

Úvod

Ischemická choroba srdeční (ICHS) a její akutní forma, **infarkt myokardu (IM)**, patří k nejzávažnějším onemocněním současné doby. Ischemie srdečního svalu vzniká jako výsledek disproporce mezi množstvím kyslíku buňce dodávaného a množstvím kyslíku, které buňka skutečně potřebuje. Rozsah poškození přitom závisí nejen na intenzitě a trvání ischemie, ale i na odolnosti srdečního svalu k nedostatku kyslíku

Hlavní příčinou ICHS je zúžení velkých, proximálních koronárních artérií aterosklerózou. Je-li průměr průsvitu velké koronární artérie zúžen o více než 60–70 % dochází již při velmi malé námaze nebo rozčilení k ischemii myokardu provázené bolestmi z nedostatku kyslíku. Jestliže bolest pomine, když zátěž skončí, hovoříme o **angině pectoris (AP)**. Jako *nestabilní* anginu pectoris označujeme náhle vzniklou nebo progresivně se zhoršující AP, dále stav, kdy se objeví anginózní potíže v subakutním období po proběhlém infarktu myokardu a konečně tzv. *klidovou* anginu pectoris, kdy typické bolesti vznikají v klidu. Nestabilní AP obvykle dříve či později vyústí v *akutní infarkt myokardu (AIM)*. I v případech, kdy k tomu nedošlo, nachází se v myokardu často drobné ischemické nekrózy (mikroinfarkty). Infarkt myokardu je akutní ložisková ischemická nekróza srdečního svalu vzniklá na podkladě náhlého uzávěru či progresivního extrémního zúžení věnčité tepny zásobující příslušnou oblast. Nejčastější příčinou IM je akutní vznik trombu v místě aterosklerotické stenózy.

Při ischemii je buňka nedostatečně zásobena kyslíkem a přechází na anaerobní metabolismus. Glykogen a glukosa jsou odbourávány na laktát. Množství ATP klesá, poněvadž není doplňováno aerobní fosforylací. Průtok krve stagnuje a v srdeční tkáni se akumulují kyselé metabolity (laktát). Zvyšuje se permeabilita buněčných membrán a z buňky mohou unikat bílkoviny obsažené v cytoplasmě. Pokud je přísun okysličené krve rychle obnoven (*reperfuze*), stav se může reverzibilně upravit. Trvá-li ischemie déle, zastavuje se v důsledku acidózy také glykolýza a dochází k ireverzibilnímu poškození buněk a jejich nekróze (infarkt). Do krve se dostávají i bílkoviny tvořící strukturu fibrilárního kontraktilního komplexu a bílkoviny mitochondriální (především troponin T a I a mitochondriální frakce CK a AST).

Základem diagnostiky IM při prvním kontaktu s nemocným zůstává stále EKG, základem pro definitivní diagnózu je však průkaz biochemických markerů¹. V současnosti se jednoznačně jako markery nekrózy myokardu používají **srdeční troponiny (Tn T a Tn I)**. Pro doplnění informace získané stanovením srdečních troponinů se využívají ve specifických situacích (např. reinfarkt) další pomocné testy, a sice stanovení **myoglobinu, CK a CK-MB mass**.

Definitivní diagnóza IM však musí být založena na typickém vzestupu biochemických markerů nekrózy myokardu (kardiální troponin T nebo I) při současné přítomnosti alespoň jednoho z následujících kritérií: klinické příznaky ischemie, vývoj patologických Q vln na EKG, EKG změny svědčící pro ischemii (ST elevace či deprese), souvislost s koronární intervencí (angioplastika, stent).

¹ V diagnostice srdečních onemocnění již nemá význam stanovení laktátdehydrogenázy a jejich izoenzymů a stanovení AST.

Z hlediska laboratorních parametrů hodnotících nekrózu myokardu má tedy jednoznačně zásadní význam stanovení srdečních troponinů, které je již standardní součástí diagnostiky akutního infarktu myokardu.

Význam stanovení TnT pro diagnostiku infarktu myokardu

TroponinT je strukturální bílkovinou a za fyziologických okolností se do plazmy může uvolnit jen při apoptóze myocytu a to v množství, které současnými metodami nedokážeme měřit. Z tohoto aspektu lze vyvodit, že v současné době není TnT u zdravých osob v plazmě prokazatelný. Při AIM dochází až **k sto i tisícinásobnému vzestupu hodnot** nad limit detekce.

Vysoká citlivost tak dovoluje najít mírně zvýšené hodnoty už i u nestabilní AP (tento nálezní svědčí o špatné prognóze onemocnění). Příčinou zvýšení TnT však mohou být i nekardiální stavy, kdy dospělý myocyt příčně pruhované svaloviny nabývá charakteru embryonálního, který má schopnost tvořit kardiospecifický cTnT; např. dermatomyozitida/polymyozitida nebo při regeneraci svalových vláken po úrazech. Zvýšení TnT také nacházíme až u třetiny dialyzovaných pacientů. Zvýšení troponinu u těchto onemocnění bude mít jinou dynamiku, než je typická pro AIM a současně klinický stav pacienta neodpovídá diagnóze AIM

Obdobné využití jako TnT při diagnostice AIM má i stanovení troponinu I (TnI). TnI jeví v séru pacientů podobnou kinetiku jako TnT. Jeho výhodou je, že není tvořen embryonálními buňkami kosterní svaloviny a u dialyzovaných pacientů je jeho vzestup méně častý než u TnT. Naopak nevýhoda stanovení spočívá v chybné standardizaci metody měření a z toho vyplývající obtížnosti při srovnávání výsledků. Podle současných názorů se zdá, že úloha obou troponinů v diagnostice AIM je zaměnitelná.

Ve srovnání s jinými ukazateli poškození myokardu je stanovení troponinů výrazně citlivější (zvláště a jen toto stanovení ukáže i velmi malé poškození myokardu, např. při nestabilní AP.).

Srdeční troponiny (cTn T a I) v současné době patří **jednoznačně k „zlatému standardu“** v diagnostice akutního infarktu myokardu (AIM). Jsou vysoce specifické, jejich stanovení vykazuje vysokou diagnostickou sensitivitu, jejich koncentrace mnohonásobně narůstají u AIM, vysoká citlivost stanovení umožňuje odhalit i minimální poškození myokardu a v neposlední řadě vlivem dlouhodobějšího přetrvávání zvýšených hodnot lze provést i pozdní diagnostiku AIM. Pro posouzení reinfarků se však kardiální troponiny využívají jen omezeně, což souvisí s jejich dlouhodobějším přetrváváním v krvi. V současné době trend diagnostiky AIM spočívá ve vývoji a zavádění nové generace metod stanovení troponinů-ultrasensitivních (hs cTnT, hs cTnI), což umožňuje stanovit nejen nižší koncentrace troponinů, ale i jejich časnější nástup po akutním infarktu.

Stanovení katalytické koncentrace CK-MB v séru

Kreatinkináza (CK) je cytoplazmatický enzym katalyzující fosforylaci kreatinu. Existují tři izoformy kreatinkinázy, každá z nich je tvořena dvěma podjednotkami, buď typu B (*brain*) a/nebo typu M

(*muscle*). Izoforma CK-MM se nachází převážně v kosterním a srdečním svalstvu. Izoforma CK-BB se nalézá ve vyšších koncentracích především v mozku, ale je produkována i placentou a dalšími tkáněmi. Izoforma CK-MB tvoří asi 40 % z celkové CK v srdečním svalstvu, ale je obsažena i v kosterním svalstvu kde tvoří 1–2 % z celkové CK. Zvýšená hladina CK-MB v séru je proto specifitějším markerem poškození myokardu než celková CK.

Princip: Izoforma CK-MB se skládá z podjednotky typu M a B. Protilátka specifická proti podjednotce M inhibuje kompletně katalytickou aktivitu celé frakce CK-MM a katalytickou aktivitu podjednotky M z frakce CK-MB. Měří se pouze katalytická koncentrace podjednotky B, která reprezentuje poloviční katalytickou koncentraci CK-MB v séru. Při stanovení se využije sled tří na sebe navazujících reakcí. Kreatinkináza katalyzuje reakci kreatinfosfátu s ADP za vzniku ATP a kreatinu. V následující enzymové reakci katalyzované hexokinázou ATP fosforyluje glukosu za vzniku glukosa-6-fosfátu. Další enzym glukosa-6-fosfátdehydrogenáza za účasti NADP⁺ oxiduje glukosa-6-fosfát za vzniku glukonát-6-fosfátu a NADPH. Vzrůst koncentrace NADPH (který je úměrný katalytické koncentraci CK) se projeví nárůstem absorbance reakční směsi při 340 nm.

Materiál: Set Kreatinkináza MB firmy Erba-Lachema^{*}: CK-čínidlo (obsahující imidazolový tlumivý roztok 92,6 mmol/l pH 6,1; glukosa 19,2 mmol/l; octan hořečnatý 9,5 mmol/l; EDTA 1,5 mmol/l; AMP 5 mmol/l; N-acetylcystein 19,2 mmol/l; diadenosinpentafosfát 19,8 μmol/l; AMP 4,8 mmol/l; NADP 1,85 mmol/l; hexokináza > 87, μkat/l; ADP 2,9 mmol/l; D-glukosa-6-fosfátdehydrogenáza > 28 μkat/l; kreatinfosfát 48 mmol/l), protilátky z kozího séra blokující kapacitu do 33,3 μmol/l; Vzorokrevních sér; mikropipetory 25 μl a 1000 μl; spektrofotometr Spekol 1300 a software WinAspect (nebo spektrofotometr Helios Delta a software VisionLite Rate) s temperovaným kyvetovým prostorem na 37 °C (Peltier termostat nebo vodní lázeň). *Alternativně mohou být použity testy firmy Roche Diagnostics, BioVendor, pak složení činidla je odlišné.

Význam stanovení CK-MB pro diagnostiku infarktu myokardu

Zvýšené hodnoty CK-MB se při IM objevují po 3–6 hodinách, vrcholu je obvykle dosaženo po 24 hodinách. Časový průběh nárůstu aktivity v séru po IM je pro CK-MB obdobný jako u celkové CK. Zvýšení aktivity CK-MB v séru je specifitějším markerem IM než zvýšení celkové aktivity CK. Protože však i kosterní sval obsahuje malý podíl CK-MB, může být příčinou vyšší aktivity tohoto izoenzymu i rozsáhlejší poškození kosterních svalů. Specifitěnost stanovení vzroste, vyjádříme-li podíl aktivity CK-MB na aktivitě celkové CK. Hodnota nad 6 % zvyšuje pravděpodobnost správnosti úsudku, že CK-MB pochází z myokardu.

Stanovení hmotnostní koncentrace CK-MB mass v krvi

Namísto aktivity izoformy CK-MB lze hodnotit i její hmotnostní koncentraci **CK-MB mass**, čehož je v současné době využíváno a stanovení CK-MB mass patří k pomocným testům při diagnostice AIM.

Stanovení se provádí imunoanalyticky, lze využívat systém POCT (diagnostické proužky) nebo stanovení v analyzátozech. Na rozdíl od stanovení aktivity izoformy se v tomto případě prokáží i částečně degradované molekuly, které již enzymovou aktivitu ztratily, reagují však dosud se specifickou protilátkou.

Biochemické ukazatele srdečního selhání

Srdeční selhání je syndrom subjektivních potíží a objektivních příznaků způsobených poklesem srdeční funkce. Nedílnou součástí diagnostiky srdečního selhání je stanovení koncentrací natriuretických peptidů. Tak jako nás troponiny informují o poruše struktury buněk srdeční svaloviny, tak nás natriuretické peptidy informují o jeho přetížení (poruše funkce).

Natriuretické peptidy jsou vylučované převážně myokardem, dále také endotelovými buňkami a ledvinami. V organismu působí protektivně, podílí se na ochraně kardiovaskulárního systému před tlakovým a objemovým přetížením. Rozlišujeme čtyři natriuretické peptidy – ANP, BNP, CNP a urodilatin. ANP je secernován kardiomyocyty srdečních síní při zvýšeném napětí ve stěně srdečních síní. BNP (poprvé popsán v prasečím mozku - odtud název) je secernován především kardiomyocyty srdečních komor, jakožto odpověď na zvýšené napětí ve stěně srdečních komor nebo při dilataci komorového myokardu. V kardiomyocytech je primárně syntetizován pre-proBNP, po odštěpení signálního peptidu vzniká proBNP (108 aminokyselin) a ten je štěpen na 2 fragmenty – vlastní BNP (AK 77-108, biologicky aktivní) a N-terminální fragment (NT-proBNP; AK 1-76, biologicky inaktivní), které jsou secernovány do cirkulace. Hlavním cílovým orgánem natriuretických peptidů je distální tubulus ledvin, vyvolávají natriurézu, zvýšenou diurézu, a inhibují systém renin-angiotenzin-aldosteron. Dále vyvolávají relaxaci hladké cévní svaloviny, inhibici sympatiku a mají antimitogenní a antiproliferativní účinek, čímž příznivě ovlivňují remodelaci stěny myokardu i periferních cév.

Mezi biochemické ukazatele srdečního selhání patří BNP a NT-proBNP. Oba dva peptidy se uplatňují nejen v diagnostice srdečního selhání, ale i při stanovení prognózy nemocných se srdečním selháním. V současné době se stanovuje především NT-proBNP.

Hlavními klinickými oblastmi využití BNP a NT-proBNP jsou diferenciální diagnostika akutní dušnosti. Při nízké koncentraci natriuretických peptidů se jedná o dušnost nekardiálního původu a je nutné vyloučit plicní či jiné onemocnění, např. sepsi, embolus, renální selhání. Při středně zvýšených koncentracích je srdeční selhání pravděpodobné, ale stále je nutné vyloučit jinou příčinu dušnosti. Při vysokých koncentracích natriuretických peptidů je srdeční selhání velmi pravděpodobné. Podle doporučení Evropské kardiologické společnosti se uvádějí hodnoty cut-off pro NT-proBNP 125 ng/l u chronické a 300 ng/l u akutní srdeční slabosti, pro BNP 100 ng/l u akutní i chronické srdeční slabosti; nicméně cut-off hodnoty uváděné některými laboratořemi se mohou lišit.