

Abstrakta přednášek / Abstracts of lectures

PL-1

Quo vadis laboratorium medicina

Zima T.

Ústav lékařské biochemie a laboratorní diagnostiky 1.LF UK a VFN Praha
zimatom@cesnet.cz

První zmínky o „laboratorní medicíně“ respektive o vyšetřování tělních tekutin - moči jsou z období okolo 400 let př.n.l. ze starého Řecka a moč jako tekutina ke zkoumání přetrvává po staletí, můžeme zmínit třeba práce Gentile da Foligno. První učebnice chemie Elementa Chemiae Hermannuse Boerhaave vyšla roku 1732. V 18. století je popsán princip srážení krve a v následujícím století přichází celá řada objevů z medicíny a biochemie. V roce 1820 Adolf Martin Pleischl vydává publikaci o laboratoři na pražské univerzitě včetně jejího popsání a Ivan Horbaczewski vydává první učebnici lékařské chemie v letech 1904-1908. Laboratoře v nemocnicích vznikají v St. Guys Hospital Londýně, John Hopkins Hospital v USA na přelomu 19. a 20. století. Venepunkce se stává běžnou okolo roku 1920 a laboratoř bývá vybavena váhami, mikroskopem, centrifugou, Bunsenovým kahanem a kolorimetrem. Do šedesátých let minulého století se toho mnoho nemění, avšak poté následuje rychlý rozvoj v oblasti laboratorní medicíny – imunochemické, molekulárně-biologické metody a snižování množství materiálu pro analýzy...

Laboratorní vyšetření se rozhodujícím způsobem podílejí na rozhodování v medicíně (cca 70 % rozhodnutí), proto je nezbytné zajistit jejich kvalitu, dostupnost, spolehlivost a správnost s rychlou odezvou. Mezi trendy současné i budoucí laboratorní medicíny patří – celková laboratorní automatizace a propojování laboratorních oborů. Rozšiřuje se uplatnění hmotnostní spektrometrie v rutinní diagnostice včetně zapojování do analytických linek. Rozvíjí se celková automatizace v mikrobiologii (Kiestra - Becton, Dickinson a WASPLab - Copan Diagnostics). Dramaticky se rozšiřuje automatizace v molekulární biologii při sekvenování (NGS-masivní paralelní analýza molekul DNA procedurálně uniformní a ekonomická analýza genomu) a následném bioinformatickém zpracování dat. Molekulárně-biologické techniky se stávají rutinní záležitostí – testování NIPT pro screening v těhotenství, vyšetřování mutací nejen při trombofilních stavech, ale zejména přesná klasifikace nádorů a cílená léčba včetně sledování pacientů pomocí liquid-tekuté biopsie. Neustále se rozšiřují do dalších oborů jako je kardiologie, neurologie a další spolu s rozšiřující se farmakogenomikou.

Rozvíjí se digitální hematologie a morfologie v patologii. Na jedné straně se rozvíjí celková laboratorní automatizace, ale také se rozšiřuje spektrum POCT a NPT technologií nejen pro domácí použití, ale také ambulan-

ce a lůžková oddělení. Stále více nejen pacienti využívají telemedicínské a mobilní aplikace pro sledování zdravotního stavu. Telemedicína a mobile health přinesou v krátké době možnost velmi frekventního vyšetřování parametrů on-line - například pomocí fotopletysmografie s vyšetřením řady parametrů (glykovaný hemoglobin, cholesterol atd.) nebo pomocí „tattoo“ náplasti se snímáním řady parametrů či minimálně invazivní monitorace glukózy pomocí různých typů senzorů.

Jedním ze současných trendů je propojování laboratorních výsledků s daty ze zobrazovacích metod s využitím umělé inteligence. Laboratoř se bude miniaturizovat na velikost kreditní karty či „flash“ s využitím čipových technologií a nanomateriálů. Byl presentován robot na odběr krve z paže. Vzorky budeme transportovat drony nejen v odlehlých místech, ale zejména v hustě osídlené aglomeraci.

S rozvojem moderních technologií a umělé inteligence nesmíme zapomínat na to, že lékařství – „ars medicus“ je s lidmi, o lidech a pro lidi.

PL-2

Integrative diagnostic: the future of laboratory medicine? Integrativní diagnostika: budoucnost laboratorní medicíny?

Plebani M.

EFLM, Italy

Honorary Professor of Clinical Biochemistry and Clinical Molecular Biology, University of Padova, Italy and Adjunct Professor, Department of Pathology, University of Texas, Medical Branch, Galveston -USA

Recent progress in diagnostic testing has the potential to enable more accurate diagnosis and improved clinical outcomes. However, diagnostic data are fragmented, being produced and delivered within the “silo” of each diagnostic discipline, and the electronic health record does little to synthesize existing data to be translated in actionable information. Therefore, despite great promise, diagnoses may still be incorrect, delayed, or never made. Integrated diagnostics (ID) represents a vision for the future, wherein laboratory, pathology and imaging data, together with clinical information, are aggregated to support through expert systems, algorithms based on machine learning and artificial intelligence the provision to clinicians of a more actionable diagnostic information. Michael L. Wilson and Coll. have suggested the need for integrating pathology and laboratory medicine services, thus creating the acronym PALM (pathology and laboratory medicine) [1]. A further integration which is receiving increasing interest and concern is that between clinical laboratories,

pathology and radiology. In 2020, the European Society of Radiology (ESR) and the European Federation of Laboratory Medicine (EFLM) signed a memorandum of understanding confirming international support of integrative diagnostics (ID) between both disciplines [2]. Lippi and Plebani, in a recently published paper, have emphasized that “better comprehension of several biological pathways, coupled with emerging technological advances, will foster a paradigm shift in the way diagnostics has been for long acknowledged, paving the way to a new model of healthcare where integration of many different data will be more rapid, efficient and straightforward. The possible convergence of laboratory, pathology and imaging test results within the same medical report is a valuable goal to foster earlier and more accurate diagnoses, and personalized medicine. In addition, it may facilitate the acknowledgment, right interpretation and utilization of diagnostic information for an effective clinical reasoning and patient management [3]. However, the changing paradigm requires innovative training models, new professional knowledge and skills and the availability to be part of multidisciplinary diagnostic teams [4].

References

1. **Wilson, M. L., Atun, R., DeStigter, K., Flanigan, J., Fleming, K. A., Horton, S. et al.** Commissioners of The Lancet Commission on diagnostics. The Lancet Commission on diagnostics: advancing equitable access to diagnostics. *Lancet*, 2019, 393(10185), s. 2018-2020. [odkaz]
2. **European Society of Radiology:** ESR reaches out to clinical chemistry and laboratory medicine. Available at: [odkaz]
3. **Lippi, G., Plebani, M.** Integrated diagnostics: the future of laboratory medicine? *Biochem. Med.*, 2020, 30(1), 010501. [odkaz]
4. **Plebani, M., Laposata, M., Lippi, G.** A manifesto for the future of laboratory medicine professionals. *Clin. Chim. Acta*, 2019, 489, s. 49-52. [odkaz]

BLOK 1 **Umělá inteligence v laboratorní medicíně** **Artificial Intelligence in Laboratory Medicine**

Editorial: **Daniel Rajdl**

Great success of recently developed artificial intelligence (AI) systems like ChatGPT, MidJourney or more health-oriented AI systems like Med-PaLM or Hippocratic AI catalysed discussion about practical use of AI in medicine. Laboratories are the biggest producer of structured data in health-care system and laboratory results provide significant information that helps to diagnose and treat the patient in majority of cases. However, laboratory data usually lack complexity of clinical data needed for appropriate medical decisions and remains isolated from other health information resources (imaging; anthropometric, history and clinical examination data about the patient) [1]. Using the FAIR

data principle (Findability, Accessibility, Interoperability and Reusability) would help development of new, more reliable AI tools. The pressure from professional and patient societies to clinical and laboratory information systems providers to ensure using international data standards and help especially with “interoperability” of data is one of the fundamental conditions that can help with development and broader practical implementation of AI tools in laboratory medicine (LM).

Although AI milieu is very promising for LM and quotations like “The end of laboratory medicine as we know it” are highlights of many engaging talks, critical thinking is warranted to find out the best way for fulfilling clinical and laboratory needs. In the talk from Přemysl Šůcha, advantages and disadvantages of AI and other mathematical approaches will be discussed. One of the rules that is obvious even now is that if we have other options to solve the problem, AI will probably not help. For example, we are successfully using a plethora of if/else logics in laboratories (e.g., autovalidation of results) and majority of them will probably not be replaced with AI tools. With the rise of AI, we shouldn't forget effective approaches in process optimization like lean six sigma and we shall keep eyes open for alternative options like digital twins [2].

Areas where AI in LM is used are rapidly growing. One of very exciting examples is real-time internal quality control introduced in POCT blood gas analyser GEM Premier 5000 [3]. Chris Farrell [4] – one of our speakers, significantly improved performance of models detecting wrong blood in tube (WBIT) errors to such extent that it outperforms trained laboratory experts. WBIT errors can be considered as one application of clinical decision support tools (CDS), another realm of AI. CDS helps with calculation of probability of disease (e.g., pulmonary cancer [5] or hepatocellular carcinoma [6] prediction) or prediction of (expensive, unavailable ...) laboratory results based on routine lab (e.g. prediction of ferritin results based on complete blood count and CRP results [7]). Yet another application of AI in LM is prediction of turnaround times, utility that can significantly help with narrowing communication gap between laboratory and clinical departments [8].

It is obvious that AI will continue developing with or without laboratory professionals. To use this natural opportunity for major growth of our profession, we need to be well educated. Framework proposal for competencies that should be taught at pre- and post-gradual level have recently been published but are evidently not in the teaching practice. The last presentation of the AI presentation block will address this issue and will provide an in-depth analysis of status and plans within Europe. In conclusion, one of the key competencies required from successful laboratory medicine experts may be validation (and possibly development) of AI tools and providing of data in required structure with necessary metadata.

References

1. **Bellini, C., Padoan, A., Carobene, A., Guerranti, R.** A survey on Artificial Intelligence and Big Data utili-

sation in Italian clinical laboratories. *Clin. Chem. Lab. Med.*, 2022, 60(12), s. 2017–26. [odkaz]

2. Yao, J.-F., Yang, Y., Wang, X.-C., Zhang, X.-P. Systematic review of digital twin technology and applications. *Vis. Comput. Ind. Biomed. Art.*, 2023, 6(1), s. 10. [odkaz]

3. Westgard, J. O., Cervera, J. Intelligent Quality Management 2 with IntraSpect™ technology for quality control of GEM® Premier™ 5000 blood gas analyzers- A novel application of the patient sample as its own control. *Pract. Lab. Med.*, 2022, 30(e00273), e00273. [odkaz]

4. Farrell, C.-J. L. Decision support or autonomous artificial intelligence? The case of wrong blood in tube errors. *Clin. Chem. Lab. Med.*, 2022, 60(12), 1993–7. [odkaz]

5. Pei, Q., Luo, Y., Chen, Y., Li, J., Xie, D., Ye, T. Artificial intelligence in clinical applications for lung cancer: diagnosis, treatment and prognosis. *Clin. Chem. Lab. Med.*, 2022, 60(12), s. 1974–83. [odkaz]

6. Tang, Z., Zhang, F., Wang, Y., Zhang, C., Li, X., Yin, M. et al. Diagnosis of hepatocellular carcinoma based on salivary protein glycopatterns and machine learning algorithms. *Clin. Chem. Lab. Med.*, 2022, 60(12), s. 1963–73. [odkaz]

7. Kurstjens, S., de Bel, T., van der Horst, A., Kusters, R., Krabbe, J., van Balveren, J. Automated prediction of low ferritin concentrations using a machine learning algorithm. *Clin. Chem. Lab. Med.*, 2022, 60(12), s. 1921–8. [odkaz]

8. Tsai, E. R., Demirtas, D., Hoogendijk, N., Tintu, A. N., Boucherie, R. J. Turnaround time prediction for clinical chemistry samples using machine learning. *Clin. Chem. Lab. Med.*, 2022, 60(12), s. 1902–10. [odkaz]

B-1-1

The Role and Application of Artificial Intelligence (AI) in Clinical Laboratories **Role a aplikace umělé inteligence (AI) v klinických laboratořích**

McQueen M. J.

Hamilton Health Sciences and McMaster University, Canada

The challenge of AI for the clinical laboratory is present and must be tackled now, not postponed until a time when change is imposed from outside. Data are currently driving new insights and standards in health-care. Clinical laboratories have a long and creditable record of welcoming and adopting science and technology innovation for improved patient care. The digital age is no exception. Are its challenges significantly greater than those presented over the past 70 years? Our Laboratory Information systems (LIS) produce and store vast numbers of routine, specialised and multi-omics test results. Various projects are underway to gain greater clinical understanding by integrating LIS data with EMR and imaging data. Clinical laboratories will inevitably be driven towards greater efficiency and lower costs by employing robots to collect, dilute and

transfer specimens. This trend is inevitable. AI will be applied to control the robots, to the test analysis and data processing, achievement of quality standards, error reduction, use of appropriate reference intervals, results comparison and trends, and the suggestion of additional tests. This is beyond automation to a degree of intelligence that will displace the roles and numbers of laboratory staff. It is an employment and ethical challenge that must be addressed, but it is one that AI will present in many workplaces.

The clinical laboratory must and will continue to innovate. It is important that this is a professionally active and driven process rather than one that is passive and imposed. The economic, ethical and development challenges will allow some years, probably not many, to elapse before there is a complete transition to the industrial data export model described earlier. While accepting the operational inevitability of such an AI model, how might we modify it to preserve the professional involvement that underlies the essential consultant and laboratory medicine role of the clinical laboratory. It requires an active response now that must acknowledge and build upon the enthusiasm and talent of many laboratory professionals who are using machine learning and AI to provide new insights and clinical applications. IFCC and EFLM are demonstrating leadership in this area. Published papers and abstracts for national and international meetings show many such examples, some of which will be presented. Our national and professional societies and education programmes must build on this by supporting and providing basic education, but also advanced training and digital expertise that will enable the visualisation, development and validation of new understandings in the clinical laboratory using AI, bioinformatics and decision support skills. This future direction must be started now.

The creation of new and relevant clinical laboratory consultants will ensure that the laboratory model described earlier will not simply be an export factory of data that others will employ. It will be transformed into one whose output, while being produced by the same intelligent process, will be continuously subject to research, review and development of new insights and applications by a renewed breed of laboratory professionals. Consultants who will understand the workings of the clinical laboratory and who are also competent, comfortable and innovative in a digital world of big data, bioinformatics, complex algorithms and AI.

B-1-2

Umělá inteligence pro podporu rozhodování v laboratoři i mimo ni ***Artificial intelligence for decision support in and out of the laboratory***

Šůcha P.

*Český institut informatiky, robotiky a kybernetiky, ČVUT Praha
rajdl@fnplzen.cz*

Artificial intelligence (AI) has attracted much attention in the last few years. The recent development in this field brought many opportunities but also many limitations. This talk concentrates on AI's successes and failures when it is used in decision support systems. We illustrate the advantages and disadvantages of artificial intelligence on real-life examples from non-clinical fields. Furthermore, we illustrate data's role in designing AI-based decision support systems. The central part of the talk is dedicated to opportunities in clinical laboratories. Specifically, we concentrate on our experience with the optimization of laboratory systems, analysis of sample transport, and use of digital twins in a laboratory.

B-1-3

Umělá inteligence v praxi: zlepšení detekce změny vzorků
Artificial intelligence in practice: Improved detection of „wrong blood in tube“ errors

Farrell Ch.

NSW Health Pathology, Nepean Hospital, Sydney,
NSW, Australia
rajdl@fnplzen.cz

Wrong blood in tube (WBIT) is a leading laboratory-related patient safety issue. Laboratories typically rely on a combination of delta checks and manual review of results by staff to identify these errors post-analytically. There is concern, however, that current procedures fail to detect many WBIT errors.

WBIT error identification is an attractive problem for artificial intelligence (AI) systems. WBIT errors can be simulated by computers, by substituting results from random other patients. Therefore, AI systems can be trained on large data sets that contain many examples of WBIT error. Models trained in this manner have been very successful on preliminary testing, outperforming laboratory staff on simulated WBIT error detection tasks.

Nevertheless, translating this initial success into an AI tool suitable for routine use is challenging. Because the prevalence of WBIT errors is low, the models initially reported had prohibitively low positive predictive values (PPV) in practice. This problem has been tackled recently by use of a model that gives quantitative output, probability of WBIT error. This approach allows optimisation of the flagging threshold. Preliminary data from the use of this model in practice has indicated significantly improved PPV and detection of six times the number of WBIT errors than standard procedures. The model has been released publicly.

More broadly, the emerging literature on WBIT error detection highlights the practical utility that AI offers the laboratory. By embracing AI, clinical biochemists have the opportunity to lead the development of tools that benefit the laboratory medicine community, and our patients.

B-1-4

Vzdělávání laboratorních pracovníků v umělé inteligenci: přehled a současný stav v Evropě
Education of lab experts in artificial intelligence (AI): overview and current status in Europe

Rajdl D.

Ústav klinické biochemie a hematologie, FN Plzeň a LF v Plzni
rajdl@fnplzen.cz

AI has rapidly jumped into clinical laboratories and possible clinical applications are discovered very quickly. Laboratory medicine has potential to be the leader in this field due to high availability of training data and natural long-term experience with computer science and data processing. The most visible obstacle for effective utilization of AI tools is the lack of knowledge and skills about AI principles, training data selection, management and validation (+ possibly development) of AI tools in laboratory personnel. It can be partly solved by cooperation with specifically trained experts, however, complete outsourcing (out of laboratories) of this field can be dangerous for the further development of laboratory medicine profession.

In the presentation, we will share results of a European survey organized by EFLM Working Group Artificial Intelligence. In addition to the overview of global and personal perspective of conditions and implementation of AI in clinical laboratories, the survey maps current status of pregradual and partly also postgradual education in Europe. Based on the survey results, inspiration for recommendations for our education systems can be drawn.

BLOK 2
Hmotnostní spektrometrie v laboratorní medicíně
Mass Spectrometry in Laboratory Medicine

Editorial: **Martin Mžik a David Friedecký**

Hmotnostní spektrometrie prodělala v posledních dvou dekádách bouřlivý rozvoj a mimo jiné díky dosažené robustnosti se začala využívat v rutinní klinické laboratoři. Samotná technika je známá již více než sto let, ale teprve objev nových ionizačních technik umožnil spojení se separačními technikami plynové a kapalinové chromatografie. Podstatný vývoj také prodělaly samotné hmotnostní analyzátoři a to až už kvadrupólové či vysokorozlišující. Výše zmíněné spolu s dalšími technologickými pokroky vyústilo do současnému stavu, kdy se hmotnostní spektrometrie stala mocnou, všestrannou a uživatelsky přívětivou technikou. To dnes dává obrovský potenciál v mnoha laboratorních oblastech, ve kterých již získala, nebo v dohledné době získá, dominantní postavení.

V klinické biochemii dnes tato technika nachází uplatnění například při stanovení vitamínu D, steroidních

a thyroidních hormonů nebo biogenních aminů. Samostatnou oblastí je pak terapeutické monitorování hladin léčiv mnoha lékových skupin, jak tzv. "klasických" imunosupresiva, antibiotika, antimykotika, psychofarmaka, antihypertenziva, tak i dalších důležitých skupin jako antivirotika, antidiabetika, či biologická léčiva, u kterých neexistuje alternativa v podobě komerčních imunochemických metod. U řady stanovovaných léčiv hmotnostní spektrometrie dnes zcela nahrazuje imunochemické metody, a to i v těch případech, kde je nutné provádět statimová vyšetření.

Hmotnostní spektrometrie má nezastupitelnou úlohu v toxikologických laboratořích - umožňuje jednoznačný průkaz (konfirmasi) dané látky, spolehlivé stanovení hladiny a zároveň je stěžejním nástrojem v systematické toxikologické analýze (vyhledávání neznámé látky ve vzorku). V současnosti na tomto poli dochází k postupnému nahrazování GC-MS technik, které byly dlouhá desetiletí považovány za zlatý standard, za hmotnostní spektrometry s vysokým rozlišením. Ty dramaticky zvyšují selektivitu, citlivost, zkracují čas měření a rozšiřují spektrum látek, které lze prokázat v rámci jedné analýzy. Hmotnostní spektrometry s vysokým rozlišením jsou nepostradatelné v záchytu a identifikaci nových syntetických psychoaktivních látek.

Diagnostika dědičných metabolických poruch spoleshá na schopnosti hmotnostní spektrometrie více než 30 let. V kombinaci s plynovou chromatografií se využívá pro profilování mnoha organických kyselin v moči. LC/MS se pak díky své univerzálnosti využívá pro stanovení celé řady skupin metabolitů základních biochemických drah, jakožto biomarkerů mnoha set onemocnění. Desítky dědičných metabolických onemocnění jsou pak screenovány v rámci novorozeneckého screeningu, a to na základě stanovení aminokyselin a acylkarnitinů v krevní skvrně.

Ionizace laserem za asistence matrice (MALDI) ve spojení s průletovým analyzátozem se stala naprosto klíčovou technologií v mikrobiologických laboratořích pro identifikaci mikrobů přímo z klinických vzorků či molekulární diagnostice bakterií a virů. Málokdo by před 20 lety odhadl, že se tato technologie stane jednou z klíčových aplikací hmotnostní spektrometrie v klinických laboratořích. Nesmíme také zapomenout na cílenou analýzu proteinových biomarkerů, kde jsme teprve na začátku, ale již se ukazuje, že tato cesta je více než správná s ohledem na schopnost správné identifikace např. v oblasti monoklonálních gamapatií.

Kombinace ionizace pomocí iontově vázané plazmy s hmotnostní spektrometrií dala vzniknout tzv. hmotnostní cytometrii, kde se využívá vazby těžkých kovů a jejich následné analýzy na úrovni jednotlivých buněk. Tato technika je cenným nástrojem v imunologii, kde poskytuje důležité informace o expresi proteinů, imunofenotypu a funkční charakterizaci buněk.

Kromě všech výhod a pokroku musíme také zmínit i negativa, mezi která patří vysoká pořizovací cena a potřeba specializovaného personálu schopného přístroj nejen obsluhovat, řešit servisní úkony, ale také zavádět nové metody. Tyto limitace se snad v brzké době podaří překonat a zavést hmotnostní spektrometrii do

laboratorní automatizace. Jedná se o technologickou výzvu, kdy jsme v minulosti byli svědky několika neúspěšných pokusů firem Sciex a Thermo Fischer Scientific (projekty ukončeny v letech 2020 a 2022). Zatím nejnadějnějším se zdá být komplexní multiplexový systém firmy Roche Diagnostic, která plánuje oficiální uvedení v roce 2024. Hmotnostní spektrometrie by měla být k dispozici jako volitelný modul do plně automatizované biochemické linky Cobas. Když se pak podíváme do blízké budoucnosti, tak se mimo automatizace budou zcela jistě více uplatňovat ohmické přístupy - metabolomika a lipidomika pro diagnostické či prediktivní účely. Například iKnife, jakožto intraoperativní nástroj pro detekci rakovinné tkáně přímo během operace, je úžasnou ukázkou, kam nás hmotnostní spektrometrie bude posouvat v následujících letech.

B-2-1

Význam a využití hmotnostní spektrometrie v klinické biochemii

Importance and application of mass spectrometry in clinical biochemistry

Uřinová R., Šišťák P., Brozmanová H., Matlak P.

Oddělení klinické farmakologie, Ústav laboratorní medicíny, FN Ostrava

romana.urinowska@fno.cz

Hmotnostní spektrometrie (MS) hraje významnou roli v klinické biochemii. Spojení MS s chromatografickými metodami umožňuje analýzu složitých směsí organických látek. Pro analýzu biologických vzorků se nejčastěji používá jako způsob ionizace elektrosprej nebo MALDI. Mezi nejrozšířenější analyzátozem patří kvadrupolový a průletový (TOF) případně jejich kombinace. Pokrok a zdokonalení techniky vedly ke zlepšení rozlišení, citlivosti, hmotnostního rozsahu a přesnosti. Metody pro analýzu jakéhokoli analytu hmotnostní spektrometrií lze obecně rozdělit do tří kroků: (1) příprava vzorku, (2) chromatografická separace (v případě potřeby) a (3) hmotnostní spektrometrická analýza.

Hmotnostní spektrometrie má široké uplatnění v analýze dědičných metabolických poruch, hormonů, aminokyselin, endogenních metabolitů, mastných kyselin, peptidů a proteinů, v terapeutickém monitorování léků atd.

B-2-2

Přínos MALDI-TOF MS v léčbě infekcí

Impact of MALDI-TOF MS in the treatment of infections

Htoutou Sedláková M., Bogdanová K., Kolář M.

Ústav mikrobiologie Fakultní nemocnice Olomouc; Lékařská Fakulta Univerzity Palackého v Olomouci
miroslava.htoutousedlakova@fnol.cz

Zavedení technologie MALDI-TOF MS do rutinní klinicko-mikrobiologické praxe znamenalo revoluci

především z hlediska rychlé identifikace bakteriálních kultur. Tato technologie umožňuje určit bakteriální druh přímo z primokultivace, tj. následující den po inokulaci biologického materiálu na kultivační agary, popřípadě rovnou z klinického materiálu. Tím se výrazně zkrátí čas potřebný k identifikaci ve srovnání s dříve používanými biochemickými testy. Přesné určení bakteriálního species má velký význam pro antibiotickou léčbu. Na základě znalosti primární rezistence daného species a jeho lokální epidemiologické situace sekundární rezistence je možné optimalizovat antibiotickou terapii.

Jak bylo výše zmíněno, MALDI-TOF MS lze s velkou výhodou použít i pro identifikaci mikrobů přímo v klinických vzorcích. Pro zrychlení diagnostiky z krve byly vyvinuty komerční kity i „in-house“ metody, které umožňují identifikaci pomocí MALDI-TOF MS přímo z pozitivních hemokultur. Díky včasné identifikaci je možné nejen zhodnotit adekvátnost již nasazené antibiotické terapie, ale rovněž aplikovat metody pro detekci genů rezistence nebo rychlé stanovení bakteriální citlivosti k antibiotikům. Tato vyšetření jsou hotová během několika hodin a jejich výsledek, pokud je významný z hlediska případné změny antibiotického přípravku, okamžitě konzultován s ošetřujícími lékaři. Kritické výsledky jsou tak zprostředkovány ošetřujícím lékařům až o 24 - 42 hodin dříve, než standardním hemokultivačním vyšetřením.

V přednášce bude představena „in-house“ metoda přímého určení bakteriálního agens z pozitivní hemokultury pomocí MALDI-TOF MS používaná na Ústavu mikrobiologie Fakultní nemocnice Olomouc, prezentován celý algoritmus bakteriologického vyšetření krve a ukázán přínos rychlých diagnostických mikrobiologických metod v praxi na krátké kazuistice.

B-2-3

Hmotnostní spektrometrie s vysokým rozlišením jako klíčová součást klinicko-toxikologické laboratoře
High-resolution mass spectrometry as a key element in the clinical toxicology

Mžik M.

Ústav klinické biochemie a diagnostiky, Fakultní nemocnice Hradec Králové
martin.mzik@fnhk.cz

Klinicko-toxikologické laboratoře hrají klíčovou úlohu nejen v diagnostice otrav, ale jsou schopné lékaři poskytnout kompletní obraz o farmakologické anamnéze pacienta i přítomnosti a množství dalších toxikologicky významných toxů jako jsou návykové nebo psychotropní látky, některé organické jedy nebo pesticidy. Tyto informace pak umožňují lékaři zodpovězení otázek nezbytných pro včasnou diagnostiku zdravotního stavu pacienta, a tím informovaně rozhodnout o další léčebně-preventivní péči. Kritickým prvkem v tomto procesu je především rychlost provedených analýz a komplexnost získaných toxikologických výsledků.

Klíčovou a zároveň nezastupitelnou úlohu v toxikologických laboratořích hraje hmotnostní spektrometrie, která umožňuje jednoznačný průkaz (konfirmaci) dané látky, spolehlivé stanovení hladiny a zároveň je stěžejním nástrojem v systematické toxikologické analýze (vyhledávání neznámé látky ve vzorku, STA). V poslední dekádě je i v ČR zřetelný posun od využívání GC-MS technik, které byly považovány za zlatý standard v STA, k technikám založeným na kapalinové chromatografii ve spojení s hmotnostní spektrometrií s vysokým rozlišením (LC-HRMS). Zavedení LC-HRMS do toxikologických laboratoří ve srovnání s GC-MS umožňuje významně redukovat čas přípravy vzorků a analýz, rozšířit spektrum zachytitelných látek, zvýšit selektivitu (konfirmační jistotu), redukovat množství falešných pozitivit a významně zvýšit citlivost stanovení. Teprve zavedení této technologie do laboratorní praxe umožňuje posunout komplexní řešení toxikologických případů ze stavu „výsledky budou zítra, snad“ do režimu statim (i do hodiny), a tím se stát využitelnou možností v rámci diferenciálně-diagnostické rozvahy v řešení urgentních případů.

BLOK 3

Přínos klinické biochemie v kardiologii **Role of Clinical Biochemistry in Cardiology**

Editorial: **Jaroslav Racek**

Laboratorní vyšetření mají v kardiologii své nezastupitelné místo. Role kardiálního troponinu, stanoveného vysoce citlivou metodou, a natriuretických peptidů je všeobecně známa a opakovaně bylo o ní psáno a referováno – proto jsme se rozhodli v bloku o laboratorním vyšetření v kardiologii toto téma již nerozvádět. Přednášky se budou týkat především nových indikací biomarkerů v kardiologii i jiných oborech medicíny, změn zánětlivých markerů u akutních kardiovaskulárních příhod a konečně problematiky rizikových faktorů nejčastější příčiny onemocnění kardiovaskulárního aparátu – aterosklerózy.

D. Gruson ve své přednášce probere ukazatele srdečního selhání, které mohou být užity nejen v diagnostice tohoto stavu, ale i při stanovení prognózy a kontrole efektu léčby. V budoucnu se dá očekávat, že jejich místo bude i ve včasné detekci osob se zvýšeným rizikem srdečního selhání, např. mezi diabetiky a hypertoniky, což umožní včasná preventivní opatření.

H. Lahoda Brodská přinese nový pohled na užití zánětlivých markerů (CRP resp. hs-CRP, prokalcitonin a další) v kardiologii: jedná se nejen o markery upozorňující na infekční zánět (myokarditidy, endokarditidy), ale jejich monitorace umožní i posoudit tíži ischemického a reperfuzečního poškození a odhadnout neurologické poškození u pacientů po srdeční zástavě. Vše bude doloženo výsledky vlastního sledování.

A. Jabor ukáže, že stanovení hs-kardiálních troponinů a natriuretických peptidů (resp. BNP a NT-proBNP) má kromě „tradičních“ a obecně uznávaných indikací (včasná detekce ischemického poškození myokardu

a diagnostika srdečního selhání) i další indikace, které nejsou zdaleka tak běžné. Příkladem může být stanovisko kardio-onkologů, v guidelines z roku 2022 je na mnoha místech zmíněn význam troponinů i natriuretických peptidů. Zajímavou indikací je stanovení BNP a NT-proBNP v diferenciální diagnostice výpotků u maligního mezoteliomu. Nová definice sepse, kladoucí důraz na orgánové dysfunkce, jednoznačně podporuje použití kardiálních biomarkerů v intenzivní péči.

LDL-cholesterol je jeden z klíčových laboratorních parametrů v preventivní kardiologii. Na základě jeho koncentrace se rozhoduje o zahájení terapie hypolipidemie, volbě preparátu a jeho dávek i o přístupu pacientů k moderní „biologické“ terapii hypercholesterolemie. Rozhodovací meze jsou na úrovni desetin mmol/L koncentrace LDL-cholesterolu. V. Soška ve své přednášce upozorňuje, že neexistuje konsensus stran způsobu stanovení LDL-cholesterolu (výpočet vs. měření) ani standardizace metod „přímého“ měření LDL-cholesterolu; terapie pacientů se tak může lišit podle toho, jakou metodou byla koncentrace LDL-cholesterolu stanovena. Je více než žádoucí dohodnout se na způsobu stanovení koncentrace LDL-cholesterolu, nastavení jeho „referenčních“ mezí a alespoň minimálních kontrolních mechanismů, které omezí vydávání sporných výsledků.

Konečně D. Friedecký a spol. šli v lipidomice dále než jen ke stanovení LDL a HDL-cholesterolu. Pomocí cílené lipidomické LC-MS/MS analýzy se jim na základě hodnot polynenasycených fosfatidylcholinů (PC) a ceramidů a na jejich stanovení založené kalkulaci skóre CERT2 podařilo odlišit přežívající a nepřežívající nemocné s ischemickou chorobou srdeční s 90% spolehlivostí.

Existují i další markery, které se mohou uplatnit v kardiologii a které byly již schváleny a je možné je nasmlouvat. Jmenujme např. galectin-3, biomarker srdečního selhání a také biomarker fibrózy a prognostický faktor u pacientů se srdečním selháním.

Zmínit můžeme i GDF-15 (growth differentiation factor 15), jehož zvýšené koncentrace jsou spojeny s nárůstem mortality u nemocných s akutními koronárními syndromy nebo srdečním selháním a mohou být prediktorem i dalších komplikací akutních koronárních syndromů, včetně krvácení, rizika reinfarktu nebo rozvoje srdečního selhání. Hodnoty GDF-15 je také možné využít jako ukazatele rizika krvácivých komplikací antiagulační léčby u nemocných s fibrilací síní.

Tyto biomarkery si u nás své místo ještě hledají.

B-3-1

Biomarkery v diagnostice a prevenci srdečního selhání

Biomarkers at the heart of diagnosis and prevention of heart failure

Gruson D.

Department of Laboratory Medicine, Cliniques Universitaires St-Luc, Université Catholique de Louvain, Brussels, Belgium
damien.gruson@uclouvain.be

Heart failure (HF) is a chronic and life-threatening condition characterized by cardiac remodeling and fibrosis, leading to impaired cardiac function and high morbidity and mortality rates. HF is also impacting massively healthcare budgets. Early diagnosis and personalized management of HF are essential for improving survival rates and reducing healthcare costs. Biomarkers, such as natriuretic peptides, play a crucial role in timely and accurate diagnosis of HF, aiding in risk estimation and selection of appropriate therapy. In addition, emerging evidence suggests that other biomarkers may provide valuable information on the extent of fibrosis and remodeling in the heart, thus aiding in the monitoring of disease progression and response to therapy. Furthermore, recent guidelines recommend the use of biomarkers for the early detection of HF risk in high-risk groups such as diabetes and hypertensive patients. In a health ecosystem shifting from „cure to care,“ prevention is fundamental, and biomarkers are also important in that perspective, as they can aid in identifying patients at risk of developing HF and implementing early interventions to prevent its onset. Overall, biomarkers are essential tools for improving the management of HF, providing valuable information on disease diagnosis, progression, and response to therapy, ultimately reducing the burden of this disease on individuals and society.

B-3-2

Kardiální biomarkery - update 2023 ***Cardiac biomarkers - 2023 update***

Jabor A.

Pracoviště laboratorních metod, IKEM, Praha, a 3. lékařská fakulta UK, Praha
anja@ikem.cz

Úvod

Kardiální biomarkery tvoří nepostradatelnou součást diagnostiky a monitorování pacientů s onemocněním myokardu. Dominantní roli hrají natriuretické peptidy a troponiny, ale především pro srdeční selhání existuje skupina nových, kandidátních biomarkerů s různou úrovní diagnostické efektivity.

Troponiny

Jejich použití lze rozdělit na oblast laboratorní (v současné době má smysl používat pouze vysoce senzitivní, tj. hs, metody měření koncentrace troponinu T a troponinu I, tj. hs-cTnT a hs-cTnI) a rozšiřující se oblast POCT (některé technologie dnes dosahují parametrů hs metod). Zatímco 99. percentil dobře charakterizuje diagnostickou soupravu (a jednoznačně odlišuje pohlavní diference, méně jednoznačně rozdíly podle věku), pro vlastní diagnostiku se využívají hodnoty pod 99. percentilem a především princip delta v jedno-, dvou-, nebo tříhodinových algoritmech.

Natriuretické peptidy

V současné době jde prakticky pouze o BNP a NT-proBNP, MR-proANP není běžně stanovován. V po-

sledních letech došlo k velké „transatlantické“ shodě použití BNP a NT-proBNP v evropských (ESC) a amerických (AHA/ACC/HFSA) guidelines se shodným algoritmem použití a shodnými cut-off limity obou biomarkerů, rozdíly přetrvávají v hodnocení třídy doporučení a váhy důkazů.

Nové oblasti použití troponinů a natriuretických peptidů a nové biomarkery

Příkladem mohou být stanoviska kardiologů, v guidelines z roku 2022 je na mnoha místech zmíněn význam troponinů i natriuretických peptidů. Zajímavou indikací je stanovení BNP a NT-proBNP v diferenciální diagnostice výpotků u maligního mezoteliomu. Nová definice sepse, kladoucí důraz na orgánové dysfunkce, jednoznačně podporuje použití kardiálních biomarkerů v intenzivní péči. Oblast kandidátních biomarkerů srdečního selhání se stále rozšiřuje.

Závěr

Použití troponinů a natriuretických peptidů je rutinní, je k dispozici množina nových biomarkerů, oblasti jejich použití se rozšiřují a zpřesňují, jsou předmětem mezinárodních doporučení a neoddelitelnou součástí péče o kardiologicky nemocné.

B-3-3

Interpretace markerů zánětu v kardiologii (nejen v kritických stavech).

The interpretation of inflammatory markers in cardiology (not only in critically ill patients)

Lahoda Brodská H.

Ústav lékařské biochemie a laboratorní diagnostiky 1.LFUK v Praze a Všeobecné fakultní nemocnice v Praze brodska@vfn.cz

Laboratorní markery zánětu našly své uplatnění v kardiologii nejen jako markery upozorňující na infekční zánět (myokarditidy, endokarditidy), ale též na subakutně, či akutně probíhající zánětlivou odpověď neinfekční.

V předkládaném sdělení budou prezentovány možnosti jak diagnostické, tak prognostické účinnosti jednotlivých rutinně užívaných markerů zánětu v definovaných klinických stavech. Vztah C-reaktivního proteinu (CRP), respektive Hs CRP, a riziko kardiovaskulárního onemocnění je již dlouho diskutovaný fakt. Užití prokalcitoninu (PCT) a dalších markerů zánětu v monitoraci těže ischemického a reperfučního poškození, k odhadu neurologického poškození u pacientů po srdeční zástavě, je poměrně novým tématem. Budou prezentovány předběžné výsledky tohoto sledování.

B-3-4

LDL-cholesterol: co se skrývá za oponou?
LDL-cholesterol: what's behind the curtain?

Soška V.

Oddělení klinické biochemie, FN u sv. Anny v Brně vladimir.soska@fnusa.cz

Cíl: poukázat na diskrepanci mezi klinickými požadavky na kvalitu stanovení LDL-cholesterolu a absencí standardizace měření/výpočtu tohoto analytu.

Metody: porovnání rozhodovacích mezí pro LDL-cholesterol (LDL-chol.) v preventivní kardiologii s výsledky mezilaboratorního porovnání nejistot stanovení LDL-chol. při použití různých metod.

Výsledky: LDL-chol. je jeden z klíčových laboratorních parametrů v preventivní kardiologii. Na základě jeho koncentrace se rozhoduje o zahájení/nezahájení terapie hypolipidemiky, způsobu terapie, volbě preparátu, titraci dávky hypolipidemik, i o přístupu pacientů k moderní „biologické“ terapii hypercholesterolemie. Ve všech výše uvedených situacích jsou rozhodovací meze na úrovni desetin mmol/L koncentrace LDL-chol. Přitom neexistuje konsensus stran způsobu stanovení LDL-chol. (výpočet x měření), ani standardizace metod „přímého“ měření LDL-chol. Terapie pacientů tak může někdy záviset na tom, na kterém pracovišti klinické biochemie byla koncentrace jeho LDL-chol. stanovena.

Závěr: bylo by žádoucí nalézt konsensus stran způsobu stanovení koncentrace LDL-chol., nastavení jeho „referenčních“ mezí a alespoň minimálních kontrolních mechanismů, které omezí vydávání sporných výsledků.

B-3-5

Lipidomika jako nový nástroj pro evaluaci rizika kardiovaskulárních onemocnění

Lipidomics as a new tool for cardiovascular disease risk assessment

Friedecký D., Kvasnička A., Kotaška K., Kala P.

Oddělení klinické biochemie, Fakultní nemocnice Olomouc; Lékařská fakulta, Univerzita Palackého v Olomouci; Oddělení lékařské chemie a klinické biochemie, 2. lékařská fakulta, Fakultní nemocnice Motol; Kardiologická klinika, Fakultní nemocnice Motol a 2. david.friedecky@fnol.cz

Ceramidy a fosfatidylcholin (PC) v plasmě mohou sloužit jako biomarkery pro predikci rizika kardiovaskulárních onemocnění u pacientů s ischemickou chorobou srdeční (ICHS). Bylo zjištěno, že skóre CERT2, založené na stanovení ceramidů a PC v plasmě, je slibným nástrojem pro predikci závažných nežádoucích kardiovaskulárních příhod u pacientů s ICHS. Skóre CERT2 již bylo ověřeno v několika velkých kohortových studiích. Cílem studie bylo stanovit lipidové profily a eikosanoidy jako panel pro predikci přežití u pacientů s de novo nebo akutně dekompenzovaným chronickým srdečním selháním. Kohorta zahrnovala 50 pacientů s de novo nebo akutně dekompenzovaným chronickým srdečním selháním s mediánem sledování sedm měsíců. Lipidy byly kvantifikovány pomocí cílené lipidomické LC-MS/MS analýzy. Koncentrace eikosanoidů byla stanovena sendvičovým testem ELISA. Ze 736 lipidů a tří eikosanoidů bylo vybráno 39 statisticky významných lipidů (pomocí Mannova-Whitneyho U testu po Benjaminiho Hochbergově korekci), kde nejvyšší počet zá-

stupců patřil polyneenasyceným fosfatidylcholinům (PC). Jako statisticky nejvýznamnější (ve skupině přeživších pacientů) byl vyhodnocen PC 42:10 ($p=1,44 \times 10^{-4}$) a $AUC=0,84$ ($p=3,24 \times 10^{-7}$). Ačkoli je kardioprotektivní účinek polyneenasycených mastných kyselin (PUFA) dobře znám, v naší studii jsme popsali trend ve skupině PUFA-PC, které byly systematicky zvýšené u přežívajících pacientů se srdečním selháním. Pomocí vícerozměrné supervizované diskriminační analýzy byly skupiny přežívajících a nepřežívajících pacientů klasifikovány s 90% přesností. Závěrem lze říci, že stanovení komplexního lipidového profilu v plasmě (či vybraných PUFA-PC, ceramidů, nebo kalkulace skóre CERT2) by mohlo být pro kardiology cenným nástrojem pro stratifikaci rizika u pacientů s ICHS, ale bude zapotřebí dalšího výzkumu k vyhodnocení jeho proveditelnosti a nákladové efektivity v běžné klinické praxi.

BLOK 4

Kalciofosfátový metabolismus Bone Metabolism, Calcium and Phosphate

Editorial: **Richard Pikner**

Laboratorní diagnostika kalciofosfátového metabolismu a kostního metabolismu se velmi úzce prolíná. ČSKB doporučené parametry kostního metabolismu CTX-I (marker resorpce) a PINP (marker novotvorby) jsou vhodné k monitoraci efektu terapie, identifikaci nespolupracujících pacientů, monitoraci kostního obratu v období přerušení léčby a mohou upozornit na možnou sekundární příčinu (Pikner et al. 2020). Základním předpokladem pro jejich použití je správné nastavení referenčních mezí, definování LSC a cílových hodnot pro terapii. Opačně jsou i trendy markerů kostního obratu při anti-resorpční terapii (pokles) a anabolické (vzestup) terapii osteoporózy. Romosozumab, nový lék pro léčbu osteoporózy zvyšuje novotvorbu kostí a tlumí kostní resorpci a tento efekt je přechodný po 12 měsících [1].

Základním předpokladem léčby osteoporózy je však mít vybalancovaný příjem vápníku a vitamínu D, preferenčně z přírodních zdrojů a substituce by měla být vyhrazena pacientům v riziku deficitu vitamínu D a nedostatečného příjmu vápníku [2]. Důvodem je prevence sekundární hyperparatyreózy či osteomalacie. Zde zásadní roli hrají stanovení vitamínu D a parathormonu. Hladina 25 OH vitamínu D je sice výborným markerem stavu zásobení, ale díky variabilitě výsledků mezi výrobci a arbitrárně doporučenými hladinami vitamínu, se významně liší výsledky mezi metodami (především u imunoesejí) a tím četnost deficitu vitamínu D [3-5]. Obdobně je tomu u stanovení parathormonu, kde současná existence dvou generací imunoesejí „intaktní PTH“ a „1-84 PTH“ přináší významné rozdíly mezi výsledky v řádu desítek až stovek procent [6]. Původně domnívaný koncept existence 7-84 PTH fragmentu a jeho detekce intaktními esejemi se nepotvrdil. Naopak, fragment 7-84 neexistuje [7]. Standardizace testů PTH má prioritní význam, je dosažitelná a umožní přesnější diagnostiku a léčbu pacientů s CKD i pacientů

bez CKD. Kandidátní referenční metodou je pak pravděpodobně LC-MS [6].

Renální kostní choroba, dnes správně nazývaná CKD-MBD (chronic kidney disease- metabolic bone disorder) je komplexní poruchou jak kostního, tak kalciofosfátového metabolismu. Je přítomna již v počátečních stádiích CKD 2 [8] se zhoršujícími renálními funkcemi se prohlubuje. Jednotlivé typy terapie, jako jsou dialýza, peritoneální dialýza, aktivní vazače fosfátů, kalcimimetika, suplementace vápníku p.o. či v dialyzačním roztoku, aktivní vitamin D a jeho analoga, pak zcela zásadně ovlivňují aktuální hodnoty laboratorních parametrů kalciofosfátového i kostního metabolismu. U CKD-MBD tak nalézáme různorodé spektrum jak laboratorních výsledků, tak histomorfometrických změn, které mohou být podobné spektru změn od osteoporózy, až po osteomalacii, či smíšených forem nazývaných renální osteodystrofie. Změny kostního obratu mají obraz nízkého, normálního a vysokého kostního obratu [9]. Stanovujeme parametry kalciofosfátového metabolismu jako vápník, fosfor v séru a jejich frakční exkrece v moči, dále parathormon, FGF23, 25 OH vitamin D a 1,25 (OH)₂ vitamin D, ale také parametry kostního obratu. U CKD-MBD s eGF menší než 0,5 ml/s (30 ml/min) nemůžeme použít standardní kostní markery total PINP (Roche, Snibe) a CTX-I, neboť se v séru kumulují a jejich koncentrace jsou falešně vyšší [10, 11]. Zde mají význam kostní ALP a TRAP5b, intaktní PINP (IDS). TRAP5b však není v České republice zařazen do seznamu hrazených zdravotních výkonů. Ve studii publikované v roce 2022 [12] měla nejvyšší výpovědní hodnotu k identifikaci pacientů s vysokým kostním obratem kombinace PINP + TRAP5b se SN 82 % SP 94 % a stejná kombinace měla také nevyšší výpovědní hodnotu pro identifikaci pacientů s nízkým kostním obratem (SN 67 % a SP 77 %).

Jistě velmi zajímavou oblastí jsou a budou markery cévní kalcifikace, které jsou ve většině případů současně regulačními molekulami kalciofosfátového a kostního metabolismu. Mezi pro- a kalcifikační faktory tak patří vápník a fosfor v séru a jejich poměr, Sclerostin, FGF-23, BMP-2, zatímco kalcifikační inhibující markery jsou fetuin A, MGP, Vitamin K, Klotho [13]. Není proto překvapivé, že cévní kalcifikace a nízkotraumatické zlomeniny jsou častou, ne-li nejčastější zdravotní komplikací u chronického renálního selhání - kostního metabolické choroby. Správná volba laboratorních parametrů a jejich kombinace mohou být vítaným a také hlavním neinvazivním nástrojem k posouzení CKD-MBD. Klíčové je především rozlišení skupiny s nízkým a vysokým kostním obratem.

Zkratky

CKD –MBD = chronické renální selhání - kostní metabolická choroba, CTX-I = C-terminální příčně vázaný telopeptid kolagenu typu I, PINP = N-terminální propeptid prokolagenu typu I, LC-MS/MS = kapalínová chromatografie s hmotnostní spektrofotometrií. FGF23 = fibroblast growth factor 23, eGF = odhadnutá glomerulární filtrace, ALP = alkalická fosfatáza, TRAP5b = tartarát rezistentní kyselá fosfatáza izoenzym 5a, SN = senzitivita, SP = specificita, BMP = bone morphometric protein, MGP = matrix gla protein

Literatura

- 1. McClung, M. R., Grauer, A., Boonen, S. et al.** Romosozumab in Postmenopausal Women with Low Bone Mineral Density. *New Engl. J Med.*, 2014, 370(5), s. 412–420. [odkaz]
- 2. Harvey, N. C., Biver, E., Kaufman, J.-M. et al.** The role of calcium supplementation in healthy musculoskeletal ageing: An Experts consensus meeting of the European Society for Clinical and Economic Aspects of Osteoporosis, Osteoarthritis and Musculoskeletal Diseases (ESCEO) and the International Foundation for Osteoporosis (IOF). *Osteoporos. Int.*, 2017, 28(2), s. 447–462. [odkaz]
- 3. Sempos, Ch. T., Heijboer, A. C., Bikle, D. D. et al.** Vitamin D assays and the definition of hypovitaminosis D: results from the First International Conference on Controversies in Vitamin D. *Brit. J Clin. Pharmacol.*, 2018, 84(10), s. 2194–2207. [odkaz]
- 4. Wise, S. A., Camara, J. E., Burdette, C. Q. et al.** Interlaboratory comparison of 25-hydroxyvitamin D assays: Vitamin D Standardization Program (VDSP) Intercomparison Study 2 – Part 2 ligand binding assays – impact of 25-hydroxyvitamin D₂ and 24R,25-dihydroxyvitamin D₃ on assay performance. *Anal. Bioanal. Chem.*, 2022, 414(1), s. 351–366. [odkaz]
- 5. Holick, M. F., Binkley, N. C., Bischoff-Ferrari, F., H. et al.** Evaluation, Treatment, and Prevention of Vitamin D Deficiency: an Endocrine Society Clinical Practice Guideline. *J Clin. Endocrinol. Metabol.*, 2011. 96(7), s. 1911–1930. [odkaz]
- 6. Cavalier, E., Vaiskaran, S., Bhattoa, H. P. et al.** The path to the standardization of PTH: Is this a realistic possibility? a position paper of the IFCC C-BM. *Clin. Chim. Acta; Int. J Clin. Chem.*, 2021, 515, s. 44–51. [odkaz]
- 7. Kritmetapak, K., Losbanos, L. A., Hines, J. M. et al.** Chemical Characterization and Quantification of Circulating Intact PTH and PTH Fragments by High-Resolution Mass Spectrometry in Chronic Renal Failure. *Clin. Chem.*, 2021, 67(6), s. 843–853. [odkaz]
- 8. Hruska, K. A., Sugatani, T., Agapova, O., Fang, Y.** The Chronic Kidney Disease – Mineral Bone Disorder (CKD-MBD): Advances in Pathophysiology. *Bone*, 2017, 100, s. 80–86. [odkaz]
- 9. Pazianas, M., Miller, P.D.** Osteoporosis and Chronic Kidney Disease–Mineral and Bone Disorder (CKD-MBD): Back to Basics. *Am. J Kid. Dis.*, 2021, 78(4), s. 582–589. [odkaz]
- 10. Pikner, R., Palička, V., Rosa, J. et al.** Markery kostního obratu u osteoporózy: společné stanovisko k jejich využití Společnosti pro metabolická onemocnění skeletu České lékařské společnosti J. E. Purkyně (SMOS ČLS JEP) a České společnosti klinické biochemie České lékařské společnosti J. E. Purkyně (ČSKB ČLS JEP). *Clin. Osteol.*, 2020, 25(2), s. 65–82. [odkaz]
- 11. Vasikaran, S. D., Miura, M., Pikner, R. et al.** Practical Considerations for the Clinical Application of Bone Turnover Markers in Osteoporosis. *Calc. Tis. Int.*, 2023, 112(2), s. 148–157. [odkaz]
- 12. Jorgensen, H. S., Behets, G., Viaene, L. et al.** Diagnostic Accuracy of Noninvasive Bone Turnover

Markers in Renal Osteodystrophy. *Am. J Kid. Dis.*, 2022, 79(5), s. 667–676. [odkaz]

13. Kaur, R., Singh, R. Mechanistic insights into CKD-MBD-related vascular calcification and its clinical implications. *Life Sci.*, 2022, 311, 121148. [odkaz]

B-4-1

Clinical Utility of Bone Turnover Markers Klinická užitečnost markerů kostního obratu

Bhattoa H. P.

Department of Laboratory Medicine, University of Debrecen, Hungary.

Osteoporosis is a systemic skeletal disease characterized by low bone mass and microarchitectural deterioration of bone tissue leading to enhanced bone fragility and a consequent increase in fracture risk. The diagnosis of osteoporosis is made based on a bone density (BMD) T score of -2.5 or lower, or the presence of a minimal-trauma fracture. Blood tests, including bone turnover marker (BTM) measurements, are not required for, nor contribute to, the diagnosis although investigations for secondary causes may include performance of laboratory tests.

The aim of osteoporosis treatment is to prevent or reduce the risk of fractures. Treatment efficacy is confirmed by monitoring a surrogate marker such as BMD or BTM. The change in BTM predicts fracture risk independently of and better than change in BMD. BTM show rapid responses to treatment with changes becoming significant within days of initiating parenteral treatment and within weeks to months of starting oral medications.

The National Bone Health Alliance (NBHA) in the US has endorsed procollagen type I N propeptide (s-PINP), and cross-linked β -isomerized type I collagen C-telopeptide (s- β CTX), in blood as reference standard BTM, in agreement with the International Osteoporosis Foundation (IOF) and the International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (IFCC). PINP is a marker of bone formation and β CTX is a marker of bone resorption. These are measured by immunoassay either on an automated platform or by manual assay. One marker would be adequate for monitoring therapy. Optimum preanalytic practice would help minimize variability.

When monitoring anti-resorptive therapy (bisphosphonates, denosumab) for osteoporosis, a decrease from baseline greater than the reference change value, >20 % for PINP (>10 μ g/L) or 30 % for CTX (>100 ng/L) confirms response to therapy. In addition, an absolute value lower than the premenopausal median for the marker (35 μ g/L for PINP) and <280 ng/L for CTX (the latter varies somewhat depending on the CTX assay) is considered the target for treatment. BTM may also be used during a drug holiday period, to help guide re-initiate therapy when BTM increase after cessation of antiresorptive therapy. With anabolic therapy such as

teriparatide, the formation marker PINP is used, with an increase $>10 \mu\text{g/L}$ considered to indicate response although in most cases PINP increases by $> 100\%$.

Bone specific alkaline phosphatase (BALP) is the recommended BTM for monitoring metabolic bone disease of chronic kidney disease (CKD-MBD) in addition to parathyroid hormone (PTH). For the diagnosis and monitoring of Paget's disease of bone, total alkaline phosphatase (ALP) is adequate in most cases. For localised (monostotic disease) where total ALP is not sensitive enough, BALP or PINP may be used.

B-4-2

Updates in PTH Aktualizace v PTH

Cavalier E.

University of Liege, Belgium

Rosalyn Yallow, who was awarded the Nobel Prize in Medicine in 1977, was the first person to develop a competitive immunoassay for PTH determination. This initial assay utilized a single antibody and was later replaced by a sandwich immunoassay known as "intact PTH". While this assay was more specific, some resistance was observed in hemodialyzed (HD) patients. Clinicians were advised to maintain PTH concentrations between 1.5 and 2.5 times the upper limit of normal. It was later discovered that the antibodies used in second-generation assays cross-reacted with a non-(1-84) PTH molecular form present in the blood of HD patients. Subsequently, a new generation of PTH assays was introduced, known as „bio-intact,“ „whole,“ or third-generation PTH assays, utilizing N-terminal antibodies targeting the first four amino acids of the peptide. These assays no longer cross-reacted with the 7-84 PTH fragment, which was commonly used as a surrogate for non-(1-84) PTH forms. Both generations of assays are still in use today, with third-generation PTH assays being better standardized to the WHO 95/646 International Standard compared to second-generation assays. However, the lack of standardization for second-generation assays has resulted in significant result disparities, leading to clinical issues in both CKD and non-CKD patients. Standardization process need higher order methods. The last two years, a high-resolution (HR) mass spectrometry and a triple quadrupole LC-MS/MS were published, the latter being proposed as a candidate reference method. The HR-MS allowed the description of circulating fragments that accumulate in CKD patients. Yet, the only fragment presenting any cross-reactivity with the Roche cobas 2nd generation assay was the 7-84 one. But the authors showed that this fragment was not present in human blood, questioning the cross-reactivity of the fragments with 2nd generation assays. The LC-MS/MS method confirmed the absence of 7-84 PTH in blood and allowed a "in-silico" restandardization of 2nd and 3rd generation PTH assays, which resulted in an important reduction of

the disparity of the results observed in patients. Finally, both methods failed to prove the presence of oxidized PTH in the blood of HD patients, challenging the findings of the authors proposing the "non-oxidized" PTH as the new target for immunoassays. Standardization of PTH assays is thus totally possible and will result in much better homogeneity of the results in CKD and non-CKD patients.

B-4-3

Metabolismus fosforu při poruchách funkce ledvin Phosphate metabolism in renal function disorder

Palička V., Pavlíková L., Vávrová J., Pokorná A., Tomášová A., Hyšpler R., Šafránek R., Dusilová S.

*Ústav klinické biochemie a diagnostiky, Fakultní nemocnice Hradec Králové a Lékařská fakulta UK v Hradci Králové, Nefrologická klinika, Fakultní nemocnice Hradec Králové a Lékařská fakulta UK v Hradci Králové
palicka@lfhk.cuni.cz*

V průběhu chronických onemocnění ledvin (CKD) postupně klesá glomerulární filtrace (GFR) a zvyšují se koncentrace katabolitů v krvi. U některých látek se však močové vylučování zvýší aktivním tubulárním transportem a výsledná koncentrace v krvi je nižší, než by odpovídalo stupni poklesu GFR. Typickým příkladem je aktivní inhibice zpětného vstřebávání fosforu v tubulech.

Charakteristickým znakem všech onemocnění ledvin (včetně funkce transplantované ledviny) je zvýšená fosfaturie (frakční exkrece fosforu, FEx_P, norma do 0,2, stoupá až na 0,6-0,7 i více), která umožní udržet sérové koncentrace fosforu v referenčním rozmezí. Akumulace fosforu resp. hyperfosfatémie, která je toxická a prognosticky nepříznivá, nastává až při terminálním renálním selhání.

Za zvýšené tubulární vylučování fosforu zodpovídají dvě fosfaturicky působící látky (fosfatoniny). Již ve stadiu CKD2-3a se zvyšuje tvorba FGF-23, o něco později se aktivují příštítná tělíska. V průběhu CKD se koncentrace FGF-23 a PTH zvyšují mnohonásobně. Jejich zprvu adaptivní role (udržení normofosfatémie i při poklesu GFR) se při selhání ledvin mění na maladaptivní. Organové poškození spojené s hyperfosfatémií, hyperparathyreózou a vysokými koncentracemi FGF-23 je spojeno s vysokým zejména kardiovaskulárním rizikem a je prognosticky velmi nepříznivé.

Péče o pacienty s CKD zahrnuje mimo jiné i včasné rozpoznání a včasnou úpravu metabolických doprovodných komplikací, kdy včasná korekce fosfátového metabolismu je mimořádně důležitá. V praxi používané sledování sérové koncentrace fosforu však nestačí. Podstatně přínosnější je stanovení FEx_P, které je levné a vždy dostupné. Při zvýšení FEx_P již nad 0,25-0,3 je vhodné cíleně a včas omezit přívod fosforu ve stravě. V predialyzačním období dosahují hodnoty FEx_P u pa-

cientů bez dietních omezení hodnoty až 0,6-0,7, což ukazuje na asymptomaticky probíhající hyperparathyreózu, která v této situaci je již těžko ovlivnitelná. Nejvyšší hodnoty FEx_P jsou časně po transplantaci (kdy dosahují až hodnoty 1,0) a jsou spojeny s až těžkou hypofosfatémií, způsobenou perzistujícím hyperfosfatonismem.

Porucha fosfátové homeostázy je přítomna napříč spektrem renálních nemocí a napříč spektrem funkčního renálního poškození. Stanovení fosfatémie není pro tuto poruchu vypovídající.

Regulační mechanismy zvyšující tubulární vylučování fosforu vedou v konečném důsledku k orgánovému poškození a negativní prognóze. Parametr FEx_P může významně pomoci v časně a individuálně cílené úpravě fosfátové homeostázy již v časných stádiích CKD.

B-4-4

Laboratorní profil poruchy kostního metabolismu v dialyzační a transplantaci nefrologii *Laboratory profile of bone metabolism disorder in dialysis and transplant nephrology*

Dusilová S., Sulková S., Pokorná A., Pavlíková L., Vávrová J., Hyšpler R., Šafránek R., Palička V.

Ústav klinické biochemie a diagnostiky, Fakultní nemocnice Hradec Králové a Lékařská fakulta UK v Hradci Králové; Nefrologická klinika, Fakultní nemocnice Hradec Králové a Lékařská fakulta UK v Hradci Králové

Porucha minerálového a kostního metabolismu (CKD-MBD) je jednou z nejzávažnějších komplikací v nefrologii, zejména u dialyzovaných pacientů (HD) a u pacientů s transplantovanou ledvinou (TxL). Její diagnostika i terapie se řídí zejména laboratorními ukazateli

K hlavním sledovaným parametrům patří sérová koncentrace vápníku (S-Ca), fosforu (S-P) a parathormonu (S-PTH). Důležité je i stanovení metabolitů vitamínu D (25D a též 1,25D).

Zatímco koncentrace S-Ca u HD pacientů jsou většinou v referenčním rozmezí (aniž by vypovídaly o kalciové bilanci), u Tx pacientů je častá hyperkalcémie. Obvykle je mírná a ne vždy ukazuje na perzistující hyperparathyreózu, může být spojena i s vysokými koncentracemi 1,25D. Koncentrace S-P u HD pacientů je přísně sledovaným parametrem kvality dialyzačního léčení a dosažení predialyzační normofosfatémie je velmi obtížné. Naopak, u Tx pacientů ve stabilním stavu je S-P v normě. Časně po TxL je však problémem závažná hypofosfatémie, která odráží hyperfosfatonismus, se kterým pacient přichází k TxL.

U HD pacientů očekáváme sekundární hyperparathyreózu (SHPT), koncentrace PTH jsou zvýšené přibližně u 80 % pacientů a mezi pacienty se velmi liší. Po úspěšné transplantaci vysoká koncentrace PTH vždy klesá, avšak současně se může klinická manifestace SHPT akcentovat. Přibližně u poloviny Tx pacientů zvýšení PTH přetrvává.

U pacientů s nemocemi ledvin jsou nižší hladiny 25D pravidlem a suplementace vitamínem D je dnes

rutinním postupem bez ohledu na stadium CKD. Nízké hladiny 1,25D u HD pacientů se v případě SHPT řeší preskripční cílených aktivátorů VDRA. U Tx pacientů je situace opačná, pravidlem je až nepřiměřené zvýšení hladiny 1,25D. Suplementace vitamínem D nevede ke zvýšení 25D, ale k dalšímu zvýšení 1,25D, s doprovodnou hyperkalcémií. Příčinou je zřejmě vysoká aktivita renální 1-alfa-hydroxylázy, podmíněná nejen perzistencí SHPT, ale i prudkým poklesem hodnot FGF-23 po úspěšné TxL.

Péče o HD a TxL pacienty je komplexní. Minerálová a kostní porucha (CKD-MBD) je ve svém klinickém i laboratorním obraze velmi pestrá a individuálně odlišná, i když má určité charakteristiky pro danou skupinu pacientů. Pro léčbu a monitoring je výhodou přímá spolupráce nefrologa a klinického biochemika.

BLOK 5

Molekulární biologie v laboratorní medicíně *Molecular Biology in Laboratory Medicine*

Editorial: Drahomíra Springer a Vladimír Palička

Od roku 1953 kdy pánové Watson a Crick publikovali svůj slavný (jednostránkový!) článek o třírozměrné dvoušroubovici DNA se nezadržitelně rozšiřují jednak znalosti, jednak možnosti laboratorní diagnostiky v oblasti, kterou nazýváme „molekulární biologie“ (MB). Stojí za to připomenout, že Watson a Crick „neobjevili“ DNA (ta byla známá od roku 1860 a postupně přibývalo znalostí o jejím složení, základních člancích, jejich řazení, struktuře). Bez zlomového objevu její konfigurace by však rozvoj znalostí zřejmě nebyl tak rychlý.

Molekulární biologie (jak se profesor Masopust marně snažil prosadit „molekulové biologie“) se stala postupně součástí rutinní laboratorní analytiky. Vzhledem ke stále se rozrůstající konsolidaci laboratorních oborů dochází, bohužel, zatím k pomalému pronikání těchto nových technologií do sféry biochemických laboratoří, které často ve velkých nemocnicích tvoří srdce takových komplexů. Oblast molekulární biologie je přitom jedna z nejrychleji se rozvíjejících, a především extrémně rychle se rozšiřujících oblastí celé medicíny.

Je proto logické, že informaci o alespoň části jejich možností přinese i letošní kongres.

Jednou z prvních „cílových oblastí“ MB bylo zlepšení záchytu a diagnostiky vrozených vývojových vad. I zde běží rozvoj rychle dopředu a snahu o zvýšení citlivosti a spolehlivosti se současným snížením invazivnosti přináší tzv. NIPT, tedy Non-Invasive-Prenatal-Testing – záchyt a vyšetření fragmentů DNA plodu v krvi matky.

Cílem screeningu vrozených vad u těhotných žen je identifikace těhotenství s jejich zvýšeným rizikem. Tato vyšetření pomohou zúžit okruh těhotných žen pro návazné cílené diagnostické multidisciplinární vyšetření. Obvykle je doporučeno invazivní vyšetření plodu (odběr plodové vody nebo biopsie placenty), aby bylo možné provést karyotypizaci plodu a případně tak odhalit některou z možných chromosomálních aberací. Navrhovaný hrazený NIPT není plošným screeninem, jde o vyšetření u žen s definovaným hraničním rizikem bez ultrazvukového nálezu a jedná se tedy o alternativní me-

totu k invazivnímu vyšetření plodu. Navrhované schéma prenatalního screeningu umožní velmi dobrou detekci vrozených vývojových vad při využití technik NIPT, které jsou v indikovaných případech nejen šetrnější, ale zároveň i finančně výhodnější alternativou k invazivnímu vyšetřování. NIPT (neinvazivní prenatalní testování) je v současnosti metodou s nejvyšším zachytem a nejnižší falešnou pozitivitou nejčastějších chromosomálních aberací, ale spektrum genetických onemocnění vyšetřitelných v rámci NIPT se stále rozšiřuje (mikrodelece/mikroduplikace, monogenní choroby). V řadě vyspělých evropských zemí je již dlouhou dobu NIPT zařazen do hrazeného systému zdravotní péče.

Molekulární biologie ale nabírá dramatické tempo i v „negenetických“ oblastech medicíny, především v onkologii. Jde o záchyt jak geneticky se přenášejících mutací, tak i epigenetických změn, tedy změn, které bez změny sekvence mění genovou expresi. Metylace DNA, acetylace histonů a především role mikroRNA (malých, nekódujících molekul RNA) mají před sebou ještě výrazný rozvoj – jak v onkologii, tak kardiologii, pneumologii, hepatologii a dalších oblastech medicíny. Epigenetické změny (především metylace DNA) se mnohdy v organismu hromadí a zajímavou oblastí je dnes i sledování „metylačního věku“, který je často vyšší než věk fyzický.

Zhoubná nádorová onemocnění jsou druhou nejčastější příčinou úmrtí v naší zemi. Ve většině případů vznikají v důsledku hromadění mutací dědičné informace v postižené tkáni v průběhu života; proto celková pravděpodobnost výskytu nádorových onemocnění s věkem roste. Prevencí vzniku těchto nádorových onemocnění je především zdravý životní styl a screening nejčastějších nádorových onemocnění od doporučeného věku.

Ve vzácnějších případech se na vzniku nádorových onemocnění podílí dědičnost. Charakteristickými vlastnostmi tzv. dědičných nádorových onemocnění je mnohočetné postižení určitým typem zhoubných nádorů v rodinách, ve kterých se nádorové onemocnění projevuje u nápadně mladých osob. Příčinná mutace se v postižené rodině předává z generace na generaci. Od nosiče jí může jeho potomek získat v polovině případů. Její přítomnost významně zvyšuje pravděpodobnost vzniku nádorového onemocnění.

Do roku 2015 byly genetické analýzy nádorové predispozice prováděny zdlouhavými vyšetřeními jednotlivých genů. Současné přístupy, založené na sekvenování nové generace (NGS – next gen sequencing), však umožňují paralelní vyšetření rozsáhlých skupin genů, které mohou v případě diagnostiky dědičných nádorů zahrnovat v průběhu jedné analýzy všechny známé či předpokládané nádorové predispoziční geny. Zavedení NGS znamená skutečnou revoluci v genetické diagnostice, díky které jsou tato vyšetření mnohem dostupnější, rychlejší, přesnější a v konečném důsledku i levnější.

Včasná analýza dědičné nádorové predispozice má mimořádnou důležitost pro vysoce rizikové osoby. Indikace ke genetickému testování, které je plně hrazeno z veřejného pojištění, se v konkrétních případech řídí doporučenými postupy. Klinická interpretace NGS analýz představuje nejnáročnější část genetického vyšetření. Jeho výstupem z hlediska klinické diagnostiky

je rozhodnutí, zda u vyšetřované osoby byla nalezena příčinná mutace, změna v zárodečné DNA, která by vysvětlovala vysoké riziko vzniku nádorových onemocnění u vyšetřovaného jedince a v postižené rodině.

Všeobecně přibývá obrovské množství informací, což je spojeno s obtížným zpracováním dat, a pro oblast molekulární biologie to platí mnohonásobně více. Bez pomoci odborníků – bioinformatiků, strojového učení a umělé inteligence by značná část rozvoje molekulární biologie neměla smysl – data bychom neuměli (a nestihali) zpracovat. Bioinformatika je další oblastí, se kterou se musíme naučit žít a spolupracovat. Mezioborová spolupráce ostatně vždy přináší největší prospěch a pokrok.

B-5-1

Genetická predispozice ke vzniku nádorových onemocnění **Genetic predisposition to cancer**

Kleiblová P.

*Laboratoř onkogenetiky, ÚLBDL, 1. LF UK a VFN v Praze
petra.kleiblova@vfn.cz*

Přehledové sdělení uvede tematiku dědičné predispozice ke vzniku nádorových onemocnění. Cílem sdělení bude ve stručnosti informovat posluchače 1) o tom, co je nádorové onemocnění a jak vzniká; 2) o epidemiologii nádorových onemocnění v ČR; 3) proč onkogenetika; 4) o tom, které mutace a geny zodpovídají za dědičné nádory; 5) typických charakteristikách dědičných tumorů; 6) o aktuálních indikačních kritériích pro genetické testování a 7) o klinických doporučeních pro nosiče patogenních mutací. Na závěr budou prezentovány užitečné odkazy pro zájemce o tuto tematiku.

B-5-2

Neinvazivní prenatalní testování (NIPT) a jeho aktuální role při screeningu chromosomálních vad **Noninvasive prenatal testing (NIPT) and its current role in prenatal screening for chromosomal abnormalities**

Hůrková V., Zemánek M., Zapletal M., Loucký J.

*Prediko, s.r.o.; Vaše Laboratoře s.r.o., Zlín
hurkova@prediko.cz*

Neinvazivní prenatalní testování (NIPT) funguje na principu vyšetření volné fetální DNA plodu v periferní krvi matky. Jde o nejpřesnější prenatalní screeningovou metodu na nejčastější trizomie spojené s Downovým, Edwardsovým a Patauovým syndromem s citlivostí 99,9 %. Je možné i vyšetření aneuploidii dalších chromozomů.

Metoda nedokáže nahradit prenatalní ultrazvukové vyšetření (UZ), ale v kombinaci s dobře provedeným UZ jde o nejspolehlivější prenatalní screening s nulovým rizikem pro těhotnou a plod.

Doposud byla hlavním limitem NIPT cena analýzy, kdy úhrada vždy probíhala v samoplátčovském režimu. V současné době je v běhu intenzivní jednání se zdravotními pojišťovnami o možnosti úhrady NIPT pro vybrané skupiny těhotných žen.

V přednášce budou prezentovány tyto aktuální informace, vhodnost NIPT (kdy ano a kdy ne), limity a také možné úskalí. Na závěr budou uvedeny zajímavé kazuistiky.

B-5-3

Epigenetika a epigenetické markery u nádorových onemocnění *Epigenetic markers in cancer*

Párová H., Šenkýřová T., Šauer Mikysková P., Palička V., Hyšpler R.

*Ústav klinické biochemie a diagnostiky, Univerzita Karlova, Lékařská fakulta v Hradci Králové a Fakultní nemocnice Hradec Králové
helena.parova@fnhk.cz*

Epigenetické změny jsou definovány jako dědičné změny v genové expresi, které nejsou doprovázeny změnami v sekvenci DNA. Zahrnují metylaci DNA, acetylaci histonů a post transkripční modifikace pomocí mikroRNA (miRNA). Aberantní epigenomika přispívá k různým fázím neoplastického vývoje, včetně iniciace, propagace, invaze, metastáz a rezistence na chemoterapii. Nejvíce prostudovanou epigenetickou alterací je metylace DNA. Aberantně metylované CpG ostrůvky promotorových oblastí byly objeveny u značného množství genů, které byly v nádorové tkáni umlčeny či aktivovány, což naznačuje, že hrají klíčovou roli v karcinogenezi. Hypermetylace genových promotorů může vést k umlčení genů, zatímco hypometylace vede ke zvýšení transkripce a aktivaci proteinu. miRNA jsou krátké (~22 nukleotidů) nekódující molekuly RNA. Jejich primární role spočívá v negativní regulaci genové exprese na post-transkripční úrovni jako součást komplexu RISC (RNA-induced silencing complex) pomocí represe translace či degradace mRNA. Důležitost miRNA byla prokázána nejen při vývoji jedince, ale i jako součást mnoha patologických procesů, jakými jsou neurodegenerativní, metabolická nebo nádorová onemocnění [1]. Deregulace exprese miRNA přispívá k změnám exprese mRNA, což přispívá ke komplexnímu malignímu fenotypu nádorových buněk. Expresní studie napříč genomem prokázaly širokou heterogenitu v expresi miRNA a mRNA v nádorových buňkách [2].

Literatura

1. Esteller, M. Epigenetics in cancer. *N Engl. J. Med.*, 2008, 358(11), s. 1148-1159. [\[odkaz\]](#)

2. Saleh, A. D. Integrated Genomic and Functional microRNA Analysis Identifies miR-30-5p as a Tumor Suppressor and Potential Therapeutic Nanomedicine in Head and Neck Cancer. *Clin. Cancer Res.*, 2019, 25(9), s. 2860-2873. [\[odkaz\]](#)

„Podpořeno MZ ČR – RVO (FNHK, 00179906)“

B-5-4

Diagnostika geneticky podmíněných onemocnění: panelové a celoexomové sekvenování *Diagnostics of genetically determined diseases: panel and whole-exome sequencing*

Gančarčíková M., Elblová L., Malá T., Párová H., Palička V., Hyšpler R., Šenkeříková M.

*Ústav klinické biochemie a diagnostiky a Oddělení lékařské genetiky; Univerzita Karlova, LF v Hradci Králové a Fakultní nemocnice Hradec Králové
marketa.gancarcikova@fnhk.cz*

Geneticky podmíněná onemocnění jsou klinicky heterogenní skupinou sdružující celou řadu různých nemocí (hereditární nesyndromová ztráta sluchu a hluchoty, onemocnění patřící do skupiny RASopatií, vzácná onemocnění, dědičné nádorové predispozice apod.), která jsou obvykle způsobena kauzálními variantami v jednom či několika málo genech. Populační výskyt jednotlivé nemoci je nízký a klinická manifestace je variabilní s různým věkem nástupu a různou tíží symptomů onemocnění.

Technologický pokrok v oblasti masivního paralelního sekvenování (next-generation sequencing), při současném snižování nákladů na analýzu, umožňuje širší využití genetického vyšetření na úrovni různých velkých vlastních genových panelů (custom design). U vzácných onemocnění bývá někdy velmi obtížné vybrat vhodný panel genů (skupinu genů asociovanou s onemocněním/fenotypem), proto je metodou volby celoexomové sekvenování, které umožňuje vyšetření celého kódujícího genomu a zvyšuje šanci na objasnění příčiny onemocnění. Vyšetřeným rodinám s detekovanou rekurentní aberací je možné poskytnout dispenzarizaci, ale i prediktivní genetické vyšetření s následnou doporučenou preventivní péčí.

Trend diagnostického postupu se posouvá od analýzy individuálních genů k analýze genových panelů až po celoexomové a celogenomové sekvenování umožňující v rámci jedné bioinformatické pipeline identifikovat jednonukleotidové změny v sekvenci (SNPs), tak kauzální rozsáhlé aberace v rámci jednoho či několika genů (CNVs).

Vybrané kazuistiky budou prezentovány na konferenci.

B-5-5

Role bioinformatiky (nejen) v molekulární biologii *The role of bioinformatics (not only) in molecular biology*

Párová H., Gančarčíková M., Palička V., Hyšpler R.

*Ústav klinické biochemie a diagnostiky, Univerzita Karlova, Lékařská fakulta v Hradci Králové a Fakultní nemocnice Hradec Králové
helena.parova@fnhk.cz*

Bioinformatika je multidisciplinární obor spojující biologii (biologická data) a informatiku (výpočetní systémy), tedy přírodní vědy a počítačové vědy. Cílem bioinformatiky je získávání, analýza, šíření, statistické vyhodnocení a uchovávání biologických dat. Bioinformatika kromě tvorby algoritmů využívá technologie, které jsou využívány i v jiných oblastech jako umělá inteligence (rozpoznávání vzorů), algoritmy strojového učení a vizualizace dat. Bioinformatika se dále využívá při vývoji a modelování nových léků a tvorbě klimatických predikčních modelů a v environmentálních vědách a modelování [1]. V rámci historie bioinformatiky v kontextu molekulární genetiky měl velký význam Human Genome Project, který si dal za cíl osekvenování lidského genomu a vytvoření referenční sekvence lidského genomu [2]. V dnešní době se bioinformatika potýká s novými problémy, a to s komplexitou dat a nekompatibilními formáty dat a zejména pak s rostoucí datovou náročností v rámci výpočetní kapacity a prodražováním uchovávání velkých datových souborů. S rozvojem sekvenování nové generace a s rostoucí komplexností dat při molekulárně genetických vyšetřeních je bioinformatice styl součástí nejen vědeckých týmů, ale důležitým komponentem klinických vyšetření založených na NGS [3].

Literatura

1. **Bayat, A.** Science, medicine, and the future: Bioinformatics. *BMJ*, 2002, 324(7344), s. 1018-22. [\[odkaz\]](#)
2. **Birney, E.** The International Human Genome Project. *Hum. Mol. Genet.*, 2021, 30(R2), R161–R163. [\[odkaz\]](#)
3. **Oliver, G. R. et al.** Bioinformatics for Clinical Next Generation Sequencing. *Clin. Chem.*, 2015, 61(1), s. 124–135. [\[odkaz\]](#)
„Podpořeno MZ ČR – RVO (FNHK, 00179906)“

BLOK 6

Automatizace v laboratorní medicíně *Automation in Laboratory Medicine*

Editorial: **Bedřich Friedecký a Miroslav Verner**

Udržitelnost

O problémech životního prostředí je již dostatek neodiskutovatelných informací. Poukazují neúprosně na existenci dramatických rizik pro naši planetu a budoucnost lidského rodu. Klinické laboratoře produkují ročně biliony tun odpadů s velkým podílem toxických a infekčních a jsou velkými spotřebiteli vody a energií. Proto dosud časté iluze, že jejich vliv na ekologii je zanedbatelný, jsou nemístné. Evropská federace laboratorní medicíny publikovala ke konci roku 2022 guidelines o zelených laboratořích a udržitelnosti [1] a v červnu 2023 návrh jejich certifikace [2]. Topiky obou doporučení jsou odpady, spotřeby energie, redukce spotřeby vody a energií, zacházení s nebezpečnými chemikáliemi, možnosti recyklace, transport, balení a další. Na programu dne je řešení značné kontroverze těchto návrhů Evropské federace laboratorní medicíny (EFLM). Problém udržitelnosti je nutné chápat a řešit v kontextu s diagnostickou a terapeutickou efektivitou laboratoří, se schopností

racionálního požadování a efektivní interpretace laboratorních výsledků, a ne jako izolovaný „módní problém“. To předpokládá existenci promyšleného a inovovaného kvalitního managementu.

Harmonizace

Harmonizace, její stav a cesta k jejímu zdokonalení je pro současnou laboratoř *conditio sine qua non*. Zásadní je komplexnost procesu harmonizace, tedy zahrnutí nejen analytických, ale i preanalytických a postanalytických procesů. Zdá se, že zejména v oblasti extraanalytické fáze nastává čas využívání nástrojů a možnosti aplikací umělé inteligence například zařízeními typu Chat GPT. Norma IVDR 746, která pochází z roku 2017 a udržuje si i po šesti letech svou kontroverznost, nalezne aplikaci bez kontroverze právě v souvislosti s harmonizací, tedy poté, co se stane jejím nástrojem. Standardizace jako vrcholný stupeň harmonizace, harmonizované postupy výpočtu nejistot měření, otázky komutability referenčních materiálů, kalibrátorů a materiálů pro externí i interní kontrolu kvality, racionální tvorba hodnot specifikací analytické kvality u programů EHK (APS) na bázi biologických variabilit, zajištění metrologické návaznosti jsou klíčovými oblastmi harmonizace [3, 4]. Zejména přehodnocení postupů a provedení programů externího hodnocení kvality spolu s možnostmi na materiálech pacientů založené na kontinuální vnitřní kontrole kvality (PBRTQC) se jeví jako aktuální a neodkladné.

Hmotnostní spektrometrie v rutinní klinické laboratoři

Harmonizace bez postupného zahrnování moderních analytických metod a výkonných automatických analyzátorů nemůže dosáhnout potřebné úrovně. Nastal čas rutinního využívání hmotnostní spektrometrie, metody schopné dosáhnout významných pokroků ve specifčnosti měření. Jako výmluvný příklad lze uvést rozhodující význam hmotnostní spektrometrie u řady metod stanovení hormonů, kde zůstává velký nepokrytý prostor pro standardizaci a harmonizaci. Ale i v dalších oblastech (monitorování lékových hladin, stanovení vitamínu D) se zdá být nezbytné pro zásadní zlepšení diagnostické efektivity. Postupy hmotnostní spektrometrie mají už řadu let zcela zásadní význam pro tvorbu referenčních systémů řady rutinních měření, tedy jako nástroje pro metrologickou návaznost kalibrace. A tím i pro cestu k pravdivosti výsledků. Vývoj těchto metod dospěl do takové fáze stupně automatizace, ve které je možné a nezbytné začít s realizací jejich přímého vstupu do repertoáru rutinních měření.

Řízení projektů v multioborové klinické laboratoři

Rozvoj klinických oborů, vyšetřovacích metod a informačních technologií nás nutí přizpůsobit se aktuálním potřebám a možnostem poskytované diagnostické a léčebné péče. Základem plánovaných změn je důraz na požadovanou kvalitu a udržitelnost v konkrétních podmínkách poskytovatele. K projektovému řízení máme řadu SW nástrojů z produkce českých firem s širokým globálním uplatněním [5]. Cíle jsou závislé na druhu poskytované péče, velikosti organizace, provozně-ekonomických možnostech a lokálních podmínkách. Při realizaci projektů narážíme na celou řadu

komplikovaných problémů, především na dostupnost a kvalifikaci pracovníků a možnosti jejich vzdělávání a cílené přípravy pro nový druh pracovních činností. Pro úspěch je nutné sledovat vývoj, dokázat vhodně komponovat nové technologie, školit a připravit personál laboratoří, kultivovat a inovovat vztahy uvnitř a vně laboratoře, respektovat udržitelnost a podporovat harmonizaci. Pro klinickou a laboratorní medicínu je důležité sestavování multioborových týmů, podporovaných víceúrovňovým řízením v instituci.

Automatizace v laboratoři: kde začít a kam dospět?

Zamyšlení, kde začít při automatizaci provozu a kam chceme dospět při zavádění moderních technologií či technologických celků v blízké budoucnosti je velkou výzvou pro vedení laboratoří. Nové laboratorní a informační technologie nám mohou přinést podstatně vyšší kvalitu a efektivitu. IT podpora pomůže harmonizaci diagnostických a léčebných postupů. K dosažení plánovaných cílů je zásadní znát detailně prostředí, ve kterém aplikujeme v širším kontextu nové automatizované postupy. Důležitou podmínkou pro volbu vhodných řešení je vyhodnocení možných provozních rizik. Na základě ideového záměru a provedených přípravných činností si můžeme definovat pořadí jednotlivých kroků v čase a rozdělit odpovědnost za realizaci v souladu s organizační strukturou organizace a zastávanými rolemi.

Literatura

1. EFLM Guidelines for green and sustainable medical laboratories, 2022. [\[odkaz\]](#)

2. EFLM certification for green and sustainable laboratories, 2023. [\[odkaz\]](#)

3. Braga F. et al., Definition and application of performance specifications for measurement uncertainty of 23 common laboratory tests. Linking theory to daily practice. *Clin. Chem. Lab. Med.*, 2022, 61(2), s.213-223. [\[odkaz\]](#)

4. Panteghini M. Redesigning the surveillance of in vitro diagnostic medical devices and of medical laboratory performance by a quality control in the traceability era. *Clin. Chem. Lab. Med.*, 2023, 61(5), s. 759-768.

[\[odkaz\]](#)

5. Máchal, P., Kopečková, M., Presová, R.: Světové standardy projektového řízení: pro malé a střední firmy, Grada Publishing Praha, 2015, ISBN 978-80-247-5321-8.

B-6-1

Harmonizace postupů a výsledků v automatizovaných klinických laboratořích
Harmonization of procedures and results in automated clinical laboratories

Wiewiorka O., Beňovská M.

ÚLM-OKB, Fakultní nemocnice Brno
wiewiorka.ondrej@fnbrno.cz

Harmonizace je stále neukončeným (a neukončitelným) procesem v klinických laboratořích, který za-

jišťuje ekvivalenci výstupů jednotlivých laboratorních pracovišť. Na rozdíl od standardizace je uplatňována tam, kde dosud neexistuje (a nějakou dobu existovat nebude) metrologická návaznost na referenční metody. Dnešní pojetí harmonizace ovšem nezahrnuje pouze vydávání stejných hodnot výsledků, ale i sjednocení jejich jednotek, postupů k jejich získání, přípravu pacienta a použitý odběrový systém, stabilitu analytu a v neposlední řadě samotné indikaci laboratorních testů a jejich následnou interpretaci a to na globální úrovni.

Tomuto procesu je věnováno značné úsilí a v poslední dekádě došlo k mnoha úspěšným krokům. Jednotlivým oblastem, ať už preanalytické, analytické nebo postanalytické fázi se věnují odborné skupiny, komentují stav harmonizace a dávají doporučení ke zlepšení. Úkolem laboratorních pracovníků je pak tato doporučení implementovat na vlastním pracovišti. Ne vždy je to snadné. Dosud zavedené postupy musí být změněny po celé linii „celkového testovacího procesu“ (Total Testing Process - TPP), u kliniků, v laboratoři i v informačních systémech. Odměnou za harmonizaci nám je velký soubor unifikovaných dat, která umožní adekvátní léčbu pacientů a při jejich analýze (umělou inteligenci) snad i jejich zlepšení.

V literatuře jsou již dostupné hodnoty minimálního a žadoucího „požadovaného analytického výkonu (APS)“ u řady analytů, které vychází z klinického užití, biologické variability nebo „state of the art“. Tyto hodnoty APS tak mohou sloužit jako cíl kvality pro jednotlivé laboratoře, ale i organizátory externí kontroly kvality (EHK) tak, aby mezi kritérii pro úspěšnou zkoušku nebyly velké rozdíly. Nakonec umožní i dodavatelům in vitro diagnostiky náhled, které metody je potřeba zlepšit.

Další významnou změnu představuje direktiva Evropské unie (EU) regulace *in vitro* diagnostiky (In vitro diagnostic regulation - IVDR). Mimo jiné přikazuje dodavatelům IVD používat certifikované referenční standardy pro kalibrátory i materiály interní kontroly kvality, alespoň tam, kde je to možné. Uživatelům IVD naopak zakazuje jakoukoli úpravu v měřicím procesu, tak aby bylo znemožněno jakýmkoli „kreativním“ úpravám.

B-6-2

Ekologická udržitelnost klinických laboratoří.
Environmental sustainability of clinical laboratories

Bunešová M., Friedecký B.

ÚLCHKB UK 2.LF a FN Motol, Praha, ÚKBD FN Hradec Králové

martina.bunesova@fnmotol.cz

Změny klimatu, emise oxidu uhličitého, ztráta podstatné části biodiverzity planety jsou problémy postindustriální společnosti od posledních dvou dekád 19. století. Následné změny přinášejí dramatické problémy, ohrožující život na planetě vlivem zásadních změn biologických a s nimi spojených ekonomických podmínek, které mohou v krajním případě vyústit do katastrofických podob. Zatímco se zápas o udržitelnost

životního prostředí ve světě pomalu rozvíjí, zdá se, že v ČR jsou tyto problémy bagatelizovány a redukovány pohledem prostých ekonomických zájmů bez vize pro existenční budoucnost. Jakou roli hrají klinické laboratoře v procesu ekologické udržitelnosti? Především jde o produkci, redukci a recyklaci odpadů. Těch se produkuje v laboratořích celosvětově biliony tun. Řada z nich představuje vysoce toxické odpady. Speciální kapitolou jsou elektronické odpady. Management odpadů je počátkem udržitelnosti klinických laboratořích. Dalším klíčovým problémem jsou energie. Do této oblasti patří optimalizace jejich spotřeby, která je dosažitelná cestou managementu, dbajícího na šetrný denní provoz zařízení. Nicméně rozhodující je zde strategie diagnostické a monitorovací efektivity laboratorních testů. Tam je základem harmonizace všech částí laboratorních procesů od výběru klinicky validovaného testu přes preanalytiku k analytickému měření a postanalytické interpretaci. K realizaci je zde nutný strategický přístup zahrnující normativu (IVDR), zpracování big dat (cestou umělé inteligence a strojového učení), dosahování integrace laboratorních dat s daty zobrazovacích metod a demografickými daty. Udržitelnost klinických laboratořích není jen sofistikovaným shrnutím faktorů, kterými laboratoře přímo ovlivňují životní prostředí, jak by se mohlo jevit z materiálů EFLM a jeho příslušné pracovní skupiny (EFLM-TF-GL). Rozhodně jde o náročný integrovaný proces, který by měl podstatně změnit tvář laboratorní medicíny.

B-6-3

Hmotnostní spektrometrie jako součást automatických linek v blízké budoucnosti
Mass spectrometry as part of automated systems in the near future

Klapková E., Čepová J., Průša R.

*Ústav lékařské chemie a klinické biochemie, 2. LF a FN Motol Praha
eva.klapkova@fnmotol.cz*

V moderních zdravotnických systémech hraje laboratorní medicína zásadní roli, protože výsledky in vitro diagnostického testování ovlivňují mnohá lékařská rozhodnutí.

Počátky laboratorní automatizace jsou datovány k roku 1950. Trend vývoje automatizace laboratořích byl řízen nedostatkem personálu, ale také dostupností komerčních preanalytických a analytických systémů schopných snížit riziko laboratorních chyb a zlepšit kvalitu analýz.

Klinické LC-MS/MS aplikace jsou v rutinní analýze používány více než 20 let. Využití ionizace elektrosprejem jako první umožnilo vývoj metod umožňujících novorozenecký screening, dále metod na stanovení antiepileptik, imunosupresiv až po metody na stanovení steroidních hormonů. Vývoj těchto metod byl hnán narůstajícími požadavky na vyšší sensitivitu a specificitu, ale také potřebou širšího měřicího rozsahu. V porovnání

s HPLC metodami LC-MS/MS metody jsou rychlejší, mají jednodušší přípravu vzorku k analýze, a tudíž byly již vyvinuty integrované platformy umožňující automatizaci preanalytické fáze v přípravě vzorku pro LC-MS/MS analýzu. Tyto systémy pracují většinou s 96jamkovými destičkami, které umožňují automatizaci extrakce na pevné fázi, extrakce kapalina-kapalina, precipitace proteinů, přidání vnitřních standardů, dispenzace, inkubace a centrifugace či filtrace v rámci přípravy vzorku k analýze. Na poli klinické chemie jsou již výrobci IVD kitů, kteří vyvinuli a představili plně automatické moduly propojené s LC-MS, což umožňuje plně automatizovanou správu vzorku (Shimadzu, Thermo Fisher Scientific, Hamilton). Pro klinické laboratoře to znamená přesunout ruční metody do centrální automatizované a vysoce výkonné části laboratoře. V roce 2024 se také firma Roche chystá dodávat nový modul MassSpec. Ve světě jsou již LC-MS systémy jako součást automatizovaných linek používány. V České republice tomu tak zatím ještě není. Výhodou automatizace hmotnostní spektrometrie bude enormní potenciál v nabídce laboratorních testů, které zaplní mezery v současném portfoliu, ale také eliminace zdrojů chyb způsobených alikvotací vzorků či zkrácení TAT času.

B-6-4

Řízení projektů v multioborové laboratoři
Project Management in a Multidisciplinary Laboratory

Verner M., Kašparová M.

*Centrální laboratoře, Nemocnice České Budějovice, a.s.
verner.miroslav@nemcb.cz*

Cíl: prezentace vlastních zkušeností za 20 let provozu multioborové laboratoře.

Řízení projektů v multidisciplinární laboratoři vyžaduje plnou podporu vrcholového managementu zdravotnického zařízení při definování cílů projektů včetně odpovědnosti za jednotlivé oblasti. Základem je definice členů týmu a časový harmonogram realizace projektu. Příprava ideového záměru projektu vyžaduje prvotní analýzu stavu laboratořích a požadavků z klinických oddělení vlastního zařízení a ostatních spolupracujících subjektů. Návrh realizace vychází z porovnání výsledků analýz s ideovým záměrem. Pro úspěch je nezbytné nejen sestavit a vyškolit řídicí tým, ale seznámit a připravit personál laboratoře pro realizaci jednotlivých etap projektu. Důležitým faktorem zvýšení kvality cílového řešení je inovace vztahů uvnitř a vně multioborové laboratoře.

Závěr: prezentace předkládá souhrn zkušeností s faktory působícími k podpoře a proti realizaci komplexního projektu.

Literatura

Máchal, P. Kopečková, M. Presová, R. Světové standardy projektového řízení: pro malé a střední firmy, *Grada Publishing Praha*, 2015, ISBN 978-80-247-5321-8.

Automatizace v laboratoři: kde začít a kam dospět
Laboratory automatization: where to start and what is the goal

Rajdl D.

Ústav klinické biochemie a hematologie, FN Plzeň a LF v Plzni
 rajdl@fnplzen.cz

Kde začít? Prospěje klidné zamyšlení nad očekáváními. Spokojení budou tam, kde si za cíl dají větší standardizaci procesů, efektivitu a přesměrování pracovní síly do jiných oblastí (preanalytika, speciální vyšetření...). Zklamání může čekat na ty, kteří očekávají jednoznačné zrychlení a větší flexibilitu. Na začátek také patří zmapování rozmanitosti vzorků a požadavků a snaha o jejich zjednodušení, sjednocení. Čím větší rozmanitost vzorků a požadavků, tím méně je automatizace vhodná. Zavádění automatizace může být výborným spouštěčem pro zjednodušení a zefektivnění procesů v laboratoři (ale to lze zrealizovat bez automatizačního projektu). V prezentaci dále shrneme předpoklady pro automatizaci, její pozitivní vedlejší efekty a projdeme všechny základní procesy automatizací ovlivněné (preanalytika, transport, kontrola vzorku, „chytrý“ management vzorků, centrifugaci a alikvotaci, interakci dopravníku s analyzátořem a úlohu automatizovaného chlazeného skladu v automatizačním procesu.

BLOK 7
Kazuistiky, varia
Case reports, varia

Editorial: Vladimír Palička

Záměrem bloku kazuistik a varií je jednak přiblížit poutavým způsobem několik případů z klinické i laboratorní praxe, jednak prezentovat zajímavá sdělení týkající se relativně nových témat.

Sdělení o vitamínu D u nezralých novorozenců jistě přispěje střípkem do mozaiky poznatků o vitamínu D a jeho hladinách v různých věkových skupinách. Je také upozorněním na to, že nejde u všech věkových skupin jen o 25-OH-vitamin D, někdy hrají velkou roli i další deriváty.

Přednáška profesora Kacerovského o možnostech stanovení placentárních lézí u pacientek s předčasným porodem formou tekutinové biopsie přinese seznámení s dalším rozměrem a možným přínosem této recentní techniky, která je revoluční jak z hlediska analytiky, tak především svým přínosem pro matku i plod a testování neinvazivním přístupem.

Dvě klinické kazuistiky by měly způsobem, který je kazuistikám vlastní, seznámit posluchače s neobvyklými případy: se záchytem závažného onemocnění v rámci běžného laboratorního monitorování, což je právě jedna z úloh klinického biochemika. Měl by vidět za výsledky

pacienta a umění hodnotit i jen náznaky neobvyklých patologií. Kazuistika týkající se prokalcitoninu by měla upozornit na neobvyklý vzájemný vztah prokalcitoninu (PCT) a C-reaktivního proteinu (CRP). Při několik dní trvajícím extrémním zvýšení PCT byl naopak CRP setrvale nízký. Příčiny byly hledány v analytické interferenci, nicméně díky literární rešerši se nakonec objevila neobvyklá, resp. vzácná příčina izolovaného zvýšení prokalcitoninu, která ačkoli nebyla exaktně prokázána, zůstává hlavním možným vysvětlením neobvyklého fenoménu.

Na závěr zazní sdělení doc. Springer analytickém vlivu na stanovení myoglobinu způsobené hook-efektem. Hook-efekt je něco, čeho se bojíme, resp. se bojíme, že jeho přítomnost neodhalíme a vydáme falešně nízký výsledek. Ačkoli moderní analytické systémy mají technologie k jeho detekci, jistě nejsou stoprocentní a zkušený analytik je jistě leckdy spolehlivější.

Doufáme, že si blok užijete, najdete v kazuistikách poučení a budete sdílet naše nadšení z kazuistik, jimž v rámci pravidelných setkání biochemiků v Písku věnujeme velkou porci času a rádi se z nich učíme.

B-7-1

Vitamin D u nezralých novorozenců
Vitamin D in preterm infants

Matějek T.

Dětská klinika, Fakultní nemocnice Hradec Králové
 tomas.matejek@fnhk.cz

Přestože hlavní funkcí vitamínu D je jeho úloha v metabolismu kostí, v posledních letech přitahují pozornost i jeho další biologické účinky, zejména ty imunomodulační. Klinický výzkum na poli vitamínu D byl eskalován objevem, že mnoho typů lidských buněk nese receptor pro vitamin D a ten může hrát roli v regulaci buněčné proliferace a diferenciace. Hypovitaminóza D u matek během těhotenství a následná nedostatečná hladina v pupečnickové krvi novorozenců je spojována s možným rozvojem následujících chorob: diabetes mellitus I. typu v dětském věku, alergie, vyšší riziko infekcí horních a dolních cest dýchacích, bronchiolitidy způsobené respiračním syncytiálním virem (RSV), opakující se pískání, bronchiální astma ve věku 6 let, neurokognitivní vývojové poruchy (poruchy řeči, poruchy autistického spektra v časném dětství) a snížená kostní hmota u dětí a mladých dospělých s následným rizikem vzniku časně osteoporózy. Existují přesvědčivé důkazy, že nízká hladina vitamínu D vede u novorozenců k poruše funkce imunitního systému. Naše studie prokázala v České republice velmi vysokou prevalenci deficitu vitamínu D u těhotných žen a v pupečnickové krvi jejich novorozenců s velmi nízkou porodní hmotností. Současná výživová doporučení pro předčasně narozené děti nemusí být dostatečně efektivní k dosažení doporučené cílové hladiny vitamínu D > 50 nmol/L, zejména v situaci těžkého deficitu vitamínu D při narození.

Tekutinová biopsie ke stanovení placentárních lézí u pacientek s předčasným porodem
Liquid biopsy to assess placental lesions
in women with spontaneous preterm delivery

Kacerovský M.

*Fakultní nemocnice Hradec Králové, Univerzita Karlova,
 Lékařská fakulta v Hradci Králové
 marian.kacerovsky@fnhk.cz*

Předčasný porod, definovaný jako porod před dokončeným 37. týdnem těhotenství, komplikuje zhruba každé desáté těhotenství. Předčasný porod patří mezi takzvané „velké porodnické syndromy“, pro které je typická zejména mnohočetná etiologie a pozdní prezentace klinických symptomů. Bohužel klinický přístup k léčbě předčasného porodu je stále uniformní – snaha o zástavu pravidelné děložní činnosti a podání kúry kortikoidů k indukci plicní zralosti plodu. Tento přístup však rezultuje ve fakt, že frekvence předčasných porodů zůstává stále stejná.

Jedním z klíčů k odhalení patofyziologie předčasného porodu je stanovení placentárních změn, které definují tzv. placentární léze. Z klinického úhlu pohledu je dostačující rozlišovat čtyři typy placentárních lézí: i) akutní zánětlivé léze (difúzní infiltrace placenty a plodových obalů neutrofilů), ii) chronické zánětlivé léze (difúzní infiltrace placenty a plodových obalů T-lymfocyty), iii) mateřská vaskulární malperfúze (léze vedoucí ke zhoršení/snížení průtoku krve intervillózními prostory placenty) a iv) fetální vaskulární malperfúze (léze vedoucí ke zhoršení/snížení průtoku krve ve fetální cirkulaci).

Tyto léze lze však diagnostikovat histopatologickým vyšetřením placenty až po porodu plodu. Jinými slovy, informaci z tkáňové biopsie již není možné využít k managementu daného těhotenství. U pacientek s předčasným porodem lze však provést odběr biologických tekutin (mateřská krev, plodová voda, pupečnicková krev) a v nich stanovit hladiny vybraných laboratorních ukazatelů, jejichž hladiny odráží přítomnost/chybění specifických placentárních lézí. Stanovení vybraných laboratorních ukazatelů ve specifických biologických tekutinách lze tedy využít jako tzv. tekutinové biopsie ke stanovení placentárních lézí ještě v průběhu těhotenství/porodu, tj. před porodem placenty, a tyto informace využít k individualizaci terapie předčasného porodu.

Prezentace se bude věnovat tekutinovým biopsiím ke stanovení dvou typů placentárních lézí: i) akutních zánětlivých lézí a ii) mateřské vaskulární malperfúzi. Konkrétně budou prezentovány diagnostické možnosti hladin interleukinu-6 v mateřském séru, plodové vodě a séru pupečnickové krve ke stanovení akutních zánětlivých placentárních lézí. Dále budou prezentovány diagnostické možnosti hladin placentárního růstového faktoru (PIGF), solubilního tyrozinkinázového receptoru typu 1 (sFlt-1) a jejich poměrů (sFlt-1/PIGF, tzv. preeklamptický index, PIGF/sFlt-1, tzv. angiogenní index-1) v mateřském séru, plodové vodě a séru pupeč-

nickové krve ke stanovení placentárních lézí spojených s mateřskou vaskulární malperfúzí.

Využití těchto tekutinových biopsií u pacientek se spontánním předčasným porodem, ideálně ještě u žen pouze s vysokým rizikem spontánního předčasného porodu, může individualizovat léčbu této závažné těhotenské patologie s ohledem na patofyziologii jejího vzniku.

B-7-3

Od hypercholesterolemie k diagnóze závažného onemocnění
From hypercholesterolemia to diagnosis of a severe disease

Lacko J.

*Centrální laboratoř Nemocnice Třebíč
 jlacko@nem-tr.cz*

Prezentujeme kazuistiku 69leté ženy odeslané do lipidové poradny gastroenterologem pro těžkou hypercholesterolemii. Klinicky dominují dyspeptické obtíže s intolerancí hypolipidemik, laboratorně pak výrazná elevace obstrukčních jaterních enzymů bez elevace bilirubinu, gastroenterologem dosud neobjasněno. Dále výrazná hypoalbuminemie, vyšetřením moče prokázána nefrotická proteinurie, bez elevace kreatininu v séru. Krevní obraz bez patologie, bez koagulopatie. V rámci screeningu nález monoklonální gamapatie IgG kappa. Kontaktován gastroenterolog k provedení biopsie jater - prokazuje AL-amyloidosu. Doplněna sternální punkce s průkazem 60% infiltrace klonálními plasmocyty. Pacientka předána do péče hematologa k zahájení protinádorové léčby.

Kazuistikou prezentujeme algoritmus rychlého a komplexního klinicko-laboratorního došetření od vstupního nálezu až k závažné diagnóze a předání do péče specialisty.

B-7-4

Extrémní elevace prokalcitoninu bez zvýšení C-reaktivního proteinu na podkladě intoxikace drogou
Extreme elevation of procalcitonin with low C-reactive protein due to drug intoxication

Malina P., Randák D., Gergely L., Piksa T.

*Anesteziologické oddělení, Nemocnice Písek; Oddělení klinické biochemie, Nemocnice Písek; Interní oddělení, Nemocnice Písek
 malina@nemopisek.cz*

Prezentujeme kazuistiku 52letého muže se vzácným rozparem mezi nízkou hodnotou CRP (C-reaktivní protein) a extrémním zvýšením prokalcitoninu (PCT) bez nálezu bakteriální infekce. Domníváme se, že příčinou zvýšení PCT a uvedeného rozporu byla intoxikace drogou - sympathomimetickým stimulantem (např. amfetaminem/metamfetaminem), ale nepodařilo se nám ji prokázat.

Pacient byl přijat s tachykardií 140/min, tachypnoe, horečkou a GCS (Glasgow coma scale) 11. Následovaly rhabdomyolýza, hyperglykémie a bezvědomí s respiračním selháním. Pacient byl čtyři dny uměle ventilován. 2. den po přijetí měl PCT 170 µg/L, CRP 2,4 mg/L, 3. den PCT 451 a CRP 5,1 mg/L. Interference heterofilních protilátek byla vyloučena použitím Skybio blokujících zkumavek. Pacientův stav se zlepšil, ale za dva dny se objevila ventilátorová pneumonie se sepsí, MODS (multiorgan dysfunction syndrome) a znovu respiračním selháním. Na UPV (umělá plicní ventilace) a CRRT (kontinuální náhrada funkce ledvin) byl dalších 11 dní, následovala těžká neuromyopatie kriticky nemocných a protražovaná hospitalizace. Druhá epizoda se objevila po dvou měsících od první - horečka, bezvědomí a respirační selhání vyžadující UPV po dva dny. 1. den této epizody: PCT 0,96 µg/L, CRP 0,7 mg/L, 2. den bylo PCT 2,29 µg/L a CRP 2 mg/L. V osobní anamnéze měl diabetes mellitus typu 2, hypertenzi, psychotické onemocnění a nadužívání alkoholu. Navíc užíval mnoho rostlinných doplňků stravy, ale odmítal sdělit jejich složení. Toxikologické vyšetření (screeningový immunochemický test na 10 skupin drog a léčiv) bylo 3x negativní včetně jedné LC-MS/MS analýzy.

Jako příčinu extrémního zvýšení PCT s nízkým CRP jsme uzavřeli intoxikaci sympathomimetickou drogou s rhabdomyolýzou a renálním selháním, ačkoli se nám drogu nepodařilo detekovat. Domníváme se, že 2. epizoda za hospitalizace se objevila díky tomu, že otec pacienta mu přinesl drogu v rámci některého doplňku stravy. Podobné kazistiky s identickým laboratorním i klinickým obrazem byly popsány právě po intoxikaci sympatomimetickými drogami.

B-7-5

Hook efekt při stanovení koncentrace myoglobinu
Hook effect in the determination of myoglobin concentration

Springer D., Lahoda Brodská H.

*Ústav lékařské biochemie a laboratorní diagnostiky
Všeobecné fakultní nemocnice a 1. Lékařské fakulty
Univerzity Karlovy, Praha
drahomira.springer@lf1.cuni.czz*

Myoglobin je hemoprotein nacházející se především v buňkách příčně pruhovaného svalstva. Reverzibilně váže kyslík a zvyšuje jeho transport do mitochondrií a tím hraje významnou úlohu v aerobním metabolismu buněk. Když dojde k poškození buněk svalu do cévního systému se v důsledku porušení buněčných membrán uvolní enzymy a další proteiny jako myoglobin. Myoglobin je v současné době nejčasnějším biologickým markerem nekrózy myokardu. Myoglobin je citlivým indikátorem akutního infarktu myokardu, ale není specifický jen pro srdeční sval. Zvýšené hladiny myoglobinu se mohou objevit také u dalších poškození jako jsou těžký šok, rozsáhlé poranění, vážné otravy, terminální sta-

dium nedostatečnosti ledvin, myokarditida, akutní infekční onemocnění a myopatie. Klinický obraz těchto chorobných stavů je obvykle takový, že umožní snadnou diferenční diagnózu. Myoglobin je rychle odstraněn z oběhu ledvinami, ale při mimořádně vysokých hladinách je třeba myoglobin eliminovat pomocí hemodialýzy, která je doporučována u hladin nad 4 – 5 000 µg/L. Vysoké hladiny myoglobinu poškozují ledviny nevratně.

Používané metody stanovují hladinu myoglobinu imunoanalyticky, a i když výrobce uvádí, že je hook efekt ošetřen do vysokých hladin (4 000 µg/L), může se stát, že při extrémní hladině myoglobinu vydá analyzátor výsledek sice vysoký (3 600 µg/L), ale zdaleka neodpovídající skutečné koncentraci (84 000 resp. 160 000 µg/L).

V naší laboratoři jsme narazili na dva takové případy během krátké doby, které popisujeme v naší prezentaci. Srovnali jsme zároveň vyšetření těchto vzorků i na dalších třech analyzátoch, které také nabízí imunoanalytické stanovení myoglobinu. Není naším cílem některé výrobce poškodit, naopak chceme upozornit na možnost takové chyby i ostatní laboratoře a popsat další výsledky, které vedly k tomu, že byl vzorek vždy dále ředěn, abychom získali správné hodnoty.