

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 vazebných 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.

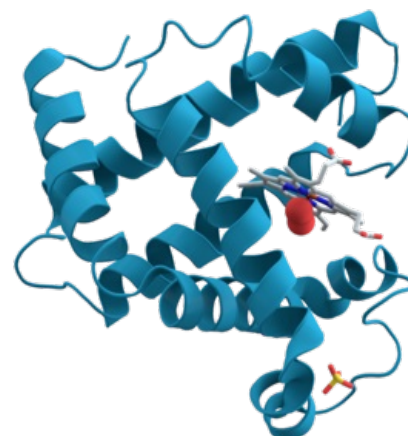
Cytoplazmatické bílkoviny

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**. 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 poškozené 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

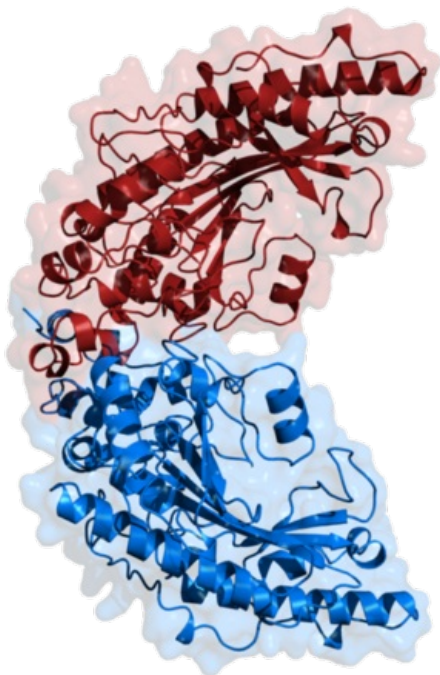
Kreatinkináza (CK, EC 2.7.3.2) je převážně cytoplazmatický enzym, který katalyzuje fosforylaci kreatinu na kreatinfosfát pomocí ATP. Při nedostatku ATP probíhá reakce opačným směrem. CK je obsažena především v kosterním svalstvu, v myokardu a v mozkové tkáni. Je tvořena *dvěma podjednotkami*, které jsou 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.



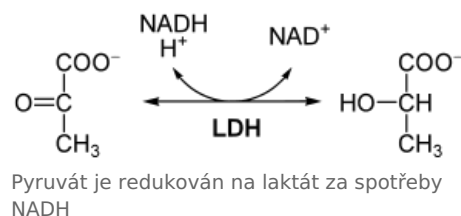
Prostorová struktura kreatinkinázy

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 cytoplazmě buněk mnoha



tkání. Do cirkulace se uvolňuje již při mírném tkáňovém poškození.

Isoenzymy laktátdehydrogenázy

izoenzym	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 $\mu\text{kat/l}$.^[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.

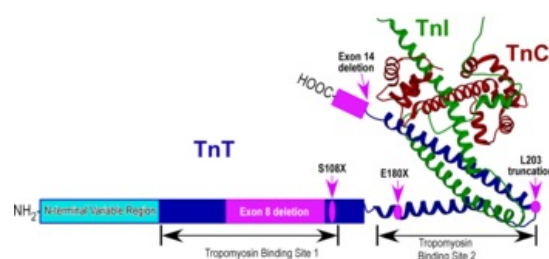
Rychlý test na stanovení cTnT

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*.

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.



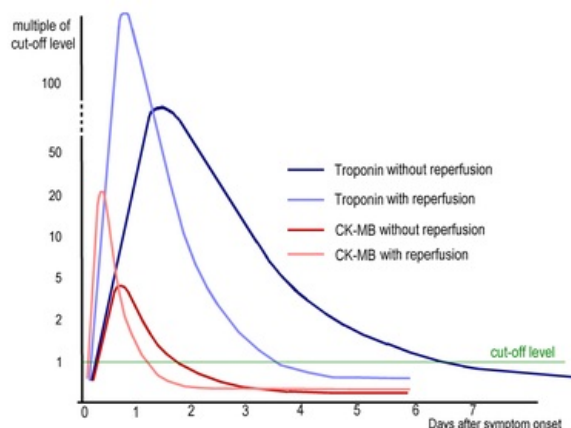
Struktura troponinu

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 nálezu 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 kardiochirurgický 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.