

UNIVERZITA PALACKÉHO V OLOMOUCI

PŘÍRODOVĚDECKÁ FAKULTA

Katedra organické chemie

Václav Šojdr

***Příspěvek k optimalizaci biochemické diferenciální diagnózy u pacientů s diagnózou
bolest na hrudi***

Bakalářská práce

Studijní obor: Bioorganická chemie B1407

Vedoucí práce: RNDr. Martin Novák

Olomouc 2012

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci vypracoval samostatně pod vedením RNDr. Martina Nováka. Využil jsem pramenů uvedených v seznamu použité literatury. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Olomouci

.....

Václav Šojdr

Bakalářská práce byla vypracována v Laboratoři klinické biochemie a hematologie a na Oddělení klinické biochemie Kroměřížské nemocnice a.s.

Děkuji RNDr. Martinu Novákovi, MUDr. RNDr. Pavlu Neshybovi, Csc., MUDr. Vítu Rozsypálkovi a Ing. Šárce Žákové za informace, rady a čas, který mi poskytli při mé práci.

Bibliografická identifikace:

Jméno a příjmení autora: Václav Šojdr

Název práce: Příspěvek k optimalizaci biochemické diferenciální diagnózy u pacientů s diagnózou bolesti na hrudi

Typ práce: Bakalářská

Pracoviště: Laboratoř klinické biochemie a hematologie, Oddělení klinické biochemie Kroměřížské nemocnice a.s.

Školitel: RNDr. Martin Novák

Školitel-konzultant: MUDr. RNDr. Pavel Neshyba, Csc., MUDr. Vít Rozsypálek

Rok obhajoby práce: 2012

Abstrakt:

Troponiny jsou dnes využívány jako marker infarktu myokardu, ale nejen infarktu. Konkrétně se jedná o troponin T a I. Troponin C nelze označit jako selektivní marker infarktu myokardu. Dříve se využívaly jiné markery jako CK-MB, myoglobin atd. Avšak dnes se vyšetření troponinů stalo standardem. Nejnovějším trendem jsou hs metody, které posunuly detekční limity ještě níž, což přineslo jak pozitiva, tak negativa.

V dnešním světě plném stresu, obezity, nezdravé stravy a jiných aspektů vedoucích k vysoké úmrtnosti na infarkt myokardu, je trendem se zabývat srdečními markery, neboť jsou to problémy zasahující hlavně vyspělé a bohaté státy. Je snaha vylepšit stávající metody, které by ušetřily peníze, čas i práci vyšetřujících doktorů, ale kvalita péče o pacienta by nebyla nijak snížena, ba naopak zlepšena. Z tohoto důvodu vznikl projekt, ve kterém bylo provedeno srovnání obou troponinů na souboru pacientů. Právě díky těmto výsledkům by mělo dojít k optimalizaci postupu práce s pacientem, u kterého je podezření na akutní infarkt myokardu, což je stav aterosklerotické ischemie myokardu, který z této skupiny onemocnění nejvíce ohrožuje pacienta na životě.

Klíčová slova: akutní infarkt myokardu, troponin T a I, bolest na hrudi

Počet stran: 38

Počet příloh: 2

Jazyk: Český

Bibliographical identification:

Author's first name and surname: Václav Šojdr

Title: Optimization of the biochemical differential diagnosis in patients with acute chest pain

Type of thesis: Bachelor

Department: Laboratoř klinické biochemie a hematologie, Oddělení klinické biochemie Kroměřížské nemocnice a.s.

Advisor: RNDr. Martin Novák

Advisor-consultant: MUDr. RNDr. Pavel Neshyba, Csc., MUDr. Vít Rozsypálek

The year of presentation: 2012

Abstract:

Troponins are currently used as a marker of myocardial infarction but not only that. This applies especially to troponin T and I. Troponin C does not belong to as a selective marker of myocardial infarction. In past other markers, such as CK-MB, myoglobin, etc., have been used. However, nowadays the troponins examination has become standard. The newest trend is hs methods that have even lowered detection limits, which brought both positives and negatives effects.

In today's world full of stress, obesity, excess, unhealthy diet and other aspects leading to high mortality from myocardial infarction, there is a tendency to deal with cardiac markers, because these are issues mainly affect developed and rich countries. There is an effort to improve existing methods that would save money, time and work of investigating doctors, and that would not reduce the quality of patient care, but even improve it. Because of this effort, there has been a project, which compared both troponins on a group of patients. Thanks to these results, it should lead to optimization of work with a patient suspected of acute myocardial infarction, a condition of atherothrombotic myocardial ischaemia, which is the most life-threatening of this group of diseases.

Keywords: acute heart attack, troponin T and I, chest pain

Number of pages: 38

Number of appendixes: 2

Language: czech

SEZNAM ZKRATEK

CK-MB – kreatin kináza

hs – vysoce senzitivní

s,cTn: s – skeletní (kosterní), c – srdeční troponin

Tnf,s: f – troponin rychlých, s – troponin pomalých vláken

ACS – akutní koronární syndromy

STE AIM, STEMI – akutní infarkt myokardu s elevací ST úseku

NSTEMI – akutní infarkt myokardu bez elevace ST úseku

NSAP – nestabilní angina pectoris

SAP – stabilní angina pectoris

ESRD – konečná fáze renálního selhání

ICHs – ischemická choroba srdeční

AST – aspartátaminotransferáza

LDH – laktátdehydrogenáza

AIM – akutní infarkt myokardu

OKB - Oddělení klinické biochemie Kroměřížské nemocnice a.s.

CD – kritická difference

EKG – elektrokardiogram

CV_a – analytická variabilita

CV_i – biologická (intraindividuální) variabilita

ATP – adenosin trifosfát

CV, VK – variační koeficient

OBSAH

SEZNAM ZKRATEK.....	6
OBSAH.....	7
1. ÚVOD.....	9
2. TEORETICKÁ ČÁST	11
2.1. Charakteristika troponinů	11
2.1.1. Troponiny jako komplex proteinů.....	11
2.1.2. Funkce troponinů v organismu	11
2.1.3. Lokalizace a specifita troponinů	12
2.1.4. Troponiny jako markery	13
2.2. Klinická vyšetřovací – zobrazovací vyšetření.....	15
2.2.1. Pacient s podezřením na infarkt myokardu	15
2.2.2. Pomocná metoda EKG	15
2.2.3. Další pomocné metody při podezření na IM.....	16
2.2.4. Komplexní vyšetření pro maximální správnost diagnostiky	16
2.2.5. Biochemické markery IM.....	17
2.2.6. Invazivní metody	17
2.3. Aterotrombotická ischemie myokardu a ACS.....	18
2.3.1. Skupina patologických stavů zapříčiněných sníženou perfuzí.....	18
2.3.2. Kdy dochází k aterotrombotické ischemii myokardu.....	18
2.3.3. Přehled stavů aterotrombotické ischemie myokardu	18
2.3.4. Uvolnění troponinu bez kritického poškození myokardu.....	20
2.4. Metody stanovení troponinu	20
2.4.1. Všeobecné parametry.....	20
2.4.2. Troponin T hs - ROCHE	20
2.4.3. Troponin I - SIEMENS.....	21
2.5. Hodnocení výsledků	22
2.5.1. Hodnocení koncentrace troponinu	22
2.5.1.1. Nastavení limitní hodnoty.....	22
2.5.1.2. Přesnost měření vs. citlivost	23
2.5.1.3. Kritická difference – nárůst nebo pokles koncentrace v čase.....	24
2.5.2. Jak tedy nakládat s výsledky?	24
3. METODY A PACIENTI	25
3.1. Metody.....	25
3.2. Pacienti.....	26

4. VÝSLEDKY A DISKUZE	27
4.1. Verifikace analytické přesnosti a správnosti použitých metod	27
4.2. Vyšetření základního souboru	29
4.2.1. Vyhodnocení cut off cTnI a cTnT	29
4.2.2. Vyhodnocení základního souboru pomocí „kritických diferencí“ (CD) cTnI a sTnT	31
5. ZÁVĚR	34
6. LITERATURA	36

1. ÚVOD

Podíváme-li se na dnešní společnost, můžeme říct, že žijeme v relativně příznivé době, kdy je všeho dostatek a lidi nezabíjí válka, chudoba či epidemie jakou byla například španělská chřipka. Průměrná délka života je v ČR 73,5 roku u mužů a 80 let u žen.¹ Jendou z častých nemocí postihující starší generace je infarkt myokardu. Nahrává tomu fakt, že dnešní člověk je vystaven velkému stresu, mnoho lidí trpí obezitou, kouří a mají nedostatek pohybu. Každoročně zemře v Evropě na následky kardiovaskulárních onemocnění 4,3 milionu lidí.² Pro upřesnění situace v České republice se můžeme podívat na data z přehledu vybraných kardiovaskulárních intervencí pro rok 2010. V Krajské nemocnici T. Bati, a.s. ve Zlíně bylo za rok 2010 evidováno 718 pacientů (480 mužů a 238 žen) o průměrném věku 66,2 let. Ze zmíněných 718 případů se jednalo o ICHS (24,1%), NSTEMI (26,3%), STEMI (35,7%) a jiné (13,9%).³ Ze statistiky lze říci, že cílovou skupinou těchto vyšetření jsou jedinci ve věku 60 let a více. Poškození myokardu je zjištělné celou škálou vyšetření, ale jako vždy je cíl vybrat co nejselektivnější, nejcitlivější - nej přesnější, nejrychlejší a nejlevnější metodu.

Zaměříme-li se na biochemická vyšetření, bylo v tomto ohledu vyzkoušeno více markerů. Abych upřesnil, jak by měl takový ideální marker vypadat, vyjmenuji zde několik příkladů jeho vlastností:

- měl by se uvolňovat pouze ze srdeční svaloviny, při jejím poškození
- měl by být uvolněn do krve a následně být měřitelný v co nejkratším čase
- v ideálním případě by jeho koncentrace odpovídala i rozsahu poškození myokardu.

V tabulce 1. jsou uvedeny příklady běžně používaných markerů.

Dříve bylo standardem vyšetření CK-MB a myoglobinu. Avšak z tabulky lze vyčíst, že troponiny splňují požadavky ideálního markeru lépe. Jejich ohromnou výhodou oproti ostatním markerům je jejich selektivita. Také čas měřitelnosti se díky HS metodám snížil. Dokonce i čas, po který jsou troponiny uvolňovány, nám může poskytnout přibližné informace o rozsahu poškození tkáně. Zde však narážíme na jednu z nevýhod, kterou vyšetření přináší, a tou je cena. Jedná se o dražší vyšetření, a tak omezuje i následující tendenci, kterou je sériové měření. Bylo by zajímavé jej provádět, aby se ukázala perspektivita troponinů v určování rozsahu poškození.

Komponenta	Mr [Da]	Biologický poločas	Lokalizace v buňce
Kreatinkináza (CK)	86 000	17 h	cytoplazma
• izoenzym MB (CK-MB)	86 000	13 h	
Laktátdehydrogenáza (LD) (především izoenzym LD ₁)	135 000	110 h	
Myoglobin	17 800	15 min	
Srdeční troponin T (cTnT) (cytoplazmatická frakce)	37 000	2–4 h	
Srdeční troponin I (cTnI) (cytoplazmatická frakce)	22 500	2–4 h	
Srdeční troponin T (cTnT)	37 000	2–4 h	fibrilární kontraktilní komplex
Srdeční troponin I (cTnI)	22 500	2–4 h	
Aspartátaminotransferáza (AST) (mitochondriální izoenzym)	93 000	34 h	mitochondrie

Tab. 1. markery IM⁴

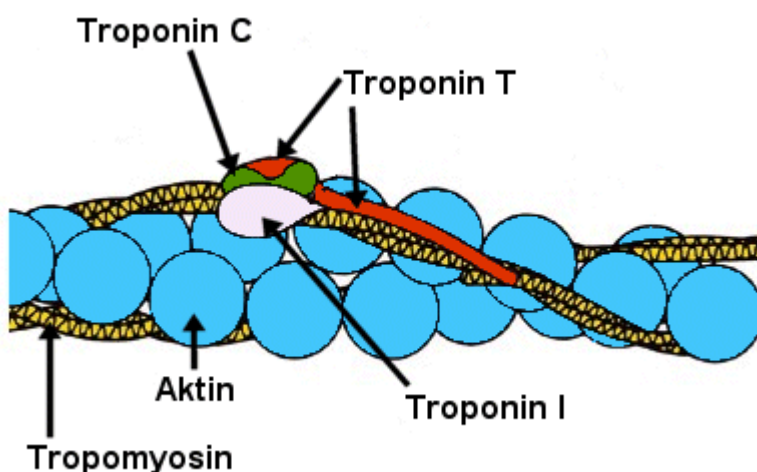
Pro maximální spolehlivost se využívá více vyšetření, pomocí kterých je vyšetřující lékař schopen co nejspolehlivěji určit diagnózu a vyloučit AIM. Má práce je zaměřena na srovnání naměřených výsledků troponinů I a hs T u pacientů s akutní bolestí na hrudi (Diagnóza R07.4). Vyhodnocené výsledky byly doplněny finální diagnózou. Z výsledků bude ověřena spolehlivost obou metod a zároveň by mělo dojít k optimalizaci pracovních postupů a selekce IM a AIM. U pacienta s podezřením na AIM půjde o postup, který by se dal nazvat „TIME IS MUSCLE“, zatímco u pacientů s neakutním infarktem nebude prováděno zbytečně velké množství vyšetření, což je ušetří stresu, lékařům to ušetří čas a práci. Také z finančního hlediska by mělo dojít k úsporám, ale neklesne kvalita péče o pacienta!

2. TEORETICKÁ ČÁST

2.1. Charakteristika troponinů

2.1.1. Troponiny jako komplex proteinů

Troponiny jsou komplexem proteinového charakteru, který se skládá ze tří podjednotek, cTn I, cTnT a cTnC. Každá z podjednotek má specifickou vlastnost. Troponin C obsahuje v N-terminální doméně dvě vazebná místa pro vápenatý kationt a další dvě, schopná vázat vápník nebo hořčík jsou v C-terminální doméně. cTnC má sedlovitý tvar, který je výhodný pro uložení kulovité C-terminální části cTnT. N-terminální konec cTnT má tvar výběžku a přiléhá k tropomyosinu. Troponin I je kalcium-dependentní inhibitor interakce tenkých a tlustých myofilament; v nepřítomnosti vápníkových iontů blokuje vazebná místa mezi aktinem tenkých myofilament a myosinem tlustých myofilament. Vazba mezi cTnI a cTnC je velmi pevná a je ovlivňována stupněm saturace cTnC vápníkem. Troponiny C a I jsou vázány pomocí podjednotky cTn T na tropomyosin, což vytváří troponin-tropomyosinový komplex. Jednotlivé komplexy jsou na tropomyosinu vázané ve vzdálenosti přibližně 40nm.⁵



Obr. 1. Troponin-tropomyosinový komplex⁶

2.1.2. Funkce troponinů v organismu

Funkcí troponin-tropomyosinového komplexu je kontrola kontrakce a relaxace buněk příčně pruhovaného svalstva. Po navázání vápenatého kationtu na troponin C dojde k posunutí

troponinového komplexu pomocí troponinu T a zároveň se uvolní vazebné místo na aktinu, do kterého se může vázat myosinová hlavička. Tímto procesem dojde za spotřeby ATP k posunu svalových vláken.

2.1.3. Lokalizace a specifita troponinů

Komplex troponinů se nachází jak v buňkách kardiomyocytu, tak v buňkách kosterního svalstva. Jedná se o specifické izoformy, jejichž syntéza je kódována samostatnými geny.

gen pro	symbol	lokalizace na chromozomu
troponin C	sTnCf c, sTnCs	3p21.3 p14.3
troponin I rychlých vláken kosterního svalstva	sTnIf	není dosud známa
troponin I pomalých vláken kosterního svalstva	sTnIs	1q12
troponin I myokardu	cTnI	19p13.2
troponin T rychlých vláken kosterního svalstva	sTnTf	11p.1.5
troponin T pomalých vláken kosterního svalstva	sTnTf	19q13.4
troponin T myokardu	cTnT	1q32

Tab. 2. Přehled a lokace na chromozomech⁷

Z tab. 2. vyplývá, že jak v kosterní tak v srdeční příčně pruhované svalovině dochází k expresi cTnC a sTnCs. Z tohoto důvodu nelze použít cTnC ke stanovení poškození myokardu. cTnI nelze využít pro stanovení poškození myokardu u novorozenců a kojenců do 9. měsíce, kdy ustává definitivně transkripce genu pro sTnIs v myokardu a nedochází k reexpresi cTnI v kosterním svalstvu. Jediná izoforma cTnI, využitelná pro diagnostiku, je přítomná v myokardu

dospělých osob. Absolutně kardiospecifický cTnI má parametry: rel. mol. hmotnost 23876 Da, 209 aminokyselinových reziduí v molekule, teoretické pI=9,87. U dospělých osob jsou v kosterním svalstvu přítomny dvě izoformy sTnIf (rel. mol hmotnost 21207 Da, 181 aminokyselinových reziduí, teoretické pI=8,8) a sTnIs (rel. mol. hmotnost 21561 Da, 86 aminokyselinových reziduí, teoretické pI=9,61).⁸

U cTnT dochází ke vzniku čtyř izoform cTnT1-4. Děje se tak mechanismem alternativního kombinatorního sestřihu dvou exonů ve fetálním myokardu. Tyto izoformy se liší přítomností nebo naopak chyběním dvou rozdílných peptidických reziduí v primární struktuře molekuly cTnT v pozicích 18-22, resp. 23-32. Dominantní izoformou ve fetálním myokardu je cTnT2. cTnT1 a cTnT4 jsou přítomny pouze ve stopovém množství. V průběhu další ontogeneze přibývá exprese cTnT3, který je dominantní izoformou v myokardu dospělých osob. Reexprese syntézy fetální izoformy cTnT4, může být vyvolána u dospělých osob patologickými okolnostmi, např. při ICHS. Isoformy cTnT obsahující dekaeptid v pozici 23-32 podmiňují vyšší citlivost myofilament myokardu na koncentraci vápníkových iontů, což je zřejmě významné pro funkci fetálního kardiomyocytu, v jehož cytosolu je koncentrace vápníku podstatně nižší než v cytosolu adolescentního kardiomyocytu. V adolescentním myokardu se nacházejí izoformy cTnT3 a cTnT4, které kritický dekaeptid neobsahují. Ve fetálním období dochází k syntéze izoform cTnT i v kosterním svalstvu, avšak po porodu tato aktivita mizí a v dospělosti není za fyziologických podmínek prokazatelná. Za patologických podmínek byla zjištěna reexprese syntézy cTnT v kosterním svalstvu, např. u svalových dystrofií typu Duchenne, při polymyositidě a dermatomyositidě, při regeneraci nebo po denervaci kosterního svalstva a u nemocných s renálním selháním. Vzniklé izoformy neobsahují epitopy, proti kterým jsou zaměřeny monoklonální protilátky ke stanovení cTnT (Roche Diagnostics). U dospělých osob jsou zastoupeny v kosterním svalstvu dvě izoformy: sTnTf (rel. mol. hmotnost 30465 Da, 257 aminokyselinových reziduí, teoretické pI=6,07) a sTnTs (rel. mol. hmotnost 32817 Da, 227 aminokyselinových reziduí, teoretické pI=5,86).⁸

2.1.4. Troponiny jako markery

Již dříve bylo zjištěno, že v srdeční tkáni je daleko vyšší koncentrace troponinů než jiných kardiálních markerů, jako je například CK-MB. Pokud by tedy docházelo k uvolnění markerů úměrně jejich koncentracím v srdci, byla by hladina srdečních troponinů v krvi vyšší, tudíž i měřitelnější. K uvolnění troponinů dojde při odumření kardiomyocytů, které bylo způsobeno zúžením, uzávěrem tepny nebo některé menší cévy. Tento jev je ireverzibilní, pokud koncentrace ATP klesne pod 80% normální hladiny a trvá 10-20 minut. Dochází k uvolnění jak

vázaného tak cytosolárního troponinu, který má stejné fyzikální vlastnosti jako troponin vázaný. Pokud by nedošlo k ireverzibilním změnám, troponin by se neuvolnil. V periferní krvi jsou uvolněné markery měřitelné až po dvou hodinách. U cTnT je zvýšená hladina měřitelná i v kratším čase, což je doména hs metody. Bylo prokázáno, že oba troponiny jsou při diagnostice a sledování průběhu akutních koronárních syndromů rovnocenné.⁹ V Tab. 3. budou uvedeny hodnoty, které oba troponiny srovnávají.

Parametr	cTnT	cTnI
Rel. mol. hmotnost	37000 Da	23 876 Da
Koncentrace v myokardu (g/vlhké tkáni)	10,8 mg	4-6 mg
Cytosolový pool volného cTn (%)	6-8%	2,8-4,1%
Formy cTn v krvi při uvolnění z myokardu	volný cTnT, komplex cTnT-I-C fragmenty cTnT	komplex cTnI-C komplex cTnT-I-C fragmenty cTnI volný cTnI?
Biologický poločas	120 min.	<120 min.
Sekvenční homologie s sTnTf resp. sTnIf	56,6%	41,4%
Sekvenční homologie s sTnTs resp. sTnIs	58,3%	46,2%
Použitelnost při diagnostice a sledování ACS	není rozdílná	
Použitelnost při diagnostice a sledování neischemického poškození myokardu	nejsou udávány systematické rozdíly	
Vzestup v krvi při STE AIM (hod. po začátku onemocnění)	3-4	3-5
Kulminace koncentrace v krvi (hod.)	12-75	12-30
Diagnostické „okno“ (dny)	4-12	4-7
Bifázický průběh při úspěšné časné reperfuzi	zřetelný	méně zřetelný
Použitelnost pro hodnocení úspěšnosti trombolýzy	ano	ano
Účinnost při stratifikaci kardiovaskulárního rizika	srovnatelná	
Vzestup hodnot v krvi u nemocných v ESRD (* podle použitého cut-off a analytické citlivosti metody)	30-80 %*	0,4-6 %*
Stratifikace rizika kardiovaskulární mortality u ESRD	účinnější	méně účinná
Počet producentů (červen/2008)	1	15?

Tab. 3. Srovnání troponinů T a I¹⁰

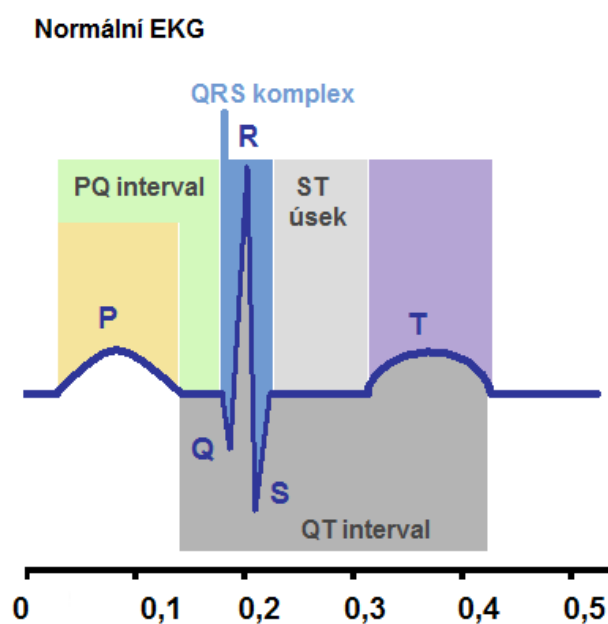
2.2. Klinická vyšetřovací – zobrazovací vyšetření

2.2.1. Pacient s podezřením na infarkt myokardu

Pacient, u kterého je podezření na infarkt myokardu, je podroben postupu vyšetření, který zde bude přiblížen. Typickým příznakem infarktu je silná bolest na hrudi neustupující po delší dobu, která může vystřelovat směrem ke krku nebo pažím. Avšak ne vždy se infarkt takto projeví. Někdy dochází k silným zažívacím potížím, velké nevolnosti a výrazné dušnosti, které nejsou provázeny typickou bolestí na hrudi. Po přijetí je vyšetřujícím lékařem sestaven klinický obraz a anamnéza, což zahrnuje například poslech srdce, změření tlaku, zapsání příznaků a času, ve kterém problémy začaly. Historie respektive dobrá informovanost o průběhu nemoci-anomálie může lékaři výrazně pomoci. Jak již bylo zmíněno, troponin je měřitelný po 2 hodinách (u hs metod přibližně po 1 hodině), tudíž pokud by krev byla odebrána dříve, nejspíš by byl výsledek negativní (viz. Tab. 1. a 3.).

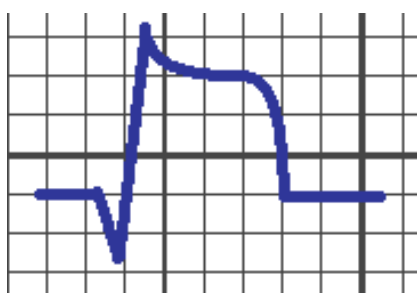
2.2.2. Pomocná metoda EKG

Pokud lékař dospěje k závěru, že by se mohlo jednat o infarkt, je pacient poslán na záznam elektrické aktivity srdce neboli EKG. Tato metoda, již dlouhou dobu používaná, dokáže velmi rychle potvrdit, zda došlo k poškození srdeční svaloviny. Na Obr. 2. můžeme vidět ideální průběh kardiogramu, který nebude u každého člověka stejný.



Obr. 2. Kardiogram¹¹

Abychom dobře porozuměli, jak nám EKG může pomoci s identifikací infarktu, je potřeba si uvést několik údajů. EKG, jak již bylo řečeno, je záznamem elektrické aktivity srdce, tudíž na počátku vznikne akční potenciál, který vede k depolarizaci srdečních komor. Průběh šíření akčního potenciálu je předmětem zájmu, který je sledován. Za fyziologické se považuje seskupení vln v pořadí P, Q, R, S a T, kde propojení vln QRS je považováno za komplex. Typickým ukazatelem anomálie při infarktu je Pardeeho vlna (viz. Obr. 3.), neboli elevace úseku ST, kdy QRS přechází bez poklesu do T vlny. Deprese úseku ST je vždy považována za anomálii, kdežto u elevace je mírná tolerance přibližně 0,1 mV. Od elevace úseku ST je odvozen název STEMI - ST elevation myocardial infarction.¹²



Obr. 3. Pardeeho vlna¹³

2.2.3. Další pomocné metody při podezření na IM

Rychlou a velmi rozšířenou metodou, kterou by bylo dobré zmínit, je echokardiografie. Principem tohoto vyšetření je použití ultrazvuku, které bezbolestně a okamžitě zobrazí srdce při jeho pohybu. Tato metoda je vhodná pro celkový obraz stavu, ve kterém se srdce nachází. Může zobrazit například tromby nebo tumory aj.¹⁴

2.2.4. Komplexní vyšetření pro maximální správnost diagnostiky

Je zřejmé, že existuje mnoho metod, které nám mohou pomoci k diagnóze infarktu, aniž bychom použili biochemické metody. Jak už to v životě bývá, nic nefunguje ideálně a ani u infarktu myokardu tomu není jinak. Později bude pojednáno o jednotlivých stavech - srdečních anomáliích, u kterých bude uvedeno, jak je lze diagnostikovat. U některých poruch nastává běžně situace, kdy dochází k akutnímu infarktu myokardu bez elevace úseku ST. Právě z těchto důvodů je nutné provádět i biochemické vyšetření, aby byla minimalizována šance na špatný úsudek. Kardiomarkery jsou ideálním doplněním již zmíněných vyšetření. Bylo by nevhodné se

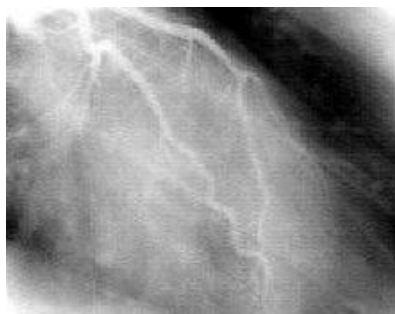
spoléhat pouze na jednu metodu. Rád bych zde zmínil problém biochemických metod a to u rozhodovacích hodnot, které jsou velmi blízké hraniční cut off, je těžké diagnostikovat co je a není patologií. Dále se tomuto tématu budu věnovat v části hodnocení výsledků.

2.2.5. Biochemické markery IM

V úvodu byla uvedena tabulka kardiálních markerů. Dříve se využívalo AST, LDH, izoenzymu CK-MB, následně pak myoglobinu. Nevýhodou například u CK-MB byla velmi dlouhá doba, než mohla být detegována v krvi. Jednak z tohoto důvodu je tento marker vytlačován troponiny, ale především je to díky absolutní kardiospecifičnosti troponinu. Tato vlastnost vynáší troponinu jednoznačné prvenství mezi současnými kardiomarkery.

2.2.6. Invazivní metody

Doposud byly zmíněny metody vyšetření, které nejsou žádnou velkou zátěží pro pacienta. Ne vždy však lze provést vyšetření tak příjemně. Mezi takové patří invazivní metody, např.: selektivní koronarografie. Zmíněná metoda slouží jako terapeutický výkon při klinické a biochemické pozitivitě nálezů. V případech, kdy trvá klinické podezření a laboratorní nálezy troponinů jsou blízké cut off, poskytuje jednoznačné informace o průsvitu tepny zobrazeného kontrastní látkou nebo informace o složení stěny tepny a její kvalitě z hlediska pružnosti. Zmíněná kontrastní látka je vstříknuta do ústí srdečních cév. Aby k tomu mohlo dojít, musí se zavést katetr, který je vpraven do tepny v oblasti třísla nebo paže. Cévy jsou pak zobrazeny pomocí rentgenového záření. Příklad je na obr. 4.



Obr. 4. Koronarografické vyšetření ¹⁵

2.3. Aterotrombotická ischemie myokardu a ACS

2.3.1. Skupina patologických stavů zapříčiněných sníženou perfuzí

V předešlém textu jsem se zaměřil na vysvětlení, proč je troponin specifický a kdy dochází k jeho uvolnění ze srdeční svaloviny. Rád bych zde uvedl patologické stavy – nemoci, které způsobují uvolnění kardiomarkerů. Většina těchto stavů má stejný původ, a tak by se daly zahrnout pod stav známý jako aterotrombotická ischemie myokardu.

2.3.2. Kdy dochází k aterotrombotické ischemii myokardu

Čím je způsobena? Zpravidla se tak stává po aterosklerotických změnách koronárních tepen. Pod tímto pojmem si můžeme představit množství důvodů, díky kterým došlo k nedostatečnému okysličení kardiomyocytů, a tím i k jejich degradaci. Mezi časté příčiny patří například uzávěr tepny trombem, což je krevní sraženina, která může být odtržena od cévní stěny. Dalšími aspekty způsobujícími snížení nebo přerušení koronární perfuze může být spasmus, snížení koronární mikrocirkulace, mikroembolizace, způsobená drolícím se trombem. Lze říci, že důsledky způsobené patologickými jevy již zmíněnými, jsou přímo úměrné akutním nárokům myokardu na dostupnost látek z okysličené krve. Charakter aterosklerotických změn a jejich vliv na změny perfuze se projevují širokou a plynulou škálou klinických forem ischemické choroby srdeční.¹⁶

2.3.3. Přehled stavů aterotrombotické ischemie myokardu

V tab. 4. jsou uvedeny jednotlivé formy ischemické srdeční choroby s hlavními znaky, které by je měly charakterizovat a částečně odlišit. U některých forem se může zdát vyšetření troponinu zbytečné, ale není tomu tak. Například u STEMI, kde je nutné zakročit okamžitě a nelze čekat na výsledky měření troponinů, mohou troponiny napovědět rozsah poškození popřípadě i možnost reinfarktu. U nestabilní anginy pectoris je zmíněno, že opakované měření by mělo přinést negativní výsledek. Respektive opakovaným měřením lze diferencovat NSAP od NSTEMI. Je to z důvodu malého ložiska uvolňující troponin při NSAP. Troponiny nám tedy mohou pomoci při specifikování diagnózy, která určí optimální léčbu pacienta.

Forma ischemické srdeční choroby	hlavní znaky	detekce
Akutní koronární syndromy (ACS)	- nestabilita aterosklerotického procesu koronárních tepen - ostatní zmíněné formy jako STEMI, NSTEMI, SAP a NSAP se řadí pod ACS	- u jednotlivých forem bude zmíněno, nelze sumarizovat
akutní infarkt myokardu (STEMI)	- jedná se o úplný a rychlý uzavěr subepikardiální tepny - nutnost co nejrychlejší obnovy perfuze	- elevace úseku ST v EKG (20-30% pacientů s příznaky na ACS) - měřitelný troponin i po opakovaném měření
němá ischemie myokardu (NSTEMI)	- podobné jako u STEMI, ale většinou nedochází k tak rozsáhlým poškozením	- bez elevace úseku ST v EKG (70-80% pacientů s příznaky na ACS) - měřitelný troponin i po opakovaném měření
stabilní angina pectoris (SAP)	- jedná se o aterosklerotické změny, které způsobí, že při zvýšené námaze nedochází k dostatečnému zásobení tkáně - většinou nedochází k ireverzibilním změnám - často přechází v NSAP	- lze zjistit angiografií - nelze detekovat kardiomarkery respektive troponiny
- nestabilní angina pectoris (NSAP)	- podobné jako u SAP, avšak dochází k ireverzibilním změnám - dočasná úplná okluze, která podléhá trombolýze. Častěji dochází pouze k částečné okluzi, ke které přispívá spasmus a mikroembolizace.	- deprese úseku ST v EKG nebo změny vlny T - opakované měření troponinů, kdy další by mělo být negativní a první se blíží hodnotám cut-off

Tab. 4. Formy ischemické srdeční choroby¹⁷

2.3.4. Uvolnění troponinu bez kritického poškození myokardu

Zmíněné ACS nejsou jediné příčiny uvolnění troponinů. Jsou známy stavy jako je embolie do plic, popáleninové trauma, poruchy srdečního rytmu a srdeční selhání, které mohou uvolňovat troponin. Dokonce bylo zjištěno, že u maratonských běžců je po jejich extrémním výkonu srdeční troponin měřitelný, stejně tak u každé extrémní fyzické zátěže. Nejedná se však o vysoké hodnoty koncentrace troponinu, ale spíše o hodnoty blízké cut off.¹⁸

2.4. Metody stanovení troponinu

2.4.1. Všeobecné parametry

Měření probíhalo na dvou přístrojích. Troponin T se měřil „hs metodou“ na přístroji od firmy ROCHE a troponin I na sestavě od firmy SIEMENS. Je více výrobců zabývajících se tímto vyšetřením jako je Abbot, Beckman aj. Biologický materiál, který byl použit k měření, byla plazma. Každý z výrobců používá trochu odlišný princip metody. Níže budou přiblíženy jednotlivé principy.

2.4.2. Troponin T hs - ROCHE

cTn T hs jsem měřil na přístroji Cobas e 411. Tento přístroj využívá elektrochemiluminiscenčního stanovení a je založen na sendvičovém principu. Dvě monoklonální protilátky reagují s troponinem T za tvorby komplexu. Protilátky jsou zaměřeny na aminokyseliny z centrální části srdečního troponinu nacházející se na pozicích 125-131 a 136-147 (troponin je složen z 288 aminokyselin). Aby mohlo dojít k identifikaci vytvořeného komplexu, je jedna z protilátek biotinylovaná, a tak se může navázat na mikročástice potažené streptavidinem. Druhá protilátka je značena rutheniovým komplexem. Po vytvoření interakce biotin-streptavidin, jsou mikročástice v reakční směsi převedeny do měřicí cely. Mikročástice se zachytí magnetickým polem na povrch elektrody. Složky nezachycené na elektrodě jsou promyty roztokem ProCell. Chemiluminiscence respektive emise fotonů je vyvolána vložením napětí na elektrodu a změřeno fotonásobičem. Výsledky se vyhodnocují pomocí kalibrační křivky. Kalibrace se provádí 2-bodově. Kalibrátory obsahující lidský troponin jsou izolovány z *E. coli* BL21.¹⁹

2.4.3. Troponin I - SIEMENS

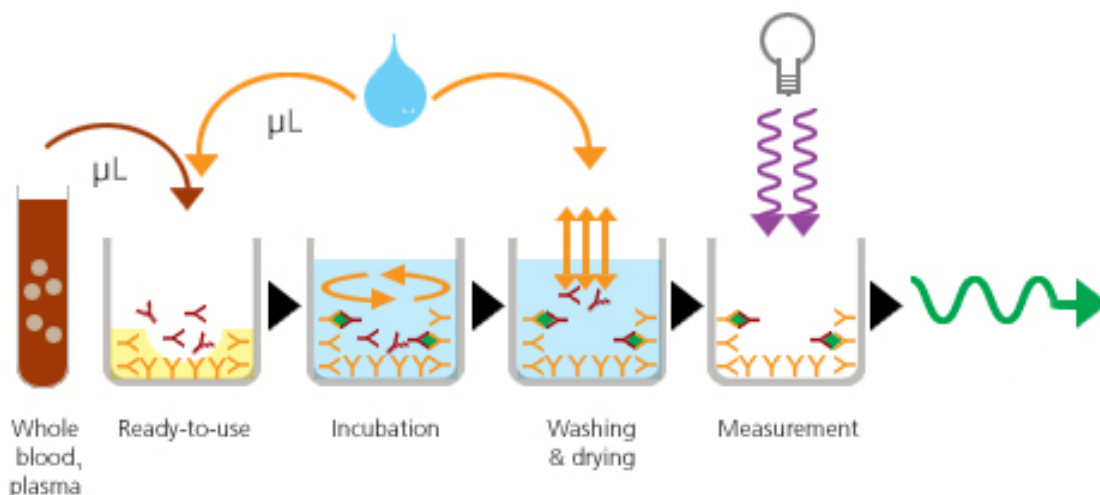
cTn I byl měřen na přístroji IMMULITE 2000 od firmy SIEMENS. Tento přístroj využívá pevné fáze - polystyrenových kuliček, které jsou potaženy protilátkou, a kapalná fáze z alkalické fosfatázy navázané na polyklonální kozi protilátku proti troponinu I. Vzorek a reagensie se inkubují po dobu 30 minut, během kterých vzniká sendvičový komplex tvořený troponinem I a protilátkami. Odpad je odstraněn centrifugálním propláchnutím. Vyhodnocení probíhá opět chemiluminiscenčně, kde signál je úměrný enzymu vázanému na kuličce. Kalibrace se provádí stejnou metodou jako u troponinu T.²⁰



Obr. 5. ROCHE Cobas e 411



Obr. 6. SIEMENS IMMULITE 2000²¹



Obr. 7. Proces vytváření komplexu²²

2.5. Hodnocení výsledků

2.5.1. Hodnocení koncentrace troponinu

V předchozích kapitolách bylo zmíněno několik stavů, které mohou způsobit uvolnění kardiomarkerů. Moje práce je zaměřena na akutní stavy myokardu, čímž mám na mysli STEMI a NSTEMI, které jsou klinicky nejvýznamnější a ohrožují pacienta na životě. Výsledná měření budou porovnána s výsledky pacientů, aby byly potvrzeny, případně upraveny kritéria hodnocení naměřených koncentrací, které jsou považovány za patologický stav.

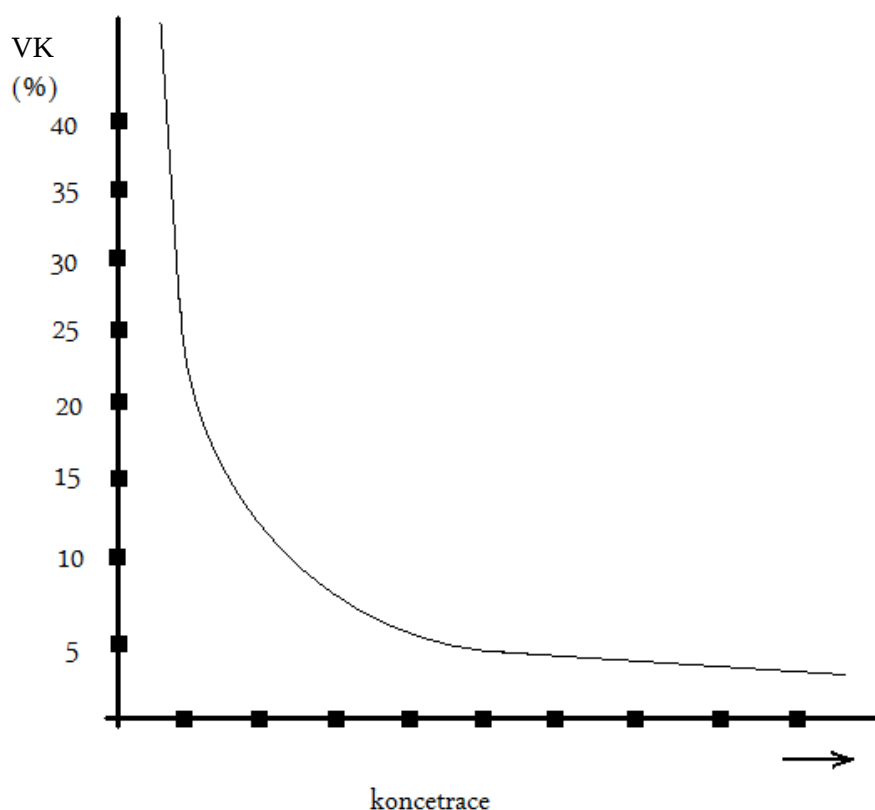
2.5.1.1. Nastavení limitní hodnoty

V krvi je přítomna neustále se měnící nízká koncentrace troponinu. Díky zdokonalujícím se metodám vyšetření, jsou již velmi nízké koncentrace dnes detekovatelné. Konkrétně u hs metody je to hodnota meze detekce 0,003 ug/l. Z tohoto důvodu se musela provést řada studií, aby byla stanovena rozhodovací hodnota, která při překročení s vysokou pravděpodobností charakterizuje patologický stav. Tato limitní hodnota se nazývá cut off. U troponinu byla stanovena na souboru zdravých osob, kde dolní mez činila 2,5 percentil a horní 97,5 percentil. Mezi zmíněnými hodnotami se nachází referenční rozmezí, ve kterém by se měla nalézat většina zdravé populace. Z důvodu snížení falešně pozitivních výsledků, byla hodnota

cut off stanovena na 99. percentil. Tudiž nad cut off se nachází pouze jedno procento referenční populace.²³

2.5.1.2. Přesnost měření vs. citlivost

Dalším zásadním parametrem, který musí být splněn, je funkční citlivost. Funkční citlivostí je myšlena závislost koncentrace na variačním koeficientu (VK,CV) neboli na nepřesnosti metody. Čím více klesá koncentrace, tím více nám roste nepřesnost metody. U nižších koncentrací stoupá variační koeficient exponenciálně (tedy velmi prudce) viz. Obr. 8. Abychom vyhověli požadavkům na vyšetření troponinů, musí být variační koeficient nižší než 10 %. Tudiž zmíněná hodnota cut off by měla mít VK nižší než 10%. Jestliže splňuje tuto podmínku, je doporučována k použití. Pokud hodnota 99. percentilu nesplňuje VK 10%, ale pohybuje se v rozmezí hodnot 10-20%, je považována za použitelnou. Hodnoty VK nad 20% jsou nepřijatelné.



Obr. 8. Funkční citlivost

2.5.1.3. Kritická difference – nárůst nebo pokles koncentrace v čase

Třetím, také velmi důležitým kritériem, je kritická difference. Jedná se o posuzování výsledků opakovaného měření, ve smyslu nárůstu nebo poklesu koncentrace troponinu o více než 20%. První odběry se provádí při přijetí a další po 6 hodinách. Při přetrvávající nejistotě lze provést opakované měření i po 12 a 24 hodinách od přijetí. Kritická difference se počítá podle vzorce 1. CV_i by měla odpovídat intraindividuální biologické variabilitě, kde pro troponin se jedná o 10%. CV_a je analytickou variabilitou neboli variačním koeficientem, který je pro 99. percentil 10%. Pokud bychom dosadili hodnoty, vyšla by nám $CD=39\%$. Uváděná hodnota vzestupu či poklesu troponinu, která je považována za významnou změnu, je 20%. Avšak z klinické praxe vyplynulo, že hodnoty považovatelné za významnou změnu, mohou být až dvojnásobné.

$$CD (\%) = 2,77 * \sqrt{(CV_i^2 + CV_a^2)}$$

vzorec 1.

2.5.2. Jak tedy nakládat s výsledky?

Při stanovování kritérií hrál podstatnou roli vztah mezi senzitivitou a specificitou zmíněný v kapitole 2.5.1.2. Pokud bychom metodu udělali velmi citlivou, docházelo by ke snížení specificity, tudíž k častějším případům falešně pozitivních výsledků. Naopak by mohlo dojít k přehlédnutí patologického stavu.

Ze zmíněných kritérií lze usoudit, že byla vyvinuta velká snaha, aby měření a následné hodnocení vykazovalo maximální přesnost, čili minimum falešně pozitivních výsledků a nejlépe žádné případy, kdy by nedošlo k odhalení patologického stavu. Pravděpodobně největší slabinou celého systému kritérií je hodnota intraindividuální biologické variability. Tento složitý název pod sebe zahrnuje faktory, jakými jsou věk, rasa, zdravotní stav, psychické rozpoložení, životní prostředí, ve kterém se pacient vyskytuje, aj. Uvedené číslo 10% je pro mě osobně velkým otazníkem. Je statisticky změřeno, že hladina troponinu je různá u jednotlivých věkových skupin a také různá onemocnění mohou zvyšovat hladinu troponinu. Dalším aspektem, který jsme nuceni brát v úvahu, je lidská jedinečnost. Každý člověk vlastní specifickou DNA, proto jsme všichni jedineční a z tohoto důvodu nelze vytvořit univerzální hodnotu cut off pro celé lidstvo.

3. METODY A PACIENTI

3.1. Metody

Správná zdravotní péče o pacienta s akutní bolestí na hrudi (Dg. R07.4) závisí ve značné míře na biochemických vyšetřeních. Klinická potřeba vyžaduje jejich stále vzrůstající četnost, citlivost a specifčnost a nalézá je ve stanovení sérové koncentrace cTn.

Z analytického hlediska je stanovení cTn vysoce složité a náročné na přesnost a správnost jejich provedení. Princip metod je popsán viz. kapitola 2.4. Stejně nároky jsou následně kladeny na analytické systémy, v nichž tyto reakce probíhají. Proto je stanovení koncentrace cTn realizováno výhradně v uzavřených systémech, jejichž producent poskytuje jak metodu tak i analytický systém.

Pro stanovení koncentrace cTnT existuje, díky účinné patentové ochraně, pouze monopolní producent (ROCHE Diagnostics). Její poslední produkt páté generace, Troponin T high sensitivity STAT, použitý v této práci, je doporučen Českou společností klinické biochemie.²⁸

Naopak koncentrace cTnI může být stanovována na světové úrovni, postupy minimálně 10 světových producentů. V práci použitá souprava Troponin I firmy SIEMENS je doporučena Českou společností klinické biochemie.²⁸ Viz. tabulka.

	cTnT	cTnI
PRODUCENT:	ROCHE Diagnostics	SIEMENS
metoda:	Troponin T hs STAT	Troponin I
analytický systém:	Cobas 411	Immolute 2000
mez detekce (ug/l):	0.001	0.1
cut off (ug/l):	0.03	0.3

Tab. 5. Charakteristika analytické metody a přístrojů

3.2. Pacienti

V časovém intervalu srpen-prosinec 2011 byl vyšetřen soubor 281 pacientů, kteří byli hospitalizováni na interním oddělení Kroměřížské nemocnice a.s. pro akutní bolest na hrudi. V souboru bylo žen 134 s průměrným věkem 72 ± 14 let, mužů bylo 147 s průměrným věkem 65 ± 12 let. Pacienti byli při příjmu vyšetřeni interním klinickým vyšetřením, anamnézou a byl pořízen EKG záznam.

Následné bylo provedeno laboratorní stanovení koncentrace cTnI a cTnT. V klinicky nebo biochemicky odůvodněných případech byla vyšetření cTnI a cTnT opakována v časovém intervalu několika hodin a použita pro vyhodnocení kritických diferencí (CD) jejich koncentrací.

U 49 pacientů se provedlo koronarografické vyšetření, kde 43 bylo s pozitivním nálezem. Tato skutečnost pomohla dále třídit pacienty uvnitř základního souboru.

4. VÝSLEDKY A DISKUZE

4.1. Verifikace analytické přesnosti a správnosti použitých metod

Výchozí parametry pro správnost a přesnost použité při stanovení cTn, jsou uvedeny v tab. 5. Byla vytvořena uspořádáním výsledků systematických kontrol, které předcházely, několikrát týdně, vlastní stanovení koncentrace cTn. Bylo použito kontrolních materiálů dodávaných výrobcí.

Kontrola:	cTnT	cTnI

SIEMENS		
cílová hodnota (ug/l)		0.95
Stanoveno (ug/l)		0.88 ±0.06
N:		69
VK (%):		6.8
ROCHE		
Kontrola 1.		
Cílová hodnota (ug/l)	0.027	
Stanoveno (ug/l)	0.030±0.004	
N:	41	
VK (%)	14.0	
Kontrola 2.		
Cílová hodnota (ug/l)	1.77	
Stanoveno (ug/l)	1.67±0.11	
N:	41	
VK(%)	6.6	

Tab. 5. Statistické hodnoty stanovovaných analytů dle pracovišť

Z uvedených výsledků lze usoudit, že analytické základy pro přesnost a správnost obou metod jsou uspokojivé.

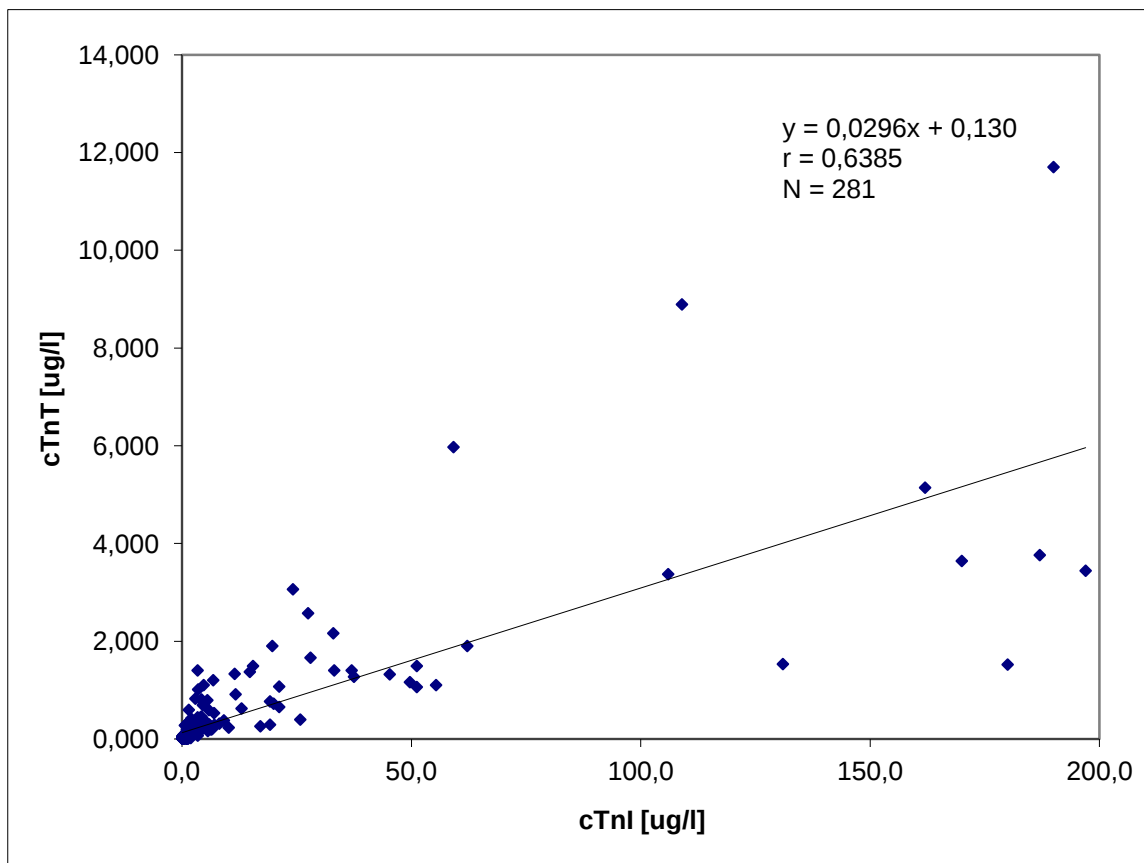
Stanovení koncentrace cTnI je prováděno na Oddělení klinické biochemie Kroměřížské nemocnice a.s. řadu let s výsledky uspokojivými jak po stránce analytické, tak i klinické. A to s použitím cut off 1.0 ug/l původně deklarované výrobcem. Tato hodnota je v plném souladu s analytickou možností toto rozhraní spolehlivě stanovit, tj. s mírou nepřesnosti (viz. CV_a) pod 10%. Kdybychom tuto hodnotu obrátili, můžeme říci, že se jedná o přesnost přesahující 90%.^{26,31} Bylo tedy překvapením, že v poslední době výrobce změnil výrazně své mínění a posunul cut off níže k hodnotě 0.3 ug/l. Patrně ve snaze vyhovět současnému klinickému trendu směřujícímu ke zvýšení diagnostické citlivosti cTnI. Tento trend není v souladu se zkušenostmi vyšetřujících lékařů, s nimiž jsem práci konzultoval, pro diagnózu akutní bolesti na hrudi. Proto byly původní cut off pro potřeby této práce ponechány. Přesto byla, v konfrontaci s klinickými údaji, prověřena obě rozhraní. Výsledky ukázaly, zda bylo toto rozhodnutí správné.

U stanovení koncentrace cTnT je hodnota cut off udávána výrobcem 0.032 ug/l. Takové rozhraní však nesplňuje analytické nároky, které jsou uvedeny výše. Proto bylo interpolací uvnitř hyperbolické závislosti mezi CV_a a koncentrací cTnT odhadnuta hodnota cut off na 0.1 ug/l. Po konfrontaci obou cut off rozhraní s klinickými údaji se ukázalo, že odhad byl správný a dobře posloužil v klinické části práce.

4.2. Vyšetření základního souboru

4.2.1. Vyhodnocení cut off cTnI a cTnT

Celkový vztah obou veličin na úrovni základního souboru je uveden v Grafu 1.



Graf 1. Vztahy koncentrací (ug/l) cTnI a cTnT na úrovni základního souboru

Diferenciace základního souboru pacientů byla umožněna díky náležitým klinickým vyšetřením pacientů, které bylo uskutečněno při jejich hospitalizaci na Interním oddělení Kroměřížské nemocnice a.s. Biochemická vyšetření byla jejich součástí. Spojit klinická a biochemická data se podařilo vzájemnou spoluprací lékařů obou oddělení. Tato spolupráce pak určila soubor pacientů a stanovila v něm taková rozhraní, která jsou odpovídající konečné klinické diagnóze. Jsou uvedena v následující tab. 6.

	AIM:	OSTATNÍ:
1. EKG-pozitivní	10	0
2. cTnI pozitivní-cTnT pozitivní	86	20
3. cTnI pozitivní-cTnT negativní	0	2
4. cTnI negativní-cTnT pozitivní	5	5
5. cTnI negativní-cTnT negativní	0	153

Celkem:	101	180
cTnI pozitivní (cut off 0.3 ug/l)		+31
cTnI pozitivní (cut off cTnT 0.03 ug/l)		+78

Tab. 6. Rozdělení základního souboru pacientů podle troponinů I a T

Ukázalo se, že u 281 hospitalizovaných s diagnózou akutní bolesti na hrudi, byla akutní nekróza (dále AIM) prokázána u 101 (36%) pacientů. U všech byla klinická diagnóza významně podložena biochemickými vyšetřeními. Přechodný nesoulad ve skupině č. 3 byl vyvolán rozdílností v časovém průběhu koncentrací cTn v krvi. cTnT (stanovovaný hypersenzitivními metodami) je prokazatelný již za hodinu po AIM. Naproti tomu koncentrace cTnI stoupá pozvolněji a je spolehlivě prokazatelná zhruba za 4 hodiny po vzniku AIM. Proto je doporučeno provádět odběr krve na stanovení cTnI až 4-6 hodin po objevení bolesti.²⁷ Tato podmínka správného odběru patrně nebyla u pěti pacientů zohledněna, nebo správné časové údaje nebylo možné získat. Zopakováním vyšetření cTnI po několika hodinách došlo ve skupině č. 3 k prudkému vzestupu koncentrace cTnI a bylo tak dosaženo plného souladu obou cTn. Při dodržení správného časového odstupu stanovení cTnI od cTnT je použitelnost obou cTn pro diferenciální diagnózu bolestí na hrudi stejně hodnotná.

Problém diagnostického využití získaných hodnot cTn je komplikován tím, že rozložení hodnot Gaussových křivek u souborů zdravých osob a souborů pacientů se srdečními onemocněními nejsou dostatečně odděleny. Tyto hodnoty se překrývají, a to poměrně velkou plochou. Obtíže spočívají v tom, kde rozlišit normu od patologie pomocí vhodně nastaveným rozhraním (cut off). Je-li rozhraní posouváno ke stále nižším hodnotám, dochází k vzestupu diagnostické senzitivity viz. Obr. 8. Vysokou citlivost metody lze označit za aktuální trend výrobců soustav, který přináší určitá rizika. Tímto rizikem se stává pokles specifity, neboť

do patologie je tímto posunem cut off k nižším hodnotám vkládán stále větší podíl normy nebo nejednoznačně určené patologie. Lze tedy naplnit klinickou touhu po vysoké diagnostické citlivosti?

Výsledky směřují spíše k negativnímu závěru. Horní část tabulky 6. prokázala, že pomocí nastavené cut off (cTnI 1.0 ug/l a cTnT 0.1 ug/l) bylo možné citlivě určit AIM v souboru 281 pacientů s diagnózou akutní bolesti na hrudi. Pokud by byla použita cut off doporučená výrobcem, bylo by nutné ze skupiny OSTATNÍ odebrat a do skupiny AIM přidat dalších 109 nových pacientů. Avšak žádný z nich AIM neměl. Ve většině případů se jednalo o polymorbidní pacienty často s chronickou ischemickou chorobou srdeční.

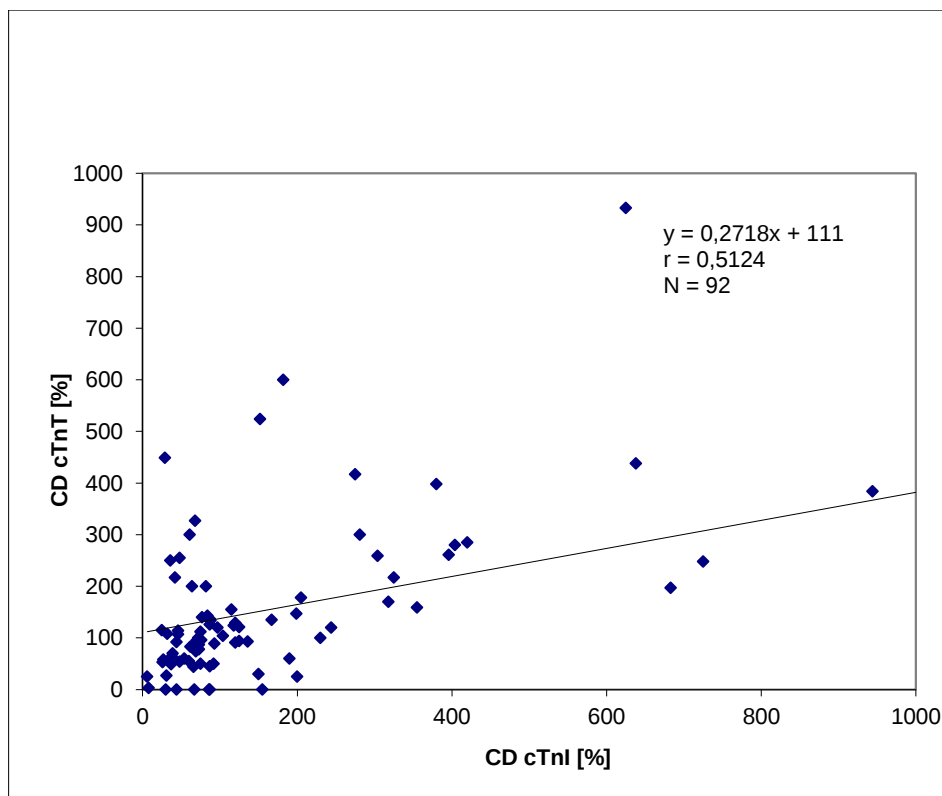
4.2.2. Vyhodnocení základního souboru pomocí „kritických diferencí“ (CD) cTnI a sTnT

Toto vyhodnocení bylo doplňkem, provedeným na základě diagnostické nejistoty, u 92 pacientů základního souboru (viz. Tab. 7.). Druhý odběr krve následoval v intervalu zhruba 6 hodin po prvním. Diference mezi druhou a první koncentrací cTn byly vyhodnoceny procentuálně. „Normální diference“ byly ohraničeny proti „kritickým“ hodnotám rozhraním $0 \pm 60\%$. Volně tím bylo přihlédnuto k názorům vycházejících z práce Vasileho³⁰, jehož představy byly pro práci považovány za nejvíce reálné oproti ostatním (viz. dále). Celkový vztah těchto hodnot na úrovni základního souboru je uveden v Grafu 2.

	AIM:	OSTATNÍ:
1. cTnI pozitivní-cTnT pozitivní	24	6
2. cTnI pozitivní-cTnT negativní	3	6
3. cTnI negativní-cTnT pozitivní	8	12
4. cTnI negativní-cTnT negativní	17	16

Celkem:	52	40

Tab. 7. Rozdělení pacientů podle troponinu I a T u kritických diferencí



Graf 2. Vztahy „kritických diferencí“ (%) cTnI a cTnT na úrovni základního souboru.

Biochemické markery nejsou stabilní v čase, kolísají pod tlakem celé řady vnitřních a vnějších vlivů v jistých rozmezích hodnot. V Sundermannově práci Koncepte „individuálních normálních hodnot“³³ se ukazuje, že variační šíře intraindividuálních výkyvů biochemických markerů je obvykle menší než interindividuální šíře populace. Koncepte nebyla akceptována z různých závažných důvodů a upadla v zapomnění. V posledních letech došlo k jejímu návratu a posloužila jako základ koncepte „kritických diferencí“ pro přesnější hodnocení koncentrací cTn.^{30,31} Při její aplikaci jsou rozdíly v koncentraci cTn, které byly stanoveny u téhož pacienta v krátkém časovém odstupu (přibližně 6 hodin)³⁰, určeny matematickým vztahem mezi analytickou variabilitou použité biochemické metody (CV_a) a intraindividuální variabilitou cTn u vyšetřovaného pacienta (CV_i) viz. vzorec 1.

Dosazením patřičných procentuálních hodnot CV_a a CV_i do vzorce 1., je možné spočítat hodnotu kritické difference $\pm CD$ (%). Leží-li druhá hodnota cTn u vyšetřovaného pacienta mimo (nad nebo pod) stanovenou hodnotou CD, má být považována za klinicky významnou. Stále je tak poukazováno na snahu pevně ohraničit normu a oddělit patologii a tím určit pevná rozhraní.

Při stanovení CD je zásadní, jaké hodnoty CV_a a CV_i budou dosazeny do vzorce při výpočtu CD. Většina autorů považovala za náležité hodnoty v rozmezí 10-20%. Podle mého

názoru, utvořeného na základě konzultací s lékaři, kteří mají zkušenosti z praxe, se jeví tato čísla vzdálená reálným hodnotám.

CV_a hodnoty jsou producenty metod a analytických systémů udržovány na hodnotách kolem 10%. Lze říci, že i na těchto hodnotách závisí tržní úspěšnost produktu. Platí to však pouze v oblasti cut off. Při klesající koncentraci cTn nepřesnost stanovení hyperbolicky vrůstá viz. kapitola 2.5.

Současná úroveň znalostí umožňuje velmi zhruba odhadnout intraindividuální variabilitu (CV_i) u cTn zdravých osob žijících v normálním životním rytmu. Obvykle jsou udávány hodnoty kolem 20%. V současné době však nikdo spolehlivě nezná vlivy stavů ne-jednoznačně patologických (věk, zátěž, stav výživy, hormonální situace atd.) a zejména vzdálených komorbidit.

Z výsledků zde uvedených, ze zobrazení v Grafu 2. a z údajů uspořádaných v tabulce vyplývá, že metoda CD není pro diferenciální diagnózu akutních bolestí na hrudi použitelná.

5. ZÁVĚR

Optimální péče o pacienty s akutní bolestí na hrudi vyžaduje diferenciální diagnózu, která je klinicky správná a rychle směřuje k odhalení AIM. První, klinická fáze, je založena na výskytu bolesti na hrudi trvající minimálně 20 minut. Tento příznak však nelze považovat za spolehlivý. U třetiny pacientů probíhá AIM bezbolestně. Ve stáří, u žen a diabetiků je tomu tak dokonce u poloviny pacientů.²⁷ Součástí klinické fáze je zhodnocení EKG záznamu. Nicméně ani tato informace nemusí být spolehlivá. Je všeobecně známo, že u přibližně 70% pacientů s AIM je toto vyšetření normální, nebo netypické.²⁷

V polovině 50-tých let vstoupila do diagnostického procesu akutních bolestí na hrudi klinická biochemie. Postupně stanovením AST, LDH, CK-MB a myoglobinu. V roce 1989 byla vyvinuta první metoda pro stanovení sérové koncentrace cTnT v séru. Monopolní výrobce (ROCHE) produkuje již pátou generaci těchto metod s označením hs. O něco později bylo možno stanovit i koncentrace cTnI. Aktuálně je nabízena možnost stanovovat tento analyt od minimálně 10 světových producentů.

Klinická potřeba odráží nároky na jejich stále vzrůstající četnost, citlivost a specifčnost a nalézá je, ve značné míře, ve stanovení koncentrace sérové koncentrace cTn. Z analytického hlediska je stanovení cTn mimořádně složité a vysoce náročné na přesnost a důslednost jejich provedení. Tržní nadprodukce metod, jak stanovovat koncentraci cTn, vede ve spojení s jejich vysoce náročnou analytickou fází k špatné srovnatelnosti a nesouladu výsledků různých metod pro stanovení cTn na biochemické straně. A to dokonce i na úrovni jednoho kvalitního producenta.²⁹ Na straně klinické následně k informačnímu šumu a nejistotě, jak diagnosticky interpretovat poskytované informace. To může vést buď k diagnostickému podhodnocení situace na jedné straně, nebo plýtvání na straně opačné. Dochází tak k častému a neodůvodněnému opakování ekonomicky náročných biochemických vyšetření a také nevhodně indikovanému použití agresivních zobrazovacích metod, které mimo jiné nejsou bez rizika pro pacienta. Tuto situaci není možné vyřešit pouze analyticky (i když je to primárně nutné)³², čímž je myšlena důsledná optimalizace a široká standardizace biochemických postupů. Je vždy nutné, ve spolupráci s klinickou medicínou, také definovat ohraničení mezi normou a patologií pro klinické situace s velkou incidencí. Tak jak bylo uvedeno v této práci.

Při klinickém použití takových norem je nutno postupovat tak, že žádná ohraničení nemohou definovat normu a patologii živých systémů v celé jejich složitosti, vztazích, přeměnách, a tedy v pohybu.²⁴ Vždy je zapotřebí diagnosticky zohlednit řadu komorbidit a také situací, jež jsou fyziologické nebo nejednoznačně patologické, a přesto vychylují ustálený stav

organizmu a posouvají oběma směry uměle vytvořené ohraničení normy a patologie. Taková interpretace ovšem vyžaduje informovaný, logický a dynamický přístup k těmto získaným informacím, jak ze strany lékaře, tak ze strany pracovníků laboratoře. Díky pochopení těchto souvislostí pak může dojít ke kvalitnímu a racionálnímu ošetření pacienta napříč klinickou i komplementární péčí.

6. LITERATURA

1. http://cs.wikipedia.org/wiki/St%C5%99edn%C3%AD%C3%A9lka_%C5%BEivota
2. <http://www.lekarna.cz/clanek/srdecni-onemocneni/>
3. Želízko, M. V., et al.: *Přehled vybraných kardiiovaskulárních intervencí v České republice 2010*, Praha: Ústav zdravotnických informací a statistiky ČR, ISBN 978-80-7280-974-5, **2012**
4. http://www.wikiskripta.eu/index.php/Biochemick%C3%A9_ukazatele_akutn%C3%ADho_infarktu_myokardu
5. Engliš, M., Šochman, J., et al.: *Srdeční troponiny v klinické praxi*, 2. vyd., Praha: TAC-TAC agency s.r.o., **2009**: 9-10
6. http://www.med4you.at/laborbefunde/lbef2/lbef_troponin.htm
7. Engliš, M., Šochman, J., et al.: *Srdeční troponiny v klinické praxi*, 2. vyd., Praha: TAC-TAC agency s.r.o., **2009**: 11
8. Engliš, M., Šochman, J., et al.: *Srdeční troponiny v klinické praxi*, 2. vyd., Praha: TAC-TAC agency s.r.o., **2009**: 11-13
9. Engliš, M., Šochman, J., et al.: *Srdeční troponiny v klinické praxi*, 2. vyd., Praha: TAC-TAC agency s.r.o., **2009**: 13-15
10. Engliš, M., Šochman, J., et al.: *Srdeční troponiny v klinické praxi*, 2. vyd., Praha: TAC-TAC agency s.r.o., **2009**: 16-17
11. <http://www.wikiskripta.eu/index.php/Soubor:Ekg-schema.png>
12. Silbernagl, S., Lang, F.: *Atlas patofyziologie člověka*, 1. vyd., Praha: Grada Publishing, spol. s r.o., ISBN 80-7169-968-3, **2001**: 176-241
13. http://www.wikiskripta.eu/index.php/Soubor:Pardeeho_vlna.png
14. Kasperová, M.: *Echokardiografie*, <http://www.ordinace.cz/clanek/echokardiografie/>, **2007**
15. <http://www.ordinace.cz/clanek/koronarografie>
16. Engliš, M., Šochman, J., et al.: *Srdeční troponiny v klinické praxi*, 2. vyd., Praha: TAC-TAC agency s.r.o., **2009**: 30-32

17. Engliš, M., Šochman, J., et al.: *Srdeční troponiny v klinické praxi*, 2. vyd., Praha: TAC-TAC agency s.r.o., **2009**: 33-40
18. Engliš, M., Šochman, J., et al.: *Srdeční troponiny v klinické praxi*, 2. vyd., Praha: TAC-TAC agency s.r.o., **2009**: 43-65
19. http://www.hospital-pe.cz/dok/okb_prirucka/HVEZDABACU.htm
20.
http://www.medical.siemens.com/siemens/en_GLOBAL/gg_diag_FBAs/files/package_inserts/immulite_2500/Cardiac_Biomarkers_n/pil5ksti-12_dom_siemens.pdf
21.
http://www.medical.siemens.com/siemens/en_GLOBAL/gg_diag_FBAs/images/product_image_s/Immulite/IMMULITE_2000/IMMULITE_2000_ca6.jpg
22. <http://www.radiometer.co.uk/en-gb/products/immunoassay/aqt90-flex-analyzer/technology>
23. Engliš, M., Šochman, J., et al.: *Srdeční troponiny v klinické praxi*, 2. vyd., Praha: TAC-TAC agency s.r.o., **2009**: 17-25
24. Neshyba, P.: *Filozofické problémy normy v klinické biochemii*, disertační práce, Praha: Lékařská fakulta UK, **1991**
25. Allen, J., et.al.: *Prevalence and prognostic significance of cardiac troponin elevation among patients with stable coronary artery disease*, *Circulation*, **2008**: 118,632-638
26. Apple, F.S., et. al.: *Validation of the 99th percentile cutoff independent of assay imprecision for cardiac troponin monitoring for ruling out myocardial infarction*, *Clin.Chem*, **2005**: 51, 2198-2200
27. Thygesen, T., et al.: *Universal definition of myocardial infarction*, *Circulation*, **2007**: 116, 2634-2653
28. <http://www.cskb.cz/cskb.php?pg=doporuceni-kardialni-markery>
29. Vašatová M., et al.: *Kardiální troponinT ultrasensitivní metodou-srovnání metod*, *Biochem.Metab.*, **2010**: 39, 196-199.
30. Vasile, V. C., et al.: *Biologic variation of a novel cardiac troponin assay*, *Clin.Chem*, **2011**: 57,1080-1081
31. Apple, F.S., et al: *A new season for cardiac troponin assay: its time to keep a scorecard*, *Clin.Chem.*, **2009**: 56, 254-261
32. Friedecký, B., et al.: *Srdeční troponiny-histopie, současná praxe, novinky a trendy*. *Klin*,

Biochem. Metab., **2010**: 39, 184-189

33. Sundermann, F.W.: *Current concepts of „normal values“ „reference values“ and „discrimination values“ in clinical chemistry*, **1975**: 21, 1873-1877

34. Winkel, P., et al.: *The effect of time of venipuncture on variation of serum constituents*, Am. J. Clin. Pathol., **1975**: 64, 433-447