

Laboratorní markery srdečních chorob

Schneiderka P.

Oddělení klinické biochemie Fakultní nemocnice Olomouc

SOUHRN

Sdělení přináší stručný přehled kardiálních markerů. Krátce se zmiňuje o historii těch, které byly již před časem zavedeny do rutinní praxe, a hodnotí potenciální význam dalších, jež jsou předmětem laboratorního i klinického výzkumu. Odkazuje se přitom na některé novější literární prameny k tomuto tématu.

Klíčová slova: kardiální markery, akutní koronární syndrom, akutní infarkt myokardu, srdeční selhání, ischemie, proteiny akutní fáze, kreatinkináza, troponiny, myoglobin, fatty acid-binding protein, cholin, natriuretické peptidy.

SUMMARY

Schneiderka P.: Laboratory markers of cardiac diseases

The article offers a brief survey of cardiac markers. It briefly outlines the history of those, which have been previously introduced in routine practice and evaluated potential importance of those, which are presently under laboratory and clinical investigation. The author refers to some new literature sources on the problem.

Key words: cardiac markers, acute coronary syndrome, acute myocardial infarction, heart failure, ischemia, proteins of acute phase, creatine kinase, troponins, myoglobin, fatty acid-binding protein, cholin, natriuretic peptides.

Úvod

Termín „kardiální (bio)markery“ vznikl někdy v 90. letech minulého století, kdy k vyšetření kreatinkinázy při akutním infarktu myokardu (AIM) přibýly srdeční troponiny a posléze i další analyty. Přes ne zcela jasné vymezení je zřejmé, že se kardiálními markery myslí především biochemické ukazatele ischemie, nekrózy a hemodynamických změn postihujících srdce. Někteří autoři vyhrazují termín kardiální markery pouze na laboratorní vyšetření pro detekci AIM nebo ischemického poškození myokardu [1]. Je pozoruhodné, že se pod tento pojem nezahrnují přímé mikrobiologické, imunologické ani molekulárněbiologické markery onemocnění endokardu, myokardu a perikardu.

Dnes patří do stále rostoucí palety markerů nejen běžné strukturální komponenty srdeční tkáně, které jsou přítomny v kardiomyocytech, intersticiu i v srdečních cévách, ale i biologicky aktivní látky, jimiž srdce reaguje na fyziologické i patologické podněty, a konečně také specifické produkty ischemie a jiných patologických procesů probíhajících nejen v srdci, ale i v jiných orgánech nebo v celém organismu. Navíc do kategorie kardiálních markerů zvolna přibývají také mnohé faktory sloužící k prognóze dalšího vývoje akutní srdečně cévní příhody anebo k predikci rizika jejího vzniku [3].

Pro použití několika základních kardiálních markerů vznikla postupem času různá doporučení, která reflektovala aktuální stupeň poznání a stanovovala nepodkročitelné minimum indikace a interpretace jejich vyšetření. Americká Národní akademie klinické biochemie (NACB) a Global Task Force, což je označení společné komise Evropské kardiologické společnosti a Americké kardiologické koleje (ESC a ACC), vydaly v edici Směrnice pro praxi laboratorní medicíny (Laboratory medicine practice guidelines, LMPG) v r. 1999 směrnici s názvem Doporučení pro použití kardiálních markerů u nemocí věnčitých tepen (Recommendations for the

use of cardiac markers in coronary artery diseases). Tato směrnice byla upravena a aktualizována na základě nové definice pro diagnostiku srdečního poškození a infarktu myokardu s využitím troponinů (Myocardial infarction redefined) [12] a na základě nové definice pro detekci srdečního selhání za použití natriuretických peptidů. Vznikl tak, opět v rámci LMPG, dokument Biomarkery akutního koronárního syndromu a srdečního selhání 2004 [4].

Kreatinkináza

Kreatinkináza (EC 2.7.3.2, ATP:kreatin-N-fosfo-transferáza) katalyzuje reverzibilní fosforylaci kreatinu pomocí adenosintrifosfátu. Při nedostatku ATP kreatinkináza naopak štěpí kreatinfosfát a doplňuje svalový pool ATP. Celková zásoba kreatinfosfátu v kosterních svalech je však tak malá (cca 25 $\mu\text{mol/g}$), že vystačí pouze na několik desítek sekund svalové práce. Je však dostatečná pro klidovou metabolickou spotřebu svalů. Defosforylaci kreatinfosfátu a irreverzibilní dehydrataci kreatinu vzniká kreatinin, který se z buněk vyplavuje do cirkulace. Z organismu se kreatinin vylučuje zejména močí, ale z menší části i potem a žlučí (stolici).

Enzym je obsažen především v cytosolu a v mitochondriích buněk kosterního svalstva, méně myokardu, CNS a v hladké svalovině. Aktivita celkové CK vztažená na 1 g svalové hmoty je u kosterního svalstva téměř 5krát vyšší než u srdečního svalu. CK je dimer (Mr 40 000) složený z polypeptidových jednotek M (muscle) a B (brain), které jsou podkladem pro existenci 3 cytosolových izoenzymů BB, MB a MM. Kromě toho existuje také mitochondriální izoenzym. 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 po-

lypeptidových řetězců M působením sérových karboxypeptidáz. Mohou vznikat také 2 makroformy kreatinkinázy: jedna vzniká vazbou enzymu na imunoglobulin G, druhá je monomerní makroforma mitochondriálního enzymu.

Zavedení rutinního stanovení celkové katalytické koncentrace kreatinkinázy, CK, tehdy ještě nazývané „kreatinfosokináza“, CPK, pro diagnostiku infarktu myokardu před zhruba 40 lety, bylo zrodem moderní historie kardiálních markerů. V 70. letech probíhaly rozsáhlé studie vlastností a složení tohoto enzymu [22, 27].

Byl pozměněn název CK i označení jejích izoenzymů (místo dvoupísmenného kódu bylo zavedeno číslování podle elektroforetické mobility: CK BB = CK 1, CK MB = CK 2 a CK MM = CK 3) a byly popsány izoformy CK. Elektroforéza izoenzymů CK s denzitometrickým vyhodnocením byla dovedena do komerční podoby. Pro diagnostiku akutního infarktu myokardu, jeho časový odhad a sledování trombolytické léčby byla vypracována sofistikovaná separace izoform CK MM, která se však příliš neujala (CK 3-1, CK 3-2) [17].

Ve snaze zvýšit specifčnost stanovení CK pro akutní infarkt myokardu bylo vyvinuto a do laboratorní praxe zavedeno imunoinhibiční stanovení katalytické koncentrace izoenzymu CK-MB, mnohem později pak stanovení jeho hmotnostní koncentrace (CK-MB mass) [14]. Doporučený primární referenční postup stanovení katalytické koncentrace CK podle IFCC byl publikován až v r. 2002 [20].

Fyziologické hodnoty katalytických koncentrací celkové CK v séru závisí na rase, pohlaví, věku, hmotnosti svalů a fyzické aktivitě. Dolní hranice aktivity celkové CK v séru (při 37 °C) je u zdravé dospělé populace kolem 0,4 μ kat/l. Horní hranice referenčního rozmezí je 3,2 μ kat/l u mužů a 2,8 μ kat/l u žen. Hned po narození může být aktivita kreatinkinázy běžně až 10krát zvýšena, ale pak rychle klesá a po prvním roce života dosahuje hodnot jen o málo vyšších než u mužů. Fyziologické hodnoty katalytické koncentrace izoenzymu CK-MB v séru dospělých osob jsou do 0,4 μ kat/l. U novorozenců jsou také několikanásobně vyšší.

Celková CK se významně zvyšuje u onemocnění kosterních svalů jako jsou svalové dystrofie, zejména Duchennova choroba, a u všech typů poškození svalů nadměrným zatížením, ischemií, úrazem, operačním výkonem apod. Při toxickém poškození kosterního svalstva nebo při progresivní svalové dystrofii se může hodnota CK v séru zvýšit až 1000krát. Celková CK v séru se zvyšuje při akutním infarktu myokardu (AIM), ale také při zánětech myokardu a perikardu, operačních výkonech na srdci nebo při plicní embolii.

Maximální zvýšení u infarktu bývá asi 25násobkem normálu, jsou-li hodnoty ještě vyšší, jde o současné poškození kosterního svalstva. Typický průběh elevační vlny celkové kreatinkinázy při infarktu myokardu je charakteristický vzestupem za 4–8 hodin, maximum za 16–36 hodin a návratem k normální hladině za 3–6 dní. Pacienti, kteří neměli prokázaný infarkt na EKG, nemusí mít zvýšenou sérovou hladinu CK. Při angině pectoris je obvykle aktivita CK v referenčním rozmezí a jen o málo vyšší je při srdečních vadách a tachykardii.

Myokarditida se rovněž příliš neprojevuje, ale u akutní virové formy může docházet až k 10násobnému zvýšení. Kardiochirurgické výkony vyvolávají zvýšení CK spíše jako důsledek traumatu na hrudních svalech.

Zvýšená koncentrace izoenzymu CK-MB v krvi může být způsobena rozsáhlým poškozením kosterního svalstva, ale je-li poměr CK-MB k celkové CK větší než 0,1, potom se jedná o poškození myokardu. Při infarktu je odezva CK-MB rychlejší než CK-MM. K normalizaci dochází již po 2 dnech. Když se objeví další maxima, pak se jedná o reinfarkty. Podíl aktivity CK-MB může dosáhnout až 30 % celkové aktivity kreatinkinázy. Zájem o izoenzym CK-MB byl podmíněn dále i zjištěním, že vrchol jeho vlny závisí na reperfuzi infarktového ložiska: při reperfuzi se dostaví za 10 hodin, u pokračujícího uzávěru až asi za 20 hodin.

Myoglobin

Myoglobin je malý hemoprotein složený z jediného polypeptidového řetězce s vysokým podílem alfa-helikální struktury a s jedním hemem (Mr 17 800). Vyskytuje se v cytoplazmě svalových buněk, především kosterních svalů, ale i v srdeční a hladké svalovině. Myoglobiny z kosterního, srdečního i hladkého svalu se navzájem neliší.

Funkcí myoglobinu je intracelulární vazba kyslíku. Na šesté koordinační místo hemového železa se při oxygenaci váže molekula kyslíku. Celkové množství kyslíku vázaného na veškerý myoglobin, který je k dispozici, je různé podle parciálního tlaku kyslíku ve svalové tkáni. Křivka závislosti procenta nasycení má na rozdíl od hemoglobinu hyperbolický průběh, z něhož vyplývá, že uvolnění kyslíku z vazby a jeho předání mitochondriím nastává až při poklesu pO_2 pod 5 mm Hg (0,665 kPa), jako je tomu v pracujícím svalu.

Fyziologické hodnoty koncentrace myoglobinu v séru jsou u mužů nejčastěji kolem 34 mg/l a u žen 22 mg/l, ale i u zdravé populace mohou být hodnoty více než dvojnásobné. V ledvinách je myoglobin z glomerulárního filtrátu vychytáván a katabolizován v proximálním tubulu. Z buněk se myoglobin může rychle uvolnit a přestoupit do cirkulace už po velmi malém poškození svalů. To platí i o myokardu [8]. Elevační vlna je rychlá (nástup za 1 hodinu), prudká (maximum za 6–7 hodin) a značně velká (až 100násobek běžné koncentrace). Při AIM je myoglobin v krvi tedy detekovatelný v době, kdy se pacient obvykle dostává do nemocnice, je poprvé vyšetřován a odebraný vzorek jeho krve je odeslán do laboratoře. Zvýšená hladina myoglobinu v krvi se při nekomplikovaném průběhu vrací k normě do 24 hodin [26].

Myoglobin má vysokou citlivost pro AIM (90–100%), je to však nespecifický marker. Pro interpretaci výsledků stanovení je třeba zvažovat další možné důvody zvýšení myoglobinu v séru, jako je zhmoždění či jiné onemocnění kosterních svalů spojené s uvolněním myoglobinu a/nebo zpomalení vylučování myoglobinu při selhání ledvin. Pro stanovení myoglobinu však rozhodující měrou hovoří časový faktor i analytická citli-

vost. Vyšetření myoglobinu má dále vysokou negativní predikční hodnotu: pokud se myoglobin v krvi nezvýší ani za 10 hodin od začátku bolesti na hrudi, lze s vysokou pravděpodobností infarkt myokardu vyloučit.

Myoglobin se projevil jako užitečný ukazatel reperfuze ischemického ložiska a tím i dobrý prognostický faktor. Podobně byla hodnocena i sérová N-acetylglukosaminidáza. Jako užitečné z hlediska prognózy AIM jsou popisovány mj. také natriuretické peptidy (ANP a BNP) nebo troponin T.

Výše zmíněná směrnice LMPG doporučuje myoglobin jako „časný“ marker AIM [4].

Fatty acid-binding protein

Po myoglobinu se výzkumné úsilí zaměřilo na hledání dalších, stejně časných, ale specifitějších ukazatelů. K neznámějším náleží srdeční forma proteinu vázajícího mastné kyseliny (fatty acid-binding protein, FABP), dále izoenzym BB glykogenfosforylázy, lehké řetězce myosinu, fosforylovaný srdeční troponin I, rozpustný p-selectin, ale zkoumán byl pro tento účel i B-typ natriuretického peptidu, sérová deoxyribonukleáza I, nebo s těhotenstvím spojený plazmatický protein A (PAPP-A).

Proteiny vázající mastné kyseliny byly popsány nejdříve v tenkém střevě [13], později v játrech [9] a v dalších orgánech a tkáních. Jedná se o nízkomolekulární cytoplazmatické proteiny, které jsou exprimovány hlavně ve tkáních s cílým metabolismem mastných kyselin a perzistují tam s poločasem 2–3 dnů. 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. Tyto proteiny se při poškození tkání uvolňují z buněk a pronikají do krevního oběhu.

Využití srdeční formy proteinu vázajícího mastné kyseliny (H-FABP) jako kardiálního markeru bylo popsáno v letech 1989–2002 řadou autorů, kteří jsou uvedeni v přehledu [16]. Elevační vlna H-FABP při AIM je podobná jako u myoglobinu. Oproti myoglobinu má však H-FABP výhody ve specifitě, vyšším obsahu v myokardu i ve vyšší koncentraci v krvi a ve větší míře odezvy při poškození kardiomyocytu. H-FABP se tedy s výhodou může použít jako časný marker AIM. Některé studie naznačují možnost využití H-FABP jako prognostického faktoru u pacientů s akutním koronárním syndromem [21] a jako citlivého markeru nestabilní anginy pectoris [25].

Glykogenfosforyláza, izoenzym BB

Glykogenfosforyláza je enzym lokalizovaný v endoplazmatickém retikulu. Má tři orgánově specifické izoenzymy: svalový (z kosterního svalu) MM (muscle), jaterní LL (liver) a mozkový BB (brain), který se však nachází také v myokardu. Při ischemii je intenzivnější nejen glykolýza, ale i glykogenolýza, aktivuje se více glykogenfosforylázy „a“ na glykogenfosforylázu „b“, a ta se ve zvýšené míře vyplavuje z buňky.

Glykogenfosforyláza se při AIM uvolňuje z myokardu stejně rychle jako myoglobin, vrchol elevační vlny v krvi bývá 20násobkem fyziologického rozmezí a k normě se navrácí asi do dvou dnů. Vyšetření glykogenfosforylázy BB se v rutinní praxi dosud neujalo.

Troponiny

Troponiny jsou bílkoviny, které ve formě tzv. troponinového komplexu jsou spolu s aktinem a tropomyosinem součástí tenkých svalových vláken. Troponinový komplex je přítomen pouze v kosterním a srdečním svalu. Největší je troponin T ($M_r = 37\ 000$, podle jiných $39\ 000$), který váže troponinový komplex k tropomyosinu a současně váže dvě sousední vlákna tropomyosinové molekuly navzájem. Existuje v několika molekulových izoformách, z nichž jedna je přítomna ve fetálním kosterním svalu, nikoli však v kosterním svalu zdravého dospělého. Uvádí se, že gen pro troponin T v kosterním svalu se může reexprimovat při některých chronických svalových chorobách. Troponin T v srdečním svalu (cTnT) je kardiospecifický a imunochemicky rozlišitelný od podobné bílkoviny kosterního svalstva.

Menší troponin I je moderátorem aktivity srdeční aktomyosin-ATPázy v závislosti na množství vápenatých iontů vázaných na troponin C. V klidovém stavu zamezuje tvorbě můstků mezi myosinem a aktinem. Tato inhibice je zrušena, když je troponin C nasycen vápníkem. Troponin T se vyskytuje ve třech tkáňových izoformách. Tzv. rychlá a pomalá izoforma je přítomna v kosterním svalu a obě mají stejnou molekulovou hmotnost ($19\ 800$). Srdeční izoforma troponinu I (cTnI) má molekulovou hmotnost $24\ 000$ a na rozdíl od skeletálních izoform obsahuje navíc na N-konci molekuly specifickou sekvenci 31 aminokyselin.

Nejmenší troponin C ($M_r = 18\ 000$) má 4 vazebná místa pro vápník. Je strukturně a funkčně analogický kalmodulinu, bílkovině vázající vápník v hladkém svalu a v jiných tkáních. Zatímco specifitě troponinů T a I spočívá v existenci kardiospecifických izoform, je srdeční troponin C totožný s troponinem z kosterního svalu, a proto není vhodný pro kardiální diagnostiku.

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. degradací karboxy- nebo aminotermiálních aminokyselin polypeptidového řetězce, fosforylací, oxidací nebo redukcí, které jsou podkladem vzniku dalších izoform.

Hladina troponinů v séru je za normálních okolností téměř neprokazatelná. Při poškození kardiomyocytu se troponiny ze srdečního svalu poměrně rychle vyplavují do cirkulace. Stanovení troponinu v krvi pro diagnostiku AIM bylo poprvé popsáno v r. 1987 [6]. Při AIM je vzestup poněkud rychlejší než u CK-MB, neboť nárůst koncentrace cTnT v séru nastává už za 4 hodiny po nástupu symptomů, u cTnI ještě dříve. Cirkulující hla-

dina troponinu T zůstává zvýšena až 14 dnů. Jeho trvalým uvolňováním v důsledku proteolytické degradace tkáně může stoupat po 10 dnech až k hodnotám 40 µg/l. I při běžném infarktu přetrvává zvýšení troponinu T dva týdny a jeho vyšetření může být použito jako pozdní marker infarktu myokardu.

Troponin I je nejspecifičtější marker infarktu myokardu. Začátek elevace je stejný jako u troponinu T, návrat k normě je rychlejší. Oba uvedené troponiny jsou vhodné k monitorování nestabilní anginy pectoris. Poločas cTnI, podobně jako cTnT v séru činí 2–4 hodiny [26].

Troponiny nahrazují (podle jiných „doplňují“) stanovení MB izoenzymu kreatinkinázy (CK-MB) a mají proti němu v tomto směru řadu předností. Srdeční troponiny jsou kardiospecifičtější, tj. stanovení není rušeno přítomností skeletálních troponinů. Jejich „normální“ koncentrace v krvi je tak nízká, že je na hranici stanovitelnosti. Nevýhodou diagnostiky pomocí troponinů je nespecifické zvýšení při chronické renální insuficienci. Pro interpretační účely se stanovuje nejen referenční rozmezí hodnot troponinu, ale i rozhodovací hranice (cut-off), tj. hodnota koncentrace troponinu, od níž jde s vysokou pravděpodobností o AIM. Při AIM vzrůstá koncentrace troponinu až o několik řádů a rozsah zvýšení je úměrný velikosti poškození myokardu. Při mírné srdeční ischemii může být zvýšení jen málo nad horní hranici normy. Podle průběhu elevační vlny troponinů lze usuzovat také na trvalý uzávěr nebo na perfuzi.

Ischémií modifikovaný albumin

Mezi markery ischemie dnes dominuje ischemií modifikovaný albumin (IMA) [2], ale studují se rovněž cholin z plné krve (whole blood cholin, WBCHO, viz dále), volné mastné kyseliny v séru, plazmatické triacylglyceroly, homocystein, adhezni molekuly a další.

Vyšetření IMA je založeno na skutečnosti, že albumin lidského séra mění při tkáňové hypoxii své vlastnosti, v tomto případě schopnost vazby pro kationty některých kovů (v jednom z komerčních kitů jsou to ionty Co^{2+} , proto „albumin cobalt binding test“, ACB). Biochemickým podkladem je vznik volných kyslíkových radikálů, které atakují N-terminální konec molekuly albuminu, a tím snižují jeho vazebnou kapacitu.

Stanovení IMA je indikováno jako časný marker u pacientů přijatých pro bolest na hrudi s podezřením na AIM, při negativním EKG a/nebo normální hodnotě troponinu a dále u pacientů se známým rizikem akutního koronárního syndromu. U IMA se oceňuje především negativní prediktivní význam stanovení, nejlépe právě v kombinaci s EKG a troponinem.

Jako časný marker AIM se začátek elevační vlny IMA objevuje řádově v minutách po začátku bolesti [10]. Vrcholu dosahuje podle charakteru ischemie za jednu i více hodin a normalizuje se za 6–12 hodin. Zvýšení není kardiospecifické, protože IMA vzrůstá při tkáňové ischemii kdekoli v organismu.

Cholin

Cholin vzniká enzymovou hydrolyzou molekuly lecitinu, katalyzovanou fosfolipázou D. Tento enzym je přítomen ve tkáních i v leukocytech. Jeho aktivace je spojena se stimulací makrofágů oxidovanými LDL, se sekrecí metaloproteináz, s aktivací trombocytů kolagenem a trombinem a se zvýšenou vazbou fibrinogenu na glykoproteinové receptory IIb/IIIa, tedy s ději vedoucími k destabilizaci sklerotického plátu. Fosfolipáza aktivovaná tkáňovou ischemií uvolňuje cholin z membránových fosfolipidů a uvolněný cholin je sekundárně inkorporován do krevních buněk. Koncentrace cholinu v plné krvi (WBCHO) je přímo úměrná aktivitě fosfolipázy D.

Hladina cholinu je významně zvýšena u pacientů s nestabilní anginou pectoris a s AIM [7]. Z ostatních příčin zvýšení byly popsány nádorové choroby (chronická myeloidní leukémie), jaterní a ledvinové selhání. Kombinace stanovení WBCHO a troponinů se doporučuje pro posouzení rizika destabilizace aterosklerotického plátu. Relativní překážkou širšího využití cholinu v laboratorní praxi je náročná metodika stanovení používající vysoce účinnou kapalinovou chromatografii s hmotnostní spektrometrií.

Natriuretické peptidy

Peptidy se silnou natriuretickou aktivitou byly objeveny r. 1981 v extraktech z krysích srdečních síní. Přehled uvádí Patočka [15]. Později byly nalezeny také v jiných tkáních a u dalších živočichů včetně člověka. Kromě atriového natriuretického peptidu (ANP, A-typ natriuretického peptidu, dříve též atriový natriuretický faktor nebo atriopeptin) byly popsány také mozkový natriuretický peptid (BNP, B-typ natriuretického peptidu), C-typ (CNP) a nejnověji i D-typ natriuretického peptidu (DNP).

Jednou z mnoha funkcí těchto tkáňových hormonů je stimulace vylučování Na^+ (a vody) v reakci na zvýšení tlaku krve či napětí srdečního svalu, a tím snížení cirkulujícího objemu. Pro diagnostiku srdeční insuficience je nejvhodnější BNP, respektive jeho N-terminální propeptid NT-proBNP, jejichž hodnoty dobře korelují s klasifikací podle NYHA.

Roku 2004 byl autorským kolektivem 12 předních amerických kardiologů publikován zásadní dokument „BNP Consensus Panel“, shrnující roli B-typu natriuretického peptidu v diagnostice, screeningu, léčbě, monitorování a odhadu prognózy srdečního selhání [23]. Tímto dokumentem, ale také využitím stanovení BNP u asymptomatického srdečního selhání a efektivností nákladů na vyšetření BNP, se zabýval workshop vedený dr. Allanem Wu v rámci 19. mezinárodního kongresu klinické chemie a laboratorní medicíny v Orlando (Florida, USA) v r. 2005.

Ani natriuretické peptidy však nezůstaly u srdečního selhání osamoceny. Zvláště v posledních dvou letech byla publikována řada prací zabývajících se takovými markery, jako jsou např. endothelin, protein B, opět zánětlivé proteiny, nádorové markery nebo neurohormony.

Markery zánětu

Markery zánětu se řadí převážně mezi prognostické faktory vzniku akutního koronárního syndromu. Spadají sem jak prozánětlivé cytokiny, adhezní molekuly a reaktanty akutní fáze, tak protizánětlivé faktory, jako jsou např. aktivin nebo interleukin 10. Zde uvedeme pouze několik vybraných příkladů.

C-reaktivní protein (CRP) vděčí za svůj objev v r. 1930 i za svůj název skutečnosti, že šlo o bílkovinu reagující s polysacharidem C pneumokoků. O dalších jedenáct let později, když byl izolován, se zjistilo, že CRP je běžnou humorální součástí každé akutní zánětlivé reakce. Byl proto zařazen mezi bílkoviny „akutní fáze“. Chemicky jde o pentamer o Mr 118 000 syntézovaný v játrech (již ve fetálních a novorozeneckých). Syntézu CRP podporují cytokiny uvolňované z leukocytů a z endotelií (IL6, IL11, TNF alfa a beta).

Každá podjednotka molekuly CRP váže 2 ionty kalcia a příslušná vazebná část vykazuje homologii s kalmodulem. Navázání vápníku podmiňuje další funkční vlastnosti CRP: reakci se zmíněným C-polysacharidem pneumokoků a s jinými bakteriemi a parazity, vazbu na porušené membrány, na chromatin, fibronektin a laminin, aktivaci komplementu aj.

Jako protein akutní zánětlivé reakce je CRP charakteristický relativně časným vzestupem (6–10 hodin), vysokým vrcholem (až 100násobkem normy) a krátkým poločasem v cirkulaci (19 hodin). Výška elevační vlny v krvi a návrat hodnot k normě jsou závislé na charakteru a trvání zánětu. Chování CRP při AIM je velmi podobné, ale s tím rozdílem, že elevační vlna nebývá tak vysoká. Protrahované zvýšené hodnoty CRP v krvi mohou naznačovat postinfarktové zánětlivé komplikace.

Ukázalo se, že z preventivních důvodů je vhodné sledovat nízké koncentrace CRP v séru metodami vysoce citlivého stanovení (hsCRP) [18]. CRP totiž sám podporuje zánět a protrombotickou odpověď u aterosklerotického procesu. V rámci primární prevence jsou hodnoty pod 1 mg/l spjaté 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.

Pod názvem **sérový amyloid A (SAA protein)** se skrývá skupina příbuzných sérových bílkovin s průměrnou Mr pouhých 12 kDa. Jsou prekurzory tkáňového amyloidu AA. Jsou syntézovány v játrech, ale také ve fibroblastech a v makrofázích. Syntézu podporují IL1, IL6 a TNF. V cirkulaci se SAA váže na HDL (zejména HDL 3) částice, méně na LDL a VLDL, a jen některé z SAA patří k „proteinům akutní fáze“. Degradace probíhá patrně v hepatocytu po přijetí HDL částice.

Jako reaktant akutní fáze je SAA charakterizován rychlejším nástupem než CRP a velmi vysokým vrcholem (až 1000násobkem). Podobně rychlý, ne však tak vysoký, bývá nárůst SAA při AIM. Jde o nespecifický ukazatel, který se kromě infekčních zánětů využívá též při traumatech a malignitách.

Leptin patří spolu s adiponektinem, TNF-alfa, IL-6 a rezistinem do skupiny tzv. adipocytokinů. Na rozdíl od původního objevu leptinu, jako proteinu syntézova-

ného v adipocytech a regulujícího metabolismus tukové tkáně, ukazují nové zprávy na jeho přítomnost také v jiných tkáních, mj. i v kosterním a srdečním svalu, cévách a v mozku. Leptin účinkuje prostřednictvím řady izoform specifických receptorů, které jsou přítomny v endotelu kapilár, v hladké svalovině a v myokardu [19].

Vedle svých metabolických efektů (zvýšení výdeje energie, snížení oxidace mastných kyselin a ukládání energie, omezení vlivu inzulínu ve svalech) aktivuje leptin produkci prozánětlivých cytokinů, zvyšuje oxidační stres, působí remodelaci cév a vede k hypertrofii kardiomyocytů. Na základě vyšší sérové hladiny leptinu u AIM a iktu naznačují klinické studie jeho význam jako urychlujícího činitele aterosklerotických mechanismů. Vyšší hladina leptinu koreluje s horší prognózou u pacientů s chronickou srdeční insuficiencí [5], s AIM [28] i s mozkovou mrtvicí [24]. Širšímu použití leptinu jako prognostického ukazatele poněkud brání závislost jeho koncentrací v krvi na tukové hmotě a indexu tělesné hmotnosti (BMI) a jeho cirkadiánní rytmus.

Laboratorní testy používané dříve

Pro doplnění uvedme laboratorní testy, které se hojně používaly v éře „před kreatinkinázou“. Jejich informační hodnota je vzhledem k pozdnímu nástupu, velké elevační vlně, nízké citlivosti a/nebo malé specificitě dnes již zcela nedostačující a pro daný účel je tedy lze označit za obsolentní.

Enzym **aspartátaminotransferáza (AST)** je v srdečním svalu v relativně nejvyšší koncentraci. Časové rozpětí, gradient i relativní výška elevační vlny AST v séru při poškození myokardu jsou podobné jako u CK. Pochopitelně, číselné hodnoty katalytických koncentrací jsou vyšší u CK, neboť referenční rozmezí pro AST je u mužů do 0,58 μ kat/l (při 37 °C), u žen je asi o 20 % nižší a u dětí naopak asi o 30 % vyšší. Jestliže je poměr číselných hodnot naměřených katalytických koncentrací CK/AST > 10, pak se nejedná o infarkt, ale o svalové postižení. Myokarditida se projevuje zvýšením hladiny AST až 10krát, zatímco arytmie vyvolávají jen mírné zvýšení.

Cytosolový enzym **laktátdehydrogenáza (LD)** je přítomen v celé řadě orgánů a tkání. Stanovení celkové katalytické koncentrace LD v séru proto také není orgánově specifické. Diagnosticky cennější bylo sledování izoenzymů. Jsou to tetramery složené ze dvou typů polypeptidových podjednotek, H (heart) a M (muscle). V srdečním svalu se nacházejí tetramery složené převážně z podjednotek H (HHHH = LD₁ nebo HHHM = LD₂).

Ve srovnání s CK a AST je při AIM elevační vlna LD v krvi pomalejší a mírnější (relativní vzrůst je asi 1/3, ale má delší trvání). Stanovení LD v séru se používalo k dodatečnému potvrzení infarktu, protože zvýšená hladina zde přetrvává i přes 2 týdny. Vyšetření izoenzymů LD nebylo vždy jednoznačným příspěvkem k diagnóze. U akutního infarktu myokardu a myokarditidy dochází ke zvýšení LD₁, ale např. při tachykardii se zvyšuje jaterní frakce LD₅ (= tetramer MMMM) vlivem městnání v játrech.

Hydroxybutyrátdehydrogenáza (HBD) je souborné označení pro izoenzymy laktátdehydrogenázy LD₁ a LD₂, které ochotně katalyzují také přeměnu alfa-hydroxybutyrátu jako substrátu. Katalytická koncentrace HBD v séru zdravé dospělé populace (LD₂ > LD₁) dosahuje 3 μkat/l, u dětí jsou normální hodnoty až o 50 % vyšší a u kojenců dokonce až dvojnásobné. Elevační vlna HBD v krvi při infarktu myokardu pochopitelně odpovídá celkové LD, ale je ještě o něco širší a s nižším gradientem [1, 11].

Závěr

Tento přehled si nečiní nároky na vyčerpávající informaci o kardiálních markerech. State-of-the-art této problematiky shrnula v r. 1998 a potom znovu v r. 2003 obsáhlá publikace „Cardiac markers“, jejímž editorem je Allan H. B. Wu [29]. Na jejím druhém vydání se podílelo 46 autorů z 11 zemí. Ve svých 6 oddílech se publikace zabývá jak všeobecným nasazením kardiálních markerů v klinické praxi, tak speciálními aspekty použití troponinů, a dále časnými markery ischemie myokardu, markery městnavého srdečního selhání, analytickými parametry stanovení srdečních markerů, a dokonce i vlivem infekčních chorob a genetickými aspekty akutního koronárního syndromu.

Kapitola „kardiálních markerů“ tedy zůstává i nadále otevřená. Stále více se ukazuje, že pokračuje hledání časnějších, specifitějších a senzitivnějších markerů na straně jedné a hledání spolehlivějších prediktivních a prognostických faktorů na straně druhé.

O aktuálnosti tématu svědčí i skutečnost, že mezi vítězi soutěže IFCC-Roche Diagnostic Award v r. 2005 byla práce dr. Thomase Müllera et al. (Linz, Rakousko) „Diagnostic accuracy of the B-type natriuretic peptide and aminoterminal proBNP in the emergency diagnosis of heart failure“ a čestná uznání získaly další dvě práce zabývající se markery srdečního selhání a časnou detekcí AIM.

A konečně, v říjnu 2006 se v Baltimore (MD, USA) koná 27. Arnold Beckman Conference s ústředním tématem „Emerging Cardiac Markers: Establishing Guidelines for Risk Assessment“.

O zájmu o toto téma v našich krajích svědčí 3 významné a bohatě navštívené odborné akce, které se konaly v rozmezí jediného roku. První z nich byla jednodenní konference o kardiálních markerech, s účastí předních světových odborníků, uspořádaná v Nemocnici Na Homolce v březnu 2005. Druhou akcí bylo symposium „Biochemické markery poškození myokardu“ v rámci 7. sjezdu ČSKB (Olomouc, září 2005) a třetí byl pracovní den ČSKB s názvem „Laboratorní diagnostika srdečních chorob“ konaný v Olomouci v březnu 2006.

Literatura

1. **Apple, F. S., Jaffe, A. S.** *Cardiac function*. In Burtis, C. A., Ashwood, E. R., Bruns, D. E. (Ed.) *Tietz textbook of clinical*

chemistry and molecular diagnostics. 4th edition. St. Louis, USA : Elsevier Saunders Inc. 2006, p. 1619–1670.

2. **Baror, D., Winkler, J., VanBenthuyzen, K., Hartus, L., Lau, E., Hetzel, F.** Reduced cobalt binding of human albumin with transient myocardial ischemia following elective percutaneous transluminal coronary angioplasty compared to CK-MB, myoglobin and troponin I. *Am. Heart J.*, 2001, 141, p. 985–991.

3. **Beishuizen, A., Hartemink, K. J., Vermes, I., Groeneveld, A. B. J.** Circulating cardiovascular markers and mediators in acute illness: an update. *Clin. Chim. Acta*, 2005, 354, p. 21–34.

4. Biomarkers of acute coronary syndrome and heart failure 2004. Dostupný na www: <http://www.nacb.org>.

5. **Chua, T. P., Ponikowski, P., Harrington, D. et al.** Clinical correlates and prognostic significance of the ventilatory response to exercise in chronic heart failure. *J. Am. Coll. Cardiol.*, 1997, 29, p. 1585–1590.

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

7. **Danne, O., Möckel, M., Lueders, C. et al.** Prognostic implications of elevated whole blood choline levels in acute coronary syndromes. *Am. J. Cardiol.*, 2003, 91, p. 1060–1067.

8. **Gibler, W. B., Gibler, C. D., Weinschenker, E. et al.** Myoglobin as an early indicator of acute myocardial infarction. *Ann. Emerg. Med.*, 1987, 16, p. 851–856.

9. **Gordon, J. I., Manning, J. A., Kane, J. P.** Fatty acid-binding protein. Isolation from rat liver, characterisation, and immunochemical quantification. *Biol. Chem.*, 1982, 257, p. 7872–7878.

10. **Hamm, C. W.** Cardiac biomarkers for rapid evaluation of chest pain. *Circulation*, 2001, 104, p. 1454–1456.

11. **Masopust, J.** *Klinická biochemie*. Požadování a hodnocení biochemických vyšetření. Část I a II. Praha : Karolinum 1998, ISBN 80-7184-649-3.

12. Myocardial infarction redefined – A consensus document of the Joint European Society of Cardiology/American College of Cardiology Committee for the redefinition of myocardial infarction. *J. Am. Coll. Cardiol.*, 2002, 36, p. 959–969.

13. **Ockner, R. K., Manning, J. A.** Fatty acid-binding protein in small intestine. Identification, isolation and evidence for its role in cellular fatty acid-transport. *J. Clin. Invest.*, 1974, 54, p. 326–338.

14. **Panteghini, M.** Diagnostic application of CK-MB mass determination. *Clin. Chim. Acta*, 1998, 272, p. 23–31.

15. **Patočka, J.** *Natriuretické peptidy: 25 let historie*. In Bull. Čs. Spol. Biochem. a Mol. Biol., 2005, 2, s. 48–51.

16. **Pelsers, M. M. A. L., Hermes, W. T., Blaty, J. F. C.** Fatty acid-binding proteins as plasma markers of tissue injury. *Clin. Chim. Acta*, 2005, 352, p. 15–35.

17. **Puleo, P. R., Perryman, M. B., Bresser, M. A., Rokey, R., Pratt, C. M., Roberts, R.** Creatine kinase isoform analysis in the detection and assessment of thrombolysis in man. *Circulation*, 1987, 75, p. 1162–1169.

18. **Rocker, P. M.** Clinical application of C-reactive protein for cardiovascular disease detection and prevention. *Circulation*, 2003, 107, p. 363–369.

19. **Schulze, P. Ch., Kratzsch, J.** Leptin as a new diagnostic tool in chronic heart failure. *Clin. Chim. Acta*, 2005, 362, p. 1–11.

20. **Schumann, G., Bonora, R., Ceriotti, F. et al.** IFCC Primary Reference Procedures for the Measurement of Catalytic Activity Concentrations of Enzymes at 37 °C. Part 2. Reference Procedure for the Measurement of Catalytic Activity Con-

centration of Creatine Kinase [ATP: Creatine N-Phosphotransferase (CK), EC 2.7.3.2]. *Clin. Chem. Lab. Med.*, 2002, 40, p. 635–642.

21. **Seino, Y., Tomita, Y., Takano, T., Ohbayashi, K.** Tokyo Rapid-Test Office Cardiologists (Tokyo-ROC) Study. Office cardiologists cooperative study on whole blood rapid panel tests in patients with suspicious acute myocardial infarction: comparison between heart-type fatty acid-binding protein and troponin T tests. *Circ. J.*, 2004, 68, p. 144–148.
22. **Shell, W. E., Kjekshus, J. K., Sobel, B. E.** Quantitative assessment of the extent of myocardial infarction in the conscious dog by means of analysis of serial changes in serum creatine phosphokinase activity. *J. Clin. Invest.*, 1971, 50, p. 2614–2625.
23. **Silver, M. A., Maisel, A., Yancy, C. et al.** BNP Consensus Panel 2004: A clinical approach for the diagnostic, prognostic, screening, treatment monitoring, and therapeutic roles of natriuretic peptides in cardiovascular diseases. *Congest Heart Fail*, 2004, 5 (Suppl. 3), p. 1–28.
24. **Sodenberg, S., Stegmayr, B., Stenlund, H. et al.** Leptin, but not adiponectin predicts stroke in males. *J. Intern. Med.*, 2004, 256, p. 128–136.
25. **Tamara, K., Fujita, M., Miyamoto, S., Doi, K., Nishimura, K., Komeda, M.** Pericardial fluid level of heart-type cytoplasmic fatty acid-binding protein (H-FABP) is an indicator of severe myocardial ischemia. *Int. J. Cardiol.*, 2004, 93, p. 281–284.
26. **Tucker, J. F., Collins, R. A., Anderson, A. J. et al.** Early diagnostic efficiency of cardiac troponin I and cardiac troponin T for acute myocardial infarction. *Acad. Emerg. Med.*, 1997, 4, p. 13–21.
27. **Witteveen, S. A. G. J., Hermes, W. T., Hemker, H. C., Hol-laar, L.** Quantitation of enzyme release from infarcted heart muscle. In Haas, J. H., Hemker, H. C., Snellen, H. A. (edit.) *Ischemic heart disease*. Baltimore : Williams and Wilkins 1970, p. 36–42.
28. **Wolk, R., Berger, P., Lennon, R. J., Brilakis, E. S., Johnson, B. D., Somers, V. K.** Plasma leptin and prognosis in patients with established coronary atherosclerosis. *J. Am. Coll. Cardiol.*, 2004, 44, p. 1819–1824.
29. **Wu, A. H. B.** *Cardiac markers*. 2nd. Ed. New Jersey, : Humana Press Inc. 2003, ISBN 1-58829-036-0.

Do redakce došlo 26. 6. 2006.

Adresa pro korespondenci:
Doc. MUDr. Petr Schneiderka, CSc.
Oddělení klinické biochemie
Fakultní nemocnice Olomouc
I. P. Pavlova 6
775 20 Olomouc
e-mail: schneidp@fnol.cz

Tematický plán kurzů Katedry klinické biochemie IPVZ pro období leden – červen 2007 (část 3)

211005 Specializační kurz v klinické biochemii – 6. lékařská část

Určeno pro lékaře před atestací z klinické biochemie.

Program: Klinicko-biochemická problematika onemocnění CNS, vyšetření likvoru. Biochemický obraz traumat mozku. Enzymová imunoanalýza. Imunochemické metody bez markerů. Speciální imunochemické metody, metody s radioaktivními izotopy, metody používající fluorometrické a luminometrické detekce, problematika kalibrace a standardizace imunochemických metod, význam referenčních materiálů. Pohybový aparát, skelet a svaly. Laboratorní diagnostika poruch kalciofosfátového metabolismu. Metabolická problematika nutrice u osteoporózy. Laboratorní diagnostika a monitorování léčby onemocnění štítné žlázy, karcinoid a hormony gastrointestinálního traktu. Laboratorní diagnostika hypotalamo-hypofyzárních onemocnění a chorob nadledvin. Myokard, cévní systém, možnosti detekce chorob myokardu. Hypertenze a její biochemické konsekvence.

Vedoucí: prof. MUDr. A. Jabor, CSc.

Místo konání: Praha 4, Budějovická 15

Kurzovné: 1250,- Kč

Termín konání: 16.–20. 4. 2007

Program: Principy řízení jakosti v laboratoři, interní a externí kontrola kvality. Kalibrace, teorie a praxe. Metrologie, návaznost, nejistota. Komunikace a laboratorní ekonomika. Evidence based medicine. Validace a verifikace metod, akreditace a certifikace.

Vedoucí: ing. L. Šprongl

Místo konání: Praha 4, Budějovická 15

Kurzovné: 1250,- Kč

Termín konání: 4.–8. 6. 2007

211007 Kurz – Hemokoagulace – vyšetřování a interpretace

Určeno pro laboranty komplementu.

Program: Tromboplastinový čas, APTT, konzumpční test, fibrinogen, trombinový čas, faktor II, V, VII, X, etanolový test, fibrinolyza, D-dimery, antitrombin III, krvácivost, retrakce koagula, optimalizace pracovních postupů, indikace a základy interpretace v klinické praxi.

Vedoucí: prof. MUDr. M. Engliš, DrSc., MUDr. J. Čermák, CSc.

Místo konání: Praha 4, Budějovická 15

Kurzovné: 500,- Kč

Termín konání: 9. 1. 2007

211006 Specializační kurz v klinické biochemii – 8. analytická část: Metrologie a řízení

Určeno pro biochemiky-analyticky ve specializační přípravě, případně lékaře v přípravě k evropské atestaci z klinické biochemie a analytiky jiných laboratorních oborů.

(pokračování na s. 170)