

Biochemická vyšetření u akutního infarktu myokardu

Struktura srdečního svalu

 Podrobnější informace naleznete na stránce *Myokard*.

Myokard je speciální forma příčně pruhovaného svalstva, které je v trvalé aktivitě. Srdeční svalová vlákna – kardiomyocyty obsahují jedno nebo dvě centrálně umístěná ovoidní jádra. V blízkosti jader nacházíme četné mitochondrie a glykogenová granula. V cytoplazmě kardiomyocytů (sarkoplazmě) je rovněž uložen **myoglobin**. Sarkoplazmatické retikulum tvořené soustavou váčků a cisteren je zásobárnou Ca^{2+} iontů.

Součástí kardiomyocytů jsou svalová vlákna, sestavená ze dvou hlavních typů myofilament:

1. *tlustá (myosinová) myofilamenta* tvořená molekulami myosinu s fibrilární a globulární částí, v níž je zakotvena ATPáza;
2. *tenká (aktinová) myofilamenta*. Základem jejich struktury jsou vlákna stočená do dvojité šroubovice, vznikající polymerizací monomerů globulárního aktinu.

Troponin-tropomyosinový komplex

S aktinem úzce souvisí **troponin-tropomyosinový komplex**, který reguluje svalovou kontrakci. V brázdičce šroubovice aktinu je uložena dvojité šroubovice **tropomyosinu**, jehož vláknitá molekula ho obtáčí.

Troponin je komplex tří globulárních proteinů:

- **troponinu T (TnT)**;
- **troponinu C (TnC)** (není specifický pro srdce; identický v kosterní svalovině);
- **troponinu I (TnI)**.

TnT, který má největší molekulovou hmotnost, zabezpečuje připojení troponinového komplexu k tropomyosinu. TnI v klidovém stavu zabraňuje vzniku můstku mezi myosinem a aktinem. TnC váže ionty kalcia, uvolňované ze sarkoplazmatického retikula do sarkoplazmy. Navázáním Ca^{2+} na TnC se indukují změny konfigurace troponinových komplexů a v důsledku toho je TnI odsunut od vazebních míst pro myosin, jehož globulární části se poté mohou navázat na aktinová myofilamenta. Aktivací ATPázy v globulárních částech myosinových molekul se spustí svalová kontrakce.

Biochemické ukazatele akutního infarktu myokardu

Akutní koronární syndromy (AKS; **akutní infarkt myokardu**, AIM, a nestabilní angina pectoris) vznikají na podkladě uzávěru koronární tepny většinou v důsledku trombotických komplikací. Při omezení krevního průtoku nastává *ischémie myokardu*, která je v počátku *reverzibilní*. Pokud se nepodaří včas obnovit průtok krve, nastupují zhruba po hodině *ireverzibilní* změny doprovázené zánikem buněk a nekrózou (definitivní infarkt myokardu).

Na diagnóze akutního koronárního syndromu se významným způsobem podílí laboratorní vyšetřovací metody. Biochemicky důležité složky kardiomyocytu se nacházejí *v cytoplazmě nebo mitochondriích* a další jsou součástí *kontraktilního aparátu*. Při infarktu myokardu se uvolňují do cirkulace. Průběh jejich sérových hladin je závislý na několika faktorech:

- na lokalizaci v buňce;

Při *krátkodobé ischémii* se v důsledku funkčních a později i strukturních změn buněčných membrán do krevní cirkulace vyplavují **cytoplazmatické bílkoviny**.

Při *dlouhodobější ischémii* se vyvíjí nekróza tkáně a do krevního oběhu se uvolňují i **strukturální bílkoviny**. Cytosolové proteiny se tedy uvolňují rychleji než strukturální bílkoviny.

- na relativní molekulové hmotnosti – menší proteiny se uvolňují do cirkulace rychleji;
- na rychlosti vylučování – menší molekuly jsou rychleji eliminovány ledvinami;
- na průtoku krve v postižené oblasti.

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	fibrilární kontraktilní komplex
Srdeční troponin T (cTnT)	37 000	2–4 h	
Srdeční troponin I (cTnI)	22 500	2–4 h	mitochondrie
Aspartátaminotransferáza (AST) (mitochondriální izoenzym)	93 000	34 h	

Průběh hladin biochemických ukazatelů u akutního infarktu myokardu^[2]

Parametr	Začátek vzestupu hladin [h]	Vrchol hladin [h]	Normalizace [dny]	Maximální zvýšení hladin [násobek horní hranice normálních hodnot]	Normální hodnoty
Myoglobin	0,5–2	4–10	0,5–1	20×	M 19–92 µg/l Ž 12–76 µg/l
CK mass	2–6	12–24	2–3		0,0–5,0 µg/l
CK-MB	3–6	16–36	3–5	25×	M 0,2–3,6 µkat/l ^[tab2 1] Ž 0,2–3,1 µkat/l
cTnT	3–8	12–18 (1. vrchol) 72–96 (2. vrchol)	7–14	300×	0,00–0,05 µg/l
cTnI	3–12	12–24	5–10		0,0–0,1 µg/l
AST	4–8	16–48	3–6	25×	0,05–0,72 µkat/l
LD	6–12	24–60	7–15	8×	3,5–7,7 µkat/l

1. Horní hranice závisí na věku – uvedené hodnoty jsou pro věk 40–50 let.

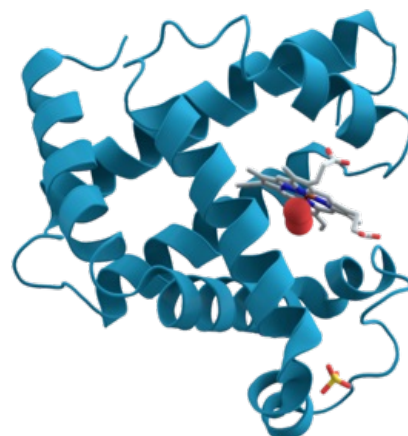
Cytoplazmatické bílkoviny

Myoglobin

Myoglobin je globulární protein tvořený jediným řetězcem aminokyselin, který obsahuje jako prostetickou složku hem. Reverzibilně váže a přenáší kyslík ve svalových buňkách. Myoglobin **z kosterního svalstva i myokardu je identický**. Slouží pro zásobu pracovního kyslíku v oněch svalech. V ledvinách je filtrován glomerulární membránou a vylučován do moči. Má velmi krátký biologický poločas – 10–20 minut.

Na rozdíl od hemoglobinu obsahuje myoglobin pouze jednu hemovou skupinu a jeden globinový řetězec, a proto může transportovat jen jednu molekulu O₂. Afinita myoglobinu ke kyslíku je ve srovnání s hemoglobinem vyšší.^[3]

Jako *cytoplazmatický protein s nízkou molekulovou hmotností* je rychle uvolňován z postižené tkáně. Vzestup sérových koncentrací myoglobinu u akutního infarktu myokardu (AIM) nastupuje rychle (za 0,5–2 hodin) od začátku bolesti na hrudi. Hladiny myoglobinu, které mohou dosahovat dvacetinásobku fyziologických hodnot, kulminují asi za 6–12 hodin a v průběhu 12–24 hodin se vrací k původním hodnotám. Myoglobin je považován za nejcitlivější biochemický marker akutního infarktu myokardu **vhodný pro časný záchyt**. Nevýhodou stanovení myoglobinu u AIM je **nedostatek kardiospecifity**. Jeho zvýšení můžeme pozorovat:



Konformace molekuly myoglobinu

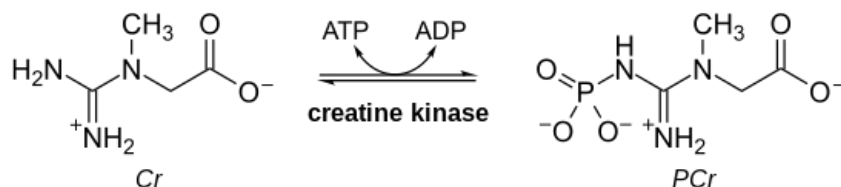
- při jakémkoliv poškození kosterního svalstva (včetně např. intramuskulárních injekcí či drobného pohmoždění po pádu),
- po velké svalové zátěži (včetně např. zapojování břišního lisu při déletrvajícím zvracení),
- při renální insuficienci.

Stanovení myoglobinu může **vyloučit** akutní infarkt myokardu: je-li jistota, že odběr krve byl proveden mimo diagnostické okno, tedy více než 2 hodiny od začátku bolesti na hrudi či jiných příznaků, a je-li sérový myoglobin v referenčních mezích, je diagnóza akutního infarktu myokardu prakticky vyloučena. Je-li myoglobin pozitivní, je nutno diferenciálně diagnosticky zvážit důvod jeho zvýšení (myokard, kosterní svalstvo, renální insuficience) a zpravidla je nutné hodnotit specifičtější kardiomarkery – troponin nebo CK-MB mass.

Ke stanovení se používá různých imunochemických metod (imunoturbidimetrie, imunonefelometrie, enzymové imunoanalýzy, rychlé imunochemické testy).

Kreatinkináza

Kreatinkináza (CK, EC 2.7.3.2) je převážně cytoplazmatický enzym, který katalyzuje fosforylaci **kreatinu** na **kreatinfosfát** pomocí ATP.



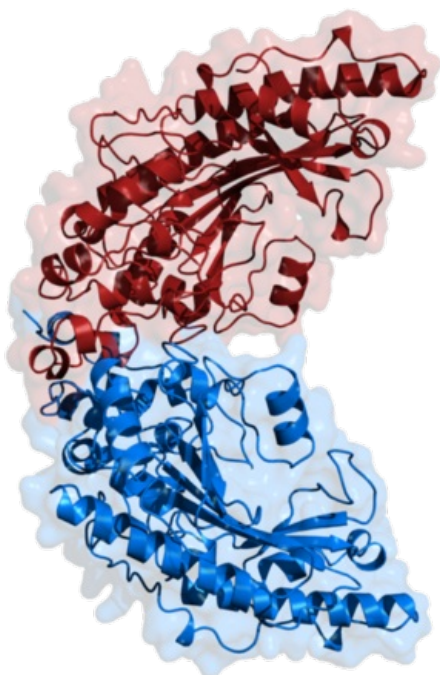
Při nedostatku ATP probíhá reakce opačným směrem. CK je obsažena především v kosterním svalstvu, v myokardu a v mozkové tkáni. Je tvořena *dvěma podjednotkami*, které jsou dvojího typu – **M** (*muscle*) a **B** (*brain*), každá o relativní molekulové hmotnosti kolem 40 000. Různým zastoupením podjednotek se odlišují *tři izoenzymy kreatinkinázy*:

- **CK-BB** (CK-1, **mozkový** izoenzym);
- **CK-MB** (CK-2, **myokardiální** izoenzym);
- **CK-MM** (CK-3, **svalový** izoenzym).

V kosterním svalstvu převažuje CK-MM, ale je přítomen i izoenzym CK-MB. V mozku nalézáme izoenzym CK-BB, který při neporušené hematoencefalické bariéře v krvi neprokazujeme. Pro myokard je typická CK-MB, ale srdeční svalovina obsahuje i CK-MM.

Katalytická koncentrace **celkové CK** se zvyšuje v průběhu 3–6 hodin od začátku ischemie myokardu. Vzhledem k nedostatečné kardiospecifitě má její stanovení u akutního infarktu myokardu omezený význam. Hodnota celkové CK je ovlivněna různými faktory (věk, pohlaví, objem svalové hmoty a fyzická aktivita).

Větší diagnostickou hodnotu má vyšetřování izoenzymu CK-MB. Ani CK-MB není plně kardiospecifická. Zvýšení může být způsobeno i poškozením kosterního svalstva (trauma, svalové dystrofie, intramuskulární injekce, resuscitace, defibrilace), extrémním cvičením a chronickou renální insuficiencí.



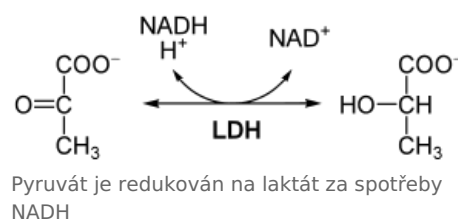
Prostorová struktura kreatinkinázy

CK-MB lze stanovovat jako *enzymovou aktivitu*, která zachytí pouze aktivní molekuly enzymu, nebo imunochemicky jako protein *ve formě hmotnostní koncentrace*. V tomto případě hovoříme o **CK-MB mass**, které se dnes jednoznačně dává přednost. Stanovení CK-MB mass je *specifičtější i citlivější*, neboť jím prokazujeme i částečně degradované molekuly, které již ztratily enzymovou funkci.

Stanovení CK-MB mass je dle současných doporučení přijatelné pouze v případě nedostupnosti stanovení kardiospecifických troponinů. Dále se CK-MB mass používá pro průkaz reinfarktu v době, kdy ještě přetrvává vysoká koncentrace cTn.

Laktátdehydrogenáza

Laktátdehydrogenáza (LD nebo **LDH, EC 1.1.1.27)** je oxidoredukční enzym katalyzující reverzibilní přeměnu laktátu na pyruvát. Struktura molekuly je tvořena 4 podjednotkami o relativní molekulové hmotnosti 34 000. Každá z těchto podjednotek může být buď **M** (*muscle*) nebo **H** (*heart*), takže celkem existuje 5 izoenzymů označovaných LD₁ (s podjednotkovým složením H₄) až LD₅ (M₄). LD je přítomna v cytoplasmě buněk mnoha tkání. Do cirkulace se uvolňuje již při mírném tkáňovém poškození.



isoenzym	podjednotky	výskyt
LD₁	H ₄	myokard + erytrocyty
LD₂	H ₃ M	myokard + erytrocyty
LD₃	H ₂ M ₂	kosterní svaly
LD₄	HM ₃	játra + kosterní svaly
LD₅	M ₄	játra + kosterní svaly

Vyšetření

Zvýšení katalytické koncentrace celkové LD v séru doprovází řadu onemocnění. V současné době se stanovení celkové aktivity LD používá jako nespecifický marker rozpadu buněk, např. při nádorových onemocněních (leukémie, testikulární nádory). Charakteristické je také **pozdní zvýšení** celkové LD po infarktu myokardu, které může přetrvávat až 15 dní. Vzhledem k vysokému obsahu v erytrocytech může sérovou koncentraci falešně pozitivně zvýšit hemolýza. Použití LD a jejích izoenzymů pro diagnostiku akutního koronárního syndromu se dnes považuje za zastaralé.

Fyziologická horní hranice LD pro dospělé muže a ženy je 4,10 μ kat/l.^[4]

Pro stanovení se využívá optického testu. Zastoupení izoenzymů lze určit elektroforeticky.

Mitochondriální bílkoviny

Aspartátaminotransferáza

Aspartátaminotransferáza (AST) je v myokardu obsažena v relativně vysoké koncentraci. Historicky patří k prvním používaným biochemickým ukazatelům akutního infarktu myokardu, dnes již ale není v této indikaci doporučována.

 *Podrobnější informace naleznete na stránce Aspartátaminotransferáza.*

Strukturální bílkoviny

Troponiny

Jako kardiomarkery se využívají **troponin T** (TnT) a **troponin I** (TnI). TnT a TnI se vyskytují v kosterním svalstvu a myokardu. **Kardiální izoformy** (cTnT a cTnI) mají jedinečné aminokyselinové složení a jsou proto pro myokard **specifické**. Většinou jsou kardiální izoformy TnT a TnI obsaženy v kontraktilním aparátu a jsou uvolňovány v důsledku proteolytické degradace. Pouze 6–8 % cTnT a 2,8–8,3 % cTnI tvoří nevázanou cytosolovou složku.

V krvi se **troponin cTnT** normálně **nevyskytuje**. Průběh uvolňování cTnT je **bifázický**. Zvýšení troponinu po začátku akutního infarktu myokardu nastupuje **v průběhu 3–8 hodin** a prvního vrcholu je dosaženo za 12–18 hodin po poškození myokardu. Je vyvolán rychlým uvolněním volné *cytoplazmatické frakce cTnT*. Počáteční vrchol je sledován dalším vrcholem za 3–4 dny, který odpovídá pomalejšímu vyplavování cTnT *vázaného v troponin-tropomyosinovém komplexu* v nekrotickém ložisku. Během **7–10 dnů** klesá na **nedetekovatelné hladiny**.

Při časném obnovení krevního průtoku koronární artérií je maximální vzestup asi za 14 hodin a pak následuje pozdější druhý, podstatně nižší vrchol. Délka zvýšení závisí na velikosti infarktu. U **rozsáhlejších infarktů** může být cTnT prokazatelný **až 21 dnů**. Určitou nevýhodou cTnT je jeho **nespecifické zvýšení** u pacientů s **renální insuficiencí**.

Nástup zvýšených hladin **cTnI**, který se vyznačuje vysokou specifičností, nastává podobně jako u cTnT již asi **za 3 hodiny** po začátku ischemie. Zvýšené hladiny přetrvávají 5–10 dnů. Ve srovnání s cTnT není u cTnI obvykle pozorováno druhé maximum (menší cytosolová frakce).

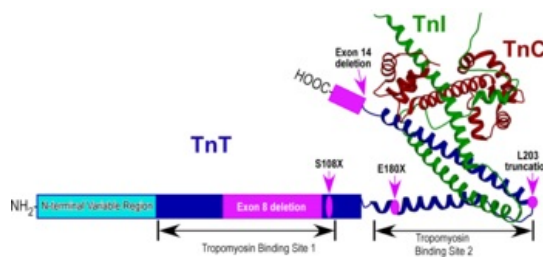
Troponin C (TnC) není pro diagnostiku akutní koronární léze vhodný, protože je identický v srdečním i kosterním svalstvu.

Troponiny se stanovují citlivými imunochemickými metodami.

Rychlý test na stanovení cTnT

Při AIM je nezbytná rychlá diagnostika, jejíž součástí může být i použití biochemických testů na stanovení myoglobinu a troponinů, které lze provést přímo u lůžka pacienta.

Popíšeme si rychlý test na stanovení srdečního troponinu T, založený na technologii GLORIA (**G**old **L**abelled **O**ptically **R**ead **I**mmuno **A**ssay) firmy Roche. Využívá dvou různých *monoklonálních protilátek* proti cTnT – jedna je *značena biotinem*, druhá *koloidním zlatem*.



Struktura troponinu

Provedení testu

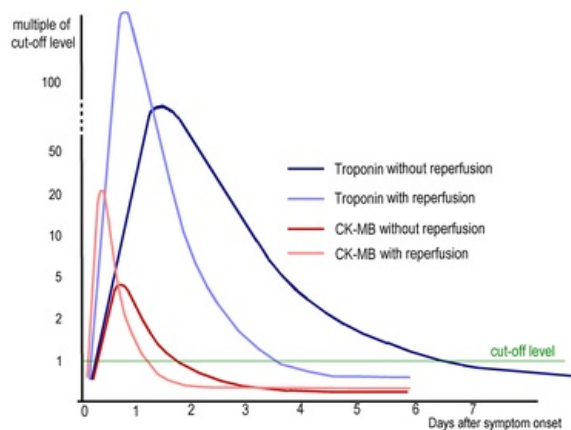
Krev pacienta se nanese do *aplikační zóny*, obsahující značené protilátky, které v *reakční zóně* vytvoří s molekulami troponinu ve vzorku (pokud jsou přítomny) sendvičový komplex. Před vstupem do detekční zóny se pomocí skelných vláken oddělí erytrocyty a dále postupuje pouze plazma obsahující imunokomplexy. V *detekční zóně* je *signální proužek* se zakotveným streptavidinem (bílkovinou s vysokou afinitou k biotinu) a další *kontrolní proužek* s imobilizovaným troponinem. Na kontrolní proužek se váže nadbytek protilátek značených zlatem. Zbarvení kontrolního proužku potvrzuje, že test je funkční a vyšetření je platné. Sendvičový imunokomplex s troponinem je zachycen streptavidinem, což se projeví druhým barevným proužkem. Při pozitivním testu se tedy vyvinou 2 proužky – v oblasti kontrolní i signální linie, při negativním výsledku pozorujeme pouze barevnou kontrolní linii.

Doporučený postup při podezření na akutní infarkt myokardu

Pro diagnózu **akutního koronárního syndromu** se doporučuje opakované stanovení dvou laboratorních ukazatelů – *rychlého a definitivního*.

V *časné fázi* po vzniku akutního koronárního syndromu má nejvyšší diagnostickou citlivost **myoglobin** – „*rychlý ukazatel*“.

- Je časným, ale nespecifickým markerem, který při bolesti na hrudi a chybějícím nebo nejasném nálezů na EKG odliší pacienty bez akutního infarktu myokardu a pacienty s pravděpodobnou diagnózou akutního infarktu myokardu.
- U myoglobinu se hodnotí především negativní (nezvýšená) hladina, která vyloučí akutní infarkt myokardu.
- Konečná diagnóza AIM musí být potvrzena druhým markerem.



Změny srdečních troponinů a CK-MB u akutního infarktu myokardu

Troponiny jsou *definitivním ukazatelem* poškození myokardu.

- Umožňují velmi citlivý a specifický průkaz nekrózy myokardu – *i mikroskopické*.

Výhod stanovení troponinů při diagnostice AIM je několik:

- vysoká specifita pro myokard;
- téměř nedetekovatelné hladiny u zdravých jedinců;
- mnohonásobné zvýšení koncentrací u akutního infarktu myokardu;
- vysoká citlivost umožňuje odhalit i minimální poškození myokardu;
- dlouhodobější přetrvávání zvýšených hodnot může posloužit i pro pozdní diagnostiku IM;
- jediný parametr, který je možno stanovit i v hemolytickém vzorku.

Zvýšené hladiny srdečních troponinů odrážejí poškození myokardu, které však kromě AIM může být způsobeno i jinými příčinami jako je např. zánět (myokarditidy), plicní embolie nebo kardiokirurgický výkon.

Stanovení CK-MB mass je přijatelné pouze v situaci, kdy není k dispozici vyšetření troponinů.

- Kromě toho se CK, CK-MB a/nebo CK-MB mass stanovují pro posouzení velikosti ischemického ložiska.

Doporučený časový plán krevních odběrů na stanovení kardiálních markerů při podezření na akutní infarkt myokardu^[5]

Ukazatel	Odběr			
	v době přijetí pacienta	za 4 hodiny po přijetí	za 8 hodin po přijetí	za 12 hodin po přijetí
Časný (myoglobin)	ano	ano	(ano)	–
Definitivní (srdeční troponin T nebo I)	ano	ano	ano	ano

Odkazy

Související články

- Infarkt myokardu

Reference

1. ZIMA, Tomáš, et al. *Laboratorní diagnostika*. 1. vydání. Praha : Galén, 2002. 728 s. s. 11. ISBN 80-7262-201-3.
2. RACEK, Jaroslav, et al. *Klinická biochemie*. 1. vydání. Praha : Galén – Karolinum, 1999. 316 s. s. 176. ISBN 80-7262-023-1.
3. ŠVÍGLEROVÁ, Jitka. *Myoglobin* [online]. Poslední revize 2009-02-18, [cit. 2010-11-12]. <<https://web.archive.org/web/20160416224337/http://wiki.lfp-studium.cz/index.php/Myoglobin>>.

4. Jaroslav Racek et al.: Klinická biochemie, druhé, přepracované vydání, Galén, 2006
5. Panteghini M.: Recommendations on use of biochemical markers in acute coronary syndrome: IFCC proposals. eJIFCC 13, 2.