeho sledování**

Bone metabolism and its laboratory reflection

Palička V.  
ÚKBD Fakultní nemocnice Hradec Králové  
e-mail: palicka@lfhk.cuni.cz

Metabolismus kostní tkáně je složitou orchestrací dějů uvnitř kosti, ale i jejich ovlivnění ostatními systémy a orgány těla. Klinická potřeba detekce kostního metabolismu vyplývá ze snahy:

- a) včas a správně diagnostikovat případnou poruchu,
- b) odhadnout její další rozvoj,
- c) pokud možno predikovat odpověď na léčbu,
- d) monitorovat efekt léčby.

Zobrazovací metody jsou v tomto smyslu prozatím málo přínosné, především pro „statický obraz“, k jehož změně obvykle dochází až za poměrně dlouhou dobu (včetně měření kostní minerální hustoty). Laboratorní metody poskytují daleko dynamičtější obraz a mohou přispět k řešení všech čtyř výše uvedených požadavků. Jejich zásadními nedostatky ale jsou:

- a) zastaralost spektra – klasické kostní markery je potřeba doplňovat novými, navazujícími na nové patofyziologické poznatky o metabolismu kostní tkáně (například FGF23, sklerostin a další),
- b) klinicky zcela nevyhovující standardizace a nepřenositelnost výsledků mezi jednotlivými metodami,
- c) vysoká biologická i analytická variabilita.

Postupné odstraňování zmíněných nedostatků s lepší reflexí novinek a specifikace požadavků pro jednotlivé chorobné stavy mohou přinést zásadní zlepšení laboratorní podpory diagnostiky, predikce i monitorování metabolických kostních chorob.

## B2-2

### Význam laboratorních vyšetření v klinické osteologii

Clinical utility of laboratory assessment in osteologic patients

Pikner R.

*Odbor Klinických laboratoří, Klatovská nemocnice a.s.*  
e-mail: pikner@nemkt.cz

Laboratorní vyšetření je nedílnou součástí péče o pacienty s osteoporózou. Stejně tak jako densitometrické vyšetření mají laboratorní parametry své indikace a limity. Mezi základní vyšetření patří běžné biochemické parametry (ionty, jaterní, ledvinné testy, ELFO bílkovin), dále vyšetření kalcio-fosfátového metabolismu (Ca, P, 25 OH vit D, PTH, Ca/kreat v moči) a i vyšetření markerů kostního obratu (PINP, kostní ALP, Crosslaps, Osteocalcin, TRAP5b). I přes řadu nevýhod pomáhají laboratorní vyšetření při diagnostice sekundárních příčin osteoporózy optimalizovat příjem vápníku a vitamínu D, poskytují dynamické informace o efektivitě terapie a upozorňují na nedostatečnou adherenci pacientů k léčbě.

Cílem prezentace je tedy poskytnout stručný přehled indikací a limitací laboratorních vyšetření. Kdy a kde jaké parametry je možné indikovat se zaměřením na parametry kostního metabolismu, jejich hodnocení.

## B2-3

### Požadavky na analytickou a postanalytickou kvalitu laboratorního vyšetření markerů kostní formace

Requirements on analytical and postanalytical quality for the analysis of bone markers turnover

Friedecký B.

*SEKK s.r.o., Pardubice*  
e-mail: friedecky@sekk.cz

Ukazatele formace a resorpce kostní hmoty (BMT-bone markers turnover) jsou užitečným nástrojem predikce rizika fraktur u subpopulací s osteoporózou a zejména slouží ke sledování efektu její terapie. Pracovní skupina IOF-IFCC hodnotila v letech 2011 a 2014 požadavky na kvalitu měření BMT. Důraz byl kladen zejména na dva ukazatele, považované za klíčové: P1NP a CTx. Za limity efektivního použití BMT je považován nedostatek standardizace a nedostatečnost kontroly kvality. Data českého programu EHK ukazují závažné poznatky, které by mohly být využity k okamžitému zlepšení současné situace. U klíčových analytů CTx a P1NP je možné docílit harmonizace výsledků pouhým výběrem metod měření, respektive ostražitým vztahem k případným nabídkám nových diagnostik. Toto stanovisko je již z pouhé inspekce výsledků kontrolních cyklů SEKK-BM zcela zřejmé. Při měření PTH, ukazatele vztahu mezi kostním metabolismem a renálními funkcemi, by měla být významně realizována orientace na metody

třetí generace, vykazující vyšší specifičnost a užší vztah ke standardizaci. Vzorovým příkladem nezbytnosti standardizace je mezinárodní program standardizace u vitamínu D (VDSP). Reakce na jeho výsledky by měla být součástí hodnocení kvality. Základem postanalytické kvality vyšetřování BMT, podmiňující přenosnost výsledků mezi laboratořemi a klinickými centry, je používání správných jednotek měření. V současnosti dosahuje používání různých jednotek, a tím i číselných hodnot výsledků v laboratořích 14-50 %. Situace vyžaduje rychlé řešení na úrovni oficiálního doporučení. Analytická kvalita vyšetření BMT vyžaduje použití kritérií biologické variability, postanalytická kvalita pak udávání hodnot RCV. Program EHK by měl kombinovat hlediska analytické a postanalytické kvality.

## B2-4

### Vitamin D – možnosti stanovení a jejich specifika pro interpretaci hodnot u pacientů

Vitamin D – possibilities of determination and their specific features for interpretation of values in patients

Vávrová J., Friedecký B., Pavlíková L., Palička V.  
*ÚKBD Fakultní nemocnice Hradec Králové*  
e-mail: vavrovaj@lfhk.cuni.cz

Zařazení pacienta do ambulantního léčení v osteologické poradně je spojeno s podrobným biochemickým laboratorním vyšetřením. Již vstupní panel vyšetřovaných parametrů zahrnuje požadavek na vyšetření aktuální saturace organismu 25-hydroxyvitamínem D. Aktivní forma 1,25 dihydroxyvitamín D je vyšetřována s významně nižší frekvencí požadavků. Analytické zázemí metody stanovení 25 hydroxyvitamínu D je dlouhodobě diskutovanou otázkou. Laboratorně dostupné imunoanalytické metody (zastoupeny 90,7% v systému EHK DEQAS) a separační techniky (LC MS/MS a HPLC využívá 9,3% účastníků DEQAS) jsou na cestě postupného procesu standardizace 25 hydroxyvitamínu D. Laboratorně se začínají prosazovat také diagnostické soupravy stanovení 1,25 dihydroxyvitamínu D pro imunochemické analyzátoři, které jsou využívány paralelně s předchozí generací RIA postupů, metody LC-MS/MS ani v této oblasti prozatím běžnou rutinní praxí v našich laboratořích nejsou. Pro interpretaci výsledků je stále nedořešeným problémem rozpětí fyziologických hodnot 25 hydroxyvitamínu D vzhledem k věku a ročnímu období. Většina výrobců diagnostických souprav vychází z číselných hodnot původní RIA metody, klinici tedy často rozhodují na podkladě číselných hodnot číselně nesrovnatelných diagnostických postupů. Nejasnosti přetrvávají rovněž v informacích, ke kterému vitamínu D se laboratorní výsledky vztahují. Pro hodnocení saturace je důležité vzít v potaz také typ preparátu, kterým je pacient suplementován. Aktivní spolupráce laboratorních pracovníků s ambulantními lékaři má v těchto situacích, stejně tak jako při řešení atypických nálezů, velký význam.



## B2-5

### Metabolismus kosti, funkce ledvin a odraz v laboratorních výsledcích

Bone metabolism, kidney function and reflection in laboratory results

Dusilová Sulková S., Palička V.  
*Hemodialyzační středisko Fakultní nemocnice Hradec Králové*  
e-mail: sylvie.dusilova@fnhk.cz

Metabolismus kosti je změněn v časných fázích chronických onemocnění ledvin (CKD), a to vlivem snížené/chybějící renální eliminace i snížené/chybějící metabolické a endokrinní funkce ledvin. Výsledné kostní změny jsou především spojeny se sekundární hyperparathyreózou. Laboratorním odrazem je zvýšená/vysoká koncentrace parathormonu, normální/zvýšená hodnota kostního izoenzymu ALP, normokalcémie, hyperfosfatémie a nízká koncentrace kalcitriolu. V současné době se na metabolické kostní změny při CKD nahlíží v komplexnějším pohledu: zvažuje se, jakou roli mohou mít kostní změny u daného pacienta, bez závislosti na onemocnění ledvin (postmenopausální osteoporóza, jiné metabolické osteopatie). Role klasických (P1NP, CTX, TRAP a další) i nových (sklerostin) kostních biomarkerů není pro CKD plně objasněna a je v současné době intenzivně studována. Nové eliminační metody, které se stále více uplatňují v léčbě selhání ledvin, zejména selhání chronického, mají vyšší propustnost membrány. Ukazuje se, že sérové koncentrace vybraných osteomarkerů (CTX) se výrazně mění při konvektivních, avšak nikoliv difusivních procedurách. Dalším faktorem, který výrazně ovlivňuje akutní a zřejmě i dlouhodobý vývoj kostních ukazatelů v čase u dialyzovaných pacientů, je složení dialyzačního roztoku (typ přidané kyselá složky k bikarbonátové bázi, tj. citrát vs acetát, a koncentrace difusibilního kalcia v roztoku). Pacienti s chronickým onemocněním mají nižší hladiny nativního vitamínu D ve srovnání s běžnou populací. Tato skutečnost může přispívat k tomu, že hladiny kalcitriolu jsou nižší než by odpovídalo stupni poškození ledvin. Dalším důvodem, proč je kostní metabolismus narušen již v časných fázích renálního onemocnění, je kompenzatorní odezva organismu na retenci resp. nálož fosfátů. Při snížené funkci ledvin je fosfatémie dlouho udržena v referenčním rozmezí, protože stoupá exkreční frakce fosfátů. Do nedávna byla kompenzatorní fosfaturie považována se důsledek hyperparathyreózy, dnes je zřejmé, že se podílí i nadprodukce druhého fosfatoninu, FGF-23 v kostních buňkách. FGF-23 je významným inhibítorem 1-alfa-hydroxylázy, což dále snižuje koncentraci kalcitriolu. Při jakémkoliv onemocnění ledvin se sníženou funkcí je nejistá interpretace koncentrací látek v moči, resp. močových odpadů a odvozených indexů. Zejména nepřesná je kalciurie, neboť renální tubulární funkce mohou ovlivnit jen to množství látky, které bylo vyloučeno glomerulární filtrací. Spolehlivá diagnostika kostních změn a určení možností léčby u nefrologických nemocných vyžaduje spolupráci nefrologa, osteologa, biochemika a dalších medicínských oborů.

## B3-1

### Srdeční troponiny v diagnostice strukturálních změn myokardu v klinické praxi v roce 2015

Cardiomarkers in the diagnostics of structural changes of the myocardium in a clinical practice

Pudil R.  
*I. interní kardiologická klinika, FN a LF UK v Hradci Králové*  
e-mail: pudilr@lfhk.cuni.cz

Stanovení hladin srdečních troponinů vysoce/ultrasenzitivními metodami se stalo zavedenou součástí běžné klinické praxe. Hlavní indikací jejich využití je průkaz myokardiální nekrózy v diagnostice akutních koronárních syndromů (s nebo bez elevací ST segmentů). Jejich stanovení také významně přispívá k určení správné diagnózy v diferenciální diagnostice bolestí na hrudi v prostředí urgentních provozů. V této souvislosti vzbuzují velkou pozornost tzv. rule-in/rule-out protokoly, které mají potenciál klinického využití. Stanovení srdečních troponinů je v některých případech součástí tzv. multimodální strategie, která zlepšuje parametry senzitivity a specificity v některých akutních stavech (např. současné stanovení copeptinu či mastné kyseliny vázícího proteinu). Dalšími oblastmi klinické medicíny, ve kterých se využívá stanovení srdečních troponinů při stratifikaci rizika, jsou: embolizace do plic, plicní hypertenze, srdeční selhání, myo/perikarditidy, průkaz poškození myokardu toxickými látkami (onkologická terapie, toxicita psychofarmak a některých dalších látek). Na pomezí kliniky a experimentu probíhají některé experimentální studie, které využívají stanovení troponinů při porovnání různých terapeutických přístupů. Příkladem je například využití stanovení troponinů při různých metodách vedení kardiologických operací.

## B3-2

### Kardiomarkery v diagnostice kardiotoxicity onkologické léčby – přehled a vlastní zkušenosti

Cardiomarkers in the diagnostics of cardiotoxicity of oncology treatment – review and own experience

Horáček J. M.<sup>1,2</sup>, Vašatová M.<sup>3</sup>, Tichý M.<sup>3</sup>, Pudil R.<sup>4</sup>  
<sup>1</sup>Katedra vojenského vnitřního lékařství a vojenské hygieny, FVZ UO Hradec Králové, <sup>2</sup>IV. interní hematologická klinika, FN a LF UK v Hradci Králové, <sup>3</sup>Ústav klinické biochemie a diagnostiky, FN Hradec Králové, <sup>4</sup>I. interní kardiologická klinika, FN a LF UK v Hradci Králové  
e-mail: jan.horacek@unob.cz

Kardiotoxicita je jedním z nežádoucích účinků onkologické léčby. Největší riziko pro rozvoj kardiotoxicity představují antracykliny, cyklofosamid, taxany, 5-fluorouracil, trastuzumab a některé kinázové inhibitory. K rozvoji kardiotoxických projevů může dojít v akutní fázi nebo až s dlouhým časovým odstupem po léč-

bě, proto má včasná detekce kardiotoxicity mimořádný význam. Z diagnostických metod kardiotoxicity se v našich podmínkách nejčastěji používá echokardiografie a elektrokardiografie. Z biochemických markerů kardiálního poškození se v této indikaci používají především kardiální troponiny (cTnT, cTnI) a natriuretické peptidy (NT-proBNP, BNP), se kterými je nejvíce zkušeností. V poslední době jsou rovněž studovány další perspektivní kardiomarkery, zejména glykogenfosforyláza BB (GPBB), kardiální typ proteinu vázajícího mastné kyseliny (H-FABP) a další, ale zkušenosti jsou limitované a běžně se v klinické praxi zatím nepoužívají. Kromě aktuálního přehledu o dané problematice budou prezentovány i dlouholeté vlastní zkušenosti s využitím kardiomarkerů v diagnostice kardiotoxicity hematologické léčby, jak konvenční chemoterapie obsahující antracykliny, tak vysokodávkované chemoterapie s následnou transplantací krvetvorných buněk.

Práce byla podpořena z DZRO 1011 (FVZ) a MZ ČR – RVO (FNHK, 00179906).

### B3-3

#### Kardiální markery u pacientů s jaterní cirhózou

Cardiac markers in cirrhosis patients

Vašatová M.<sup>1</sup>, Pudil R.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Ústav klinické biochemie a diagnostiky, Fakultní nemocnice, Hradec Králové, <sup>2</sup>1. interní kardiologická klinika, Fakultní nemocnice, Hradec Králové

e-mail: vasatova.martina@seznam.cz

Úvod: Více než čtyři desetiletí je známo, že jaterní cirhóza souvisí s abnormalitami kardiiovaskulárního systému. Transjugulární intrahepatický portosystémový zkrat (TIPS) je široce rozšířenou metodou pro léčbu systémové portální hypertenze u cirhotických pacientů.

Metody: Testovali jsme markery kardiální ischemie a nekrózy ve vztahu k echokardiografickým a hemodynamickým parametrům u cirhotických pacientů léčebných TIPS.

Výsledky: Zvýšení hs-cTnT and FABP koncentrací bylo ve spojení s horším přežitím pacientů s TIPS. GPBB koncentrace po TIPS signifikantně korelovala se systémovou vaskulární rezistencí a srdečním indexem a sérový hs-cTnT s vlnou pozdního plnění a průměrem levé komory měřených před TIPS.

Závěr: Měření kardiálních markerů by mohlo být užitečné pro monitorování ischemie myokardu během procedury TIPS.

### B3-4

#### Role srdečních troponinů v experimentální kardiologii

Role of cardiac troponins in experimental cardiology

Adamcová M.

Ústav fyziologie, Lékařská fakulta v Hradci Králové, Univerzita Karlova v Praze

e-mail: adamcova@lfhk.cuni.cz

Srdeční troponiny jsou využívány jako biochemické markery myokardiálního poškození i v experimentální medicíně u celé řady srdečních onemocnění jako je srdeční selhání, kardiomyopatie, arytmie, chlopní onemocnění, experimentálně-navozený AIM, ale i u infekčních onemocnění, septických stavů a respiračních onemocnění jako je plicní embolie, plicní hypertenze aj. Stanovují se i při studiích in vitro, které využívají model izolovaného srdce nebo při pokusech s izolovanými kardiomyocyty. Troponiny byly navíc studovány u širokého spektra zvířat, včetně myší, laboratorních potkanů, morčat, křečků, králíků, psů, koček, prasat, koní, ovcí a opic. Srdeční troponiny jsou v poslední době rovněž považovány za jedny z nejdůležitějších biochemických ukazatelů myokardiálního poškození při hodnocení kardiotoxického účinku léčiv. Doposud nejvíce pozornosti bylo věnováno studiu troponinů na modelu akutní toxicity vyvolané katecholaminy a na modelu chronické kardiotoxicity po podání antracyklinů, event. při monitorování léčiv s potenciálně kardioprotektivním účinkem. „Diagnostické okno“ troponinů v toxikologických studiích se výrazně liší od akutního infarktu myokardu a svědčí pro jejich rychlou kinetiku, protože zvýšené hladiny přetrvávají většinou jen 48 až 72 hod po podání. Výběr vhodné eseye v experimentu však zůstává stále otevřenou otázkou. Z proteomické analýzy vyplývá, že i řada hs esejí pro humánní účely využívá protilátky proti epitopům, které jsou značně homologní u člověka i u jednotlivých druhů laboratorních zvířat. Vzhledem k závažnosti celé problematiky je výzkum v této oblasti koordinován pracovní skupinou HESI Cardiac Troponins Biomarker Working Group ve spolupráci s FDA.

### B3-5

#### Využití proteomických nástrojů pro identifikaci markerů kardiiovaskulárních chorob

Application of proteomic tools for identification of cardiovascular disease markers

Řehulková H.<sup>1</sup>, Fučíková A.<sup>1</sup>, Řehulka P.<sup>1</sup>, Řeháček V.<sup>2</sup>, Pudil R.<sup>3</sup>, Stulík J.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Katedra molekulární patologie a biologie, Fakulta vojenského zdravotnictví, Univerzita obrany, Třebešská 1575, 500 01 Hradec Králové, <sup>2</sup>Transfuzní oddělení, Fakultní nemocnice Hradec Králové, Sokolská 581, 500 05 Hradec Králové, <sup>3</sup>1. Interní kardiologická klinika, Lékařská fakulta v Hradci Králové, Karlova univerzita v Praze, Sokolská 581, 500 05 Hradec Králové

e-mail: helena.rehulkova@unob.cz

Budou shrnuty některé proteomické metody sloužící k odhalení změn v zastoupení proteinů v plazmě u pacientů s kardiiovaskulárním onemocněním a bude ukázána aplikace proteomické analýzy u hypertrofické kardiomyopatie (HCM). Pro proteomickou analýzu byly použity tryptické digesty proteinů imunodepletované plasmy odebrané jak od pacientů s HCM, tak od jedinců ze srovnávacích skupin. K relativní kvantifikaci byla

použita proteomická technika iTRAQ (Isobaric Tags for Relative and Absolute Quantitation) založená na chemickém značení peptidů stabilními izotopy a také technika SWATH (Sequential Window Acquisition of all Theoretical Mass Spectra) využívající kvantifikace bez izotopického značení. Bioinformatické zpracování výsledků obou technik umožňuje sledovat změny zastoupení proteinů v jednotlivých analyzovaných skupinách. Byl získán seznam potenciálních proteinových markerů sledovaného onemocnění. Vybrané proteiny vykazující statisticky významné rozdílné zastoupení mezi skupinou pacientů a kontrolní skupinou budou zařazeny mezi potenciální kandidáty k validační analýze pomocí cílené hmotnostně-spektrometrické analýzy. Použité proteomické metody umožnily najít potenciální proteinové markery u HCM.

*Tato práce byla podpořena grantem č. NT/13721 Interní grantové agentury Ministerstva zdravotnictví České republiky.*

#### B4-1

##### **Pokroky v léčbě virové hepatitidy C**

Recent advances in chronic hepatitis C antiviral treatment

Urbánek P.

*Interní klinika 1. LF UK a ÚVN Praha  
e-mail: petr.urbanek@uvn.cz*

Virus hepatitidy C (HCV) byl identifikován v roce 1989. Jde o RNA virus řazený do čeledi Flaviviridae jako jediný zástupce rodu Hepacivirus. Úspěch protivirové léčby chronické HCV infekce je definován jako setrvalá virologická odpověď (SVR). Základem protivirové léčby již od okamžiku identifikace viru byl interferon- $\alpha$  (IFN- $\alpha$ ). V roce 2010 vstoupily do rutinního užití první zástupci skupiny přímo působících virostatik (DAA). Jde o rozsáhlou skupinu látek, které specificky inhibují jeden ze tří enzymů podílejících se na replikaci HCV. Boceprevir a telaprevir patří do skupiny inhibitorů virové proteázy. Jde o léčiva účinná pouze proti HCV genotypu 1, mají značné množství nežádoucích účinků. Nutná je jejich kombinace s PEG-IFN a RBV. Teoretické předpoklady pro „ideální“ virostatikum splňuje inhibitor virové RNA polymerázy (RdRp) sofosbuvir (SOF). SOF v kombinaci s PEG-IFN a RBV umožnila zkrátit dobu celé protivirové léčby na 12 týdnů. Jeho nežádoucí účinky jsou srovnatelné s placebem. Jako efektivní se ukázala i jeho kombinace s jinými virostatiky bez zařazení PEG-IFN. Tyto režimy jsou obrovským pokrokem zejména pro pacienty s pokročilou jaterní cirhózou při chronické HCV infekci či pro pacienty před a po transplantaci jater. Další kombinací, je tzv. 3D kombinace – dasabuvir, ombitasvir, paritaprevir/ritonavir. Dasabuvir není určen k podávání v monoterapii, striktně je třeba jej kombino-

vat s ombitasvirem a paritaprevirem/ritonavirem. Kombinací dochází ke spojení tří přímo působících anti-virotik s různými mechanismy účinku a nepřekrývajícími se profily rezistence vůči cílovému HCV. Ukázalo se, že u cirhotiků je účinnější režim trvající 24 týdnů nežli režim trvající pouze 12 týdnů (SVR12 96% vs. 92%). Účinnost 12týdenního režimu u pacientů s genotypem 1a byla 89%, u genotypu 1b pak 98,5%. Účinnost půlročního režimu byla u genotypu 1a 94,2% a u 1b dokonce 100%. V současnosti je jisté, že budoucnost protivirové léčby chronické HCV infekce spočívá v kombinacích několika virostatik různých tříd, které budou podávány po dobu několika málo týdnů (4-6) a jejichž účinnost měřená pomocí SVR bude kolem 95-100%. Zdá se tedy, že otázka léčby chronické HCV infekce již byla vyřešena, problémem ale zůstává cena a s tím související široká dostupnost protivirových kombinací.

#### B4-2

##### **Bilirubin, stále nepoznaný žlučový pigment**

Bilirubin, still unknown bile pigment

Vítek L.

*4. interní klinika a Ústav lékařské biochemie a laboratorní diagnostiky 1. LF UK v Praze  
e-mail: vitek@cesnet.cz*

Oxidační stres hraje významnou roli v patogenezi celé řady civilizačních onemocnění, kardiovaskulárními chorobami počínaje, přes nemoci nádorové až po onemocnění autoimunitní a neurodegenerativní. Bilirubin je hlavním produktem katabolické dráhy hemu v krevním řečišti. Po dlouhou dobu byl považován pouze za odpadní produkt katabolismu hemu, data z posledních dvaceti let však prokazují jeho významné antioxidační vlastnosti, kterými se spolupodílí na ochraně před zvýšeným oxidačním stresem. Existuje dnes již mnoho desítek experimentálních i klinických studií dokumentujících asociaci mezi nízkými koncentracemi bilirubinu v cirkulaci a nemocemi srdce a cév, cukrovkou, metabolickým syndromem, některými zhoubnými nádory, autoimunitními nemocemi, jako jsou lupus erythematoses, nebo revmatoidní artritida, či neurologicko-psychiatrickými chorobami, jako je například schizofrenie. Naopak jedinci s mírně zvýšenými koncentracemi bilirubinu v krvi, typicky pozorovanými například u Gilbertova syndromu, mají rizika těchto chorob výrazně snížena. Z posledních epidemiologických studií vyplývá, že bilirubin má negativní vztah i k celkové mortalitě, pozoruhodné jsou také souvislosti mezi systémovými koncentracemi bilirubinu a cirkadiálními rytmy. Bilirubin tak představuje významnou molekulu uplatňující se v obraně před zvýšeným oxidačním stresem i v buněčné signalizaci.

## B4-3

### Molekulární diagnostika metabolických nemocí jater

Molecular testing for metabolic liver diseases

Jirsa M.

*IKEM, Praha, a Ústav lékařské biochemie a laboratorní diagnostiky 1. LFUK v Praze*

*e-mail: milan.jirsa@ikem.cz*

Molekulární diagnostika metabolických nemocí jater s typickou manifestací v dospělém věku či ve druhé dekádě, tj. Wilsonovy chodoby, HFE hemochromatózy, dědičných forem jaterní porfyrie, deficitu alfa1-antitrypsinu, erytropoetické protoporfyrie a dědičných hyperbilirubinemií slouží především k potvrzení diagnózy a ke skrínungu v rodinách. Prvotní úlohu v diagnostice jmenovaných onemocnění však stále hrají vyšetření biochemická. Naopak u dědičných cholestáz, non-HFE hemochromatózy a familiární cholelitiázy jsou molekulární metody nepostradatelným diagnostickým nástrojem, neboť pro tato onemocnění zatím neexistují spolehlivé testy na úrovni proteinu či metabolitu. V přednášce bude prezentován přehled postupů laboratorní diagnostiky uvedených onemocnění s důrazem na indikaci a interpretaci výsledků molekulárních vyšetření.

## B5-1

### Od analytické kvality ke kvalitě postanalytické fáze laboratorních vyšetření

From analytical quality to quality of postanalytical processes

Friedecký B., Kratochvíla J.

*SEKK s.r.o., Pardubice*

*e-mail: friedecky@sekk.cz*

Základním předpokladem ceny laboratorních vyšetření je jejich kvalita. Kvalita je v podstatě efektivita výsledku vyšetření v procesu diagnostiky chorob a kontroly jejich terapie. Zásadním předpokladem je zde dosažení harmonizace výsledků měření. Cesty k dosažení harmonizace jsou v současnosti velmi silně diskutovány a testovány jednak v mezinárodním měřítku, jednak napříč všemi fázemi laboratorního vyšetřování (preanalytickou, analytickou, postanalytickou). Je mnoho různých cest, vedoucích k harmonizaci. Ideální je standardizace, založená na metrologické návaznosti. Mnohdy je neschůdná, a pak je třeba pracovat s dobře promyšlenými konsenzuálními postupy. K nim patří především harmonizovaná postanalytická fáze. Je třeba opakovaně zdůrazňovat, že metrologická návaznost je sice základem harmonizace/standardizace, avšak skutečným cílem laboratorní medicíny jsou harmonizované výsledky, nikoliv výrobci/laboratoři prezentované řetězce návaznosti, občas pochybné platnosti.

Proto je nutné dosahovat vyšší úrovně harmonizace také v procesech hodnocení výsledků. To obnáší harmonizaci akceptovatelných limitů při hodnocení výsledků EHK a nalezení všeobecně platného a použitelného indikátoru kvality. Není pochyb o tom, že by takovým nástrojem mohla být sigmometrie. Její aplikaci a implementaci bude nutné věnovat nemalé úsilí. Harmonizované výsledky by pak mohly být dobrým podkladem ke kvalitní postanalytické fázi. Zatím je založena na prezentaci málo srovnatelných a často zmatených hodnot referenčních intervalů různé provenience. Harmonizace postanalytické fáze, založená na harmonizovaných výsledcích měření s dosaženou vhodně vysokou hodnotou sigmometrie by měla být založena na hodnotách rozhodovacích limitů (cut off), harmonizovaných s mezinárodními doporučeními, založenými na EBM a na dosahovaných hodnotách RCV. To vše by mělo mít za cíl prospěch pacientů a redukci rizika péče o ně. Popsané postupy a problémy demonstrujeme na příkladech vyšetření nefrologických, kardiovaskulárních a diabetických laboratorních ukazatelů. Cílem je ukázat, co může kvalitní laboratorní vyšetření poskytnout pacientovi, jaké jsou meze těchto možností a jak je třeba přitom postupovat.

## B5-2

### Problémy analytické kvality vyšetření v režimu POCT

Problems on the analytical quality of laboratory analysis by POCT

Špirková J., Friedecký B., Pavlíková L.

*Ústav klinické biochemie a diagnostiky, Fakultní nemocnice Hradec Králové*

*e-mail: jana.spirkova@fnhk.cz*

Počty vyšetření POCT v celém světě neustále rostou a přírůstek se odhaduje na 10-20 % ročně. Finanční obraty a náklady se celosvětově pohybují v řádu stovek miliard USD, proto je nutné znát, monitorovat a zlepšovat kvalitu POCT. Normativním základem kvality je ISO 22870:2012 a doporučení odborných společností. V našem sdělení pojednáme zejména o kvalitě POCT vyšetření nezbytných pro péči v intenzivní medicíně, kde je její role naprosto klíčová. Podrobněji rozebereme problémy stanovení glukózy glukometry, parametry acidobazické rovnováhy a také zmíníme problémy měření HbA1c a kardiálních markerů. Vyhodnotíme potřebnost řádné analytické kontroly jak interní, tak i externí. Bude zdůrazněna potřeba koordinace POCT mezi klinickou laboratoří, klinickými odděleními a informačními systémy, koordinace při pořizování potřebné POCT techniky. Je velmi důležité při realizaci POCT režimu sledovat výsledky testování přístrojů v referenčních institucích (SKUP, Rilibäk, NRL ČR). Důležité pro zajištění kvality POCT jsou procesy edukace a přezkušování způsobilosti obsluhujícího personálu.



## B5-3

### **Nový pohled na vnitřní kontrolu kvality v molekulární biologii**

A new view of the internal quality control in molecular biology

Plíšková L., Kutová R., Pavlíková L.  
*Ústav klinické biochemie a diagnostiky, Fakultní nemocnice Hradec Králové*  
e-mail: pliskova@lfhk.cuni.cz

Vnitřní kontrola kvality u molekulárně biologických metod musí vždy obsahovat kontrolu amplifikace, kontrolu negativní a kontrolu přítomnosti inhibitorů polymerázy. Autoři si kladou otázku, zda takto pojatá VKK je dostačující a rozšiřují kontrolu amplifikace o další aspekty u všech metod využívajících metodu real-time PCR, zejména pak u metod kvantitativních. Běžně používané kontroly amplifikace (tzv. pozitivní kontroly) nesledují standardnost běhů v čase, což se jeví u většiny metod jako nezbytné. Ve sdělení ukazujeme možnosti využití části QC – kontrola kvality laboratorního systému OpenLims a zpracování kontrol amplifikace pomocí Levey-Jenningsova grafu.

## B6-1

### **PCSK9 - rozhodný pokrok v možnostech ovlivnění metabolismu LDL-cholesterolu**

PCSK9 - its role in the treatment of LDL metabolism disorders

Bláha V.  
*III. interní gerontometabolická klinika Lékařské fakulty UK a Fakultní nemocnice, Sokolská 581, 500 05 Hradec Králové*  
e-mail: blaha@lfhk.cuni.cz

Protein konvertáza subtilisin/kexin typu 9 (PCSK9) je protein rozhodujícího významu v metabolismu LDL cholesterolu, neboť má klíčovou úlohu v procesu degradace LDL receptoru. Řada experimentálních studií in vitro i klinických studií in vivo z posledních let významně přispěla k objasnění úlohy PCSK9 v humánní biologii a patologii. PCSK9 po vazbě na LDL receptor navozuje degradaci LDL receptoru v lysosomech. Aktivitu PCSK9 určuje hlavně jaterní clearance plasmatického LDL. V širším evolučním slova smyslu funkce PCSK9 zasahuje i do dalších dějů v metabolismu lipoproteinů. Cirkulující PCSK9 se váže na apolipoprotein B100 částic LDL cholesterolu, což inhibuje vazebnou schopnost PCSK9 na LDL receptory povrchu buněk. Negativní zpětnovazebná regulace sekreční aktivity PCSK9 prostřednictvím LDL ovlivňuje remodelaci lipoproteinů. Na expresi PCSK9 v hepatocytech mají vliv nut-

riční a hormonální signály a akutní zánět. Ačkoliv byl význam PCSK9 objeven relativně nedávno - teprve v roce 2003, představuje inhibice PCSK9 zcela nový terapeutický prostředek v léčbě zvýšených koncentrací LDL-C. Dostupná data z klinických studií prokazují, že PCSK9 inhibitory představují novou a slibnou léčebnou modalitu v léčbě dyslipidemií a s ní asociovaných kardiovaskulárních onemocnění.  
*Práce byla podpořena projekty IGA MZ ČR NT/12287-5 a PRVOUK P 37/12 LF UK Hradec Králové.*

## B6-2

### **Lp-PLA2 a Lp(a) - co si počít s výsledky měření?**

LP-PLA2 and LP(a) – what to do with the results of measurement

Vrablík M.

Abstrakt nedodán.

## B6-3

### **LDL-cholesterol nebo apolipoprotein B?**

LDL-cholesterol or apolipoprotein B?

Soška V.  
*Oddělení klinické biochemie, Fakultní nemocnice U sv. Anny v Brně*  
e-mail: vladimir.soska@fnusa.cz

Cíl: porovnat klinickou využitelnost LDL-cholesterolu ve srovnání s apolipoproteinem B.  
Metody: přehledový referát vycházející z recentních publikací a odborných doporučení.  
Výsledky: jsou porovnány výhody a nevýhody využití LDL-cholesterolu a apolipoproteinu B v diagnostice dyslipidemií, odhadu individuálního rizika kardiovaskulárních onemocnění, posuzování indikace k léčbě hypolipidemiky a k hodnocení účinnosti léčby z hlediska dosahování tzv. cílových hodnot. Diskutovány jsou dále možnosti, jak využít v určitých klinických situacích jako jejich náhradu či zpřesnění informací i další měřené nebo vypočtené parametry, jako je non HDL-cholesterol, celkový cholesterol, HDL-cholesterol a poměr celkový cholesterol/HDL-cholesterol. U vypočteného LDL-cholesterolu jsou porovnány výhody a nevýhody klasického vzorce podle Friedewalda s nověji navrhovanými způsoby jeho výpočtu.  
Závěry: i přes zlepšující se kvalitu a pokrok ve standardizaci apolipoproteinu B a metod přímého měření LDL-cholesterolu zůstává LDL-cholesterol, vypočtený vzorcem podle Friedewalda, stále velmi rozšířeným laboratorním parametrem, standardně používaným pro klinické studie i běžnou klinickou praxi.

### Kam dospěla standardizace měření LDL cholesterolu, apolipoproteinu B a lipoproteinů (a)

Standardization of LDL cholesterol, apolipoprotein B and lipoprotein (a) measurements: current state

Novotný D.<sup>1</sup>, Budina M.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Oddělení klinické biochemie, Fakultní nemocnice Olomouc; <sup>2</sup>SEKK s.r.o., Pardubice  
e-mail: dalibor.novotny@fnol.cz

**Cíl:** Přednáška podává přehled současného stavu standardizace stanovení uvedených lipidových a lipoproteinových parametrů, včetně významu pro harmonizaci laboratorních výsledků a problémů při měření analytů v rutinní praxi.

**Metody:** Sdělení je koncipováno jako přehledový souhrnný referát.

**Výsledky:** Jsou uvedeny základní principy standardizace stanovení LDL cholesterolu, apolipoproteinu B a lipoproteinů (a), včetně referenčních systémů. Dále jsou diskutovány aspekty stanovení LDL cholesterolu tzv. homogenními metodami, zejména u dyslipidemických pacientů, využití výpočtových metod pro rutinní diagnostiku a jejich limitujících omezení. V rámci sdělení autoři popisují vývoj standardizace lipoproteinů (a) a všímají si mj. i možného klinického dopadu zavádění metod navázaných na referenční materiál WHO SRM2B do rutinní praxe. Jsou rovněž prezentovány výsledky dotazníkové akce provedené v rámci cyklu SEKK RFA1/2015, která mapovala situaci v oblasti laboratorní interpretace lipidových parametrů.

**Závěry:** I přes uspokojivou relativní úspěšnost stanovení LDL cholesterolu, apolipoproteinu B a lepších se kvalitu měření lipoproteinů (a) v cyklech mezilaboratorního porovnání zkoušek existuje řada problémů, které je nutné mít při stanovení těchto analytů na paměti.

### B7-1

#### Automatizace po roce 2000

Automation after the year 2000

Štern P.

e-mail: petr.stern@atlas.cz

Automatizované prvky našich analytických linek mají dva až tři stupně volnosti, zatímco robot by měl mít alespoň schopnosti lidské ruky, tj. pět stupňů volnosti. Klíčové faktory ovlivňující budoucnost klinické biochemie jsou pokrok v automatizaci, konvergence technologií a snížení potřeby statimových analyzátorů. Z toho vyplývá výroba zařízení pro mezioborové použití a školení personálu pro mezioborovou práci. Při nákupu automatické linky nutno vzít v úvahu, mimo jiné, pracovní náplň v dalších třech až pěti letech. Úplná automatizace zpracuje alespoň 80 % pracovní zátěže. Jak velký spojený systém, tak konfigurace několika menších modulů mají své výhody i nevýhody. Používání dopravníků je rentabilní při analýze alespoň 500 vzorků denně. Externí chyby v preanalytické fázi převažují nad laboratorními chybami v preanalytice.

Přestože je výčet chyb preanalytické jednotky značný, je jejich četnost malá. Preanalytická stanice dosahuje optimální funkce v sériích 200 a více vzorků. Automatická centrifugace a dávkovač do sekundárních zkumavek jsou předpokladem efektivní preanalytiky (představuje 60 % času laboratorního procesu). Biochemický analyzátor by měl být částečně otevřený. 75 % chyb analyzátoru je v referenčním intervalu a zůstanou nepoznané. LIS by měly zajišťovat alespoň dva počítače, přičemž každý z nich by měl být schopný zvládnout celou pracovní zátěž. Výhledy do roku 2035 předpokládají vývoj technologií, které sníží cenu vyšetření a spojení POCT s telemedicínou. Nižší ceny lze dosáhnout seskupením vyšetření (např. průtoková mikroanalýza na destičkách), nebo nanolitrovou imunoanalýzou. Uvažuje se také o zařazení LC-MS/MS do automatizovaných linek. Vyžaduje to velké investice, a dosud se jen 20 % výrobců MS zabývá aplikacemi pro klinickou biochemii (MS představuje 1 % analýz KB). Automatizace není všelék, a když je špatně naplánovaná, nesplní očekávání (zvážit výhody, nevýhody, možnosti a rizika).

### B7-2

#### Automatizace a robotizace laboratorních provozů ve velkých laboratořích - poslední trendy z pohledu společnosti Roche

Automation and robotization in a big laboratory -last trends from Roche perspective

Kopecký P., Klimíček I.

Roche s.r.o., Diagnostická divize

e-mail: petr.kopecky@roche.com

Hlavní produkty reprezentující inovaci v oblasti velkých laboratoří:

- preanalytický systém cobas 8100,
- nový výkonný imunochemický modul cobas e 801,
- řídicí software cobas IT middleware.

Preanalytický systém cobas 8100

Modulární systém provádějící všechny preanalytické kroky. Využívá 3D inteligentní dvousměrný transportní systém, jehož dráhy vedou ve dvou úrovních, což zajišťuje vysokou propustnost.

Má velmi vysoký výkon při přepočtení na jednotku plochy, kterou zabírá. Cobas 8100 lze připojit k analyzátorům cobas pro klinickou chemii, imunoanalýzu, koagulační vyšetření, močovou analýzu, hematologii a k modulu pro archivaci vzorků.

Software cobas IT middleware

Jedná se o novou generaci middleware produktů Roche. Je to integrační prvek, který je z hlediska datových a řídicích procesů pro pohyb vzorku umístěn mezi LIS a preanalytické, analytické a postanalytické systémy. Připojené analyzátorů mohou být různých typů a od různých dodavatelů. Z hlediska distribuce vzorků zajišťuje řízení pohybu primárního vzorku, vytváření a distribuci aliquotů v automatickém i v manuálním provozu a archivaci. Pro správu dat se pak používají moduly pro kontrolu kvality, automatickou validaci výsledků a statistiku laboratoře.

Imunochemický modul cobas e 801

Rodina nejvyšší výkonové řady cobas 8000 bude v průběhu příštího roku rozšířena o imunochemický modul s názvem cobas e 801, který bude možné libovolně kombinovat s ostatními zástupci této série. Systém bude založen opět na osvědčené technologii elektrochemiluminiscence a také na reagenčním, kalibračním a kontrolním konceptu shodném s jeho současníky řady cobas e. Dosahuje téměř dvojnásobného výkonu – 300 testů/hod. na stejném počtu cel a stejné ploše jako cobas e 602 a má zároveň možnost analýzy až 48 parametrů v rámci jednoho modulu. Má možnost průběžného doplňování reagensů a spotřebního materiálu za provozu.

### B7-3

#### Možnosti automatizace pro různé segmenty laboratoří

Automation for various lab size

Čech M.

Siemens Healthcare Diagnostics  
e-mail: [michal.cech@siemens.com](mailto:michal.cech@siemens.com)

Společnost Siemens nabízí široké možnosti automatizace laboratorního provozu: od bezpásové automatizace propojením až tří analyzátorů pomocí systému VersaCell X3 až po linku Aptio s plným spektrem pre- a post- analytických modulů a propojením analytických systémů pomocí dopravníků.

Řešení VersaCell X3 spojuje až tři analyzátory Siemens přes jediné robotické rozhraní. Díky řízení vzorku jediným dotekem mohou laboratoře konsolidovat a přizpůsobovat výběr biochemických, imunochemických i integrovaných systémů a související nabídku metod. Výsledkem je robustní řešení, které podporuje nárůst produktivity, rychlejší a předvídatelnější TAT a zjednodušené pre- a post- analytické procesy.

Aptio nabízí konfigurace, které se hodí téměř do každé laboratoře. Široká nabídka zapojitelných přístrojů Siemens usnadňuje zavedení nebo expanzi mezioborových testů. Velký rozsah dostupných pre- a post- analytických modulů dále zvyšuje efektivitu Vaší laboratoře. Flexibilita automatické linky Aptio umožňuje postupné zavádění ve fázích k hladké adaptaci na potřeby v budoucnu. Aptio poskytuje kapacitu pro vysoký výkon k optimalizovanému průběhu práce a konzistentní průchodnost k zajištění požadovaného času k vydání výsledku u všech vzorků. Možnosti hromadného vstupu vzorků podporují různorodost příchodu vzorků a nastavení jejich vstupu. Aptio kombinuje rutinní a statimové požadavky pro vydávání výsledků v souladu se specifickými laboratorními standardy a spotřebami. Aptio nabízí adaptabilní konfigurace s využitím následujících

modulů pro jakýkoli typ laboratoře — od oblastních po univerzitní nemocnice, referenční, komerční, privátní a speciální laboratoře.

### B7-4

#### Redukce chybovosti a optimalizace pre- a postanalytické práce se vzorky pomocí systému INDEXOR

Reduction of error rate and optimization of pre- and postanalytical work with samples by the INDEXOR system

Humpl M.

Abbott Laboratories

Firma Abbott Laboratories uvedla na trh zařízení INDEXOR Sorter System, které pracovníkům laboratoří zjednodušuje manipulaci se vzorky v pre-analytické i v post-analytické fázi. Zařízení slouží především k optimalizaci manuální práce se vzorky, čímž přispívá k redukci chybovosti, úspoře času a zvýšení efektivity laboratoře (TAT). INDEXOR System se skládá z PC s dotykovou obrazovkou, čtečky čárového kódu a až 16 modulů se čtečkou RFID čipů, do kterých se vkládají stojánky na zkumavky označené unikátními RFID štítky. Tyto moduly dále obsahují červené led diody umístěné pod každou pozici zkumavky vložené ve stojánek a tlakové senzory zaznamenávající přítomnost vložené zkumavky. Diody slouží obsluze k rychlému nalezení konkrétních zkumavek tím, že po zadání požadavku na vyhledání začnou hledané zkumavky postupně blikat. Do jednoho INDEXOR modulu lze postupně vkládat neomezeně velké množství INDEXOR stojánků za předpokladu, že každý stojánek je označen unikátním RFID čipem. Software zařízení INDEXOR v pre-analytické a analytické fázi neustále komunikuje s LIS, díky čemuž má vždy přehled o stavu zpracovaných vyšetření z dané zkumavky. Obsluze tak říká, do kterých analyzátorů je třeba vzorek ještě vložit. Zařízení generuje „Worklisty“, které seskupují aktuálně vložené zkumavky s nevyřízenými požadavky na vyšetření pro dané analyzátory. Poté, co jsou všechna požadovaná vyšetření ze vzorku provedena, zařízení pracovníkům laboratoře umožní archivaci vzorků v originálních INDEXOR stojáncích. Využití zařízení INDEXOR v post-analytické fázi spočívá především v eliminaci zdlouhavého vyhledávání archivovaných vzorků – INDEXOR má neustále přehled o tom, ve kterém stojánek, na jaké pozici, se jakýkoli laboratorní vzorek nachází. Praktické zkušenosti se zařízením INDEXOR Sorter System u nás ukazují, že v laboratorním provozu skutečně došlo k významnému zlepšení organizace práce se vzorky v pre- i post-analytické fázi, k redukci chybovosti, úspoře času i práce, a tudíž ke zvýšení celkové efektivity laboratoře (TAT). Zařízení je vhodné pro malé, střední i velké laboratoře, kde je potřeba manuální práce se vzorky.

## B7-5

### **Nové trendy v automatizaci Beckman Coulter**

New trends in Beckman Coulter automation

Bischof M.

*Beckmann Coulter*

Abstrakt nedodán.

## B7-6

### **Elektronická žádanka – krok k automatizaci přijetí laboratorního vzorku**

Electronic requisition - a step towards automating acceptance of the laboratory sample

Stávek P., Táborský L.

*IKEM Praha, Nemocnice Na Homolce*

*e-mail: petr.stavek@ikem.cz*

Jedním z důležitých procesů preanalytické fáze je registrace laboratorního vzorku do LIS tj. zadání potřebných dat – identifikačních údajů pacienta, typ a vlastnosti vzorku, požadované analyty atd. Při manuálním zpracování vyžaduje tato činnost nezanedbatelný čas a navíc jsou zde rizika vzniku chyb. Proces je možné automatizovat zavedením elektronické žádanky spolu se značením vzorků čárovým kódem v místě odběru.

První použití elektronických žádanek v českých laboratořích se datuje do 2. poloviny 90. let. Přesto do dnešního dne nedošlo k takovému rozšíření, které by odpovídalo aktuálnímu stavu dostupných technologií. Přitom zavedení elektronické žádanky řeší největší slabiny oproti manuálnímu příjmu vzorku - je rychlejší a vylučuje chyby přepisu. Mimo to je vhodně koncipovaná aplikace tvorby požadavku schopna eliminovat další chyby již v místě odběru. Lze kontrolovat správnost a kompletnost nutných údajů, množství potřebného materiálu, určit typ odběrových zkumavek, upozornit na výjimečné podmínky odběru některých analytů. Při správné spolupráci s LIS pak lze ihned při registraci vzorku, která se omezí na pouhé pípnutí scanneru, tento automaticky zatřídit, upozornit na výjimečné analyty, na nedodržení časových posloupností atd. Mimo to je zcela přesně zaznamenáno kdy, kdo a co – zadání, uzavření a odeslání žádanky, čas náběru, přijetí vzorku v laboratoři.

Přehledná přednáška je shrnutím dlouholetého vývoje a používání aplikace pro tvorbu elektronické žádanky v Nemocnici Na Homolce a IKEM Praha. U jednotlivých kroků, od odběru vzorku až po jeho přijetí laboratoří, jsou pak rozebrány možnosti řešení, které by měly co nejvíce urychlit a zefektivnit tuto část preanalytické fáze zpracování laboratorního vzorku.

## B8-1

### **Odpovědnost laboratoří za systémy POCT - Příklad z Finska**

Laboratories responsibility of POCT – Example from Finland

Wahlstedt J.

*Labquality Finland*

*e-mail: Juha.Wahlstedt@labquality.fi*

Point-of-care testing is spreading out everywhere in Europe. At the same time the number of clinical laboratories is decreasing due to consolidation and international private laboratory chains. Huge analyzers and automated sample processing make consolidation economically tempting, but everything cannot be centralized. Specimen collection and emergency analytics have to stay near patient. There is a great need for point-of-care testing and it is growing out of control.

An increasing number of decisions concerning patient care and diagnosis are based on point-of-care test results. Therefore the results of rapid tests have to be as reliable and as accurate as traditional laboratory tests and the quality requirements have to be set on the same level. But how can we organize users training, orientation, instrument selection and validation, internal and external quality assessment? How we build the quality system and according to which standard?

By means of legislation and recommendations point-of-care test users can be forced to use controls and participate to external quality assessment programs, but reporting and certifying the results from analytical phase of the test doesn't tell the full story of the whole testing process. Most of the errors in point-of-care testing occur in preanalytical phase, especially in specimen collection and specimen handling. To be able to ensure the quality of point-of-care testing, we need trained laboratory professionals and multi-professional co-operation.

## B8-2

### **Systémy POCT a jejich výsledky v EHK**

Results of POCT systems in EQA

Budina M.

*SEKK s.r.o., Pardubice*

*e-mail: budina@sekk.cz*

Programů EHK se v současné době účastní i celá řada pracovišť, která své výsledky měření získávají na systémech POCT. Mezi tyto účastníky patří uživatelé POCT systémů z řad praktických lékařů, jednotlivá oddělení nemocnic i běžné laboratoře.



Mezi programy EHK, kterých se účastní větší počet uživatelů systémů POCT, patří zejména tyto: Parametry acidobazické rovnováhy, Stanovení CRP, D Dimery, Stanovení glukózy, Glykovaný hemoglobin, Kardiální markery, Analýza moče testovacími proužky, Okultní krvácení, Hemokoagulační stanovení (protrombinový test) a Sedimentační rychlost erytrocytů.

V některých případech je možné srovnávat výkon účastníků, kteří použili POCT systémy, s výkonem laboratoří, a to buď nepřímo (na základě porovnání rozptylu výsledků nebo celkové úspěšnosti v podobných cyklech), nebo i přímo (tehdy, pokud byly pro obě skupiny účastníků použity shodné vzorky).

Zásadní otázkou, kterou je v případě systémů POCT a jejich účasti v EHK nutné řešit, jsou vhodné vzorky. V řadě případů vzorky, které se v EHK standardně používají, nejsou pro některé systémy POCT použitelné. V takových případech je nutné hledat pro určité systémy speciální vzorky a setkali jsme se již s případy, kde se vhodné vzorky najít nepodařilo, a tudíž nebylo možné daný systém do EHK zařadit právě z důvodu neexistence vzorků vhodných pro EHK.

Poměrně velký problém v případě uživatelů POCT představuje i řídká účast v EHK a na ni navazující větší počet formálních chyb a nedopatření při odesílání výsledků poskytovateli. Pravděpodobně ze stejného důvodu uživatelé POCT také preferují zaslání výsledků na papíře před použitím webové aplikace Cibule (v duchu: nestojí mi za to učit se tu aplikaci ovládat), a tím se sami připravují o některé výhody, které použití Cibule přináší (kontrola hrubých chyb, chybějících dat apod.).

V rámci sdělení bude výše uvedené dokumentováno praktickými ukázkami a přehledy dat z různých programů EHK.

### B8-3

#### **POCT analýza FIT testů pro screening KRCA v České republice**

POCT analysis of FIT tests for CRC screening in the Czech republic

Kocna P.

*Ústav lékařské biochemie a laboratorní diagnostiky,*

*VFN Praha*

*e-mail: kocna@lf1.cuni.cz*

Riziko karcinomu tlustého střeva v populaci v České republice trvale narůstá a v roce 2010 dosáhlo hodnoty 80/100 tisíc obyvatel. V celopopulačním screeningu má význam nejen výtěžnost ověřená na principu vědeckých důkazů, ale také cena a způsob provedení, který musí být pro většinu populace dobře přijatelné. Doporučení EU zahrnuje i podmínky zajištění kvality, včetně systému externí kontroly kvality-EQAS.

POCT analýza zahrnuje provádění testů v místě péče o pacienta. Výhodou je snížení doby odezvy a okamžitý kontakt s pacientem. Nevýhodou je vyšší cena analýzy při porovnání s laboratorním provozem. POCT analýza zahrnuje při screeningu KRCA testy kvalitativní (hodno-

cené subjektivně) i kvantitativní. Kvalitativní rapid testy používá 66 % praktických lékařů podle statistiky z března 2014. Kvalitativní testy jsou kritizovány především pro vysokou falešnou pozitivitu, která je na rozdíl od individuální diagnostiky v populačním screeningu větším rizikem než falešná negativita, vede ke zvyšování nákladů, zbytečnému vyšetřování a negativnímu ovlivnění kvality života zdravých lidí. Kritikou pro populační screening v ČR je pak navíc možnost používat libovolné FIT testy se značně rozdílnou senzitivitou.

Stanovení Hb ve stolici kvantitativní imunochemickou technologií je v současné době nejpřesnější metodou stanovení okultního krvácení, vhodnou pro screening KRCA. Kvantitativní analýza umožňuje definovat optimální cut-off hodnotu a nabízí možnost zahrnout hodnoty FIT testu do rizika algoritmu KRCA screeningu. Systém externí kontroly kvality je dostupný od ledna 2012 ve dvou variantách, včetně POCT. Posledního cyklu v říjnu 2014 se účastnilo již 82 pracovišť, provádějících kvantitativní FIT. Variabilita FIT testů (CV) je 8,37-14,49 % při laboratorní analýze a 28,65-63,88 % při POCT.

### B8-4

#### **Proplácení výkonů prováděných POCT systémy ze zdravotního pojištění**

Reimbursement of interventions performed by POCT system from medical insurance

Honěk P.

*náměstek ředitele VZP pro zdravotní péči*

Abstrakt nedodán.

### P-1

#### Využití ultra-rychlého SPE-MS/MS systému pro stanovení čtyř tyrosin-kinasových inhibitorů v lidské plazmě

Ultra-fast on-line SPE-MS/MS method for quantification of four tyrosine kinase inhibitors in human plasma

Vrobel I., Mičová K., Šíroková J., Friedecký D., Faber E., Adam T.

*Institute of Molecular and Translational Medicine, Palacky University, Olomouc; Laboratory of Inherited Metabolic Disorders, University Hospital, Olomouc; Department of Hemato-Oncology, University Hospital, Olomouc; Department of Clinical Biochemistry, University Hospital, Olomouc*  
e-mail: ivo.vrobel@gmail.com

The aim of this work was to develop and validate new analytical method based on ultra-fast on-line solid phase extraction coupled to tandem mass spectrometry (SPE-MS/MS) for quantification of four tyrosine-kinase inhibitors (TKIs), Imatinib (IMA), Dasatinib (DAS), Nilotinib (NIL) and Lapatinib (LAP) in human plasma that can be used for high throughput therapeutic drug monitoring.

The new method was validated according to FDA guidelines and compared to the conventional liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) method.

All four analytes were measured within wide calibration range (0.05 – 5.0 µg/mL for NIL and IMA, 0.1 – 10.0 µg/mL for LAP and 0.01 – 1.0 µg/mL for DAS) in less than 16 sec. Both intra- and inter-day accuracies were within 15 % and imprecisions were lower than 15 %. Even though the absolute matrix effects were higher in comparison with LC-MS methods, their effect on method performance was eliminated by usage of deuterated internal standards. The sensitivity was worse due to the matrix effects, however it was sufficient for clinical purposes.

SPE-MS/MS system shortens the analysis time significantly and allows throughput of > 180 samples per hour providing comparable results with LC-MS/MS methods.

Grants NT12218, CZ.1.05/2.1.00/01.0030, CZ.1.07/2.3.00/30.0004, CZ.1.07/2.3.00/20.0170, 1910-N26

### P-2

#### Folátem ovlivnitelné hyperhomocysteinemie (HHC) v rutinní praxi metabolické ambulance

Hyperhomocysteinemias effectively treated by folate in the routine metabolic unit

Hyánek J., Matoška V., Dubská L., Miková B., Pejznochová H., Dvořáková J., Táborský L., Martiníková V., Privarová J.  
OKBHI Nemocnice Na Homolce, Praha  
e-mail: josef.hyanek@homolka.cz

Pacienti a metody: ze skupiny 150 molekulárně geneticky vyšetřených pacientů - homozygotů a heterozygotů pro MTHFR 677 C>T a 1289 A>C v metabolické ambulanci za posledních 15 let vybrali autoři 44 pacientů s vysokým kardiovaskulárním rizikem (KVO) a zvýšeným celkovým homocysteinem >30 µmol/l (tHcy); dále byl vyšetřován plasmatický (PF) a erytrocytární folát (EF), holotranskobalamin (HTC), methylmalonová kys. (MMA), pyridoxalfosfát, methionin (Met), cystathionin (Cystat), adenosylhomocystein (adoHcy) a adenosylmethionin (adoMet). Pacienti se zvýšeným kreatininem, epileptici na léčbě barbituráty, diabetici a vegetariáni byli ze studie vyloučeni. Léčba podáním 5-10 mg acidum folicum/t. Skupina 30 náhodně vybraných pacientů z ambulance ZL NNH sloužila jako kontrolní soubor. Stanovení lipidů a tHcy bylo provedeno na analyzátoru Unicel Dx800 a LX 20 Beckman Coulter, Apo B a Lp(a) bylo stanoveno imunochemicky na Immage 800 Beckman Coulter, krevní obraz na přístroji XE 5000 Sysmex, HTC imunanalyticky MEIA na Architect 2000 Abbot, PF a EF metodou CLIA na Cobas e411 Roche, pyridoxalfosfát na HPLC Agilent, MMA na GC/MS, Met, Cystat, adoMet, adoHcy na analyzátoch v ÚDMP.

Výsledky: TT genotyp MTHFR byl kauzální pro HHC v 69 %, modulační v 88 %. Korelační koeficient zvýšeného tHcy a sníženého PF u homozygotů -0,835; u heterozygotů -0,653; u zdravých +0,259. Typické kazuistiky, rodokmeny a výsledky efektivního léčebného podání acidum folicum jsou doloženy na vyobrazeních.

Závěr: ve slovanské populaci pacientů s vysokým rizikem KVO byly prokázány HHC z deficitu MTHFR jako v populaci severoevropské a americké. Deficit MTHFR je u nás třetí nejčastější příčinou HHC (po ledvinové insuficienci a deficitu HTC) a zasluhuje větší diagnostické a laboratorní pozornosti.

### P-3

#### **Enzymová aktivita ceruloplazmínu v sére pacientov s Wilsonovou chorobou**

Enzymatic activity of ceruloplasmin in patients with Wilson's disease

Turecký L., Kupčová V., Netriová J., Ščigulinský P., Uhlíková E.

Ústav lekárskej chémie, biochémie a klinickej biochémie LFUK; III. interná klinika LFUK, OKB Nemocnice sv. Michala, Bratislava, Slovensko  
e-mail: ladislav.turecky@fmed.uniba.sk

Wilsonova choroba je autozómovo-recesívne dedičná porucha metabolizmu medi s klinickými prejavmi postihnutia pečene a CNS. Podstatou tejto poruchy je mutácia génu kódujúceho špecifický transportný proteín pre med' – ATP7B. Hromadenie medi v organizme zvyšuje na jednej strane tvorbu voľných radikálov kyslíka, na druhej strane zníženie tvorby funkčného ceruloplazmínu, zvyšuje toxicitu železa, čím sa oxidačný stres ešte viac zvyšuje. Ceruloplazmín (Cpl) je multifunkčný proteín s enzymovou aktivitou ferroxidázy a polyfenoloxidázy. Molekula Cpl obsahuje šesť atómov medi, ktoré sa do molekuly bielkoviny zabudovávajú až v neskoršej sekrečnej fáze. Aj keď med' nemá priamy efekt na rýchlosť syntézy a sekrécie ceruloplazmínu, defekt inkorporácie iónov medi do molekuly ceruloplazmínu má za následok sekréciu nestabilného apoceruloplazmínu, ktorý nemá ferroxidázovú aktivitu. Cpl zohráva dôležitú úlohu v metabolizme železa a má aj antioxidantné účinky. Cieľ práce: Úlohou našej práce bolo vyšetriť zmeny metabolizmu Cpl a jeho syntézy u pacientov s Wilsonovou chorobou – posúdiť enzymové aktivity a tvorbu apoceruloplazmínu u pacientov s touto metabolickou poruchou. Zistiť, či sa menia aj špecifické enzymové aktivity Cpl.

Pacienti a metódy: Vyšetrovaný súbor tvorilo 17 pacientov s diagnostikovanou Wilsonovou chorobou (8 mužov a 9 žien). Hladinu medi sme vyšetrovali pomocou atómovej absorpčnej spektrofotometrie, hladinu apoceruloplazmínu imunochémicky a enzymové aktivity–ferroxidázu a polyfenoloxidázu–spektrofotometricky. Výsledky a závery: Výsledky našej štúdie ukázali signifikantné zníženie hladiny medi (5,7  $\mu\text{mol/l}$  vs. 17,4  $\mu\text{mol/l}$ ) ako aj apoceruloplazmínu (120 mg/l vs. 362 mg/l). Porovnanie zmien apoceruloplazmínu a špecifických aktivít ferroxidázy a polyfenoloxidázy neukázalo podstatné zmeny medzi pacientmi s Wilsonovou chorobou a kontrolnou skupinou. Na základe týchto výsledkov sa ukazuje, že syntéza Cpl je pri Wilsonovej chorobe signifikantne znížená, ale molekuly syntetizovaného ceruloplazmínu nie sú abnormálne, ale zachovávajú si normálnu enzymovú aktivitu.

### P-4

#### **Cholinesteráza v sére experimentálnych zvierat so steatózou pečene**

Cholinesterase in sera of experimental animals with liver steatosis

Turecký L., Kupčová V., Otrubová O., Muchová J., Uhlíková E.

Lekárska fakulta UK, Bratislava, Slovensko  
e-mail: ladislav.turecky@fmed.uniba.sk

Pseudocholinesteráza (EC 3.1.1.8., CHE, cholinesteráza) je hydrolytický enzým syntetizovaný v pečeni a secernovaný do krvnej plazmy. Vyšetrovanie sérovej aktivity CHE sa používa ako laboratórny test na posúdenie funkcie pečene a pri diagnostike intoxikácie organofosfátmi. V poslednej dobe sa uvádzajú zvýšené aktivity CHE v sére pacientov s obezitou, hyperlipoproteínémiou ako aj steatózou pečene.

Cieľ práce: V našej štúdiu sme chceli porovnať zmeny v obsahu triacylglycerolov (TGL) v pečeni a v sérových hladinách CHE na experimentálnych modeloch spojených s rozvojom steatózy pečene (experimentálny diabetes mellitus, poškodenie pečene tetrachlórmetánom). Experimentálne podmienky: V práci sme použili model STZ diabetu indukovaného u novorodených potkanov a model toxického poškodenia pečene  $\text{CCl}_4$ , pri ktorom dochádza aj ku steatóze pečene. Aktivitu CHE sme vyšetrovali spektrofotometricky. V pečeni experimentálnych zvierat sme vyšetrili obsah TGL chemicky aj histologicky. Výsledky: Vyšetrenie zvierat so STZ-diabetom ukázalo štatisticky významný vzostup CHE v sére ( $P < 0,001$ ). Množstvo TGL v pečeni diabetických zvierat bolo tiež signifikantne zvýšené. V sére zvierat s tetrachlórovým poškodením pečene sa aktivita CHE taktiež významne zvyšovala. Histologické vyšetrenie pečene i chemické stanovenie TGL ukázalo ich signifikantné zvýšenie ( $P < 0,001$ ). Regresná analýza ukázala významnú pozitívnu koreláciu medzi aktivitou CHE a obsahom TGL v pečeni ( $P < 0,001$ ).

Závery: Výsledky vyšetrenia sérovej aktivity CHE a TGL v pečeni pri oboch experimentálnych modeloch spojených so steatózou pečene potvrdzujú, že steatóza pečene je spojená so zvýšením aktivity CHE v sére.

### P-5

#### **Enzymová aktivita ceruloplazmínu v priebehu gravidity a u žien s intrahepatálnou cholestázou gravidných**

Enzymatic activity of ceruloplasmin during pregnancy and in women with intrahepatic cholestasis of pregnancy

Uhlíková E., Kupčová V., Divéky L., Sotáková L., Turecký L.

Lekárska fakulta UK, Bratislava, Slovensko  
e-mail: ladislav.turecky@fmed.uniba.sk

Ceruloplazmín (Cpl) je Cu-obsahujúci proteín. Estrogény zvyšujú syntézu Cpl, ktorého koncentrácia v gravidite stúpa na 3-4 násobok oproti fyziologickým hodno-

tám. Cpl je multifunkčný proteín s viacerými funkciami. V minulosti sa považoval za transportný proteín pre meď, neskôr sa ukázala významnou aj jeho enzýmová aktivita. Ďalšou funkciou Cpl je úloha pri ochrane proti pôsobeniu reaktívnych foriem kyslíka. Intrahepatálna cholestáza gravidných (ICP) je reverzibilná forma cholestázy objavujúca sa v druhej polovine gravidity.

Cieľ práce: Zistiť dynamiku zmien Cpl v priebehu gravidity ako aj prípadné zmeny u pacientiek s ICP.

Materiál a metódy: Vyšetrovaný súbor tvorilo 184 žien s fyziologickým priebehom gravidity v rôznych fázach gravidity. Zároveň sme vyšetrili aj 33 žien s ICP. Cpl sme vyšetrovali ako ferroxidázu a polyfenoloxidázu. Vyšetrovali sme aj hladinu celkových žlčových kyselín a hladinu Cu.

Výsledky: Ako ukázali výsledky našej štúdie, hladina Cpl začala významne stúpať v 9. gestačnom týždni. Hodnoty v 2. a 3. trimestri boli vyššie ako v prvom trimestri, ale 2. a 3. trimester sa navzájom nelíšili. Aktivity polyfenoloxidázy a ferroxidázy sa zvyšovali paralelne. Súbor s ICP sme rozdelili na ľahkú formu (žlčové kyseliny < 40  $\mu\text{mol/l}$ ) a ťažkú formu (> 40  $\mu\text{mol/l}$ ). U žien s ľahšou formou neboli významné zmeny ani ferroxidázovej ani polyfenoloxidázovej aktivity v porovnaní so zdravými gravidnými ženami. U žien s ťažkou formou ICP boli obe enzýmové aktivity ceruloplazmínu významne zvýšené (polyfenoloxidáza: 825 vs. 616 mg/l, ferroxidáza: 11,42 vs. 9,01  $\mu\text{kat/l}$ ).

## P-6

### Enzýmová aktivita ceruloplazmínu u pacientov po transplantácii pečene - kazuistika

Enzymatic activity of ceruloplasmin in patients after liver transplantation

Uhlíková E., Kupčová V., Turecký L.  
*Lekárska fakulta UK, Bratislava, Slovensko*  
e-mail: [ladislav.turecky@fmed.uniba.sk](mailto:ladislav.turecky@fmed.uniba.sk)

Ceruloplazmín (Cpl) je multifunkčný proteín, ktorý má v organizme katalytickú, antioxidantnú a transportnú funkciu. Ceruloplazmín je glykoproteín syntetizovaný v hepatocytoch, keď sú atómy meďi inkorporované do holoproteínu, a takto sa secernuje do cirkulácie. Je aj efektívny antioxidant pretože má schopnosť oxidovať vysokotoxické  $\text{Fe}^{2+}$  ióny na relatívne netoxické  $\text{Fe}^{3+}$  ióny a takto pomáha zabrániť oxidačnému poškodeniu bielkovín, lipidov a DNA.

Cieľ práce: Zhodnotiť zmeny hladiny Cpl a jeho enzýmových aktivít u pacientov s chronickými hepatopatiami po transplantácii pečene.

Vyšetrovaný súbor a metódy: Vo svojej práci prezentujeme zo skupiny transplantovaných pacientov, dispenzarizovaných na III. internej klinike LFUK, 5 kazuistik. U pacientov bola vyšetrená enzýmová aktivita Cpl (ferroxidáza a polyfenoloxidáza) pred transplantáciou a potom v období jeden, tri a šesť mesiacov po transplantácii pečene.

Výsledky: Ako ukázali výsledky našich vyšetrení, aktivita ferroxidázy bola u všetkých prezentovaných pacientov pred transplantáciou významne znížená.

Tento nález je v súhlase so skutočnosťou, že títo pacienti boli pred transplantáciou pečene na hranici insuficiencie a proteosyntetická kapacita ich pečene bola výrazne znížená. Po transplantácii pečene dochádzalo u všetkých prezentovaných pacientov ku významnému nárastu ferroxidázovej aktivity ceruloplazmínu. V prípade polyfenoloxidázovej aktivity ceruloplazmínu sme zistili odlišnú dynamiku zmien po transplantácii pečene. Toto rozdielne správanie sa oboch enzýmových aktivít Cpl si zatiaľ nedokážeme adekvátne vysvetliť. Môže ísť o rozdielny vplyv posttransplantačnej terapie na enzýmové aktivity ceruloplazmínu, alebo na odlišnosť zabudovania meďi do molekuly proteínu.

## P-7

### Vliv kyseliny ursolové získané z přírodních zdrojů na regenerační schopnost jater

Influence of ursolic acid from nature origin on liver regeneration

Žaloudková L.<sup>1</sup>, Tichá A.<sup>2</sup>, Hyšpler R.<sup>1,2</sup>, Živný P.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Ústav klinické biochemie a diagnostiky Fakultní nemocnice Hradec Králové,

<sup>2</sup>Centrum pro vývoj a výzkum Fakultní nemocnice Hradec Králové

e-mail: [lenka.zaloudkova@fnhk.cz](mailto:lenka.zaloudkova@fnhk.cz)

Cílem studie bylo zhodnocení vlivu kyseliny ursolové (UA) z přírodních zdrojů na regenerační schopnost jater.

Metody: Potkani (n=18) ve věku 6 týdnů byli rozděleni do tří skupin. Dvě skupiny potkanů byly krmeny standardní laboratorní dietou (SLD) a jedna skupina byla krmena dietou vysokotukovou (HF). 7 dní před parciální hepatektomií (PH) byl potkanům (kromě kontrolní skupiny) denně podáván intragastricky extrakt kyseliny ursolové (80 mg/kg hmotnosti). Po dobu experimentu byly pravidelně sledovány hmotnostní změny zvířat a byla jim odebírána krev na stanovení analytů charakterizujících lipidový metabolismus—cholesterol (CHOL), HDL, LDL, triacylglyceroly (TAG) a žlučové kyseliny (ŽK). 24 hodin po PH byli potkani utraceni, byla odebrána krev a jaterní tkáň pro molekulárně-biologické parametry (mRNA hepatocytární růstový faktor—HGF a nukleární transkripční faktory PPAR alfa a CYP7a1, CPT1).

Výsledky: Skupina SLD UA měla zvýšené HGF proti kontrolní skupině, zároveň u skupiny s HF dietou v porovnání se skupinou kontrolní bylo HGF sníženo (SLD 1,61±0,06, SLD UA 2,00±0,30, HF UA 1,34±0,12). Výsledky jsou udány jako relativní vztažené k expresi HPRT genu. Výsledky aktivace PPAR alfa proti kontrolní skupině ukazují redukci exprese SREBP a aktivaci CPT1. U obou skupin potkanů v porovnání s kontrolní skupinou byly nalezeny snížené koncentrace SREB1. Stanovení ŽK prokázalo snížení koncentrace ŽK po PH u obou skupin v porovnání s kontrolní skupinou (SLD 104,4 ± 14,4; SLD UA 84,6 ± 11,0 HF UA 92,7±24,2  $\mu\text{mol/l}$ ).

Závěr: Vlivem podání kyseliny ursolové došlo ke stimulaci jaterní regenerace, což ukazuje na možné anti-hyperlipidemické účinky.



## P-8

### **Pět let novorozeneckého screeningu dědičných metabolických poruch v České republice**

Five years of newborn screening of inherited metabolic disorders in the Czech Republic

Chrastina P., Jandová J., Friedecký D., Hlídková E., Příbylová M., Zoulová V., Vlášková H., Pešková K., Pazdírková R., Procházková D., Ješina P., Hrubá Z., Adam T., Kožich V.

Ústav dědičných metabolických poruch, VFN a 1. LF UK v Praze; Laboratoř dědičných metabolických poruch, Fakultní nemocnice Olomouc; Klinika dětí a dorostu, FN Královské Vinohrady a 3. LF UK v Praze; Pediatrická klinika LF MU a FN Brno; Centrum molekulární biologie a genové terapie, FN Brno  
e-mail: petr.chrastina@vfn.cz

Cíl: Pouze včasná diagnostika dědičných metabolických poruch (DMP) umožňuje včasnou léčbu, která zlepšuje prognózu nemocných dětí. Po pěti letech vyhodnocujeme výsledky rozšířeného novorozeneckého screeningu (NS) na 10 DMP.

Metoda: Aminokyseliny a acylkarnitiny byly analyzovány ze suché krevní kapky metodou tandemové hmotnostní spektrometrie.

Výsledky: V období od 1. října 2009 do 31. prosince 2014 jsme vyšetřili 577 756 novorozenců a zachytili 166 novorozenců s DMP. Jeden pacient s intermitentní formou leucinózy nebyl zachycen. Pozitivní prediktivní hodnota byla 26,5 %. Celková frekvence falešně pozitivních nálezů byla 0,08 %. U nejčastějších onemocnění (PKU/HPA 1:5 200, deficit MCAD 1:19 900 a deficit LCHAD 1:57 800) jsme analyzovali i zastoupení patogenních alel a jejich regionální rozložení. Celková frekvence skutečně zachycených pacientů byla 1: 3 460.

Závěr: Výsledky NS DMP v České republice jsou ve shodě s doporučením Region4Screening. Nastavení laboratorních kritérií neustále optimalizujeme s cílem snížit frekvenci falešně pozitivních nálezů. V současné době je připraveno rozšíření screeningového panelu o 5 DMP: citrulinémii typu I, argininémii, deficit CBS, MTHFR a deficit biotinidázy.

Podpořeno MZ ČR – RVO VFN64165 a projektem OPK CZ.2.16/3.1.00/24012.

## P-9

### **Nástrahy testování POCT systémů stanovení glukózy**

Pitfalls of testing glucose POCT systems

Springer D., Omastová K., Zima T.  
Referenční laboratoř pro klinickou biochemii při Ústavu lékařské biochemie a laboratorní diagnostiky, Všeobecná fakultní nemocnice v Praze  
e-mail: springer@vfn.cz

Požadavek na testování glukometrů, které jsou nabízeny pro selfmonitoring diabetiků i pro ambulance diabetologů, vzešel ze společného jednání České dia-

betologické společnosti a České společnosti klinické biochemie. Navrhované hodnocení osobních glukometrů je vypracováno s ohledem na normu EN ISO 15197, doporučení NACB a české doporučení „Diabetes mellitus - laboratorní diagnostika a sledování stavu pacientů“.

Pro testování máme akreditovanou metodu „Stanovení glukózy systémem glukometr – měřící proužek pro ověření funkce glukometru“, kdy jsou srovnávány výsledky měření získané glukometrem s hexokinázovou metodou ve venózní krvi. Metoda testování je akreditovaná dle normy ISO 17 025 Českým institutem pro akreditaci. Výsledné hodnocení je zaměřeno na uživatele systému a jeho metodika zahrnuje systém hodnocení dle normy ISO 15197 proveditelný v podmínkách testovací laboratoře.

Hodnotí se opakovatelnost naměřených výsledků, mezilehlá preciznost, ale hlavně přesnost ve srovnání s výsledky s referenční hexokinázovou metodou, provádí se i vyhodnocení kvality příbalového letáku a návodu k použití.

V rámci testování glukometru dovezly výrobní firmy do laboratoře dvakrát i vlastní analyzátor YSI 2300 a bylo provedeno srovnání výsledků stanovení glukózy pomocí hexokinázové metody a tohoto elektrochemického systému. Grafy dokazují naprostou shodu obou metod.

Častým problémem bývá různá verze testovacích proužků dodávaných do východní a západní Evropy, takže je není možné použít v dodaných glukometrech. Některé šarže testovaných proužků poskytují signifikantně odlišné výsledky měření. Proto je nezbytné vždy vydávat výsledek hodnocení nejen pro daný glukometr, ale také pro šarži testovacích proužků.

## P-10

### **Testování volné cirkulující nukleové kyseliny v krevní plazmě**

Testing free circulating nucleic acids in blood plasma

Beránek M., Totzauerová K., Vaňková R., Palička V.  
Ústav klinické biochemie a diagnostiky FN Hradec Králové, Lékařská fakulta UK v Hradci Králové a Farmaceutická fakulta UK v Hradci Králové  
e-mail: beranek@lfhk.cuni.cz

Cíl práce: Cílem této práce bylo porovnat různé komerčně dostupné soupravy pro izolaci volné cirkulující DNA ze vzorků krevní plazmy a vyhodnotit získané extrakty na základě optických charakteristik, výsledků real-time PCR a detekce krátkých a dlouhých fragmentů DNA na elektroforetickém gelu.

Metody: Pro porovnání extrakčních metod byly zvoleny celkem čtyři komerčně dostupné soupravy pro manuální extrakci: QIAmp DNA Blood Mini Kit (Qiagen), NucleoSpin Plasma XS (Macherey-Nagel), QIAmp DSP Virus Spin Kit (Qiagen) a Agencourt Genfind v2 (Beckman Coulter). DNA byla izolována z alikvotů smíšené plazmy o objemu 700 µl. Následně proběhla spektrofotometrie (Nanodrop ND 1000), fluorimetrie

(Qubit dsDNA HS Assay), real-time PCR (souprava gb Genetic Human DNA, Generi Biotech, přístroj Rotor-gene 6000) a fragmentační analýza (ABI 3130) vzorků obohacených o GeneScan 500 LIZ Dye Size Standard (Life Technology).

Výsledky: Nejlepší výtěžnost a čistotu poskytla souprava QIAmp DSP Virus Spin Kit s průměrnou hodnotou koncentrace DNA stanovené při PCR 49,9 ng/ml, nicméně fragmentační analýza prokázala významné ztráty fragmentu DNA o délce 75 bp. Souprava NucleoSpin Plasma XS Kit s koncentrací 39,8 ng/ml dokázala vyextrahovat všechny fragmenty přítomné v referenčním materiálu v náležitém poměru. Souprava DNA Blood Mini Kit měla výtěžky výrazně nižší (15,9 ng/ml), souprava Agencourt vykazovala při extrakci výrazné ztráty krátkých fragmentů (75-200 bp) při výtěžku 31,4 ng/ml.

Závěr: Souprava NucleoSpin Plasma XS Kit jako jediná byla schopna extrahovat všechny fragmenty DNA, včetně fragmentů krátkých (75-200 bp). Z tohoto důvodu se jeví jako nejvhodnější pro další experimentální práci. Umožňuje extrakci DNA z 200-800 µl plazmy, aniž muselo dojít k zásadním úpravám pracovního protokolu.

Práce byla podpořena grantem SVV 260057/2014 a projektem PRVOUK P37 UK Praha.

## P-11

### **Vliv transportu potrubní poštou na cytobiochemické a spektrofotometrické vyšetření mozkomíšního moku**

Influence of pneumatic tube system transport on cytochemical and spectrophotometric parameters of cerebrospinal fluid

Brož P., Rajdl D., Ženková J., Petříková V.  
Ústav klinické biochemie a hematologie FN Plzeň  
e-mail: brozp@fnplzen.cz

Je známa nutnost včasného zpracování mozkomíšního moku zasláního na cytobiochemické a spektrofotometrické (SPFM) vyšetření. Cílem bylo porovnat vliv transportu mozkomíšního moku pomocí potrubní pošty (PP) a zdravotnického personálu (ZP), zejména čas nutný k doručení do laboratoře, základní cytobiochemické parametry a SPFM vyšetření.

Zařazeno bylo 38 vzorků mozkomíšního moku. Sledována byla doba od odběru nutná k doručení vzorků do laboratoře, stanoven počet erytrocytů a leukocytů včetně diference, stanovena proteinurie, glykorachie a laktát, zhodnocen trvalý cytologický preparát. Bylo provedeno SPFM vyšetření se stanovením net oxyhemoglobin absorbance (NOA) a net bilirubin absorbance (NBA).

Vzorky zaslání pomocí PP dorazily do laboratoře rychleji než vzorky transportované pomocí ZP – v průměru 28 min (4-110) v případě PP, 38 min (10-153) v případě ZP.

Nedošlo k poklesu počtu leukocytů: PP–163/µl (1-2900), ZP–135/µl (1-2899), ani ery: PP–7364/µl (0-148480), ZP–7193/µl (0-148840), obdobně při

základním biochemickém vyšetření, CB: PP–0,84 g/l (0,18-4,3), ZP–0,89 g/l (0,19-4,44), glykorachie: PP–3,97 mmol/l (2,42-5,94), ZP–3,7 mmol/l (2,4-7,1), laktát: PP–2,5 mmol/l (1,1-5,5), ZP–2,5 mmol/l (1,1-5,7) ani při SPFM vyšetření–NOA: PP–0,1 (0,001-0,95), ZP–0,098 (0,001-0,95), NBA: PP–0,033 (0,001-0,28), ZP–0,031 (0,001-0,23). Při hodnocení trvalého cytologického preparátu nebyly zaznamenány žádné rozdíly. Transport mozkomíšního moku PP nevedl ke klinicky významné změně rutinně hodnocených cytobiochemických parametrů ani parametrů hodnocených při SPFM vyšetření.

Podpořeno projektem MZ ČR-RVO (FNPI,00669806).

## P-12

### **Výsledky sledování indikátorů kvality preanalytické fáze v České republice versus Evropa**

Monitoring the indicators of preanalytical phase

Bunešová M., Moravcová L.  
ÚLCHKB 2. LF UK a FN Motol, Praha  
e-mail: Martina.bunesova@fnmotol.cz

V ČR je 330 biochemických laboratoří a 10.000.000 obyvatel; denně se průměrně provede 20 výkonů na jednoho obyvatele. Z toho plyne, že kvalita preanalytické fáze se dotýká každého z nás. Jedna z prvních prací v ČR o preanalytické fázi byla vydána formou encyklopedie laboratorní medicíny v r. 2005. Tato kniha se podrobně zabývá biochemickými analyty a u každého jsou vyjmenovány podmínky preanalytiky, za kterých je možno analyt zpracovat. Tato kvalita byla sledována, ale důsledně je dokumentována až po zavedení ČSN ISO 15 189 do praxe. Byla vytvořena pracovní skupina složená z lékaře, analytika a laboranta, která vytvořila dokument Doporučení k převzetí biologického materiálu klinickou laboratoří. Východiskem byla ČSN ISO 15 189, aktuální informace z literatury pojednávající o preanalytické fázi a informace [www.specimencare.com](http://www.specimencare.com). Pilotní studie analýz počtu a druhu neshod, v oblasti přijetí (odmítnutí) biologického vzorku, byla provedena v laboratořích tří českých fakultních nemocnic.

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 %. Práce uvádí porovnání výsledků sledování indikátorů kvality v ČR a v ostatních evropských zemích.

Na kongresu EFLM v Portu v březnu 2015 byly součástí programu referáty národních zástupců o stavu sledování preanalytické fáze v evropských zemích. Jednalo se o 14 referátů z 18 zemí (Skandinávie referovala souhrnně). Jednou ze zemí, které seznámily ostatní Evropu s aktuálním stavem preanalytiky, byla i Česká republika. Ze všech referátů shodně vyplynula potřeba používání indikátorů kvality preanalytiky a jejich harmonizace v Evropě a vytvoření programů EHK preanalytické fáze.

## P-13

### Deficit galaktokinázy a stanovenie galaktitolu na Slovensku

Galactokinase deficiency and galactitol determination in Slovakia

Ferenczy V., Behúlová D., Šebová C., Zahorcová M., Gerinec A., Tomčíková D., Bzdúch V.

Centrum dedičných metabolických porúch OLM; Klinika detskej oftalmológie; 1.detská klinika, Detská fakultná nemocnica s poliklinikou Bratislava  
e-mail: viktoria.ferenczy@gmail.com

Galaktitol je alkohol, ktorý vzniká redukciou galaktózy. Pri geneticky podmienenom deficite galaktokinázy (GALK) sa hromadí v organizme a jeho účinkom dochádza v očných šošovkách k rýchlemu vývoju katarakty. Začiatkom roku 2015 sa na Slovensku podarilo zaviesť stanovenie galaktitolu metódou plynovej chromatografie s hmotnostnou spektrometriou (GC-MS). Cieľom práce bolo prezentovať pacienta, u ktorého GC-MS analýza galaktitolu v moči umožnila promptnú diagnostiku deficitu GALK.

Vo veku 2 mesiacov matka spozorovala u chlapca „záškľby očí“ a v 5. mesiaci „biele zreničky“. Ako 8mesačný (február 2015) bol prijatý s horizontálnym nystagmom a kataraktou obojstranne na operáciu. V rámci diferenciálnej diagnostiky katarakty sa urobili metabolické vyšetrenia. V suchej kvapke krvi dominovala extrémna hypergalaktozémia  $>5,0$  mmol/l (RH $<0,2$ ) a zachytila sa aj výrazná hypergalaktozúria 5,38 mmol/mol krea (RH $<0,38$ ). Následné stanovenie galaktitolu v moči odhalilo masívne zvýšenú exkréciu 18 672 mmol/mol krea (RH $<90$ ). Klinický priebeh a biochemický nález boli typické pre deficit GALK. Na cieľnú DNA analýzu sa odoslala vzorka krvi.

Pacient je prvým zachyteným prípadom deficitu GALK na Slovensku. K detekcii veľmi zriedkavého ochorenia významne prispela dostupnosť rýchlej a jednoduchej GC-MS analýzy galaktitolu v moči. Metóda bude slúžiť pacientom z celej krajiny na diagnostiku a monitorovanie dedičných porúch metabolizmu galaktózy.

Práca vznikla vďaka podpore v rámci OP Výskum a vývoj pre dopytovo-orientovaný projekt: UVP UK v Bratislave, ITMS 26240220086 spolufinancovaný zo zdrojov EFRG.

## P-14

### iFABP jako potenciální marker poškození tenkého střeva v průběhu resekce tlustého střeva

iFABP as a potential markers of small bowel damage after large intestine resection

Hyšpler R., Tichá A., Svobodová I., Kaška M., Drahošová M., Zadák Z.

Centrum pro výzkum a vývoj, Chirurgická klinika, Ústav klinické imunologie a alergologie, Fakultní nemocnice Hradec Králové  
e-mail: radomir.hyspler@fnhk.cz

Intestinální cytosolický protein vázající mastné kyseliny (iFABP) umožňuje vazbu a transport mastných kyselin v cytosolu k různým buněčným organelám. Lze předpokládat, že iFABP by mohl sloužit jako marker nekrózy významné části enterocytů. Dysfunkce gastrointestinálního traktu u kriticky nemocných nebo pacientů po operaci je spojena s horší prognózou a vhodný marker střevního poškození stále není k dispozici. Cílem této studie bylo vyhodnotit plazmatický iFABP v kohortě pacientů po resekci tlustého střeva pro maligní onemocnění jako modelu poškození tenkého střeva.

Metody: Hodnocenou skupinu tvořilo 117 pacientů (věk  $66 \pm 9,4$  let; BMI  $26,9 \pm 4,7$  kg/m<sup>2</sup>) podstupujících resekci tlustého střeva pro kolorektální karcinom. Plazmatický iFABP byl stanovován metodou ELISA. Vzorky byly odebírány před operací (den -1) a denně po dobu 5 dní po operaci (den 0 až den 4). Data byla statisticky vyhodnocena pomocí softwaru SigmaStat, test ANOVA. Data jsou prezentována jako medián a interkvartilové rozpětí.

Výsledky: Byly nalezeny následující hodnoty plazmatické koncentrace iFABP (ng/l): den -1: 417,9 (232,3; 748,3), den 0: 583,15 (318,7; 956,1), den 1: 462,8 (292,3; 762,3), den 2: 367,8 (192,3; 563,4), den 3: 269,8 (163,2; 432,6), den 4: 284,6 (143,2; 519,9). Signifikanční rozdíly byly v koncentracích pooperačně (den 0) v porovnání s předoperačním odběrem (den -1) a pooperačními hodnotami (den 1-4).

Závěr: Plazmatická koncentrace iFABP se zdá být citlivým markerem poškození enterocytů zvláště pokud je vyhodnocena jako změna proti bazální hodnotě.

Podpořeno projektem IGA MZ ČR NT13536-4/2012.

## P-15

### Analýza galaktitolu a sacharidů v moči pomocí GC/MS

Analysis of urinary galactitol and saccharides by GC/MS

Jáčová J., Bekárek V., Friedecký D., Hlídková E., Petrželová S., Adam T.

OKB, FN Olomouc a UMTM, LF UP Olomouc  
e-mail: Jaroslava.jacova@gmail.com

Cíl studie: Cílem studie bylo vyvinout metodu pro stanovení galaktitolu a sacharidů v moči pomocí GC/MS. V rutinní LC/MS metodě dochází často při stanovení galaktitolu k interferencím manitolem a sorbitolem, které vykazují identické separační a MS vlastnosti. Zatímco TLC je kvalitativní metoda často poskytující při analýze sacharidů nejednoznačný, obtížně interpretovatelný profil.

Metody: Vzorky byly dvojnásobně derivatizovány pomocí TMSI a BSTFA. Pro kvantifikaci byly použity interní standardy 13C6-galaktitol a 13C6-galaktóza. Vzorky byly analyzovány na GC Trace Ultra / MS DSI (Thermo Scientific). Separace byla provedena na koloně ZB-5 (30 m; 0,25 mm; 0,25  $\mu$ m) při průtoku helia 0,5 ml/min. Počáteční teplota teplotního programu byla 180 °C, teplotní rampa 1 °C/min. Byl použit split/split-



less inlet (250°C), splitovací poměr 1:10, objem nástřiku 2 µl. Kvadrupól pracoval v režimu full scan (m/z 50-480) při frekvenci 1,35 Hz.

Výsledky: Byly stanoveny analytické znaky metody stanovení galaktitolu. Metoda je lineární v rozsahu 0-1000 µmol/l ( $r^2=0,9988$ ) při opakovatelnosti v sérii (CV < 2,03%) a mezi sériemi (CV < 2,84%) a LOQ = 0,48 µmol/l. Metoda byla ověřena na vzorcích pacientů s galaktosemií. Dále byly stanoveny retenční a fragmentační charakteristiky jednotlivých sacharidů pro identifikaci sacharidů u pacientů s nejasnými TLC profily. Metoda při použití <sup>13</sup>C6-galaktózy umožňuje také kvantifikaci sacharidů.

Závěr: Byla vyvinuta přesná a robustní GC/MS metoda pro stanovení galaktitolu v moči, která zároveň slouží k identifikaci a kvantifikaci sacharidů v moči.

Poděkování: „Podpora vytváření excelentních výzkumných týmů a intersektorální mobility na Univerzitě Palackého v Olomouci“ č. CZ.1.07/2.3.00/30.0004

## P-16

### Stanovení manganu a selenu v mozkomíšním moku u dětských a dospělých pacientů

Investigation of manganese and selenium in cerebrospinal fluid of children and adults

Kotaška K., Jiráková L., Pospíšilová R., Franěk T., Průša, R.

Ústav lékařské chemie a klinické biochemie 2. LF UK a FN v Motole, Praha

e-mail: kotaska@email.cz

Cíl studie: Selen a mangan patří mezi stopové prvky účastníci se řady významných biochemických dějů. Cílem práce bylo stanovit koncentrace Se a Mn v mozkomíšním moku pacientů s onkologickými a neurologickými onemocněními.

Metody: Ke stanovení byla využita elektrotermická atomová absorpční spektrometrie se Zeemanovou korekcí. Selen byl stanovován při vlnové délce 196 nm, vlnová délka pro stanovení manganu byla 279,5 nm. Pro selen byla stanovena mez detekce 2,9 µg/l a pro mangan 0,26 µg/l. Celkem bylo vyšetřeno 73 pacientů (31 žen, 42 mužů, průměrný věk 14,1 let). Pacienti byli rozděleni do skupin podle věku (56 dětí a 17 dospělých) a podle typu onemocnění (onkologická onemocnění a neurologická onemocnění). Kontrolní skupina byla tvořena 18 jedinci (5 žen, 13 mužů, průměrný věk 21,7 let) s ostatními onemocněními (traumatická poranění, ileus, pneumonie).

Výsledky: Byly nalezeny vyšší koncentrace selenu v likvoru v kontrolní skupině oproti pacientům s neurologickými onemocněními (medián = 14,4 µg/l vs. 12,4 µg/l,  $p < 0,05$ ). Vyšší hladiny manganu v likvoru byly zaznamenány u dětí s onkologickými onemocněními v porovnání s kontrolní skupinou pacientů (1,2 µg/l vs. 0,5 µg/l,  $p < 0,05$ ).

Závěr: Koncentrace manganu a selenu v mozkomíšním moku jsou zvýšené u dětských i dospělých pacientů se závažným onkologickým nebo neurologickým onemocněním.

## P-17

### Role proteinu ACBD3 v mitochondriálním energetickém metabolismu

Role of ACBD3 protein in mitochondrial energy metabolism

Kratochvílová H., Rodinová M., Stránecký V., Marková M., Vondráčková A., Sládková J., Honzík T., Hansíková H., Zeman J., Tesařová M.

Klinika dětského a dorostového lékařství, 1. lékařská fakulta, Univerzita Karlova a Všeobecná fakultní nemocnice v Praze; Ústav dědičných metabolických poruch, 1. lékařská fakulta, Univerzita Karlova a Všeobecná fakultní nemocnice v Praze, Česká republika.

e-mail: hana.kratochvilova@lf1.cuni.cz

Pomocí sekvenování nové generace byla nalezena homozygotní mutace c.460A>G v genu ACBD3 u pacientky s kombinovaným defektem komplexů systému oxidativní fosforylace. Gen ACBD3 kóduje acyl-coenzym A binding domain containing 3 protein (60 kDa), který je lokalizovaný v Golgiho aparátu, endoplazmatickém retikulu a v mitochondrii. Protein ACBD3 hraje důležitou roli v mnoha buněčných procesech (lipidový metabolismus, membránový transport, embryogeneze, steroidogeneze, apoptóza, atd.). V mitochondriích je ACBD3 protein přítomný v komplexu (140-200 kDa) zajišťující transport cholesterolu do organely. Další součástí tohoto komplexu je protein VDAC, který ve vnější mitochondriální membráně tvoří přístupné póry, asociuje s proteinem ANT (adenine nukleotidový transporter) lokalizovaným ve vnitřní mitochondriální membráně. ANT neboli ADP/ATP přenašeč kontroluje dostupnost adeninových nukleotidů potřebných pro udržení správné struktury mtDNA.

Cílem této studie bylo charakterizovat dopad stabilně utištěné exprese proteinu ACBD3 v HEK293 buňkách na biogenezi a funkci komplexů systému oxidativní fosforylace se záměrem objasnit roli tohoto proteinu v patogenezi defektního fenotypu.

První výsledky naznačují, že deficit proteinu ACBD3 vede ke snížení nativního množství a aktivity komplexu IV a snížení množství vybraných podjednotek komplexu IV.

Studie byla podpořena výzkumnými granty GAUK 1308214, IGA NT /13114-4, RVO-VFN64165/2012 a SVV UK 260148/2015.

## P-18

### Hodnocení možného přínosu vyšetření Hevylite u mnohočetného myelomu s lehkými řetězci (LCMM)

Analysis of potential contribution of Hevylite assessment in light-chain only multiple myeloma

Lochman P., Ščudla V., Pika T., Minařík J. OKB FN Olomouc; Hematoonkologická klinika FN Olomouc

e-mail: pavel.lochman@fnol.cz



Úvod: Stanovení imunoglobulinů podle typu lehkého řetězce (HLC) je slibnou metodou v diagnostice mnohočetného myelomu (MM) a v hodnocení hloubky léčebné odpovědi u MM.

Cíl: Účelem této studie je zhodnocení vztahu mezi délkou přežití a hladinami izotypů HLC u mnohočetného myelomu s lehkými řetězci (LCMM).

Materiál a metody: Analýza sér byla provedena soupravami Hevylite™ pro třídy IgG, IgA a IgM u 31 pacientů s LCMM.

Výsledky: V celé kohortě byly nalezeny tyto vztahy: pro sérové IgG-kappa (cut-off 2,62 g/l) jsme našli významný vztah mezi celkovým přežitím (OS) (23,6 vs 58,4 měsíců,  $p=0,046$ ) i přežitím bez progresu (PFS) (12,7 vs. NR; NR=nedosaženo). Pro IgA-lambda (0,18 g/l) byly nalezeny významné rozdíly v křivkách přežití pro PFS i OS a pro IgM-kappa (0,99 g/l) byly nalezeny rozdíly v křivkách přežití pro OS.

Ve skupině kappa jsme našli rozdíly mediánů a křivek přežití v případě IgA-kappa (0,22 g/l) pro PFS a OS, IgA-lambda (0,16 g/l) pro PFS (10,4 vs. NR,  $p=0,04$ ) a OS a u IgM-kappa (cut-off 0,1 g/l) pro OS. Ve skupině lambda jsme našli rozdíly v případě IgG-lambda (1,76 g/l) pro OS a u poměru IgG-kappa/IgG-lambda (1,81) pro PFS, v případě IgA-kappa (0,13 g/l) pro PFS i OS, v případě IgA-lambda (0,20 g/l) pro PFS i OS, v případě poměru IgA-kappa/IgA-lambda (1,1) pro PFS i OS a u poměru IgM-kappa/IgM-lambda (1,5) pro PFS i OS (23,3 vs. 58,4;  $p=0,029$ ).

Závěry: Naše předběžná analýza ukazuje potenciální přínos analýzy sérových HLC včetně jejich poměrů pro hodnocení PFS a OS i u onemocnění jako je LCMM.

Podpořeno z grantu IGA NT 12451/5.

## P-19

### Vyšetření DNA v mateřské plasmě u těhotenství dosažených metodami asistované reprodukce

Maternal plasma DNA testing for aneuploidy in pregnancies achieved by assisted reproductive technologies

Loucký J., Lambert-Messerlian G., Kloza M. E., Williams J., O'Brien B., Wilkins-Haug L., Mahoney J. M., De Biasio P., Borrell A., Ehrich M., Van den Boom D., Bombard T. A., Deciu C., Palomaki E. G.  
*IMALAB s.r.o. Medical Laboratories, Zlín, Czech Republic; Department of Pathology and Laboratory Medicine, Women and Infants Hospital and the Alpert Medical School of Brown University, Providence, RI; Department of Obstetrics and Gynecology, Cedars-Sinai Medical Center, Los Angeles; Prenatal Diagnostic Center, Department of Obstetrics and Gynecology, Women and Infants Hospital and the Alpert Medical School of Brown University, Providence, RI; Department of Obstetrics and Gynecology, Brigham and Women's Hospital, Boston, MA; Department of Genetics, Yale University, New Haven, CT; Istituto G. Gaslini, Genova, Italy; Hospital Clinic Barcelona, Barcelona, Catalonia, Spain;*

*Sequenom, Inc., San Diego, CA; Sequenom Center for Molecular Medicine, San Diego, CA.; Ústav klinické biochemie a patobiochemie UK 2. LF a FN Motol, Praha*

*e-mail: loucky@imalab.cz*

Neinvasivní prenatální testování (NIPT) využívá masivní paralelní sekvenování volné fetální DNA (cfDNA) z krve matky pro přesnou detekci chromozomálních vad.

Cílem naší práce bylo srovnání obsahu mimobuněčné fetální DNA (cffDNA) u těhotenství vzniklých přirozeným způsobem a u těhotenství dosažených metodami asistované reprodukce. V obou skupinách byly porovnávány jak výsledky získané u nepostížených plodů, tak u plodů s prokázaným Downovým syndromem.

Při vyhodnocení výsledků nebyly zjištěny rozdílné hodnoty obsahu cffDNA, celkové cfDNA, nebo fetální frakce v závislosti na metodě počítání. Bylo zjištěno systematické snížení z-skóre u chromozomů 21, 18 a 13 u těhotenství vzniklých metodami asistované reprodukce, ve srovnání s těhotenstvími vzniklými spontánně.

## P-20

### Stanovení iohexolu jako ukazatele glomerulární filtrace

Determination of iohexol as a marker of glomerular filtration

Malínská H., Kazdová L., Štollová M., Teplan V.  
*Centrum experimentální medicíny, Institut klinické a experimentální medicíny, Praha*  
*e-mail: haml@ikem.cz*

Úvod: Měření rychlosti glomerulární filtrace GFR (glomerular filtration rate) je nevhodnějším ukazatelem funkce ledvin. Znalost této hodnoty je zásadní pro diagnostiku, klasifikaci, vedení léčby i sledování vývoje onemocnění. Rovnice založené na endogenních markerech filtrace (cystatin-C, kreatinin) jsou zatíženy omezenou přesností a reprodukovatelností. Naproti tomu přímé měření využívá měření plazmatické nebo močové clearance „ideálního“ markeru filtrace, který by měl být volně filtrován v glomerulu a neměl by být resorbován, metabolizován, syntetizován ani vylučován ledvinami. Vedle stanovení inulinu, jehož močová clearance je stále považována za zlatý standard pro měření GFR, jsou hledány další metody pro stanovení plazmatické clearance. Jednou z látek, které se zdají být vhodné pro měření GFR, je iohexol.

Cíl: Cílem studie bylo zavést a ověřit přesnost metody stanovení iohexolu v séru/plasmě a moči pomocí vysokoúčinné kapalinové chromatografie.

Metodika a výsledky: Pro stanovení iohexolu byla použita kolona s obrácenou fází C18 (3,9 x 250 mm, Phenomenex) a mobilní fází, která obsahovala A-0, 1 % trifluoroctovou kyselinu a B-metanol v poměru 95:5,  $pH=2,2$ ; průtok 1,2 ml/min. Iohexol byl detekován při 254 nm a jako vnitřní standard byla použita para-amino-hippurová kyselina. Kalibrační křivka byla stanovena v rozsahu 20-300  $\mu g/ml$ . Výhodou metody měření GFR pomocí iohexolu je větší stabilita vzorků, nevýhodou pak větší finanční náročnost stanovení.

Závěr: Metoda umožňuje stanovení iohexolu dostatečně selektivně a s dobrou přesností a správností metody. V dalším kroku bude nutné tuto metodu porovnat s clearancí inulinu i vypočítanými rovnicemi při vyšetření glomerulární filtrace.

Podpořeno grantem P305/13-04420S a MZ ČR-RVO 0023001.

## P-21

### **Kolorimetrický a voltametrický průkaz peroxidázové aktivity magnetických částic: základní platforma pro konstrukci peroxidázových biosenzorů**

Colorimetric and voltammetric demonstration of peroxidase-like activity of magnetic particles: basic platforms for peroxidase biosensors

Martinková P., Pohanka M.

Fakulta vojenského zdravotnictví v Hradci Králové, Univerzita obrany v Brně

e-mail: PavlaMartinkova@seznam.cz

Biosenzory, v nichž je užívána křenová peroxidáza (KP) jako rekogniční nebo podpůrný prvek, jsou hojně využívány při stanoveních  $H_2O_2$ , alkoholu, dopaminu, aminofenolů a glukózy. Bohužel má KP řadu nevýhod jako je ztráta enzymatické aktivity v průběhu imobilizace enzymu. Z toho důvodu bylo cílem našeho výzkumu prokázat pseudo-peroxidázovou aktivitu magnetických částic (MČ), které by mohly nahradit KP v konstrukci biosenzorů.

Peroxidázová aktivita MČ byla měřena pomocí spektrofotometrie, square wave voltametrie a cyklické voltametrie. Opticky byla měřena koncentrační řada  $H_2O_2$ , který byl v jamce mikrotitrační destičky přidán ke směsi chromogenu a MČ a z průměrné absorbance za minutu byla sestrojena koncentrační křivka. Voltametricky byla měřena koncentrační řada  $H_2O_2$ , který byl spolu se sodno-acetátovým pufrům aplikován na uhlíkovoplatinovou elektrodu. Stejnými postupy byla změřena i koncentrační řada  $H_2O_2$  za použití KP. Z koncentračních řad byly spočítány hodnoty Michaelisovy konstanty ( $K_m$ ) jak pro MČ tak pro KP. Hodnoty  $K_m$  se při použití MČ jako katalyzátoru pohybovaly v rozmezí 157 až 199 mmol/l v závislosti na použité metodě. Hodnota  $K_m$  pro KP se u spektrofotometrie výrazně snížila na 25 mmol/l, u voltametrických metod došlo též k nepatrnému snížení na 167 a 163 mmol/l. Vzhledem k faktu, že koncentrační řady reakcí, které byly katalyzovány MČ,

korelovaly s Michaelisovou křivkou nejméně z 99,7 %, můžeme zhodnotit MČ za katalyzátor s pseudo-peroxidázovou aktivitou.

## P-22

### **Vybrané parametry oxidačního poškození DNA u pacientů s těžkými popáleninami**

Selected parameters of oxidative DNA damage in patients with severe burns

Matejovičová M., Hlaváčová M., Lipový B., Novotná L., Paulová H.

Biochemický ústav LF MU Brno; Klinika popálenin a rekonstrukční chirurgie FN Brno

e-mail: hlavacova@med.muni.cz

Cílem práce bylo sledovat změny úrovně poškození DNA v průběhu rozvoje popáleninové nemoci pacientů se závažnými a kritickými popáleninami.

Mimo jiných efektů má na celkový stav organismu negativní vliv i zvýšený oxidační stres, provázející popáleninové trauma. Poškození buněk imunitního systému v důsledku oxidačního stresu, hodnocené kometovou analýzou, může přispívat k rozvoji imunosuprese a SIRS u těchto pacientů, což jsou hlavní příčiny infekčních komplikací u popáleninových traumat. A dále, stanovení 8-hydroxy-2-deoxyguanosinu (8OHdG) v moči jakožto produktu degradace odráží celkovou míru oxidačního poškození DNA v organismu pacienta.

Do pilotní studie bylo zahrnuto 10 pacientů se závažnými popáleninami (podle Abbreviated Burn Severity Index). Vzorky krve a moči byly odebrány ihned po přijetí, následně pak 2.-5. a 6.-8. den. Pro stanovení hladiny 8OHdG v moči slouží metoda HPLC s elektrochemickou detekcí. Míra poškození DNA lymfocytů byla stanovena pomocí kometové analýzy a je předmětem této pilotní studie. Je to metoda založená na elektroforéze jaderné DNA jednotlivých buněk v agarózovém gelu. K anodě putují fragmenty poškozené DNA tvořící „ohon“ komety. Po vizualizaci bylo k posouzení poškození DNA v jednotlivých buňkách hodnoceno procentuální zastoupení obarvené DNA v ohonu a poté bylo provedeno rozdělení buněk do kategorií dle procenta poškození DNA.

Lze shrnout, že s rozvojem popáleninové nemoci stoupala střední hodnota poškození DNA, přičemž časový profil a počet buněk v kategoriích podle intenzity poškození je ovlivněn biologickou variabilitou v závislosti na klinickém stavu jednotlivých pacientů.

Práce byla podpořena grantem MUNI/A/1195/2014.

### Zvýšená exprese mRNA biliverdinreduktázy A v játrech a periferních leukocytech u pacientů s hepatocelulárním karcinomem podmíněným HCV infekcí

Upregulated biliverdin reductase A mRNA expression in HCV-associated hepatocellular carcinoma in the liver and peripheral blood leukocytes

Matoušová L.<sup>1</sup>, Kubíčková K.<sup>2</sup>, Urbánek P.<sup>2</sup>, Vítek L.<sup>1,3</sup>, Zima T.<sup>1</sup>, Subhanová I.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Ústav lékařské biochemie a laboratorní diagnostiky VFN a 1. LF UK Praha,

<sup>2</sup>Interní klinika ÚVN a 1. LF UK Praha, 3 4. Interní klinika VFN a 1. LF UK Praha

e-mail: matousovalinda@seznam.cz, iva.subhanova@seznam.cz

Cíl studie: Spolehlivé markery časně diagnostiky hepatocelulárního karcinomu (HCC) nejsou dosud známy. Byla popsána zvýšená exprese biliverdinreduktázy A (BLVRA) v jaterní tkáni pacientů s infekcí virem hepatitidy C (HCV) (De Giorgi 2013). Cílem naší studie bylo stanovit expresi mRNA BLVRA v jaterní tkáni a periferních leukocytech (PBL) pacientů s HCC u chronické HCV infekce a korelovat expresi mRNA BLVRA mezi jaterní tkání a PBL.

Metodika: Analyzovali jsme expresi mRNA BLVRA v jaterní tkáni a PBL u 36 pacientů s chronickou HCV infekcí (30 bez HCC, 6 s HCC podmíněným HCV) a v PBL 30 zdravých kontrol. Expese mRNA BLVRA byla stanovena metodou Real Time RT-PCR (ViiA 7, Life Technologies).

Výsledky: Prokázali jsme významně zvýšenou expresi mRNA BLVRA v jaterní tkáni pacientů s HCV infekcí s/ bez HCC ( $1,41 \pm 0,19$  vs.  $0,56 \pm 0,36$ ;  $p < 0,001$ ). Rozdílná expese mRNA BLVRA byla rovněž v PBL stejného souboru pacientů ( $1,11 \pm 0,15$  vs.  $0,88 \pm 0,31$ ,  $p = 0,03$ ) a mezi HCV infikovanými pacienty s HCC a skupinou HCV negativních kontrol ( $1,11 \pm 0,15$  vs.  $0,80 \pm 0,21$ ;  $p < 0,01$ ).

Závěr: Naše data prokazují, že ke zvýšené expresi mRNA BLVRA dochází v jaterní tkáni i v krvi pacientů s HCC a naznačují, že BLVRA by mohla hrát významnou roli v procesu karcinogeneze u HCV pozitivních pacientů.

Studie byla podpořena grantem IGA MZ CR NT/13092-4

### Významné změny O-glykosylace sérového apolipoproteinu C-III u pacientů s dědičnými poruchami metabolismu glykogenu

Changes in O-glycosylation of serum apolipoprotein C-III in patients with glycogen storage diseases

Ondrušková N., Honzík T., Kolářová H., Poupětová H., Zeman J., Hansíková H.

Klinika dětského a dorostového lékařství, Ústav dědičných metabolických poruch, 1. lékařská fakulta Univerzity Karlovy a Všeobecná fakultní nemocnice v Praze

e-mail: ondruskova.nina@gmail.com

Glykogenózy (GSD) jsou vzácnou skupinou dědičných metabolických poruch s odhadovanou incidencí 1:40 000, které charakterizuje patologický nález abnormální struktury glykogenu, jeho nadměrné ukládání nebo naopak deficit. Mezi typické biochemické nálezy patří hypoglykemie, hyperlaktacidemie, hyperlipidemie, hyperurikemie a metabolická acidóza. Nedávné studie ukázaly, že hladina a míra glykosylace apolipoproteinu C-III (ApoC-III), který je významnou součástí lipoproteinových částic, se může měnit u některých chorob spojených se změněným profilem lipidů jako např. metabolický syndrom nebo diabetes.

Cíl studie: analyzovat spektrum sialovaných forem ApoC-III v souboru pacientů s GSD, který obsahoval 24 jedinců s potvrzenou diagnózou glykogenózy (2x typ 0, 3x Ia, 2x Ib, 6x II, 6x III, 1x VI, 4x IX) a 4 jedince s klinickým podezřením na GSD.

Metody: Sérum bylo separováno pomocí isoelektrické fokusace (pH 3.5-5) na přístroji PhastSystem (GE Healthcare), poté byly proteiny přeneseny na nitrocelulózovou membránu při 60 °C a značeny protilátkou proti ApoC-III. Chemiluminiscenční signál byl kvantifikován denzitometricky pomocí programu Quantity-One (Bio-Rad).

Výsledky: U všech analyzovaných typů GSD, kromě typu II a VI, byla detekována hypoglykosylace ApoC-III definovaná relativně sníženou disialo- [2], zvýšenou monosialo- [1] a/nebo zvýšenou asialo- [0] formou ApoC-III. Nejvýznamnější změny byly nalezeny v skupině GSD typu III (průměrné hodnoty: 20,7 % [2], 66,9 % [1], 12,5 % [0] vs. ref. rozmezí 43,4 % [2], 53,3 % [1] a 3,3 % [0]).

Závěr: U pacientů s GSD typem 0, Ia, Ib, III a IX byla nalezena mírná až výrazná hyposializace sérového ApoC-III, která s největší pravděpodobností může souviset s aktuální hladinou triacylglycerolů v plasmě a/nebo se změnami v hladinách metabolitů v důsledku primárního onemocnění GSD.

Podporováno: IGA MZ CR NT-12166, RVO-VFN64165 a SVV UK 260148/2015.

### **Analýza močových konkrémentů rastrovací elektronovou mikroskopií**

Scanning electron microscopy in analysis of urinary stones

Racek J., Racek M., Hupáková I.

Ústav klinické biochemie a hematologie LF UK a FN Plzeň; Ústav petrologie a strukturní geologie, PřF UK Praha

e-mail: racek@fnplzen.cz

Rastrovací elektronová mikroskopie (SEM) je užívána pro studium pevných vzorků materiálů a hornin. V poslední době se objevila i její aplikace na vyšetření močových kamenů. Cílem studie bylo zhodnotit vyšetření močových kamenů metodou SEM ve srovnání s tradičními metodami analýzy.

SEM umožňuje určit složení vzorku několika způsoby. Pozorováním vzorků při velkém zvětšení s detekcí sekundárních a zpět odražených elektronů je možné rozpoznat krystalické fáze podle charakteristického tvaru krystalů a rozdílu v jejich střední atomové hmotnosti. V kombinaci s energeticky disperzní spektroskopií (EDS) rtg spekter vyzařovaných vzorkem podává semikvantitativní informaci o chemickém složení vzorku. U leštěných tenkých řezů je možné získat informaci o vnitřní struktuře a zonalitě vzorku. Vyšetřili jsme 20 močových kamenů, reprezentujících nejčastější typy. Výsledky byly srovnány s analýzou tradičními metodami (chemickou analýzou, mikroskopií v polarizovaném světle a IR spektroskopií).

Srovnávací studie ukazuje, že SEM/EDS poskytuje spolehlivé výsledky při rozlišení jednotlivých složek močových kamenů. Výhodou metody je pozorování při velkém zvětšení a velmi dobré prostorové rozlišení s ohledem na objem vzorku s možností získání informace o jeho chemickém složení. Poster ukazuje příklady typických nálezů při užití SEM/EDS, tj. tvary krystalů a semikvantitativní informaci o chemickém složení u nejběžnějších močových kamenů včetně vícesložkových.

SEM je vhodná jako doplňková metoda analýzy močových kamenů. Její předností je potřeba minimálního množství vzorku a rozpoznání i minoritní fáze. Informuje o vztahu jednotlivých fází, vnitřní struktuře a zonalitě. Podpořeno MZ ČR-RVO (FN Plzeň-FNPI, 00669806)

### **Změny energetického metabolismu a ultrastruktury mitochondrií v kultivovaných kožních fibroblastech od 15 pacientů s Huntingtonovou chorobou**

Disturbances in mitochondrial ultrastructure and energetic metabolism in cultivated skin fibroblasts from 15 patients with Huntington's disease

Rodinová M., Spáčilová J., Kratochvílová H., Marková M., Daňhelovská T., Tesařová M., Lišková I., Klempíř J., Zeman J., Hansíková H.

Klinika dětského a dorostového lékařství, Laboratoř pro stádium mitochondriálních poruch; Neurologická klinika 1.LF a VFN v Praze

e-mail: marie.rodinova@gmail.com

Huntingtonova choroba (Huntington's disease, HD) je autosomálně dominantní neurodegenerativní onemocnění, způsobené zmožením CAG tripletů (>36) v genu pro protein huntingtin (Htt). Zmožení CAG tripletů vede ke změnám sekundární struktury a poškození funkcí Htt. V posledních letech se stále více ukazuje, že poškození Htt významně ovlivňuje mitochondriální metabolismus buněk, což zhoršuje patologický průběh onemocnění.

Cílem naší studie bylo studovat, jak HD ovlivňuje strukturu mitochondrií a mitochondriálního energetického metabolismu ve fibroblastech 15 symptomatických pacientů ve věku 22-74 let.

Mitochondriální ultrastruktura a síť byla vizualizována pomocí fluorescenční a elektronové mikroskopie. Množství komplexů dýchacího řetězce bylo stanoveno mikroimunoanalyticky (Mitosciences) a imunoelektroforeticky. Respirace byla měřena polarograficky a kapacita mitochondriálního energetického metabolismu byla stanovena s využitím radioaktivně značených substrátů. U všech 15 pacientů byly detekovány patologické změny v ultrastruktuře mitochondrií (malé množství krist, změna tvaru) a uspořádání mitochondriální sítě v porovnání s kontrolními vzorky. Proteinová analýza ukázala snížené množství vybraných mitochondriálních proteinů (mitofilin, SDH70). Polarografie u 7 pacientů ukázala sníženou respiraci po přidání substrátu pro komplex IV dýchacího řetězce v porovnání s kontrolami.

Získané výsledky potvrzují jednak možnost využití kultivovaných kožních fibroblastů pro studium patologie HD a jednak spojení této choroby s mitochondriálním poškozením.

Podpořeno: Česko – Norským programem 7F14308, SVV UK 260148/2015, RVO-VFN 64165



## P-27

### Srovnání dvou ELISA kitů pro vyšetření celkového tau proteinu and beta-amyloidu

Comparison study of two ELISA kits for total tau protein and beta-amyloid

Roubalová L., Prošková J.  
Oddělení klinické biochemie, FN Olomouc  
e-mail: jitka.proskova@fnol.cz

Background: Currently, laboratory diagnosis of early stages of Alzheimer Disease is based on the measurement of triplet CSF biomarkers Total tau protein, phosphorylated tau protein and beta-amyloid. The most commonly used is CE IVD INNOTEST ELISA kit (INNOGENETICS Belgie). Other analytical kits are available only for research. Now, new CE IVD Total-Tau resp.  $\beta$  Amyloid (1-42) ELISA kits (EUROIMMUN, Germany) are available. The aim of the study was to compare these ELISA kits.

Methods: We compared tau protein and  $\beta$ -amyloid concentration in CSF between 56 resp. 65 patients with neurological disease with or without signs of neuronal degeneration. All analytes were measured by CE IVD kits: INNOTEST hTAU Ag resp.  $\beta$ -AMYLOID(1-42) (INNOGENETICS N.V. Belgie) and Total-Tau ELISA resp. b-Amyloid (1-42) ELISA (EUROIMMUN, Germany). Data was processed in the MedCalc SW.

Results: Basic analytical characteristics for both ELISA kits were similar. Distribution of values for Total tau protein: median 187 ng/l (min 82, max 1329) Innogenetics resp. median 223 ng/l (min 109, max 1237) Euroimmune. Linear regression showed a good relationship,  $r=0.939$  ( $P<0.0001$ , 95% CI 0.897– 0.964). Distribution of values for  $\beta$  amyloid: median 911 ng/l (min 343, max 1350) Innogenetics resp. median 705 ng/l (min 199, max 1339) Euroimmune. Linear regression showed a good relationship,  $r=0.908$  ( $P<0.0001$ , 95% CI 0.853 – 0.943).

Conclusion: We found a good correlation between ELISA kits, which was confirmed by linear, Passing-Bablok regression and also Bland-Altman plot. The most important difference between kits is in determined reference values, however each of vendors has recommended to laboratory to obtain their own reference interval.

## P-28

### Výběr vhodných testů pro diagnostiku hypokortizolismu

Selection of suitable hypothalamic-pituitary-adrenal axis tests for diagnostic of hypocortisolism

Simunkova K., Duskova M., Kosak M., Krsek M., Hana V., Zanova M., Springer D.  
III. Interní klinika VFN a 1. LF UK Praha, ÚLBLD VFN a 1. LF UK Praha, Endokrinologický ústav Praha  
e-mail: springer@vfn.cz

Práce je součástí řešení grantu zabývajícího se výběrem nejvhodnějšího testu funkce osy hypotalamus-hypofýza-nadledviny (HPA), který by umožnil navrhnout nové diagnostické algoritmy hypokortizolismu, ale také odhalení poruchy funkce nadledvin u pacientů na estrogenové terapii nebo se změněnými hladinami kortizol vazebného proteinu (CBG).

Ke stanovení kortizolu byla využita chemiluminiscenční imunoanalytická metoda na analyzátoru ADVIA Centaur firmy Siemens. Analyzovaným materiálem byly sérum a sliny. Dále byly radioimunoanalyticky stanoveny hladiny CBG, aldosteronu a ACTH.

Součástí grantového projektu bylo i vyšetření kontrolní skupiny 66 zdravých osob ve věkovém rozmezí 19 až 68 let. Byli podrobni inzulínovému testu (ITT) a také zatížení vysokou (250 mg HDST), střední (10 mg MDST) a nízkou dávkou (1 mg LDST) Synacthenu.

Všichni zdraví dobrovolníci dosáhli normální odpovědi kortizolu ( $> 500$  nmol/l) nebo zvýšení o minimálně 200 nmo/l oproti bazální hodnotě kortizolu ve všech testech. Hladiny kortizolu byly významně nižší u LDST oproti zbývajícím testům a nejvyšší hladina byla pozorována v průběhu 60 minut po stimulaci. Hladiny slinového kortizolu během inzulínového testu vykazovaly u části kontrolní skupiny maximum v 90. minutě, zatímco u sérového kortizolu bylo maxima obvykle dosaženo v 60. minutě. Použití slin u tohoto zátěžového testu je jen velmi omezené. Zátěžový test s inzulínem zůstává zlatým standardem pro vyšetřování osy HPA.

Stanovení hladin CBG v kontrolní skupině umožnilo stanovit referenční intervaly pro ženy 44,5 až 123,3 nmol/l a pro muže 38,2 až 166,0 nmol/l. Tato studie přispívá k lepšímu porozumění patofyziologie změn u poruch HPA osy. Studie byla podpořena grantem NT11 277-6 IGA MZ ČR.

Stanovení hladin CBG v kontrolní skupině umožnilo stanovit referenční intervaly pro ženy 44,5 až 123,3 nmol/l a pro muže 38,2 až 166,0 nmol/l.

Tato studie přispívá k lepšímu porozumění patofyziologie změn u poruch HPA osy.

Studie byla podpořena grantem NT11 277-6 IGA MZ ČR.

## P-29

### Citrulin jako marker komplikací u perioperativního poškození střeva

Citrulline as a marker of perioperative damage of intestine

Tichá A., Hyšpler R., Žaloudková L., Vašatová M., Kaška M., Zadák Z.

Centrum pro výzkum a vývoj, Ústav klinické biochemie a diagnostiky, Chirurgická klinika - Fakultní nemocnice Hradec Králové  
e-mail: alena.ticha@fnhk.cz

Gastrointestinální dysfunkce u pacientů v pooperační péči je sdružena s horší prognózou. Intestinální ischemie je potenciálním spouštěčem syndromu systémové zánětlivé odpovědi. Fyziologická koncentrace citrulinu je udržována rovnováhou mezi syntézou citrulinu v enterocytech a degradací na arginin v ledvinách. Cílem studie bylo vyhodnotit plazmatické koncentrace citrulinu jako markeru syntetických schopností enterocytů a vzniku pooperačních komplikací střeva.

Metody: Soubor pacientů zahrnoval 117 pacientů podstupujících resekci tlustého střeva z důvodu kolorektálního karcinomu. Bez střevních komplikací bylo 105 pacientů (66,2 $\pm$  9 let, BMI: 27 $\pm$ 9 kg/m<sup>2</sup>, ASA: II 69,5%,

III 29,5 %, IV 1 %), se střevními komplikacemi bylo 12 pacientů (65±10,8 let, BMI: 26,3±3,5 kg/m<sup>2</sup>, ASA: II 66,6 %, III 33,4 %). Citrulin byl stanoven metodou HPLC. Vzorky krve byly odebírány před operací (den -1) a dalších 5 dní po operaci (den 0-4). Data jsou prezentována jako medián (25 %; 75 %).

Výsledky: Stanovené hodnoty citrulinu (μmol/l) byly u pacientů bez komplikací: den -1: 34,1 (28,1; 43,7), den 0: 27,6 (22,1;35,5), den 1: 20,6 (15,5; 25,7), den 2: 21,1 (16,4; 25,1), den 3: 24,1 (19,3; 29,5), den 4: 25,4 (20,3; 32,0). U pacientů s komplikacemi: den -1: 30,45 (27,8; 47,2), den 0: 28,4 (23,0; 33,6), den 1: 18,5 (14,9; 21,8), den 2: 19 (15,5; 23,8), den 3: 18,6 (14,9; 24,5), den 4: 18,6 (14,8; 27,7). Signifikance mezi oběma skupinami byly nalezeny v pooperační den 3 a 4.

Závěr: Pooperačně byly pozorovány snížené hodnoty citrulinu a nalezeny signifikance u pacientů se střevními komplikacemi.

Podpořeno IGA MZ ČR NT13536-4/12.

### P-30

#### Srovnání dvou přístrojů na stanovení glykovaného hemoglobinu metodou iontoměničové chromatografie

The comparison of two devices for an evaluation of a glycated haemoglobin by the method of ion exchange chromatography

Kubičková V., Bednaříková J., Pospíšilová I.  
Oddělení klinické biochemie Fakultní nemocnice Olomouc  
e-mail: Veronika.Kubickova@fnol.cz

Cíl studie: Cílem studie bylo porovnat dva různé přístroje pro stanovení glykovaného hemoglobinu, které pracují na principu iontoměničové chromatografie ve vzorcích plné krve nebo hemolyzátu.

Metody: Porovnány byly přístroje Arkray Adams HA-8180V (Arkray Corporation) a D-10 (Bio-Rad). Pro srovnání bylo použito 140 vzorků plné krve (K3EDTA) v rozmezí 28 až 115 mmol/mol. Výsledky srovnání jsou prezentovány formou grafů. Bylo použito párové porovnání dvou výběrů regresní analýzou a pomocí Bland-Altmanových grafů. Dále byla pomocí firemních kontrolních materiálů stanovena mezilehlá preciznost měření obou analyzátorů a pomocí nezávislého kontrolního materiálu z EHK stanoveny bias měření.

Výsledky: Výsledky korelační analýzy prokázaly vysokou těsnost shody měření sledovaných přístrojů (korelační koeficient R<sup>2</sup>= 0,9848). Z rozdílového Bland-Altmanova grafu byly patrné vyšší hodnoty glykovaného hemoglobinu přístroje D-10 oproti přístroji Arkray Adams, a to přibližně o 10 %. Toto zjištění koresponduje i s výsledkem pozitivního bias naměřeném na nezávislém kontrolním materiálu z cyklu EHK na přístroji D-10. Průměrný bias vzorků nezávislého kontrolního materiálu EHK změřeného na přístroji Arkray Adams byl -2 %. Variační koeficient mezilehlé preciznosti měřený na přístroji Arkray Adams byl 1,3 %, a na přístroji D-10 1,1 %.

Závěr: Vzájemné porovnání výsledků glykovaného hemoglobinu přístrojů Arkray Adams HA-8180V a D-10 prokázalo dobrou srovnatelnost. Oba použité přístroje splňují požadavky pro přesné měření dle doporučení ČSKB 2015. Přístroj D-10 poskytuje oproti analyzátoru Arkray Adams HA-8180V vyšší výsledky.

### P-31

#### Vyšetření synoviální tekutiny na oddělení klinické biochemie Thomayerovy nemocnice Synovial Fluid Examination in Clinical Biochemistry Department of Thomayer's Hospital

Vítovcová M., Pavlová Z., Bořecká K.  
Oddělení klinické biochemie, Thomayerova nemocnice v Praze  
e-mail: miloslava.vitovcova@ftn.cz

Cíl: Souhrnný přehled výsledků mikroskopického vyšetření velkého souboru vzorků synoviální tekutiny v období od r. 2010 do současnosti.

Metodika: Zhodnocení vzhledu, stanovení počtu erytrocytů a leukocytů v Bürkerově komůrce (el/μl), zhodnocení přítomnosti krystalů pomocí polarizační mikroskopie, zhotovení cytologického preparátu (barvení May-Grünwald, Giemsa-Romanowski) u vzorků s nálezem více než 500 leukocytů/μl s následným diferenciálním rozpočtem (%) přítomných lymfocytů, monocytů a neutrofilních granulocytů při zvětšení 400x.

Cut-off hodnota pro rozlišení zánětlivého a nezápětlivého kloubního onemocnění je 2000 leukocytů/μl.

Výsledky: Ve sledovaném období bylo vyšetřeno 917 vzorků synoviální tekutiny, z toho 90 % odeslaných z Revmatologického a rehabilitačního oddělení TN. Nejčastěji se jednalo o pacienty se vstupní diagnózou gonartróza a revmatoidní artritida.

Kvantitativním hodnocením buněk bylo určeno 40 % nálezů jako nezápětlivý punktát, přičemž z tohoto souboru bylo 19 % normálních nálezů (méně než 200 leukocytů/μl), 45 % zánětlivých punktátů a 2,6 % nálezů odpovídalo parametrům pro septický punktát. 5 % punktátů bylo hemoragických.

Z krystalů se nejčastěji vyskytoval kalciumpyrofosfátdihydrát (16 %). Krystaly kyseliny močové se vyskytovaly pouze u 3 % vyšetřených punktátů, z čehož 2,6 % byly v kombinaci s kalciumpyrofosfátdihydrátem. Velmi vzácným nálezem byly krystaly cholesterolu jen v 0,6 % vyšetřených punktátů.

Je prezentována kazuistika pacientky s opakovaným nálezem krystalů cholesterolu.

Závěr: Mikroskopické vyšetření synoviální tekutiny je nedílnou součástí diagnosticko-terapeutického algoritmu artropatií. Význam má především zjištění infekčního povahy kloubního onemocnění (resp. odlišení zánětlivého a degenerativního původu kloubních obtíží), diagnostika dny a chondrokalcinózy (pseudodny). Nález krystalů u krystalových artropatií umožňuje přímou diagnózu choroby.

## P-32

### **Analytické a postanalytické parametry interference Dicynonu u metod s Trinderovou reakcí**

Analytical and postanalytical parameters of Dicynone interference in methods with Trinder reaction

Wiewiorka O., Plešková V., Čermáková Z., Dastyh M. *Oddělení klinické biochemie FN Brno; Biochemický ústav a Katedra laboratorních metod LF Masarykovy University, PŘF Masarykovy university, Ústav Biochemie PŘF Masarykovy university, e-mail: ondrej.wiewiorka@fnbrno.cz*

**Cíl studie:** Významná interference léku Dicynone u stanovení celé řady parametrů nás přiměla k zavedení metody pro stanovení jeho aktivní složky Etamsylátu (ETS), což nám umožní přímou korelaci mezi koncentrací léku a mírou interferencí.

**Metody:** Krev pacientů byla odebrána před a 15 minut po podání 500 mg intravenózní dávky Dicynonu. Vzorky byly ihned odeslány na oddělení klinické biochemie, kde byly centrifugovány. Sérum bylo alikvotováno po 400 µl. Tyto alikvoty byly uchovávány při laboratorní teplotě a zamraženy v 0, 1, 2, 4 a 8 hodinách po zpracování. Následující den byly u všech alikvotů v sérii změřeny kreatinin a triglyceridy na analyzátoru Cobas 8000 c702 (Roche) a ETS na analyzátoru DU®-65 Spectrophotometer (Beckman Coulter).

**Výsledky:** Hodnoty ukazují na vzájemnou závislost koncentrace ETS a míru interference u stanovení dalších parametrů. Korelace odpovídá průměrnému snížení hodnot kreatininu o 38,1% a triglyceridů o 14,3%. Koncentrace ETS poklesla o 59,2% za 8 hodin a zároveň došlo ke zvýšení hodnot kreatininu o 21,3% a triglyceridů o 10,6%. **Závěr:** Tyto výsledky ukazují přímou souvislost koncentrace ETS v krvi pacienta a interferencí vybraných parametrů stanovených metodou založené na Trinderově reakci a také popisují snížení interference v závislosti na skladování vzorku.

*Studie byla podpořena projektem MUNI/A/1195/2014.*

## P-33

### **Normativní studie S100B a NSE v likvoru** Biomarkers of Brain Damage: S100B and NSE Concentrations in Cerebrospinal Fluid- A Normative Study

Hajduková L., Sobek O., Prchalová D., Bílková Z., Koudelková M., Lukášková J., Matuchová I. *Topelex s.r.o. Praha; Neurologické oddělení, Ústřední vojenská nemocnice v Praze; Ústav biologie a lékařské genetiky 2.LF UK a FN Motol v Praze; Ústav biochemie a mikrobiologie, VŠCHT v Praze; Klinická laboratoř Oblastní nemocnice Kladno, a.s. e-mail: jirina.lukaskova@likvor.cz*

S100 a NSE patří mezi tzv. strukturální proteiny CNS. Obecně jsou proteiny z této skupiny poměrně široce užívány jako specifické laboratorní markery tkáňového

poškození CNS. Většina doposud publikovaných prací na toto téma se však zabývá stanovením koncentrací těchto proteinů v krvi, v souvislosti s poškozením CNS různé etiologie (vaskulární- ischemické, traumatické atd.). Vzhledem k těsnému anatomickému a funkčnímu vztahu mezi mozkem, míchou a likvorem, je přítomna vysoká koncentrace a výrazná dynamika strukturálních proteinů CNS právě v mozkomíšním moku. Tato studie se zabývá stanovením fyziologických koncentrací NSE a S100 v likvoru na dostatečně velkém souboru 601 pacientů.

Fyziologické hodnoty S100 a NSE v likvoru zjištěné v této studii jsou 0,304- 1,600 µg/l pro S100 a 3,50-22,98 µg/l pro NSE.

Tyto upřesněné likvorové normální hodnoty mohou být následně uplatněny v klinické laboratorní diagnostice tkáňového poškození CNS.

## P-34

### **Metabolické profilování vzorků plasem a leukocytů u pacientů s chronickou myeloidní leukémií**

Metabolite profiling of plasma and leukocytes of chronic myeloid leukemia patients

Široká J., Karlíková R., Hrdá M., Friedecký D., Faber E., Mičová K., Gardlo A., Janečková H., Adam T. *Institute of Molecular and Translational Medicine, Palacky University, Olomouc; Laboratory of Inherited Metabolic Disorders, University Hospital, Olomouc; Department of Clinical Biochemistry, University Hospital, Olomouc; Department of Hemato-Oncology, University Hospital, Olomouc; Department of Mathematical analysis, Palacky University, Olomouc e-mail: radana.karlíkova@gmail.com*

Chronic myeloid leukemia (CML) is a myeloproliferative disorder caused by constitutively active BCR-ABL tyrosine kinase. The objective of this work was to evaluate the influence of tyrosine kinase inhibitors (TKIs) approved in the CML treatment to the overall plasma and leukocyte metabolite profiles in the patients.

Plasma and leukocyte samples were analysed by liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry. The statistical treatment of the data involved both unsupervised and supervised methods using R programme language.

152 metabolites in leukocytes and 124 metabolites in plasma were detected in 6 groups of samples: controls, newly diagnosed patients, patients treated with Imatinib, Dasatinib, Nilotinib and Hydroxyurea. The unsupervised method shows overlap of hydroxyurea treated with newly diagnosed in both plasma and leukocytes samples suggesting similar metabolomic composition. Leukocyte samples of patients using TKI (except Dasatinib) overlap controls and cluster far from newly diagnosed that indicates metabolome regulation towards the normal profile. Also plasma samples of patients treated with TKI overlap controls, but the separation from newly diagnosed is not as clear as in leukocytes.



We were able to demonstrate significant differences in metabolome between the patients and controls.  
*Grants: NT12218, CZ.1.05/2.1.00/01.0030, CZ.1.07/2.3.00/30.0004, CZ.1.07/2.3.00/20.0170, 1910-N26.*

### P-35

#### **Lehké řetězce neurofilament a protilátky proti lehkým řetězcům u pacientů s roztroušenou sklerózou**

Relationship between neurofilament light chains and antibodies against them in cerebrospinal fluid in patients with multiple sclerosis

Švarcová J., Fialová L., Bartoš A., Zimová D., Malbohan I., Illner J.

*Ústav lékařské chemie a klinické biochemie 2. LF UK a FN Motol, Praha; Ústav lékařské biochemie a laboratorní diagnostiky 1. LF UK a VFN, Praha; Neurologická klinika 3. LF UK a FN Královské Vinohrady, Praha; Psychiatrické centrum 3. LF UK, Praha*

*e-mail: j.svarcova@centrum.cz*

Při roztroušené skleróze (RS) dochází k demyelinizaci nervových vláken a jejich rozpadu. Hlavní složkou axonálního cytoskeletu jsou neurofilamenta (NF), která se skládají ze tří podjednotek: lehké (NF-L), středně těžké (NF-M) a těžké (NF-H). Detekce hladin NF v mozkomíšním moku (MMM) může sloužit jako marker axonálního poškození.

Cílem studie bylo porovnání hladin lehkých řetězců NF s hladinami neuron-specifických protilátek proti NF-L v MMM pacientů s RS metodou ELISA.

Vyšetřili jsme 94 vzorků MMM [39 pacientů s tzv. klinicky izolovaným syndromem (CIS), 23 pacientů mělo klinicky definitivní RS (RS) a 32 kontrol]. Koncentraci anti-NF-L protilátek jsme stanovili pomocí vlastní ELISA metody. Koncentrace NF-L byla stanovena komerčně dostupnou soupravou (NF-Light Neurofilament, Umea, Sweden).

Koncentrace NF-L v MMM byly statisticky významně zvýšené u všech skupin pacientů v porovnání s kontrolami (CIS-CIS:  $p < 0,0001$ ; CIS-RS:  $p < 0,0005$ ; RS:  $p < 0,0005$ ). Hladiny anti-NF-L protilátek v MMM byly

signifikantně zvýšené pouze u skupiny pacientů, kteří konvertovali z CIS do RS, v porovnání s kontrolami ( $p < 0,0001$ ). Obdobně, stejná skupina pacientů vykazovala vyšší hladiny anti-NF-L v porovnání s RS ( $p < 0,005$ ). Oba měřené parametry (NF-L, anti-NF-L) mohou naznačovat následný přechod do klinicky definitivní formy RS.

*Tato práce vznikla za podpory IGA MZ NS 10369-3, IGA MZ NT 13183, PRVOUK P34/LF3 a P25/LF1/2.*

### P-36

#### **Diagnostický algoritmus karcinomu prostaty pomocí výpočtu Indexu zdravé prostaty (PHI)**

The Diagnostic Algorithm for Prostate Cancer using Prostate Health Index (PHI)

Fuchsová R., Topolčan O., Dolejšová O., Hora M., Kučera R., Eret V., Ferda J.

*Laboratoř imunodiagnostiky, Urologická klinika, Klinika zobrazovacích metod, FN a LF Plzeň*

*e-mail: fuchsovar@fnplzen.cz*

Cíl: Optimalizovat algoritmus časné diagnostiky karcinomu prostaty

Metody: Vyšetřili jsme hladiny PSA a PHI u souboru cca 1000 osob. Výsledky byly korelovány s nálezy bioptického vyšetření a zobrazovacích metod.

Výsledky: Byl navržen vícestupňový algoritmus časně diagnostiky karcinomu prostaty, kde základem je stanovení PSA a výpočet PHI. Různým hladinám těchto vyšetření odpovídá využití nejnovějších dostupných zobrazovacích metod fúzní 3T magnetické rezonance (MRI) a transrektální sonografií (TRUS) a PET/MRI. V současné době probíhá validace tohoto algoritmu v praxi.

Závěr: Navržený algoritmus by měl mít zdravotnicko-ekonomický dopad. Povede především snížení počtu nadbytečných biopsií a rebiopsií u pacientů s benigní hyperplasií a na druhé straně zrychlí a zkvalitní péči o pacienty vhodné ke kurabilní léčbě diagnostikovaného karcinomu prostaty.

*Tato studie byla podpořena z projektu Ministerstva zdravotnictví České republiky Institucionální podpora na dlouhodobý koncepční rozvoj výzkumné organizace 00669806 – FN Plzeň a SVV 260 176.*



## Autorský rejstřík

### A

Adam T. .... 142 (P-1), 145 (P-8), 147 (P-15), 155 (P-34)  
Adamcová M. .... 134 (B3-4)

### B

Bartoš A. .... 156 (P-35)  
Bednaříková J. .... 154 (P-30)  
Behúlová D. .... 147 (P-13)  
Bekárek V. .... 147 (P-15)  
Beránek M. .... 145 (P-10)  
Bílková Z. .... 155 (P-33)  
Bischof M. .... 140 (B7-5)  
Bláha V. .... 137 (B6-1)  
Bombard T. A. .... 149 (P-19)  
Borrell A. .... 149 (P-19)  
Bořecká K. .... 154 (P-31)  
Brož P. .... 146 (P-11)  
Budina M. .... 138 (B6-4), 140 (B8-2)  
Bunešová M. .... 146 (P-12)  
Bzdúch V. .... 147 (P-13)

### C-Č

Čech M. .... 139 (B7-3)  
Čermáková Z. .... 155 (P-32)

### D

Daňhelovská T. .... 152 (P-26)  
Dastych M. .... 155 (P-32)  
De Bíasio P. .... 149 (P-19)  
Deciu C. .... 149 (P-19)  
Divéky L. .... 143 (P-5)  
Dolejšová O. .... 156 (P-36)  
Drahošová M. .... 147 (P-14)  
Dubská L. .... 142 (P-2)  
Dusilová Sulková S. .... 133 (B2-5)  
Duskova M. .... 153 (P-28)  
Dvořáková J. .... 142 (P-2)

### E

Ehrich M. .... 149 (P-19)  
Eret V. .... 156 (P-36)

### F

Faber E. .... 142 (P-1), 155 (P-34)  
Ferdá J. .... 156 (P-36)  
Ferenczy V. .... 147 (P-13)  
Ferrari M. .... 130 (PL-1)  
Fialová L. .... 156 (P-35)  
Franěk T. .... 148 (P-16)  
Friedecký B. .... 132 (B2-3), 132 (B2-4), 136 (B5-1), 136 (B5-2)  
Friedecký D. .... 142 (P-1), 145 (P-8), 147 (P-15), 155 (P-34)  
Fučíková A. .... 134 (B3-5)  
Fuchsová R. .... 156 (P-36)

### G

Gardlo A. .... 155 (P-34)  
Gerinec A. .... 147 (P-13)

### H

Hajduková L. .... 155 (P-33)  
Hana V. .... 153 (P-28)  
Hansíková H. .... 148 (P-17), 151 (P-24), 152 (P-26)  
Hlaváčová M. .... 150 (P-22)  
Hlídková E. .... 145 (P-8), 147 (P-15)  
Honěk P. .... 141 (B8-4)  
Honzík T. .... 148 (P-17), 151 (P-24)  
Hora M. .... 156 (P-36)  
Horáček J. M. .... 133 (B3-2)  
Hrdá M. .... 155 (P-34)  
Hrubá Z. .... 145 (P-8)  
Humpl M. .... 139 (B7-4)  
Hupáková I. .... 152 (P-25)

Hyánek J. .... 142 (P-2)  
Hyšpler R. .... 144 (P-7), 147 (P-14), 153 (P-29)

### CH

Chrastina P. .... 145 (P-8)

### I

Illner J. .... 156 (P-35)

### J

Jáčová J. .... 147 (P-15)  
Jandová J. .... 145 (P-8)  
Janečková H. .... 155 (P-34)  
Ješina P. .... 145 (P-8)  
Jiráková L. .... 148 (P-16)  
Jirsa M. .... 136 (B4-3)

### K

Karlíková R. .... 155 (P-34)  
Kaška M. .... 147 (P-14), 153 (P-29)  
Kazda A. .... 130 (B1-2)  
Kazdová L. .... 149 (P-20)  
Klempíř J. .... 152 (P-26)  
Klimíček I. .... 138 (B7-2)  
Kloza M. E. .... 149 (P-19)  
Kocna P. .... 141 (B8-3)  
Kolářová H. .... 151 (P-24)  
Kopecký J. .... 131 (B1-3)  
Kopecký P. .... 138 (B7-2)  
Kosak M. .... 153 (P-28)  
Kotaška K. .... 148 (P-16)  
Koudelková M. .... 155 (P-33)  
Kožích V. .... 145 (P-8)  
Kratochvíla J. .... 136 (B5-1)  
Kratochvílová H. .... 148 (P-17), 152 (P-26)  
Krssek M. .... 153 (P-28)  
Kubičková K. .... 151 (P-23)  
Kubičková V. .... 154 (P-30)  
Kučera R. .... 156 (P-36)  
Kupčová V. .... 143 (P-3), 143 (P-4), 143 (P-5), 144 (P-6)  
Kutová R. .... 137 (B5-3)

### L

Lambert-Messerlian G. .... 149 (P-19)  
Lipový B. .... 150 (P-22)  
Lišková I. .... 152 (P-26)  
Lochman P. .... 148 (P-18)  
Loucký J. .... 149 (P-19)  
Lukášková J. .... 155 (P-33)

### M

Mahoney J. M. .... 149 (P-19)  
Malbohan I. .... 156 (P-35)  
Malínská H. .... 149 (P-20)  
Marková M. .... 148 (P-17), 152 (P-26)  
Martiníková V. .... 142 (P-2)  
Martinková P. .... 150 (P-21)  
Matejovičová M. .... 150 (P-22)  
Matoška V. .... 142 (P-2)  
Matoušová L. .... 151 (P-23)  
Matuchová I. .... 155 (P-33)  
Mičová K. .... 142 (P-1), 155 (P-34)  
Miková B. .... 142 (P-2)  
Minařík J. .... 148 (P-18)  
Moravcová L. .... 146 (P-12)  
Muchová J. .... 143 (P-4)

### N

Netrieová J. .... 143 (P-3)  
Neumaier M. .... 130 (PL-2)  
Novotná L. .... 150 (P-22)  
Novotný D. .... 138 (B6-4)

**O**

O'Brien B. ....	149 (P-19)
Omastová K. ....	145 (P-9)
Ondrušková N. ....	151 (P-24)
Otrubová O. ....	143 (P-4)

**P**

Palička V. ....	131 (B2-1), 132 (B2-4), 133 (B2-5), 145 (P-10)
Palomaki E. G. ....	149 (P-19)
Paulová H. ....	150 (P-22)
Pavlíková L. ....	132 (B2-4), 136 (B5-2), 137 (B5-3)
Pavlová Z. ....	154 (P-31)
Pazdírková R. ....	145 (P-8)
Pejznochová H. ....	142 (P-2)
Pešková K. ....	145 (P-8)
Petrželová S. ....	147 (P-15)
Petříková V. ....	146 (P-11)
Pika T. ....	148 (P-18)
Pikner R. ....	132 (B2-2)
Plešková V. ....	155 (P-32)
Plíšková L. ....	137 (B5-3)
Pohanka M. ....	150 (P-21)
Pospíšilová I. ....	154 (P-30)
Pospíšilová R. ....	148 (P-16)
Poupětová H. ....	151 (P-24)
Prchalová D. ....	155 (P-33)
Privarová J. ....	142 (P-2)
Procházková D. ....	145 (P-8)
Prošková J. ....	153 (P-27)
Průša R. ....	148 (P-16)
Příbylová M. ....	145 (P-8)
Pudil R. ....	133 (B3-1), 133 (B3-2), 134 (B3-3), 134 (B3-5)

**R-Ř**

Racek J. ....	152 (P-25)
Racek M. ....	152 (P-25)
Rajdl D. ....	146 (P-11)
Rodinová M. ....	148 (P-17), 152 (P-26)
Roubalová L. ....	153 (P-27)
Řeháček V. ....	134 (B3-5)
Řehulka P. ....	134 (B3-5)
Řehulková H. ....	134 (B3-5)

**S-Š**

Simunkova K. ....	153 (P-28)
Sládková J. ....	148 (P-17)
Sobek O. ....	155 (P-33)
Soška V. ....	137 (B6-3)
Sotáková L. ....	143 (P-5)
Spáčilová J. ....	152 (P-26)
Springer D. ....	145 (P-9), 153 (P-28)
Stávek P. ....	140 (B7-6)
Stránecký V. ....	148 (P-17)
Stulík J. ....	134 (B3-5)
Subhanová I. ....	151 (P-23)

Svobodová I. ....	147 (P-14)
Ščigulinský P. ....	143 (P-3)
Ščudla V. ....	148 (P-18)
Šebová C. ....	147 (P-13)
Šírková J. ....	142 (P-1), 155 (P-34)
Špírková J. ....	136 (B5-2)
Štern P. ....	129 (HP), 138 (B7-1)
Štollová M. ....	149 (P-20)
Švarcová J. ....	156 (P-35)

**T**

Táborský L. ....	140 (B7-6), 142 (P-2)
Teplan V. ....	130 (B1-1), 149 (P-20)
Tesařová M. ....	148 (P-17), 152 (P-26)
Tichá A. ....	144 (P-7), 147 (P-14), 153 (P-29)
Tichý M. ....	133 (B3-2)
Tomčíková D. ....	147 (P-13)
Topolčan O. ....	156 (P-36)
Totzauerová K. ....	145 (P-10)
Turecký L. ....	143 (P-3), 143 (P-4), 143 (P-5), 144 (P-6)

**U**

Uhlíková E. ....	143 (P-3), 143 (P-4), 143 (P-5), 144 (P-6)
Urbánek P. ....	135 (B4-1), 151 (P-23)

**V**

Van den Boom D. ....	149 (P-19)
Vaňková R. ....	145 (P-10)
Vašatová M. ....	133 (B3-2), 134 (B3-3), 153 (P-29)
Vávrová J. ....	132 (B2-4)
Vítek L. ....	135 (B4-2), 151 (P-23)
Vítovcová M. ....	154 (P-31)
Vlášková H. ....	145 (P-8)
Vondráčková A. ....	148 (P-17)
Vrablík M. ....	137 (B6-2)
Vrobel I. ....	142 (P-1)

**W**

Wahlstedt J. ....	140 (B8-1)
Wiewiorka O. ....	155 (P-32)
Wilkins-Haug L. ....	149 (P-19)
Williams J. ....	149 (P-19)

**Z-Ž**

Zadák Z. ....	147 (P-14), 153 (P-29)
Zahorcová M. ....	147 (P-13)
Zanova M. ....	153 (P-28)
Zeman J. ....	151 (P-24), 152 (P-26), 148 (P-17)
Zíma T. ....	145 (P-9), 151 (P-23)
Zimová D. ....	156 (P-35)
Zoullová V. ....	145 (P-8)
Žaloudková L. ....	144 (P-7), 153 (P-29)
Ženková J. ....	146 (P-11)
Živný P. ....	144 (P-7)



---

## Poznámky

---