

Enzymové a jiné markery využívané v diagnostice vybraných patologických stavů

Mgr. Jana Mrázková, Ph.D.

Ústav patologické fyziologie LF MU

Biomarkery – účel stanovení v klinické praxi

- Potvrzení diagnózy při klinickém podezření
- Diferenciální diagnostika – další informace pro určení správné diagnózy
- Posouzení prognózy
- Sledování průběhu onemocnění – účinnost terapie, časový průběh
- Screening onemocnění – včasný záchyt
- Screening metabolických rizikových faktorů (krevní tlak, glukóza, cholesterol, BMI)

Laboratorní vyšetření pacienta

- imunologické vyšetření (imunoglobuliny, autoprotílátky, buněčná imunita)
- serologické vyšetření (sérologická reakce = antigen + protilátka *in vitro* => vyšetřuje se buď antigen nebo protilátka)
- mikrobiologické vyšetření (bakterie, viry, plísně, paraziti)
- **biochemické vyšetření** (aktivity enzymů, hladiny proteinů, hormonů, nízkomolekulárních látek, iontů, acidobazická rovnováha, ...)
- molekulárně biologické vyšetření (geneticky podmíněné choroby, farmakogenetika, onkologie, COVID-19)
- funkční testy (hodnoty analytu po stimulaci daného orgánu jsou porovnány s hodnotami analytu před stimulací)

Laboratorní vyšetření pacienta

– biochemické vyšetření vzorku pacienta

– krev – nesrážlivá, srážlivá

- sérum
- plasma

– moč

- ranní – první moč (první proud → WC, druhý proud → analýza), druhá moč (několik hodin po první moči, kvantitativní stanovení vztahovaná na koncentraci kreatininu v moči)
- náhodný vzorek čerstvé moči (akutní stavy, analýza může být nepřesná)
- časový sběr moči (clearance různých analytů, důležitá přesnost a správnost sběru)

– mozkomíšní mok (likvor)

– stolice

Biomarkery

- měřitelný indikátor konkrétního biologického stavu nebo podmínek
 - lokalizace – orgánová specifita
 - lokalizace – extracelulární, intracelulární (membránově vázané, cytosolické, organelové)
 - enzymy – stanovení aktivity (nejčastěji v séru a v moči)
 - forma – proenzym (zymogen), izoenzym, izoforma
 - laboratorní rozlišení izoenzymů
 - na základě rozdílu jejich fyzikálně-chemických vlastností (elektroforéza, chromatografie)
 - imunochemicky
 - chemicky (stanovení reakčních rychlostí za různých podmínek – pH, t, c substrátu)

Biomarkery

- faktory ovlivňující koncentraci markerů v plasmě
 - lokalizace markeru v buňce
 - aktivita enzymu v buňce
 - propustnost cytoplazmatické membrány
 - míra poškození buněk
 - celková masa postižených buněk
 - rychlost eliminace markeru

Jaterní biomarkery

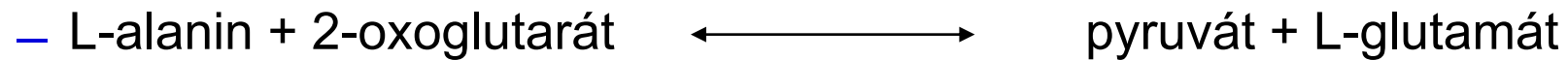
- diagnostika onemocnění hepatobiliárního systému
- jaterní panel → vždy se vyšetřuje více biomarkerů (nikdy ne pouze jeden)
- zvýšené hodnoty jaterních testů mohou být, kromě onemocnění jater, také známkou nadměrného požívání alkoholu, kouření, rozvoje obezity nebo užívání léků s hepatotoxickým účinkem

Biochemické vyšetřování jater - panel

- ukazatelé poškození hepatocytů:
 - ALT, AST, LDH
- ukazatelé cholestázy (městnání žluči, obstrukce žlučových cest):
 - ALP, γ -GMT, konjugovaný/nekonjugovaný bilirubin
- ukazatelé syntetické činnosti jater
 - albumin, CHE, PT (protrombinový čas)
- testy schopnosti konjugace a jaterního transportu organických aniontů
 - bilirubin, urobilinogen (\uparrow v moči \rightarrow poškození hepatocytů, \downarrow v moči \rightarrow kompletní obstrukce žlučových cest)
- testy schopnosti a kapacity jater metabolizovat endogenní a xerogenní látky:
 - amoniak, CDT, lidokain, aminopyrin, apod.

Vyšetření poškození hepatocytů

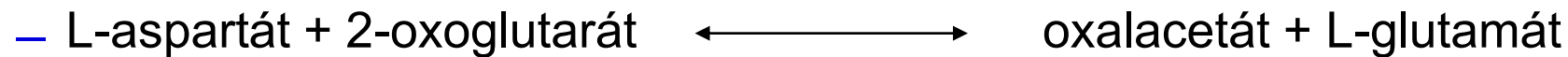
– Alaninaminotransferáza (ALT):



- reakce je reverzibilní, uplatňuje se při syntéze, odbourávání i přeměně aminokyselin
- cytoplasmatický enzym
- přítomný ve všech buňkách (hepatocytech nejvíce) → specifický
- hladina v krvi se zvyšuje už při mírném poškození jaterních buněk (permeabilizace membrány)
- jeho hladina může být mírně zvýšená i po fyzické námaze
- sledování hladiny ALT pomáhá sledovat průběh onemocnění

Vyšetření poškození hepatocytů

– Aspartátaminotransferáza (AST):

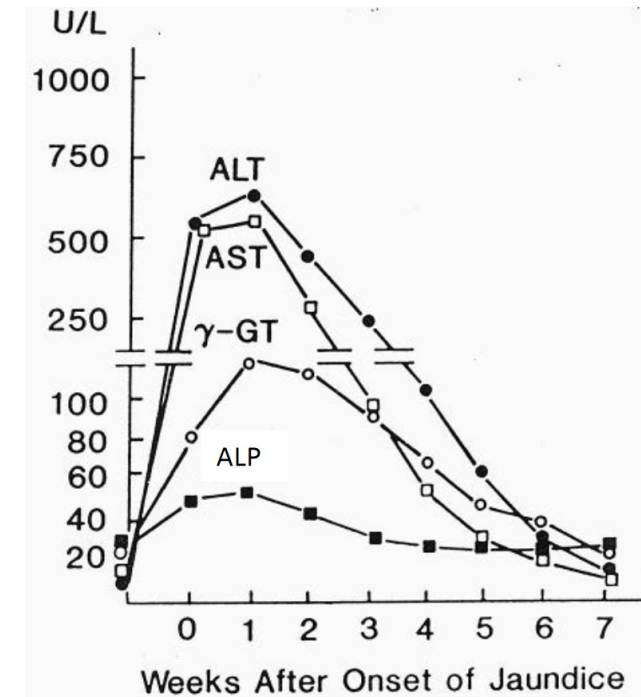


- reakce je reverzibilní, uplatňuje se při syntéze, odbourávání i přeměně aminokyselin
- cytoplazmatický (30%) a **mitochondriální (70%) izoenzym**
- přítomný ve větší míře v buňkách jater, myokardu, kosterního svalu, také ledvin, pankreatu, Ery
- hladina cytoplazmatického enzymu v krvi se zvyšuje už při mírném poškození jaterních buněk (permeabilizace membrány), nález mitochondriální izoenzym ukazuje na buněčnou nekrózu
- nález může ukazovat na poškození jater, srdce (infarkt), kosterního svalu, hemolýzu
- jeho hladina může být zvýšená i po dlouhotrvající fyzické námaze, po operaci, při těžkých popáleninách

Vyšetření poškození hepatocytů

– ALT + AST:

- pro informaci o stavu poškození jaterního parenchymu se vždy stanovují oba enzymy (ale neinformují o metabolické a exkretorické funkci jater)
- většina jaterních chorob - zvýšení ALT+AST do 20-ti násobku
- akutní virová hepatitida, akutní toxické poškození jater, šokové stavy – zvýšení ALT+AST více než 20x (může být až 100x, hodnoty začnou klesat v průběhu 2. týdne a k normálu by měly klesnout za 2 – 6 měsíců)
- těžká akutní nekróza – hladina ALT v krvi za 48 hodin až 100x (a vydrží tak i několik dní)
- chronické poškození jater – hladina ALT v krvi 10x
- pokud je zvýšena pouze AST bez zvýšení ALT – poškození kosterních svalů



Vyšetření poškození hepatocytů

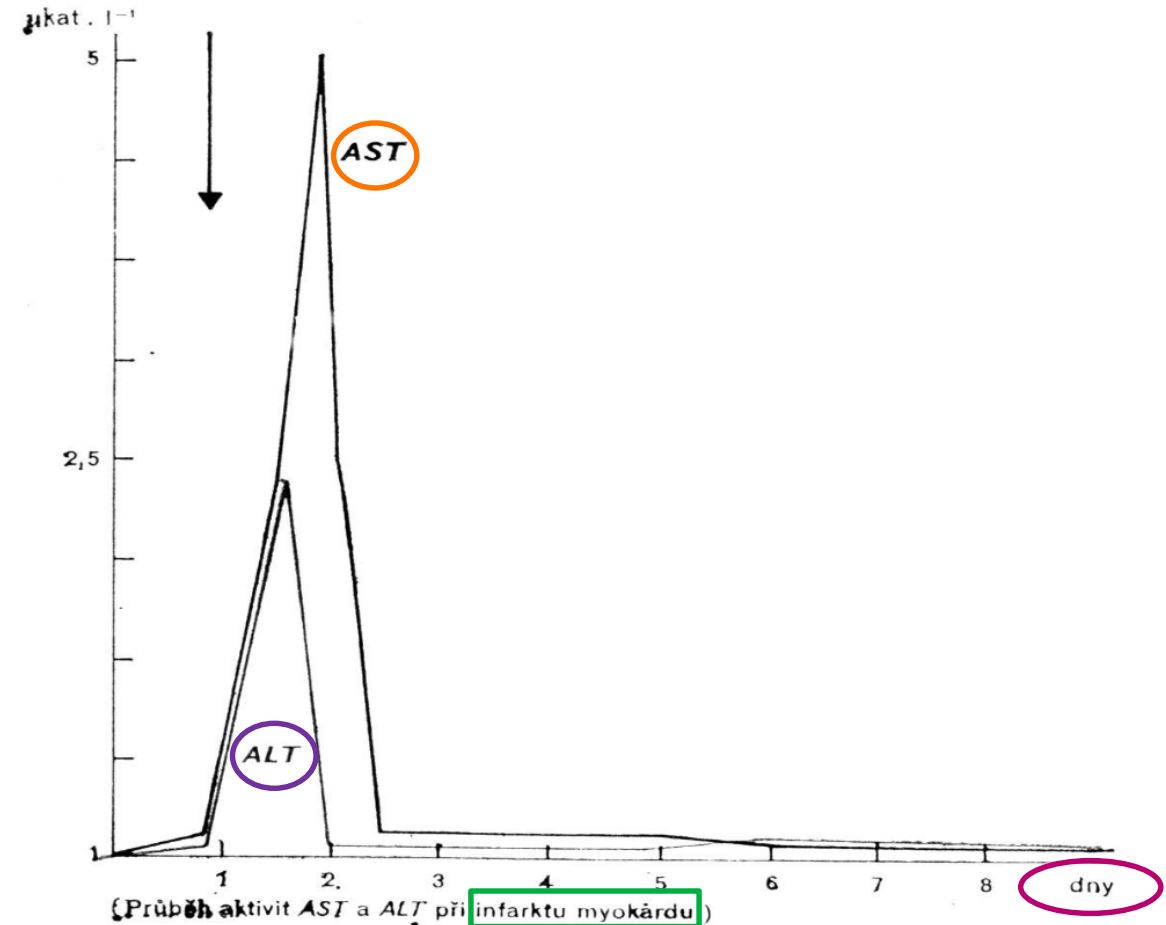
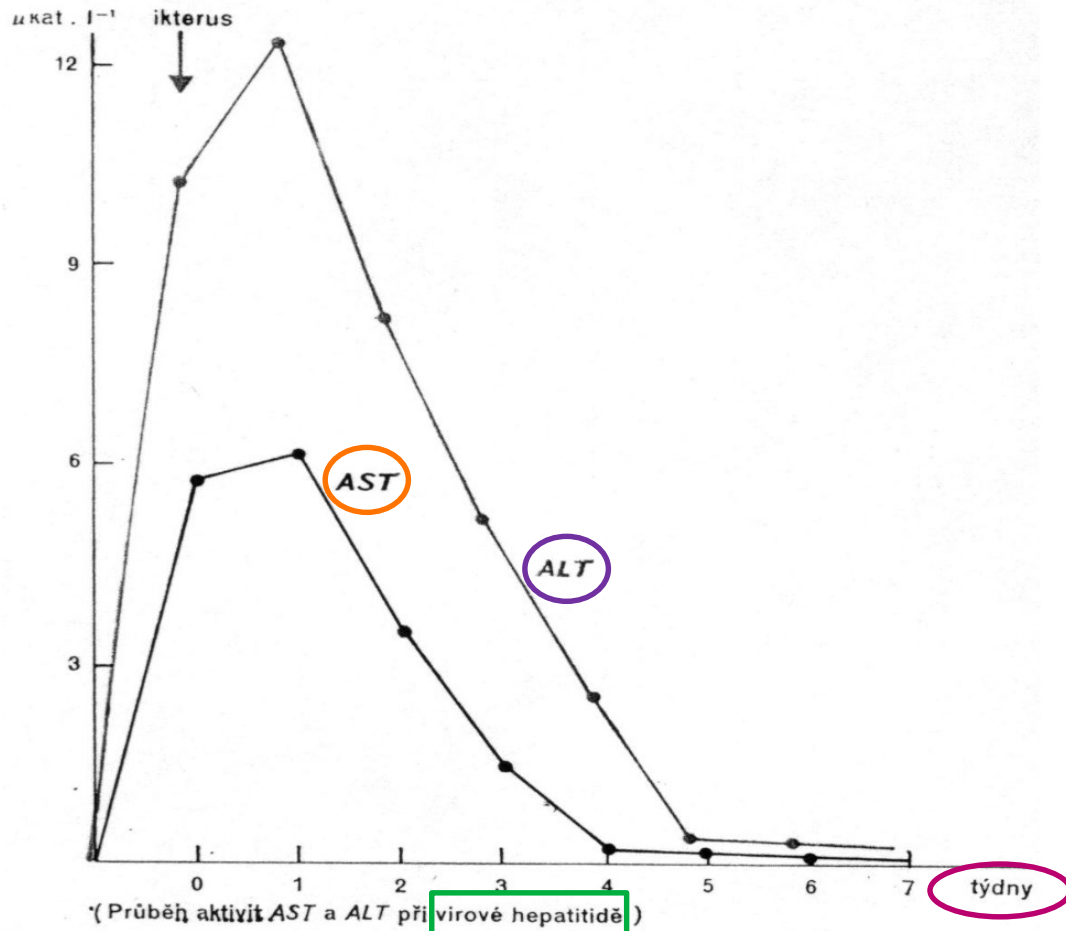
– ALT + AST:

- jedna otázka je naměřená zvýšená aktivita obou enzymů, druhá otázka je jejich vzájemný poměr
- **de Ritisův index** → poměr AST/ALT (u patologických hodnot, jestli jde o poškození zánětlivé nebo nekrotické)
- $dRi < 1$ (0,7 – 0,9) → dobrá prognóza
- $dRi > 1$ → špatná prognóza s největší pravděpodobností nekróza
- $dRi > 2$ → s největší pravděpodobností alkoholické poškození jater, postnekrotická cirhóza

Vyšetření poškození hepatocytů

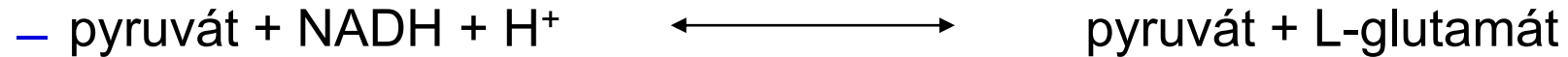
– ALT vs. AST

- oba enzymy jsou zastoupeny ve většině tkání, liší se však v relativním množství
- myokard obsahuje více AST, kdežto játra obsahují více ALT



Vyšetření poškození hepatocytů

– Laktátdehydrogenáza (LDH):



- katalyzuje reakci anaerobní glykolýzy
- cytoplasmatický enzym, přítomný ve všech tkáních
- enzym je **tetramer**, 2 typy podjednotek: **M (muscle)** a **H (heart)**
 - kombinací těchto podjednotek vzniká **5 izoenzymů**

LDH₁ HHHH myokard, ledviny, ery

LDH₂ HHHM (myokard)

LDH₃ HHMM

LDH₄ HMMM (svaly, játra)

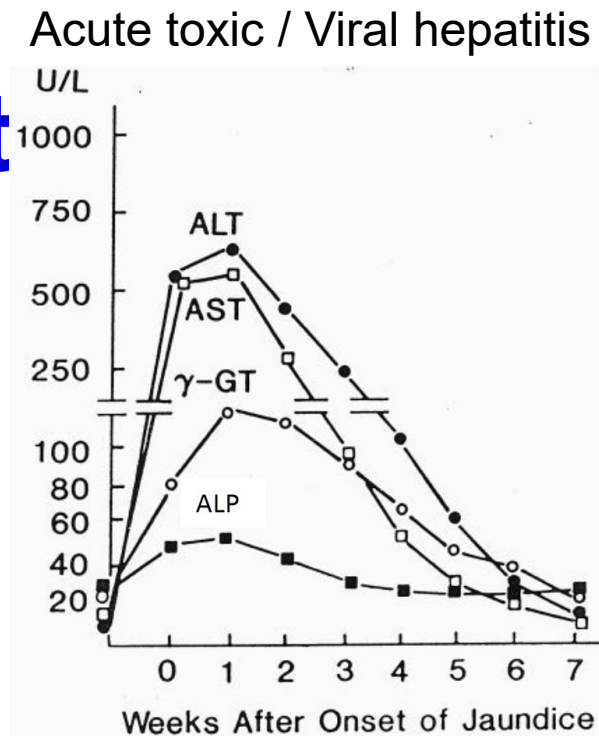
LDH₅ MMMM svaly, játra → zvýšená hladina izoenzymu ukazuje na poškození jater

- LDH₁ a LDH₂ – laktát → pyruvát (tkáně s aerobním metabolismem)
- LDH₄ a LDH₅ – pyruvát → laktát (tkáně s anaerobní glykolýzou)

Vyšetření obstrukce žlučových cest

– Alkalická fosfatáza (ALP):

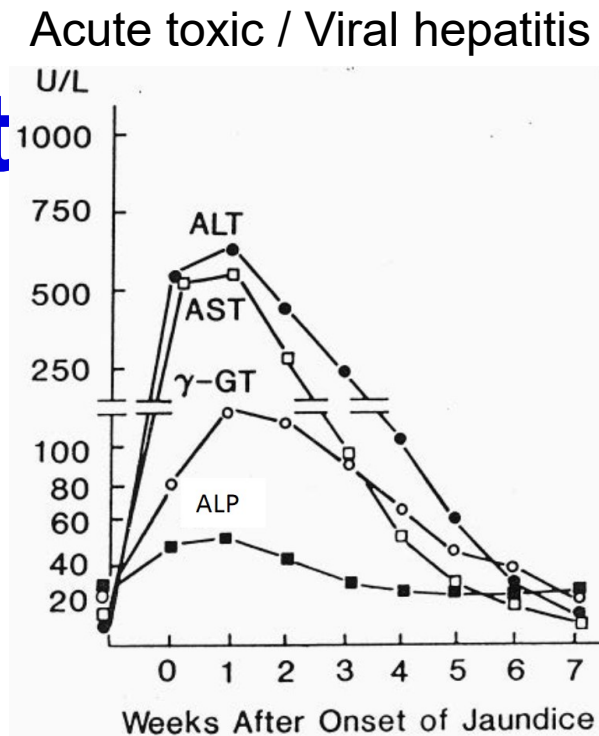
- katalyzuje hydrolýzu monoesterů kyseliny fosforečné (defosforylaci) při alkalickém pH
- enzym vázaný v cytoplasmatických membránách, ve všech tkáních (hl. játra, střeva, kosti, ledviny)
- izoenzymy – střevní, placentární, tkáňově nespecifický (má 3 izoformy - jaterní, ledvinová, kostní)
- zvýšená aktivita v séru ukazuje na onemocnění jater nebo kostí
- v membráně kanikulárního pólu hepatocytu a membránách buněk epitelu žlučových cest → při obstrukci poškození membrán buněk (mechanicky, žlučové kyseliny) → enzym do krve
- intrahepatální a extrahepatální cholestáza (městnání žluči v játrech a žlučových cestách)
- jeho hladina může být zvýšená např. i u cirhózy jater, tumorů jater, tumorů kostí, revmatologické choroby



Vyšetření obstrukce žlučových cest

– γ -glutamyltransferáza (γ -GMT):

- katalyzuje přenos γ -glutamylového zbytku z γ -glutamylpeptidů (např. glutathionu) na jiný akceptor (voda, peptid nebo aminokyselina)
- enzym vázaný v cytoplasmatických membránách, přítomna ve tkáních s absorpční nebo sekreční funkcí (játra, ledviny, pankreas, tenké střevo, prostata)
- v membráně kanikulárního pólu hepatocytu a membránách buněk epitelu žlučových cest, mikrosomální frakce hepatocytů → při obstrukci, poškození membrán buněk (mechanicky, žlučové kyseliny) → enzym do krve
- citlivý, ale nepříliš specifický marker jaterních onemocnění
- zvýšená (izolovaná) aktivita u alkoholiků bez známek jaterního poškození



Vyšetření syntetické činnosti jater

– albumin

- syntetizován výlučně v játrech (katabolizován ve tkáních)
- ↓ hladina → jaterní onemocnění (musí být vyloučeny jiné příčiny snížení např. malabsorpce, onemocnění ledvin, ...)
- ↓↓↓ hladina → alkoholické cirhózy
- u akutních jaterních poruch žádná změna (poločas 15-20 dní) → nelze ho využít
- ukazuje na chronické onemocnění jater

Vyšetření syntetické činnosti jater

– Cholinesteráza (CHE)

- katalyzuje hydrolytické štěpení esterů cholinu a dalších substrátů
- nezaměnit s acetylcholinesterázou
- sekreční enzym → produkován hepatocyty do krve
- ↓ hladina → poškození jaterního parenchymu (musí být vyloučeny nedostatek proteinů v dietě) – chronická hepatitida, cirhóza, tumory jater
- nevratně inhibován organofosfáty

Vyšetření syntetické činnosti jater

– Hemokoagulační faktory

- tvořeny v játrech, produkovány hepatocyty do krve
- ↓ hladina (poruchy koagulace) → onemocnění jaterního parenchymu provázených poruchou proteosyntézy, obstrukční ikterus s poruchou vstřebávání tuků a v nich rozpustných vitaminů (vitamin K)
- Quickův test – protrombinový čas
- **protrombin** má krátký poločas → lze využít i k diagnostice akutních nemocí (progrese chronického onemocnění jater do akutního selhání, akutní hepatodystrofie)

Vyšetření schopnosti konjugace a transportu

– Bilirubin

– 2 hlavní formy

nepřímý (nekonjugovaný, vázaný na albumin, nerozpustný ve vodě)

přímý bilirubin (konjugovaný s glukuronátem, rozpustný ve vodě)

– ↑ hladina - hyperbilirubinémie

– Rozlišení příčiny ikteru – konjugovaný vs. nekonjugovaný bilirubin

1) prehepatální ikterus - ↑ nekonjugovaný bilir. v plasmě (zároveň s normálním jaterním nálezem)

- nadměrná hemolýza Ery (urobilinogen v moči, bez bilirubinu)

2) hepatální (parenchymatózní) ikterus

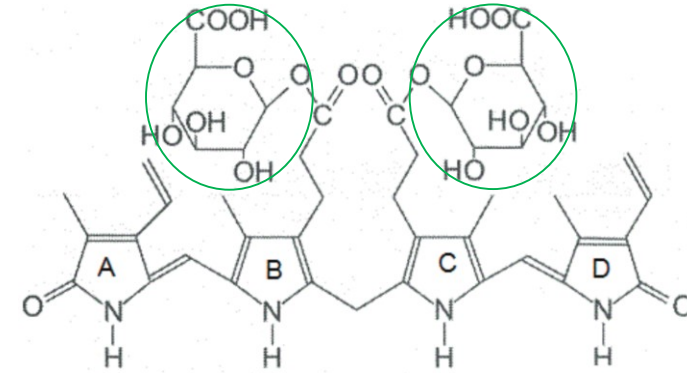
- ↑ nekonjugovaný bilir. v plasmě → porucha konjugačního enzymu (bilirubin-UDP-glukuronyltransferáza)
→ Criglerův-Najjarův syndrom, novorozenecká žloutenka (urobilinogen v moči vůbec není)

- ↑ konjug. + ↑ nekonjug. bilir. + zvýšené ALT, AST → poškození hepatocytů (akutní, chronická hepatitida, cirhóza) (v moči bilirubin i urobilinogen)

- ↑ konjug. + ↑ nekonjug. bilir. → porucha vylučování z hepatocytu do žlučovodu (bilirubin v moči)

3) posthepatální ikterus - ↑ konjug. bilir. + zvýšené ALP, γ -GMT → extrahepatální cholestáza kvůli

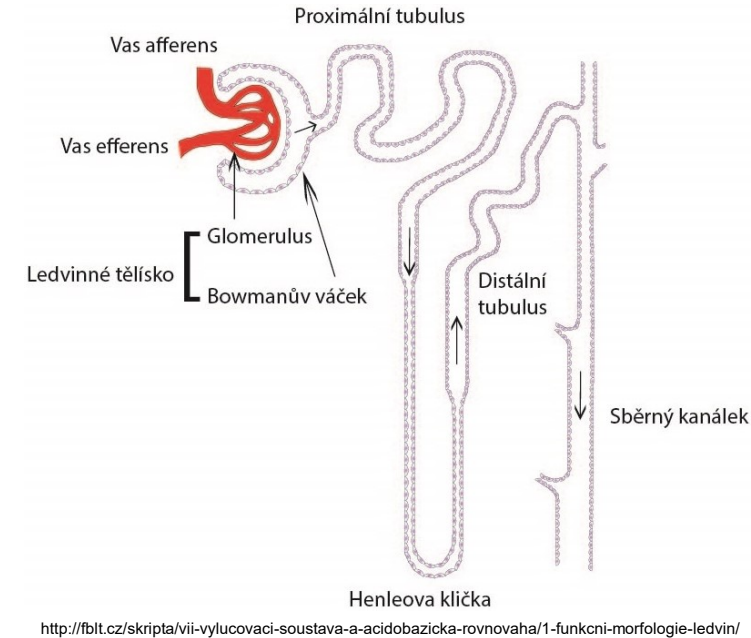
obstrukci žlučových cest (bilirubin v moči, při úplné obstrukci chybí v moči urobilinogen)



Ledviny – vyšetření funkce

– Proteinurie

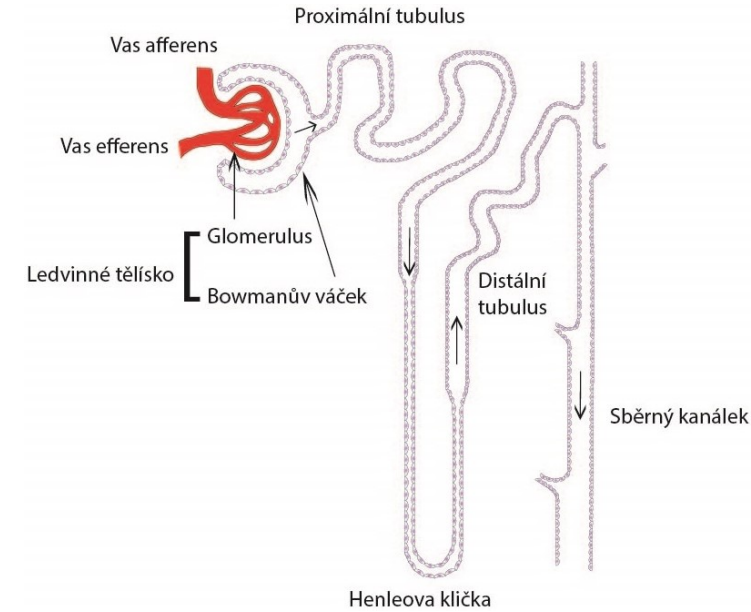
- ↑ koncentrace proteinů v moči
- rozlišení příčiny proteinurie
- Prerenální - ↑ proteiny v séru ← intravaskulární hemolýza (hemoglobin), zhmoždění většího množství svalů (myoglobin), mnohočetný myelom (Bence-Jonesova bílkovina)
- Renální glomerulární selektivní – proteiny v séru v normě ← akutní, chronický zánět ledvin, diabetická glomeruloskleróza, nefrotický syndrom (Albumin, transferrin, další bílkoviny o střední velikosti **do Mr 100 000**), spíše lehčí poškození membrány glomerulů
- Renální glomerulární neselektivní – proteiny v séru v normě ← akutní, chronický zánět ledvin, diabetická glomeruloskleróza (Albumin, IgG, velké bílkoviny **nad Mr 100 000**), spíše těžší poškození membrány glomerulů



Ledviny – vyšetření funkce

– Proteinurie

- ↑ koncentrace proteinů v moči
- Renální tubulární – proteiny v séru v normě ← zánět intersticia, poškození ledvin toxickými látkami (např. některé léky) (β_2 -mikroglobulin, α_1 -mikroglobulin, volné lehké řetězce imunoglobulinů, lysozym, nízkomolekul. bílkoviny)
- Smíšená = neselektivní glomerulární + tubulární → zánik nefronů
- Postrenální – proteiny nepochází z ledvin ← zánět močových cest, nádory, krvácení (největší proteiny, neprojdou ani poškozenou membránou)
- Albuminurie (u diabetiků), Funkční proteinurie (přechodná – fyzická námaha, prochlazení, těhotenství, ...)



<http://fblt.cz/skripta/vii-vylucovaci-soustava-a-acidobazicka-rovnovaha/1-funkcni-morfologie-ledvin/>

Ledviny – vyšetření funkce

– Proteinurie

- poměr celková bílkovina/kreatinin (nebo albumin/kreatinin)
→ kvantitativní proteinurie

Stav	protein/kreatinin (mg/mmol)	albumin/kreatinin (mg/mmol)
Fyziologický	< 15	< 2,5 (muži) < 3,5 (ženy)
Albuminurie	–	2,6 – 29,9 (muži) 3,6 – 29,9 (ženy)
Proteinurie	15 – 99	30 – 69
Těžká proteinurie	≥ 100	≥ 70

– Kreatinin

- nízkomolekulární látka, vzniká neenzymaticky ve svalech, množství je konstantní pro danou osobu
- využívá se pro vyšetřování glomerulární filtrace (kreatininová clearance), sledování průběhu onemocnění ledvin

Biomarkery onemocnění kostí

- Poruchy metabolismu vápníku
- hypokalcémie – ↓ sekrece nebo účinky parathyroidního hormonu (hypoparathyreóza)
 - ↓ vitamin D (deficit nebo porucha účinku)
 - ↑ hladina fosfátu v plazmě (hyperfosfatemie) ← nadměrný přísun fosfátů, snížené vylučování ledvinami (chronická ledvinová nedostatečnost)
 - ↓ vstřebávání v tenkém střevě
- hyperkalcémie – ↑ sekrece nebo účinky parathyroidního hormonu (hyperparathyreóza)
 - ↑ vstřebávání ve střevě a/nebo ledvinách → ↑ vitamin D (intoxikace), ↓ hladina fosfátu
 - ↑ vylučování z kostí (nádorová onemocnění, tyreotoxikóza, při dlouhodobém znehybnění)

Biomarkery onemocnění kostí

Pikner R. *et al.* Klin. Biochem. Metab., 28 (49), 2020, No. 2, p. 48–63.

Tabulka 1. Názvy a zkratky markerů kostního obratu dle [9]

Název	Zkratka	Materiál
Markery kostní novotvorby		
N-terminální propeptid prokolagenu typu I*	PINP	sérum, plazma
C-terminální propeptid prokolagenu typu I	PICP	sérum, plazma
Osteokalcin Nedostatečně karboxylovaný osteokalcin	OC unOC	sérum, plazma
Kostní frakce alkalické fosfatázy	bALP	sérum
Markery kostní resorpce		
C-terminální příčně vázaný telopeptid kolagenu typu I, α či β*	CTX-I	sérum, plazma, moč
N-terminální příčně vázaný telopeptid kolagenu typu I	NTX-I	sérum, plazma, moč
C-terminální, matrix-metaloproteinázami degradovaný, telopeptid kolagenu typu I	ICTP, CTX-MMP	sérum
Tartarát rezistentní kyselá fosfatáza, izoenzym 5b	TRAP5b	sérum, plazma,
Deoxypyridinolin	DPD	moč

*markery doporučené International Osteoporosis Foundation a International Federation of Clinical Chemistry jako referenční markery kostní novotvorby a resorpce

- Osteoporóza (primární)
- porušení rovnováhy kostního metabolismu (kost je rychleji odstraňována než nahrazována)
→ řídnutí kostí
- markery kostního obratu
- markery kostní novotvorby:
 - propeptidy protokolagenu typu I → syntéza kolagenu typu I (90% proteinové složky organické kostní matrix)
 - Osteokalcin – hlavní nekolagenní protein organické složky kostní matrix
 - ALP – kostní frakce (izoforma)
- markery kostní resorpce:
 - telopeptidy kolagenu typu I → příčné spojky, které propojují vlákna kolagenu během jeho maturace
 - kyselá fosfatáza – izoenzym 5b specifický pro osteoklasty (koreluje spíš s jejich počtem než aktivitou)
 - deoxypyridinolin – příčné spojky propojující molekuly kolagenu, v současnosti se již nestanovuje

Biomarkery infarktu myokardu

Janota T. Cor et Vasa 2014, 56(4):e304-e310

– Troponiny

- troponin-tropomyosinový komplex reguluje stah kardiomyocytu
- komplex globulárních proteinů: troponin T, C, I (TnT, TnC, TnI)
- srdeční izoformy cTnT, cTnI mají jedinečnou aminokyselinovou

sekvenci → vysoce specifické pro myokard → ↑ hladina v krvi znamená strukturální poškození srdeční tkáně, vysoce citlivé stanovení → detekce i menších poškození)

- dlouhá doba vylučování (až 10 dnů) → záchyt infarktu i v neakutní fázi, sledování průběhu
- pomalejší nástup než myoglobin
- cTnT nespecificky zvýšený u pacientů s renální insuficiencí - nevýhoda

Tabulka 1 – Biochemické markery myokardiální nekrózy a dynamika jejich změn při akutním infarktu myokardu

Markery nekrózy	Začátek vzestupu v periferní krvi (h)	Maximum vzestupu bez reperfuze (h)	Trvání vzestupu
cTnI	2–6	12–30	1–10 dní
cTnT	2–6	12–75	1–15 dní
hs-cTnI/T	1	–	–
CK-MB mass	3–8	9–24	1–3 dny
CK	3–8	8–58	1–4 dny
Myoglobin	1–3	5–8	< 12 h
GPBB	0,5	1	< 4 h
h-FABP	0,5	1–3	–

CK – celková kreatinkináza; CK-MB mass – hmotnostní koncentrace MB isoenzymu kreatinkinázy; cTnI – srdeční troponin I; cTnT – srdeční troponin T; GPBB – isoenzym BB glykogen fosforylázy; h-FABP – vazebný protein pro mastné kyseliny; hs-cTnI/T – vysoce senzitivní stanovení srdečního troponinu I nebo T.

Biomarkery infarktu myokardu

Janota T. Cor et Vasa 2014, 56(4):e304-e310

– Myoglobin

- cytoplazmatický protein
- globulární, nízká mol. hmotnost
- stejný v buňkách srdce i kosterního svalu (nespecifický, koncentrace stoupá i při renálním selhání, svalové poškození)

Tabulka 1 – Biochemické markery myokardiální nekrózy a dynamika jejich změn při akutním infarktu myokardu

Markery nekrózy	Začátek vzestupu v periferní krvi (h)	Maximum vzestupu bez reperfuze (h)	Trvání vzestupu
cTnl	2–6	12–30	1–10 dní
cTnT	2–6	12–75	1–15 dní
hs-cTnl/T	1	–	–
CK-MB mass	3–8	9–24	1–3 dny
CK	3–8	8–58	1–4 dny
Myoglobin	1–3	5–8	< 12 h
GPBB	0,5	1	< 4 h
h-FABP	0,5	1–3	–

CK – celková kreatinkináza; CK-MB mass – hmotnostní koncentrace MB isoenzymu kreatinkinázy; cTnl – srdeční troponin I; cTnT – srdeční troponin T; GPBB – isoenzym BB glykogen fosforylázy; h-FABP – vazebný protein pro mastné kyseliny; hs-cTnl/T – vysoce senzitivní stanovení srdečního troponinu I nebo T.

→ ↑ hladina v plasmě znamená strukturální poškození srdeční tkáně

- vzhledem ke své velikosti se rychle vyplavuje do krve (ale rychle se odbourává)

→ časná diagnostika infarktu a reinfarktu (pomocný marker)

- nejcitlivější marker akutního infarktu, ale nespecifický → i tak ho lze použít → pokud se jeho koncentrace nachází v referenčním rozmezí > 2 hodiny od začátku příznaků, pak lze s jistotou akutní infarkt myokardu vyloučit

Biomarkery infarktu myokardu

Janota T. Cor et Vasa 2014, 56(4):e304-e310

– Kreatinkináza

- cytoplaz. a mitoch. enzym

kreatin + ATP ↔ kreatinfosfát + ADP

- dimer → podjednotka M (muscle)
podjednotka B (brain)

- 3 izoenzymy:

CK-BB (hladký sval, mozek, prostata)

CK-MM (kosterní sval, myokard)

CK-MB (myokard, také kosterní sval)

- nízká specifita CK-MB (↑ hladina i při onemocnění nebo poranění svalu)
- CK-MB mass (nestanovuje se enzymová aktivita, ale hmotnostní koncentrace) – stanovení pro diagnostiku akutního infarktu je přijatelné pouze při nedostupnosti stanovení troponinů
- již jen jako pomocný marker → CK-MB mass → záchyt reinfarktů (kratší doba vylučování než troponiny)
→ celková CK → hodnocení dynamiky a rozsahu poškození

Tabulka 1 – Biochemické markery myokardiální nekrózy a dynamika jejich změn při akutním infarktu myokardu

Markery nekrózy	Začátek vzestupu v periferní krvi (h)	Maximum vzestupu bez reperfuze (h)	Trvání vzestupu
cTnI	2–6	12–30	1–10 dní
cTnT	2–6	12–75	1–15 dní
hs-cTnI/T	1	–	–
CK-MB mass	3–8	9–24	1–3 dny
CK	3–8	8–58	1–4 dny
Myoglobin	1–3	5–8	< 12 h
GPBB	0,5	1	< 4 h
h-FABP	0,5	1–3	–

CK – celková kreatinkináza; CK-MB mass – hmotnostní koncentrace MB isoenzymu kreatinkinázy; cTnI – srdeční troponin I; cTnT – srdeční troponin T; GPBB – isoenzym BB glykogen fosforylázy; h-FABP – vazebný protein pro mastné kyseliny; hs-cTnI/T – vysoce senzitivní stanovení srdečního troponinu I nebo T.

jestliže se objeví mitochondriální CK → závažné postižení organismu se špatnou prognózou (např. metastatický nádorový proces)

Biomarkery infarktu myokardu

Janota T. Cor et Vasa 2014, 56(4):e304-e310

– h-FABP

- specifický kardiální vazebný protein pro mastné kyseliny
- malý cytoplasmatický protein podobný myoglobinu
- uvolňován z kardiomyocytu již po 30 minutách → měl by sloužit k rychlému vyloučení akutního infarktu (na rozdíl od myoglobinu)
- potenciální časný marker myokardiální nekrózy
- nízká specifita (v malém množství také v kosterním svalu a ledvinách)

– GPBB

- izoenzym glykogen fosforylázy
- ↑ hladina v plasmě → potenciální časný biomarker myokardiální nekrózy
- ale nízká specifita

Tabulka 1 – Biochemické markery myokardiální nekrózy a dynamika jejich změn při akutním infarktu myokardu

Markery nekrózy	Začátek vzestupu v periferní krvi (h)	Maximum vzestupu bez reperfuze (h)	Trvání vzestupu
cTnl	2–6	12–30	1–10 dní
cTnT	2–6	12–75	1–15 dní
hs-cTnl/T	1	–	–
CK-MB mass	3–8	9–24	1–3 dny
CK	3–8	8–58	1–4 dny
Myoglobin	1–3	5–8	< 12 h
GPBB	0,5	1	< 4 h
h-FABP	0,5	1–3	–

CK – celková kreatinkináza; CK-MB mass – hmotnostní koncentrace MB isoenzymu kreatinkinázy; cTnl – srdeční troponin I; cTnT – srdeční troponin T; GPBB – isoenzym BB glykogen fosforylázy; h-FABP – vazebný protein pro mastné kyseliny; hs-cTnl/T – vysoce senzitivní stanovení srdečního troponinu I nebo T.

Nádorové markery

– Nádorové markery

- pomoc v diagnostice zhoubných nádorů (ale samotná diagnostika ne → negativní nález neznamená nepřítomnost nádoru)
- screening zhoubných nádorů → většina markerů nevhodná (lze použít u rizikových skupin např. vyloučení rakoviny prostaty u mužů nad 50 let)
- určení stádia nádoru a jeho prognózy
- v současné době patří k diagnostickému standardu – široká paleta použitelných markerů (často stejné markery pro různé diagnózy) → potřeba měřit více markerů najednou
- opakované měření markerů → monitoring (dynamika chování markerů v různých stádiích onemocnění) + prognóza onemocnění + účinnost léčby + může včas upozornit na recidivu
- sledování více markerů najednou → ↑ pravděpodobnost záchytu nádoru

Nádorové markery

- Nádorové markery
 - Molekuly většinou proteinového charakteru
 - celulární nádorové markery
 - humorální nádorové markery
 - Produkce nádorových markerů
 - přímo nádorové buňky (s nádorem asociované antigeny)
 - jiné tkáně jako odpověď na maligní proces (indukované nádorové markery)
 - enzymy, hormony, imunoglobuliny, cytokeratiny, glykoproteiny, glykolipidy, molekuly receptorové povahy, sacharidy

Nádorové markery

– Rozdělení markerů (klinicko-biochemické hledisko)

– Onkofetální antigeny

- látky produkované ve fetálním období plodem či placentou, po narození se tvoří jen v souvislosti s nějakým onemocněním, zpravidla nádorovým
- charakteristické pro méně diferencované (tj. malignější) nádory
- α 1-fetoprotein, lidský choriogonadotropin, karcinoembryonální antigen, placentární ALP

– Tkáňově a orgánově specifické antigeny

- fyziologicky ve zdravé tkáni či orgánu, mimo něj jen v minimálním množství
- zvýšené uvolňování → patologické stavy (nádorové onemocnění, zánět, trauma)
- prostatický specifický antigen, neuron specifická enolasa, protein S-100, rozpustné fragmenty cytokeratinů, většina CA antigenů definovaných pomocí monoklonálních protilátek, antigen karcinomů ze skvamózních buněk, thyreoglobulin, hormony a jejich prekursory u nádorů žláz, které je fyziologicky produkují

Nádorové markery

– Rozdělení markerů (klinicko-biochemické hledisko)

– Nespecifické antigeny

- enzymy a hormony produkované nádory (u nádorů v orgánech, které je fyziologicky neprodukují → paraneoplastický projev)
- reakce na přítomnost nádoru
- ferritin, laktátdehydrogenasa, thymidinkinasa, β 2-mikroglobulin, některé reaktanty akutní fáze, s lipidy asociovaná kyselina sialová, adrenokortikotropní hormon, parathormon, antidiuretický hormon ...

Nádorové markery

– Příklady použití markerů

- karcioembryonální antigen (CEA) – kontrola účinnosti léčby karcinomu prsu a kolorektálního karcinomu, určení prognózy kolorektálního karcinomu, diferenciální diagnóza tumorů vaječníků
- lidský choriogonadotropin (hCG) – monitoring nádorů germinativního původu
- cancer antigen 15-3 (CA 15-3) – monitoring karcinom prsu
- (volný) prostatický specifický antigen ((f)PSA) - screening, diagnóza a monitoring léčby karcinomu prostaty, kontrola po radikální prostatektomii, monitorování hyperplázie prostaty
- laktátdehydrogenéza (LDH) – monitoring léčby akutní leukemie, non-hodgkinského lymfomu, testikulárního karcinomu a Ewingova sarkomu
- thymidinkináza (TK) - diagnóza a monitoring hemoblastóz a lymfomů, doplňkový marker u všech nádorových diagnóz pro určení stupně proliferace

Nádorové markery

– Genetické markery

- TP53 → gen pro protein p53 → transkripční faktor, v buňkách má funkci senzoru poškozené DNA
→ tumor supresorový gen
→ mutace v tomto genu → ↑ riziko vzniku rakoviny
- BRCA1/2 → tumor supresorové geny (produkty těchto genů se účastní kontroly buněčného cyklu a oprav poškozené DNA)
→ mutace v těchto genech → ↑ riziko vzniku karcinomů, hlavně prsu a vaječníků

Požadovaná vyšetření:	
<input type="checkbox"/>	Prediktivní testování známé familiární mutace – specifikace genu a mutace na straně 2)
<input type="checkbox"/>	ONKO 1: <i>BRCA1, BRCA2, CHEK2, TP53, PALB2, ATM, RAD51C, RAD51D, BRIP1, NBN, CDH1, PTEN, STK11, BARD1</i>
<input type="checkbox"/>	ONKO 2: <i>MLH1, MSH2, MSH6, EPCAM, MUTYH, PMS2</i>
<input type="checkbox"/>	ONKO 3: <i>APC, MUTYH, POLE, POLD1</i>
<input type="checkbox"/>	Samoplátci <i>BRCA1</i> a <i>BRCA2</i>
<input type="checkbox"/>	Jiné (vypsát)*: <input type="text"/>
<small>*další dostupné geny jsou k dispozici na www.gennet.cz v sekci Dokumenty k akreditaci laboratoří: Záznam o flexibilitě - Vyšetření genových mutací metodou masivně paralelního sekvenování</small>	

Nádorové markery

– Ideální marker ...

- vysoká specificita – nevyskytuje se u jiných nenádorových onemocnění a u zdravých osob (falešně pozitivní výsledky na nádory např. při zánětech)
- vysoká senzitivita – měřitelný na začátku onemocnění (v praxi zvýšení až u velkých generalizovaných tumorů, citlivost se zvýší stanovením několika markerů)
- specifický pouze pro jeden orgán
- korelace mezi výší lab. hodnoty markeru a velikostí nádoru (v praxi koncentrace markeru závisí nejen na velikosti, ale i na stupni zralosti buněk, a také a schopnosti produkovat marker a vyplavovat ho do krve)
- korelace mezi výší lab. hodnoty markeru a prognózou (snižuje se hodnota = zlepšuje se prognóza)

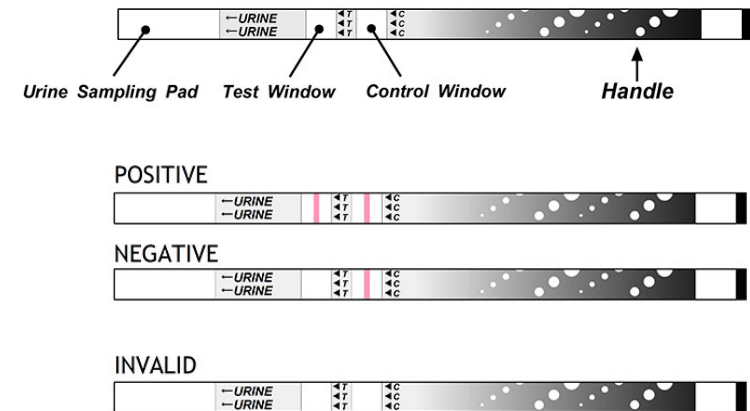
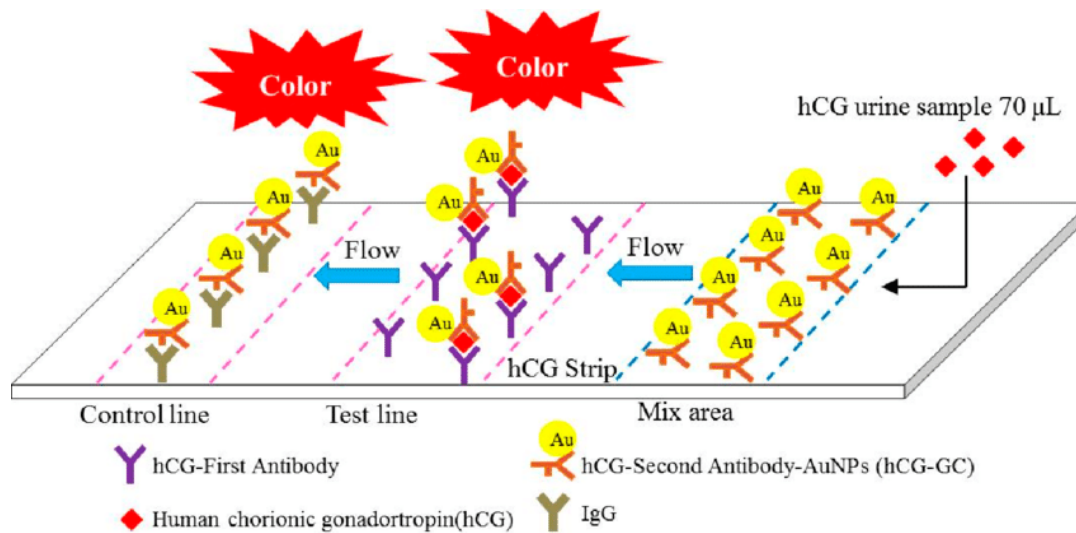
... zatím neexistuje, ale neustále probíhá proces hledání nových markerů

Biomarker těhotenství

- lidský choriogonadotropin (hCG)
 - placenta produkuje po uhníždění vajíčka v děloze
 - cca za 7 dnů detekovatelný v krevním oběhu
 - cca za 10 dnů detekovatelný v moči → domácí těhotenský test

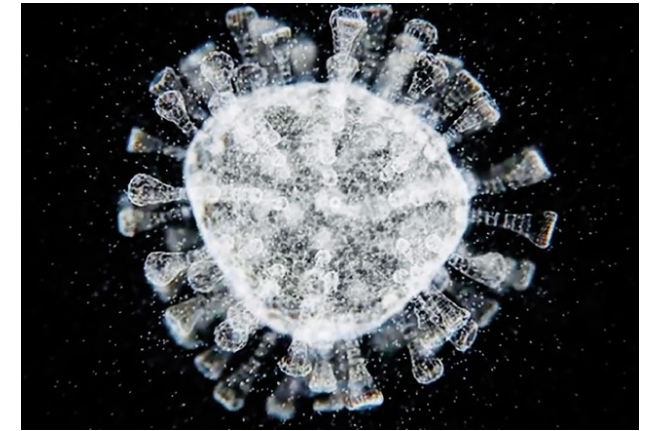


shutterstock.com · 1020337924



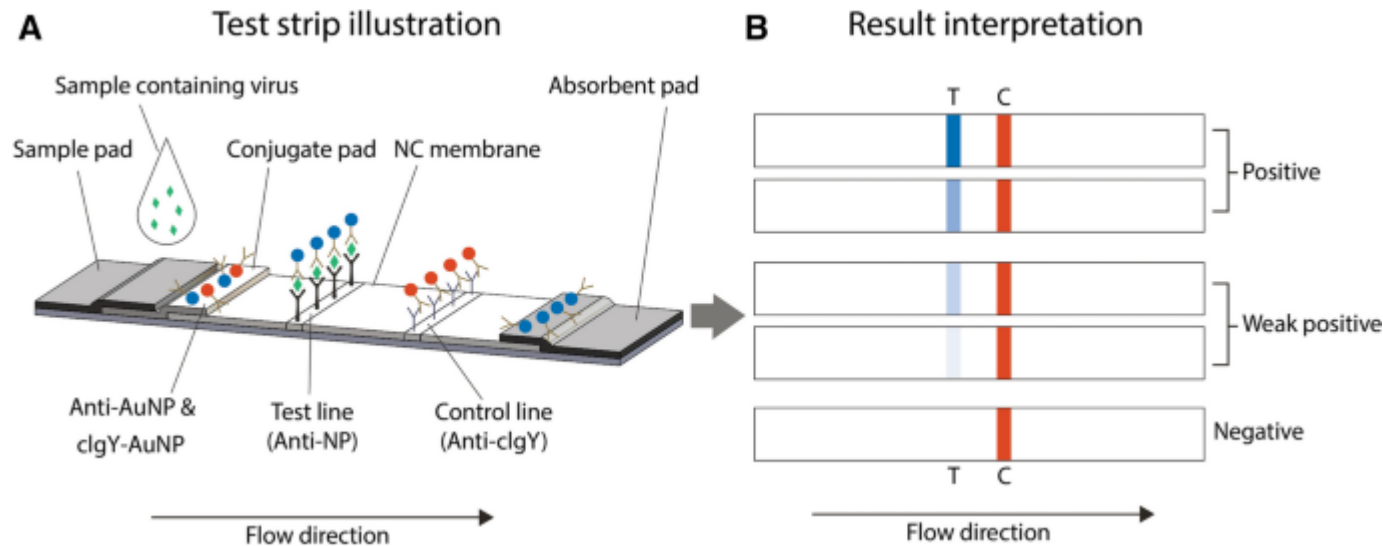
- Falešná pozitivita – nádorová onemocnění, cysty na vaječnících, mimoděložní těhotenství, hormonálních léky pro vyvolání ovulace, po porodu, potratu, kyretáži
- Falešná negativita – příliš nízká koncentrace (příliš brzké testování, zředěná moč), užívání diuretik, antihistaminik

COVID-19

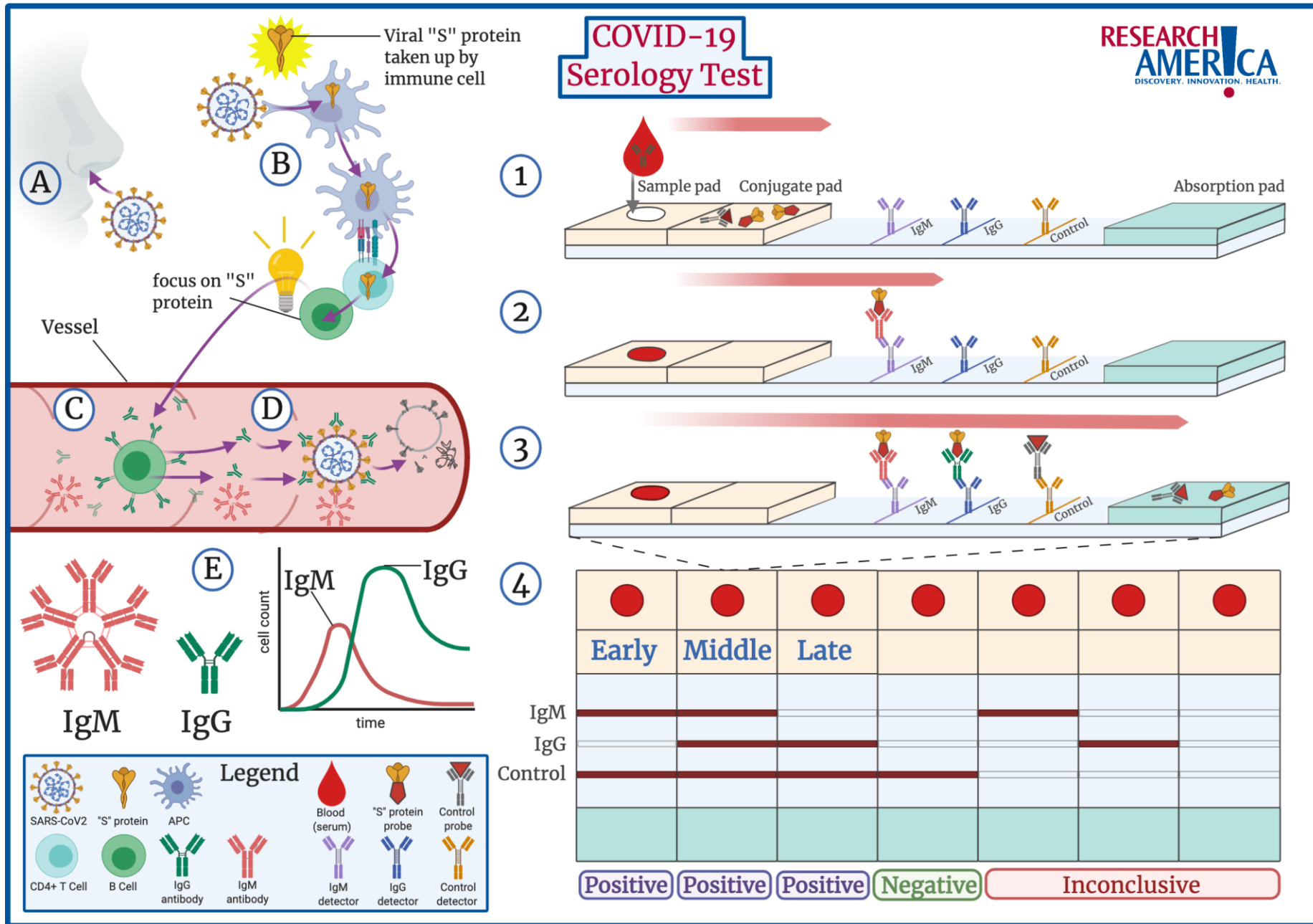


– SARS-CoV-2

– antigen – Spike protein



- Falešná pozitivita – pokud není použitý pufr od výrobce → různé potraviny, nápoje, voda, jiný nekomplementární pufr
- Falešná negativita – příliš nízká koncentrace (příliš brzké/pozdní testování), nesprávný odběr, nevhodné testovací podmínky



M U N I

M E D