

První vlastní zkušenosti se stanovením glykogenfosforylázy BB v diagnostice akutního koronárního syndromu

David Stejskal^{*,**}, Bořek Lačňák^{*}, Eliška Sovová^{***}

^{*}Oddělení laboratorní medicíny a interní oddělení, Nemocnice Šternberk p. o.,

^{**}Ústav lékařské chemie a biochemie, Lékařská fakulta Univerzity Palackého,

^{***}I. interní klinika, Fakultní nemocnice Olomouc

a Lékařská fakulta Univerzity Palackého, Olomouc, Česká republika

Stejskal D^{*,**}, Lačňák B^{*}, Sovová E^{***} (*Oddělení laboratorní medicíny a interní oddělení, Nemocnice Šternberk p. o., Šternberk, **Ústav lékařské chemie a biochemie, Lékařská fakulta Univerzity Palackého, ***I. interní klinika, Fakultní nemocnice Olomouc a Lékařská fakulta Univerzity Palackého, Olomouc, Česká republika). **První vlastní zkušenosti se stanovením glykogenfosforylázy BB v diagnostice akutního koronárního syndromu.** *Cor Vasa* 2007;49(11):405–407.

Úvod: Běžně používané laboratorní ukazatele akutního koronárního syndromu (AKS) prokazují nekrózu myokardu až po několika hodinách od jejího vzniku nebo nejsou pro myokard zcela specifické. V poslední době jsou hledány laboratorní testy, které by umožnily odlišit jedince s myokardiální ischemií a typickými symptomy AKS od jedinců bez AKS. Od roku 1989 bylo publikováno několik prací, které byly zaměřeny na stanovení glykogenfosforylázy BB (GPBB), která byla určena pomocí tzv. metodik in-house, ale vykazovala unikátní diagnostickou senzitivitu i specifitu pro odhad myokardiální nekrózy i ischemie. Nedávno bylo stanovení GPBB uznáno Komisí pro ochranu potravin a léčiv (FDA) jako test pro časnou diagnostiku AKS pomocí standardizovaného testu ELISA nebo testu POCT.

Cíl a metodika: Publikace shrnuje teoretické poznatky, výsledky pilotních klinických studií a vlastní výsledky klinických studií s využitím tohoto ukazatele u pacientů s AKS.

Výsledky: Jedinci s AKS mívají vyšší koncentrace GPBB po příjmu a za dvě hodiny po příjmu do nemocnice. Diagnostická účinnost tohoto ukazatele bývá pro přítomnost AKS uspokojivá, resp. nejlepší ze všech rutinně využívaných. Měření při použití testů ELISA a POCT dává srovnatelné výsledky.

Závěry: Hodnoty GPBB v plazmě mají v prvních hodinách po vzniku AKS nejvyšší diagnostickou účinnost, a to nezávisle na hodnotách troponinu. Kombinace GPBB se stanovením troponinu by mohla být optimálním přístupem pro laboratorní diagnostiku AKS.

Klíčová slova: Akutní koronární syndrom (myokardiální ischemie/non-STEMI) – Koronární bypass (laboratorní ukazatele myokardiální ischemie/ICHs/) – Glykogenfosforyláza BB /GPBB/

Stejskal D^{*,**}, Lačňák B^{*}, Sovová E^{***} (*Department of Laboratory Medicine and Department of Internal Medicine, Šternberk Hospital, Šternberk, **Institute of Medical Chemistry and Biochemistry, Faculty of Medicine and Dentistry, Palacky University, Olomouc, ***1st Department of Internal Medicine University Hospital, Faculty of Medicine and Dentistry, Palacky University, Olomouc, Czech Republic). **Our initial experience with glycogen phosphorylase BB measurement in the diagnosis of acute coronary syndrome.** *Cor Vasa* 2007;49(11):405–407.

Background: The commonly used laboratory markers of coronary involvement in subjects with acute coronary syndrome (ACS) are not myocardial ischemia-specific and show late irreversible involvement of the myocardium. A laboratory test has been searched for in order to distinguish individuals with myocardial ischemia and typical CAD symptoms from CAD-free individuals. Since 1989, several papers have appeared on the measurement of glycogen phosphorylase BB (GPBB) with in-house EIA methods describing unique diagnostic sensitivity and specificity of such a test for the assessment of myocardial necrosis and ischemia. Recently, the FDA approved this test for early diagnosis of ACS using standardized ELISA and POCT methods.

Aim and methods: The present paper summarizes the hypotheses, clinical studies and our preliminary studies in individuals with ACS dealing with this marker.

Results: Individuals with ACS had higher GPBB values after the admission and 2 hours later. The diagnostic efficacy of this marker is sufficient for ACS presence. Measurement with ELISA and POCT provided comparable results.

Conclusions: Blood GPBB values had a superior diagnostic efficacy, independent of troponin, within the first hours of the onset of ACS. GPBB POCT measurement is comparable with ELISA test results. Combination of GPBB with troponin could be the optimal approach to the laboratory diagnosis of ACS.

Key words: Acute coronary syndrome (Myocardial ischemia/Non-STEMI) – Coronary bypass (Laboratory markers of myocardial ischemia/CAD/GPBB) – Glycogen phosphorylase BB

Adresa: MUDr. David Stejskal, Ph.D., Interní oddělení a Oddělení laboratorní medicíny, Nemocnice Šternberk p. o., Jívavská 20, 785 16 Šternberk, Česká republika, e-mail: david.stejskal@nemstbk.cz

ÚVOD

V poslední dekádě se objevuje v kardiologii řada testů, kterých lze využít v laboratorní diagnostice odhadu myokardiálního poškození či míry rizika a prognózy.^(1,2) Jde však ve většině případů spíše o vyšetření, u kterých chybí standardizace, validace, schválení Komisí pro ochranu potravin a léčiv (FDA) či evropská známka kvality (značka CE). Jednou z výjimek posledních let je komerční test na stanovení glykogenfosforylázy BB (GPBB), kdy výrobce vlastní osvědčení FDA i značku CE.⁽³⁾ Test je určen pro diagnostiku myokardiální nekrózy; podle některých studií se však zdá, že ho lze využít i v diagnostice myokardiální ischemie.

GPBB – PATOFYZIOLOGIE, STANOVENÍ, KLINICKÉ STUDIE

Glykogenfosforyláza (EC 2.4.1.1) je glykolytický enzym, který hraje zásadní roli v regulaci metabolismu sacharidů. Časné uvolnění izoenzymu glyko-

genfosforylázy BB (GPBB) do krevního oběhu bývá obvykle následkem kombinace vystupňované glykogenolýzy a zvýšené permeability buněčné membrány, která je pro myokardiální ischemii typická.⁽⁴⁾

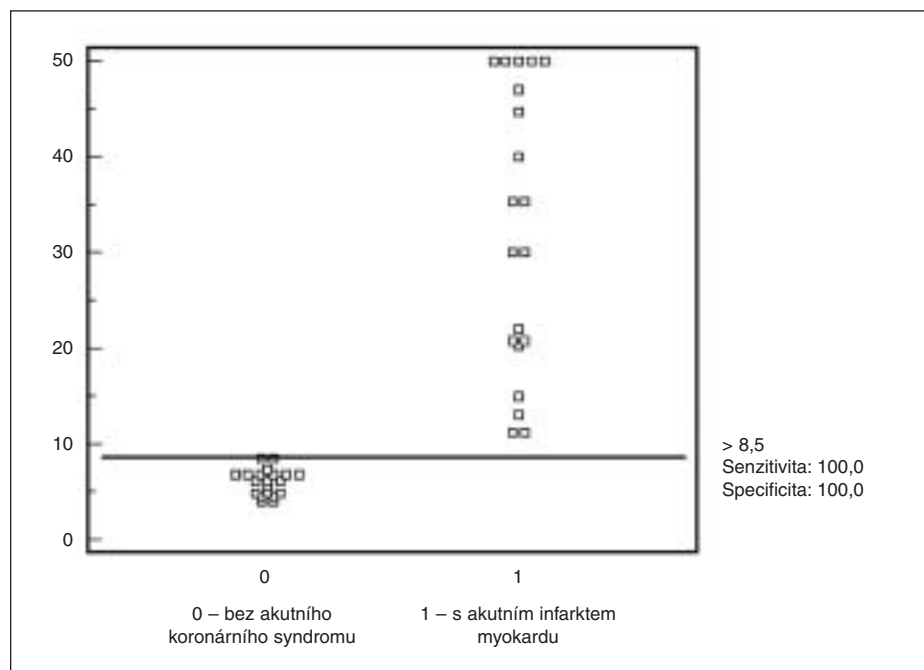
Komerční soupravy na stanovení GPBB nebyly ještě před několika lety ve světě dostupné (existovaly pouze tzv. in house metody ELISA).^(1,3–10) Teprve nedávno se objevily na trhu diagnostické soupravy (schválené FDA, označené IVD-CE) na bázi ELISA a pro režim POCT (point-of care testing).⁽³⁾

Podle výsledků zatím provedených klinických studií lze považovat GPBB za vysoce senzitivní, časný ukazatel přítomnosti myokardiální ischemie (bez nekrózy nebo s nekrózou), který se uvolňuje během 2–4 hodin po jejím vzniku. GPBB je také senzitivním ukazatelem pro odhad reperfuze. Hodnoty se normalizují během 1–2 dnů po vzniku myokardiálního poškození. Tento parametr by měl mít vyšší diagnostickou účinnost než troponiny, CK-MB nebo myoglobin. Falešně pozitivní zvýšení GPBB nacházíme u pacientů s traumaty nebo významným poškozením centrální nervové soustavy.^(1,2,4–6,8)

Tabulka I
Diagnostická účinnost stanovených kardiálních ukazatelů (n = 70)

Parametr	Senzitivita %	95% CI	Specificita %	95% CI	AUC	95% CI	PPV %+	NPV %-	cut-off (mezni bod)	Jednotka
GPBB 0 hod.	77,3	62,2–88,5	100,0	73,4–100,0	0,89	0,78–0,96	100,0	50,0	9,4	µg/l
cTnl 0 hod.	57,7	43,2–71,3	100,0	81,3–100	0,78	0,67–0,88	100,0	45,0	0,2	µg/l
Myoglobin 0 hod.	95,8	85,7–99,4	37,5	15,3–64,5	0,67	0,54–0,78	82,0	75,0	26,7	µg/l
GPBB 2 hod.	73,9	58,9–85,7	100,0	73,4–100,0	0,87	0,75–0,94	100,0	50,0	9,0	µg/l
cTnl 2 hod.	54,5	38,9–69,9	83,3	51,6–97,4	0,69	0,54–0,8	92,3	33,3	0,2	µg/l
Myoglobin 2 hod.	36,4	22,4–52,2	100,0	73,4–100,0	0,67	0,545–0,79	100,0	30,0	153,0	µg/l
GPBB 6 hod.	52,9	35,1–70,0	100,0	40,2–100,0	0,60	0,43–0,76	100,0	20,0	7,0	µg/l
cTnl 6 hod.	68,4	51,3–82,5	100,0	62,9–100,0	0,85	0,7–0,93	100,0	40,0	0,2	µg/l
Myoglobin 6 hod.	100,0	90,2–100,0	40,0	12,4–73,6	0,68	0,52–0,8	85,7	100,0	28,6	µg/l

95% CI – 95% konfidenční interval, AUC – plocha pod křivkou, PPV %+ – pozitivní prediktivní hodnota, NPV %- – negativní prediktivní hodnota, GPBB – glykogenfosforyláza BB, cTnl – srdeční troponin I



Obr. 1
Grafické vyjádření hodnot GPBB u pacientů podle přítomnosti non-STEMI v 6. hodině po příjmu AUC 1,0 (95% CI 0,91–1,0) (n = 40)

VLASTNÍ ZKUŠENOSTI S MĚŘENÍM GPBB V PILOTNÍCH KLINICKÝCH STUDIÍCH

V posledních měsících jsme provedli tři malé pilotní klinické studie, které byly zaměřeny na stanovení GPBB, a které zde krátce shrnujeme.

První studie byla zaměřena na využití stanovení GPBB (ELISA) u 70 pacientů s podezřením na aligický akutní koronární syndrom. Definitivní diagnóza AKS/nekoronární obtíže byla provedena podle kritérií ESC/ACC (European Society of Cardiology/American College of Cardiology). U všech osob byl stanoven v žilní plazmě srdeční troponin I (cTnI), myoglobin a GPBB, a to při příjmu, za 2 a 6 hodin.

Jedinci s AKS měli vyšší hodnoty GPBB po příjmu a za dvě hodiny od příjmu (21,9 vs. 6,2; 18,7 vs. 5,9 $\mu\text{g/l}$; $p < 0,01$). Hodnoty glykogenfosforylázy BB měly i vyšší diagnostickou účinnost pro přítomnost akutního koronárního syndromu než hodnoty troponinu I (*tabulka I*). V prvních dvou hodinách po příjmu byly do regresního modelu pro výskyt akutního koronárního syndromu zahrnuty jako nezávislé proměnné pouze hodnoty glykogenfosforylázy BB ($p < 0,05$). Pokud byla ze skupiny s akutním koronárním syndromem vyjmuta skupina osob s myokardiální nekrózou ($n = 39$; akutní infarkt myokardu bez elevace úseku ST na EKG; non-STEMI), bylo zjištěno, že v regresním modelu vyšly při vstupním vyšetření i za dvě hodiny po příjmu jako nezávislé proměnné pouze hodnoty GPBB a cTnI ($p < 0,05$).⁽¹¹⁾

Druhá studie byla zaměřena na využití GPBB v diagnostice osob s nestabilní anginou pectoris (NAP). Bylo provedeno testování u 31 osob s bolestí na hrudi, u kterých nebyla zjištěna myokardiální nekróza. U všech pacientů byl sériově vyšetřen ve stejných intervalech jako v první studii cTnI, myoglobin a GPBB. Jedinci s NAP ($n = 13$) měli vyšší hodnoty GPBB při příjmu a za dvě hodiny po příjmu (13,5 vs. 6,2; 13,7 vs. 5,9 $\mu\text{g/l}$; $p < 0,01$). V prvních dvou hodinách po příjmu byla do regresního modelu pro přítomnost AKS zahrnuta ze všech měřených ukazatelů jako nezávislá proměnná pouze hodnota GPBB ($p < 0,05$). Diagnostická senzitivita GPBB v prvních dvou hodinách po příjmu činila 77–100 %, specifická 67–100 % (plocha pod křivkou ROC – AUC 0,85–0,87).⁽¹²⁾

Ve *třetí studii* jsme zjišťovali porovnatelnost kvalitativního POCT stanovení a kvantitativní ELISA soupravy.⁽¹³⁾

Vyšetření bylo provedeno u 20 jedinců s non-STEMI a 20 osob bez známek AKS. U všech osob bylo provedeno vyšetření GPBB v žilní plazmě (POCT, ELISA).

Jedinci s non-STEMI měli významně vyšší hodnoty GPBB ELISA než osoby bez AKS (32,3 vs. 6,1 $\mu\text{g/l}$; $p < 0,01$). Senzitivita a specifická GPBB pro přítomnost AKS v 6. hodině po přijetí činila 100 %. Žádný z vyšetřovaných pacientů nebyl rozdělen pomocí POCT a ELISA do rozdílných skupin (pozitivní $> 10 \mu\text{g/l}$; negativní $< 10 \mu\text{g/l}$). Hodnoty GPBB souvisely těsně s diagnózou non-STEMI.

ZÁVĚRY

Zdá se, že glykogenfosforyláza BB je přínosný laboratorní ukazatel přítomnosti aligické formy akutního koronárního syndromu. Časně uvolnění GPBB může pomoci identifikovat rizikové osoby s nestabilní anginou pectoris již při jejich příjmu do nemocnice. Naše pilotní klinické studie potvrdily skutečnost, že stanovení GPBB může hrát zásadní roli v časně diferenciální diagnostice AKS. Stanovení GPBB pomocí POCT dává porovnatelné výsledky jako v případě testu ELISA a je pro rutinní diagnostiku vhodné.

LITERATURA

1. Apple FS, Wu AHB, Mair J, et al. Future biomarkers for detection of ischemia and risk stratification in acute coronary syndrome. *Clin Chem* 2005;51:810–24.
2. Wu AHB, Apple FS, Gibler WB, Jesse RL, Warshaw MM, Valdes R. National Academy of Clinical Biochemistry Standards of Laboratory Practice: Recommendations for the Use of Cardiac Markers in Coronary Artery Diseases. *Clin Chem* 1999;45:1104–21.
3. Diagenics [online]. WWW < <http://www.diagenics.de>
4. Mair J, Puschendorf B, Amidy J, et al. Early release of glycogen phosphorylase in patients with unstable angina and transient ST-T alterations. *Br Heart J* 1994;72:125–7.
5. Rabitzsch G, Mair J, Lechleitner P, et al. Immuno-enzymometric assay of human glycogen phosphorylase isoenzyme BB in diagnosis of ischemic myocardial injury. *Clin Chem* 1995;41:966–78.
6. Mair P, Mair J, Krause EG, Balogh D, Puschendorf B, Rabitzsch G. Glycogen phosphorylase isoenzyme BB mass release after coronary artery bypass grafting. *Eur J Clin Chem Clin Biochem* 1994;32:543–7.
7. Peetz D, Post F, Schinzel H, et al. Glycogen phosphorylase BB in acute coronary syndromes. *Clin Chem Lab Med* 2005;43:1351–8.
8. Hofmann U, Rabitzsch G, Loster K, Handschack W, Noll F, Krause EG. Immuno-enzymometric assay for the heart specific glycogen phosphorylase BB in human serum using monoclonal antibodies. *Biomed Biochim Acta* 1989;48:132–6.
9. Kemp M, Donova J, Higham H, Hooper J. Biochemical markers of myocardial injury. *Br J Anaesthesia* 2004; 93:63–73.
10. Mair J. Glycogen phosphorylase isoenzyme BB to diagnose ischaemic myocardial damage. *Clin Chim Acta* 1998;272:79–86.
11. Proskova J, Stejskal D, Lacnak B, et al. Glycogen-phosphorylase BB in the early diagnosis of ACS. In: Abstract book of Euromedlab, Amsterdam, 2007.
12. Stejskal D, Kadalová L, Lačňák B, Jedelský L, Karpíšek M, Šprongl L. Využití stanovení glykogenfosforylázy BB v diagnostice myokardiální ischemie. V: Kniha abstrakt 28. Imunoanalytického kongresu, 2007.
13. Stejskal D, Lačňák B, Jedelský L, et al. The utilisation of Glycogen Phosphorylase BB measurement with POCT in the diagnosis of acute coronary syndromes. A comparison with results of ELISA. *Biomed. Papers*, 2007: v recenzním řízení.

Došlo do redakce 17. 3. 2007

Přijato po úpravách 14. 6. 2007