

Minulost, současnost a budoucnost kardiomarkerů v diagnostice srdečních chorob

Pozn. Připraveno na začátek práce

„Prohlašuji, že tato práce je mým původním autorským dílem, které jsem vypracoval(a) samostatně. Veškerá literatura a další zdroje, z nichž jsem při zpracování čerpal(a), jsou uvedeny v seznamu použité literatury a v práci řádně citovány.“

1. Úvod

V současné době jsou v České republice kardiovaskulární choroby nejčastější příčinou více než poloviny všech úmrtí. Počátek tohoto „epidemického“ výskytu kardiovaskulárních onemocnění, a především ischemické choroby srdeční se datuje do druhé poloviny dvacátého století. Před 100 lety byly u nás kardiovaskulární nemoci příčinou smrti asi u 10 % obyvatel. Úmrtnost na onemocnění srdce a cév narůstala postupně až do osmdesátých let, od roku 1991 pozorujeme postupný a trvalý pokles. Pokles mortality je důsledkem primární prevence i výsledkem léčby. (Aschermann, Kardiologie, Galén 2004, s.596-597)¹

Diagnostika většiny onemocnění v kardiologii vychází z anamnestických údajů, somatického vyšetření, laboratorních vyšetření a z výsledků dalších neinvazivních a invazivních vyšetřovacích metod. V posledních několika desetiletích hrají důležitou úlohu laboratorní metody, které přinášejí důležité poznatky v diagnostice těchto chorob, v jejich prognostické stratifikaci a v určení časně a dlouhodobé prognózy.¹

¹ Aschermann a kol., Kardiologie, Galén 2004, s.596-597

Minulost, současnost a budoucnost kardiomarkerů v diagnostice srdečních chorob

2. Cíl práce

Cílem této bakalářské práce je podat celkový přehled o využití biochemických markerů v diagnostice srdečních chorob.

V bakalářské práci jsme se pokusili stručně popsat jednotlivé typy ischemické choroby srdeční, obecné zásady přechodu intracelulárních proteinů z myokardu do krevního oběhu, požadavky, které by měl ideální marker splňovat a přehled všech kardiomarkerů užívaných v minulosti, současnosti a budoucnosti, včetně popisu jejich funkce v organismu, metod jejich stanovení a významu pro diagnostiku srdečních chorob.

3. Ischemická choroba srdeční

3.1 Definice ischemické choroby srdeční

Ischémií myokardu nazýváme stav, kdy není zajištěn dostatečný přívod kyslíku do tkáně a nejsou dostatečně odplavovány metabolity v důsledku omezení perfúze. Požadavky na přívod kyslíku závisí na tom, zda organismus koná nějakou práci a má zvýšené metabolické nároky, nebo je v klidu. Ischémie vzniká při nerovnováze mezi kyslíkovou nabídkou a poptávkou a je příčinou změny z oxidačního/aerobního metabolismu na anaerobní. Průvodními jevy ischémie jsou změny mechanické a elektrické srdeční aktivity a ischémiická bolest. Ischémie v užším smyslu slova je stav *reverzibilní*. Trvá-li však ischémie příliš dlouho, dochází k nevratnému poškození buněk. Po obnovení průtoku se neobnovuje oxidační fosforylace a buňky umírají- tento stav se nazývá ischemická nekróza (Aschermann, 2004)

3.2 Definice infarktu myokardu

Infarkt myokardu- podle patofyziologické definice je jako infarkt myokardu označována akutní ložisková ischemická nekróza srdečního svalu vzniklá na podkladě náhlého uzávěru či progresivního extrémního zúžení věnčité tepny zásobující příslušnou oblast. Ve více než 95 % je příčinou koronární ateroskleróza s rupturou intimy a trombózou v místě plátu. V ojedinělých případech může mít infarkt myokardu i jiný původ (spazmy, arteriitidy, embolie do věnčitých tepen aj.). Lze jej definovat na základě řady klinických, elektrokardiografických, biochemických nebo patologických ukazatelů (Zima a kol., 2004)

Minulost, současnost a budoucnost kardiomarkerů v diagnostice srdečních chorob

3.3 Definice anginy pectoris

Rozlišujeme dva typy anginy pectoris:

- nemocné s chronickou stabilní námahovou AP
- nemocné s nestabilní AP

3.3.1 Stabilní AP

Angina pectoris (AP) - jde o chronickou formu ICHS se stenokardiemi, svíravou či pálivou bolestí na hrudi, která někdy vyzařuje do levé ruky, do krku, dolní čelisti, do břicha, mezi lopatky nebo i do zátylku. či jen tlakem bez bolesti nebo pocitem nedostatku dechu. Projevy trvají několik málo minut a dobře zareagují na podání nitroglycerinu nebo nitrátů. Při delším trvání nebo pokud po nitroglycerinu nedojde k úlevě, je vždy na místě přivolat lékaře a přesvědčit se, zda nejde o infarkt myokardu. (odkaz na <http://hoowoo.euweb.cz/ichs.htm>)²

3.3.2 Nestabilní AP

Nestabilní angina pectoris (NAP) - na rozdíl od stabilní (chronické) anginy pectoris, která je charakterizována jako typická bolest na hrudi vyvolaná často fyzickou námahou či psychickým stresem, je NAP epizodou ischemických bolestí trvajících několik hodin, dnů až týdnů s charakteristickým náhlým vznikem či náhlou změnou dosavadních záchvatů chronické anginy pectoris. Většinou je známkou pokročilejší formy ischemické srdeční nemoci. Současně je třeba vyloučit i jiné možné příčiny mimosrdeční, které by mohly původně stabilní stav zhoršit, jako je např. hypertenze či hypotenze, dysfunkce štítné žlázy, srdeční selhání či jiné postižení. (2)

² odkaz na <http://hoowoo.euweb.cz/ichs.htm>, google.cz., 7.4.2008

Minulost, současnost a budoucnost kardiomarkerů v diagnostice srdečních chorob

4. Laboratorní diagnostika v kardiologii

Infarkt myokardu je diagnostikován podle přítomnosti nejméně dvou z triády typických příznaků:

- ❖ více než půl hodiny trvající bolest na hrudi;
- ❖ změny na elektrokardiogramu (Q vlna a elevace ST úseku);
- ❖ laboratorní známky

Význam laboratorní diagnostiky vynikne zejména při nepřítomnosti jedné z ostatních dvou známek. Typická bolest na hrudi může chybět (němá ischemie myokardu) zejména u starých lidí či u diabetiků s polyneuropatií. Změny na elektrokardiogramu mohou být způsobeny infarktem staršího data či překryty při arytmiích, blocích Tawarových ramének a u pacientů s trvalým kardiostimulátorem.

Laboratorní vyšetření pomáhají stanovit:

- diagnózu akutního myokardu;
- diferenciatně diagnosticky odlišit akutní infarkt myokardu od jiných forem ischemické choroby srdeční nebo od jiné příčiny bolesti na hrudi nebo bříše (akutní pankreatitida, perforace žaludku aj.);
- komplikace akutního infarktu myokardu včetně opakovaného infarktu (reinfarktu);
- velikost infarktového ložiska, a tedy i prognózu pacientů s akutním infarktem myokardu;
- proběhlou rekanalizací věnčité cévy s reperfúzí ischemického ložiska.

(Racek a spol., 2006, s.185-186)

5. Obecné zásady přechodu intracelulárních proteinů z myokardu do krevního oběhu

V krevním séru (plazmě) prokazujeme *intracelulární proteiny*, které se uvolňují z ischemického ložiska v myokardu. Trvá-li ischemie jen několik hodin, nacházejí se

Minulost, současnost a budoucnost kardiomarkerů v diagnostice srdečních chorob

v krevním oběhu proteiny obsažené v cytoplazmě svalových buněk. Při dlouhotrvající ischemii dochází k nekróze buněk a v séru můžeme prokázat i proteiny, tvořící strukturu fibrilárního kontraktálního komplexu.

Rychlost vyplavení a doba přetrvávání zvýšené hladiny v séru závisí na prokrvení ischemického ložiska-reperfúzi.

Rychlost poklesu je závislá též na biologickém poločasu proteinů, který je dán rychlostí metabolismu, velikostí molekuly- eliminace ledvinami.

Průběh koncentrace v krvi závisí i na výši hladiny- čím vyšší, tím déle trvá pokles pod horní referenční mez.(Racek a spol., 2006)

6. Specifické a nespecifické biochemické markery srdečních chorob

Hned na úvod je třeba říct, že ani jeden z doposud objevených biochemických markerů akutního ischemického poškození srdečního svalu nesplňuje všechny kritéria ideálního markeru. Ten by měl splňovat následující požadavky :

1. musí být výborně rozpustný ve vodním prostředí a mít relativně nízkou molekulovou hmotnost, která umožní jeho rychlý přechod

Minulost, současnost a budoucnost kardiomarkerů v diagnostice srdečních chorob

z kardiomyocytu a zabezpečuje tak brzké a výrazné zvýšení jeho koncentrace v krvi ,

2. musí se v kardiomyocytu nacházet ve vysoké koncentraci. Bez výraznější přítomnosti v jiných tkáních,
3. pro včasnou diagnostiku se upřednostňuje jeho lokalizace v cytosolu buňky, naopak jeho přítomnost v jiných kompartmentech buňky má význam při odhadu závažnosti poškození buňky,
4. má být specifický pro ireverzibilní poškození buněk myokardu, proto stanovení molekul nalézajících se v cytosolu buněk jako sledování strukturních bílkovin , které se z buněk uvolňují sice časově později , ale až po jejich výrazném (ireverzibilním) poškození,
5. množství markeru uvolněného z buněk by mělo být přímo úměrné rozsahu ischemického poškození myokardu,
6. stanovení ideálního markeru by mělo být jednoduché, rychlé a pokud možno finančně přijatelné. Ideálem je diagnostika pomocí tzv. „ bedside " testů při zachování vysoké senzitivity a specificity analýzy (Pecháň, 1996, Horalík, 1998)15,16

Z dříve známých markerů běžně používaných v klinické biochemii měla většina daleko k ideálu. Vyhovovaly jen v některých z uvedených kritérií. Nevýhodou většiny z nich byla jejich malá specificita, naopak u markerů s relativně velkou specificitou brání jejich širšímu využití nedostupnost finanční a přístrojová, případně malá citlivost komerčně dodávaných diagnostických souprav, U některých je problémem neúměrně dlouhý čas potřebný na získání relevantní informace.(15)

Minulost, současnost a budoucnost kardiomarkerů v diagnostice srdečních chorob

7. Přehled markerů užívaných v klinické biochemii v diagnostice srdečních chorob

7.1 Historické markery nepoužívané v diagnostice srdečních chorob

1. aspartátaminotransferáza – AST
2. kreatinkináza- CK a její izoenzymy CK-MM, CK-MB a CK-BB
3. laktátdehydrogenáza – LD a její izoenzymy LD₁- LD₅
4. myoglobin

7.2 Současné markery užívané k diagnostice srdečních chorob

7.2.1 markery nekrózy myokardu:

1. troponin T-c TnT
2. troponin I –c TnI

7.2.2 markery poškození funkce myokardu:

1. .natriuretický peptid- pro BNP nebo NT pro BNP

7.2.3 markery ischemie myokardu

1. glykogenfosforyláza – izoenzym BB- GPBB
2. vysoce citlivé (high senzitivity) C- reaktivní protein- hs CRP
3. kreatinkináza CK-MB mass
4. srdeční protein vázající mastné kyseliny (heart fatty acid binding protein)-HFABD

7.3. *Budoucí markery, které mohou přispět k diagnostice srdečních chorob*

- 1. Ischémií modifikovaný albumin (albumin cobalt binding test-IMA)**
- 2. volné mastné kyseliny- FFAs**
- 3. cholin**
- 4. pregnancy-associated plasma protein A- PAPP-A)**
- 5. myozin- a)myosin light chain-MLC
b)myozin hight chain-MHC**
- 6. endotelin (Pudil, 2007)28**

Minulost, současnost a budoucnost kardiomarkerů v diagnostice srdečních chorob

8. Historie stanovení enzymů

Počátek enzymologie akutního infarktu myokardu je v roce 1955, kdy Karmen našel zvýšenou aktivitu aspartátaminotransferázy (AST) v séru nemocných AIM. V roce 1956 pak byla popsána zvýšená aktivita dehydrogenázy kyseliny mléčné (LD) a v roce 1960 kreatinkinázy (CK) v séru nemocných AIM. Od roku 1963 používal Markett termín izoenzymy pro enzymy lišící se fyzikálními vlastnostmi, ale katalyzující stejný typ reakce, na základě elektroforetického rozlišení pěti forem 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 v sedmdesátých letech. (Tichý, 1998)

V současnosti došlo pod tlakem včasné diagnostiky AIM k zavedení řady nových biochemických parametrů, které svou citlivostí a specifíčností vysoce převyšují dříve používané enzymy. (Tichý, 1998) Od konce 80. let se vyšetřuje hmotnostní koncentrace CK-MB mass. Ta je citlivější než vyšetření katalytické aktivity CK-MB, lze poznat i nekrózy myokardu menšího rozsahu, například se lépe uplatní v diagnostice minimálních nekrotických změn u nestabilní anginy pectoris. K dalším markerům nekrózy myokardu, které se ukazují kromě CK-MB mass jako nejvhodnější patří myoglobin a troponiny. Myoglobin je velmi citlivý ukazatel *rabdomyolýzy*, ale zároveň je velmi nespecifický. Od počátku 90 let se užívá *troponin T*, *troponin I*. Užitečnost stanovení troponinů je v tom, že jsou markery zachycujícími jak časný, tak pozdní stadium IM. Jejich velkou předností je vysoká citlivost.³

³ Matoušková –Postavení lab.medicíny(biochemie)v diagnostice koronárních příhod z hlediska neinvazivních kardiologů, Prakt. Lékař, 2000, roč. 80, č.7, s. 394-397-

Minulost, současnost a budoucnost kardiomarkerů v diagnostice srdečních chorob

Dalšími testy jsou např. velmi časný nárůst aktivity kardiospecifického izoenzymu *glykogenfosforylázy BB* v séru jako výraz aktivace glykogenolýzy v ischemickém ložisku či stejně časný nálezní HFABP (heart fatty acids binding protein). Řádově minuty po ischemii myokardu (ale i jiné tkáně) lze v séru prokázat albumin s modifikovanou N-terminální částí (tzv. *ischemia-modified albumin, IMA*), které se projeví sníženou schopností vázat některé prvky, například kobalt. Tato zjištění, jakkoli nadějná, však dosud nepřesáhla rámec výzkumu.¹ V současnosti se už v laboratořích provádí biochemické stanovení *proBNP*.

¹ Racek, Klin.bioch., 2006, s.185-190

9. Historické kardiomarkery v diagnostice srdečních chorob

9.1. Aminoaspartátaminotransferáza (AST)

AST- je buněčný enzym, vyskytující se jako cytoplazmatický a mitochondriální izoenzym. Katalyzuje přenos aminoskupiny z L-aspartátu na 2-oxoglutarát za vzniku oxalacetátu a L-glutamátu. Reakce je volně reverzibilní, uplatňuje se při syntéze, odbourávání i přeměně aminokyselin. Se svým koenzymem pyridoxalfosfátem se tak AST podílí na metabolismu dusíku v organismu, význam má i při transportu redukčních ekvivalentů přes vnitřní mitochondriální membránu. V největší míře je obsažen v myokardu. Kosterním svalu a v hepatocytech. Při poškození buňky se ve zvýšené míře do krve vyplavuje nejprve cytoplazmatický izoenzym, při těžkém poškození se v krvi zvyšuje i aktivita AST z mitochondrií..⁴

9.1.1 Stanovení AST

V minulosti se ke stanovení AST používala kolorimetrická metoda podle Reitmana a Frankela. Ke stanovení AST byly využívány sety vyráběné Ústavem sér a očkovacích látek v Praze nebo rychlé stanovení dle Babsona. Koncentrace enzymu AST se udávala v μmol . Dále se prováděl optický test dle Fermognosta.⁵ IFCC (International Federation of Clinical Chemistry) doporučila v letech 1977-1980 standardizované metody stanovení AST s optimalizovanou koncentrací substrátu, s Tris* pufrem. V roce 2002 IFCC potvrdila své doporučení a rozšířila na 37 °C. Měření probíhá na analyzátoru v UV oblasti.. Referenční rozmezí pro AST je u mužů 0,67 $\mu\text{kat/l}$ a u žen 0,53 $\mu\text{kat/l}$ ⁶.

⁴odkaz na http://www.mzd.cz/data/c764/lib/_komp_ast.htm

⁵ Cicvárek, biochemické vyšetřovací metody, 1970, s.187-197

⁶ ROCHE – příbalový leták s pokyny pro stanovení AST analyzátorů Cobas a Hitachi

Minulost, současnost a budoucnost kardiomarkerů v diagnostice srdečních chorob

9.1.2. Význam AST pro diagnostiku AIM

Zvýšené hladiny koncentrace AST můžeme pozorovat obvykle 4-6 hodin po začátku ischemie. Vrcholu dosahuje za 1-2 dny a návrat k normálním hodnotám nastává u nekomplikovaných případů do 5 dnů. AST se vyplavuje z cytoplazmy a mitochondrií. Vzhledem k tomuto faktu a k nízké aktivitě ALT (alaninaminotransferáza) v myokardu je pro srdeční infarkt charakteristický poměr $AST/ALT > 1$.

Vzhledem k tomu, že se zvýšené hodnoty aktivity AST vyskytují i při jiných rozsáhlých poškození kosterního svalstva, ať už způsobeného úrazem nebo velkou svalovou námahou, u hemolýzy, chronických hepatopatiích, při nichž dochází k nekróze hepatocytů, není již stanovení aktivity AST k diagnostice AIM používáno. AST je velmi nespecifické. (Racek, 2006)¹

9.2. Kreatinkináza (CK)

Kreatinkináza- katalyzuje reverzibilní fosforylaci kreatinu pomocí adenosintrifosfátu. Při nedostatku ATP kreatinkináza naopak štěpí kreatinfosfát a doplňuje svalový pool ATP. (Schneiderka, 2006,21) Je to enzym přítomný v cytosolu buněk příčně pruhovaného svalstva. Lze ho identifikovat ve skeletárních svalech, mozku, gastrointestinálním traktu, plicích, ledvinách, játrech, slezině a v malém množství v červených krvinkách. (Špaček, 2002))⁷ Celková aktivita CK je ovlivněná věkem, pohlavím, rasou, objemem svalové hmoty a fyzickou aktivitou. 36

Kreatinkináza má tři izoenzymy, z nichž každá sestává ze dvou podjednotek M (muscle) a B (brain): **CK-MM (CK 3)**, **CK-MB (CK 2)** a **CK-BB (CK 1)**. (Zima,2006)⁸

Izoenzym CK-BB lze detekovat pouze v likvoru. V krvi se dále vyskytují izoformy izoenzymů MM a MB vznikající odštěpením C-terminálního lyzinového zbytku z polypeptidových řetězců M působením sérových karboxypeptidáz. Mohou vznikat také 2 makroformy CK; jedna vzniká vazbou enzymu na imunoglobulin G, druhá je monomerní makroforma mitochondriálního enzymu. 21

⁷ Špaček R., Infarkt myokardu-diagnostika, Post. Medicina, 2002, 4, 8, s. 892-897

⁸ Zima a kol., Kardiologie, Galén 2004, s.13-23

Minulost, současnost a budoucnost kardiomarkerů v diagnostice srdečních chorob

9.2.1 Stanovení CK a izoenzymů

Enzym kreatinkináza byl poprvé izolován a popsán v roce 1934 Lohmanem.(Tichý, 1993)⁹ Pro klinické účely bylo stanovení kreatinkinázy využíváno asi od roku 1959.(Tichý, 1987)¹⁰ Kreatinkináza se stanovuje spektrofotometricky v UV oblasti- odkaz na www.google.cz¹¹ Metody používané ke stanovení izoenzymů můžeme rozdělit do 5 kategorií:

1. *elektroforéza*
2. *chromatografie na iontoměničích*
3. *imunoinhibice*
4. *imunoprecipitace*
5. *radioimunoanalýza*⁹

9.2.2 Význam stanovení CK a CK-MB

CK- ke zvýšení CK může docházet při řadě stavů: svalové dystrofie, chirurgické výkony, traumata, intramuskulární injekce, intoxikace alkoholem, křeče typu grand mal, plicní embolie, hypothyreóza atd. Měření hodnoty celkové CK ztratilo diagnostický význam.

Izoenzym CK- MB- zvýšené koncentrace nacházíme jak při nekróze buněk myokardu, nezávisle na příčině, tak i po chirurgickém výkonu na srdci, u myokarditid a perikarditid, při kontuzi srdce, po úrazech elektrickým proudem. Zvýšené hodnoty CK-MB nacházíme u 20 % nemocných s chronickým renálním selháním, po velké svalové zátěži (např. maratonci). Stanovení CK-MB zůstává nadále v souboru prováděných vyšetření, protože poskytuje dobrou informaci o časových relacích akutní fáze infarktu.⁸

⁹ Tichý M., Kreatinkináza-enzym mnoha forem, Voj.zdrav.listy, 1993, 62, 6, s. 193-196

¹⁰ Tichý M., Pidrman V., Gregor J., Hamet A., Šimša J., Izoelektrická fokuzace izoenzymů CK v sérech nemocných akutním infarktem myokardu, Biochem. Clin. Bohemoslo., 1987, 16, 3, s. 223-228

¹¹ <http://www.dialab.cz/bio/fotom/fotometrie/navody/cknacD94581.pdf>

Minulost, současnost a budoucnost kardiomarkerů v diagnostice srdečních chorob

9.3 Laktátdehydrogenáza-LD

Laktátdehydrogenáza- katalyzuje přeměnu laktátu na pyruvát. Cytosolový enzym laktátdehydrogenáza je přítomen v celé řadě orgánů a tkání.(21) LD je tvořena dvěma podjednotkami- H (heart) a M (muscle).36 Má 5 izoenzymů a jednotlivé tkáně se liší poměrem jejich zastoupení. V srdeční tkáni převažuje LD₁, méně LD₂, v játrech (LD₄ a LD₅). Vyskytují se i ve svalstvu, krevních buňkách, slinivce, plicích atp.(16)

9.3.1. Stanovení LD, LD₁-LD₅

V minulosti byla aktivita LD vyjadřována množstvím pyrohroznanu vzniklého z laktátu.. Další metodou užívanou v minulosti bylo stanovení LD pomocí optického testu sety dodávanými firmou Fermognost.¹²Metoda, kterou v roce 1955 popsali Wroblewski a LaDue, využívala k určení katalytické aktivity LD redukcí pyruvátu za přítomnosti koenzymu NADH. V průběhu desítek let prošla tato metoda několika inovacemi a experti z odborných biochemických společností ji přepracovali do standardizovaných postupů. Tím vzniklo několik navzájem se lišících modifikací.(Hajzler, 1988)¹³ Isoenzymy LD lze rozdělit na jednotlivé frakce elektroforeticky a chromatograficky. 36

9.3.2 Význam stanovení LD a izoenzymů LD₁ a LD₂

Stanovení LD se používalo k dodatečnému potvrzení infarktu, protože zvýšená hladina zde přetrvávala i přes dva týdny. Diagnosticky cennější bylo sledování izoenzymů. LD. (21) LD₁ se u AIM zvyšuje mezi 8-22 h po počátku bolesti, maxima dosahuje za 2-3 dny a vrací se k normálu za 6-10 dní. Diagnosticky významný byl index LD₁/LD₂, který byl po AIM vyšší než 1 (36) V současné době nemá stanovení LD v diagnostice akutních koronárních syndromů význam. (8)

¹² Cicvárek, biochemické vyšetřovací metody, 1970, s. 205-209

¹³ Hajzler Š., Jagelková J., Návrh standardizované metody určení katalytické koncentrace laktátdehydrogenázy v sére, 1988, Biochem.Clin.Bohemosl., 1988, 17, 4, s. 371-379

Minulost, současnost a budoucnost kardiomarkerů v diagnostice srdečních chorob

9.3.2.1 Hydroxybutyrátdehydrogenáza (HBD)

HBD – je souborné označení pro izoenzymy laktátdehydrogenázy LD₁ a LD₂, které ochotně katalyzují také přeměnu alfa-hydroxybutyrátu jako substrátu (.21) Vyšetření tohoto parametru nahrazuje vyšetření LD₁ a LD₂ a je stejně citlivým, ale podstatně specifičtější testem než stanovení celkové aktivity LD. Stanovení LD i HBD je značně ovlivňováno zvýšenou aktivitou těchto enzymů v erytrocytech (150-200 krát) a proto je nelze stanovovat v hemolytických vzorcích krve. Výraznější zvýšení LD v porovnání s aktivitou HBD může být způsobeno zvyšováním LD₅ a ukazuje na jaterní poškození.15

Minulost, současnost a budoucnost kardiomarkerů v diagnostice srdečních chorob

10. Celkové shrnutí AST, CK,CK a izoenzymů , LD a izoenzymů

Z dosavadního přehledu zatím vyplývá, že AST, CK a LD a izoenzymy pomalu ztrácejí nebo už ztratily pro diagnostiku AIM význam. Z podmínek, které jsou uvedeny v dřívějším textu nesplňují dva základní požadavky (tab.1.20):

- co nejrychlejší vzestup po koronární příhodě
- vysokou specifičnost pro myokard

V tabulce je přehled enzymů, u nichž dochází ke zvýšení aktivity při IM

Tab.1. Klasifikace laboratorní metody v diagnostice IM

Enzym	počátek vzestupu (h)	maximum aktivity	normalizace aktivity (d)	násobek horní ref. meze v době maxima
AST	4-8	16-48	3-6	do 25
CK	3-6	16-36	3-5	do 25
LD	6-12	24-60	7-15	do 8

Minulost, současnost a budoucnost kardiomarkerů v diagnostice srdečních chorob

11. Současné kardiomarkery v diagnostice srdečních chorob

11.1 Myoglobin

Myoglobin byl v krystalické formě poprvé izolován v roce 1932, ale výraznější zájem zaznamenal na počátku 70 let, kdy bylo prokázáno jeho přechodné zvýšení v krevním séru po experimentálním uzávěru koronárních tepen u zvířat a později i u pacientů s AIM.(Kurcová, 1987)¹⁴

11.1.1 Myoglobin-funkce

Myoglobin- je to relativně malý hemoprotein (Mr=17 800, 153 aminokyselin) bez tkánově-specifických izoform. V kardiomyocytu se nachází převážně v cytosolu (85 %), v menší míře v buněčné matrix. Jeho úlohou je transport kyslíku z buněčné membrány do mitochondrií.(Pecháň,1996)¹⁵ Má větší afinitu ke kyslíku než hemoglobin. Myoglobin z kosterního svalstva je identický s myoglobinem z myokardu. Pro svoji malou molekulovou hmotnost je myoglobin při poškození svalové buňky vyplavován časně do oběhu. Má rychlou clearance do moči.(Horalík,1998)¹⁶ Po infarktu myokardu se prokáže zvýšená koncentrace myoglobinu v krvi velmi brzy, do 2 hodin, vrcholu dosahuje asi za 6 hodin , a během 12-24 hodin se vrací k normálu (normální hodnoty do 70 mg/l nebo 70 ng/ml). Myoglobin je považován za nejcitlivější biochemický marker v prvních hodinách po AIM. Maximální hodnota a kumulativní hodnota myoglobinu korelují s velikostí AIM. (Tichý, 1998)

¹⁴ Kurcová I., Nedvídková J., Štolba P., Malbohan I., Stanovení myoglobinu v lidském séru a moči vlastní RIA metodou

¹⁵ Pecháň, Biochemické markery při akutním infarktu myokardu, Brat. Lek.Listy,97, 1996, č.7, s.429-432

¹⁶ Horalík D., Stejskal D., Biochemická diagnostika akutní koronární příhody, Vnitřní lékařství, 44, 1998, č.3, s.170-175

Minulost, současnost a budoucnost kardiomarkerů v diagnostice srdečních chorob

11.1.2. Stanovení myoglobinu

Neschopnost rozlišit myoglobin myokardiální od myoglobinu z kosterního svalstva metodami chemickými nebo imunologickými, limituje specifitu a tím klinické použití stanovení myoglobinu (Tichý,1981)¹⁷. Ke stanovení myoglobinu v séru a moči se používala RIA metoda. Problémem RIA metody byla časová a technická náročnost. I při použití citlivé RIA metodiky bylo k provedení analýzy potřeba 2,5 hodiny. Časový náskok pro diagnostiku v porovnání s ostatními enzymy se tím značně zkracoval. Další nevýhodou RIA vyšetření byla nutnost mít scintilační počítač k vyhodnocení testu.(Matouš-Malbohan, 1984)¹⁸

V současnosti lze myoglobin stanovit :

a)kvantitativními metodami- chemiluminiscenčními imunoenzymatickými metodami na analyzátoch Elecsys, Immulite atd.

b)kvalitativními metodami – např. Cardiac Reader Systém od firmy ROCHE (odkaz <http://www.roche-diagnostics.cz/pages/near/cardiac.asp>)

11.1.3 Význam myoglobinu

Myoglobin je prvním laboratorním ukazatelem myokardiální léze , který předchází nejen EKG změny, ale i zvýšení aktivity enzymů v séru..¹⁸ Myoglobin se nachází ve všech příčně pruhovaných svalech , včetně myokardu. Je to velmi senzitivní marker ischémie myokardu, nemá však orgánovou specifitu. Při ischémii myokardu je uvolňován časně, obvykle je zvýšen mezi první a druhou hodinou. Vzhledem k rychlé renální clearance se jeho hodnoty vracejí k normě po 12-24 hodinách. Může být falešně zvýšen při některých myopatiích, úrazech postihujících svalovou tkáň a u stavů renálního selhání. Myoglobin má především negativní prediktivní hodnotu. Pokud jsou hodnoty myoglobinu normální mezi 4. a 6. hodinou od počátku obtíží, můžeme s vysokou přesností vyloučit poškození srdečního svalu.¹⁹

¹⁷ Tichý M., Pidrman V., Šimša J., Hamet A., Gregor J., Význam stanovení myoglobinu akutního infarktu myokardu, Čas Lék čes., 1981, 120, 36, s. 1087-1089

¹⁸ Matouš-Malbohan I., Tomíšková I., Význam stanovení sérového myoglobinu pro časnou diagnostiku akutního infarktu myokardu, Čas.Lék.čes., 123, 1984, č.21, s. 652

¹⁹ Zima a kol., Laboratorní diagnostika., Galén, 2006, s.13-23

11.2 Troponiny

Troponinový komplex je tvořen třemi strukturními bílkovinami, které jsou vázány na tropomyozin příčně pruhovaného svalstva a mají vztah k regulaci svalové kontrakce. *Troponin T* zajišťuje vazbu na tropomyozin, *troponin I* inhibuje aktomyozin-ATPázu, závislou na množství kalcia, vázaného na *troponin C*. (Racek, 2006, s. 187).²⁰

Nejméně 95 % veškerých srdečních troponinů je vázáno ve formě troponinového komplexu v myofibrilách. Zbytek je volně přítomen v cytosolu kardiomyocytu. V krvi, ale i ve tkáních podléhají troponiny četným změnám (např. fosforylacím, oxidacím, redukcím atd.), které vedou ke vzniku izoform. Hladina troponinů v séru je za normálních okolností téměř neprokazatelná. Při poškození kardiomyocytu se troponiny ze srdečního svalu poměrně rychle vyplavují do cirkulace. (Schneiderka, KBM, 2006)²¹

11.2.1 Stanovení troponinů cTnT a cTnI

Stanovení troponinů v krvi pro diagnostiku AIM bylo poprvé popsáno v roce 1987. (Cummins, B., Auckland, M.L., Cummins, P., 1987)²² Primární struktura molekul troponinu T a I je různá a mohou být imunochemicky odlišeny. (20)

Produkce souprav ke stanovení cTnT je dosud omezena jen na jednoho výrobce – firmu ROCHE, metoda je standardizovaná, tj. zjištěné koncentrace cTnT jsou srovnatelné v místě a čase. 23

Soupravy ke stanovení koncentrace cTnI produkuje více než 10 výrobců; podle výrobní provenience se soupravy významně liší jednak analytickou citlivostí, klinickou efektivitou, protože používají rozdílné protilátky a kalibrátory. Výsledky zjištěné různými soupravami nelze srovnávat a to ani tehdy, udávají-li např. dva různí výrobci stejné koncentrace pro hodnotící kritéria; klinická interpretace výsledků je

²⁰ Racek et al., GALÉN 2006, Klinická biochemie, s. 185-190

²¹ Schneiderka P., Laboratorní markery srdečních chorob, Klin., Biochem. Metab., 14 (35), 2006, č. 3, s. 161-167

²² Cummins B., Auckland M.L., Cummins P., Cardiac specific troponin –I radioimmunoassay in the diagnostic of acute myocardial infarction, Am. Heart. J., 1987, 113, s. 1333-1344

Minulost, současnost a budoucnost kardiomarkerů v diagnostice srdečních chorob
srovnatelná jen v rámci jedné metody výrobce, není srovnatelná u rozdílných metod a generací souprav produkovaných tímto výrobcem. Návaznost metod pro stanovení cTnI na referenční standard SRM-NST 2921 přispívá k vyšší úrovni harmonizace výsledků, neumožňuje však standardizaci stanovení cTnI.(Friedecký, 2007)²³

11.2.2 Význam stanovení c TnT a c TnI

Při akutní ischemické nekróze u akutního koronárního selhání a u poškození myokardu jiné etiologie a patogeneze dochází k vzestupu cTnT a cTnI v krvi po 2-4 hodinách. Na rozdíl od jiných markerů nekrózy myokardu pokračuje postupné uvolňování cTn z již nekrotických myofibril kardiomyocytů a podmiňuje tím trvání zvýšených koncentrací troponinů v krvi v řádu 7-14 dní.

Uvolněné množství troponinů je úměrné rozsahu nekrózy; výsledná aktuální koncentrace troponinů v krvi však může být ovlivněna rychlostí vzniku nekrózy; rozsahem reperfuze (spontánní nebo medikamentózní) a tzv. reperfučním poškozením myokardu. Podle všech dosud zveřejněných mezinárodních doporučení poskytují u AKS oba troponiny- T i I v diagnostice a při stratifikaci rizika dalšího vývoje kardiovaskulárních komplikací rovnocenné klinické informace.²³ Zvýšené koncentrace cTn v krvi mohou být způsobeny i jinými nemocemi, bez zjevné ischemie- např. myokarditidy, metabolické poškození myokardu vlivem endogenních katecholaminů aj. U stavů, kdy je spolupůsobení ischemie sporné- např. zvýšená fyzická zátěž, při poškození myokardu po sepsi a stavy, kdy není ischemie - maratonci, u kterých byl vzestup cTn pozorován opakovaně.

Krátkodobý vzestup koncentrace troponinů, který může být projevem reverzibilního poškození nebo zátěže kardiomyocytu, se může objevit u těchto stavů:

²³ Friedecký B., Engliš M., Franeková J., Jabor A., Kratochvíla J., Schneiderka P., Tichý M., Zima T., Doporučení České spol. klin. Biochemie ke stanovení biochemických markerů poškození myokardu, 29.11.2007, s. 1-10

Minulost, současnost a budoucnost kardiomarkerů v diagnostice srdečních chorob

- Akutní přepětí kardiomyocytů při náhlé oběhové zátěži- embolie arteria pulmonalis
- Toxická alterace kardiomyocytů při sepsi
- Důsledek působení exogenních živočišných jedů
- Přechodná hypovolemie a hypotenze
- Těžké acidobazické poruchy metabolismu
- Zánětlivé onemocnění myokardu
- Multiorgánová poškození- selhání
- Chronické přepětí kardiomyocytů při srdečním selhání, u neischemických kardiomyopatií (Engliš M.,2006)²⁴

V současné době jsou srdeční troponiny důležitým ukazatelem toxického poškození myokardu způsobeného léčivý, zejména antracyklíny, antrachinony, alkylačními látkami atd. (Adamcová M., 2005)²⁵

11.3 Natriuretické peptidy

Historie natriuretických peptidů sahá do poloviny roku 1981, kdy byl popsán extrakt ze srdečních síní, který způsoboval natriurézu a vazodilataci. V roce 1984 byla popsána chemická struktura síňového natriuretického peptidu (ANP), v roce 1988 byl z mozku prasete izolován brain natriuretic peptid (BNP) a v roce 1990 central nervous systém natriuretic peptid (C-natriuretic peptid, CNP). (Vítovec, 2004)²⁶

11.3.1 Natriuretické peptidy- charakteristika

NP jsou většinou syntetizovány ve formě neaktivních prohormonů, které se následně štěpí na vlastní biologicky aktivní hormony a na tzv.terminální fragmenty, které

²⁴ Engliš M., Srdeční troponiny, Labor Aktuell, 2006, č.1., s. 10-12

²⁵ Adamcová M., Štěrba M., Šimůnek T., Potáčková A., Popelová O., Mazurová Y., Geršl V., Srdeční troponiny jako markery myokardiálního poškození, Labor Aktuell, 2005, č.2., s. 4-7

²⁶ Vítovec J., Špinarová L., Natriuretic peptides in diagnosis and treatment, Remedia, 2004, 14, s. 177-

Minulost, současnost a budoucnost kardiomarkerů v diagnostice srdečních chorob

jsou většinou biologicky neaktivní.(Tichý, 2005)²⁷ Hlavním stimulem vedoucím ke zvýšené produkci a uvolňování BNP do cirkulace je přítomnost objemového a tlakového přetížení vláken myokardu komor. Pro své účinky, mezi které patří prohloubení diurézy, natriurézy, navození vazodilatace a mírný antimitogenní efekt na hladkou svalovinu, je zvýšená produkce BNP považována za fyziologický děj. Je určitou protíváhou zvýšené aktivace sympatického nervového systému a systému renin-angiotenzin-aldosteron.(Pudil, 2005)²⁸

11.3.2 Klasifikace NP

Látky s natriuretickou aktivitou lze rozdělit na vlastní natriuretické peptidy a s nimi související molekuly a na ostatní látky s natriuretickými vlastnostmi. Za NP v užším slova smyslu se považují pouze hormonálně aktivní látky se 17-tičlenným kruhem uzavřeným disulfidovým můstkem a genově související molekuly a fragmenty.

Vlastní natriuretické peptidy s hormonální aktivitou:

- Atriový natriuretický peptid (ANP)
- Komorový natriuretický peptid (BNP)

Do této skupiny dále patří: CNP, DNP, PNP, VNP a další.

Fragmenty natriuretických peptidů:

- N-terminální fragmenty ANP (NT-proANP)
- N-terminální fragmenty BNP (NT-proBNP)

Do této skupiny dále patří: LANP, VSDL, KP a další.

Ostatní látky s natriuretickou aktivitou jsou adrenomodulin, angiotenzin (1-7), bradykinin, digoxinu/ouabainu podobné imunoreaktivní látky, guanylinu podobné peptidy, dopamin, prolaktin a další.

²⁷ Tichý M., Friedecký B., Palička V., Horáček J., Jebavý L., Pudil R., Současné názory na stanovení a klinické využití kardiomarkerů, Klin. Biochem. Metab., 2005, 13 (34), č.2, s. 98-102

²⁸ Pudil R., Tichý M., Gregor J., Praus R., Bláha V., Vojáček J., Malý J., Hladina NT-proBNP: Citlivý ukazatel stavu nemocných s akutním srdečním selháním, Interv Akut Kardiol., 2005, 4, 70, s. 70-73

Minulost, současnost a budoucnost kardiomarkerů v diagnostice srdečních chorob

11.3.3 Uvolnění NP z kardiomyocytu

ANP je skladován ve formě sekrečních granulí v cytosolu síňových kardiomyocytů a jeho uvolnění je okamžité, řádově v desítkách sekund až minutách. BNP není skladován analogickým způsobem a vzestup jeho koncentrace v krvi je dán rychlou aktivací syntézy v kardiomyocytech komor. Vzestup koncentrace BNP v krvi je však velmi rychlý, řádově v minutách až desítkách minut.

11.3.4 Stanovení NP v krvi

V devadesátých letech minulého století se objevily první komerční soupravy – japonské kity Shionoria ANP a Shionoria BNP dovezené do ČR prostřednictvím francouzské firmy Cis Bio International a díky firmě Solupharm Brno. Naděje vkládané do stanovení natriuretických peptidů, byly jednoznačně splněny. (Jabor, 2002) Počátkem nového tisíciletí se objevila souprava firmy ROCHE pro stanovení NT-proBNP na elektrochemiluminiscenčním principu (Elecsys).²⁹

Od konce roku 2005 je ve vývoji referenční materiál pro měření BNP. Vývoj probíhá paralelně v USA a v Evropě. (Friedecký B., 2005)³⁰ V současnosti neexistuje srovnatelnost mezi výsledky měřících systémů jednotlivých výrobců; není dostupný primární referenční materiál.²³ Standardizace měření BNP je ztížena skutečností, že všichni tři výrobci (Abbott, Bayer a Biosite-Beckman) používají rozdílných párů zachytných a detekčních protilátek. Důsledkem je, že při použití pěti různých kitů jsou získány významně odlišné hodnoty mediánů výsledků měření.³⁰

²⁹ Jabor A., Kluch T., Pavlisová M., Sedláková J., Engliš M., Vargicová J., Natriuretické peptidy- od výzkumu k rutině, Labor Actuell Czech, 2002, 2, s. 16-17

³⁰ Friedecký B., Kratochvíla J., Biochemické ukazatele srdečního poškození – informace o stavu v roce 2005, www.sekk.cz publikováno dne 2.1.2006

Minulost, současnost a budoucnost kardiomarkerů v diagnostice srdečních chorob

11.3.5 Význam stanovení natriuretických peptidů

Plazmatická koncentrace BNP stoupá nejen při systolickém, ale i při diastolickém srdečním selhání. BNP stoupá i při dosud klinicky němé srdeční insuficienci. Senzitivita a negativní prediktivní hodnota zvýšených koncentrací BNP pro diagnostiku srdečního selhání se pohybuje kolem 96 %. Specificita a pozitivní prediktivní hodnota se pohybují kolem 90 %. Koncentrace BNP mohou stoupat při přetížení pravé komory například při plicní embolii a při renálním selhání.³²

BNP je výborným prostředkem pro detekci srdeční strukturní nemoci u asymptomatických pacientů se systematickou arteriální hypertensí, k monitorování pacientů před a po srdečních operacích nebo při vyhodnocování kardiotoxických efektů chemoterapie.(Jarolim, 2006)³¹

Vyšetření BNP bylo v nových evropských doporučeních pro diagnostiku akutního i chronického srdečního selhání zařazeno za klinické, EKG a RTG vyšetření, ale před echokardiografií. (Janota, 2005)³²

Fyziologické účinky předurčují BNP k možnému léčebnému využití. Jeho účinek vazodilatační, natriuretický, diuretický, antifibrotický a zlepšení lusitropních vlastností myokardu z něho dělají téměř ideální lék pro léčbu srdečního selhání. Další prospěšnou vlastností BNP je schopnost inhibovat nadměrně aktivované neurohumorální systémy, zejména reninový-angiotenzinový-aldosteronový (RAAS), sympato-adrenální (SAS) a endotelin-1.(Hradec, 2006)³³

³¹ Jarolim P., Serum biomarkers for heart failure, Cardiovascular Pathology, 2006, 15, s. 144-149

³² Janota T., Biomarkery v současné diagnostice, Bul.Sdruž.prak.lék., 2005, 15, 4, s. 42-44

³³ Hradec J., Léčebné využití natriuretických peptidů, Interní Med., 2006, 4, s. 179-181

Minulost, současnost a budoucnost kardiomarkerů v diagnostice srdečních chorob

12. Současnost kardiomarkerů v diagnostice srdečních chorob (markery ischemie myokardu)

12.1. Glykogenfosforyláza-izoenzym BB (GPBB)-funkce

Glykogenfosforyláza je glykolitický enzym, který hraje zásadní roli v regulaci metabolismu sacharidů, jelikož katalyzuje první krok glykogenolýzy, ve kterém je glykogen konvertován na glukózo-1-fosfát. Glykogenfosforyláza je spojena v makromolekulárním komplexu, který je strukturálně navázán na sarkoplazmatické retikulum. Stupeň spojení je závislý na metabolickém stavu jedince. (Lačňák B., 2007)³⁴

V lidských tkáních se běžně vyskytují tři izoenzymy- GPLL(jaterní), GPMM (svalová) a GPBB (mozková). GPBB je v mozku a v myokardu. V malém množství je v příčně pruhovaném svalu, v leukocytech, ledvinách, v zažívacím traktu, slezině, močovém měchýři nebo aortě.(Apple PS.,2005)³⁵

12.1.1 Glykogenfosforyláza- stanovení

Komerční soupravy na stanovení GPBB nebyly ještě před několika lety ve světě dostupné. Teprve před několika měsíci se objevily na trhu diagnostické soupravy (schválené US Food and Drug Administration a označované jako IVD-CE) na bázi ELISA a pro režim u lůžka (POCT- Point of Care testing). Teoretický přínos tohoto stanovení může být zajímavý a diagnosticky významný. Problémem zůstává cena jednoho vyšetření.

V současné době nejsou k dispozici ani údaje o způsobu hodnocení testu v ČR zdravotními pojišťovnami. To zatím výrazně omezuje rutinní využití tohoto testu v ČR.(Lačňák B., 2007)³⁴

³⁴ Lačňák B., Stejskal D., Jedelský L., Karpíšek M., Šprongl L., Využití stanovení glykogenfosforylázy BB v diagnostice algické formy akutních koronárních syndromů, Vnitřní Lék., 2007, 53(11), s. 1164-1169

³⁵ Apple PS., Wu AHB., Mair I. Et al., Future Biomarkers for Detection of Ischemia and Risk stratification in Acute Coronary Syndrome, Clin Chem., 2005, 51, s. 810-824

Minulost, současnost a budoucnost kardiomarkerů v diagnostice srdečních chorob

12.1.2 Glykogenfosforyláza- význam

Izoenzym GPBB je považován za časný specifický ukazatel myokardiální nekrózy a jsou i informace o jeho diagnostickém využití v odhadu přítomnosti myokardiální ischemie. ³⁴ Uvolňuje se z myokardu stejně rychle jako myoglobin, vrchol elevační vlny v krvi bývá 20násobkem fyziologického rozmezí. Normální koncentrace v plazmě (EDTA) je 1,7-2,9 µg/l. (Tichý, 1998)³⁶ Vyšetření se v rutinní praxi zatím neujalo. (Schneiderka, 2006)²¹,

12.2 Vysoce citlivý (high sensitivity) C-reaktivní protein (hs CRP)

C-reaktivní protein (CRP) je protein akutní fáze syntetizovaný v játrech. Byl poprvé popsán Tillem a Francisem v roce 1930. Jediným činitelem, který rozhoduje o plazmatických koncentracích CRP, je rychlost jeho syntézy buňkami jaterního parenchymu. Jeho produkce je primárně kontrolována interleukinem-6. Proteiny akutní fáze vykonávají důležité funkce v místě poškození tkáně k její ochraně před destrukcí (aktivují komplement, modulují fagocytózu, váží se na povrch buněk atd.) Při infekcích, traumatech, operacích a jiných situacích s akutním zánětem se může koncentrace CRP v séru zvýšit až 1000x. C-reaktivní protein se tak stává důležitým, i když nespecifickým biochemickým parametrem, s jehož pomocí lze hodnotit aktivitu zánětlivých procesů. (Šprongl, 2003)³⁷ 36,8

12.2.1 hs-CRP

Hs CRP- jedná se prakticky o modifikaci běžně užívaného markeru zánětu, vyšetření CRP. (32)

12.2.2 hs-CRP- stanovení

Původně bylo CRP měřeno v klinických laboratořích turbidimetrickými a nefelometrickými technikami. Měřicí rozsah těchto souprav byl od 3,0 mg/l (cca 90. per-

³⁶ Tichý M., Biochemická diagnostika akutního infarktu myokardu, Lék. Zpr. LF UK Hradec Králové, 1998, 43, 1-2, s. 1-9

³⁷ Šprongl L., Radina M., Vysoce citlivé stanovení CRP-teorie a možnosti, Labor Aktuell, 2003, 1, s.5-7

Minulost, současnost a budoucnost kardiomarkerů v diagnostice srdečních chorob

centilnormální populace) do více než 200 mg/l. Tyto soupravy však nemají odpovídající citlivost v rozmezí požadovaném pro stanovení kardiovaskulárních rizik u zdánlivě zdravých mužů a žen.

Za účelem docílení požadovaného limitu analytické citlivosti pokračují výrobci a vědci v používání imunochemických metod s důrazem na měření hs-CRP, ale s modifikacemi pro zvýšení detekovatelného signálu. Byly vyzkoušeny i jiné postupy, včetně značení anti-CRP protilátek buď enzymem (ELISA) nebo fluoroscenční sloučeninou a navázání monoklonálních i polyklonálních protilátek na polystyrenová lůžka. V současnosti by měla být dostupná možnost měřit hs-CRP v koncentracích okolo 0,15 mg/l při odpovídající analytické účinnosti.

Ne všechny soupravy hs-CRP dosahují obdobné citlivosti a limitu detekce. Je vhodné mít v laboratoři jednu soupravu CRP pro měření nízkých i vysokých koncentrací. Pokud tomu tak není, měli by lékaři požadovat hs-CRP pro předpověď kardiovaskulárního rizika. Na trhu už je dostupná souprava vyhovující všem požadovaným koncentracím CRP.(37

12.2.3 Význam hs-CRP

Na řadě studií bylo prokázáno že hs-CRP může mít prognostickou hodnotu u pacientů s akutním koronárním syndromem. Může být faktorem predikce budoucí kardiovaskulární nemoci a úmrtnosti mezi osobami s diagnostikovaným kardiovaskulárním onemocněním.(37) Výchozí koncentrace CRP v krevním séru u nemocných s akutními koronárními syndromy nad 3,0 mg/l jsou projevem vystupňované zánětlivé odpovědi, která je spojena s horší prognózou těchto nemocných.(8) Koncentrace CRP při přijetí nemocného a včasné fázi onemocnění vyšší než 15 mg/l jsou spojeny s vysokým rizikem nepříznivého vývoje onemocnění (srdeční smrt, rekurentní srdeční komplikace). Význam změn CRP není dosud průkazný. Interpretaci koncentrací CRP v krvi znesnadňuje jeho vysoká biologická a analytická variabilita.(23)

12.2.4 Vztah troponinů a C-reaktivního proteinu

Ze studie GUSTO-IV, která se zabývala dynamikou sérových koncentrací CRP a cTnT vyplynulo, že vstupní hodnota cTnT vyšší než 0,01 $\mu\text{g.l}^{-1}$ nebo vstupní hodnota

Minulost, současnost a budoucnost kardiomarkerů v diagnostice srdečních chorob

CRP nad 3,0 mg/l byla spojena s vyšším rizikem AIM i celkové kardiovaskulární mortality a další průběžný vzestup cTnT riziko zvyšoval. Průběžný vzestup jen CRP riziko nezvyšoval. Společný vzestup cTnT a CRP zvyšoval riziko velmi výrazně.(Aschermann, a kol., 2004)³⁸

12.3 Proteiny vázající mastné kyseliny(Fatty Acid-binding protein)-FABP

Proteiny vázající mastné kyseliny jsou malé, orgánově nespecifické cytoplazmatické bílkoviny. Nejdříve byly popsány v tenkém střevě, později v játrech a v dalších orgánech a tkáních. Jsou exprimovány hlavně ve tkáních s čilým metabolismem mastných kyselin. Jejich funkcí je především transport mastných kyselin o dlouhém řetězci od membrány buněčnou plazmou do míst jejich oxidace. Dnes je známo celkem 9 typů FABP. Při poškození tkání se uvolňují z buněk a pronikají do krevního oběhu.(Stejskal, 2000)^{39,21}

12.3.1 Srdeční forma FABP

Srdeční izoforma FABP hraje důležitou roli v transportu MK , utilizaci MK i v ochraně proti toxickému účinku těchto mastných kyselin, čímž ovlivňuje zásadním způsobem energetický metabolismus myokardu.(39)

12.3.2 Stanovení H-FABP

H-FABP se nejčastěji vyšetřuje v séru , tzv. rychlými testy ELISA, k dispozici jsou i automatizované analýzy (analyzátor IMMUNO-1 firmy Bayer).³⁹

³⁸ Aschermann a kol., Kardiologie, Galén 2004, s. 343-349

³⁹ Stejskal D., Horalík D., Oral I., Lačňák B., Bartek J., Žurek M., Jedelský L., Využití analýzy srdeční izoformy kyseliny (H-FABP) v diagnostice akutního infarktu myokardu(pilotní studie), Cor Vasa, 2000, 42, 7, s. 328-333

Minulost, současnost a budoucnost kardiomarkerů v diagnostice srdečních chorob

12.3.3 Význam H-FABP

Při ischemii nebo nekróze myokardu se FABP uvolňuje do krve velmi rychle, s vzestupem koncentrace již za dvě hodiny po začátku onemocnění, s maximem mezi 4-8 hodinou a návratem k normě už za 24-30 hodin. Diagnostická senzitivita a specifčnost pro AIM je analogická jako u myoglobinu.²³ Hodnoty H-FABP se významně zvyšují u pacientů s chronickou renální insuficiencí či závažnějším svalovým postižením.³⁹ Uplatnění v současné klinické praxi je malé.⁽²³⁾

12.4 Kreatinkináza-CK-MB mass

CK-MB mass- biologické vlastnosti stejné jako u CK-MB. Jde o stejný izoenzym obsažený v srdci a ostatních tkáních, jen enzymatická aktivita je vyjádřena hmotnostní koncentrací. (8)

12.4.1 Stanovení CK-MB mass

Na rozdíl od aktivity se při stanovení hmotnostní koncentrace CK-MB mass detekují i částečně degradované molekuly, které již ztratily enzymovou aktivitu, ale zachovaly si vazbu na specifickou protilátku.⁽⁸⁾

Dříve používané metody stanovení CK-MB, radioimunologická a elektroforéza na agarovém gelu, jsou v současné době nahrazeny vysoce senzitivními a specifickými enzymatickými imunologickými metodami, které používají monoklonální protilátky.⁽⁷⁾ Soupravy splňují i požadavek na včasnou odezvu-TAT (turn around time) do 60 minut.^{(Pudil, 2007)⁴⁰}

12.4.2 Význam stanovení CK-MB mass

CK-MB mass není zcela kardiospecifická, může být zvýšená při poškození kosterního svalstva, při myopatiích, kardioverzi, hypotyreóze, po vytrvalostním běhu, při renálním selhání atd. K signifikantnímu vzestupu CK-MB mass dochází až při rozsahem větší nekróze myokardu.⁽³⁰⁾ Je nejvhodnějším markerem reinfarktu. Může být akceptovatelným markerem AIM pro laboratoře neschopné stanovovat troponiny.⁽⁴⁰⁾

⁴⁰ Pudil R., Tichý M., Vojáček J., Kardiomarkery na prahu třetího tisíciletí, Interv Akut Kardiol, 2007, 6, s. 20-23

Minulost, současnost a budoucnost kardiomarkerů v diagnostice srdečních chorob

13. Budoucí markery v diagnostice srdečních chorob

V posledních letech se intenzivně hledá marker myokardiální ischemie. Jedním z ukazatelů, do kterého se vkládají velké naděje, je stanovení vazebné kapacity albuminu pro kobalt (albumin cobalt binding, ACB, ischemia modified albumin, IMA)²⁷ Mezi nové markery ischemie nebo nekrózy myokardu patří *IMA a FFAs*. K markerům lokálního a systémového zánětu patří *cholin, pregnancy associated plasma protein A (PAPP-A), CD 40 ligand a myeloperoxidáza*

13.1 Ischemií modifikovaný albumin (IMA)

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 uvažuje se o relaci k produkci volných radikálů během ischemie nebo reperfuzi, redukci tenze kyslíku, acidóze a ke změnám v buňkách, jako je rozvrat funkce sodíkové a vápníkové pumpy.⁴⁰

13.1.1 Stanovení IMA

Test je založen na skutečnosti, že N-terminální konec albuminu snižuje svou afinitu pro kobalt v průběhu ischemie. Detekovatelné změny ve vazbě kobaltu na albumin mohou být prokázány během několika minut po přechodné okluzi a reperfuzi koronární arterie během angioplastiky a vracejí se k normálu během 6 hodin.²⁷

Stanovení IMA je možné automatizovat a provádět je ve větších laboratořích i ve statimovém režimu.⁸ Senzitivita stanovení IMA u nemocných s AKS se v klinických studiích pohybovala mezi 83-96 %, specificita byla 69-94 %.

13.1.2 Význam IMA

Diagnostická senzitivita IMA je při přijetí nemocných v časně fázi AKS vyšší než pro cTn. Vyšetření je používáno k časnému vyloučení ischemie u nemocných s bolestí na hrudi a nízkou prevalencí AKS. K nespecifickému vzestupu koncentrace IMA dochází při ischemii centrálního nervového systému a v oblasti gastrointestinálního traktu, ne však při ischemii kosterního svalstva.. Může být používán jako parametr perioperačního myokardiálního poškození.^(23,8)

Minulost, současnost a budoucnost kardiomarkerů v diagnostice srdečních chorob

13.2 Volné mastné kyseliny-Free Fatty Acids (FFAs)

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

K zřetelnému vzestupu koncentrací FFAs dochází po krátkce trvající ischemii. Koncentrace FFA zřetelně stoupá při hladovění, u sepsí, po požití kokainu, či po kontuzi hrudi.

Předběžné studie ukazují, že FFAu umožňuje časnou detekci srdeční ischemie, ale jsou zapotřebí další studie u nemocných AKS.(23,40)

13.3 Cholin

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

13.3.1 Stanovení cholinu

Vzhledem k tomu, že při lipolýze fosfolipidův aktivovaném plaku dochází k uvolňování a vzestupu koncentrace cholinu v krvi, nejsou sérum ani plazma vhodné ke stanovení. To značně ztěžuje laboratorní stanovení. Zatím se používají: HPLC-hmotnostní spektrofotometrie, HR protonová MR spektrofotometrie a je nutný vývoj setu použitelného v podmínkách POCT (Point of care testing) i centrální laboratoři.(23,40)

Minulost, současnost a budoucnost kardiomarkerů v diagnostice srdečních chorob

13.3.2 Význam stanovení cholinu

Dosavadní studie ukázaly, že stanovení cholinu u nemocných se stenokardiemi významně koreluje s výskytem náhlé smrti.(40)

13.4 *Pregnancy-associated plasma protein A (PAPP-A)*

PAPP-A patří do skupiny insulinu podobných růstových faktorů a má metalo-proteinázovou aktivitu. PAPP-A je přítomen i v lidských fibroblastech a při ruptuře nestabilního aterosklerotického plátu je uvolňován fibroblasty.

13.4.1 Význam stanovení PAPP-A

Současná pozorování ukázala, že zvýšený PAPP-A je nezávislým prediktorem výskytu ischemie myokardu a může pomoci při indikaci koronárních intervencí. Dalším popsaným využitím je stratifikace rizika pacientů s non-STEMI.

Korelace mezi PAPP-A a troponinem I a CK-MB-mass je špatná, což ukazuje, že zvýšený PAPP-A neindukuje nekrózu myokardu. .(23,40)

13.5 *Solubilní CD40 ligand (sCD40 L)*

CD40 ligand je transmembránový protein, který se vyskytuje v aktivovaných trombocytech, buňkách hladkého svalstva, makrofázích apod. Při jejich aktivaci v destabilizovaných aterosklerotických placích je uvolňován do krve jako solubilní CD40 L (sCD40 L).

13.5.1 Význam stanovení sCD40 L

Zvýšené hodnoty sCD40 L byly zjištěny u AKS, u zánětlivých onemocnění (autoimunitní choroby), hypercholesterolémií a diabetu. Stanovení sCD40 L je markerem aktuální trombogenní aktivity. Může být užitečným a použitelným indikátorem nestability aterosklerotického plátu u AKS ve spojení s markery srdeční ischemie.

Studie CAPTURE identifikovala mezi cTnT negativní skupinou nemocných skupinu s vyššími hladinami sCD40 L, a tito nemocní měli 3,4x vyšší mortalitu.(23,40)

Minulost, současnost a budoucnost kardiomarkerů v diagnostice srdečních chorob

13.6 Myeloperoxidáza (MPO)

Myeloperoxidáza je enzym secernovaný aktivovanými neutrofily, monocyty a makrofágy v průběhu destabilizace aterosklerotických plátů.

13.6.1 Význam stanovení MPO

MPO stoupá včasné fázi vzniku AKS, kdy ještě nedošlo k prokazatelné nekróze kardiomyocytů s následným vzestupem koncentrace cTn.

13.7 Stanovení IMA, FFAs, cholinu, PAPP-A, s CD40 L, MPO

Uvedené markery mohou přispívat k časné stratifikaci vysokého rizika vývoje onemocnění. V současnosti však většinou chybí vhodné, respektive standardizované metody jejich stanovení, údaje o rozhodovacích hodnotách, doporučení pro časování odběrů, především však kriticky zhodnocené závěry velkých klinických studií o skutečném přínosu jejich stanovení.(23,40)

13.8. Endotelin

Endotelin byl poprvé izolován v roce 1988. Je to vasokonstrikční peptid. Je syntetizován ve formě preprohormonu, který je rozštěpen na proendotelin a ten je následně upraven na endotelin. Je syntetizován četnými tkáněmi.

Plazmatické koncentrace endotelinu jsou výrazně zvýšeny u většiny pacientů se srdeční nemocí. Vzestup hladiny endotelinu je způsoben zvýšeným uvolňováním endotelinu z plic a kardiomyocytů. Zvýšení endotelinu odpovídá závažnosti srdeční nemoci, pozitivně s klasifikací NYHA (New York Heart Association) a negativně s postižením levé části srdce.

Je nutný další výzkum před zavedením endotelinového testu do klinických laboratoří.(Jarolím, 31)

13.9 Podjednotky srdečního myozinu

Myozin-je hlavní protein kontraktálního aparátu svalů. Je tvořen dvěma těžkými řetězci (MHC) a dvěma páry lehkých řetězců (MLC-1 a MLC-2). Lehké řetězce myozinu modulují interakci mezi aktinem a myozinem při kontrakci. Méně než 1% MLC

Minulost, současnost a budoucnost kardiomarkerů v diagnostice srdečních chorob

se nachází v cytosolu svalových buněk a tato frakce se uvolňuje rychle do oběhu. Vzhledem k malé molekule je filtrována v glomerulech.

13.9.1 Význam stanovení MHC a MLC

MHC se zvyšuje v průměru za 2 dny po AIM, vrcholu dosahuje asi za 5 dní a k normálu se vrací asi za týden. MHC se používá jen pro pozdní fázi AIM a pro určení velikosti infarktového ložiska. Není kardiospecifické.

MLC se zvyšuje v krvi asi za 10 hodin po AIM vrcholu dosahuje asi za 4 dny. Dá se použít pro diagnostiku akutního infarktu myokardu v akutní fázi. Napomáhá určení nekrózy myokardu, její závažnosti a prognóze. Zvýšení MLC 1 bývá pozorováno i u pacientů s chronickým srdečním selháním a u pacientů s nestabilní anginou pectoris.(8,36)

Minulost, současnost a budoucnost kardiomarkerů v diagnostice srdečních chorob

14. Závěr

Ze všech kardiomarkerů užívaných v diagnostice srdečních chorob se dnes již nedoporučuje stanovení koncentrací katalytické aktivity AST, LD, izoenzymů LD, HBD, CK, CK-MB izoenzymu a izoformem CK.

Doporučuje se paušální stanovení koncentrací *cTn*, *NP*, *CRP* při přijetí nemocných s podezřením na AKS v režimu velmi krátké TAT (výsledek do 60 minut) s cílem co nejrychlejší identifikace rizika dalšího nepříznivého vývoje onemocnění. V současnosti jsou komerčně dostupné systémy POCT k průkazu nekrózy myokardu (cTnT, cTnI, CK-MB mass, myoglobin), k identifikaci akutního srdečního selhání (BNP, NT-proBNP) a hodnocení zánětu (CRP). Tyto soupravy jsou určeny pro pracoviště intenzivní kardiologické péče k usnadnění diagnózy; měly by být užívány tam, kde nelze docílit stanovení srdečních markerů s TAT do 60 minut.(23

Minulost, současnost a budoucnost kardiomarkerů v diagnostice srdečních chorob

Minulost, současnost a budoucnost kardiomarkerů v diagnostice srdečních chorob