

UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE  
FARMACEUTICKÁ FAKULTA V HRADCI KRÁLOVÉ  
Katedra biochemických věd

**LABORATORNÍ DIAGNOSTIKA ONEMOCNĚNÍ SRDCE**  
Bakalářská práce

Hradec Králové, 2007

Soňa Nývltová

Děkuji prof. Tichému za odborné vedení, cenné připomínky a motivaci k vědecké práci, dále všem zaměstnancům katedry biochemických věd FAF UK za ochotu a pomoc. Zvláštní dík patří zaměstnancům biochemické laboratoře Oblastní nemocnice Náchod.

# 1 OBSAH

1. Obsah.....	3
2. Úvod.....	4
3. Cíl práce .....	5
4. Vlastní rešeršní práce .....	6
4.1. Ischemické poškození myokardu .....	6
4.2. Laboratorní testy .....	7
4.3. Biochemická diagnostika akutní koronární příhody v minulosti .....	9
4.3.1. Katalytická aktivita LD .....	9
4.3.2. Katalytická aktivita AST .....	10
4.3.3. Katalytická aktivita CK .....	10
4.3.4. CKMB .....	11
4.4. Biochemická diagnostika v současnosti.....	12
4.4.1. CKMB mass .....	12
4.4.2. Myoglobin .....	13
4.4.3. Troponiny .....	13
4.4.4. Natriuretické peptidy.....	18
4.5. Nové nebo nestandardní metody .....	19
4.5.1. Ischemií modifikovaný albumin.....	20
4.5.2. Volné mastné kyseliny .....	21
4.5.3. Cholin .....	22
4.5.4. Solubilní CD40 ligand.....	22
4.5.5. Glykogenfosforyláza BB .....	23
4.5.6. Pregnancy- associated plasma protein A.....	23
4.5.7. Placentární růstový faktor .....	24
4.6. Biochemické metody doplňující diagnostiku koronární příhody.....	24
4.6.1. C- reaktivní protein .....	24
4.7. Testy prováděné v Oblastní nemocnici Náchod.....	25
5. Závěr.....	27
6. Souhrn .....	29
7. Seznam použitých zkratk.....	30
8. Použitá literatura .....	32

## 2 ÚVOD

Kardiovaskulární onemocnění jsou celosvětově nejčastější příčinou úmrtí – ročně na ně zemře na celém světě 17,5 milionu lidí. V Evropě jsou onemocnění srdce a cév příčinou téměř poloviny úmrtí (49 %), a ročně stojí náklady na péči o nemocného zhruba 169 miliard Euro.

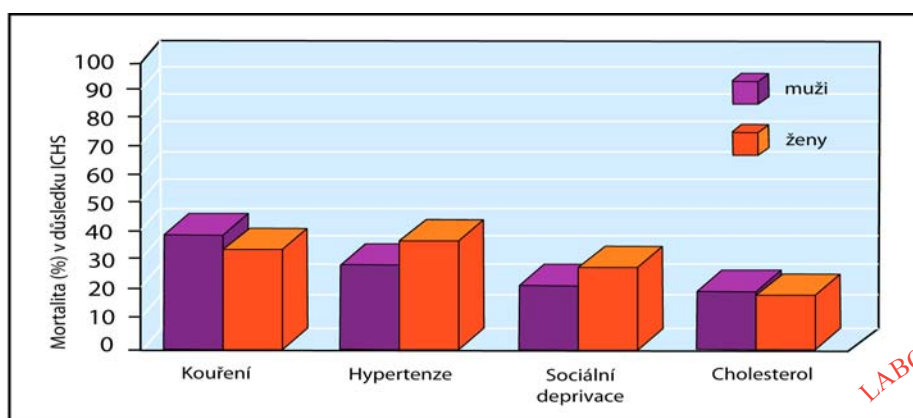
V naší republice jsou onemocnění srdce a cév příčinou úmrtí číslo jedna – ročně na ně zemře téměř 60 tisíc lidí, což je přibližně 5 000 lidí každý měsíc. (1)

Vysoký cholesterol a krevní tlak, nezdravý životní styl, strava, kouření, diabetes mellitus, stres, obezita a nedostatek pohybu – to vše ovlivňuje skutečné stáří našeho organismu a jeho hlavní motor, srdce **Obr.1**.

Ve srovnání se západní Evropou, kde lidé více dbají na zdravý životní styl a stravu, je výskyt kardiovaskulárních onemocnění u nás téměř dvojnásobný. Úmrtnost v jejich důsledku prudce stoupla v době železné opony mezi 70. a 90. lety minulého století. Teprve 90. léta přinesla snižování kardiovaskulární mortality a průměrná délka života české populace se od té doby zvýšila o čtyři roky na současných 72 let u mužů a 78 let u žen. Od roku 2000 se však tento pozitivní vývoj zastavil a kardiovaskulární úmrtnost u nás stagnuje, či se dokonce mírně zvyšuje.

Dnes existuje celá řada účinných terapeutických opatření, jejichž účinnost závisí na včasném zahájení. Podstatný význam má rychlé potvrzení diagnózy. Spolu s klinickým vyšetřením a EKG je biochemická laboratorní diagnostika „třetím pilířem“ diagnostiky srdečního infarktu.

Časná diagnóza srdečního selhávání může zpomalit a oddálit vývoj remodelace srdce se všemi jeho negativními důsledky.



Obr. 1 Vztah kardiálních rizikových faktorů a procentuální mortality na ischemickou chorobu srdeční v Západním Skotsku (převzato z Treatment impact on heart disease mortality, Capewell et al.)

### 3 CÍL PRÁCE

Cílem bakalářské práce je na základě studia literatury vytvořit přehled historických biochemických markerů srdečních chorob, které jsou nyní bez významu nebo mají malý význam pro nespecifičnost a malou citlivost (LD, AST), dále markerů, které se stále používají, ale spíše ze setrvačnosti a z ekonomických důvodů (CK, CK-MB), přehled současných vysoce specifických markerů (troponiny, CK-MB mass) a dále přehled markerů uvažovaných pro diagnostiku AKS v příštích letech.



## 4 VLASTNÍ REŠERŠNÍ PRÁCE

### ISCHEMICKÉ POŠKOZENÍ MYOKARDU

Ischemické poškození myokardu patří k závažným onemocněním, doprovázeným vysokou morbiditou a mortalitou. (3) Obr.2 Je definováno jako akutní nebo chronická porucha funkce myokardu na podkladě nedostatečného krevního zásobení.

Nejzávažnějším typem ischemického poškození je akutní infarkt myokardu (AIM), kdy dochází k ischemii a následně nekróze části myokardu následkem úplné okluze věnčité tepny, nejčastěji na podkladě trombu, který nasedá na aterosklerotický plát obvykle po jeho ruptuře. Mortalita tohoto onemocnění je stále vysoká (téměř 50 %), přičemž dvě třetiny nemocných umírají mimo nemocnici.

Přechodná a plně reverzibilní ischemie myokardu se nazývá angina pectoris (AP). Jako nestabilní anginu pectoris označujeme náhle vzniklou či progresivně se zhoršující anginu pectoris, dále stav, kdy se objeví anginózní obtíže v subakutním období po proběhlém infarktu myokardu, a konečně tzv. klidovou AP, kdy typické bolesti vznikají v klidu a jsou doprovázeny depresiemi ST- úseku na elektrokardiogramu. Nestabilní AP obvykle dříve či později vyústí v infarkt myokardu. I v případech, kdy k tomu nedošlo, lze předpokládat drobné ischemické nekrózy v myokardu (mikroinfarkty).

Diagnózu akutního, rozvíjejícího se nebo recentního infarktu myokardu lze stanovit na základě přítomnosti kteréhokoli z následujících kritérií:

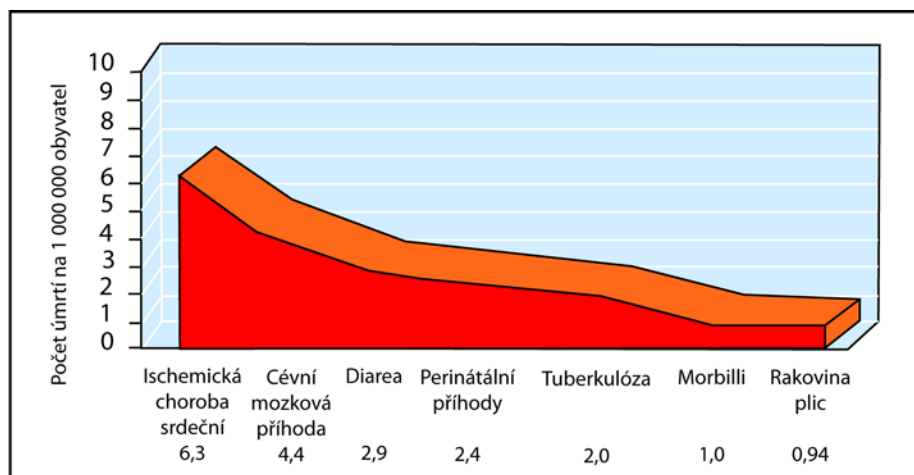
1. Typický vzestup a postupný pokles(troponin) nebo rychlejší vzestup a pokles (CK-MB) biochemických markerů myokardiální nekrózy, současně s minimálně jedním z následujících nálezů:
  - a) příznaky ischemie
  - b) vývoj patologické vlny Q na EKG
  - c) EKG změny svědčící pro přítomnost ischemie (elevace nebo deprese úseku ST) nebo
  - d) intervenční výkon na koronárních tepnách
2. Patologickoanatomické nálezy typické pro AIM

Diagnózu proběhlého infarktu myokardu lze stanovit na základě přítomnosti kteréhokoli z následujících kritérií:

1. Rozvoj nových patologických vln Q na EKG. Nezáleží na tom, zda pacient je či není schopen vybat si přítomnost symptomů. Rovněž biochemické známky nekrózy

myokardu mohou být normalizovány, v závislosti na době, která od proběhlého infarktu uplynula.

2. Patologickoanatomické nálezy zhojeného nebo hojícího se infarktu myokardu.



Obr. 2 Hlavní příčiny mortality v celosvětovém měřítku od roku 1990 (převzato ze studie Global Burden of Disease).

## LABORATORNÍ TESTY

Pro diagnostiku ischemické choroby srdeční (ICHS) resp. IM se provádí řada testů, které pomáhají :

- stanovit diagnózu AIM
- diagnosticky odlišit AIM od jiných forem ICHS či od jiné příčiny bolesti na hrudi nebo v břiše
- určit komplikace AIM včetně reinfarktu
- stanovit velikost infarktového ložiska a tedy prognózu pacientů s AIM
- diagnostikovat proběhlou rekanalizaci věnčité cévy s reperfuzí ischemického ložiska.

Počátek enzymologie AIM je v roce 1955, kdy Karmen našel zvýšenou aktivitu aspartátaminotransferázy v séru nemocných AIM. V roce 1956 pak byla popsána zvýšená aktivita dehydrogenázy kyseliny mléčné a v roce 1960 kreatinkinázy v séru nemocných AIM. Od roku 1963 Markert razil termín izoenzymy pro enzymy lišící se fyzikálními vlastnostmi, ale katalyzující stejný typ reakce, na základě elektroforetického rozlišení pěti forem rozlišení sérové LD. O deset let později Wagner zdůraznil význam stanovení srdečního izoenzymu CK-MB pro diagnostiku AIM.

Do klinické praxe bylo zavedeno používání CK a CK-MB pro diagnostiku AIM v sedmdesátých letech. Téměř 25 let tato vyšetření tvořila „zlatý“ standard při biochemické AIM, ale toto postavení bylo v posledních letech zpochybněno. V současnosti došlo pod ekonomickým tlakem a tlakem potřeby časně diagnostiky AIM pro úspěšnou trombolytickou terapii k zavedení řady nových biochemických parametrů, které svou citlivostí a specifitami výsoce převyšují dosud používané.(2)

Ideální markery koronární poruchy by měly mít tyto vlastnosti : (4)

- vysoká koncentrace markeru v myokardu bez výraznější přítomnosti v jiných tkáních
- časně uvolnění markeru z myocytů po jejich poškození
- dostatečně široké diagnostické okno (tedy dlouhý biologický poločas markeru)
- nízké odborné nároky na laboratorní techniku (ideálem by byla diagnostika pomocí tzv. „bedside“ testů při zachování vysoké senzitivity a specifity analýzy)

V roce 1999 byla publikována doporučení pro diagnostiku akutních koronárních syndromů (AKS) a standardizaci podmínek pro stanovení kardiomarkerů (5). Jde o doporučení Národní akademie klinické biochemie USA a doporučení Mezinárodní federace klinické biochemie a laboratorní medicíny. Obě doporučení vyžadují časový interval mezi požadavkem lékaře a dodáním výsledku laboratoří do 60 min (TAT – turn around time). Kde tohoto času nelze dosáhnout, doporučuje se zřídit laboratorní detašované pracoviště přímo na klinickém oddělení (POCT – point of care testing). Stanovení kardiomarkerů musí být dostupné 24 hodin denně.

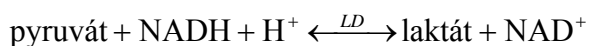
Rozsáhlé studie z poslední doby ukázaly, že splnění TAT 60 min je velmi obtížné.



# BIOCHEMICKÁ DIAGNOSTIKA AKUTNÍ KORONÁRNÍ PŘÍHODY V MINULOSTI

Markery koronární příhody, které byly ještě na počátku 90. let standardně doporučovány jsou následující : laktátdehydrogenáza (LD), aspartátaminotransferáza (AST), kreatinfosfokináza (CK) a její izoenzym MB (CK-MB – katalytická aktivita). Jde o ukazatele s relativně dobrou senzitivitou, ale nedostatečnou mírou specifity.

## KATALYTICKÁ AKTIVITA LD



Jde o enzymový marker. Laktátdehydrogenáza katalyzuje přeměnu laktátu na pyruvát. LD je strukturálně tetrametr, který je tvořen dvěma podjednotkami – H (heart) a M (muscle). Nacházíme ji ve všech tkáních, její zvýšení nemá z hlediska diagnózy koronární příhody velký diagnostický význam pro velmi nízkou specifitu. Specifita vyšetření se zvýšila zavedením analýzy izoenzymů LD (4). LD lze elektroforeticky rozdělit na 5 izoenzymů : Ty jsou obsaženy především v srdeční tkáni (převažuje LD-1, méně zastoupen LD-2), v játrech (LD-4 a LD-5), svalstvu, slinivce, plicích, krevních buňkách apod.

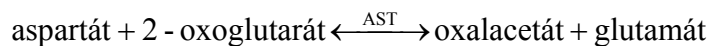
LD se zvyšuje asi za 22 hodin po vzniku koronární příhody, vrchol má za 2.-3. den a jeho elevace trvá asi 5 – 7 dnů. Při interpretaci celkového LD lze nutno brát do úvahy především možnost zvýšení izoenzymu LD-5, které nacházíme především při poškození jaterní tkáně, malignitách atd. Zvýšení LD-5 je však také považováno za velmi přínosný prognostický marker u osob po koronární příhodě, protože toto zvýšení nacházíme velmi často u osob se slabostí pravého srdce (městnání v játrech). Z těchto důvodů se doporučuje v diagnostice koronární příhody a její prognózy používání poměru LD-1/LD-2.

Senzitivita tohoto indexu však není uspokojivá a v současné diagnostice jsou v rutinní diagnostice k dispozici ukazatelé přínosnější.



## KATALYTICKÁ AKTIVITA AST

Enzym katalyzuje následující reakci :

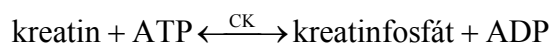


AST je obsažena v relativně vysoké koncentraci v srdečním i příčně pruhovaném svalu, mimoto především v jaterních buňkách. Je to marker nespecifický pro koronární poškození, s pozdním nástupem (6 hodin) a středně dlouhým diagnostickým oknem (3-5 dnů).

V dnešní době se již analýza AST v diagnostice koronární příhody standardně nevyužívá. Stanovení aktivity AST v séru pro diagnostiku IM bylo použito jako prvé, a to již koncem 60. let, pak byly postupně přidávány další testy.

## KATALYTICKÁ AKTIVITA CK

Katalyzuje vratnou fosforylaci kreatinu:



CK je cytoplazmový enzymový marker. Aktivita CK závisí především na lokální oxygenaci a perfuzi myokardu, ale i na věku (u starších nacházíme zpravidla nižší aktivitu CK), pohlaví (muži mají aktivity CK vyšší), na rase (černoši mají aktivitu CK vyšší), dále na objemu svalové hmoty a na fyzické aktivitě. (4)

CK je dimer tvořený podjednotkami M (muscle) a B (brain), každá o mol.hm. 40000 daltonů (15). Možné kombinace monomerů jsou : CK-MM (CK-3), CK-MB (CK-2) a



CK-BB (CK-1). CK je přítomna především v kosterním svalstvu, v myokardu a v mozgová tkáni.

Izoenzymy CK lze stanovit různými metodami, např. elektroforeticky, chromatografií na iontoměničích, imunoprecipitací, radioimunoanalýzou a imunoinhibicí. Metoda imunoinhibice spočívá ve stanovení celkové aktivity CK, pak je k vzorku séra přidáno kozí antisérum proti lidským podjednotkám CK-M a určuje se zůstatková aktivita podjednotek CK-B (23). Nejedná se tedy o specifické stanovení srdečního izoenzymu CK-MB.

Aktivita CK se zvyšuje za 3-4 hod od vzniku koronární příhody s vrcholem závislejícím na reperfuzi myokardu (např. při použití fybrinolytické léčby). Délka diagnostického okna se pohybuje do 2-4 dnů po koronární příhodě v závislosti na reperfuzi.

Falešné zvýšení CK aktivity nacházíme především u poškození příčně pruhovaného svalstva (např. po intramuskulární injekci, fyzické námaze, defibrilaci), dále při poškození CNS se současným poškozením hematoencefalické bariéry, vzestup CK může být zaznamenán u osob s neoplazmi plic, tenkého střeva, prostaty, dále při embolizaci do plic, v některých případech i u osob se selháváním ledvin.

Hodnoty CK je možno použít k odhadu velikosti nekrotického ložiska a ke sledování úspěšnosti trombolytické terapie.

## CK-MB

Má poločas 12 hod a izoelektrickou fokusací jej lze rozdělit na dvě subformy. (7)  
V průběhu 16 hod po AIM má zvýšené hodnoty CK-MB asi 97% nemocných. Stanovení CK-MB je opodstatněné, když CK je vyšší než 1,6 $\mu$ kat/l nebo nad 60% normálního rozmezí.

CK-MB není dostatečně citlivý parametr v prvních hodinách po začátku bolesti a není prokazatelný u starších AIM, protože se vrací k normálu asi za 48 hod. Není také 100% kardiospecifický.

Pokrok směřoval přes kvalitativní průkaz CK-MB, kvantitativní průkaz aktivity až ke kvantitativnímu stanovení koncentrace CK-MB mass.

## BIOCHEMICKÁ DIAGNOSTIKA V SOUČASNOSTI

Se zavedením analytických metod, využívajících rozvoje moderní imunochemie (stanovení koncentrace CK-MB, koncentrace myoglobinu, srdečního troponinu-T a srdečního troponinu-I) se výtěžnost biochemických vyšetření podstatně zvýšila a s tím se zvýšila i reputace biochemické diagnostiky koronární příhody v klinické praxi.

### CK-MB mass

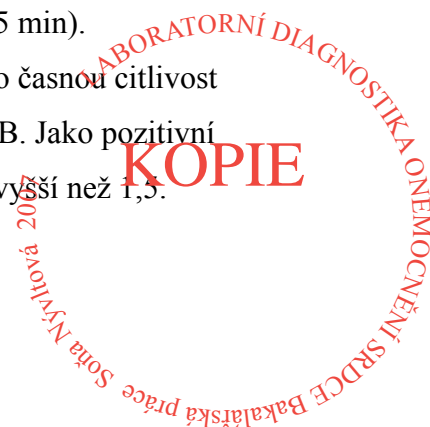
CK-MB mass se po AIM zvyšuje asi o 1 hod dříve než CK-MB aktivita. Referenční limit pro CK-MB mass je 5 ng/ml. CK-MB mass je více kardiospecifický a jeho stanovení má větší analytickou citlivost než stanovení CK-MB aktivity. Zvýšení citlivosti CK-MB mass umožňuje mnohem přesnější průkaz malých změn CK-MB v rozsahu referenčních hodnot, a tím i detekci mikroinfarktů.

CK-MB mass má podobnou citlivost v prvních hodinách jako troponiny.

Metoda radioimunoanalýzy ke stanovení CK-MB byla vyvinuta již v 70. letech, v klinické praxi pak v 80. letech představovalo stanovení kreatinkinázy, resp. MB frakce zlatý standard pro diagnostiku a odhad velikosti AIM. Tento vývoj představovaly metodiky stanovující nejprve aktivitu CK, resp. CK-MB, její skutečnou koncentraci bylo možno stanovit později jako CK-MB mass koncem 80. a v klinické praxi pak v 90. letech.

Z dnešního pohledu má však stanovení CK nízkou specifitu. Pro diagnostiku AIM je nutné nejméně dvojnásobné zvýšení aktivity CK. V nepřítomnosti poškození kosterního svalstva je MB frakce CK vysoce specifická pro poškození myokardu. Pozitivní je podíl CK-MB na celkovém zvýšení CK nad 5%. CK-MB mass je nejvhodnějším markerem reinfarktu a je to akceptovatelný marker AIM pro laboratoře neschopné stanovit troponiny. Soupravy na stanovení CK-MB mass využívají monoklonální protilátku specifickou pro MB dimer (aktivní a neaktivní isoenzym). Soupravy kombinují vysokou senzitivitu s vysokou specifitou a krátkým časem odezvy (TAT do 15 min).

Stanovení izoform CK-MB (CK-MB1 a CK-MB 2) kombinovalo časovou citlivost myoglobinu (pozit. za 1-2 hod. po AIM) se srdeční specifitou CK-MB. Jako pozitivní diagnostické kritérium se používala hodnota indexu CK-MB2/MB1 vyšší než 1,5.



Mohou vznikat také 2 makroformy kreatinfosfokinázy: jedna vzniká vazbou enzymu na imunoglobulin G, druhá je monomerní makroforma mitochondriálního enzymu. (14). Typ1 je komplex některého izoenzymů CK s některým z imunoglobulinů a má mol. hm. 240000-350000. Obvykle jde o komplex CK-BB s IgG v poměru 1:1 nebo 1:2. Vazebné místo je na Fab fragmentu imunoglobulinové molekuly. Při elektroforéze migruje mezi CK-MM a CK-MB. Přítomnost makroformy CK typu 1 svědčí pro sklon k autoimunitě. Tato makroforma CK je zodpovědná za falešně zvýšené hodnoty CK-MB při imunoinhibičním stanovení, kdy paradoxně zjišťujeme vyšší hodnoty CK-MB aktivity než celkové CK. Makro CK 2 je mitochondriální CK, má mol.hm. asi 300000 a při elektroforéze migruje katodicky od CK-MM (21). Bývá prokazována v séru nemocných s progredujícími malignitami, zejména s metastázami do jater.

## MYOGLOBIN

Myoglobin je kyslík vázající protein příčně pruhovaného svalstva, z něhož je při poškození rychle uvolňován. Myoglobin je hemový protein o mol. hm. 17800 a je lokalizován v cytoplasmě (2,6). Pro svou malou mol.hm. je rychle vylučován z poškozené tkáně, přechází do krve, je filtrován přes glomerulární membránu a je vylučován do moče. Po AIM se prokáže zvýšená koncentrace myoglobinu v krvi velmi záhy, do 2 hod, vrcholu dosahuje asi za 6 hod, a během 12-24 hod se vrací k normálu (normální hodnoty do 70 mg/l, nebo do 70 ng/ml). Protože se myoglobin ze systému odbourává velmi rychle, jeho koncentrace může spolehlivě odhalit reinfarkt. Myoglobin je považován za nejcitlivější biochemický marker v prvních hodinách po AIM. Maximální hodnota a kumulativní hodnota myoglobinu korelují s velikostí AIM a je také použitelný jako neinvazivní indikátor koronární reperfuze.

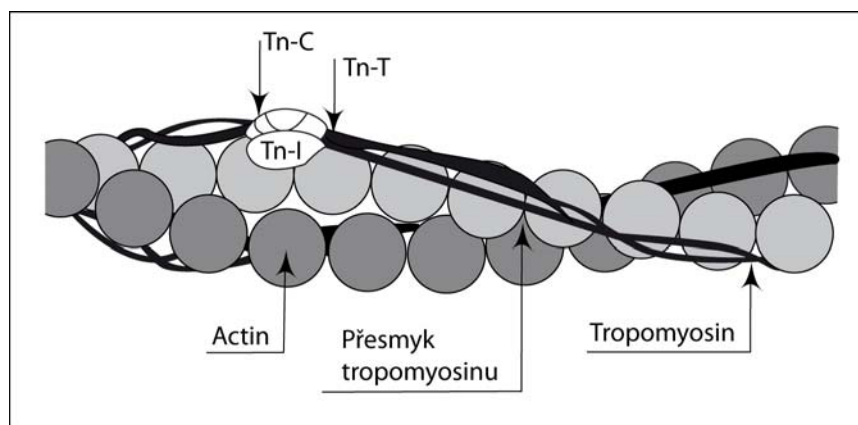
Myoglobin se podílí na aerobním metabolismu buněk kosterního svalstva a srdce a jeho vysoká koncentrace provází různá traumata svalů. Selhání ledvin a další ledvinové obtíže rovněž zvyšují množství myoglobinu. Většina z těchto komplikací se vyznačuje rozdílnými klinickými příznaky, což umožňuje spolehlivé stanovení diagnózy.

## TROPONINY

Na struktuře příčně pruhovaného svalu se podílejí dva typy filament – tlusté filamentum, které obsahuje myosin a tenké filamentum, které je složené z aktinu, tropomyosinu a

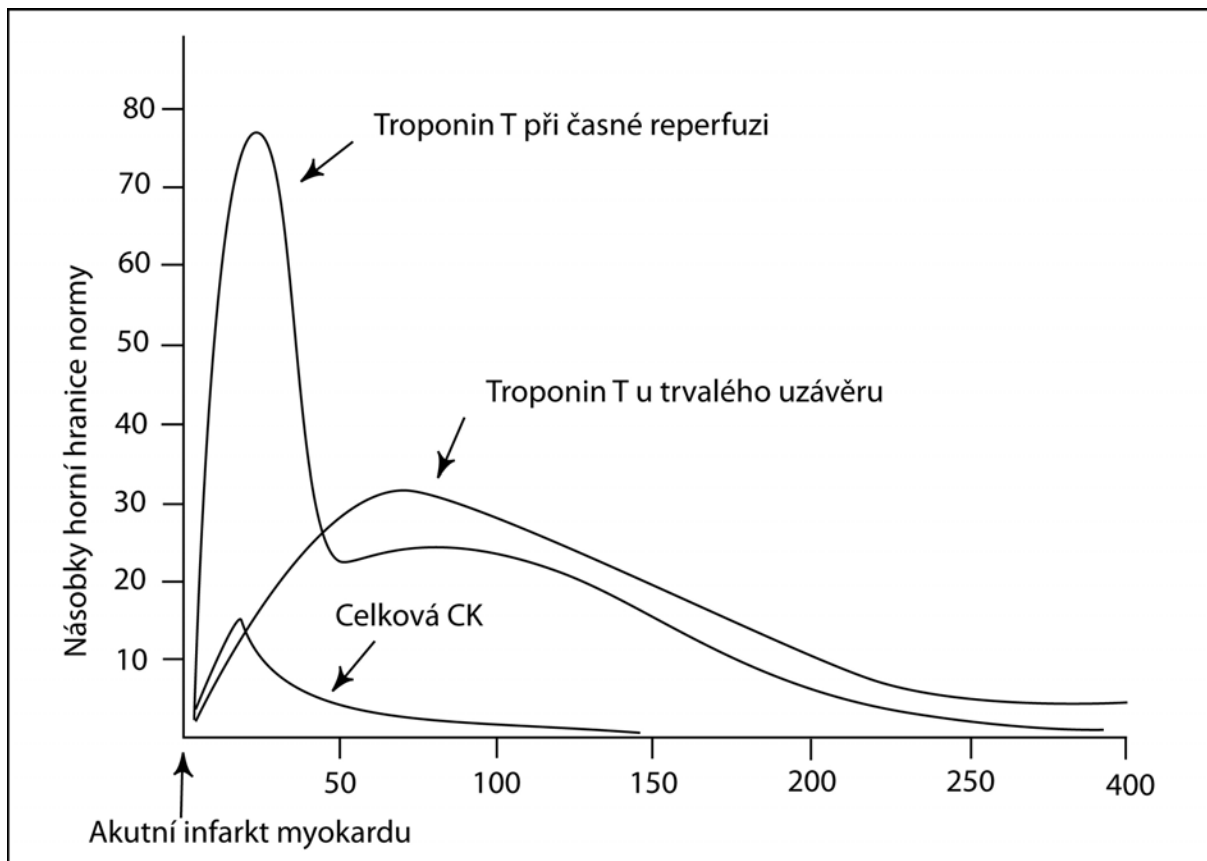
troponinu. Troponin je komplex tří bílkovin – troponinu T, troponinu I a troponinu C. Troponin T váže troponinový komplex k molekule tropomyosinu (7). Většina troponinu T je vázána, jen asi 6-8 % je v cytosolu. Troponin I se podílí svým inhibičním účinkem na aktivaci srdeční aktinomyosinové APTázy, a tak zabraňuje kontrakci svalu v nepřítomnosti vápníku a troponinu C. Troponin C je vápník vázající podjednotka (8)

**Obr.3.** Pro myokard specifické izoformy troponinu T a I lze rozlišit imunologicky.



Obr. 3 Model tenkého myofilamenta

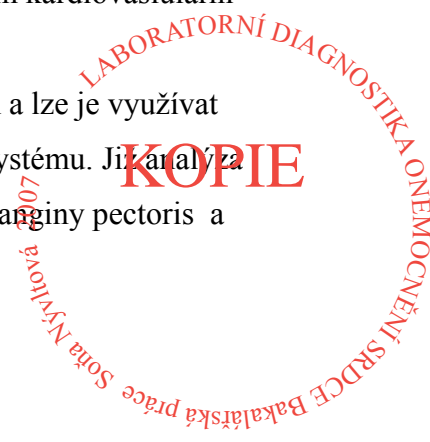
Troponiny jsou nejužívanějšími markery postižení myokardiální nekrózy. V současnosti to jsou především troponin T a I, jejichž kardiální formy se vyskytují pouze v myokardu. Stanovení obou troponinů je v klinické praxi běžně dostupné nejen pro diagnostiku, ale také pro stratifikaci rizika pacientů. Analýza souborných dat u obou troponinů udává, že k jejich vzestupu dochází 4-6 hodin po vzniku nekrózy, vrcholu dosahuje za 12-48 hodin a přetrvává až 2 týdny **Obr.4.**



Obr. 4 Kinetika změn TnT a celkové CK

Troponin T má jednoho výrobce, troponin I řadu, proto je nutné vždy udávat nejenom absolutní hladinu parametru, ale současně jeho referenční meze. Pro praxi je důležitá znalost způsobů eliminace troponinů a to buňkami retikuloendotelového systému. Ačkoli nebyl prokázán vztah mezi hladinou kreatininu a troponinů, přesto se setkáváme se zvýšením jejich hladiny u pacientů s renálním selháním. Podle dosavadních literárních sdělení je zvýšená hladina troponinů u pacientů se selháním ledvin prognosticky nepříznivým ukazatelem. Mechanismem podílejícím se na jejich zvýšené hladině a vyšší kardiovaskulární úmrtnosti těchto pacientů jsou pravděpodobně mj. recidivující mikroinfarkty či akcelerovaná apoptóza kardiomyocytů. Toto má klinické důsledky: troponiny jsou častěji zvýšeny u pacientů s renální insuficiencí a navíc zvýšení troponinů je silným prediktorem kardiovaskulární mortality u pacientů s konečným stádiem ledvinového selhání.

Stanovení hladiny obou troponinů má silný prognostický význam a lze je využívat pro stratifikaci rizika pacientů s onemocněním kardiovaskulárního systému. Již analýza prvních velkých studií prokázala, že pacienti s diagnózou nestabilní anginy pectoris a



pozitivitou troponinů mají několikanásobně vyšší mortalitu v porovnání s ostatními, u kterých hladina troponinu nebyla zvýšena. Z těchto důvodů se objevuje termín minimal myocardial injury.

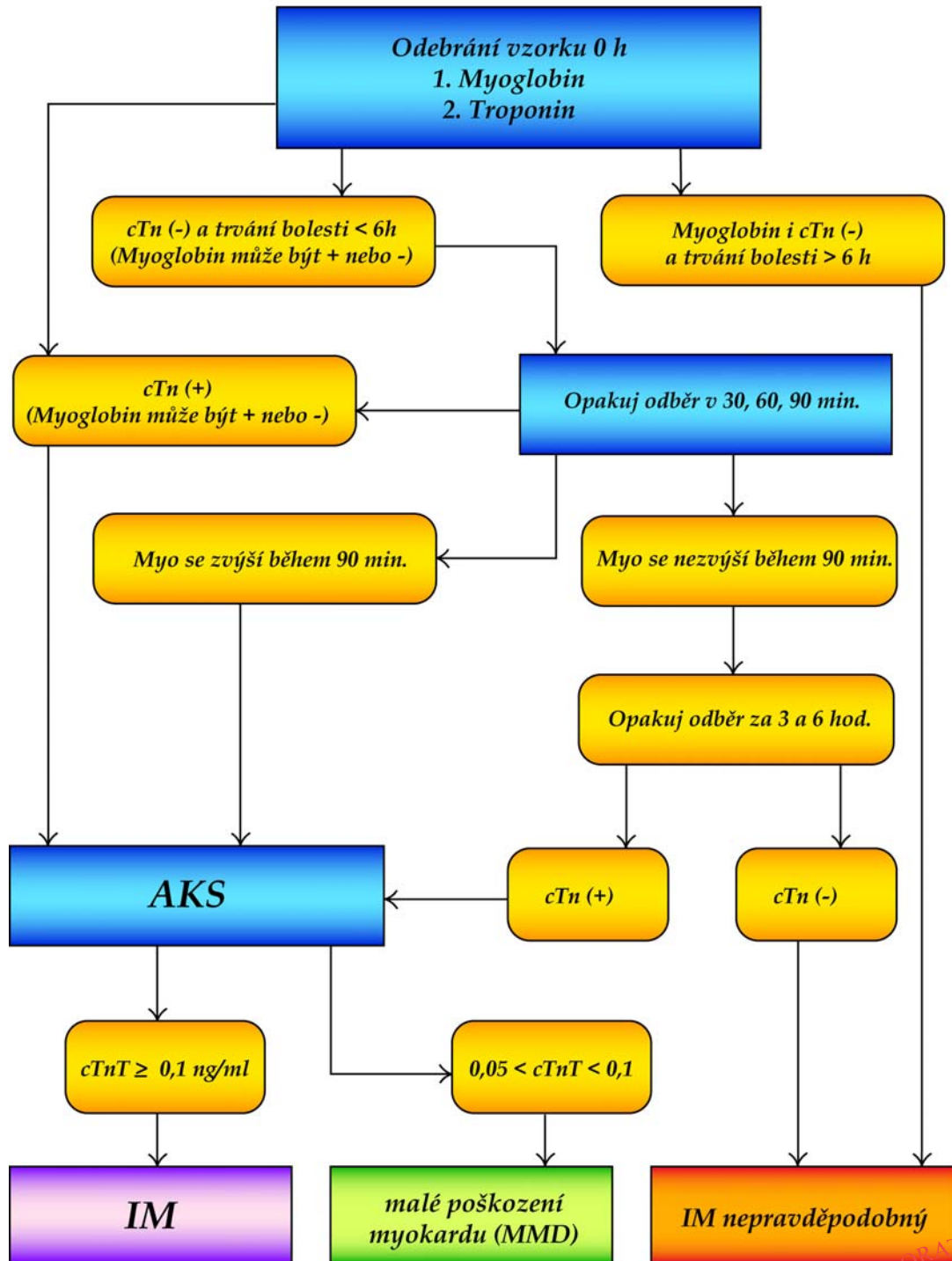
S rozvojem poznatků o změnách hladiny troponinů a histopatologickými studii bylo zjištěno, že AIM je provázen vždy nektrózou myokardu, avšak ne každou biochemicky prokázanou nektrózu myokardu lze považovat za srdeční infarkt.

Zvýšená hladina troponinů totiž provází i další stavy: revaskularizace myokardu, ale i neischemická postižení myokardu jako jsou myokarditidy, plicní embolizaci, elektrickou kardioverzi, poranění hrudi s kontuzí myokardu, rejekci štěpu při srdeční transplantaci, sepsi, hypovolemický šok, popáleniny, subarachnoidální krvácení, konečná stádia selhání ledvin, vysokodávkovou chemoterapii. I zde se ukazuje, že stanovení troponinů má velký prognostický význam.

Obr.5



*Rychlá dg. AIM za použití moderních kardiálních markerů*



LABORATORNÍ DIAGNOSTIKA ONEMOCNĚNÍ SRDCE  
 KOPIE  
 Sotia Nyktova, 2007

S prodlužováním průměrné délky života a s nástupem nových terapeutických postupů u akutních koronárních syndromů stoupá počet jedinců s různým stupněm srdečního selhávání (5). Proto je intenzivně hledán i biochemický marker tohoto onemocnění. Srdeční selhávání je provázeno aktivací řady systémů a mechanismů. Výsadní postavení mezi nimi má produkce natriuretických peptidů (NP) jako hlavního mechanismu fyziologicky antagonistujícího aktivaci systému renin-angiotenzin-aldosteron a zvýšenou aktivitu sympatického nervového systému. Lze říci, že natriuretické peptidy působí jako obrana proti přetížení organismu tekutinami a prevence hypertenzní reakce (9).

## NATRIURETICKÉ PEPTIDY

Historie objevování natriuretických peptidů sahá do poloviny 50.let minulého století, kdy Kirsch et.al. poprvé detekovali sekreční granula v myokardu morčat (9), později Henry a Pierce popsali zvýšenou diurézu při dilataci levé síně balónkem (10). V roce 1981 de Bold injektoval homogenizát svaloviny srdeční síně do krevního oběhu potkana a pozoroval zvýšení natriurézy a diurézy. Teprve v r. 1984 byla identifikována struktura atriálního natriuretického peptidu (ANP) a v roce 1988 byl v mozku prasete izolován protein s podobnými vlastnostmi a nazván mozkový natriuretický peptid (BNP). Následně v roce 1990 byl z mozku prasete izolován C natriuretický peptid (CNP). Až dosud byly izolovány další proteiny s podobnými vlastnostmi.

NP jsou syntetizovány většinou ve formě neaktivních prohormonů, které se následně štěpí na vlastní biologicky aktivní hormony a tzv. terminální fragmenty, které jsou většinou biologicky inaktivní. Zatímco aktivní formy NP se vyznačují obvykle kratším biologickým poločasem, jejich terminální fragmenty přetrvávají zpravidla v krevním oběhu delší dobu, což může být za určitých podmínek výhodné. Bylo prokázáno, že mezi hladinami aktivních peptidů a jejich fragmenty existuje těsná korelace.

Jednotlivé NP se mezi sebou liší dominantními místy své syntézy. Ač se NP syntetizují v různých tkáních organismu, určení místa jejich syntézy v různých oblastech myokardu je esenciální z pohledu patogeneze onemocnění kardiovaskulárního systému a jejich diagnostiky. Zatímco v případě BNP je dominantním místem syntézy myokard komor (méně se tvoří v myokardu síní a mozkové tkáni), u ANP převažuje syntéza v myokardu síní, méně je produkován myokardem komor či tkáněmi ledvin. Hypofýza, endotel cév a tkáň ledvin jsou místem syntézy CNP. Natriuretický peptid typu B (BNP)

je peptid tvořený 32 aminokyselinami, který je uvolňován především myokardem komor v odpovědi na zvýšené napětí jejich stěn (19).

Stimulem zvýšené produkce NP uvolňovaných do cirkulace je objemové a tlakové přetížení srdečních oddílů, které vede k výraznému zvýšení hladiny cirkulujících NP. Klíčovou oblastí pro jejich působení je oblast ledvin. Zde působí na několika úrovních. V oblasti glomerulu vedou ke zvýšení intraglomerulárního tlaku, na úrovni tubulů v oblasti proximálního tubulu inhibují angiotenzinem II stimulovaný transport sodíku a vody, v oblasti sběrného kanálku způsobují reabsorpci sodíku. NP působí i cestou ovlivnění procesů CNS, kde některé z nich zpětně inhibují sekreci vazopresinu. V oblasti mozkového kmene pak snižují tonus sympatiku.

Výsledkem jejich působení je především vazodilatace, stimulace natriurézy, diurézy, v menší míře také inhibice buněčného růstu. Mezi významné účinky patří dále přímá inhibice systému renin-angiotenzin-aldosteron.

Stavy provázené zvýšenou tvorbou natriuretických peptidů :

- městnavé srdeční selhání
- systolická a/nebo diastolická dysfunkce levé komory srdeční
- ischemická choroba srdeční, zejména její akutní formy
- cor pulmonale s plicní hypertenzí či plicní embolizací
- přetížení oběhu při jaterní cirhóze či chronickém selhání ledvin
- preeklampsie
- projevy kardiotoxicity při terapii antracykliny

Možnost stanovení hladin mozkového natriuretického peptidu proniklo z výzkumných laboratoří do klinické praxe, kde je možné jeho stanovení v mnoha směrech (11). Je to především diferenciální diagnostika dušnosti, kde normální hodnota BNP či NT-proBNT s největší pravděpodobností vylučuje diagnózu srdečního selhávání.

## NOVÉ NEBO NESTANDARDNÍ METODY

V posledních letech se intenzivně hledá marker myokardiální ischemie. Jedním z takovýchto ukazatelů, do kterého se vkládají velké naděje, je stanovení vazebné kapacity albuminu pro kobalt (albumin cobalt binding, ACB, ischemia modified albumin, IMA):

## ISCHEMIÍ MODIFIKOVANÝ ALBUMIN

Test je založen na skutečnosti, že N-terminální konec albuminu mění (snižuje) svou afinitu pro kobalt v průběhu ischemie myokardu. Detekovatelné změny ve vazbě kobaltu na albumin mohou být prokázány během několika minut po přechodné okluzi a reperfuzi koronární arterie během angioplastiky a vrací se k normálu během 6-ti hodin. Redukovaná vazebná schopnost albuminu pro kobalt byla také popsána u nemocných se spontánní koronární ischemií, s následujícím zvýšením srdečního troponinu. Přesný mechanismus produkce IMA během koronární ischemie není znám, ale lokalizace modifikace v sekvenci lidského albuminu může být v úseku N-Asp-Ala-His-Lys a je uvažováno o relaci k produkci volných radikálů během ischemie a/nebo reperfuzi, redukcí tenze kyslíku, acidóze a ke změnám v buňkách, jako je rozvrat funkce sodíkové a vápníkové pumpy.

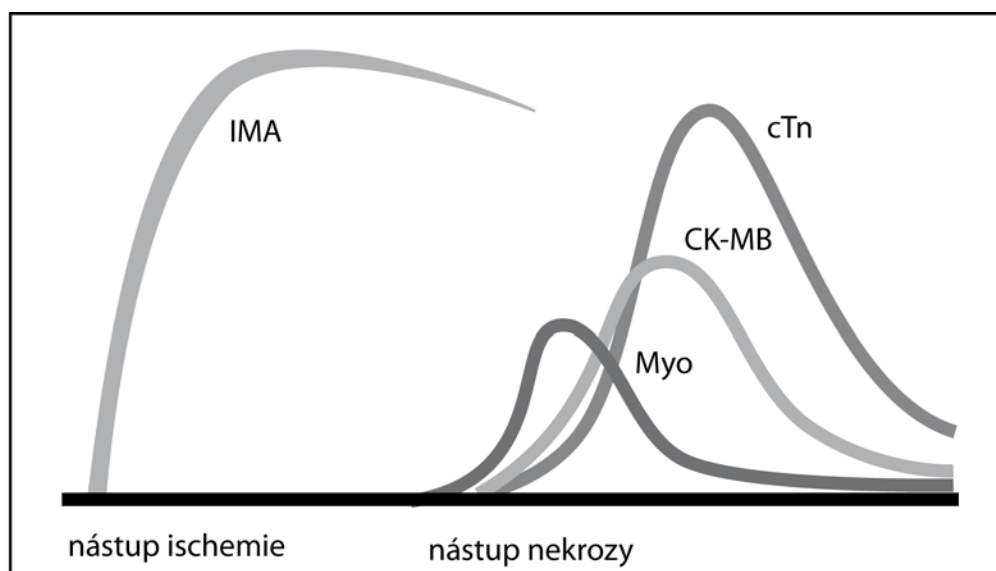
IMA vzniká při styku cirkulujícího albuminu s ischemickou tkání v srdci nebo v jiných orgánech. Během ischemie nastává v tkáni řada biochemických reakcí, které způsobují modifikaci albuminu. Albumin se modifikuje dvěma způsoby:

- měď uvolněná z proteinů se během ischemické události pevně váže na N-terminální část albuminu
- volné radikály, vzniklé při ischemii, poškodí N-terminální část albuminu odtržením 2-4 aminokyselin. Tím je způsobena neschopnost vázat přechodné kovy, jako měď, kobalt atd.

Ischemie – nedostatek kyslíku ve tkáních vede k převaze anaerobního metabolismu. Zvýšená produkce laktátu se projeví lokální acidózou. Při sníženém pH dochází k uvolnění mědi ( $\text{Cu}^{2+}$ ) z cirkulujících proteinů a intracelulárních zásob. Působením redukčních činidel jako je kyselina askorbová, se měďnaté ionty ( $\text{Cu}^{2+}$ ) redukují na měďné ( $\text{Cu}^+$ ). Měďné ionty reagují s kyslíkem  $\text{O}_2$  za vzniku volných superoxidových radikálů ( $\text{O}_2^\bullet$ ). Superoxid-dismutáza katalyzuje přeměnu volných superoxidových radikálů na peroxid vodíku.

Za normálního stavu se peroxid vodíku degraduje působením katalázy na kyslík a vodu. V přítomnosti kovů, jako je měď nebo železo vznikají z peroxidu vodíku volné hydroxylové radikály ( $\text{OH}^\bullet$ ). Volné hydroxylové radikály poškozují deoxyribonukleové kyseliny, lipidy a bílkoviny, včetně albuminu. Jejich poškozením se odštěpí 2-4 aminokyseliny z jeho N-terminální části. Toto poškození vede

k neschopnosti albuminu vázat přechodné kovy jako kobalt, nikl atd. Měď se tedy z albuminu uvolňuje a může být využita k vazbě na N-terminální část jiného albuminu. V řetězové reakci se stále opakuje proces vazby mědi na albumin a vytváření volných hydroxylových radikálů. Předpokládá se, že tato řetězová reakce je příčinou rychlého nárůstu IMA, pozorovaného v kinetických studiích Obr.6.



Obr. 6 Dynamika změn markerů myokardiálního poškození

Data o pozitivitě IMA z nekardiálních příčin jsou omezená a uvádí se jaterní onemocnění, konečná fáze selhávání ledvin, některé nádory, ischemie mozku, maratónský běh, těžké infekce atd.

Možné využití se předpokládá u nemocných s bolestí na hrudi s nespecifickými změnami EKG a negativitou ostatních markerů nekrózy myokardu. Nezanedbatelnou výhodou je jednoduchost a nízká cena stanovení.

## VOLNÉ MASTNÉ KYSELINY (FFAu)

Většina sérových volných mastných kyselin (FFAs) je vázána na albumin, pouze malé množství je nenavázaných mastných kyselin (FFAu) a je přítomno v solubilní formě (12). Mechanismus zvýšení koncentrace FFAu po ischemii není jasný, předpokládá se, že se na něm podílí zvýšení katecholaminů v krvi, ischemií aktivovaná lipolýza tukové tkáně, hydrolyza lipidů v myokardu, metabolické změny v myokardu a změny energetického substrátu v myokardu.

Zvýšení hladiny FFAu je časným ukazatelem ischemie myokardu (za 30 minut 14x vyšší hladina), avšak zvýšení hladiny bylo pozorováno i u sepse, po kontuzi hrudi nebo po požití kokainu.

Předběžné studie svědčí pro to, že FFAu umožňuje časnou detekci srdeční ischemie, ale jsou zapotřebí další studie u nemocných AKS.

## CHOLIN

Cholin a fosfatidová kyselina jsou hlavním produktem štěpení fosfolipidové membrány účinkem fosfolipázy D. Aktivace fosfolipázy D je považována za jeden z klíčových faktorů destabilizace koronárního plátu. Předpokládá se, že roli zde mohou hrát stimulace makrofágů, oxidovaný LDL, změny aktivity matrix-metaloproteináz, aktivace destiček kolagenem či trombinem, podpora vazby fibrinogenu na receptor IIb/IIIa glykoproteinu.

Prozatím je stanovení cholinu laboratorně značně obtížné (např. HPLC- hmotová spektrometrie) a je nutný vývoj setu použitelného v podmínkách POCT i centrální laboratoři. Dosavadní studie ukázaly, že stanovení cholinu u nemocných se stenokardiemi významně koreluje s výskytem náhlé smrti.

## SOLUBILNÍ CD40 LIGAND ( sCD40L)

CD40 je transmembránový protein, který se vyskytuje v aktivovaných trombocytech, buňkách hladkého svalstva, makrofázích atd. Zvýšení koncentrace sCD40L bylo zjištěno u zánětlivých onemocnění (autoimunní choroby, sclerosis multiplex aj.) jako i u hypercholesterolémií a diabetu (12). Zvýšené hodnoty sCD40L byly zjištěny u akutních koronárních syndromů. Solubilní ligand je uvolňován do cirkulace, je detekován v séru i v plazmě.

Komplex CD40/sCD40L-CD40 receptor moduluje imunitní procesy, degradaci matrix a podporuje tvorbu trombů v průběhu AKS.

Stanovení koncentrace sCD40L může pomoci odhalit pacienty se zvýšeným rizikem trombózy a může být užitečným indikátorem nestability aterosklerotického plátu u AKS ve spojení s markery srdeční ischemie.



## GLYKOGENFOSFORYLÁZA BB (GPBB)

Glykogenfosforyláza je glykolytický enzym, který hraje základní roli v regulaci metabolismu cukrů. Katalyzuje první krok glykogenolýzy. GPBB je vázána s glykogenem v makromolekulární komplex, který je strukturálně vázán na sarkoplazmatické retikulum. V průběhu ischemie (tkáňové hypoxie) je glykogen odštěpen a GPBB konvertuje na volnou, rozpustnou (cytoplazmatickou) formu, která může po vzestupu permeability buněčné membrány přejít do cirkulace.

V lidských tkáních jsou přítomny 3 izoenzymy glykogenfosforylázy (GP): GPLL (jaterní), GPMM (svalový) a GPBB (mozek, myokard). GPBB není výlučně obsažen v mozku a v myokardu, ale v malém množství také v leukocytech, slezině, ledvinách, močovém měchýři, testes, v zažívacím traktu a v aortě.

Klinické studie prokazují, že GPBB je velmi citlivý marker myokardiální nekrózy a ischemie se vzestupem hodnot po AIM za 2-4 hod po začátku bolesti, vrcholu dosahuje za 6-20 hod a k normě se navrácí za 1-2 dny. Předběžná klinická pozorování jsou nadějná, ale doposud chybí kvalitní komerční soupravy.

## PREGNANCY- ASSOCIATED PLASMA PROTEIN A (PAPP-A)

Pregnancy-associated plasma protein A je glykoprotein (200kDa) syntetizovaný syncytiotrofoblastem v průběhu těhotenství a je používán pro screening Downova syndromu. V těhotenství cirkuluje jako heterotetramerický komplex složený ze dvou PAPP-A podjednotek (12,18).

PAPP-A je přítomen i v lidských fibroblastech a při ruptuře nestabilního aterosklerotického plátu je uvolňován do cirkulace z fibroblastů.

Korelace mezi PAPP-A a troponinem I a CKMB mass je špatná, což ukazuje, že zvýšení PAPP-A neindikuje nekrózu myokardu. Současná pozorování ukázala, že zvýšený PAPP-A je nezávislým prediktorem výskytu ischemie myokardu a může pomoci při indikaci koronárních intervencí.

## PLACENTÁRNÍ RŮSTOVÝ FAKTOR (PIGF)

Placentární růstový faktor patří do rodiny proteinů odvozených od destiček s funkcí chemoatraktantu pro monocyty. PIGF se ukazuje jako biomarker ruptury aterosklerotického plátu, ischemie a trombózy. PIGF má totiž významnou roli v regulaci růstu a funkce cévního endotelu.

Podle zatím nečetných sdělení se plazmatický PIGF ukazuje jako nezávislý ukazatel nepříznivého vývoje u nemocných s AKS. Stanovení sety založenými na metodě ELISA trvá asi 4,5 hodin.

## BIOCHEMICKÉ METODY DOPLŇUJÍCÍ DIAGNOSTIKU KORONÁRNÍ PŘÍHODY

### CRP

C-reaktivní protein (CRP) je marker, který slouží k detekci přítomnosti zánětu (16,17). C-Reaktivní protein je pentamerický reaktant akutní fáze syntetizovaný v játrech a poprvé byl popsán Tillem a Francisem v roce 1930 (13). Jeho produkce je primárně kontrolována interleukinem-6. Při infekcích, traumatech, operacích a jiných situacích s akutním zánětem se může koncentrace CRP zvýšit až 1000x. Chronické zánětlivé choroby včetně autoimunitních nemocí a malignit mohou být příčinou trvale zvýšené hladiny CRP.

K těmto účelům je také stanovení CRP již dlouhodobě používáno.

Chronický zánět je důležitou složkou při vývoji a rozvoji arteriosklerózy. Řada epidemiologických studií již ukázala, že zvýšené sérové hladiny CRP jsou pozitivně spojeny s budoucím rizikem koronárních příhod. Současné znalosti vedou k předpokladu, že koncentrace CRP by mohly odrážet zranitelnost arteriosklerotické léze a pravděpodobnost ruptury arteriosklerotického plátu.

Zdá se, že několik rizikových faktorů může ovlivnit jak protizánětlivou reakci, tak i hladiny CRP:

- například obezita je přímo spojená s vyššími koncentracemi CRP
- kouření cigaret rovněž prokazatelně zvyšuje koncentrace některých ukazatelů zánětu
- zvýšené hodnoty CRP byly popsány také u diabetických pacientů

**KOPIE**





Ukázalo se, že z preventivních důvodů je vhodné sledovat nízké koncentrace CRP metodami vysoce citlivého stanovení (hsCRP) (22). CRP totiž sám podporuje zánět a protrombotickou odpověď u aterosklerotického procesu. V rámci primární prevence jsou hodnoty pod 1 mg/l spjaty s nízkým rizikem, do 3 mg/l se středním a nad 3 mg/l s vysokým rizikem rozvoje aterosklerózy. U pacientů s existujícím akutním koronárním syndromem má stanovení hsCRP prognostický význam.

## TESTY PROVÁDĚNÉ V OBLASTNÍ NEMOCNICI NÁCHOD

Pracuji jako zdravotní laborantka v Oblastní nemocnici Náchod – Oddělení laboratorní medicíny, pracoviště klinické biochemie a diagnostiky.

Na našem pracovišti provádíme tyto metody k diagnostice srdečních chorob:

- CK-MB mass
- Myoglobin
- Troponin I
- NT-proBNP

CK-MB, myoglobin a troponin I stanovujeme na analyzátoru IMMULITE 2500 firmy DPC Czech (od 1.1.2007 Siemens Medical Solutions Diagnostics s. r. o.), NT-proBNP na analyzátoru Elecsys 2010 firmy Roche.

### Elecsys 2010

Analyzátor měří na principu elektrochemiluminiscence (ECL) využívající značení rutheniovým chelátem, který je zodpovědný za světelnou emisi. Stěžejním činidlem-iniciátorem celé ECL reakce je tripropylamin (TPA) - ProCell, který funguje jako přenašeč elektronu na rutheniový chelát (po vložení napětí na pracovní elektrodu a oxidaci TPA a rutheniového chelátu). Přenosem elektronu na rutheniový chelát dojde k jeho redukci na nestabilní excitovanou formu a při návratu do stabilního stavu dojde k vyzáření fotonu, který se měří fotonásobičem. Pomocí analog-digitálního konvertoru dostaneme tzv. „county“, které jsou kvantifikací vyzářených fotonů. Počet „countů“ je pak úměrný koncentraci analytu ve vzorku. Hlavním přínosem celé technologie je neustálé opakování oxidoredukčních dějů na pracovní elektrodě až do spotřebování TPA - ProCell, což snižuje mez detekce a zvětšuje měřicí rozsah.

**KOPIE**



## IMMULITE 2500

Stanovení na analyzátoru IMMULITE 2500:

CK-MB - enzymatická chemiluminiscenční imunochemická reakce založená na ligandem značené monoklonální protilátce proti CK-MB a separaci pomocí pevné fáze potažené antiligandem. Množství navázaného komplexu CK-MB – a tedy i intenzita záření měřená luminometrem – je přímo úměrná koncentraci CK-MB ve vzorku.

Stanovení Myoglobinu na analyzátoru IMMULITE 2500 je oboustranné chemiluminiscenční imunometrické stanovení na pevné fázi.

Principem stanovení Troponinu I je oboustranná chemiluminiscenční imunochemická reakce v pevné fázi. Navázaný komplex – a tedy i intenzita záření měřená luminometrem – je přímo úměrný koncentraci troponinu I ve vzorku.

### Statistika metod za první čtvrtletí roku 2007:

	leden	únor	březen
CK-MB	388	357	407
Myoglobin	45	44	69
Troponin I	312	271	326
NT-proBNP	14	19	16

## 5 ZÁVĚR

Kardiovaskulární onemocnění patří k závažným onemocněním, doprovázeným vysokou morbiditou a mortalitou. Přes značný pokrok a rozvoj nových diagnostických postupů v biochemii je patrné, že zdaleka ještě není důvod k úplné spokojenosti s citlivostí a specifitou kardiálních markerů. Stále pokračuje hledání časnějších, specifitějších a senzitivnějších markerů, dále spolehlivějších prediktivních a prognostických faktorů.

V dnešní době existuje celá řada účinných terapeutických opatření, které závisí na včasném zahájení. Zásadní význam má rychlé potvrzení diagnózy. Časná diagnóza srdečního selhávání může zpomalit a oddálit vývoj remodelace srdce se všemi jeho negativními důsledky.

Dosud není vytvořen jednotný návod biochemické diagnostiky a vyšetřovací postupy se mezi nemocničními zařízeními liší. V poslední době se přikloňuje ke stanovení kombinace více markerů:

Jako nejčasnějšího markeru kardiálního poškození se používá myoglobin, který je ale nespecifický (pozitivita do 2 hod.). Negativní prediktivní hodnota po AIM je 75% při přijetí, za 2-6 hod. po přijetí 100%. Pokud není nemocný přijat na intenzivní oddělení v prvních hodinách po příhodě, není třeba vyšetřovat tento marker.

Troponiny se používají jako definitivní markery pro rutinní diagnostiku AIM. Jsou to markery vysoce kardiospecifické a senzitivní, zůstávají zvýšené až 14 dní, což je nejdéle ze všech kardiomarkerů. Pro srdeční troponiny jsou vymezeny dvě cutt-off, nižší hodnota pro průkaz malého poškození myokardu (cTnT 0,03-0,1 ng/ml) a vyšší hodnota pro diagnostiku AIM (cTnT nad 0,1 ng/ml). Troponin T má jednoho výrobce, zatímco vyšetření troponinu I není zatím standardizováno.

TAT by měl být do 1 hodiny. Pokud TAT nelze dodržet, mělo by být zřízeno POCT přímo na klinickém pracovišti.

Jako nepřímý kardiovaskulární rizikový faktor je možné použít CRP. Zvýšená koncentrace CRP může indikovat přítomnost zánětu v koronárních tepnách a zvyšuje riziko koronární příhody. Stanovení CRP je třeba vyhodnocovat mimo období infekcí.

K diferenciální diagnostice dušnosti je možno použít stanovení BNP či NT-pro BNP, kde normální hodnota s největší pravděpodobností vylučuje diagnózu srdečního selhávání.

V poslední době se hledá marker myokardiální ischemie. Je několik metod, do kterých se vkládají velké naděje (IMA, FFAu, Cholin, sCD40L, GPBB, PAPP-A a PIGF), ale dosud chybí kvalitní komerční soupravy použitelné v podmínkách POCT a v centrální laboratoři.

V Oblastní nemocnici v Náchodě používají tyto metody k diagnostice srdečních chorob – CK-MB, Myoglobin, Troponin I a NT-proBNP. Záleží na zkušenosti a praxi ordinujícího lékaře, ke kterému z předchozích markerů se přikloní.

Domnívám se, že u pacientů je třeba individuálně posuzovat význam jednotlivých vyšetření a s maximální zodpovědností je interpretovat. K tomu je nezbytná úzká spolupráce a častá komunikace biochemiků, kliniků a dalších odborností, jejichž informace a poznatky jsou velmi cenné při komplexním posuzování problematiky srdečních chorob.



## 6 SOUHRN

Biomarkery srdečního poškození jsou v posledních letech velmi dynamicky se rozvíjející částí klinické biochemie. Práce přináší přehled kardiálních markerů. Zmiňuje se o historických markerech, které v dnešní době mají malý význam nebo jsou bezvýznamné. Dále přináší přehled současných markerů srdečních chorob, které byly zavedeny do rutinní praxe (jako časný marker je to především myoglobin, definitivní markery jsou to troponiny; u pracovišť, které nemají možnost vyšetřovat troponiny je možno nahradit vyšetřením CKMB) a hodnotí význam dalších, které doplňují diagnostiku srdečních chorob. Na závěr se práce zmiňuje o nových metodách, které jsou předmětem výzkumu a u kterých scházejí komerční soupravy, které by splňovaly TAT 60 minut.



## 7 SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK

ACB - Albumin cobalt binding

AIM – Akutní infarkt myokardu

AKS - Akutní koronární syndrom

Ala – Alanin

ANP - Atriální natriuretický peptid

AP - Angina pectoris

Asp - Aspartát

AST – Aspartátaminotransferáza

BNP - Mozkový natriuretický peptid, B-typ

CNP - Mozkový natriuretický peptid, C-typ

CNS – Centrální nervový systém

CK – Kreatinfosfokináza

CK-BB – BB izoenzym kreatinfosfokinázy

CK-MB –MB izoenzym kreatinfosfokinázy

CK-MB mass – Hmotnost enzymu CK-MB

CK-MM – MM izoenzym kreatinfosfokinázy

CRP - C-reaktivní protein

ECL - Elektrochemiluminiscence

ELISA – Enzyme-linked immunosorbent assay

EKG – Elektrokardiogram

FFAs - Volné mastné kyseliny

FFAu – Nenavázané mastné kyseliny

GPBB - Glykogenfosforyláza BB

His – Histidin

HPLC - Hmotová spektrometrie  
IM - Infarkt myokardu  
IMA - Ischemií modifikovaný albumin  
ICHS - Ischemické choroby srdeční  
LD – Laktátdehydrogenáza  
Lys – Lysin  
NP - Natriuretické peptidy  
NT-proBNP – Terminální fragmenty BNP  
PAPP-A - Pregnancy- associated plasma protein A  
PIGF - Placentární růstový faktor  
POCT - Point of care testing  
sCD40L - Solubilní CD40 ligand  
TAT - Turn around time  
TPA - Tripropylamin

## 8 POUŽITÁ LITERATURA

1. Aschermann, M.: Zdravé srdce 2006. Praktický lékař , 2006, roč. 86, č. 9, s. 541-542.
2. Tichý, M.: Biochemická diagnostika akutního infarktu myokardu. Lék. Zpr. LFUK Hradec Králové, 1998, roč. 43, č. 1-2, s. 1-9.
3. Racek, J a kol.: Klinická biochemie, Galen 1999, s. 173-174.
4. Horalík, D., Stejskal, D.: Biochemická diagnostika akutní koronární příhody. Vnitř. Lék., 1998, roč. 44, č.3, s. 170-175.
5. Tichý, M., Friedecký, B., Palička, V., Horáček, J., Jebavý, L., Pudil, R.: Biomarkery akutních koronárních syndromů a srdeční nedostatečnosti. Vojenské zdravotnické listy, 2004, roč. 73, č.4, s. 124-129.
6. Gornale, D.A., Roth, S.N.L.: Serial myoglobin quantitation in the early assessment of myocardial damage: a clinical study. Clin. Biochem., 1996, roč. 29, č.4, s.379-384.
7. Engliš, M.: Srdeční troponiny v diagnostice poškození myokardu. Labor Aktuell Czech, 1997, č. 4, s. 13-16.
8. del Rey, J.M., Madrid, A.H., Valiño, J.M. et al.: Cardiac troponin I and minor cardiac damage: biochemical markers in a clinical model of myocardial lesions. Clin. Chem., 1998, roč. 44, s. 2270-2276
9. Kirsch, B.: Electronmicroscopy of the atrium of the heart. Exp. Med. Surg., 1956, s. 99-112.
10. Henry, J.P., Gauner, O.H., Reeves, J.L.: Evidence of the atrial location of receptors influencing urine flow. Circ. Res., 1956, s. 85-90.
11. Pudil, R., Tichý, M., Gregor, J.: Současný pohled na stanovení mozkového natriuretického peptidu v klinické praxi. Čas. Lék. čes., 2005, roč.144, č.3, s. 158-161.
12. Apple, F.S., Wu, A.H.B., Mair, J. et al: Future biomarkers for detection of ischemia and risk stratification in acute coronary syndrom. Clin. Chem., 2005, roč.51, č.5, s. 810-824.
13. Šprongl, L., Radina, M.: Vysoce citlivé stanovení CRP- teorie a možnosti. Labor Aktell, 2003, č.1, s. 5-7.
14. Schneiderka, P.: Laboratorní markery srdečních chorob. Klin. Biochem. Metab., 2006, roč. 14(35), č.3, s. 161-167.
15. Rosalki, S.B., Roberts, R., Katus, H.A., Giannitsis, E., Ladenson, J.H., Apple, F.S.: Cardiac biomarkers for detection of myocardial infarction: Perspectives from past to present. Clin. Chem., 2004, roč.50, s. 2205-2213.



16. Adams, J.: Markers to define ischemia : Are they ready for prime time use in patients with acute coronary syndromes? *Current Cardiology Reports*, 2004, roč. 6, s. 253-258.
17. Libby, P., Ridker, P.M., Maseri, A.: Inflammation and atherosclerosis. *Circulation*, 2002, roč.105, s. 1135-1143.
18. Oxvig, C., Sand, O., Kristensen, T., Gleich, G.J., et al.: Circulating human pregnancy associated plasma protein-A is disulfide-bridged to the proform of eosinophil major basic protein. *J. Biol. Chem.*, 1993, roč. 268, s. 12243-12246.
19. Morrow, D.A., Braunwald, E.: future of biomarkers in acute coronary syndromes. Moving toward a multimarker strategy. *Circulation*, 2003, roč.108,s. 250-252.
20. de Lemos, J.A., Morrow, D.A.: Brain natriuretic peptide measurement in acute coronary syndromes, ready for clinical application? *Circulation*, 2000, roč 106, s. 2868-2870.
21. Lee, K.N., Csako, G., Bernhardt, P., Elin, R.J.: Relevance of macro creatine kinase type 1 and type 2 isoenzymes to laboratory and clinical data. *Clin. Chem.*, 1994, roč.40, č. 7, s. 1278-1283.
22. Rocker, P.M.: Clinical application of C-reactive protein for cardiovascular disease detection and prevention. *Circulation*, 2003, roč.107, s. 363-369.
23. Tichý, M.: Kreatinkináza – enzym mnoha forem. *Vojenské zdravotnické listy*, 1993, roč. 62, č.6. str. 193-196.