

Nové trendy ve využití kardiálních markerů v laboratorní diagnostice poškození myokardu

Vašatová M., Tichý M.

ÚKBD, Fakultní nemocnice Hradec Králové

6.5.2010 – Jindřichův Hradec



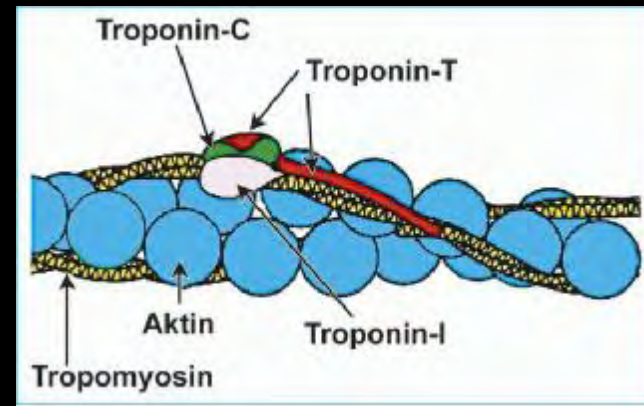
Definice infarktu myokardu

- I Doporučení ČSKB-Markery poškození myokardu
Klin. Biochem. Metab., 16 (37), 2008, 1, 50-55
- I Universal Definition of Myocardial Infarction
Journal of the American College of Cardiology, 50, 22,
2007, 2173-2195
- I Doporučený postup pro diagnostiku a léčbu
akutních koronárních syndromů bez elevací ST
úseků na EKG
Cor Vasa 2008; 50 (Suppl): 1S7–1S23
- I Diagnostika a léčba akutního infarktu myokardu
s elevacemi ST
Cor Vasa 2009; 51(10) | 724–740

Definice infarktu myokardu

- | Základem typické zvýšení a postupný pokles kardiálních markerů
 - | **preferovány kardiospecifické troponiny**
 - | **hodnota cut-off je 99. percentil zdravé populace**
 - | **CV do 10%**
- | Dále přítomen alespoň jeden z následujících faktorů:
 - | klinické příznaky ischemie
 - | vývoj patologických Q vln na EKG
 - | EKG změny svědčící pro ischemii - ST elevace či deprese
 - | zobrazovací techniky – čerstvá nekróza myokardu, nové poruchy kinetiky srdeční stěny
- | High-sensitivity metody

hs-cTnT



- | Metoda: Troponin T hs
- | analyzátor: Elecsys 2010, modul E170 (Roche),
 - | princip: ECLIA elektrochemiluminiscenční imunoanalýza
 - | měřicí rozsah: 0,003 – 10 ug/l (4. generace od 0,01 ug/l)
 - | CV =10% při 0,013 ug/l
 - | cut-off výrobce: 0,014 ug/l
 - | QC na dvou koncentračních hladinách – obě patologické
 - | 0,0275 ug/l
 - | 2,36 ug/l
 - | mezilehlá přesnost: CV=1,3 - 3,4% (c=0,024 – 2,665 ug/l)
- | Giannitsis et.al. Analytical validation of high-sensitivity Cardiac troponin T assay. Clin Chem 2010, 56:2254-261

Analytické parametry

concentration ($\mu\text{g/l}$)	sérum	0,010
	kontrola 1	0,0275
	kontrola 2	2,36
BIAS (%)	sérum	x
	kontrola 1	1,8
	kontrola 2	-1,0
CV (%)	sérum (opak.)	9,6
	kontrola 1 (repro.)	3,8
	kontrola 2 (repro.)	2,0

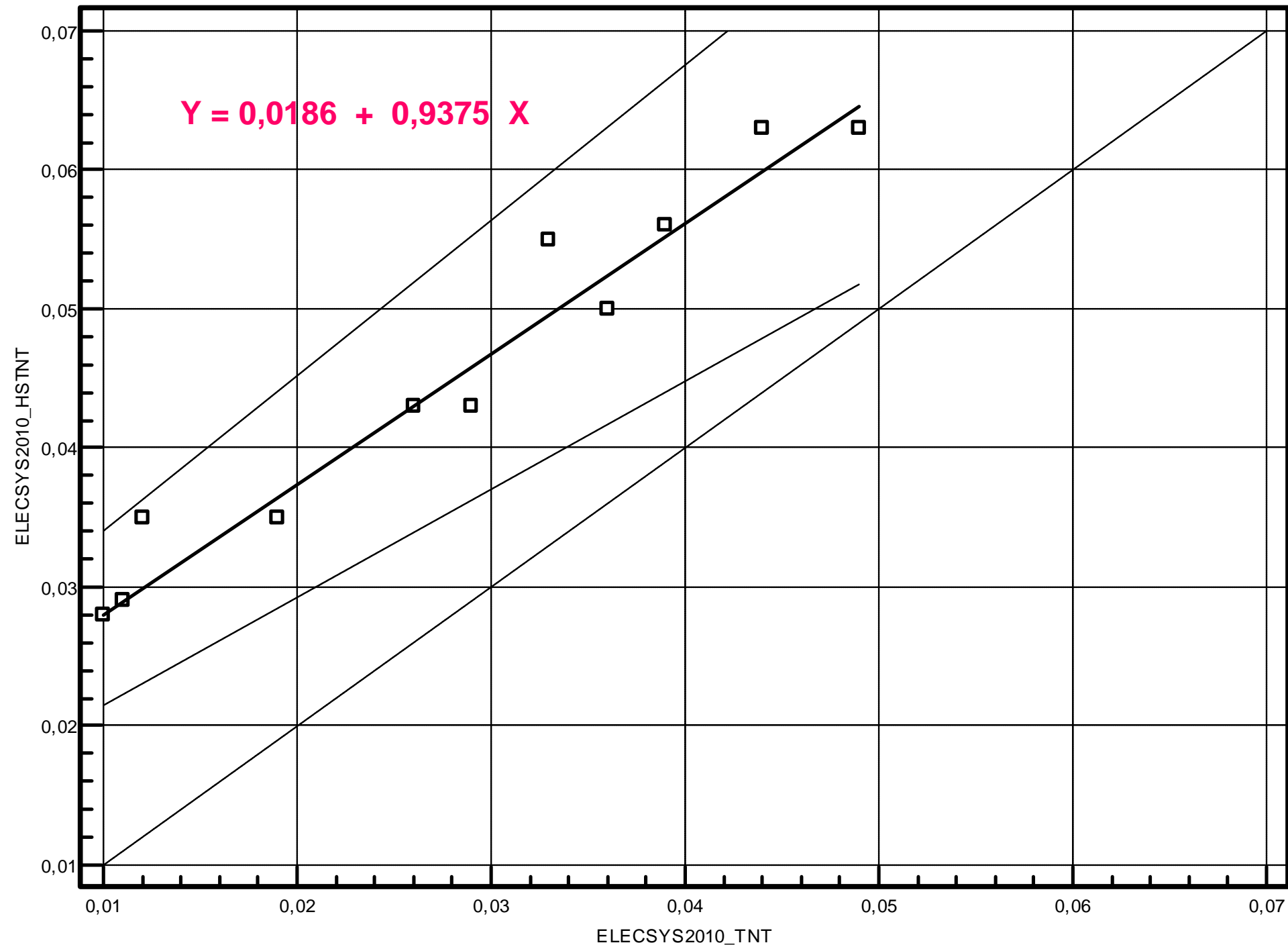
parametry vyhovující

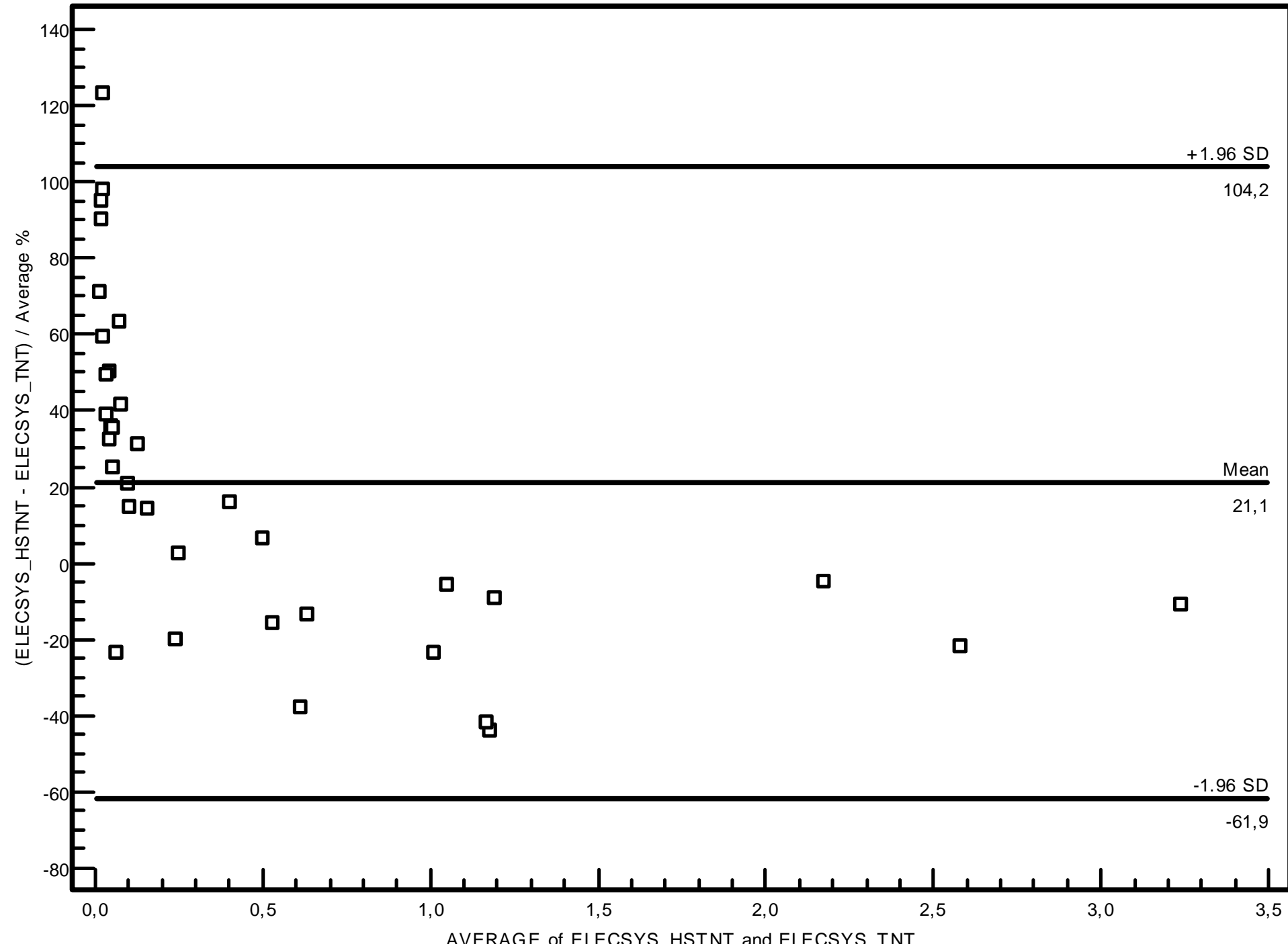
Srovnání

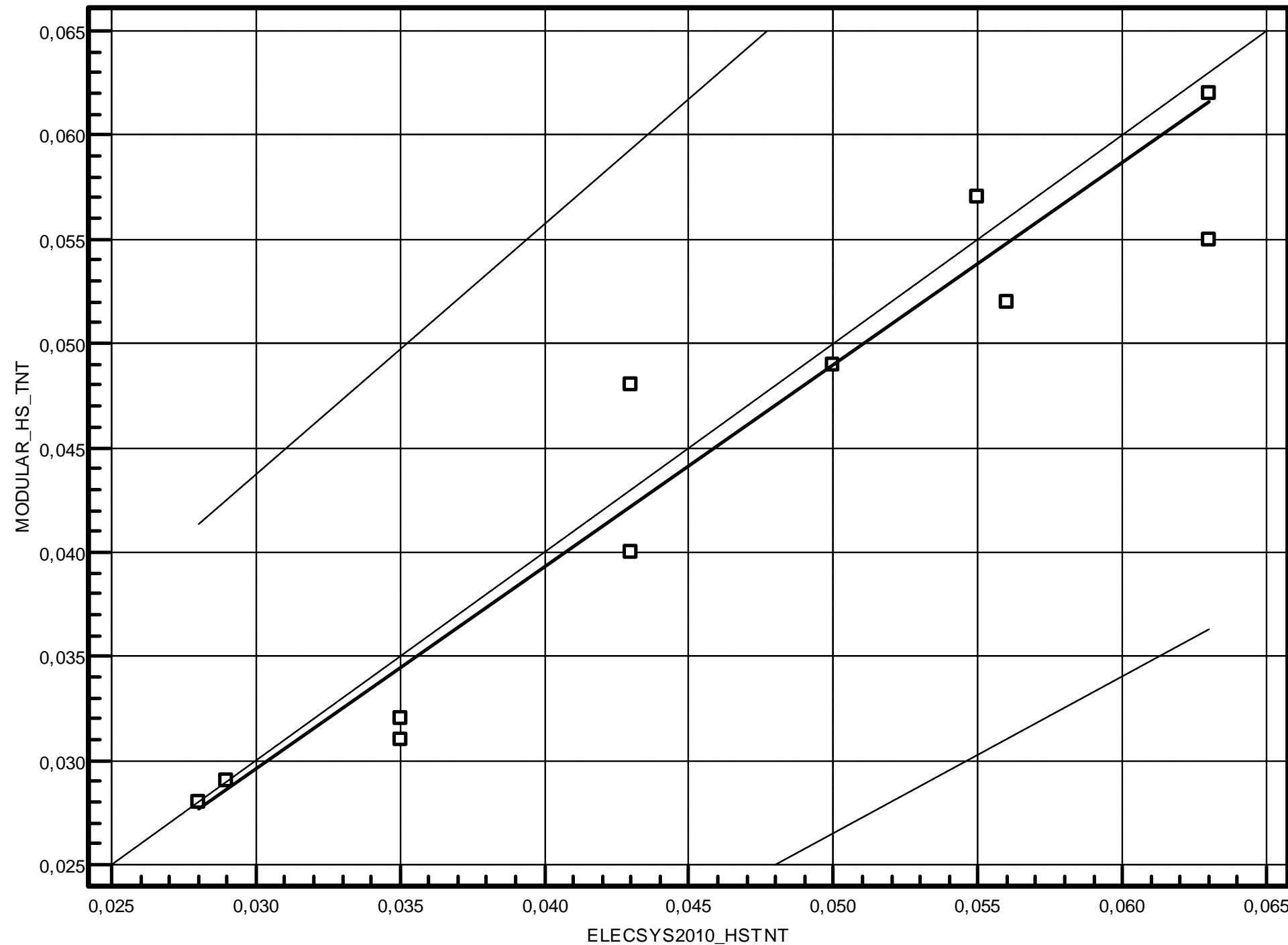
- | modul E170
- | Elecsys 2010

- | cTnT vs. hs-cTnT
- | hs-cTnT Elecsys vs. modul E170

- | **Passing - Bablock**
- | **Bland - Altman**







AKS

Hladina hs-cTnT byla nad 99. percentil
u 100,0 % AMI
u 69,7 % NAP
u 18,4 % SAP pacientů
korelace s diagnózou

41 AMI (31 mužů, 10 žen)
34 NAP (24 mužů, 10 žen)
41 SAP (39 mužů, 2 ženy)

- průměrný věk 63 let
- 1. interní klinika FN Hradec Králové

		BD	SAP	NAP	AIM
hs-cTnT (ug/l)	medián	0.004	0.008	0,022	0.170
	interkv. rozpětí	0.003-0.007	0.006-0.014	0,011-0,052	0.075-0.842

Nové kardiomarkery

- | **Nově doporučována multimarkerová strategie**
 - | troponiny, CKMB, MYO, NP
- | **Nové markery ischemie nebo nekrózy myokardu**
 - | IMA – ischemií modifikovaný albumin
 - | FFA – volné mastné kyseliny
 - | H-FABP – srdeční typ proteinu vázajícího volné mastné kyseliny
 - | GPBB – BB izoenzym glykogenfosforylázy
 - | (CA III – Karboanhydráza III)

Markery ischemie/nekrózy myokardu

Ischemií modifikovaný albumin

- | V průběhu ischemie N-terminální konec albuminu snižuje svou afinitu pro vazbu s kobaltem
- | Mechanismus modifikace albuminu není přesně objasněn
- | Test vazebné kapacity albuminu pro kobalt
 - | albumin cobalt binding test (ACB test)
- | Vznik IMA i v nepřítomnosti nekrózy myokardu
- | Nelze odlišit ischemii od nekrózy
- | Další příčiny zvýšení IMA
 - | onemocnění jater, selhání ledvin, nádory, ischemie mozku, maratónský běh, těžké infekce

Volné mastné kyseliny

- | Mastné kyseliny v krvi vázány na albumin, malá část v solubilní formě
- | Zvýšení FFA v průběhu ischemie
 - | lipolýza tukové tkáně
 - | hydrolýza lipidů v myokardu
- | Ischemie s nebo bez nekrózy myokardu
- | Zvýšené hodnoty FFA také při:
 - | sepsi, hladovění, diabetes
- | krátký biologický poločas, problémy se stanovením

Protein vázající mastné kyseliny

- | 15 kDa cytoplazmatický protein
- | Intracelulární transport mastných kyselin
- | Ve tkáních s aktivním metabolismem lipidů
- | 9 typů FABP
 - | (H-FABP, L-FABP, B-FABP, I-FABP atd.)
- | **H-FABP** – srdeční typ FABP
 - | myokard, mnohem méně v kosterních svalech, mozku a střevech
- | Časný marker nekrózy myokardu podobně jako myoglobin
- | Diagnostická senzitivita a specifita vyšší než MYO
- | Poměr MYO/FABP
 - | k odlišení léze myokardu od poškození kosterního svalstva
 - | poměr MYO/FABP = 2 -10 – myokardiální etiologie
 - | = 20 a více – poškození skeletálního svalstva

BB izoenzym glykogenfosforylázy

- | Glykogenfosforyláza (GP)
 - | = α -1,4-D-glukanortofosfát-D-glukosyltransferáza, EC 2.4.1.1
- | Dimerický enzym – 2 identické podjednotky
- | Existují 3 izoenzymy
 - | LL – játra, ostatní orgány, kromě kosterního svalu, myokardu a mozku
 - | MM – kosterní sval, méně myokard
 - | BB – mozek, myokard, méně v leukocytech, slezině, ledvinách atd.
- | Úloha v metabolismu sacharidů, katalyzuje 1. krok glykogenolýzy
 - | glykogen \rightarrow glukóza-1-fosfát
- | GPBB spolu s glykogenem ve vazbě na sarkoplazmatické retikulum
- | Ischemie - konverze z vázané formy na volnou formu v cytoplazmě + difúze do extracelulárního prostoru

Karboanhydráza III

- | **Není kardiálním markerem**
- | **28 kDa cytoplazmatický protein**
- | **Vyskytuje se v kosterním svalstvu ale není obsažena v myokardu**
- | **Odlišení poškození myokardu od kosterního svalu**
- | **Pozitivní MYO a negativní CAIII - poškození myokardu**
- | **Současné měření CAIII a MYO zvyšuje specifitu MYO testu pro AIM**

Markery systémového zánětu

- | **C-reaktivní protein (CRP)**
 - | reakce na akutní zátěž
- | **Solubilní CD40 ligand (CD40 L)**
 - | CD40 L - protein buněčných membrán trombocytů
 - | jako solubilní molekula uvolňován do krve z nestabilních aterosklerotických plaků
- | **Myeloperoxidáza (MPO)**
 - | enzym uvolněný z aktivovaných neutrofilů, monocytů a makrofágů v průběhu destabilizace aterosklerotických plaků
- | **Pregnancy associated plasma protein (PAPP-A)**
 - | růstový faktor podobný insulínu, podílí se na destrukci fibrózního krytu aktivovaného plaku
- | **Cholin**
 - | cholin a fosfatidilová kyselina jsou hlavními produkty štěpení fosfolipidových membrán působením fosfolipázy D
 - | při destabilizaci koronárního plátu nebo při ischemii myokardu

Evidence (Randox)

- | Biočipová technologie
- | Poloautomatický analyzátor
- | Testy ELISA na biočipech
- | Značení HPR
- | Reakce s H_2O_2 a luminolem
- | Chemiluminiscence

- | Cardiac panel
CKMB, MYO, cTnI,
GPBB, FABP a CAIII



Dárci krve

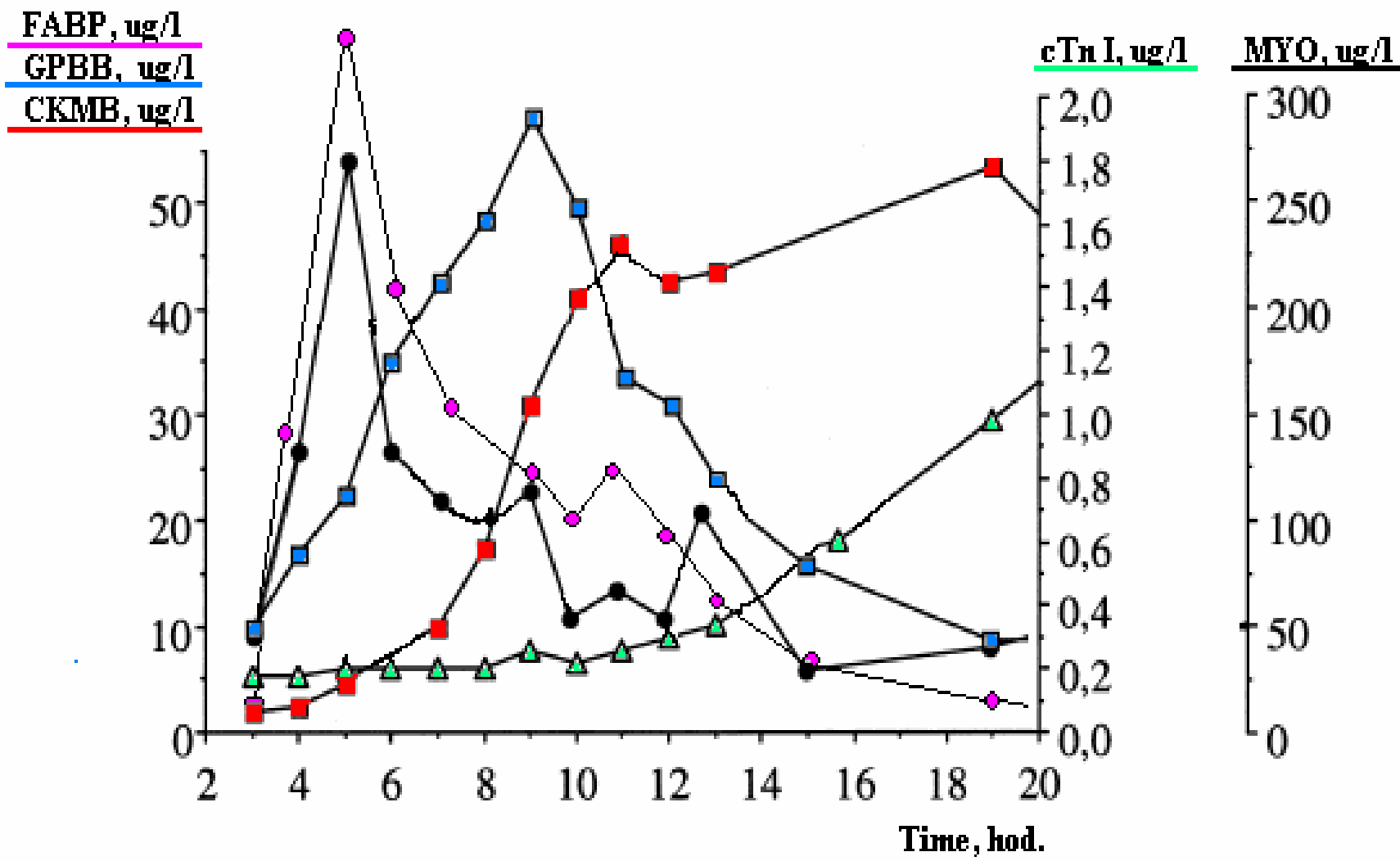
- I Ověření referenčních mezí doporučených výrobcem
- I Skupina 28 dárců

	CKMB ug/l	MYO ug/l	GPBB ug/l	FABP ug/l	CA III ug/l	cTnl ug/l
Průměr	2,09	39,35	4,34	2,47	23,84	<0,18
Minimální hodnota	<0,4	16,81	<1,97	1,08	10,98	<0,18
Maximální hodnota	6,78	92,75	10,66	6,65	72,62	0,43
Standardní odchylka	1,43	18,29	2,44	1,09	13,51	xxx
Referenční meze výrobce	3,9	59,0	7,3	4,5	55	0,4

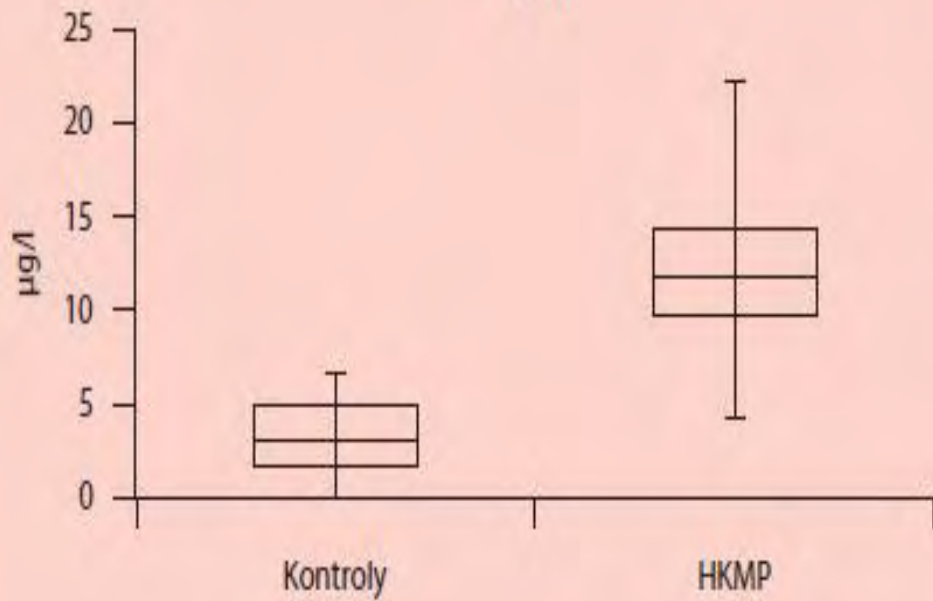
Pacienti po IM

- Sledování kinetiky nových kardiálních markerů (27 pacientů)
 - FABP - u všech pacientů při 1. odběru zvýšení nad cut off a naměřena nejvyšší hladina
 - MYO - při prvním odběru 25 pacientů nad cut off, 24 naměřena nejvyšší hladina
 - GPBB –při prvním odběru 25 pacientů nad cut off, 19 naměřena nejvyšší hladina

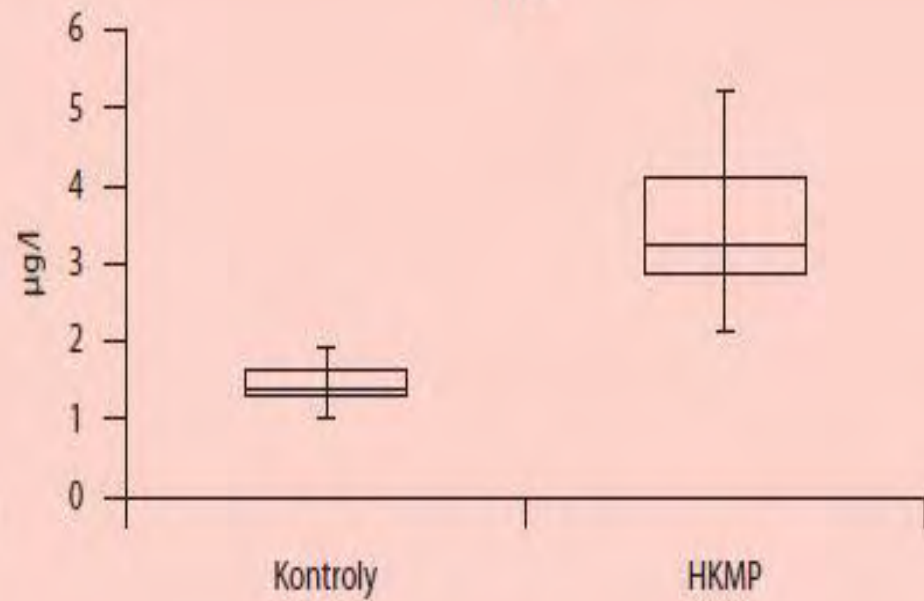
	CKMB ug/l	MYO ug/l	GPBB ug/l	FABP ug/l	CA III ug/l	cTnl ug/l
při příjmu	17,66	363,77	46,71	76,56	95,69	3,23
po 24 hod	31,67	97,77	18,59	8,43	71,45	18,14
po 2-3 dnech	3,05	58,89	16,37	3,88	40,65	4,47
Referenční meze	3,9	59,0	7,3	4,5	55,0	0,4



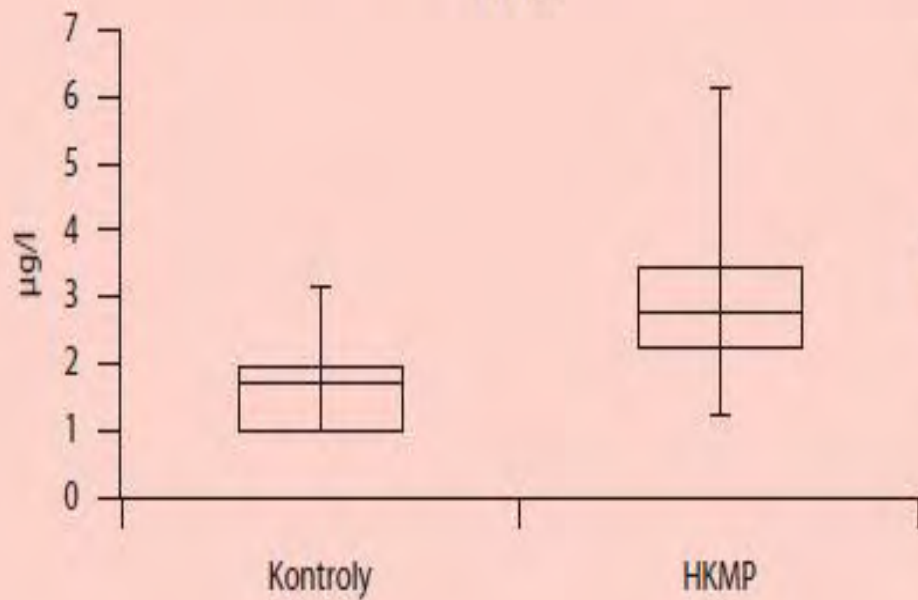
GPBB



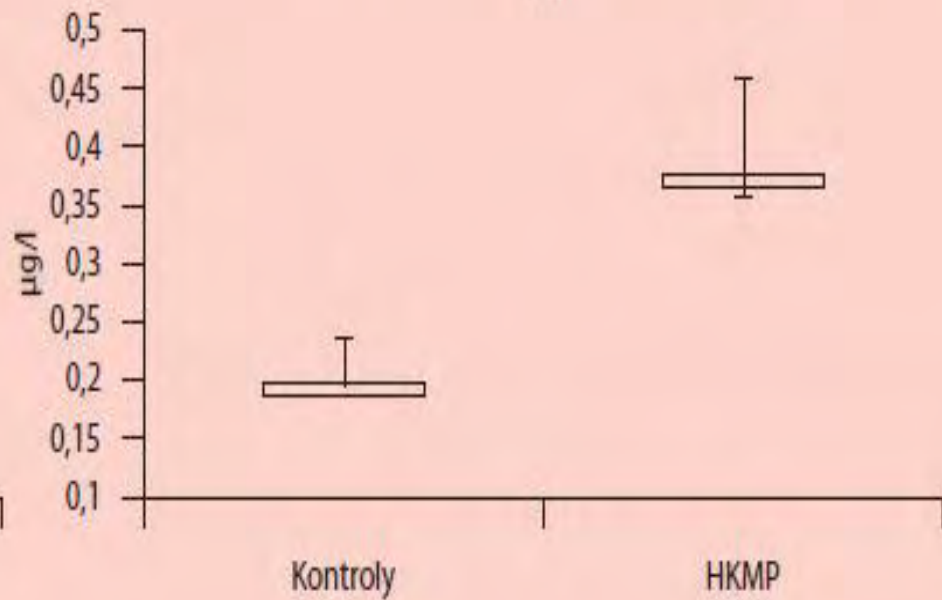
FABP



CK-MB



Tnl



Závěr

- | high-senzitivní troponiny jsou v kardiologické diagnostice jistě krok správným směrem
- | citlivý a kardio-specifický marker
- | problém s klinickou interpretací nízkých koncentrací
- | nutnost použití šedé zóny
- | nutnost dořešení některých analytických problémů
- | multimarkerová strategie - doplnění spektra kardiálních markerů o nové analyty
- | získávání zkušeností s kardiálními markery k časnému určení diagnózy a prognózy rizika KO