

Troponin T (cTnT) nebo troponin I (cTnI): je to (ta správná) otázka?

Prof. MUDr. Miroslav Engliš, DrSc., Katedra klinické biochemie IPVZ Praha

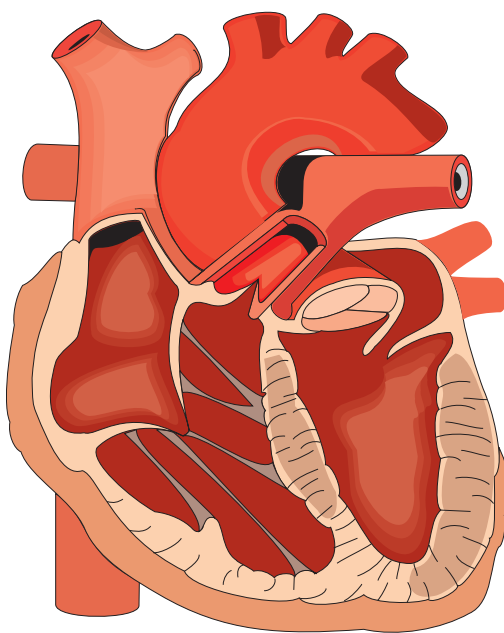
Na přelomu 80. a 90. let byla „zlatým standardem“ biochemické diagnostiky poškození myokardu vyšetřování CK, izoform CK a izoenzymů CK. Přes nesporný přínos těchto vyšetření nebylo pochyb, že jejich značným nedostatkem je nevyhovující diagnostická kardiospecifita, která je mj. prakticky vylučovala z diagnostiky malých ložiskových lézí a difuzního poškození myokardu. S očekáváním byly proto přijímány první zprávy o využití troponinů, kontraktilních bílkovin myocytu, v srdeční diagnostice (Cummins a spol.1987, Katus a spol.1989).

Již první studie přesvědčivě prokázaly:

1. jejich vysokou - do té doby nedosažitelnou - kardiospecifitu,
2. klinicky velmi výhodné přetrvávání zvýšených hodnot (delší tzv. „diagnostické okno“),
3. při jejich relativně vysoké koncentraci v myokardu a prakticky nulových hodnotách v plazmě zdravých osob vysokou diagnostickou rozlišovací schopnost spojenou s možností diagnostiky malých a difuzních poškození myokardu.

Ale již v r.1994 popsali Hafner a spol. časté zvýšení cTnT u nemocných v chronické renální insuficienci bez průkazných známek poškození myokardu a bez vztahu ke stupni a vývoji renálního onemocnění, v r.1992 popsali Kobayashi a spol. velmi časté zvýšení cTnT u dystrofických a zánehtlivých svalových onemocnění. Zvýšené hodnoty cTnT byly popisovány také u rozsáhlých rhabdomyelys kosterního svalstva (určitá část těchto nálezů však asi byla podmíněna částečnou zkříženou reaktivitou metod první generace). Příčina těchto nespecifických změn cTnT není dosud s úplnou jistotou vysvětlena, všeobecně se však dnes předpokládá, že jsou důsledkem re-exprese fetální syntézy cTnT v kosterním svalstvu, ke které dochází při degenerativních a regenerativních

změnách u zmíněných svalových onemocnění (Bodor a spol.1997); u CHRI byly změny cTnT připisovány analogickým změnám ve svalecth při vývoji uremické myopathie.



Paralelní studie přitom přesvědčivě prokázaly nepochybně větší, téměř 100% kardiospecifitu cTnI, který se ve všech výše uvedených případech nezvyšoval a ani histochemicky nebyly v kosterním svalstvu prokázány známky jeho syntézy (Bodor a spol. 1995). Vše tedy svědčilo ve prospěch cTnI.

Určité zpochybnění takového názoru však vyvolaly studie průběhu změn cTnT a cTnI u jednotlivých nemocných, především při akutním infarktu myokardu (u nás např. Friedecký a spol. 1998). Ukázalo se, že změny obou troponinů neprobíhají u jednotlivých nemocných vždy paralelně, ale často individuálně odlišně. Jejich velmi pravděpodobnou příčinou je skutečnost, že oba troponiny jsou z poškozeného myokardu uvolňovány v různých molekulárních formách a v krevním oběhu podléhají chemickým změnám a fragmentaci.

Volný troponin T, který tvoří hlavní podíl celkového uvolňovaného troponinu T a troponin T v komplexech (ternární komplex s troponinem C a I a binární komplex s troponinem I) se, při použití analytického postupu Roche-Boehringer, neliší svou imunoreaktivitou a reagují ekvimolárně. Troponin I se uvolňuje téměř výlučně v binárním komplexu s troponinem C, v němž těsná vazba obou složek významně „blokuje“ většinu epitopů v N a C terminálních částech troponinu I a významně snižuje jeho imunoreaktivitu při použití cca 50 % současně dostupných analytických souprav různých výrobců. V prvních dvou až třech dnech pak dochází k individuálně odlišnému uvolňování volného troponinu I, v dalších dnech se ale znovu zvyšuje podíl troponinu I v binárním komplexu s troponinem C (Wu a spol. 1998, Katrukha a spol. 1998). Jak komplexy, tak i volné formy obou troponinů podléhají v oběhu posttranslačním změnám (proteolýza, oxidace, redukce, fosforylace),

kteře dále snižují jejich imunoreaktivitu. Postihují totiž nejvíce „periferní“ části obou troponinů, kde je soustředěno nejvíce epitopů, troponin I je přitom významně méně stabilní než troponin T.

Předpokladem správného stanovení cTn je proto analýza s použitím takových protilátek, které reagují s epitopy ve střední, relativně stabilní a odolné části molekuly, a to bez ohledu na vazbu s jinými troponiny, tj. jak v komplexech, tak s volnými formami troponinů. Takové protilátky již sice byly připraveny (Katrukha a spol. 1998), avšak v současně nabízených setech ke stanovení cTnI nejsou použity. Naopak ke stanovení cTnT byly od počátku - nevím, zda to nebylo šťastnou shodou okolností - použity protilátky proti epitopům v centrální, v komplexech neblokované a při dekompozici nejstabilnější části jeho molekuly. Velmi účinná a celosvětová patentová ochrana, vhodná protilátka proti ideálním epitopům a neměnný kalibrační materiál jsou příčinou standardizace stanovení troponinu T „a priori“ a monopolní, uniformní produkce souprav.

V současné době existuje více (nejméně osm, pravděpodobně podstatně více) producentů souprav ke stanovení troponinu I, kteří používají různé protilátky se zaměřením na „periferní“, N (pro troponin I absolutně specifické) a C terminální „zranitelné“ epitopy troponinu I.

Výsledkem je vzájemná nesrovnatelnost stanovení troponinu I (Chemistry Survey of the College of American Pathologists, 1997), různé rozhodovací hodnoty (horní mez referenčních hodnot, rozsah diagnostiky nespolehlivé „šedé zóny“, cut-off hodnota pro jednotlivá onemocnění aj).

Otázka tedy není, zda cTnT nebo cTnI, ale, zda jedno standardizované stanovení cTnT a/nebo různá stanovení cTnI (ale i rozhodovací hodnoty, klinické zkušenosti aj.). Na jedné straně je analyticky podstatně dokonalejší, robustnější, standardizovaný a sronávatelný cTnT, pro svou omezenou kardiospecifitu ale nepoužitel-

ný především u degenerativních onemocnění kosterního svalstva (s relativně častým současným postižením myokardu), s rezervou u nemocných v CHRI (některé recentní studie však prokazují, že až 90% zvýšených hodnot cTnT je u těchto nemocných skutečně projevem postižení myokardu (Muller-Bardorf a spol. 1998, Haller a spol. 1998). Na druhé straně je několik vzájemně obtížně srovnatelných analytických postupů stanovení cTnI s nepochybně vyšší kardiospecifitou ale s rozdílnou stanovitelností měnlivých forem cTnI v průběhu onemocnění.

V doporučení American Academy of Clinical Biochemistry z r. 1998 se uvádí :

1. stanovení CK (včetně CK-MB) přestává být „standardem“ při biochemické diagnostice akutního infarktu myokardu

2. má být nahrazeno dvojicí markerů:

a) rychlého s přípustnou nižší kardiospecifitou; v současné době je to myoglobin, perspektivně případně některý z novějších, dosud dostatečně neověřených markerů (HFABT ? aj.)

b) definitivního s vysokou kardiospecifitou a dlouhým „diagnostickým oknem“. Tím jsou troponiny T nebo I. Domnívám se, že v současné době je to cTnT; po vyřešení standardizace analytického postupu (primární kalibrační materiál např. na bázi peptidu a použití protilátek nezávislých na formách posttranslačních změn molekuly cTn v oběhu) by to měl být kardiospecifičtější cTnI.

V jaké míře a jak rychle budou současní producenti souprav ke stanovení troponinu I takové kroky realizovat, je ovšem další otázka. Bez ohledu na uváděné skutečnosti jsou všechna komerčně u nás nabízená stanovení jak cTnT, tak cTnI i při svých nedostatcích nesporným pokrokem a přínosem a oprávněnou postupnou náhradou stanovení CK.

(Literatura u autora)



Doporučení zásad vyšetření a volby markerů u akutního infarktu myokardu .

Kreatinkinasa MB byla dosud „zlatým“ standardem laboratorní diagnostiky akutního infarktu myokardu (AIM). Její roli významně mění objev, charakteristika a klinická aplikace srdečních troponinů T (cTnT) a troponinů I (cTnI). Mění se klinická praxe navíc vyžaduje rychlejší dostupnost výsledků vyšetření. National Academy of Clinical Biochemistry připravila následující doporučení zásad vyšetření a volby markerů u AIM :

1. *Novým standardem průkazu poškození srdečního myocytu a náhradou CK-MB se stává srdeční troponin (T nebo I). V diagnostice srdečních onemocnění již nemá nadále význam stanovení laktátdehydrogenázy a jejich isoenzymů.*

2. *V klinických studiích nových markerů platí pro stanovení diagnózy AIM i nadále kritéria WHO, jako hlavní marker má ale být používán cTn (T nebo I). Používání jen CK-MB bez cTn může správnost závěrů snížit.*

3. *Rychlá stanovení srdečních markerů má laboratoř provádět v nepřetržitém provozním režimu s nezávislou dostupností jednotlivých vyšetření a v době kratší než 1 hodina (tj. od odběru krve do doby sdělení výsledku).*

4. *Pro rychlá stanovení srdečních markerů je nejvhodnější heparinovaná plasma nebo plná krev.*

5. *Pracoviště, která nemohou trvale zajistit dostupnost srdečních markerů do 1 hodiny by měla zvážit zajištění alternativních metod vyšetření (point of care, POC).*

6. *Pracovníci laboratoře se musí podílet na výběru prostředků POC, na záchviku jednotlivých pracovníků v provádění analýs, údržbě techniky POC, pravidelném sledování účinnosti systému a dokumentaci kontroly vhodnými externími orgány.*

7. *Stanovení srdečních markerů musí být provedeno do 30 minut, přesnost stanovení pro hodnotu cut-off pro AIM musí být menší než 10%. Vyšetření musí být doplněna charakteristikou možných interferencí.*

Literatura: Wu, A., Apple, F.S., Gibler, W.B., Jesse, R.L., Valdes, R., Jr., Warshaw, M.: Clin. Chem. 44, 6, Suppl., str. S 72, 1998.