Datum:	Jméno: Skupina:

CVIČENÍ 6: Laboratorní diagnostika infarktu myokardu

Úvod

Ischemická choroba srdeční (od ischemie = místní nedokrevnost tkáně). Jedním z projevů je angina pectoris (AP) (bolest za hrudní kostí) - dělení:

- stabilní - při zátěži
- instabilní - náhle vzniklá, zesilující se, hrozí infarkt myokardu (IM)
- variantní (taky vazospastická, Prinzmetalova) - klidové bolesti

Němé ischemie myokardu (bolest není přítomna) jsou podstatně častější nežli symptomatické.
Více viz skripta a učebnice patofyziologie a vnitřního lékařství.

Ischemie→ nedostatečné zásobení O_2→ anaerobní metabolismus→ ↑laktát, ↓ATP→ ↓pH→ ↑permeability buněčných membrán, únik bílkovin z cytoplazmy

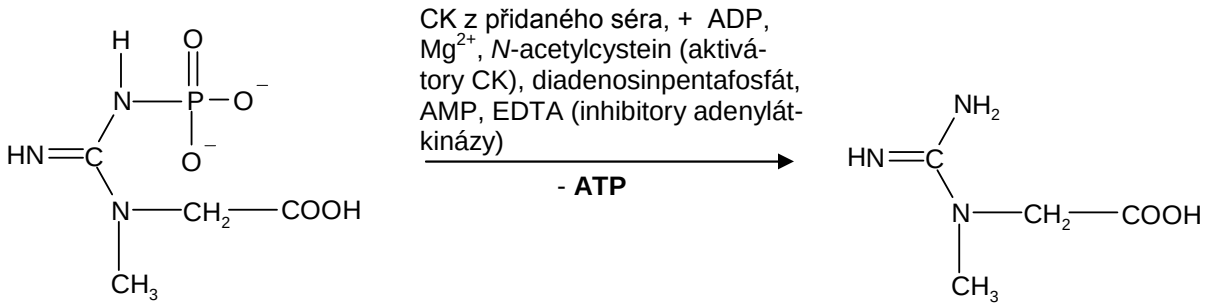
Krátkodobá ischemie - reverzibilní, upravení reperfuzí okysličené krve.
Delší ischemie - prohloubení acidózy→ zastavení glykolýzy→ ireverzibilní poškození buněk - nekróza (infarkt)→ do krve troponiny (hlavně T a I) a mitochondriální frakce CK a AST

Základ diagnostiky IM: EKG (poznají se jednotlivé typy infarktu)
Definitivní diagnóza IM: biochemické markery - kombinace 3 (myoglobin, CK-MB mass, srdeční troponin T nebo I)
(laktátdehydrogenáza (LD) a její izoenzymy už se nestanovují)
současně alespoň 1 ze 4 kritérií - klinické příznaky ischemie
- patologické Q vlny na EKG
- změny EKG svědčící pro ischemii (elevace úseku ST)
- souvislost s koronární intervencí (angioplastika, stent)

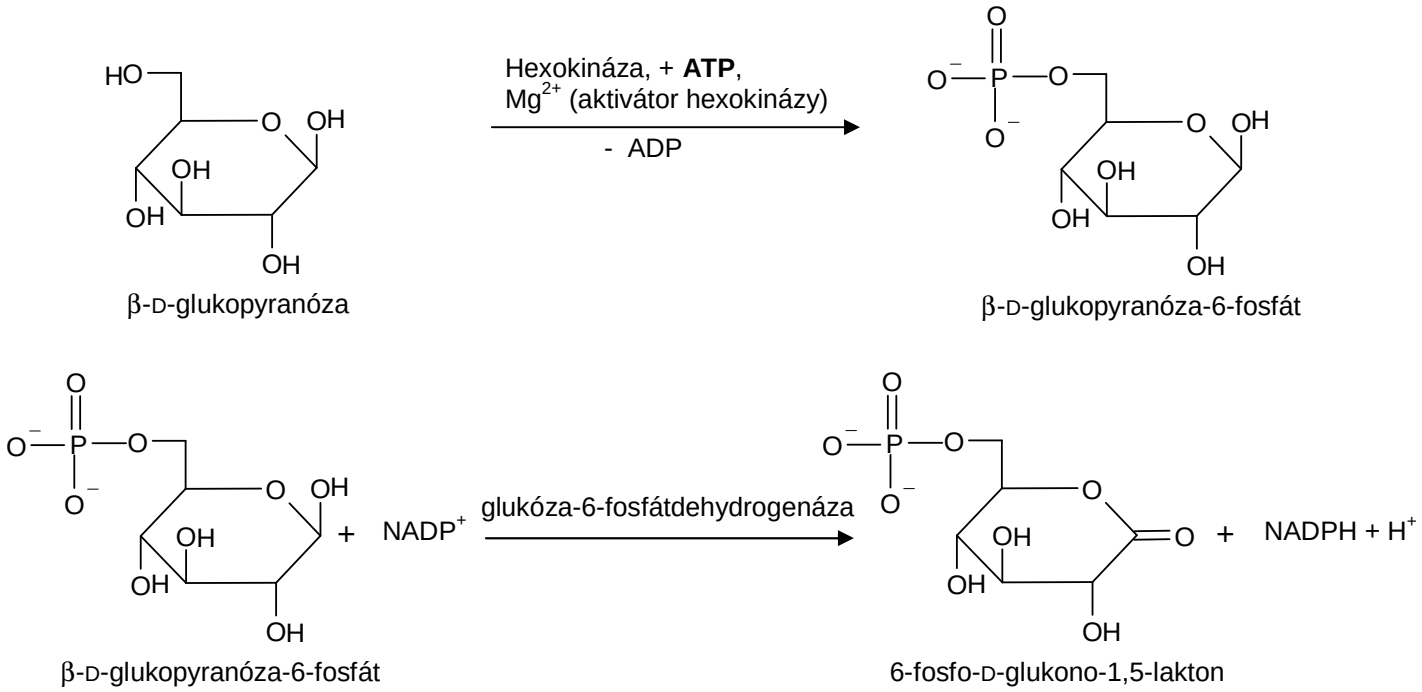
6.1 Stanovení katalytické koncentrace kreatinkinázy v séru

Kreatinkináza (CK) - cytoplazmatický a mitochondriální enzym katalyzující fosforylaci kreatinu. 2 podjednotky: B (brain), M (muscle) ⇒ 3 izoenzymy: CK-MM (kosterní, srdeční svalstvo), CK-MB (ze 40% celkové CK v srdečním svalu, v kosterním jen z 1 - 2 % celkové CK), CK-BB (hlavně mozek, hladká svalovina dělohy, některé nádory).

Kinetická metoda.
Optický test (měří se rychlost přírůstku NADPH ~ rychlost vzrůstu absorbance při 340 nm).



kreatinfosfát kreatin



Provedení (viz skripta)

Výpočet katalytické koncentrace CK v krevním séru:

$$\text{katal. konc. CK } (\mu\text{kat dm}^{-3}) = \frac{\Delta A_{340}}{\Delta t} * 108{,}47$$

ΔA_{340}....změna absorbance vzorku při 340 nm (bezrozměrné číslo)
Δt..... doba za kterou došlo ke změně absorbance o ΔA_{340} (min)
Vztah platí pro objem séra 0,02 ml a celkový objem reakční směsi (činidlo + sérum) 1,02 ml.

Výsledek:

Hodnocení

Porovnání výsledku s referenčním intervalem katalytické koncentrace CK
0,41 - 3,16 μkat l^{-1} (muži), 0,41 - 2,83 μkat l^{-1} (ženy).

Ke studiu: význam stanovení kreatinkinázy pro diagnostiku infarktu myokardu

↑ **CK** - při IM po 3 - 6 h, vrchol obvykle po 24 h, **pozor** možnost uvolnění CK z kosterního svalu (fyzická námaha, křeče, poranění svalů, i.m. inj.) ⇒ CK je nespecifický a málo významný ukazatel IM, pro potvrzení diagnózy stanovit CK-MB a další markery IM (myoglobin, troponin)

6.2 Stanovení katalytické koncentrace CK-MB v séru

CK-MB: 40 % celkové CK v srdečním svalu (v kosterním svalu jen 1 - 2 % celkové CK) ⇒ ↑ CK-MB je specifičtější marker poškození myokardu než celková CK.

Princip stanovení je až na jeden rozdíl stejný jako při stanovení celkové CK.
Rozdíl oproti stanovení celkové CK: před stanovením aktivity CK přidat protilátku proti podjednotce M ⇒ CK-MM je neaktivní, CK-MB vykazuje poloviční katalytickou koncentraci (pouze od podjednotky B).

Provedení (obdobné jako v úloze 6.1)

Úloha se prakticky neprovádí.
Vyhodnoť následující katalytické koncentrace v době maxima: CK ..... 36 μkat l^{-1}
CK-MB ..... 2,9 μkat l^{-1}

Hodnocení

Porovnání výsledku s hraniční hodnotou katalytické koncentrace CK-MB 0,4 μkat l^{-1}.
Porovnání podílu aktivity CK-MB na aktivitě celkové CK v % s hraniční hodnotou 6 %.

Ke studiu: význam stanovení CK-MB pro diagnostiku infarktu myokardu

↑ **CK-MB** - specifičtější marker IM než celková CK, časový průběh nárůstu aktivity jako celková CK, ↑ CK-MB je ale i u poškození kosterních svalů ⇒ stanovit podíl CK-MB na celkové CK, pokud > 6 %, CK-MB je s vysokou pravděpodobností kardiálního původu

↑ **CK-MB mass** - v séru stoupá asi o 1 h dříve než aktivita CK-MB, stanovuje se imunochemicky hmotnostní koncentrace (prokáží se i částečně degradované molekuly bez enzymové aktivity) ⇒ citlivější stanovení (s větší záchytností) než CK-MB, horní referenční limit CK-MB mass je do 5 μg l^{-1}

CK byla ve 20. stol. zlatým standardem lab. diagnostiky akutního infarktu myokardu (AIM). Dnes je stanovení CK-MB mass doporučováno jen v případě nedostupnosti stanovení kardiálních izoforem troponinu T nebo I.

6.3 Stanovení troponinu T v krvi

Troponiny: T (spojuje troponin s tropomyozinem), I (zamezuje tvorbě akto-myozinových můstků), C (váže Ca^{2+}). Troponiny jsou spolu s tropomyozinem regulační proteiny kontrakce příčně pruhovaného svalstva. Troponin T (TnT): převážně v tropomyozinovém komplexu, jen 6 % volného podílu v cytoplazmě ⇒ při ischemii se nejprve uvolní cytoplazmatický TnT (hladina stoupá v průběhu 4 -6 h), při přechodu do nevratné fáze ischemie se uvolní i TnT z tropomyozinového komplexu (maximum kolem 4 dne). ↑ TnT přetrvává 10 dní až 2 týdny.

Stanovení je založeno na principu imunochromatografie (detailní popis ve skriptech). (Automatické analyzátory využívají imunochemické stanovení v roztoku založené na podobných principech.)

Provedení (viz skripta)

Hodnocení

a) kvalitativní - souprava **Cardiac T Rapid Assay** (bez Cardiac Readeru)
- jeden proužek (kontrolní) - negativní test, c(TnT) = 0 nebo < 0,1 $\mu g\ l^{-1}$
- dva proužky (indikační a kontrolní) - pozitivní test, c(TnT) > 0,1 $\mu g\ l^{-1}$
- žádný proužek - nefunkční test

Výsledek hodnotit po 15 – 20 minutách (ne později!). Svalový TnT neinterferuje do koncentrace 500 $\mu g\ l^{-1}$.

- Nakresli si vzhled testu pro negativní, pozitivní a neplatný test.

b) kvantitativní - souprava **Cardiac T Quantitative** (pomocí Cardiac Readeru)

Vyhodnocení se provádí po 12 minutách:

Koncentrace TnT	Údaje na displeji	**Komentář**
< 0,03 $\mu g\ l^{-1}$	Trop T negative	IM lze vyloučit po provedení nového testu s čerstvým vzorkem krve 10 – 12 h po začátku příznaků
0,03 - 0,1 $\mu g\ l^{-1}$	Trop T LOW < 0,1 ng ml^{-1}	Koncentrace TnT se může dále měnit - opakujte test za 1 h s čerstvým vzorkem krve
0,1 - 2 $\mu g\ l^{-1}$	Trop T = „x“ ng ml^{-1} (kvantitativní výsledek)	Zjištěno poškození myokardu
> 2 $\mu g\ l^{-1}$	Trop T HIGH > 2 ng ml^{-1}	Zjištěno masivní poškození myokardu

Referenční hodnoty: za limitní hodnotu (rozhodovací hranice) je pokládána koncentrace 0,1 $\mu g\ l^{-1}$.

Ke studiu: význam stanovení TnT a TnI pro diagnostiku infarktu myokardu
TnT se za fyziologických okolností uvolňuje do plazmy jen při apoptóze myocytu v množství současnými metodami neprokazatelném ⇒ u zdravých osob TnT neprokážeme.
až 300×↑ TnT nad limit detekce - AIM
mírné ↑ TnT - u nestabilní anginy pectoris (špatná prognóza onemocnění)
↑ **TnT** - když dospělý myocyt příčně pruhované svaloviny nabývá charakteru embryonálního tvořícího kardiospecifický cTnT (při dermatomyozitidě, polymyozitidě, regeneraci svalových vláken po úrazech)
↑ **TnT** - až u 1/3 dialyzovaných pacientů

Troponin I (TnI) má obdobné použití při diagnostice AIM jako TnT, má i podobnou kinetiku.
výhody oproti stanovení TnT: TnI není tvořen embryonálními buňkami kosterní svaloviny, méně častý vzestup u dialyzovaných pacientů než u TnT
nevýhody oproti stanovení TnT: chybí standardizace metody (obtíže při porovnávání výsledků)

V diagnostice AIM jsou oba troponiny zaměnitelné. Stanovení troponinů je ve srovnání s jinými ukazateli poškození myokardu výrazně citlivější a jen toto stanovení ukáže i velmi malé poškození myokardu, např. při nestabilní angině pectoris.

6.4 Stanovení myoglobinu v krvi

Bílkovina myoglobin se nachází ve všech příčně pruhovaných svalech včetně srdeční svaloviny. Je to hemoprotein vázající kyslík. Při ischemii myokardu je uvolňován mezi 1. a 2. h (dříve než CK) a vzhledem k nízké M_r = 17 000 se filtruje v glomerulech, vylučuje se ledvinami a z krevního oběhu mizí v průběhu 12 - 24 h.

Stanovení je založeno na principu imunochromatografie, podobně jako u troponinu.

Provedení (viz skripta)

Hodnocení

Koncentrace myoglobinu	Údaje na displeji
< 30 μg l^{-1}	Myoglobin LOW < 30 ng ml^{-1}
30 - 700 μg l^{-1}	Myoglobin = „x“ ng ml^{-1} (kvantitativní výsledek)
> 700 μg l^{-1}	Myoglobin HIGH > 700 ng ml^{-1}

Fyziologická hladina myoglobinu závisí na individuálních faktorech jako je tělesná váha, věk, pohlaví. Za limitní hodnotu (rozhodovací hranice) je pokládána koncentrace 60 μg l^{-1} (ženy) nebo 70 μg l^{-1} (muži).

Ke studiu: význam stanovení myoglobinu pro diagnostiku infarktu myokardu

↑ **myoglobinu** - AIM (doporučovaný časný marker), ale falešná pozitivita u některých myopatií a úrazů postihujících svalovou tkáň (uvolnění z kosterního svalstva), rovněž při renálním selhání (poškozené ledviny fyziologicky uvolněný myoglobin nevyloučí) ⇒ kombinovat s jinými laboratorními ukazateli AIM

6.5 Stanovení katalytické koncentrace AST v séru

Viz CVIČENÍ 4: Vybraná vyšetření u onemocnění jater I – enzymová stanovení, úloha 4.2.

Ke studiu: význam stanovení AST pro diagnostiku infarktu myokardu

↑ **AST** - při AIM počátek vzestupu 4 - 6 h po začátku ischemie, vrchol mezi 1. - 2. dnem, normalizace do 5 dnů

AST/ALT > 1 - AIM, ale i řada dalších onemocnění ⇒ stanovení AST není při diagnostice AIM příliš specifické a jeho význam se snižuje

Dodatek: klasické laboratorní metody v diagnostice IM

Enzym	**Počátek vzestupu (h)**	Maximum aktivity (h)	Normalizace aktivity (d)	Násobek horní ref. meze v **době maxima**
AST	4 - 8	16 - 48	3 - 6	do 25
CK	3 - 6	16 - 36	3 - 5	do 25
LD	6 - 12	24 - 60	7 - 15	do 8
HBD	6 - 12	30 - 72	10 - 20	do 8
HBD = α-hydroxybutyrátdehydrogenáza (odpovídá H-podjednotkám izoenzymů LD)				

Problémy související s tímto tématem

4 1. Na oddělení byla přijata žena s podezřením na akutní infarkt myokardu. Hodnota CK je 9,6 μkat l^{-1}. Které další biochemické parametry je třeba vyšetřit k potvrzení AIM?

-
-
-

4 2. Vysvětlete vztah mezi CK-MB a CK-MB mass. Uveďte, v čem spočívá výhoda stanovení CK-MB mass a v čem spočívá rozdíl mezi stanovením a hodnocením CK-MB a CK-MB mass.

•

•

•

4 3. U hospitalizovaného pacienta s akutním infarktem myokardu jsou průběžně sledovány biochemické parametry. Uveďte, jaké hodnoty (↑ zvýšené, N normální, ↓ snížené) byste očekávali v čase 4 hodiny a 24 hodin po začátku ischemie u těchto parametrů: celková CK, CK-MB, AST, TnT, TnI, myoglobin.

- 4 h:

- 24 h:

4 4. Muž 49 r., byl přijat pro podezření na AIM. Nálezy na EKG pro to nesvědčily. Biochemickým vyšetřením z krve odebrané 2 hodiny po nástupu obtíží byly získány tyto hodnoty: myoglobin 30 $\mu g\ l^{-1}$, troponin T < 0,033 $\mu g\ l^{-1}$, CK 11 $\mu kat\ l^{-1}$, CK-MB mass 3 $\mu g\ l^{-1}$. Lze potvrdit IM?

•

4 5. Pan F. dostává třikrát denně intramuskulární injekce anxiolytik. Byl převezen do nemocnice s neurčitými bolestmi na hrudníku a pocitem dušnosti. Hodnota CK byla 5 $\mu kat\ l^{-1}$. Hodnoty CK-MB mass a troponinu T byly negativní, EKG rovněž. Čím lze vysvětlit zvýšené hodnoty CK?

•

4 6. Pan L. byl přivezen ráno na kliniku. Uvádí, že od včerejšího večera (více než 12 hodin) cítí silnou bolest v oblasti hrudníku. Biochemickým vyšetřením byly získány tyto hodnoty: myoglobin 29 $\mu g\ l^{-1}$, troponin T 0,33 $\mu g\ l^{-1}$, CK 18 $\mu kat\ l^{-1}$, CK-MB mass 10 $\mu g\ l^{-1}$. Nasvědčují biochemické nálezy IM? Jak lze komentovat hodnotu myoglobinu?

•

•