

Высокочувствительное измерение кардиальных тропонинов: тест, который спасает жизни

Вельков В.В.,

ЗАО «ДИАКОН», ул. Грузовая 1а, 142290, г. Пущино, Московская область.

Есть ли у тропонинов нормальные значения?

Чувствительность и специфичность диагностических наборов предполагает, что нормальный уровень анализа должен соответствовать таковому при 99-ой перцентили. 99-ая перцентиль - это уровень анализа, при котором 99 из 100 лиц здоровой популяции будут иметь отрицательный результат тестирования (только 1 из 100 может иметь ложноположительный результат).

Универсальное определение инфаркта миокарда (ИМ) устанавливает как один из его главных диагностических критериев «...повышение и/или снижение кардиальных тропонинов по крайней мере, выше одного значения уровня, **характерного для 99-ой перцентили здоровой популяции**». (1).

Однако, как известно, «обычные» тропониновые тесты из-за своей низкой чувствительности вообще не определяют тропонины у здоровых лиц, что и привело, как только недавно выяснилось, к распространенному заблуждению, что «в норме тропонинов нет» и что все здоровые лица - «тропонин-отрицательны». При этом упускалось из виду, что универсальное определение ИМ требовало измерения практически неизмеряемого значения – нормального уровня кардиальных тропонинов. Проблема была решена в конце «нулевых».

Высокочувствительные тропониновые тесты, hs-cTn, (hs, high sensitive – высокочувствительный) определяют очень низкие концентрации тропонинов, начинающиеся от 1,0 нг/л (0,001 нг/мл), и находящиеся *ниже* значения, соответствующего 99-ой перцентили. Точность при этом также высокая – CV < 10%. В итоге, кардиальные тропонины стали обнаруживаться почти у всех здоровых людей (обзоры 2-5). Действительно, «тропонин-отрицательных» больше нет.

Многочисленные исследования показали, что:

- 1) *нормальные* уровни кардиальных тропонинов составляют 2-5 нг/л (0,002-0,005 нг/мл),
- 2) пограничный уровень, соответствующий 99-ой перцентили, для конкретного диагностического набора и его платформы зависит от производителя и имеет собственное значение. Так, пограничный уровень теста hs-cTnT Roche - 14 нг/л, а теста hs-cTnI PATHFAST Mitsubichi – 20 нг/л. Проблемы, связанные с трудностями стандартизации различных hs-cTn тестов и с невозможностью сравнения их результатов будут рассмотрены ниже.
- 3) уровни hs-cTn должны интерпретироваться как **количественные** переменные, терминов "тропонин-отрицательный" и "тропонин-положительный" следует избегать,
- 4) в общей популяции значения hs-cTn тестов, слегка превышающие пограничный уровень, выявляют лиц с повышенным риском *структурных* заболеваний миокарда и риском смертности от всех причин;

- 5) короткий период ишемии, не связанный с явным ИМ, вызывает высвобождение в кровотоки небольшого количества hs-cTn;
- 6) при стабильных заболеваниях коронарных артерий повышенные уровни hs-cTn связаны с риском кардиоваскулярной смерти и сердечной недостаточности, но не с риском ИМ;
- 7) у пациентов с симптомами острого коронарного синдрома (ОКС) hs-cTn – это ранний маркер ИМ, который, по сравнению с "обычными» cTn тестами, выявляет большее количество пациентов с диагнозом ИМ Б ST (ИМ без элевации ST сегмента) и является независимым предиктором неблагоприятных исходов;
- 8) динамика уровней hs-cTn (повышение, постоянство, снижение концентрации в крови) дифференцирует острый некроз кардиомиоцитов от их хронического повреждения,
- 9) с помощью серийного измерения hs-cTn диагноз ИМ можно исключить уже в первые часы после поступления,
- 10) повышенные уровни hs-cTn могут быть связаны и с неишемическими причинами, которые следует устанавливать,
- 11) вне зависимости от того, вызвано ли повышение hs-cTn ишемическими или другими причинами, во всех случаях повышенный hs-cTn – предиктор неблагоприятных исходов, включающих: повторные ОКС, фатальные и не фатальные ИМ и смертность от всех причин (2-5).

Нормальные уровни тропонинов – откуда и почему?

Полагается, что в норме причины выхода тропонинов в кровотоки могут быть таковы (5-7):

1) *маломасштабный некроз миоцитов*. Это наиболее распространенный процесс, который может вызываться ишемическим или воспалительным состоянием, прямой травмой и токсическими причинами, включая сепсис.

2) *апоптоз, или запрограммированная смерть клеток*. Апоптоз на фоне сохраненной целостности клеточных мембран связан с активацией каспаз, вызывающих деградацию структурных белков миокарда, что может приводить к высвобождению тропонинов в кровотоки.

3) *нормальный метаболизм миоцитов*. В целом, на протяжении жизни обновлению подвергаются около 50% кардиомиоцитов. Пока неясно, связан ли процесс обновления миоцитов с высвобождением тропонинов в кровотоки.

4) *высвобождение продуктов протеолитической деградации тропонинов из миоцитов*. Предполагается, что такой процесс может происходить без гибели миоцитов и без нарушения целостности клеточных мембран. В результате протеолиза образуются мелкие фрагменты тропонинов, которые проходят через неповрежденные клеточные мембраны.

5) *повышенная проницаемость клеточных стенок*. Обратимое повреждение мембран кардиомиоцитов при напряжении миокарда или при ишемии позволяет тропонинам цитозоля выходить в кровотоки

6) *образование и высвобождение мембранных везикул*. Подобный механизм обнаружен при ишемии у клеток печени, когда большие молекулы могут выходить из внутриклеточного пространства во внеклеточное без некроза гепатоцитов (5-7).

Выход тропонинов в кровотоки при ишемии, но без мионекроза

О том, что кардиомаркеры могут выходить в кровотоки и без некроза клеток известно с 1971 г., когда в модельных экспериментах было обнаружено, что при

повреждении сердечной ткани лактатдегидрогеназа может высвобождаться в кровотоки и в отсутствие погибших клеток (8).

Аналогичные результаты были получены и с креатинкиназой (КК) и креатинкиназой МБ (КК МБ). Короткий период коронарной окклюзии, вызывающий кратковременную ишемию, недостаточную для того, чтобы вызвать повреждение миокарда, приводит к выходу этих ферментов в кровотоки (9). Согласно ранним представлениям, повреждения миоцитов необратимы, их регенерация невозможна. И, как полагалось, если происходит выход в кровотоки кардиомаркеров, свидетельствующих о необратимом повреждении, со временем эта прогрессирующая необратимость обязательно приведет к усилению тяжести патологии. Опасения оказались напрасными. Кардиомиоциты способны к регенерации и к восстановлению функций поврежденного сердца (10).

Особо отметим, что выход тропонинов наблюдается при интенсивных физических нагрузках, после марафонских забегов и при стресс-тестах. Повышенные после марафонского забега тропонины приходят в норму через 72 ч (5,11).

Как тропонины выходят в кровотоки при ОКС?

Тропонин в миоцитах состоит из двух пулов - структурного, когда находится в миофибриллах, и цитозольного – когда находится в свободном от миофибрилл состоянии и в комплексе с другими тропонинами. Именно цитозольный пул и выходит в кровотоки при раннем развитии повреждений миокарда. hs-cTn тесты фиксируют именно этот ранний выход цитозольных тропонинов в кровотоки и отражают динамику этого процесса.

Следующий и относительно длительный выход тропонинов из разрушенных миофибрилл, из структурного пула, связан с более серьезными повреждениями миокарда, которые, чем тяжелее – тем более необратимы. «Постулировано, что выход тропонинов из структурного пула – это синоним клеточной смерти, а выход тропонинов из цитозольного пула может быть связан как обратимыми, так и с необратимыми повреждениями» (6).

Циркулирующие тропонины – анализ «с тысячью лиц».

Многолетние исследования показывают, что при ОИМ cTnI циркулирует в кровотоке: а) как свободный cTnI, б) как бинарный комплекс cTnI-cTnC и в) как тройной комплекс cTnI-cTnC-cTnT. Более того, в крови присутствуют продукты: г) N-терминальной деградации cTnI, а также д) фосфорилированные и ж) окисленные производные как свободного cTnI, так и его и) двойных и к) тройных комплексов. При этом у разных пациентов соотношение концентраций всех этих форм cTnI и его комплексов индивидуальное. И, похоже, при развитии ОИМ, соотношение концентраций этих форм может меняться (12-15).

Количественное определение тропонинов базируется на моноклональных антителах, узнающих различные эпитопы. Таких эпитопов может быть весьма много. Более того у разных пациентов они могут разными, а у одного и того же пациента соотношение этих эпитопов может меняться в течение развития ОКС и, не исключено, может быть различным при повторных ОКС. Кроме того, могут быть эпитопы, чья эффективность может зависеть от гепарина, от наличия гетерофильных антител, от связывания аутоантител (16-18).

Таким образом, «в лице тропонина» мы имеем анализ «с тысячью лиц», выражение которых может меняться от пациента к пациенту и «от часа к часу» (13).

Такая эпитопная вариабельность и динамичность гетерогенной популяции циркулирующих тропонинов приводит к тому, что различные производители тропониновых тестов, чтобы улучшить их чувствительность, включают в тест все большее количество различных антител. В итоге, тесты различных производителей имеют: а) разные показатели чувствительности, б) разные значения 99-ой перцентили и в) разные значения диагностических уровней. Некоторые hs-cTnI тесты показывают, что нормальные уровни тропонина у мужчин и женщины – разные, другие такой разницы «не видят». Полагается, что «для диабетиков и для пожилых лиц должны быть отдельные пограничные уровни hs-cTn тестов, и более того, разные для тестов различных производителей» (19,20).

В целом, *«все эти данные показывают, что сравнение абсолютных концентраций тропонинов, полученных с помощью тестов различных производителей, невозможно»* (20).

Но, может быть, возможна международная стандартизация hs-cTn тестов? Например, с помощью референтных материалов, утвержденных международным сообществом экспертов? На этот счет есть две точки зрения: сдержанно оптимистическая и реалистическая. Сдержанно оптимистической придерживается рабочая группа Международной Федерации Клинической химии (IFCC) по стандартизации кардиального тропонина I, считающая, что такая стандартизация возможна. Статья, опубликованная от имени этой группы, так и называется: «Отнеситесь к этому просто: стандартизация кардиального тропонина I сложна» (21). Реалистическая точка зрения приведена в статье, расположенной рядом: «Стандартизация определения кардиального тропонина I: при моей жизни этого не случится» (20).

Кроме причин, приведенных выше (гетерогенность и непостоянство популяции изоформ cTnI и его комплексов) приводятся данные и о том, что даже в тех случаях, когда производитель применяет тесты с идентичными антителами, но на разных платформах - то результаты измерений не совпадают. (20).

Плата за высокую чувствительность.

Плата за высокую чувствительность – компромисс между несомненной пользой выявления ИМ в самые первые часы и тем, что наблюдаемое повышение hs-cTn может быть вызвано не ИМ, а, например, неишемическим некрозом кардиомиоцитов, который, в свою очередь, может быть связан с большим количеством других патологий (22-28).

Уж не проще ли использовать традиционно высокие пограничные уровни тропонинов, имеющие большую специфичность по отношению к ОИМ? Однако такой подход, *"хотя и делает жизнь кардиологов легкой, но подвергает опасности жизнь пациентов с ранними ОИМ или с другими случаями некроза миоцитов, которые при традиционных пограничных уровнях cTn останутся незамеченными"* (29).

Серийные измерения hs-cTn повышают специфичность

Если повышенный при первом измерении уровень hs-cTn вызван: а) стабильными заболеваниями коронарных артерий; б) хронической сердечной недостаточностью; в) нестабильной стенокардией; г) неишемическими и другими некардиальными причинами, то при измерении через 3 ч уровни hs-cTn повышаться **не** должны (19).

Полагается, что при серийных измерениях последовательное повышение уровня hs-cTn (выше пограничного) *четко указывает на развитие ИМ*. Постоянно повышенный hs-cTn указывает на другие причины (19).

Множественно показано, что диагностические алгоритмы измерения дельты (разницы концентраций) hs-cTn улучшают диагностическую специфичность, но могут: а) снижать диагностическую чувствительность и б) увеличивать время, необходимое для подтверждения или исключения диагноза ИМ (30-32).

Например, при использовании hs-cTnI теста Vitros ES cTnI измерение через 6 ч повысило диагностическую специфичность с 77% до 91%, но понизило чувствительность с 94% до 75% (30). При использовании тестов hs-cTnT и hs-cTnI было показано, что абсолютные значения дельты (интервал измерений 2 ч) для hs-cTnT составляли 7 нг/л, а для hs cTnI – 20 нг/л и имели более высокую специфичность, чем относительные значения (32).

Аналогичные результаты, опубликованные в 2012 г., также свидетельствуют о том, что абсолютные значения дельты теста Roche hs-cTnT лучше относительных. Абсолютная дельта, составлявшая 9,2 нг/л (интервал 6 ч) дискриминировала ОКС от не-ОКС со специфичностью 90%, а относительная со специфичностью 75%. (33). Поэтому полагается, что относительное значение дельты, составляющее 20% и рекомендованное американской Национальной академией клинической биохимии (22), не является столь же эффективным, как абсолютные значения дельты, оптимизированные для конкретных hs-cTn тестов конкретных производителей (34).

В целом, «... как для лабораторий, так и для клиницистов критичным является следующее положение: конкретные абсолютные значения дельты, полученные с помощью теста Roche hs-cTnT нельзя прямым образом использовать в лаборатории, которая измеряет hs-cTn с помощью другого теста, как при использовании платформы того же самого производителя, так и другого. Важно знать, что каждый конкретный hs-cTn тест нуждается в специальном определении именно его абсолютных и относительных значений дельты» (34). Считается, что для каждого теста абсолютные и/или относительные значения дельты должны быть определены в интервалах 0 - 3 ч, 3 - 6 ч и 0 - 6 ч. Это должно сократить время, необходимое для исключения ОИМ с 6 ч до 3. (34).

В целом, алгоритм серийных измерений hs-cTn «существенно смягчает главную озабоченность клиницистов, связанную с высокочувствительными тропонинами». (34).

Основная клиническая ценность hs-cTn тестов.

В общем, клиническая ценность hs-cTn тестов включает их измерение: а) для выявления в общей популяции лиц с субклиническими сердечно-сосудистыми заболеваниями, б) для оценки неблагоприятных исходов при стабильных заболеваниях коронарных артерий, в) при поступлении пациентов с признаками ОКС (2-5). Риск летальности, связанный с повышенным hs-cTnT, присутствует на всем спектре тяжести ОКС, а также при состояниях, не связанных с кардиальными причинами (35). Учитывая, что повышенные уровни hs-cTn – предиктор неблагоприятных исходов *при любых этиологиях*, диагностическая ценность hs-cTn может включать и такие патологические состояния, как ХПН и ОПН, сепсис, легочная эмболия, контузии, химиотерпия, тяжелые физические нагрузки (спортивная и военная медицина), и др. состояния, при которых повышаются уровни тропонинов.

Главная клиническая ценность hs-cTn тестов – это значительная повышение эффективности диагностики при поступлении пациентов с клинической картиной, характерной для ОКС, при отсутствии признаков ИМ ST на ЭКГ и с cTnI >100 нг/л (0,1 нг/мл).

Для пациентов с указанными характеристиками hs-cTn это **ранний маркер развития** ИМ, который, по сравнению со "стандартным тропониновым тестом, в течение 3–6 ч: а) исключает диагноз ИМ с вероятностью 100%, б) устанавливает диагноз ИМ Б ST с вероятностью 95% и, в целом, в) выявляет большее количество пациентов с ИМ Б ST, чем обычные cTn тесты (2-5,36,37).

«Внедрение hs-cTn для триажа пациентов с подозреваемым ОКС улучшит раннюю диагностику ИМ Б ST и, в конечном счете, повысит количество диагнозов ИМ Б ST и снизит количество диагнозов нестабильной стенокардии» (35).

В целом, *переход от «обычных» тропониновых тестов на высокочувствительные приводит к реклассификации значительного процента пациентов, имевших при поступлении признаки ОКС и первичный диагноз нестабильная стенокардия, в диагноз ИМ Б ST. А это, при проведении адекватных мероприятий, снижает количество повторных ИМ в 2,6 раза, а летальность в 1,9 раза (наблюдение 1 год)» (26).*

1. Thygesen K, Alpert JS, White HD, on behalf of the Joint ESC/ACCF/AHA/WHF Task Force for the Redefinition of Myocardial Infarction. Universal definition of myocardial infarction. Eur Heart J 2007;28:2525–38; Circulation 2007;116: 2634–53; J Am Coll Cardiol 2007;50:2173–95.

2. Christenson RH, Phillips D. Sensitive and high sensitivity next generation cardiac troponin assays: more than just a name. Pathology. 2011;43(3):213-9.

3. Collinson PO. Sensitive troponin assays. J Clin Pathol. 2011;64(10):845-9

4. Baker JO, Reinhold J, Redwood S et al. Troponins: redefining their limits. Heart. 2011;97(6):447-52.

5. Вельков В.В. Революция в кардиологии – высокочувствительное измерение кардиальных тропонинов: «тропонин-отрицательных» больше нет. Клинико-лабораторный консилиум. 2012, в печати. Электронная версия: <http://www.diakonlab.ru/files/Docs/SciArticles/Troponin-2011.pdf>

6. Jaffe AS, Wu AHB Troponin Release—Reversible or Irreversible Injury? Should We Care? Clinical Chemistry 58:1148–150 (2012)

7. Hickman PE, Potter JM, Aroney C, Koerbin G, Southcott E, Wu AH, et al. Cardiac troponin may be released by ischemia alone, without necrosis. Clin Chim Acta 2010;411:318 –23.

8. Doty DH, Bloor CM, Sobel BE. Altered tissue lactic dehydrogenase activity after exercise in the rat. Am J Physiol 1971;30:548 –51.

9. Heyndrickx GR, Millard RW, McRitchie RJ, Maroko PR, Vatner SF. Regional myocardial functional and electrophysiological alterations after brief coronary artery occlusion in conscious dogs. J Clin Invest 1975; 56:978–85.

10. Anversa P, Leri A, Kajstura J. Cardiac regeneration. J Am Coll Cardiol 2006;47:1769 –76.

11. Scherr J, Braun S, Schuster T, Hartmann C, Moehlenkamp S, Wolfarth B, et al. 72-h kinetics of high-sensitivity troponin T and inflammatory markers after marathon. Med Sci Sports Exerc 2011;43:1819 –27

12. Katrukha AG, Bereznikova AV, Esakova TV, Pettersson K, Lovgren T, Severina ME, et al. Troponin I is released in bloodstream of patients with acute myocardial infarction not in free form but as complex. Clin Chem 1997;43: 1379–85.

13. Labugger R, Organ L, Collier C, et al. Extensive troponin I and T modification detected in serum from patients with acute myocardial infarction. Circulation. 2000;102(11):1221-6.

14. McDonough JL, Van Eyk JE. Developing the next generation of cardiac markers: disease-induced modifications of troponin I. Prog Cardiovasc Dis. 2004;47(3):207-16.

15. Gaze DC, Collinson PO. Multiple molecular forms of circulating cardiac troponin: analytical and clinical significance. Ann Clin Biochem. 2008;45(Pt 4):349-55

16. Stiegler H, Fischer Y, Vazquez-Jimenez JF, Graf J, Filzmaier K, Fausten B, et al. Lower cardiac troponin T and I results in heparin-plasma than in serum. Clin Chem 2000;46:1338–44

17. Kim WJ, Laterza OF, Hock KG, Pierson-Perry JF, Kaminski DM, Mesguich M, et al. Performance of a revised cardiac troponin method that minimizes interferences from heterophilic antibodies. Clin Chem 2002;48:1028 –34.

18. Eriksson S, Halenius H, Pulkki K, Hellman J, Pettersson K. Negative interference in cardiac troponin I immunoassays by circulating troponin autoantibodies. *Clin Chem* 2005;51:839–47.
19. Katus H A, Giannitsis E Jaffe AS Interpreting Changes in Troponin—Clinical Judgment Is Essential *Clinical Chemistry* 58:1 39–44 (2012)
20. Apple FS Standardization of Cardiac Troponin I Assays Will Not Occur in My Lifetime/ *Clinical Chemistry* 58:1 169–171 (2012)
21. Christenson RH, Bunk DM, Schimmel H, Tate JR; on behalf of the IFCC Point: Put Simply, Standardization of Cardiac Troponin I Is Complicated. Working Group on Standardization of Troponin I. *Clin Chem*. 2012 ;58(1):165-168.
22. Morrow DA, Cannon CP, Jesse RL, Newby LK, Ravkilde J, Storrow AB, et al. National Academy of Clinical Biochemistry practice guidelines: clinical characteristics and utilization of biomarkers in acute coronary syndromes. *Clin Chem* 2007;53:552–74.
23. Kelley W.E., Januzzi J.L., Christenson R.H. Increases of cardiac troponin in conditions other than acute coronary syndrome and heart failure // *Clin. Chem*. 2009; 55(12): 2098–2112.
24. Venge P, Johnston N, Lindahl B, James S. Normal plasma levels of cardiac troponin I measured by the high-sensitivity cardiac troponin I Access prototype assay and the impact on the diagnosis of myocardial ischemia. *J Am Coll Cardiol* 2009;54:1165–72.
25. Sabatine MS, Morrow DA, de Lemos JA, Jarolim P, Braunwald E. Detection of acute changes in circulating troponin in the setting of transient stress test-induced myocardial ischemia using an ultrasensitive assay: results from TIMI 35. *Eur Heart J* 2009;30:162–9.
26. Mills NL, Churchhouse AM, Lee KK, Anand A, Gamble D, Shah AS, et al. Implementation of a sensitive troponin I assay and risk of recurrent myocardial infarction and death in patients with suspected acute coronary syndrome. *JAMA* 2011;305:1210–6.
27. Agewall S, Giannitsis E, Jernberg T, Katus H. Troponin elevation in coronary vs. non-coronary disease. *Eur Heart J* 2011;32:404–11.
28. McFalls EO, Larsen G, Johnson G, Apple FS, Goldman S, Arai A, et al. Long-term outcomes of hospitalized patients with a non-acute syndrome diagnosis and an elevated cardiac troponin level. *Am J Med* 2011;124: 630–5.
29. Twerenboldet R., Reichlin T., Reiter M. et al. High-sensitive cardiac troponin: friend or foe? // *Swiss. Med. Wkly*. 2011; 141: E1–E5.
30. Apple FS, Pearce LA, Smith SW, Kaczmarek JM, Murakami MM. Role of monitoring changes in sensitive cardiac troponin I assay results for early diagnosis of myocardial infarction and prediction of risk of adverse events. *Clin Chem* 2009;55:930–7.
31. Kavsak PA, Ko DT, Wang X, Macrae AR, Jaffe AS. Increasing cardiac troponin changes measured by a research high-sensitivity troponin I assay. Absolute vs percentages changes and long-term outcomes in a chest pain cohort. *Clin Chem* 2010;56:1902– 4.
32. Reichlin T, Irfan A, Twerenbold R, Reiter M, Hochholzer W, Burkhalter H, et al. Utility of absolute and relative changes in cardiac troponin concentrations in the early diagnosis of acute myocardial infarction. *Circulation* 2011;124: 136–45.
33. Mueller M, Biener M, Vafaie M, Doerr S, Keller T, Blankenberg S, et al. Absolute and relative kinetic changes of high-sensitivity cardiac troponin T in acute coronary syndrome and in patients with increased troponin in the absence of acute coronary syndrome. *Clin Chem* 2012;58:209 –18.
34. Apple FS, Morrow DA. Delta Cardiac Troponin Values in Practice: Are We Ready to Move Absolutely Forward to Clinical Routine? *Clinical Chemistry* 58:1 8–10 (2012)
35. Celik S, Giannitsis E, Wollert KC et al. Cardiac troponin T concentrations above the 99th percentile value as measured by a new high-sensitivity assay predict long-term prognosis in patients with acute coronary syndromes undergoing routine early invasive strategy. *Clin Res Cardiol*. 2011 100(12):1077-85.
36. Keller T, Zeller T, Peetz D, Tzikas S, Roth A, Czyz E, et al. Sensitive troponin I assay in early diagnosis of acute myocardial infarction. *N Engl J Med* 2009;361:868 –77.
37. Reichlin T, Hochholzer W, Bassetti S, Steuer S, Stelzig C, Hartwiger S, et al. Early diagnosis of myocardial infarction with sensitive cardiac troponin assays. *N Engl J Med* 2009;361:858–67.