

Stanovení biochemických markerů akutního koronárního syndromu v roce 2008

Friedecký B.¹, Kratochvíla J.²

¹Ústav klinické biochemie a diagnostiky LF UK a FN Hradec Králové

²SEKK s. r. o., Pardubice

SOUHRN

Autor podává přehledné sdělení o stavu analýz biochemických markerů akutního koronárního syndromu ke konci roku 2008. Pojednává o úrovni standardizace, hodnotách rozhodovacích limitů (cut-off) a o stavu přesnosti výsledků měření. Hlavním vývojovým trendem je používání neustále senzitivnějších metod. To vede k významnému snižování hodnot mezi detekce a následně i hodnot cut-off. Přetrvávajícím nedostatkem je nesrovnatelnost výsledků a jejich enormní závislost na použité metodě. Hlavní příčinou je nedostatečná definice analytů a rozdílnost reagenčních protilátek použitých u různých metod. Z toho plyne i neefektivnost použití primárního referenčního materiálu NIST-SRM 2921. Důsledkem je různá klinická výpovědní hodnota při diagnóze a hodnocení prognózy stavu nemocných při použití různých metod stanovení. *Klíčová slova:* cTnT, cTnI, cut-off, standardizace.

SUMMARY

Friedecký B, Kratochvíla J.: Determination of biochemical markers for acute coronary syndrome in 2008

This minireview presents the recent state in measuring the biochemical markers for diagnosis and prognosis of acute coronary syndrome in 2008 year. The communication is based on the literature from 2008–2009. The described items include the level of standardization, cut-off values and precision of measurement particularly at cut-off values. Development of more sensitive methods with lower limit of detection and lower cut-off values is typical at present. Despite continued development strong non comparability of results reached by different methods remains. Poor definition of analytes and use of different reagent antibodies could be the main reasons of this situation. Different decision-making in different methods consequently follows.

Key words: cTnT, cTnI, cut off, standardization.

Úvod

Publikované sdělení shrnuje stav analytiky biochemických markerů akutního koronárního syndromu v současnosti ke konci roku 2008. Účelem publikace je poskytnutí aktuálních informací klinickým laboratořím a případně inspirace k inovaci příslušného doporučení České společnosti klinické biochemie ČLS JEP.

Diagnostické rozhodovací limity a relevantní analyty

Všechna soudobá doporučení o diagnóze akutního koronárního syndromu se již jednoznačně opírají pouze o troponiny jako biochemické markery. Stejně jednoznačné je definování hodnoty diagnostického rozhodovacího limitu (cut-off) jako 99. percentilu referenční populace bez přítomnosti akutního koronárního syndromu. Předchozí řešení, které dovoľovalo volit jako cut-off nejnižší hodnotu, při níž je dosaženo přesnosti CV % < 10,0, je sporné, protože vede k možnosti ustanovit pro různé laboratoře řadu různých hodnot cut-off podle jejich analytických možností a schopností. Situaci je nutné řešit zásadněji zvýšením analytické senzitivity metod. Poskytování dalších, jinak než jako 99. percentil definovaných hodnot cut-off výrobcí, není vhodné, i když je doposud obvyklé. Vede k redundanci

dat, ke komunikačním problémům mezi laboratořemi a kliniky a k interpretačním obtížím [1].

Určitou úroveň regionální verifikace hodnot cut-off, poskytovaných výrobcí, je vhodné doporučit k potvrzení jejich platností v tomto regionu a jeho klinických laboratořích. Avšak požadavek výrobců stanovit si vlastní hodnoty cut-off na své vlastní referenční populaci není reálný. K doposud často diskutovanému problému, zda není v určitých klinických situacích vhodnější stanovení CK MB (mass), je vhodné citovat práci reprezentující současný názor kardiologů, že troponiny poskytují dokonce lepší diagnostiku reinfarktu, než CK-MB mass [2].

Standardizace

Výkonnostní parametry analytických metod stanovení troponinů se neustále mění. Zejména roste jejich analytická senzitivita a úměrně k tomu klesají hodnoty meze detekce a také hodnoty cut-off.

Aktualizaci analytických charakteristik současných 14 metod, dostupných pro automatické analyzátoře, provedla Tateová [3]. Třináct metod se týkalo stanovení cTnI a jedna (Roche) cTnT [3]. Hodnoty cut-off, udávané výrobcí jako nejnižší koncentrace cTn, které lze stanovit s přesností CV % ≤ 10,0, se pohybují v intervalu 0,03–0,16 µg/l.

Pokud vezmeme v úvahu i metodu ultrasenzitivního cTnT Roche, právě v této době uváděnou na trh, sníží se dolní hranice výše uvedeného intervalu na 0,013 µg/l.

Údaje výrobců nepředstavují obvykle 99. percentil, ale již zmíněnou alternativní variantu nejnižší koncentrace stanovitelné s CV pod 10 %. Průměrná přesnost hodnot, udávaných výrobcí jako cut-off, se však v rutinní laboratoři namísto požadovaných a udávaných 10 % pohybuje kolem 20 %. Kritický význam hodnot cut-off implikuje nutnost používat kontrolní vzorky o koncentraci blízké hodnotám cut-off. Lze říci, že analytická citlivost a následně i přesnost měření troponinů stále zaostávají za požadavky na ně kladené.

Velmi výrazný je trend k produkci analyticky citlivějších metod. Ten by mohl být zúročen ke snížení hodnot meze detekce a cut-off ještě o 2–3 řády a také ke spolehlivějšímu dosažení požadované hodnoty přesnosti pod 10 %. Experimenty se stanovením cTnI vysoce citlivou metodou kapilární chromatografie a tandemové hmotnostní spektrometrie s využitím kapilárního toku [4] ukázaly, že mez detekce je mnohem nižší, než jsou schopny produkovat dosavadní imunochemické metody posledních generací. V uvedené práci bylo dosaženo hodnoty meze detekce cTnI 1,7 ng/l [4].

Hlavním problémem stanovení troponinů [5] je skutečnost, že v analyzovaných vzorcích se vyskytuje heterogenní směs rozdílných molekul [5]. Není tedy definován řádně předmět měření tak, jak to vyžadují metrologická pravidla [6]. V zásadě se pak nejedná o měření troponinu, ale oblasti jeho molekuly vymezené použitými záchytnými reagenčními protilátkami (obvykle jednou nebo dvěma).

Použité reagenční protilátky by měly být orientovány na stabilní části cTn nacházející se ve středu makromolekuly, protože nejméně stabilní (proteolýzou štěpené) jsou C a N konce troponinů. Ze 14 metod hodnocených v práci Tateové [13] se nenašel ani jediný pár metod s totožnými protilátkami. Pět metod nemělo v dokumentaci specifikaci protilátky vůči epitopům uvedenu vůbec, ačkoliv je tento požadavek součástí mezinárodních doporučení. Pregnantním projevem nesrovnatelnosti výsledků vlivem nerealizované standardizace jsou právě odlišné hodnoty cut-off u různých metod.

Primární referenční materiál pro cTnI NIST-SRM 2921 je sice dostupný, ale nemá patřičnou schopnost harmonizovat výsledky různých metod, je-li použit k jejich recalibraci. Příčinou je již uvedená nedostačná definice analytu.

Pracovní komise IFCC publikovala svou představu o dalším průběhu standardizace následovně:

- vývoj referenční metody s použitím protilátek orientovaných k epitopům vymezujícím nejstabilnější část cTnI;
- kalibrace této metody na NIST-SRM 2921;
- následné odvození sekundárních referenčních materiálů;
- použití těchto sekundárních materiálů k odvození hodnot pracovních kalibrátorů.

Jde v podstatě jako vždy u řádné standardizace o ustanovení referenčního systému, sestávajícího z primárního referenčního materiálu a referenční metody měření, z něhož je možno odvodit porovnáním hodnoty pracovních kalibrátorů. Tedy o ustanovení měření s realizovanou metrologickou návazností a z toho plynoucí srovnatelností.

Analytická senzitivita a klinické důsledky nesrovnatelnosti metod

Současným trendem ve vývoji metod [7] je neustálé snižování meze detekce a s tím související zvyšování analytické citlivosti a snižování hodnot 99. percentilu [7]. V současnosti se hodnoty 99. percentilu pohybují již řádově v setinách µg/l a v případě poslední generace cTnT dokonce v ng/l. Snaha o zvýšení citlivosti je klinicky oprávněná, neboť vede ke zlepšování diagnostiky a prognózy stavu pacientů. Současně však otvírá řadu nových otázek a problémů v interpretaci. V budoucnu lze očekávat ještě další pokles meze detekce až o dva řády [4].

Nesrovnatelnost metod stanovení cTn má za následek různou schopnost detekce akutního koronárního syndromu. Při použití stejného souboru 100 pacientů se výsledky nad hodnotu 99. percentilu, detekující akutní koronární syndrom, pohybovaly u osmi různých metod v intervalu 54–78 [8].

Experimentálně zjištěné hodnoty 99. percentilů, získané u 17 metod 14 různými autorskými kolektivy, ukazují až dvojnásobné rozdíly [3] a evokují otázku vlivu výběru referenčních populací [8].

Při použití poslední (ultrasenzitivní) generace metody Access Beckman zjistili autoři významné diference v hodnotách cut-off při použití dvou různých referenčních populací [9]. Byla zjištěna závislost na přítomnosti akutního koronárního syndromu v anamnéze příslušníků referenční populace a také na pohlaví (u mužů byly zjištěny vyšší výsledky než u žen).

Další autorský kolektiv sledoval klinickou senzitivitu a prognózu pacientů (počet přežití nemocných jedinců do doby 1 roku) dvěma moderními ultrasenzitivními metodami Access Beckman a Ultra Centaur Siemens a zjistil významné rozdíly v klinické interpretaci mezi nimi [10].

Biologické variace

Krátkodobé a dlouhodobé biologické variace cTnI sledovali a vyhodnotili s použitím metody Centaur Advia Siemens Ultra cTnI američtí autoři [11]. Krátkodobé variace byly hodnoceny v intervalu 0–4 hodin, dlouhodobé v intervalu 0–8 týdnů. Vybraná populace se skládala se stejného počtu mužů a žen s nepřítomností srdečního onemocnění a s hladinami eGFR a BNP nad (eGFR) nebo pod (BNP) hodnoty cut-off zdravé populace.

Hodnota intraindividuální biologické variace CVi (%) byla za při krátkodobém měření 9,7 a při dlouhodobém sledování 14,0. Odpovídající hodnoty kritických diferencí mezi dvěma následnými měřeními jsou -32 až 46 % při krátkodobém sledování a -45 až 81 % při sledování dlouhodobém. V obou případech byly hodnoty indexu individuality hluboko pod hodnotu 1,0 (0,21 krátkodobě a 0,39 dlouhodobě). Tyto hodnoty indikují větší výpovědní hodnotu sledování změn cTnI v čase než srovnání výsledku s hodnotou cut-off. Biologické variace cTnI jsou nižší než u jiných kardiálních markerů (CRP, SAA, myeloperoxidáza, BNP, NTproBNP).

Sledování kardiálních markerů v praxi evropských klinických laboratoří

Příslušný dotazník pracovní komise EFCC byl rozeslán v květnu 2006. Osloveno bylo 980 laboratoří, ale pouze 220 odpovědělo [12]. Z toho bylo 95 % laboratoří zdravotnických zařízení s 24hodinovým provozem. Doba odezvy do 60 minut byla dodržena jen v 49,5 % případů, šlo-li o „rutinní“ vyšetření, a v 88,3 % případů, bylo-li vyšetření požadováno urgentně. 51 % účastníků stanovovalo cTnT, 49 % pak cTnI. 34 % respondentů vyšetřovalo ještě CK-MB (mass). To bylo více než četnost vyšetření natriuretických peptidů, kde převládalo stanovení NT pro BNP (32 %) nad BNP (19 %). 21 % účastníků se neúčastnilo v plném rozsahu programů EHK, zejména pak programů pro sledování způsobilosti natriuretických peptidů. Více než 90 % účastníků používalo hodnot cut-off poskytnutých výrobcem.

Závěr

Analytická data metod stanovení troponinů se neustále mění. Zvyšuje se analytická senzitivita metod, a to často v řádových dimenzích. Následně se naopak snižují hodnoty diagnostických rozhodovacích limitů. Proces není zdaleka uzavřený a je možné v budoucnu očekávat změny v analytické senzitivitě a následně v hodnotách mezí detekce a rozhodovacích limitů až o další dva řády. Stanovení cTnI není standardizované, přestože primární referenční materiál je k dispozici.

Literatura

1. **Jaffe, A. S.** The clinical impact of the universal diagnosis of myocardial infarction. *Clin. Chem. Lab. Med.*, 2008, 46, 11, p. 1485–1486.
2. **Thygesen, T., Alpert, J. S., White, H. D.** Joint ESC/ACCF/AHA WHF Task force for the redefinition of myocardial infarction. Universal definition of myocardial infarction. *Eur. Heart J.*, 2007, 28, p. 2525–2538; *Circulation*, 2007, 116, p. 2634–2653; *J. Am. Coll. Cardiol.*, 2007, 50, p. 2173–2195.
3. **Tate, J. R.** Troponin revisited 2008: assay performance. *Clin. Chem. Lab. Med.*, 2008, 46, 11, p. 1489–1500.
4. **Wu, A. H., Fukushima, N., Puskas, R. et al.** Development and preliminary clinical validation of a high sensitivity assay for cardiac troponin using a capillary flow (single molecule) fluorescence detector. *Clin. Chem.*, 2006, 52, p. 2157–2159.
5. **Panteghini, M., Bunk, D. M., Christenson, R. A. et al.** Standardization of troponin I measurements: an update. *Clin. Chem. Lab. Med.*, 2008, 46, 11, p. 1501–1506.
6. ISO/IEC Guide 99:2007. International vocabulary of metrology – basic and general concepts and associated terms (VIM). Dostupné na WWW: <http://www.bipm.org>
7. **Morrow, D. A., Antman, E. M.** Evaluation of high-sensitivity assays for cardiac troponin. *Clin. Chem.*, 2009, 55, 1, p. 5–8.
8. **Tate, J. R., Ferguson, W., Bais, R. et al.** The determination of 99 percentile level for troponin assays in an Australian reference population. *Ann. Clin. Biochem.*, 2008, 45, p. 275–288.
9. **Eggers, K. M., Jaffe, A. S., Lind, L. et al.** Value of cardiac troponin I cut-off concentrations below 99th percentile for clinician decision-making. *Clin. Chem.*, 2009, 55, 1, p. 85–92.
10. **Venge, P., James, S., Lindahl, B.** Clinical performance of two highly sensitive cardiac troponin I assays. *Clin. Chem.*, 2009, 55, 1, p. 109–116.
11. **Wu, A. H., Lu, Q. A., Todd, J. et al.** Short and long term biological variation in cardiac troponin I measured with a high sensitivity assay: implication for clinical practice. *Clin. Chem.*, 2009, 55, 1, p. 52–58.
12. **Pulkki, K., Surivissari, J., Collinson, P. 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, 2, doi 101515. CCLM. 2009. 044

Práce byla podpořena výzkumným záměrem MZO 00179906.

Do redakce došlo 6. 1. 2009.

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