

616.127-005-8-07 :616.153[ :577.158.42]-074

### TERMOSTABILNÍ A ACETONREZISTENTNÍ FRAKCE LAKTÁTDEHYDROGENÁZY V DIAGNOSTICE INFARKTU MYOKARDU

Milona ENGLIŠOVÁ, prom. lékařka, podplukovník MUDr. Karel KOUŘÍLEK  
Oddělení klinických laboratoří Ústřední vojenské nemocnice  
(náčelník: pplk. MUDr. Miloslav ARIENT, CSc.)

S rozvojem a zdokonalováním laboratorních vyšetřovacích metod došlo v minulých letech k prohloubení a zpřesnění diagnostiky infarktu myokardu. Velmi svízelné však může být poznání infarktu myokardu v takových případech, kdy celkový klinický obraz, elektrokardiografické vyšetření, zvýšení aktivity plazmatických enzymů i nálezy jiných laboratorních vyšetření vykazují podobné změny jako při infarktu myokardu, ve skutečnosti však jde o onemocnění jiné (infarkt plicní, akutní pankreatitida).

Téměř specifický průkaz nekrózy myokardu je v takových případech možný dvojím způsobem. Předně stanovením aktivity kreatinfosfokinázy, tj. enzymu, který se vyskytuje v největší koncentraci právě v myokardu a jen v malé míře v jiných tkáních (příčně pruhované svalstvo). Vyšetření tohoto enzymu je však dosti náročné a nedoznalo dosud v klinické praxi většího rozšíření. Druhou možností skýtá vyšetřování aktivity izoenzymů laktátdehydrogenázy (dále

LDH]. Na laktátdehydrogenázové aktivitě séra se totiž podílí celkem pět enzymů, které se neliší navzájem svým biokatalytickým účinkem, nýbrž jen drobnými rozdíly ve své molekulární struktuře. Koncentrace těchto pěti izoenzymů v jednotlivých orgánech je rozdílná a charakteristická. Vyskytuje-li se některý z izoenzymů v určitém orgánu ve velmi vysoké koncentraci ve srovnání se zbývajícími (např. LDH<sub>1</sub> v myokardu, LDH<sub>5</sub> v játrech apod.), lze ze zvýšení jeho aktivity v séru soudit s velkou pravděpodobností na poškození „mateřského orgánu“. Avšak i metody ke stanovení aktivity izoenzymů LDH byly donedávna dosti náročné a nedostupné pro rutinní uplatnění.

V nedávné době byly navrženy jednoduché metody ke stanovení přibližné aktivity LDH<sub>1</sub> izoenzymu a LDH<sub>5</sub> izoenzymu. V roce 1961 použili Wroblewski a Gregory (1) k rozlišení myokardového izoenzymu LDH, resp. jaterního izoenzymu LDH jejich rozdílné citlivosti vůči tepelné

inaktivaci. Zatímco aktivita LDH<sub>1</sub> se při 30minutovém zahřátí na 57 °C změní jen málo, je jaterní izoenzym v těchto podmínkách inaktivován prakticky úplně. Při infarktu myokardu, kdy stoupá výrazně aktivita LDH<sub>1</sub> izoenzymu se aktivita celkové LDH po zahřátí sníží málo, u jaterního poškození poklesne naopak velmi značně. Původní postup Wroblewského použili v různých modifikacích úspěšně Strandjord a spol. (2), Dubach (3), Latner a Skillen (4), Pojer a spol. (5).

V roce 1963 navrhli Latner a Turner (6) jiný princip přibližného stanovení aktivity myokardového izoenzymu pomocí inaktivace acetonem a současně navrhli Warburton a spol. podobný způsob inaktivace chloroformem (7).

Pokusili jsme se získat vlastní zkušenosti s oběma inaktivačními metodami s cílem posoudit jejich citlivost a specifčnost při diagnostice infarktu myokardu. Otázka citlivosti těchto metod při rozlišování různých forem ischemické choroby byla řešena při jiné příležitosti (12, 13).

### Materiál a metody

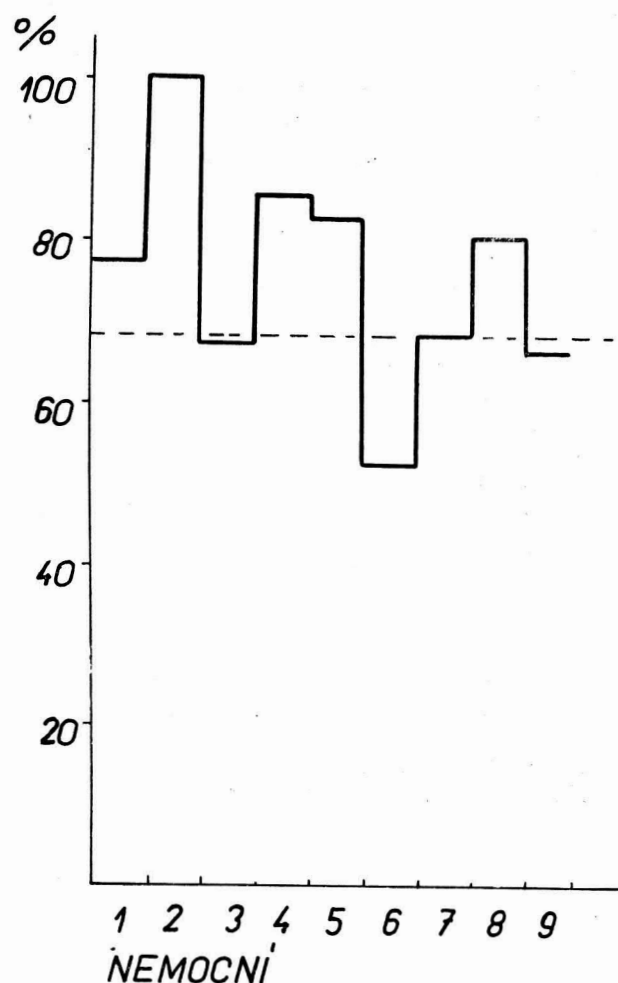
Provedli jsme vyšetření u 18 nemocných s prokázaným infarktem myokardu (hodnoceno podle anamnézy, klinického obrazu a průběhu, ekg, aktivity transamináz glutamátu-oxalactátu a glutamátu-pyruvátu, dále podle aktivity LDH a dalších běžných laboratorních vyšetření). U tří nemocných byla diagnóza ověřena sekcí.

Jako kontrolní skupinu jsme vyšetřili 25 mladých anamnesticky i klinicky zdravých dárců krve.

Aktivita LDH byla stanovena fotokolorimetrickou metodou podle Ševely a Továrka. Při stanovení termorezistentní frakce LDH jsme používali inaktivace teplotou 57 °C po dobu 30 minut, jak doporučují Ševela a Továrek (5). Inaktivaci acetonem jsme prováděli podle původního sdělení Latnerova (6), smísením 0,5 ml nehemolytického séra, 0,5 ml redestilované vody a 0,5 ml acetonu p. a. Po oddělení sraženiny bílkovin centrifugací při 4000 otáčkách po 20 minut bylo 0,3 ml čirého supernatantu odpařeno v proudě vzduchu při pokojové teplotě nebo ve vakuu a odparek rozpuštěn v 0,05 M tris-puftru o pH 8,8 a zpracován jako sérum ředěné již 5krát.

### K. F. + 69 roků

Aktivita	u M k. p.
LDH celkové	21,4
LDH termorezistentní	16,1 (75 %)
LDH acetonrezistentní	4,0
GOT	5,6
GPT	11,76



Obr. 1.

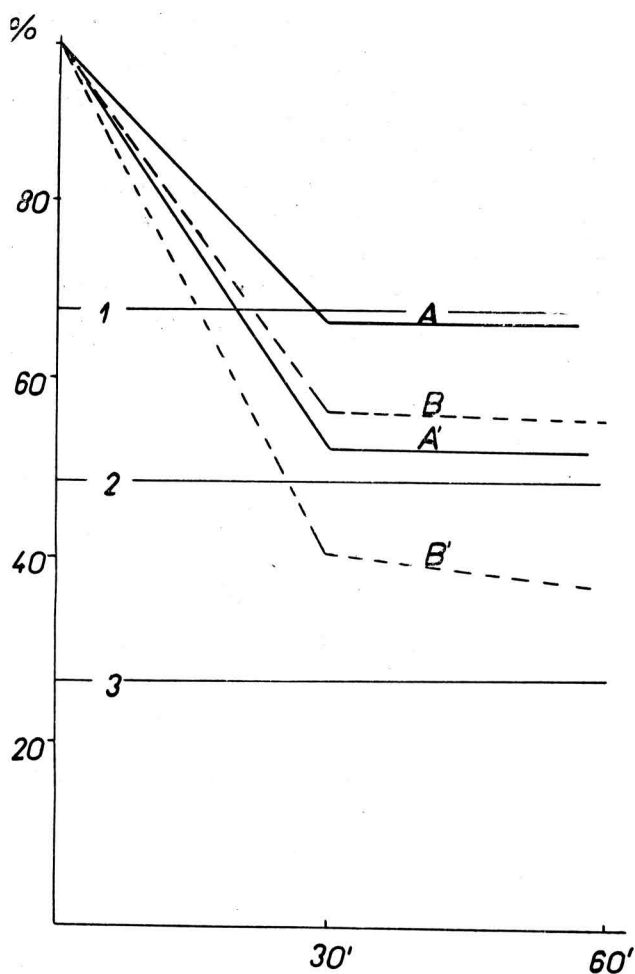
Změny v aktivitě LDH po inaktivaci při 57 °C po 30 minut u 9 nemocných s infarktem myokardu. Přerušovaná linie udává průměrné procento inaktivace u osob kontrolní skupiny.

Inaktivaci chloroformem jsme prováděli podle údajů Warburtonových (7). Při stanovení aktivity po aplikaci chloroformu jsme však získali při použití fotokolorimetrické metody nehodnotitelné výsledky.

### Výsledky

Aktivita termorezistentní frakce činila u kontrolní skupiny průměrně 68 % celkové aktivity LDH. U nemocných s infarktem myokardu jsme nacházeli hodnoty sice většinou vyšší, avšak zvýšení nebylo často příliš výrazné a odlišení od kontrolní skupiny bylo nepřesné (obr. 1). Při použití teploty 60 °C po dobu 60 minut jsou rozdíly zřetelnější (obr. 2).

Aktivita acetonrezistentní frakce LDH je u osob kontrolní skupiny poměrně stálá a pohybuje se mezi 2–3 uM kys. pyrohroznové (2,76 ± 0,12 uM k. p., variační šíře 2,2–4,4 uM k. p.). Zvýšení u nemocných s infarktem myokardu se objevilo první nebo druhý den po začátku onemocnění a trvalo průkazně u všech do 7. až 8. dne, u některých i déle (obr. 3). Ve všech případech



Obr. 2.

Změny v aktivitě LDH u dvou nemocných s infarktem myokardu (č. 6 a 9 z obr. 1) po inaktivaci při různých teplotách.

- A, B — inaktivace při 57 °C za 30 a 60 minut
- A', B' — inaktivace při 60 °C za 30 a 60 minut
- 1 — průměrná inaktivace LDH u normálních osob při 57 °C za 30 minut
- 2 — průměrná inaktivace LDH u normálních osob při 60 °C za 30 minut
- 3 — průměrná inaktivace LDH u normálních osob při 60 °C za 60 minut

trvalo déle než zvýšení aktivity transaminázy kyseliny glutamové-oxaloctové. Aktivita celkové LDH probíhala spíše souhlasně s aktivitou acetonrezistentní frakce.

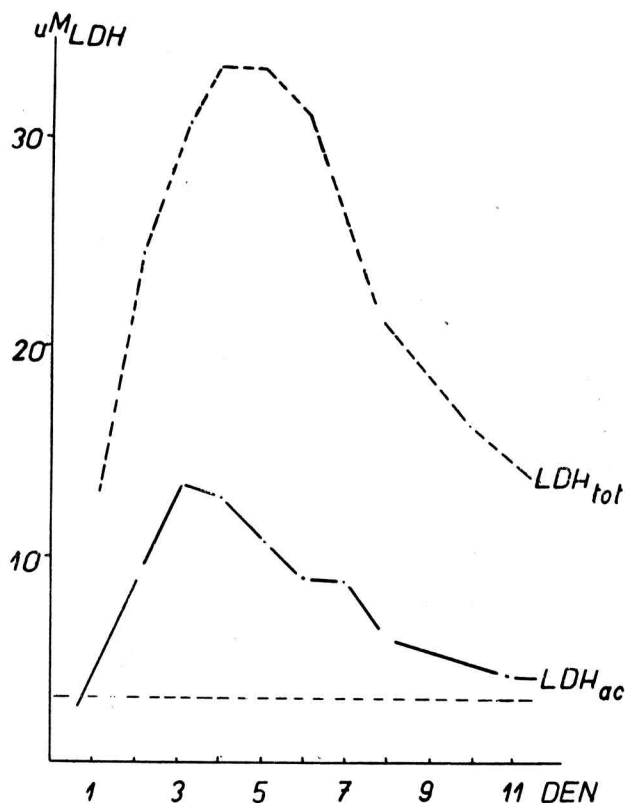
V tabulce uvádíme přehled enzymatických vyšetření u nemocného K. F., 69 r., č. chorobopisu 1216, který byl hospitalizován na II. vnitřním oddělení ÚVN. Předchorobí: Od r. 1920 chron. osteomyelitis s častými exacerbacemi, v r. 1963 zjištěny prekancerózní změny v píštlí, a proto byla indikována amputace bérce. V pooperačním průběhu došlo náhle k šokovému stavu s protrahovaným průběhem. Nemocný udával tlak na prsou a obtížně dýchal. První ekg. vyšetření nemohlo vyloučit případné čerstvé změny svědčící pro počínající infarkt myokardu. Ve zdánlivém souhlase s tím byly i zvýšeny hodnoty transaminázy kyseliny glutamové-oxaloctové, glutamové-pyrohroznové a LDH. Prakticky normální hodnota acetonrezistentní frakce LDH svědčila proti infarktu myokardu, vyšetření termorezistentní frakce LDH nebylo přesvědčivé. Rovněž v dalším průběhu nesvědčily změny ekg pro vývoj infarktu. Nemocný

po 8 dnech exitoval a také sekčně byl infarkt myokardu vyloučen.

### Diskuse

Z výsledků prací autorů, kteří sledovali kvantitativní změny všech izoenzymů LDH vyplývá, že největší vzestup aktivity při infarktu myokardu vykazuje LDH<sub>1</sub>, menší, ale přesto dosti značný LDH<sub>2</sub> (8, 9, 10). Posoudíme-li změny v aktivitě LDH při inaktivaci teplotou 57 °C po dobu 30 minut podle původních údajů Plagemannových (11), z nichž vycházejí všechny termoinaktivací metody, je zřejmé, že při této teplotě může zůstat zachováno dosti mnoho LDH<sub>2</sub> izoenzymu, popřípadě i zbytky LDH<sub>3</sub> izoenzymu, což ovšem snižuje specifičnost metody. Zvýšením teploty lze tento nedostatek sice zmenšit, avšak i pak je rozdíl mezi hodnotami u normálních osob a u nemocných s infarktem myokardu dosti malý a vždy je třeba vyšetřit současně i LDH celkovou.

Naproti tomu při vyšetřování acetonrezistentní frakce LDH byly rozdíly mezi nemocnými s infarktem myokardu a osobami kontrolní skupiny podstatně výraznější, což ovšem zatím nelze vysvětlit tím, že acetonrezistentní frakce by byla totožná s LDH<sub>1</sub> izoenzymem. Výraznost rozdílů však dovoluje vynechat stanovení celkové LDH a provádět jen stanovení acetonrezistentní frakce.



Obr. 3.

Průměrné hodnoty aktivity celkové LDH (přerušovaná křivka) a acetonrezistentní frakce (plná křivka) u 18 nemocných s infarktem myokardu. Přerušovaná linie udává aktivitu acetonrezistentní frakce LDH u osob kontrolní skupiny.

**Závěr**

Vyšetřili jsme termorezistentní a acetonrezistentní frakci LDH u nemocných s infarktem myokardu. Stanovení acetonrezistentní frakce poskytuje lepší výsledky jak co do významnosti změn, tak i co do specifity a nevyžaduje současné stanovení LDH celkové.

Autoři děkují za technickou spolupráci s. F. Nyklovi.

**Literatura**

1. Wróblewski F., Gregory K. F.: Ann. N. Y. Acad. Sci., 94, 912, 1961.

2. Strandjord P. E., Kathleen J. C., Freier E. F.: JAMA, 182, 123, 1962.
3. Dubach U. C.: Schweiz. Med. Wschr., 92, 1436, 1962.
4. Latner A. L., Skillen A. W.: Proc. Ass. Clin. Biochem., 2, 5, 100, 1963.
5. Pojer J., Ninger E., Ševela M., Továrek J.: Enzymologie srdečního infarktu, SZdN, Praha 1963.
6. Latner A. L., Turner D. M.: Lancet, červen, 1293, 1963.
7. Warburton F. G., Smith D., Laing G. S.: Nature (Lond.), 198, 4878, 386, 1963.
8. Van der Helm H. J., Zondag H. A., Hartog H. A. Ph., van der Kooi M. W.: Clin. Chimica Acta, 7, 540, 1962.
9. Wieme R. J.: Studies on agar gel elektroforesis, Arscia Uitgaven, Brussel 1959.
10. Zázvorka Z., Kamarýt J.: Sdělení na III. celostátním sjezdu Čs. společnosti biochemické, Olomouc 1963.
11. Plagemann P. G. W., Gregory K. F., Wróblewski F.: Biochem. Zeitschr., 334, 37, 1961.
12. Englišová M., Engliš M., Kouřilek K., Mašek K.: ČLČ v tisku.
13. Englišová M., Engliš M., Kouřilek K., Mašek K.: Lancet, London, v tisku.

**JUBILEA**

**Soudruhům, kteří v poslední době oslavili své pětapadesátiny a padesátiny, přejeme jménem spolupracovníků i redakce VZL do dalších let mnoho štěstí a úspěchů:**

Plukovník MUDr. Teodor BLAŽEK, nar. 4. 6. 1909  
 plukovník MUDr. Jan BROŽÁK, nar. 3. 8. 1909  
 plukovník MUDr. Otakar JAROŠ, nar. 25. 3. 1909  
 plukovník Jan VACEK, nar. 19. 6. 1909

podplukovník MUDr. Ludvík LOREK, nar. 17. 6. 1914  
 podplukovník MUDr. Bedřich KRÁKORA, 27. 6. 1914  
 podplukovník MUDr. Miloslav PÍPAL, 15. 6. 1914.

**ZLEPŠOVACÍ NÁVRHY**

- ZN čís.:** 17 — HT/ZS — 64  
**Název ZN:** **Modifikace Pautlerova zařízení pro ambulantní podávání některých plyných anestetik**  
**Autor:** pplk. MUDr. M. Kugler, VN Plzeň  
**Stručný popis:** ZN vychází ze snahy zmenšit mrtvý prostor dýchacího systému v Pautlerově zařízení. Využívá kuželových nástavců na pohlčovač jednocestného systému podle Jadrného, které umožňují otočení pohlčovače v dýchacím systému a lepší využití vápenné směsi.  
 Odměna v místě podání Kčs 200,—  
 Informace: VN Plzeň, autor
- ZN čís.:** 16 — HT/ZS — 64  
**Název ZN:** **Kombinované odsávačka**  
**Autor:** Dr. Chott, o. z. Skála, dr. Střebovský, VN Plzeň  
**Stručný popis:** ZN celkem jednoduchým způsobem a z běžného materiálu dává návod k sestavení účinného odsávacího zařízení s možností měnění tlaku pro práci lékaře u lůžka nemocného. Pracuje na principu vodní vývěvy.  
 Odměna v místě podání 300,— Kčs  
 Informace: Vojenská nemocnice Plzeň, MNO — HT/ZS
- ZN čís.:** 15 — HT/ZS — 64  
**Název ZN:** **Specializované pracoviště pro přípravu očních léků**  
**Autor:** Brigáda soc. práce — zdrav. zásobování VN Plzeň  
**Stručný popis:** Úpravou pracovního stolu bylo vyhověno požadavku oddělené přípravy a zvláštních pomůcek pro přípravu očních léků. Pracoviště je kompletováno tak, aby vyhovovalo pracovním postupům. Čiřost roztoků lze kontrolovat proti zabudované zářivce. Proti prašnosti je pracovní prostor chráněn krytem umožňujícím pracovat za denního světla.  
 Odměna v místě podání Kčs 600,—  
 Informace: VN Plzeň

VOJENSKÉ ZDRAVOTNICKÉ LISTY: Vycházejí šestkrát ročně. Vydává Vojenská zdravotnická správa ve Vydavatelství časopisů MNO, Praha 1, Nové Město, Vladislavova 26. Vedoucí redaktor: MUDr. Jan Krška. Předseda redakční rady: MUDr. Josef Praveček. Zástupce předsedy: MUDr. Miroslav Hemala. Členové redakční rady: doc. MUDr. Ant. Beneš, MUDr. Miloš Divišovský, MUDr. Ctibor Drbal, PhMr. Hugo Fojtík, MUDr. Zdeněk Funk, MUDr. Miroslav Haňka, prof. MUDr. Vilo Jurkovič, MUDr. Frdriřch Kuchár, MUDr. Miloš Pavlíček, MUDr. František Pleskot, MVDr. Jiří Suk, Administrace: Vydavatelství časopisů MNO, distribuce, n. p., Praha 1, Nové Město, Vladislavova 26. Tiskne Naše vojsko, tiskárna, n. p. Adresa redakce: Ústřední vojenská nemocnice, Praha-Střešovice. C-4-10364/64