

Srdeční troponiny – historie, současná praxe, novinky a trendy

Friedecký B.^{1,2}, Tichý M.¹, Kratochvíla J.², Vašatová M.¹, Pudil R.³, Vávrová J.¹, Palička V.¹

¹ Ústav klinické biochemie a diagnostiky LF UK a FN, Fakultní nemocnice, Hradec Králové

² SEKK, s.r.o., Pardubice

³ I. interní klinika, Fakultní nemocnice, Hradec Králové

SOUHRN

Úvod: Srdeční troponiny jsou dominantním biochemickým markerem diagnostiky akutního koronárního syndromu. V poslední době, respektive v současnosti, probíhá další fáze vývoje jejich stanovení. Spočívá ve významném zvýšení analytické senzitivity měření. To má za následek snižování hodnot rozhodovacích limitů doprovázené některými problémy klinické interpretace. Nacházíme se ve fázi „ultrasenzitivních“ diagnostik a je nezbytné průběžně hodnotit nové poznatky pro potřebu jejich rutinních použití.

Metoda: Přehledná práce je založena na využití literárních dat publikovaných v posledních dvou letech s obzvláštním důrazem na data z roku 2010. Literární data jsou kombinovaná s výsledky externího hodnocení kvality českých a slovenských klinických laboratoří z let 2009 a 2010, zaměřených na hodnoty používaných rozhodovacích limitů.

Výsledky: Pojednáváme stručně o historii biochemických srdečních markerů s důrazem na troponiny. Podrobněji je pojednáno o nových metodách se zvýšenou analytickou senzitivitou, uváděných na trh a do rutinní praxe pod pojmy „ultrasenzitivní“ nebo „vysoce senzitivní“. Jsou uvedeny souvislosti mezi detekce, požadované hodnoty preciznosti a určení rozhodovacího limitu. Je ukázáno, že hlavním problémem při používání troponinů v rutinní praxi je obtížné dosažení požadované preciznosti měření a následné problémy při tvorbě rozhodovacích limitů, které mohou vážně ovlivňovat klinickou specifičnost a senzitivitu při diagnostickém rozhodování. Jsou uvedeny i zatím publikované hodnoty biologických variabilit. Důležitou součástí sdělení tvoří hodnocení rozhodovacích limitů, poskytovaných klinickými laboratořemi klinikům.

Závěry: Zvyšování analytické senzitivity stanovení srdečních troponinů je jasně se prosazující trend při stanovení troponinů. S ním souvisí problémy s hodnotami rozhodovacích limitů a s následnou interpretací laboratorních výsledků v situaci, kdy bezesporu narůstá počet výsledků nad diagnostický rozhodovací limit akutního koronárního syndromu.

Klíčová slova: srdeční troponiny, rozhodovací limity, 99. percentil, preciznost, „ultrasenzitivní“ metody.

SUMMARY

Friedecký B., Tichý M., Kratochvíla J., Vašatová M., Pudil R., Vávrová J., Palička V.: Cardiac troponins – history, present prevention, practice, news and trends

Introduction: Cardiac troponins represent a dominant biochemical marker in the diagnosis of acute coronary syndrome. Recently or at the present time their determination undergoes another phase. It concerns a significant improvement of analytical sensitivity of the determination. It results in decreasing values of decisive limits accompanied by some problems of clinical interpretation. We found ourselves in the phase of “Ultrasensitive diagnostics” and new knowledge for the needs of their routine use must be continually summarized.

Method: This review is based on data from literature published in the past two years with special reference of data from 2010. Data from literature are combined with results of external quality control in Czech and Slovak clinical laboratories in 2009 and 2010 focused on the values of used decision limits.

Results: The authors briefly deal with the history of cardiac markers with special reference to troponins. New methods of increased analytical sensitivity introduced to market and to the routine practice under the headings of “ultrasensitive” or “highly sensitive” are outlined in greater detail. The association between detection, required precision value, and the determination of decision-oriented limit are discussed. It has been shown that the main problem in using troponins in routine practice is a difficulty in reaching required precision of the measurement and subsequent problems in the creation of decision processes, which may seriously influence clinical specificity and sensitivity in diagnostic decision-making. The so far published limits values of biological variability are presented. The evaluation of decision-oriented limits provided by clinical laboratories to clinicians, constitute an important part of the communication.

Conclusions: Increasing analytical sensitivity in determination of cardiac troponins is a clearly establishing trend in determination of troponins. This is associated with problems in values of the decision-oriented limits and with subsequent interpretation of laboratory results in conditions, when the number of results is definitely exceeding the diagnostic decision-making limit of acute coronary syndrome.

Key words: cardiac troponins, decision-oriented limits, 99th percentil, precision, “ultra-sensitive methods”.

Historie a vývoj

V průběhu padesátých let minulého století se snažili kliničtí biochemici a kardiologové získat spolehlivou a rychlou laboratorní metodu k průkazu nekrózy srdečního svalu. Nejprve to byla aspartátaminotransferáza, jejíž zvýšení aktivity u akutního infarktu myokardu (AIM)

bylo prokázáno v r. 1954. Následovalo stanovení aktivity dalších enzymů, především izoenzymů laktátdehydrogenázy a stanovení aktivity kreatinkinázy. Vyvrcholením této etapy bylo zavedení tzv. srdečního izoenzymu CK-MB do klinické praxe. Stanovení CK a CK-MB se pak stalo po téměř 25 let „zlatým standardem“ při biochemické diagnostice AIM [1]. V posledních asi 15 letech

probíhá rozšiřování spektra biochemických markerů srdečního poškození velmi dynamicky a kontinuálně. Došlo k inovaci metody na stanovení myoglobinu, stanovení koncentrace CK-MBmass, ke zvýšení citlivosti stanovení CRP (hsCRP) a k zavedení stanovení natriuretických peptidů do klinické praxe. Testovány a používány jsou další biomarkery, které mají vztah k průběhu patologických dějů poškození myokardu (GPBB, IMA, CD40 ligand, metaloproteinázy, myeloperoxidázy apod.). Avšak naprosto suverénními kardiálními markery jsou v současnosti srdeční troponiny T a I. Jejich průkaz přispěl k zavedení pojmu akutní koronární syndromy (AKS) a k redefinici AIM v r. 2000 a v r. 2007 [2].

Objevitel troponinu T (cTnT) Hugo A. Katus [3] učinil tento objev jako vedlejší produkt jiného výzkumu. V r. 1982, když Katus analyzoval specifickou koziho polyklonálního antiséra proti lidským lehkým řetězcům myosinu, detekoval náhodně také frakci kardioprotektivních protilátek proti troponinu T, který byl přítomen jako kontaminace antigenu – tedy lehkých řetězců myosinu. Toto pozorování vedlo k izolaci a k purifikaci cTnT. Od pozorování v r. 1982 uběhlo 11 let nepřetržité práce, než se tento parametr stal v klinice definitivně jedním ze srdečních biomarkerů. Klíčem k úspěchu troponinu T a současně i troponinu I byla a je především jejich téměř absolutní kardioprotektivita. Vývoj souprav na stanovení troponinů vycházel ze snahy biochemiků nabídnout kardiologům co nejspécifitější a co nejcitlivější biomarker srdečního poškození s velmi krátkým časem odezvy (TAT). Od prvního popisu metody srdečního troponinu T Katusem et al. v r. 1989 a následně i troponinu I (cTnI), došlo k revoluci v technologii stanovení těchto srdečních markerů [4]. Vývoj souprav demonstrujeme na soupravách na stanovení cTnT.

V dnešní době začínáme pracovat se soupravami troponin T high sensitive (cTnT hs), což jsou soupravy již páté generace.

První generace metod na stanovení cTnT byla typu ELISA a používala dvě monoklonální protilátky. Jedna protilátka byla konjugována s biotinem a detekční protilátka byla konjugována s peroxidázou. Detekční protilátka měla jen 78% kardioprotektivitu. Druhým závažným problémem byla doba stanovení, která byla 90 minut.

Soupravy druhé generace na stanovení troponinu T používaly již naprosto kardioprotektivní monoklonální protilátky. Doba stanovení byla snížena na 45 minut. Od této generace souprav i všechny následující využívají ke stanovení analyzátoři na principu technologie elektrochemiluminiscence (ECLIA).

Soupravy třetí generace pak využívaly ke standardizaci lidský rekombinantní srdeční troponin T. Čas stanovení je u této generace souprav 9–18 minut. U souprav čtvrté generace byla zvýšena analytická senzitivita na detekční limit 10 ng/l a koncentrace troponinu T od 30 ng/l byla reprodukovatelně měřena s koeficientem variace do 10 %.

Test páté generace Troponin T high sensitivity (hs) je modifikací souprav čtvrté generace a má významně vyšší analytickou citlivost. Vyšší citlivosti bylo dosaženo především zvýšením objemu vzorku séra z 15 na 50 μ l, zvýšením koncentrace ruthenia na detekční protilátce

a snížením pozadí signálu optimalizací použitého pufru. Limit detekce je nižší než 5 ng/l a hodnota diagnostického rozhodovacího limitu je 14 ng/l. Metoda splňuje doporučení biochemických a kardiologických společností požadovaná pro určení rozhodovacího limitu cut-off, tj. stanovení koncentrace 99. percentilu referenčních hodnot s analytickou precizností, vyjádřenou hodnotou variačního koeficientu do 10 %.

Vysoká citlivost a kardioprotektivita troponinů umožnila zlepšit načasování optimální péče o nemocné s AKS a svou terapeutickou konsekvencí je pro kardiologů nejpřesvědčivějším argumentem svědčícím o významu stanovení troponinů. Z toho plyne snaha výrobců a klinických laboratoří pro použití co nejpřesnějších souprav na stanovení srdečních troponinů, s velmi rychlým, specifickým a citlivým zachytem změn v koncentracích troponinů.

Metody stanovení srdečních troponinů používané v klinické praxi jsou vesměs založené na imunochemických principech. Jsou produkovány řadou výrobců a jak je u imunochemických metod obvyklé, odlišují se použitými protilátkami a způsoby detekce komplexů Ab-Ag. Následky této skutečnosti nejsou pro klinické použití výsledků příjemné. Je nutné vzít na vědomí, že různé analytické systémy měření troponinů poskytují nesrovnatelné číselné výsledky měření, vykazují velmi odlišné hodnoty 99. percentilů a také velmi rozdílné hodnoty preciznosti. Logickým důsledkem jsou rozdílné počty pozitivních a negativních klinických klasifikací akutního koronárního syndromu (AKS). Fenomén nesrovnatelnosti je o to závažnější, že platí v plném rozsahu i pro různé výrobky totožného výrobce, a dokonce i pro různé tzv. „generace“ jinak stejných systémů od stejných výrobců. V roce 2008 byla publikována souhrnná práce srovnávající čtrnáct různých analytických systémů měření [5]. Šlo o 14 systémů deseti výrobců (firma Siemens byla zastoupena třemi různými systémy, firma Abbott dvěma). Všechny systémy měly různou použitou sestavu protilátek, kromě obou systémů Abbott. Ty však používaly různé detekční substráty a metody. Všechny systémy, včetně systému Abbott, měly významně rozdílné meze detekce a rozhodovací limity (99. percentily). U 5 systémů ze 14 byly hodnoty 99. percentilů nižší než trojnásobek meze detekce (LOD), což je analyticky nepříznivá skutečnost. U 9 systémů byly navíc srovnány hodnoty 99. percentilů s nejnižšími koncentracemi, u nichž bylo možné dosáhnout preciznosti CV% \leq 10. Jen u čtyř byl nalezen souhlas, jinak hodnota, při níž bylo možno této preciznosti dosáhnout, převyšovala (často velmi) hodnoty 99. percentilů.

Současnost

O dva roky později bylo testováno pět systémů „ultrasenzitivního“ cTnI. Ani jeden nebyl schopný dosáhnout preciznosti \leq 10% pro hodnotu 99. percentilu. Jen u jednoho systému je 99. percentil větší než trojnásobek meze detekce (99. percentil \geq 3 · LOD). U všech pěti systémů poskytovala plasma (Li-heparin) nižší hodnoty než sérum [6].

Hodně pozornosti a kontroverzí vyvolalo uvedení na trh a následně do rutinní praxe diagnostika hs cTnT Roche. Různé názory na klinické důsledky aplikace tohoto analyticky vysoce senzitivního testu byly vysloveny ještě před publikací studie analytické validace kitu, což asi nebyla nešťastnější situace [7]. Metoda hs cTnT vykazuje hodnotu 99. percentilu 13 ng/l (0,013 µg/l), preciznost při této hodnotě $CV\% \leq 10$ a mez detekce $LOD = 5$ ng/l. Srovnávací experimenty se při absolutní absenci referenčního materiálu vyšší metrologické třídy omezují na korelaci hs cTnT a 4. generace cTnT. Korelace je velmi dobrá do koncentrací cca 30 ng/l, při nižších koncentracích se však objeví procentní systematická diference mezi nimi o velikosti cca 75–100. Podobných hodnot 99. percentilů v rozmezí cca 20–50 ng/l (0, 02–0, 05 µg/l) dosahuje dnes již velká většina nových metod stanovení cTnI a jsou obvykle označovány jako „ultrasenzitivní“. Problémy s dosažením preciznosti $CV\% \leq 10$ však přetrvávají. Při naprosté nedostatečnosti standardizace a při velkém až nepřehledném počtu systémů měření navrhl Apple právě preciznost v oblasti 99. percentilu jako kritérium hodnocení jejich vhodnosti [8] a rozdělil je na tři skupiny:

1. systémy vyhovující doporučením kardiologů
 $CV\% \leq 10$
2. systémy klinicky použitelné
 $CV\% > 10$ a ≤ 20
3. neakceptovatelné systémy
 $CV\% > 20$

Data programu SEKK ukazují, že v běžném používání našich laboratoří jsou systémy všech uvedených druhů včetně těch „neakceptovatelných“.

Důsledkem skutečnosti, že preciznosti 10 % nelze ve většině případů u hodnot 99. percentilů dosáhnout, je, že řada laboratoří volí jako cut-off hodnotu nejnižší koncentrace, u níž hodnoty 10 % dosáhnout lze, a posouvá ji tak do oblasti vyšších hodnot. Následkem je snížení diagnostické senzitivity. Hodnoty skutečných 99. percentilů jsou pak mylně hodnoceny jako falešně pozitivní. Autoři velmi recentního sdělení proto navrhuji změnit požadovanou preciznost měření na 20 % a používat jako cut-off hodnoty 99. percentilů. Dokládají, že případné poškození pacienta je touto změnou velmi nepravděpodobné [9].

Neustálé zvyšování analytické senzitivity vede ke snižování hodnot rozhodovacích limitů. Dominující jednotkou se namísto µg/l stává ng/l. Tyto „ultrasenzitivní“, respektive vysoce senzitivní metody nejsou vždy dostatečně validované podle představ expertů a potřeb pacientů.

Například diagnostický kit hs cTnT, který je u nás běžně používaný s často kontroverzními ohlasy u kardiologů, byl v roce 2010 teprve ve stavu řízení o udělení FDA clearance, tedy ve stavu „před uvedením do rutinní praxe“. To je ve shodě s dost často se vyskytujícím tvrzením, že dosáhnout povolení (clearance) FDA je pro výrobce mnohem náročnější než udělení CE značky podle Evropské směrnice o IVD [10].

Velmi zajímavou diskusí několika amerických expertů, moderovanou F. S. Applem [11], se vine problém 99. percentilu, jeho stanovení, stratifikace jeho hodnot podle pohlaví, věku a etnicity, potřebné počty

referenční populace. Podle doporučení IFCC je pro stanovení referenčních intervalů zapotřebí dat 120 jedinců. Tyto referenční intervaly, odvozené podle zásad IFCC, představují však 95. percentil hodnot. Pro určení 99. percentilu je zapotřebí už více než 300 jedinců pro každou podskupinu. U referenční populace by měla být prokázána nepřítomnost srdečního poškození objektivně s případným použitím zobrazovacích metod (MR, CT, angiografie, echokardiografie). Diskutující se shodli na možnosti a účelnosti požadovat u ultrasenzitivních metod preciznost měření v oblasti 99. percentilu 20 %, namísto již dlouho v doporučeních uváděných 10 %. Dále diskutující zdůraznili nutnost dalších studií jak analytických, tak klinických, ale nejen pro diagnózu AKS, ale i řady dalších stavů, u nichž se s rostoucí analytickou citlivostí stanovení troponinů budou stále častěji objevovat vyšší počty hodnot nad 99. percentil. Naprostý nedostatek standardizace podle diskutujících vyžaduje provedení podrobnějších studií pro každý nový kit, patřící do kategorie „hs“nebo „ultrasenzitivní“.

V hodnocení klinických důsledků používání ultrasenzitivních nebo hypersenzitivních metod stanovení cTn není zatím dosaženo dostatečné jednoty názorů, i když jsou některé závěry renomovaných odborníků optimistické a ukazují zlepšení diagnostiky AKS [12]. Podle dat, která uvádí Jaffé et al. však situace není jednoznačná [13]. Například může dojít k poklesu specifity diagnózy AKS u ultrasenzitivních stanovení z 97 % na 90 %. Počet pozitivních výsledků v roce 2008 se u 14 testovaných systémů a souboru sta totožných pacientů pohyboval při použití „ultrasenzitivních“ stanovení v rozmezí 54–78 % [5]. Příčiny problémů při klinické aplikaci primárně spočívají v analytických problémech. Nedostatečná úroveň standardizace a z ní plynoucí nejednotnost používaných hodnot cut-off při diagnostických rozhodováních jsou limitující.

V současnosti jsou již k dispozici i první soubory dat o biologických variacích. V případě cTnI [14] použili autoři extrémně citlivé metody Singulex Erenna o hodnotě $LOD = 0,2$ ng/l. Hodnoty kritických diferencí RCV byly 46 % pro interval 0–4 hodin a 81 % pro interval 0–8 týdnů. Zajímavé je, že hodnoty indexů individuality byly 0,21–0,39, tedy pod hodnotou 0,6, která teprve indikuje možnost efektivního použití populačních referenčních intervalů. V případě cTnI se zdá užitečnější sledování individuálních změn u jednotlivých pacientů.

V případě hs cTnT [15] bylo dosaženo vyšších hodnot biologických variací, odpovídajících hodnotám $RCV = 58$ % (pro interval 0–4 hodiny) a dokonce 315 % (pro interval 0–8 týdnů). To by znamenalo, že pro občas navrhované dlouhodobé sledování trendů koncentrací cTnT k posouzení rizika srdečního poškození byla významná až změna hodnoty o více, než 300 % proti počáteční hodnotě. Index individuality hs cTnT byl však podle uvedené studie příznivější než u cTnI Singulex (0,84).

Již dříve citovaní autoři Laulu a Roberts zjistili u některých „ultrasenzitivních“ stanovení významné diferen-

ce mezi plasmou a sérem [6]. Jiní studovali ovlivnění výsledků hemolýzou a zjistili významné interference, rozdílné u různých systémů [16]. Například u systému Vitros se hemolýza projevuje pozitivní hodnotou bias, u hs cTnT naopak negativním bias. Vitros je ovlivňován již od koncentrací 0,4 g/l, soupravy Roche až od koncentrací 1 g/l.

Současnou špičkovou úroveň analytické citlivosti představuje Singulex Erenna. Jejím principem je laserem vybuzená fluorescence značeného komplexu Ab-Ag při průchodu kapilárou a detekce jednotlivých fotonů pulzním detektorem [17]. Systém Singulex Erenna vykazuje o řád nižší mez detekce (LOD = 0,2 ng/l) než metoda hs cTnT (5 ng/l). Mez stanovitelnosti při preciznosti CV% ≤ 10 je 0,8 ng/l, hodnota pro 99. percentil je 9 ng/l. U všech probandů referenční populace byly zjištěny výsledky nad LOD. Dokonce bylo možné zaznamenat signifikantní nárůst cTnI během 4hodinového stresu, což lze považovat za možnost predikce kardiální insuficience u stresovaných jedinců. Dvě srovnávací soupravy Siemens Bayer (cut-off 0,04 µg/l) a Roche 4. generace (0,03 µg/l) žádnou změnu cTnI vlivem stresu nezachytily [18]. Metoda Singulex Erenna je první metodou, která svou citlivostí [19] vytváří předpoklady pro regulérní stanovení referenčních intervalů na podkladě existence statistického rozdělení výsledků referenční populace, blízkého rozdělení gaussovskému.

Zvýšení citlivosti povede k významnému nárůstu počtu pozitivních výsledků u řady pacientů bez AKS. Hlavními výhodami zvýšené analytické senzitivity není ani tak vyšší záchyt AKS, ale zrychlení diagnostiky (rychlejší vzestup cTn) a vývoj schopnosti kvantifikovat jejich hodnoty cTn u celé populace. Například hs cTnT to dokáže u více než 90 % jedinců a Singulex Erenna může kvantifikovat hodnoty nad LOD patrně u 100 % jedinců.

Analytická senzitivita a 99. percentil

Graf 1 ilustruje na příkladě metody hs cTnT Roche vztah mezi metrologickými veličinami, souvisejícími s analytickou senzitivitou a s hodnotou 99. percentilu jakožto obecně přijatého kritéria diagnózy AKS. Při posuzování vlastností rutinní metody je vhodné mít na paměti několik jednoduchých pravidel:

- hodnoty LOB a LOD by měly být co nejnižší a v dokumentaci výrobců by mělo být jejich určení řádně popsáno;
- hodnota LOQ by měla odpovídat koncentraci cTn, kterou lze stanovit s mezilehlou precizností CV% = 10 (nebo 20?), a k tomu by měla být přednostně orientována vnitřní kontrola kvality;
- měl by platit vztah $LOQ \geq 3 \cdot LOD$;
- je výhodné, aby hodnota 99. percentilu byla významně vyšší než hodnota LOQ (nebo aspoň jí rovna, nikoliv nižší).

Z těchto hledisek je velmi názorné porovnání metod hs cTnT a Singulex (tab. 1).

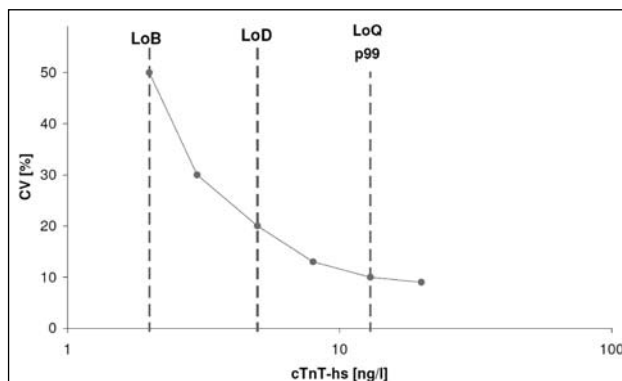


Fig. 1. Limits of blank (LoB), detection (LoD), quantification (LoQ) and 99 percentile in determination of cTnT by method hs cTnT Roche

Table 1. Limits of detection, quantification and 99 percentile in systems Roche hs cTnT and Singulex cTnI

	Roche	Singulex
LOD	5.0 ng/l	0.2 ng/l
LOQ (CV% = 10)	14.0 ng/l	0.8 ng/l
99 percentile	14.0 ng/l	9.0 ng/l

Hodnoty cut-off poskytované klinickými laboratořemi

V České republice asi 2/3 laboratoří stanovuje troponin I a 1/3 laboratoří využívá stanovení troponinu T. Je to dáno především přístrojovým vybavením jednotlivých laboratoří. V Evropě je poměr laboratoří, stanovujících cTnT a cTnI přibližně 1 : 1. Řada účastníků kontrolního systému SEKK KM (kardiální markery, v letech 2009 a 2010) neposkytuje lékařům mezinárodně doporučené hodnoty rozhodovacích limitů, definované jako 99. percentily referenčních populací. Jedním z důvodů je již zmiňovaná obtížnost dosáhnout požadované hodnoty preciznosti CV% ≤ 10 % pro koncentrace 99. percentilu referenční populace, ale není to důvod jediný. Přechodně bylo doporučeno náhradní řešení: používat jako hodnoty rozhodovacího limitu nejnižší koncentraci troponinů, kterou lze stanovit s precizností CV% ≤ 10. V tabulce 2 jsou uvedena data o četnosti klinických laboratoří používajících jako hodnot cut-off 99. percentilů. Srovnáme-li si je s daty nedávno publikované evropské studie, konstatujeme dobrou shodu, což potvrzuje obecný charakter problému. V roce 2008 použilo jako cut-off hodnot jen 42 % dotázaných respondentů z řady evropských zemí při stanovení cTnI a dokonce jen 28 % při stanovení cTnT [20].

Table 2. Percentage of participants in EQA program SEKK, used 99 percentile troponine values as cut-off in 2009–2010 surveys. Selected data

System	Use of 99 percentiles
Abbott AxSYM	10–21
Abbott Architect	33–42
Roche Elecsys, Modular	61–66
Beckman Access	70–83
Mitshubishi Pathfast	100

Velmi podstatným faktorem, ovlivňujícím používané hodnoty rozhodovacích limitů, jsou data uvedená v pracovní dokumentaci výrobců. Mnohdy, obecně vzato, neposkytují výrobci všechna potřebná data, ale v případě rozhodovacích limitů obou troponinů je tomu spíše naopak.

V pracovních návodech výrobců diagnostik Abbott a Roche je dat tolik, že spíše matou, než pomáhají. Oba zmínění výrobci uvádějí v dokumentaci kromě hodnot 99. percentilu a LOQ pro CV% ≤ 10 také hodnoty, vycházející z dávno neplatné definice akutního infarktu myokardu (AIM) WHO z roku 1979. Jde o hodnoty 0,1 µg/l (Roche), 0,3 µg/l (Architect) a 0,4 µg/l (AxSYM). Nezanedbatelná část laboratoří je používá navzdory tomu, že to vede ke snížení hodnoty klinické senzitivity, té hodnoty, na kterou je laboratorní medicína v případě troponinů tak hrdá. V roce 2010 (cyklus KM1/10) použilo tohoto zastaralého rozhodovacího limitu podle WHO z roku 1979 ještě 11 % účastníků, pracujících se systémy Roche, 20 % používajících systém AxSYM a dokonce 42 % laboratoří používajících systém Architect. Je zajímavé, že v tomto cyklu SEKK KM 1/10 uživatelé systémů Mitsubishi Pathfast a Tosoh AIA udali totožné hodnoty rozhodovacích limitů. Patrně jsou to jediné rozhodovací limity, uvedené v dokumentaci výrobců.

Zavádění velmi citlivých metod na stanovení srdečních troponinů do rutinních klinických laboratoří vyžaduje velmi úzkou spolupráci laboratoří s kliniky. Jen tak bude možné provést adekvátní klinickou validaci těchto velmi cenných a ceněných biomarkerů poškození myokardu.

Závěr

Se zavedením troponinu do klinické praxe nastala nová éra využití srdečních biomarkerů v diagnostice poškození myokardu. Tento zásadní obrat v klinicko-laboratorní diagnostice srdečního poškození je však provázen poněkud chaotickým a překotným vývojem množství souprav na stanovení cTnI a vývojem nových generací těchto souprav i soupravy na stanovení cTnT, kdy pracujeme již s pátou generací. Uváděný přístup výrobců diagnostik a nadšení kliniků z nového kardio-specifického markeru vedly k redefinici AIM v r. 2000 a k nové úpravě této definice AIM v r. 2007 (tzv. biochemická definice). Záhy se však ukázalo, že současné soupravy na stanovení troponinů nedokáží splnit požadavek definice AIM, aby rozhodovací limit určený k detekci AKS byl definován jako 99. percentil hodnot referenční populace, stanovený s precizností CV do 10 %. Aktuální publikace poukazují na skutečnost, že zatím nejsme schopni stanovit přesně hodnoty cTn v referenční populaci, ani dosáhnout požadované preciznosti stanovení CV do 10 % pro 99. percentil zdravé populace. Autoři recentních článků diskutují o tom, zda je taková preciznost nutná, a dokazují, že postačí používat hodnoty s CV do 20 %. Zavádění vysoce citlivých metodik a nových metodických přístupů (jiných než ECLIA) dává naději, že nastává doba, kdy budeme schopni stanovit cTn u každého, tedy i zdravého jedin-

ce bez poškození myokardu a tím bude umožněno určit referenční hodnoty pro cTn a konečně beze zbytku splnit požadavky definice AIM z r. 2007. Tato skutečnost otevírá jednak možnost standardizace stanovení cTn, jednak možnost diagnostikovat velmi citlivě i stavy předcházející AKS. To by mělo vést konečně ke stabilizaci stanovení i ke stabilizaci klinického využití tohoto beze sporu výjimečně cenného biomarkeru poškození myokardu.

Addendum

Během psaní tohoto článku došlo k publikaci výsledků dosažených u účastníků studie HOPE (Heart Outcomes Prevention Evaluation) při stanovení cTnT 4. generací Roche a hs cTnT Roche. Zatímco při použití 4. generace bylo nalezeno 1,3 % účastníků s výsledky nad cut-off, při použití hs cTnT jich bylo 17 % [21]. To názorně ukazuje, jak kvantitativně rozsáhlé problémy lze čekat při používání ultrasenzitivních a vysoce senzitivních metod ve srovnání s metodami předešlé generace. Autoři tohoto sdělení zpochybňují na základě těchto výsledků doposud obecně používané stanovení hodnot cut-off jako 99. percentil referenční populace. Vzhledem k tomu, že při hodnotách TnT pod 30 ng/l se výsledky cTnT 4. generace a hs cTnT liší o 70–100 % [7], vzniká otázka (v práci neřešená), nakolik se na zvýšení počtu pozitivních výsledků podílí tento analytický fakt.

Literatura

1. **Tichý, M., Gregor, J.** Přehled biochemických markerů poškození myokardu. *Klin. Biochem. Metab.*, 2002, 10, 3, s. 176–179.
2. **Katus, H. A.** Development of the cardiac troponin immunoassay. *Clin. Chem.*, 2008, 54, 9, p. 1576–1577.
3. **Plebani, M., Zaninotto M.** Cardiac troponins: what we knew, what we know-where are we now? *Clin. Chem. Lab. Med.*, 2009, 47, 10, p. 1165–1166.
4. **Katus, H. A., Rempiss, A., Looser, S., Hallermeier, K., Scheffod, T., Kubler** Enzyme linked immunoassay of cardiac troponin T for the detection of acute myocardial infarction in patients. *J. Mol. Cell. Cardiol.*, 1989, 21, p. 1349–1353
5. **Tate, J. R.** Troponin revisited 2008: assay performance. *Clin. Chem.*, 2008, 46, p. 1489–1500.
6. **Laulu, S. L., Roberts, W. I.** Performance characteristics of five cardiac troponin assays. *Clin. Chim. Acta*, 2010, 411, p. 1095–1101.
7. **Gianitsis, E., Kurz, K., Hallenmayer, K., Jarausch, K., Jaffé, A. S., Katus, H. A.** Analytical validation of a high-sensitivity troponin T assay. *Clin. Chem.*, 2010, 56, p. 254–261.
8. **Apple, F. S.** A new season for cardiac troponin assays: Its time to keep a scorecard. *Clin. Chem.*, 2009, 55, p. 1303–1305.
9. **Jaffe, A. S., Apple, F. S., Morrow, D. A., Lindahl, B., Katus, H. A.** Being rational about (im) precision: a statement from the biochemistry subcommittee of the Joint European Society for Cardiology/American College of Cardiology Foundation/American Heart Association/World Heart Federation task force for the definition of myocardial infarction. *Clin. Chem.*, 2010, 56, p. 941–943.

10. **Price, C. D., Christenson, R. D.** Evaluating new diagnostic technologies: perspectives in UK and US. *Clin. Chem.*, 2008, 54, p. 1421–1423.
 11. **Apple, F. S.** High-sensitivity cardiac troponin assays. What analytical and clinical issues need to be addressed before introduction into clinical practice. *Clin. Chem.*, 2010, 56, p. 886–891.
 12. **Reichlin, T., Hochholzer, W., Bassetti, S, et al.** Early diagnosis of myocardial infarction with sensitive cardiac troponin assays. *N. Engl. J. Med.*, 2009, 361, p. 858–867.
 13. **Jaffé, A. S., Apple, F. S.** High-sensitivity cardiac troponin: hype, help and reality. *Clin. Chem.*, 2010, 56, p. 342–344.
 14. **Wu, A. H.B., Lu, Q. A., Todd, J., Moecks, J., Wiens, F.** Short- and long-term biological variation in cardiac troponin I measured with a high-sensitive assays. *Clin. Chem.*, 2009, 55, p. 52–58.
 15. **Vasile, V. C., Saenger, A. K., Kroning, J. H., Jaffe, A. S.** Biological and analytical variability of a novel high-sensitivity cardiac troponin T assay. *Clin. Chem.*, 2010, 56, p. 1086–1090.
 16. **Florkowski, C., Wallace, J., Walmsley, T., George, P.** The effect of hemolysis on current troponin assays—a confounding preanalytical variable? *Clin. Chem.*, 2010, 56, p. 1195–1197.
 17. **Freese, B., Lu, A., Held, D., Morey, J. et al.** Ultrasensitive flow-based immunoassays using single molecule counting. *Clin. Chem.*, 2007, 53, p. 1990–1995.
 18. **Sabatine, M. S., Morrow, D. A., deLemos, J. A., Jorolim, P., Baumwald, E.** Detection of acute changes in circulating troponin in the setting of transient stress test-induced myocardial ischemias using an ultrasensitive assay: results from TIMI 35. *Eur. Heart J.*, 2009, 30, p. 162–169.
 19. **Apple, F. S., Simpson, P. A., Murakami, M. M.** Defining the serum 99th percentile in a normal population measured by of high-sensitivity cardiac troponin I assay. *Clin. Biochem.*, 2010, 43, p. 1034–1036.
 20. **Pulkki, K., Suvisaari, J., Collinson, P., Ravkilde, J., Stavljenic-Rukavina, A. et al.** A pilot survey of the use and implementation of cardiac markers in acute coronary syndrome and heart failure across Europe. *Clin. Chem. Lab. Med.*, 2009, 47, p. 227–234.
 21. **Kavsak, P., Mc Queen, M. J.** High sensitivity cardiac troponin concentration cutoffs—is a healthy population the right reference population for those with underlying cardiac disease? *Clin. Biochem.*, 2010, 43, p. 1037–1038.
- Práce byla podpořena výzkumným projektem MZČR: MZO 00179906.

Do redakce došlo 31. 8. 2010.

Adresa pro korespondenci:
 RNDr. Bedřich Friedecký, Ph.D
 ÚKBD LF UK a FN
 Sokolská 581
 500 05 Hradec Králové
 e-mail: friedecky@sekk.cz