

Diagnostyka laboratoryjna w chorobach serca

Od dłuższego czasu laboratorium dysponuje niezawodnymi markerami pozwalającymi na dokładne wykrycie chorób serca.

Dotychczasowa diagnostyka laboratoryjna przy pierwotnych lub wtórnych chorobach serca opierała się na analizach morfologii krwi, stężenia elektrolitów i enzymów, takich jak CK (kinaza kreatynowa) oraz LDH (dehydrogenaza mleczanowa) i jej **izoenzym** α -HBDH (α -dehydrogenaza beta-hydroksymaślanowa).

Więc jeśli po 4-8 godzin od doznanych urazów bądź przypadków niedokrwienia mięśnia sercowego aktywność **CK** przekroczy zakres tolerancji, wraca ona do normy już po 2-3 dniach. CK jest czułym markerem przez krótki okres, nie wykazuje on jednak dużej dokładności w przypadku urazów mięśnia sercowego, ponieważ podwyższone parametry występują również w przypadku chorób mięśni szkieletowych, wysiłku fizycznego, cukrzycy, zastrzyków domięśniowych i hemolizy. Podobna niepewność diagnostyczna pojawia się przy podwyższonych wartościach **LDH**. Już niewielka hemoliza próbki może fałszywie wskazywać wysokie parametry. Wskazówką do stwierdzenia urazów mięśnia sercowego może być nieproporcjonalne podwyższenie **α -HBDH** w stosunku do LDZ (LDH: α -HBDH – normalnie ok. 2:1).

Oznaczenia **pro-ANP** i **troponiny I** umożliwiają natomiast bardzo dokładne wykrycie zmian spowodowanych zakłóceniami pracy serca lub uszkodzeniem komórek w mięśniu sercowym. Pozwalają one również w sporadycznych przypadkach na prognozy dotyczące skutków terapii. Ostatnio możliwe stało się również badanie **Nt-pro BNP** u psów. Jest to popularny marker w zakresie badań u ludzi.

PRZEDSIONKOWY PEPTYD NATRIURETYCZNY (ANP – ATRIAL NATRIURETIC PEPTID)

ANP jest hormonem peptydowym składającym się u psów z 28 aminokwasów. Jest on syntetyzowany, magazynowa-

ny i uwalniany przede wszystkim przez ściany przedsionków serca, w mniejszym stężeniu również w komorach i mózgu. ANP istnieje w formie **pro-ANP** w otoczonych płaszczem białkowym pęcherzykach transportujących, które reagując na określone bodźce, wędrują na powierzchnię komórek, rozpadają się na α -ANP i niezablokowaną grupę aminową, a następnie w równocząsteczkowych ilościach przedostają się do krwi.

ANP powoduje spadek wydzielania reniny, syntezę aldosteronu i dystrybucję argininowazopresyny, aż do wydzielania sodu i wody, i tym samym poprzez redukcję cyrkulującej objętości do spadku ciśnienia tętniczego, a co za tym idzie, odciążenia serca.

Znanymi bodźcami powodującymi wydzielanie ANP są zwiększone rozszerzenie przedsionka, spowodowane np. przez przewodnienie, nadciśnienie tętnicze lub niewydolność serca i podwyższone tętno.

Oprócz przedstawionego już wydzielania ANP dowiedziono również pochodzenia ANP z centralnego układu nerwowego, przede wszystkim w obszarze podwzgórza, pnia mózgu i struktur okołokomorowych. ANP jest markerem, którego koncentracja we krwi pozwala na określenie fizjologicznie i patologicznie zmienionych relacji ciśnienia w przedsionkach. Wysokie i podwyższone stężenie ANP w osoczu występuje przy niewydolności serca spowodowanej nieprawidłowym przepływem krwi, niedomykalności zastawki dwudzielnej, niewydolności nerek i dirofilariozie.

Stężenie w osoczu koreluje bezpośrednio z ciężką niewydolnością serca. U psów z niewydolnością serca spowodowaną nieprawidłowym przepływem krwi wartości zwiększone są do sześciu razy, u pacjentów z niewydolnością nerek stężenie może osiągnąć podwójną górną wartość tolerancji. ANP wskazuje już delikatnie zmienione stany ciśnienia w sercu i dzięki temu może stać się po-

mocnym wskaźnikiem przy innych działaniach diagnostycznych, jak i markerem służącym do wczesnego wykrywania niewydolności serca.

Analogicznie jak w przypadku badań u ludzi, testy na zwierzętach wskazały, że wysokie stężenie ANP w osoczu może mieć związek z umieralnością. W przypadku zwierząt z niezmiernie wysokim ANP nie ma dobrych prognoz. Stężenie ANP w osoczu, którego wartość leży w zakresie referencyjnym, nie wskazuje na podwyższone ciśnienie w przedsionkach. Badania wykazują, że zarówno w przypadku psów zdrowych, jak i pacjentów bez objawów niewydolności serca oraz u psów z kaszlem jako objawem pierwotnym, nie obserwuje się podwyższonego stężenia ANP. ▶



▶ Na podstawie wyników przeprowadzonych przez nas ostatnio badań próbek osocza (n = 390), dokonano następującego podziału: brak podwyższonego stężenia ANP został zanotowany u 166 zwierząt, w przedziale 1350-1700 fmol/ml znalazło się 36 próbek, a u 188 psów stwierdzono stężenie ANP powyżej 1700 fmol/ml. Są to wyniki świadczące o podwyższonym ciśnieniu tętniczym w momencie pobierania próbki.

W ponad 90% przypadków można ustalić dalszą terapię. Po pierwsze, psy, u których poziom stężenia ANP w osoczu leży w zakresie referencyjnym, należy poddać szerszej analizie klinicznej, ponieważ niewydolność serca może z wysokim prawdopodobieństwem zo-

stać wykluczona jako przyczyna duszności. Po drugie, kliniczny stan psów, u których stężenie ANP leży powyżej progu czułości, może zostać zweryfikowany. Powtórne badanie stężenia ANP w osoczu może pomóc zweryfikować również efekty terapii u pacjentów leczonych farmakologicznie, przez co łatwiej określić dalsze prognozy.

Zbadany został biologicznie nieaktywny pro-ANP z osocza EDTA, które bezpośrednio po pobraniu próbki zostało oddzielone od części komórkowych, przetransportowane w niskiej temperaturze i zbadane w laboratorium za pomocą ELISA (rys. 1).

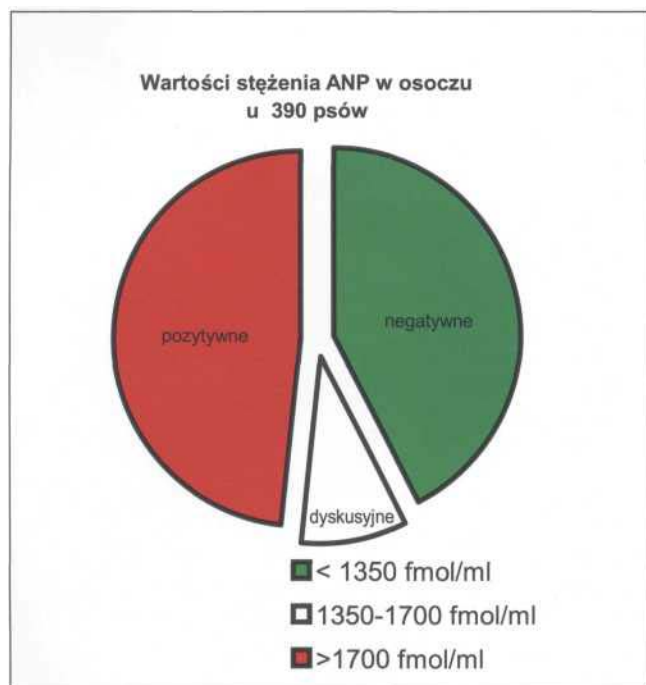
MÓZGOWY PEPTYD NATRIURETYCZNY (BNP - BRAIN NATRIURETIC PEPTID)

BNP jest kolejnym peptydem natriuretycznym, który początkowo izolowany był z mózgu świń. Następne badania *in vitro* wykazały, że głównym źródłem syntezy i wydzielania BNP pochodzenia kardjologicznego jest u ludzi komora, natomiast u psów przedsionek. Pewne komórki mioendokryne przedsionka serca syntetyzują zarówno ANP, jak i BNP. W przeciwieństwie do ANP, BNP nie jest magazynowany, lecz wydzielany zaraz po wytworzeniu. Fizjologicznym bodźcem powodującym syntezę oraz wydzielanie, następujące w przeciągu dwóch minut, jest zwiększone napięcie ścian. BNP odgrywa ważną rolę przy homeostazie sodu i ciśnienia tętniczego. Biologiczne działanie BNP wyrównuje działanie ANP. Mimo ewolucji BNP do ANP, odmienna

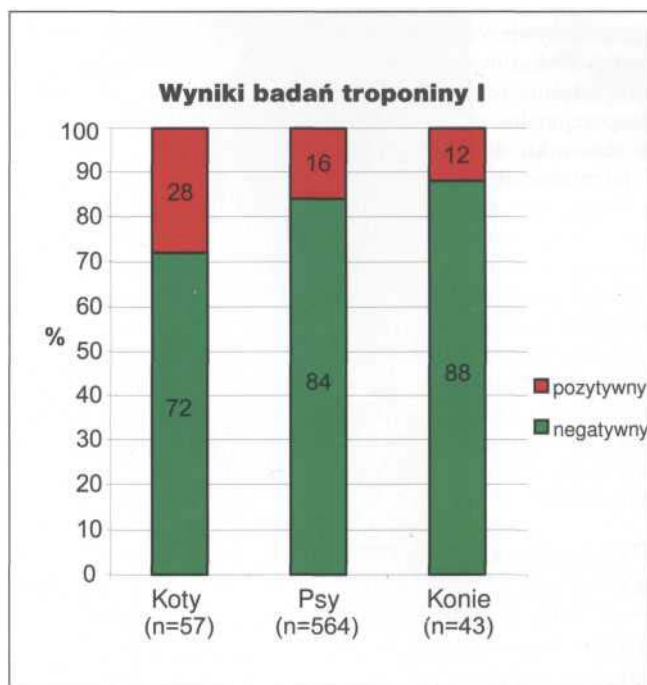
ekspresja genu i odmienny metabolizm wskazują na oddzielną rolę BNP.

BNP jest markerem, którego zwiększone stężenie w osoczu może wskazywać na zawały serca, tachykardię nadkomorową, nadciśnienie tętnicze krwi (hipertonię), zbyt dużą objętość komór i kardiomiopatię przerostową. Szczególnie w przypadku kardiomiopatii przerostowej wydzielanie BNP wydaje się być znacznie zwiększone w stosunku do wydzielania ANP (BNP/ANP > 2:1), również gdy ciśnienie wewnątrz komór nie jest podwyższone i komory nie wykazują zbyt dużej objętości. Badania przeprowadzone u psa wskazują, że stężenie BNP w osoczu jest związane ze stopniem dekompenсации chorób serca, a także w niewielkim stopniu z wielkością lewego przedsionka. O 44% wzrasta także śmiertelność w kolejnych czterech miesiącach, przy stale podwyższonym stężeniu BNP. Stężenie BNP wzrasta również przy marskości wątroby. Istnieje również związek pomiędzy BNP a markerami funkcji wątroby (δ -GT, LDH, bilirubiną całkowitą), odnośnie nerek nie wykryto związku pomiędzy ich ograniczoną funkcją a zwiększonym wydzielaniem BNP.

W zakresie badań przeprowadzonych u ludzi, określanie stężenia BNP jako markera laboratoryjnego stało się popularne za sprawą jego dużej czułości na różnicowane choroby serca. Obecnie badany jest peptyd natriuretyczny Nt-pro BNP, ponieważ BNP wykazuje bardzo krótki czas połowicznego rozpadu w surowicy. Używanym materiałem badawczym jest surowica lub osocze. Uzyskiwanie próbek następuje w taki sam



Rys. 1. Relatywny podział wyników pro-ANP



Rys. 2. Relatywny podział wyników badań troponiny I u kotów, psów i koni (n=664)

sposób, jak w przypadku wyżej przedstawionego stężenia ANP. Specyfika gatunku przy ustalaniu stężenia BNP odgrywa znacznie mniejszą rolę niż w przypadku ANP, tak że badanie na stężenie BNP u innych gatunków zwierząt będzie możliwe w niedalekiej przyszłości.

TROPONINY

Troponiny to proteiny wiążące jony wapnia (Ca^{++}), które są obecne we wszystkich komórkach mięśni poprzecznie prążkowanych. Troponiny C, I oraz T wchodzi w skład struktury kompleksu troponiny. Troponina łączy się głównie ze strukturami aktyny i miozyny, i tylko w niewielkiej części swobodnie znajduje się w cytoplazmie. Troponiny miokardialna i szkieletowa I i T różnią się ze względu na strukturę.

Poprzez specyficzne miejsce wiązania jonów wapnia Ca^{++} zmienia się konformacja troponiny. Tropomiozyna, która w stanie spoczynku oddziela aktynę od miozyny, zostaje wciśnięta do rowka aktynowego. Następuje odsłonięcie aktywnego obszaru miozyny i aktyny. Miozyna i aktyna reagują ze sobą, tworząc labilny kompleks aktyno-miozyny. Fizjologicznie w surowicy nie ma takiej ilości troponiny pochodzenia kardiologicznego, którą można by zbadać, bądź jest jej bardzo mało.

Podwyższenie stężenia troponiny w surowicy następuje w wyniku uszkodzenia mięśnia sercowego. Od 3 do 8 godzin po urazie niepowodującym obumarcia komórek obserwuje się jednofazowy wzrost stężenia, spowodowany uwolnieniem troponiny z komórki. Ciężkie uszkodze-

nie mięśnia sercowego, na skutek których w przeciągu 2 do 6 dni następuje obumarcie komórek, powoduje dalszy znaczny wzrost stężenia, spowodowanego wypuszczeniem troponiny z kompleksu aktyno-miozynowego. Wzrost stężenia przedstawiony w drugim przypadku może się utrzymać przez wiele dni.

Troponina jest markerem nadającym się do przeprowadzenia natychmiastowej diagnostyki. Czas połowicznego rozpadu surowicy wynosi ok. 2 godzin. Rozpad następuje przede wszystkim w wątrobie, trzustce i układzie retikuloendotelialnym. Dawne i zaleczone urazy nie wyróżniają się już podwyższonym stężeniem troponiny w surowicy. Uszkodzenie komórek serca, ischemia i obumarcie komórek wskutek przebytego zawału, urazu psychicznego, kardiomiopatia rozstrzeniowa lub urazowa, zapalenie mięśnia sercowego, zabiegi odtruwające i choroby osierdzia powodują podwyższenie stężenia troponiny w osoczu. Wartość tego parametru jest przy tym zależna od stopnia uszkodzenia mięśnia sercowego. Koty cierpiące na kardiomiopatię przerostową wykazują stale podwyższone stężenie, co wskazuje, że mięsień wciąż ulega uszkodzeniu.

Badania przeprowadzone w Południowej Afryce wykazały, że seryjne testy na stężenie troponiny, wykonane w ramach rozpoznania ciężkiego przypadku babeszjozy, stanowiły niezawodną kontrolę przebiegu choroby i efektu terapii. Ujęte tu zostały stany hipoksyczne mięśnia sercowego, wywołane procesami zapalnymi, skrzepami fibrynowymi, powstałymi w wyniku działania plazmidy, oraz ischemią.

Następnie dokonano oceny wyników badań stężenia troponiny I, wykonanych w ostatnim półroczu (n=664). 564 (85%) próbek pochodziło od psów, 57 (8,6%) od kotów i 43 (6,4%) od koni.

Podwyższone stężenie troponiny zanotowano w 28% surowic pochodzących od psów (próg czułości 0,6 ng/ml), w 16% surowic pochodzących od kotów (próg czułości 0,5 ng/ml) i w 12% surowic pochodzących od koni (próg czułości 0,35 ng/ml), (rys. 2).

Ocena wyników, z uwzględnieniem obrazu klinicznego, nie była możliwa, ze względu na częsty brak danych z wywiadu (np. nagłe postępowanie lub badanie kontrolne).

Dla przykładu u trzech koni z podwyższonym stężeniem troponiny I w surowicy, przeprowadzono również badanie na stężenie CK (kinazy kreatynowej), i LDH (dehydrogenazy mleczanowej). We wszystkich trzech przypadkach stężenie LDH jest podwyższone mniej niż dwa razy, a stężenie CK w niewielkim stopniu. W takich przypadkach określenie stężenia troponiny jest znacznie skuteczniejsze niż badanie stężeń CK i LDH, których nie można dokładnie ocenić. □

LABOKLIN

VETEXPRESS - ul. Młodej Polski 25 - 45-517 Opole

Tel: 077/423 04 72 - Fax: 077/423 04 73

dr Elizabeth Müller
LABOKLIN GMBH & Co.KG
D-97688 Bad Kissingen
Prinzregentenstraße 3
e-mail: mueller@laboklin.de

	pro ANP	Nt-pro BNP	cTroponin I
Gatunek	pies	pies	pies, kot, koń
Material	(1 ml) odwirowane, schłodzone osocze EDTA	(1 ml) odwirowane, schłodzone osocze EDTA	(1 ml) surowicy
Przyczyna wzrostu	patologiczne stany ciśnienia, spowodowane: <ul style="list-style-type: none"> niewydolnością serca, wskutek niedokrwienia niewydolnością zastawek dirofilariozą 	patologiczne stany ciśnienia, spowodowane: <ul style="list-style-type: none"> niewydolnością serca wskutek niedokrwienia kardiomiopatią przerostową ostрым zawałem mięśnia sercowego tachykardią nadkomorową 	uszkodzenia mięśnia sercowego w wyniku: <ul style="list-style-type: none"> zawału serca (ischemia lub nekroza) urazu mięśnia sercowego (uraz psychiczny) kardiomiopatii rozstrzeniowej lub urazowej (uszkodzenie komórek) zabiegów odtruwających chorób osierdzia
Inna przyczyna wzrostu	(niewydolność nerek)	marskość wątroby	
Wskazanie pojedynczego badania	duszności związane z pracą układu oddechowego	duszności związane z pracą układu oddechowego	<ul style="list-style-type: none"> uraz psychiczny zawał (kardiomiopatia)
Wskazanie seryjnych badań	<ul style="list-style-type: none"> kontrola przebiegu kontrola terapii 	<ul style="list-style-type: none"> kontrola przebiegu kontrola terapii 	<ul style="list-style-type: none"> skręty żołądka chemioterapia sepsa kontrola babeszjozy zapalenie mięśnia sercowego