

UNIVERZITA PARDUBICE

FAKULTA CHEMICKO-TECHNOLOGICKÁ

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

2020

Ondřej Šimko

Univerzita Pardubice  
Fakulta chemicko-technologická

Gama-glutamyltransferasa jako biomarker onemocnění koronárních arterií

Bakalářská práce

Univerzita Pardubice  
Fakulta chemicko-technologická  
Akademický rok: 2018/2019

## ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Ondřej Šimko**  
Osobní číslo: **C16283**  
Studijní program: **B3912 Speciální chemicko-biologické obory**  
Studijní obor: **Zdravotní laborant**  
Název tématu: **Gama-glutamyltransferasa jako biomarker onemocnění koronárních arterií**  
Zadávající katedra: **Katedra biologických a biochemických věd**

### Z á s a d y p r o v y p r a c o v á n í :

1. Z dostupné literatury uspořádejte informace o využití gama-glutamyltransferasy jako biomarkeru onemocnění koronárních arterií.
2. Zpracujte také současné poznatky o stanovení gama-glutamyltransferasy v biologickém materiálu, včetně podmínek pro odběr, transport a uchování vzorku.
3. Změřte hladiny gama-glutamyltransferasy u vybraných pacientů s onemocněním koronárních arterií.
4. Aktuální poznatky a získané výsledky zpracujte a přehledně uspořádejte.

Rozsah grafických prací: **dle potřeby**  
Rozsah pracovní zprávy: **25 s.**  
Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná**  
Seznam odborné literatury:

Vedoucí bakalářské práce: **Mgr. Pavla Královcová, Ph.D.**  
Katedra biologických a biochemických věd

Datum zadání bakalářské práce: **21. prosince 2018**  
Termín odevzdání bakalářské práce: **4. července 2019**

prof. Ing. Petr Kalenda, CSc.  
děkan

L.S.

prof. Mgr. Roman Kandár, Ph.D.  
vedoucí katedry

V Pardubicích dne 28. února 2019

Prohlašuji:

Tuto práci jsem vypracoval samostatně. Veškeré literární prameny a informace, které jsem v práci využil, jsou uvedeny v seznamu použité literatury.

Byl jsem seznámen s tím, že se na moji práci vztahují práva a povinnosti vyplývající ze zákona č. 121/2000 Sb., o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon), ve znění pozdějších předpisů, zejména se skutečností, že Univerzita Pardubice má právo na uzavření licenční smlouvy o užití této práce jako školního díla podle § 60 odst. 1 autorského zákona, a s tím, že pokud dojde k užití této práce mnou nebo bude poskytnuta licence o užití jinému subjektu, je Univerzita Pardubice oprávněna ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložila, a to podle okolností až do jejich skutečné výše.

Beru na vědomí, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších předpisů, a směrnicí Univerzity Pardubice č. 7/2019 Pravidla pro odevzdávání, zveřejňování a formální úpravu závěrečných prací, ve znění pozdějších dodatků, bude práce zveřejněna prostřednictvím Digitální knihovny Univerzity Pardubice.

V Pardubicích dne 20. července 2020

Ondřej Šimko

## **PODĚKOVÁNÍ**

Rád bych poděkoval Mgr. Pavle Žákové, Ph.D. za cenné rady, vytrvalé vedení, neskonalou vstřícnost a velikou trpělivost při vypracování této práce. Dále bych chtěl poděkovat celé své rodině za podporu a trpělivost po celou dobu studia.

## **ANOTACE**

Gama-glutamyltransferasa je enzym, obecně známý jako indikátor míry hepato-biliárního poškození, ale především jako ukazatel míry konzumace alkoholu. Během posledního desetiletí byla však Gama-glutamyltransferasa zahrnuta do řady výzkumů, které popisují její možnou roli ve vzniku a vývoji aterosklerózy.

Tato práce se zabývá problematikou vztahu Gama-glutamyltransferasy a aterosklerózy. Přímá patofyziologická role Gama-glutamyltransferasy by mohla mít význam jako biomarker kardiovaskulárních onemocnění.

V rámci praktické části této práce byla měřena aktivita Gama-glutamyltransferasy u pacientů Pardubické nemocnice (Interní klinika – Kardiologické oddělení), kteří trpí běžnými kardiovaskulárními komplikacemi.

## **KLÍČOVÁ SLOVA**

Gama-glutamyltransferasa, ateroskleróza, stent, perkutánní koronární intervence

## **TITLE**

Gama-glutamyltransferase as a biomarker of coronary artery disease

## **ANNOTATION**

Gama-glutamyltransferase is an enzyme best known as a hepato-biliar damage indicator, but also an indicator of degree of the alcohol consumption. Over the last ten years, Gama-glutamyltransferase has been included in many studies describing its possible role in the development of atherosclerosis.

This thesis focuses on the relationship between Gama-glutamyltransferase and atherosclerosis. A direct pathophysiological role might be important as a biomarker of cardiovascular diseases.

Gama-glutamyltransferase activity was measured in patients of Pardubice Hospital (Internal clinic – Cardiology department) who suffer from common cardiovascular complications.

## **KEYWORDS**

Gama-glutamyltransferase, atherosclerosis, stent, percutaneous coronary intervention



## Obsah

SEZNAM ILUSTRACÍ .....	11
SEZNAM TABULEK .....	12
SEZNAM ZKRATEK A ZNAČEK .....	13
ÚVOD.....	14
A) TEORETICKÁ ČÁST .....	15
1. Gama-glutamyltransferasa .....	15
1.1. Funkce Gama-glutamyltransferasy .....	15
1.2. Gama-glutamyltransferasa a nealkoholická steatóza jater.....	17
1.3. Gama-glutamyltransferasa a konzumace alkoholu .....	18
2. Kardiovaskulární onemocnění .....	19
2.1. Epidemiologie ischemické choroby srdeční .....	19
2.2. Patogeneze aterosklerózy .....	20
2.3. Histologické a makroskopické změny .....	21
3. Gama-glutamyltransferasa a kardiovaskulární rizika .....	26
3.1 Asociace Gama-glutamyltransferasy a úmrtnosti na chronické koronární onemocnění .....	26
3.2. Mechanismus rozvoje aterosklerózy ve vztahu ke Gama-glutamyltransferase .....	27
3.2.3 Gama-glutamyltransferasa a kalcifikace tepen .....	30
3.3. Frakce b-Gama-glutamyltransferasa a aterosklerotické plaky .....	30
3.4. Vztah Gama-glutamyltransferasy a albuminu .....	31
3.5. Gama-glutamyltransferasa a statiny .....	31
4. Metody stanovení Gama-glutamyltransferasy .....	32
4.1. Spektrofotometrické stanovení .....	32
4.2. Vysokoúčinná kapalinová chromatografie .....	33
A) PRAKTICKÁ ČÁST .....	35
5. Materiály, pacienti a metoda stanovení .....	35

5.1. Pomůcky .....	35
5.2. Chemikálie.....	35
5.3. Pacienti .....	36
5.4. Vzorky .....	39
5.5. Princip metody .....	39
5.6. Postup .....	40
6. Výsledky .....	42
7. Diskuse.....	47
ZÁVĚR .....	50
POUŽITÁ LITERATURA .....	51
PŘÍLOHY .....	57

## SEZNAM ILUSTRACÍ

Obrázek 1: Popis dvou mechanismů GMT v rozvoji aterosklerózy .....	27
Obrázek 2: Eluční profil aktivity GMT .....	33
Obrázek 3 Pacienti s absorbovatelným stentem .....	46
Obrázek 4: Pacienti s lékovým stentem .....	46

## **SEZNAM TABULEK**

Tabulka 1: Přehled faktorů spojených s dysfunkcí endotelu a opatření, která jeho funkci zlepšují.....	22
Tabulka 2: Přehled prozánětlivých molekul .....	24
Tabulka 3: Přehled rizikových faktorů spojených s aterosklerózou .....	28
Tabulka 4: Složení činidla 1 .....	35
Tabulka 5: Složení činidla 2 .....	35
Tabulka 6: Složení reakční směsi .....	36
Tabulka 7: Přehled základních údajů o pacientech rozdělených dle závažnosti onemocnění..	37
Tabulka 8: Přehled základních údajů o pacientech rozdělených podle typu implantovaného stentu.....	38
Tabulka 9: Příprava směsi pracovní roztok-vzorek .....	40
Tabulka 10: Referenční hodnoty aktivit GMT .....	41
Tabulka 11: Výsledky aktivit GMT u pacientů, kteří se dostavili na DR po AKS (AIM nebo nestabilní AP) .....	42
Tabulka 12: Výsledky aktivit GMT u pacientů se stabilní AP, kteří se dostavili na DR .....	43
Tabulka 13: Výsledky aktivit GMT u pacientů, kteří trpí stabilní AP .....	44
Tabulka 14: Výsledky aktivit GMT u pacientů po AIM .....	45

## SEZNAM ZKRATEK A ZNAČEK

AIM	Akutní infarkt myokardu
AKS	Akutní koronární syndrom
AP	Angina pectoris
AS	Ateroskleróza
BMI	Body mass index
CMP	Cévní mozková příhoda
CRP	C-reaktivní protein
DM	Diabetes mellitus
DR	Dokončení revaskularizace
ED	Endoteliální dysfunkce
GMT	Gama-glutamyltransferasa
G-SH	Glutathion
HDL	Lipoproteiny o vysoké hustotě
HPLC	Vysokoúčinná kapalinová chromatografie
hs-CRP	Vysoce senzitivní C-reaktivní protein
ICHS	Ischemická choroba srdeční
IL-6	Interleukin 6
KVO	Kardiovaskulární onemocnění
LDL	Lipoproteiny o nízké hustotě
NAFLD	Nealkoholická steatóza jater
PCI	Perkutánní koronární intervence
SAP	Stabilní angina pectoris

## ÚVOD

Kardiovaskulární onemocnění patří mezi nemoci s největší úmrtností na světě. Hlavní příčinou vzniku kardiovaskulárních nemocí je ateroskleróza, která se může vyvíjet již v raném věku. Ateroskleróza je obecně pokládána za zánětlivý stav, kdy zánětlivými účinky je poškozen endotel cév, na kterém se později tvoří aterosklerotický plát. Tento plát postupně uzavírá cévu a omezuje její průsvit nebo se může utrhnout a způsobit trombózu. V obou případech dochází k ischemii – tkáň není zásobena okysličenou krví. Pokud dochází k ischemii v srdeční svalovině, jedná se o ischemickou chorobu srdeční.

Ischemická choroba srdeční může být chronická nebo akutní. Do skupiny chronické ischemické choroby srdeční spadá stabilní angina pectoris. Příznaky stabilní anginy pectoris trvají déle než 1 měsíc a objevují se obvykle jen při fyzické zátěži. Nestabilní angina pectoris způsobuje ischemické bolesti i v klidovém stavu a někdy se proto zařazuje už do skupiny akutní ischemické choroby srdeční. Do skupiny akutní ischemické choroby srdeční spadá akutní infarkt myokardu, kdy dojde k úplnému uzavření průsvitu cévy a vlivem ischemie myokardu vzniká nekróza. Již zmíněná nestabilní angina pectoris v některých případech přechází v akutní infarkt myokardu.

Cílem této práce bylo ověření hypotézy, zda by se Gama-glutamyltransferasa dala použít jako věrohodný biomarker kardiovaskulárních příhod. V posledním desetiletí se objevila řada studií, které se k této hypotéze přiklánějí. V této práci jsme měřili aktivity Gama-glutamyltransferasy u běžných kardiologických pacientů, kteří trpí stabilní/nestabilní anginou pectoris nebo prodělali akutní infarkt myokardu.

## A) TEORETICKÁ ČÁST

### 1. Gama-glutamyltransferasa

Gama-glutamyltransferasa (GMT) je enzym, který katalyzuje transport gama-glutamylové skupiny z gama-glutamylových peptidů, jako je glutathion (G-SH), na další peptidy a L-aminokyseliny. G-SH je považován za životně důležitý antioxidant, který zabraňuje poškození buněk volnými kyslíkovými radikály. GMT je distribuována v játrech, a proto byla většinou využívána jako indikátor porušení jaterního parenchymu, diagnostiku obstrukce žlučových cest, a především jako ukazatel míry konzumace alkoholu.

GMT je běžně přítomna v séru zdravých jedinců. Obecné referenční hodnoty jsou 0 - 0,5  $\mu\text{kat/l}$  (0 – 30 U/l). Bylo ovšem prokázáno, že referenční hodnoty se liší podle pohlaví: muži 0,18 – 1,02  $\mu\text{kat/l}$ ; ženy 0,15 – 0,65  $\mu\text{kat/l}$ . Novorozenci mají aktivitu GMT v séru šest až sedmkrát vyšší, než jsou horní referenční hranice. Okolo šesti měsíců tyto hodnoty klesají na hodnoty dospělých jedinců (1).

#### 1.1. Funkce Gama-glutamyltransferasy

GMT je N-terminální nukleofilní hydroláza, která se vyskytuje v buněčných membránách. Má širokou specifitu a štěpí gama-glutamylové vazby ve všech substrátech, ve kterých se nachází glutamátová skupina. Gama-glutamylové skupiny z G-SH jsou poté přeneseny do akceptorů jako jsou: aminokyseliny, peptidy nebo gama-glutamylové produkty uvolňující vodu a dipeptid cysteinyl-glycin. Ten je později hydrolyzován dipeptidázou na volný cystein a glycin. Dalšími substráty GMT jsou: oxidovaný G-SH, sloučeniny léčiv, glutathion-S, leukotrien C<sub>4</sub>, glutathion-S-oxid dusnatý a gamaglutamyltaurin (2).

Vysoká exprese enzymu na apikálním povrchu tkání, které mají tubulární struktury (např. proximální tubuly nefronu nebo hepatocytové tubulární systémy), vedly k hypotéze, že se GMT podílí na transportu aminokyselin přes buněčnou membránu (2).

Podle dosavadních znalostí je GMT důležitá pro svou schopnost zvyšovat dostupnost aminokyselin, zejména cysteinu, který představuje klíčový substrát pro intracelulární syntézu G-SH (produkty glykolýzy snadno dodávají glutamát a glycin). Velká aktivita GMT na povrchu buněk lemujících proximální ledvinové tubuly umožňuje štěpení G-SH přítomného

v glomerulárním filtrátu. To zabraňuje jeho eliminaci z organismu a zůstává zachována aminokyselina – zejména cystein (pro jeho intracelulární syntézu) (2).

### 1.1.1 Struktura a taxonomie

Savčí GMT je heterodimerní glykoprotein, který je ukotven k vnějšímu povrchu plazmatických membrán ve všech buňkách prostřednictvím malé N-terminální transmembránové domény. Lidská GMT je syntetizována jako jediný polypeptid složený z 569 aminokyselinových zbytků, který je enzymaticky neaktivní. Aktivační proces se skládá z posttranslační autoštěpící reakce, která je katalyzovaná zbytkem threoninu 381. Kompletní GMT zahrnuje čtyři frakce (b-GMT, m-GMT, f-GMT a s-GMT) a má molekulovou hmotnost 68 kDa. GMT se dělí do dvou podjednotek – velká podjednotka (46 kDa) je zodpovědná za ukotvení enzymu k buněčným membránám pomocí hydrofobní transmembránové domény a malá podjednotka (22 kDa) nese katalytické centrum. GMT nese 7 glukonových zbytků, které jsou spojeny N-glykosylačními vazbami lokalizovanými na vnějším povrchu proteinu. Tyto vazby jsou důležité pro správné skládání a aktivaci proteinu, kromě čtyř cysteinových zbytků, které vytvářejí disulfidové vazby a tím stabilizují strukturu. Každá molekula má odlišný stupeň glykosylace, to má za následek změny v molekulové hmotnosti, tkáňové specifitě nebo molekulární varianty enzymu související s onemocněním (2).

Lidská GMT je kódována multigenovou rodinou skládající se ze 7 různých genů nebo pseudogenů umístěných na chromozomu 22q11. Nejlépe charakterizovaný je gen GMT 1, který kóduje jediný polypeptid a ten podléhá posttranslačním změnám za vzniku zralého enzymu. GMT 1 genová transkripce je řízena několika tandemově umístěnými promotory. Tyto promotory a alternativní sestřih přispívají k rozmanitosti molekulárních forem a tkáňových specifik GMT. Gen GMT 2 představuje duplikaci genu GMT 1 s 97 % nukleotidovou analogií mezi oběma geny a 94 % analogií aminokyselin mezi jejich polypeptidovými produkty (2).

Je prokázáno, že exprese genu GMT u zvířat a lidí je řízena redoxními mechanismy a signálními cestami aktivovanými v reakci na oxidační stres. Alkohol je známý induktor exprese GMT genu, pravděpodobně prostřednictvím zvýšeného oxidačního stresu způsobeného jeho konzumací (2).

Zdroj cirkulující GMT je nejasný a neexistují důkazy podporující korelaci mezi hladinami cirkulujícího a tkáňového enzymu, předpokládá se, že převážná část GMT pochází z jater. Byla také navržena možnost, že část GMT může pocházet z aterosklerotických plátů.



Dřívější výzkumy identifikovaly jak amfifilní (buď asociované s plazmatickými proteiny nebo ve formě komplexů s více enzymy), jakož i hydrofilní formy enzymu. Nyní je známo, že GMT cirkuluje ve více formách a liší se hlavně stupněm glykosylace. Odhaduje se, že 60-80 % sérové GMT u pacientů s hepatobiliárními onemocněními cirkuluje navázaná na lipoproteiny. Aktivita GMT vykazuje velkou míru variability a je ovlivněna jak genetickými, tak enviromentálními faktory. Patologické procesy, zejména v orgánech s nejvyšší aktivitou enzymu, mohou vést ke zvýšeným hladinám GMT v oběhu. Hladiny cirkulující GMT jsou výrazně zvýšeny u pacientů s onemocněním jater (2).

## **1.2. Gama-glutamyltransferasa a nealkoholická steatóza jater**

Nealkoholická steatóza jater (NAFLD) je považována za nejčastější poruchu jater, při které se vyskytuje zvýšená hladina jaterních enzymů, včetně GMT. Bylo navrženo, že GMT může představovat souvislost mezi NAFLD a časnou aterosklerózou. NAFLD je považována za jaterní ekvivalent metabolického syndromu kvůli její asociaci s aterogenní dyslipidemií, obezitou a diabetem 2. typu. Ve skutečnosti NAFLD a metabolický syndrom sdílejí společné rysy včetně arteriální hypertenze, inzulinové rezistence, zvýšených hladin triglyceridů, hyperurikémie, snížená tolerance glukózy, obezita, diabetes, chronický zánět, snížená hladina adiponektinu, zvýšený oxidační stres, hyperkoagulabilita a zhoršená fibrinolýza. Dalším společným rysem je porucha lipoproteinového metabolismu. Lipoproteiny jsou molekuly, které transportují plazmatické lipidy. V problematice aterosklerózy hrají velkou roli lipoproteiny o vysoké hustotě (HDL), které vycytávají cholesterol z krve a transportují ho do jater a lipoproteiny o nízké hustotě (LDL), které naopak transportují cholesterol z jater do krve. Tato problematika je blíže vysvětlená v kapitole dyslipidémie.

Pacienti s NAFLD mají zvýšené hladiny angiotensinu II - peptidového hormonu s prooxidační aktivitou, který se podílí na tvorbě volných kyslíkových radikálů a na produkci prozánětlivých mediátorů. Angiotensin II podporuje progresi aterosklerózy mnoha způsoby, včetně hemodynamických efektů, endoteliálních dysfunkcí, krevní srážlivosti a zranitelnosti plaků, o nichž je známo, že mají predispozici k mortalitě chronických koronárních onemocnění (2).

### **1.3. Gama-glutamyltransferasa a konzumace alkoholu**

Zvýšené aktivity GMT vyvolané nadměrnou konzumací alkoholu jsou součástí ochranného kompenzačního mechanismu vzhledem k tomu, že GMT udržuje intracelulární G-SH na dostatečných hladinách a tím chrání buňky před oxidačním stresem, který vzniká při metabolismu alkoholu. Mírná až střední konzumace alkoholu je spojena s nižším rizikem rozvoje kardiovaskulárních onemocnění a diabetes mellitus (DM) 2. typu, zatímco vysoká konzumace alkoholu vykazuje výrazně vyšší riziko těchto chorob (3).

Ukazuje se, že nejednotné korelace aktivit GMT s různými rizikovými markery aterogeneze (fibrinogenem, triglyceridy, LDL, celkovým cholesterolem, hladinou glukózy, inzulínem a CRP) lze zřejmě vysvětlit existencí 4 frakcí tohoto enzymu (b-GMT, f-GMT, m-GMT a s-GMT), z nichž především frakce b-GMT a f-GMT koreluje s kardiovaskulárními riziky (3).

## 2. Kardiovaskulární onemocnění

Kardiovaskulární onemocnění (KVO) stále zůstávají nejčastější příčinou úmrtí, a to jak v evropském, tak v celosvětovém měřítku (4).

### 2.1. Epidemiologie ischemické choroby srdeční

Pokud jde o Evropu, jsou KVO příčinou více než čtyř miliónů úmrtí ročně, což obnáší kolem 45 % všech úmrtí. Více než dva milióny osob přitom umírá předčasně, tzn. před dosažením 75, resp. 65 let věku (1 407 040, resp. 683 364 osob). KVO zahrnují v širším smyslu všechna onemocnění srdce a cév, tedy onemocnění, která souvisí s aterosklerózou tepen. Jedná se především o ischemickou chorobu srdeční (ICHS), cévní mozkové příhody (CMP) a ischemickou chorobu dolních končetin (5).

ICHS má v evropském kontextu nejvyšší podíl na příčině úmrtí v souvislosti s KVO (1 767 217 ze 4 002 632 osob). Jen samotná ICHS tedy tvoří v Evropě kolem 20 % všech úmrtí. Téměř 60 % osob přitom umírá na ICHS předčasně. Zhruba 40 % (692 982 osob) před dosažením 75. roku věku a přibližně 19 % (330 056 osob) před dosažením 65. roku. Pokud jde o epidemiologické rozdíly související s pohlavím, pak počty zemřelých v souvislosti KVO, jsou sice lehce vyšší u žen (ženy 54,3 %), ovšem předčasná úmrtí jsou jednoznačně četnější u mužů. V případě ICHS činí počet mužů zemřelých před dosažením 65. roku věku dokonce více než trojnásobek oproti ženskému souboru (252 427 mužů / 77629 žen) (5).

Výskyt i mortalita KVO vykazuje výrazné rozdíly mezi zeměmi celosvětově i v evropském měřítku. V rámci zemí Evropské unie (EU) je zemí s nejnižší mortalitou na CVO Francie s roční incidencí 275,2/100 000 u mužů a 174,1/100 000 u žen. Zemí s nejvyšší mortalitou je pak Bulharsko: 1299,5/100 000 u mužů, 959,6/100 000 u žen. Mimo země EU je v rámci území Evropy situace stran mortality na KVO nejpriznivější v Izraeli: 255/100 000 u mužů, 194,9/100 000 u žen. Nejhorší hodnoty u mužů vykazuje Ukrajina: 1544,9/100 000, u žen Kyrgyzstán: 1087,4/100 000 (5).

Mortalita v souvislosti s KVO i s ICHS je v České republice v porovnání se zeměmi západní Evropy obecně vyšší. Při porovnání epidemiologických dat se zeměmi východní Evropy je situace v České republice příznivější, s výjimkou Polska. Konkrétně, incidence mortality KVO v České republice je 747,6/100 000 u mužů, 538,2/100 000 u žen, incidence mortality v souvislosti s ICHS pak 425,3/100 000 u mužů, resp. 279,6/100 000 u žen. Pokud jde o trend vývoje. V České republice podobně jako ve většině evropských zemí dochází

v posledních zhruba deseti letech k významnému poklesu mortality v souvislosti s KVO: u mužů o 32,4 % u žen o 43 %. V případě ICHS již data pro Českou republiku nejsou natolik příznivá. V populaci mužů byl sice zaznamenán pokles (o 4,1 %), ten je ovšem řádově nižší v porovnání s vývojem dat většiny ostatních evropských zemí. V populaci žen došlo v České republice dokonce ke stagnaci, resp. mírnému vzestupu úmrtnosti (o 0,13 %) (5).

Závěrem epidemiologie lze konstatovat, že KVO jsou nejčastější příčinou úmrtí v celosvětově i v rámci Evropy. Mají významné negativní socio-ekonomické důsledky. Epidemiologická data napříč evropskými zeměmi jsou různorodá. Země západní Evropy mají obecně nižší výskyt KVO než země střední, a především východní Evropy. Téměř ve všech zemích je patrný sestupný trend úmrtnosti na KVO. Epidemiologie ICHS vykazuje podobné charakteristiky, s tím, že v případě České republiky jsou data pro ICHS v porovnání s ostatními evropskými zeměmi méně příznivá. V populaci mužů byl sice zaznamenán mírný pokles morbidity, ten je ovšem řádově nižší v porovnání s vývojem dat většiny ostatních evropských zemí. V populaci žen došlo v České republice dokonce ke stagnaci, resp. velmi mírnému vzestupu úmrtnosti (5).

## **2.2. Patogeneze aterosklerózy**

Rozsah a intenzita aterosklerotického (AS) postižení tepen je výrazně závislá na věku. Zatímco u 15-19 letých obětí (nehod, vražd/sebevražd) jsou pokročilé AS změny koronárních tepen uváděny u 2, resp. 0 % pro mužské/ženské pohlaví, pak ve stejném souboru subjektů 30-34 letých jsou tyto změny referovány již u 20 % mužů a 8 % žen. Podobně u vzorků aorty vyšetřených v rámci odběrů za účelem transplantace orgánů je úroveň AS změn významně závislá na věku.

Patogeneze aterosklerózy je komplexní. Zahrnuje především problematiku související s endoteliální dysfunkcí, dyslipidemií, zánětem a imunologickými faktory, dále pak i problematiku ruptur AS plátů a kouření. Pokud jde o individuální výši rizika pro rozvoj AS změn, uplatňuje se kombinace faktorů životního prostředí, životního stylu a genetické výbavy jedince, včetně typu osobnosti, resp. reaktivity na stresové podněty (6).

## 2.3. Histologické a makroskopické změny

První stadia AS změn mohou začínat již v dětství a vyznačují se lipidovými (tukovými) proužky. Jedná se o ložiska ztlustění intimy, která jsou podmíněna především intracelulární akumulací lipidů, a to v makrofázích (tzv. pěnových buňkách). S progresí onemocnění do stádia intermediální léze dochází k zmnožení lipidů též v extracelulární hmotě následkem zaniklých pěnových buněk. Poslední fází časných AS změn je aterom, který již obsahuje zřetelně vytvořené lipidové jádro. Již toto počáteční stádium může obsahovat známky zánětlivé reakce (příměs T-lymfocytů). Během dalšího vývoje AS změn dochází k proliferaci hladkých svalových buněk v intimě, ke zvýšené syntéze vaziva (kolagenních a elastických vláken), které pak tvoří vrstvu nad lipidovým jádrem, hovoříme poté o fibroateromu. Pokročilé AS léze se pak vyznačují přítomností nekróz či kalcifikací. V souvislosti s rostoucím objemem léze stoupají nároky na zásobení struktur léze kyslíkem. V rámci pokročilých AS změn dochází tedy i k proliferaci, resp. novotvorbě cév vycházejících z vasa vasorum. Krvácení do AS léze z této neovaskularizační sítě patří mezi poměrně časté příčiny akcelerace progresu AS plátu, jeho nestability, či klinické manifestace AS postižení (6).

### 2.3.1 Endoteliální dysfunkce:

Neporušený jednovrstevný epitel endotelu tvoří jedinečnou bariéru mezi krví a potenciálně trombogenní subendoteliální tkání. Kromě homeostázy krevní srážlivosti se významně podílí na regulaci tonu cév, dále pak na regulaci úrovně zánětu a proliferace v rámci cévního systému. Endoteliální dysfunkce (ED), konkrétně deficit vazodilatační funkce endotelu, je mnohými považována za iniciální fázi/spouštěč aterosklerózy. Příčinou této vasodilatační dysfunkce endotelu je zřejmě především snížená schopnost endotelu vytvářet radikál oxidu dusnatého (NO•) (6).

ED je průvodním jevem řady tradičních rizikových faktorů pro AS, a naopak režimová opatření či léky, které zpomalují rozvoj AS změn zlepšují též funkci endotelu – viz Tabulka 1

**Tabulka 1: Přehled faktorů spojených s dysfunkcí endotelu a opatření, která jeho funkci zlepšují**

<b>Faktory spojené s dysfunkcí endotelu</b>	<b>Opatření, která zlepšují funkci endotelu</b>
Vyšší věk	L-arginin
Mužské pohlaví	Antioxidanty
ICHS v rodinné anamnéze	Ukončení kouření
Kouření	Snížení hladiny cholesterolu
Zvýšená hladina cholesterolu	Statiny
Nízká hladina HDL-cholesterolu	ACE inhibitory
Hypertenze	Fyzická aktivita
Zvýšená hladina homocysteinu	Středomořská dieta
Metabolický syndrom	
Vyšší podíl živočišných tuků ve stravě	
Duševní faktory, resp. stres	

### 2.3.2. Dyslipidémie

Narušení hladin lipidů je jedním z klíčových faktorů pro vznik a rozvoj AS změn. Epidemiologické studie uvádějí celosvětově přítomnou závislost incidence AS na hladině cholesterolu v séru. Od hodnot kolem 3,9 mmol/l (150 mg/dl) má křivka incidence AS stoupající tendenci.

Význam jednotlivých lipoproteinových tříd v patogenezi AS je rozdílný. Riziko rozvoje AS stoupá především s hladinou LDL, přičemž riziková je především jejich oxidovaná forma, která usnadňuje vychytávání LDL částic makrofágy, které se kumulací cholesterolu mění v pěnové buňky. U nich pak postupně dochází k poruchám funkce mitochondrií, apoptóze a nekróze pěnových buněk s uvolněním proteáz, zánětlivých cytosinů a protrombotických molekul. Celá tato kaskáda má pak vliv na vznik a rozvoj histologických změn cévní stěny, které byly uvedeny výše.

Hladina oxidovaných LDL, stejně jako hladina protilátek proti oxidovaným LDL koreluje významně s tíží ICHS.

Lipoproteiny třídy HDL jsou považovány z hlediska AS za protektivní. Ochranná funkce částic HDL spočívá ve vychytávání a transportu cholesterolu z periferních tkání, a tedy i z cévní stěny do jater, zlepšení funkce endotelu a v protizánětlivém i

antitrombotickém účinku. Studie uvádějí obrácenou korelaci hladiny HDL s rizikem AS - hodnoty HDL 1,5 mmol/l (60mg/dl) a vyšší jsou spojeny s redukcí rizika AS a hodnoty nad 1,9 mmol/l (75 mg/l) jsou uváděny u dlouhověkových osob. Nebylo ovšem zjištěno, že by vzestup hladin HDL, především u osob, které mají dobře kompenzovány hodnoty LDL, byl spojen se snížením rizika klinické symptomatiky ICHS. HDL lipoproteiny jsou proto považovány spíše za jeden z markerů rizika AS, nikoli za faktor, jehož ovlivnění by modifikovalo průběh AS. Jedním z dalších lipidů, jehož hladina vykazuje korelaci s rizikem AS je lipoprotein (a) – Lp(a). Jedná se o lipoprotein, který sestává z apolipoproteinu (a) a částice LDL. LDL částice Lp(a) má, jak bylo uvedeno výše, aterogenní efekt, druhá část molekuly Lp(a) - apolipoprotein(a) vykazuje pak podobnost s plasminogenem (krevní bílkovina, která po aktivaci na plasmin štěpí vlákna fibrinu a rozpouští trombus). Tato podobnost má za následek zhoršení fibrinolýzy. Těmito mechanismy je vysvětlován negativní efekt Lp(a) na AS (6).

### **2.3.3. Zánět**

Zánětlivé změny v rámci AS změn uvádějí práce již od počátků studia AS. Mechanismy související se zánětem představují jeden z klíčových prvků pochopení patogeneze AS. Makrofágy plátů se podílí na produkci oxidovaných LDL částic. Oxidace LDL je základem oxidativní hypotézy patogeneze AS. Oxidované částice LDL mají přímý cytotoxický účinek na buňky endotelu, kromě toho také modulují makrofágy a buňkami hladké svaloviny zprostředkovanou syntézu proaterogenních cytokinů a růstových faktorů, tyto částice jsou též imunogenní, tzn. - aktivují mechanismy související s humorální a buněčnou imunitou. Souhrn molekul a jejich role v zánětlivých mechanismech AS změn viz Tabulka 2.

**Tabulka 2: Přehled prozánětlivých molekul**

<b>Molekuly se vztahem k zánětlivým mechanismům AS</b>	<b>Místo produkce</b>	<b>Účinek</b>
Adhezivní molekuly: ICAM-1, VCAM-1, E selektin (ELAM 1)	endotel, leukocyty	usnadnění adheze leukocytů k endotelu
Monocytární chemotaktický protein (MCP-1)	endotel, buňky hladké svaloviny	usnadnění průniku monocytů a makrofágů do subendoteliální vrstvy
Makrofágy a granulocyty stimulující faktor (GM-CSF)	růstový faktor především buněk myeloidní řady	Zvýšení produkce prozánětlivých cytokinů makrofágy
CD 40 ligand	buňky imunitního systému	zvýšení produkce prozánětlivých cytokinů, chemokinů a matrixových metaloproteináz
Interleukin 1	makrofágy, monocyty, B lymfocyty, dendritické buňky	prozánětlivý efekt (maturace a proliferace buněk imunitního systému)
Interleukin 3	aktivované T lymfocyty, NK buňky, endotel, eozinofily	Podobný jako interleukin 1
Interleukin 6	makrofágy, B lymfocyty, endotel	diferenciace buněk imunitního systému, zvýšení sekrece protilátek
Interleukin 8	makrofágy, lymfocyty, endotel	zvýšení fagocytózy, chemotaxe



		neutrofilů
Interleukin 18	makrofágy	stimulace produkce interferonu gamma (zvl.lymfocyty), stimulace NK buněk
TNF- $\alpha$	makrofágy, aktivované T lymfocyty, NK buňky	negativní vliv na funkci endotelu, hladkých svalových buněk, indukce apoptózy
Fosfolipáza A2 asociovaná s lipoproteinem (Lp-PLA2)	Makrofágy	Prozánětlivý efekt
Toll like receptor 4 (receptor podobný genu Toll) (TLR 4)	receptory na povrchu monocyťů, makrofágů, dendritických buněk	Navázání cizorodé molekuly na TLR spouští signální kaskádu, která má za následek aktivaci T i B lymfocytů.
S těhotenstvím asociovaný plazmatický protein A (PAPP-A)	Monocyty, makrofágy, endotel, buňky hladké svaloviny cév, fibroblasty	Metaloproteináza, která může narušit integritu fibrózní vrstvy plátu

Důkazy podporující význam zánětu v patogenezi AS pocházejí mj. i z pozorování, že zvýšené/snížené hladiny markerů systémového zánětu - např. vysoce senzitivního C-reaktivního proteinu (hs-CRP) či IL-6, jsou spojené se zvýšením/snížením rizika vzniku či klinické manifestace AS změn. Některé z těchto zánětlivých markerů mají pro klinickou praxi význam, pokud jde o posouzení rizika rozvoje AS. Například široce používaný zánětlivý maker hs-CRP, který nemá sice kauzální vztah k patogenezi AS, jeví dobrou korelaci s rizikem AS změn, a to nezávisle na hladinách cholesterolu (6).

### **3. Gama-glutamyltransferasa a kardiovaskulární rizika**

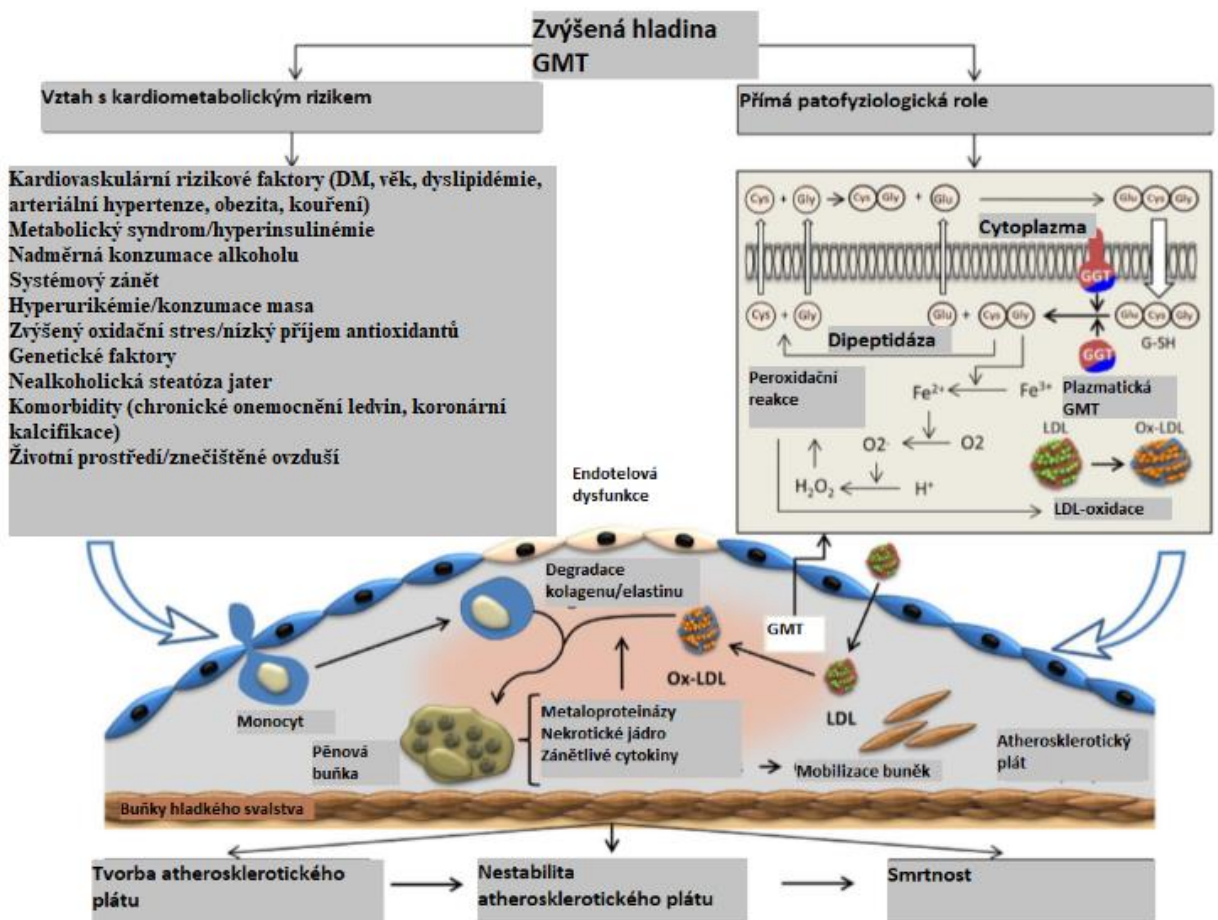
V současnosti se objevují nové studie zaměřující se na vztah GMT a koronárních rizik (7). Její prediktivní hladina je nezávislá ve srovnání s ostatními koronárními markery, onemocněním jater nebo konzumací alkoholu (8).

Velké epidemiologické studie také uvádějí silnou souvislost mezi zvýšenou hladinou GMT a téměř všemi známými důležitými kardiovaskulárními rizikovými faktory: vyšší věk, mužské pohlaví, kouření, nadváha, diabetes a další (2), (9).

#### **3.1 Asociace Gama-glutamyltransferasy a úmrtnosti na chronické koronární onemocnění**

Byly provedeny studie, které prokázaly spojení GMT a úmrtnosti mužů i žen. Souvislost mezi GMT a úmrtností byla výraznější u mladších pacientů ve srovnání se staršími. Neexistuje ovšem jednoznačný důkaz, že zvýšená aktivita GMT je spojena s akutními koronárními příhodami, jako je akutní infarkt myokardu (2), (10).

### 3.2. Mechanismus rozvoje aterosklerózy ve vztahu ke Gama-glutamyltransferase



Obrázek 1: Popis dvou mechanismů GMT v rozvoji aterosklerózy (2)

#### 3.2.1. Přímá patofyziologická role Gama-glutamyltransferasy

V obrázku 1 je vyobrazena přímá role GMT ve vývoji aterosklerózy. Přímá role GMT spočívá ve štěpení G-SH a produkci dipeptidu cysteinyl-glycinu. Ten si zachovává thiolovou skupinu a je reaktivnějším i silnějším redukčním činidlem než samotný G-SH. Vzniklé reaktivní formy kyslíku jsou tvořeny cysteinyl-glycinem, nikoli G-SH. Cysteinyl-glycinová skupina působí jako redukční činidlo k redukcí  $Fe^{3+}$  na  $Fe^{2+}$ . Železnatá forma se podílí na produkci reaktivních forem kyslíku včetně superoxidu a peroxidu vodíku. Tyto formy se podílejí na oxidaci lipoproteinů o nízké hustotě (2).

Souhrn těchto mechanismů nazýváme oxidační stres, který vyvolává zánět a způsobuje angiogenezi ve vaskulárních endoteliálních buňkách a hladkém svalstvu. GMT katalyzovaná oxidace LDL cholesterolu (přímo v aterosklerotických plátech) přispívá k rozvoji plátu a jeho nestabilitě. Dále vyvolává apoptotické děje vaskulárních buněk, způsobuje uvolňování lipidů a lysozomálních enzymů do subendotelového prostoru. Všechny výše uvedené skutečnosti

zrychlují stárnutí cévní stěny, resp. progresi aterosklerotických plátů a produkci nekrotických jader (9).

### 3.2.2. Vztah Gama-glutamyltransferasy s kardiometabolickými rizikovými faktory

Tato teorie je obecně známější, jelikož se jedná o známé rizikové faktory aterosklerózy (Tabulka 3) (2), (11):

**Tabulka 3: Přehled rizikových faktorů spojených s aterosklerózou**

Kardiovaskulární rizikové faktory: <ul style="list-style-type: none"><li>- Věk, mužské pohlaví</li><li>- Dyslipidémie</li><li>- Diabetes</li><li>- Arteriální hypertenze</li><li>- Obezita</li><li>- Kouření</li></ul>
Metabolický syndrom
Nadměrný příjem alkoholu
Systémový zánět
Hyperurikémie/konzumace masa
Zvýšený oxidační stres/nízký příjem antioxidantů
Genetické faktory
Nealkoholická steatóza jater
Komorbidity (chronické onemocnění ledvin, koronární kalcifikace)

#### 3.2.2.1. Gama-glutamyltransferasa a diabetes mellitus

Diabetes mellitus je považován za jedno z nejčastějších systémových onemocnění na světě. Vzniká, když slinivka břišní nevytváří dostatek inzulínu, nebo když tělo není schopno inzulín efektivně využívat (12). DM je silný nezávislý prediktor krátkodobých i dlouhodobých recidivujících ischemických příhod (13). Zrychlená ateroskleróza je hlavním

faktorem, který přispívá k vysokému riziku aterotrombotických příhod u pacientů s DM. V nejhorsích případech dochází k srdečnímu selhání, které souvisí s diabetickou kardiomyopatií. Ta ovšem není přímo spojena s hypertenzí nebo ICHS (13).

U pacientů s onemocněním DM byla zjištěna zvýšená hladina GMT a hs-CRP. Toto naznačuje lineární vztah mezi oxidačním stresem a zánětem (14). Muži a ženy s vyšší aktivitou sérové GMT mají dvakrát až třikrát vyšší riziko k rozvoje DM 2. typu než muži a ženy s nižší úrovní aktivity GMT. Bylo navrženo několik mechanismů, které by mohli vysvětlovat vztah GMT a DM 2. typu. Jedním z mechanismů je spojení GMT a DM prostřednictvím NAFLD, která se podílí na zhoršené jaterní rezistenci na inzulín. Jaterní steatóza přispívá k rozvoji inzulínové rezistence změnou sekrece lipidů, hepatokinů jako jsou: fetuin A, fetuin B, retinol vázající protein 4 a selenoprotein P (15). Nealkoholická steatóza jater byla nalezena přibližně u 70 % pacientů s DM a tento stav byl spojen se zvýšenou hladinou GMT i dalších jaterních enzymů (16).

Další teorie popisuje, že GMT může být markerem oxidačního stresu, který je důsledkem chronického subklinického zánětu a mohl by ovlivnit citlivost na inzulín prostřednictvím prozánětlivých cytokinů (15). Oxidační stres ve spojení s DM, zejména kvůli zvýšené mitochondriální produkci volných kyslíkových radikálů podporovaných hyperglykemií, je považován za hlavní mechanismus spojující DM a aterosklerózu. Zvýšená aktivita GMT je v tomto ohledu spíše marker antioxidační nedostatečnosti, a tudíž je pozitivně spojena s ICHS a všeobecným rizikem úmrtí u pacientů s DM (16).

Diabetes mellitus a GMT jsou také spojeny se zvýšenou hladinou CRP, což může ukazovat na zvýšenou zánětlivou zátěž. Z toho vyplývá, že diabetický status a zvýšená hladina GMT zvyšují oxidační stres, jehož markery korelují se zvýšeným rizikem úmrtí u pacientů s ICHS (16).

V aterosklerotických plátech byla detekována katalyticky aktivní GMT, která v přítomnosti železa vykazuje vyšší koncentraci v aterosklerotických placích než v normální arteriální stěně. Železo se podílí na peroxidaci lipidů a koreluje s rizikem nestability plaku. Diabetes sám o sobě zrychluje progresi plaku, zvyšuje složky lipidů, které se usazují v plaku a predisponuje k nestabilitě plaku. Následné uvolnění plátu způsobuje riziko akutních koronárních příhod (16).

Ke snížení rizika DM i vysokých hladin GMT je vhodné udržování tělesné hmotnosti, snížení konzumace alkoholu a zdravá strava (15).

### **3.2.2.2. Gama-glutamyltransferasa a arteriální hypertenze**

Vlivem arteriální hypertenze dochází k namáhání endotelu, který je náchylnější k rozvoji endoteliálního zánětu a následného vzniku aterosklerózy. GMT koreluje se systolickým i diastolickým krevním tlakem, arteriální ztuhlostí nebo aortální elasticitou. Podle studie GMT korelovala s hypertenzí zejména u pacientů, kteří nadměrně pijí alkohol a u pacientů s nadváhou. Nedávné metaanalýzy shrnují důkazy spojující zvýšené aktivity GMT a úroveň rizika arteriální hypertenze (17).

### **3.2.3 Gama-glutamyltransferasa a kalcifikace tepen**

Provedené studie často uvádějí možný význam vztahu aktivity GMT a stupně koronární kalcifikace.

Kalcifikace tepen je jednou z komplikací aterosklerózy. Aterosklerotické plaky jsou ve svém složení často heterogenní a obvykle sestávají z vláknité tkáně bohaté na lipidy a kalcifikované tkáně. Přítomnost vápníku může bránit proveditelnosti perkutánní koronární intervenci (PCI). Kvůli své tuhosti může kalcifikovaná tkáň bránit úplné dilataci stentu a způsobit selhání cílové cévy (18).

Stupeň kalcifikace cévy odráží zvýšené/snížené riziko vzniku akutních koronárních příhod. V tomto spojení může souviset kalcifikace cév s aktivitou GMT (19). Pacienti s vysokým stupněm kalcifikace cév měli i zvýšené aktivity GMT. Byli věku okolo 55–60 let, měli vyšší BMI, hypertonici, současní nebo bývalí kuřáci a byli méně fyzicky aktivní. Kromě aktivity GMT měli i zvýšené hladiny kyseliny močové, Alaninaminotransferasy, Aspartátaminotransferasy a hs-CRP (9).

Zdá se, že u asymptomatických žen je GMT nezávisle a pozitivně spojena s vyšším stupněm kalcifikace cév. Může být užitečná jako dočasný rizikový faktor pro určení koronární kalcifikace. Do této problematiky promlouvá i metabolický syndrom s CRP. Ty mohou být mediátory mechanismů, kterými GMT zvyšuje koronární kalcifikaci u asymptomatických žen (20).

### **3.3. Frakce b-Gama-glutamyltransferasa a aterosklerotické plaky**

V plazmě byly identifikovány čtyři frakce GMT. Pouze jedna z nich (b-GMT) byla nalezena v aterosklerotických placích (8), (21). B-GMT je největší frakce GMT a také nejvýznamnější z pohledu na aterosklerózu. Její molekulová hmotnost je 2000 kDa a odpovídá molekulové hmotnosti mikročástic nebo exomů, které by mohly umožňovat jejich

ukládání uvnitř plaku. Chemokinové vlastnosti b-GMT a schopnost oxidovat LDL, by mohly vysvětlit ko-lokalizaci s CD68<sup>+</sup> makrofágy. Významnou korelaci také vykazuje b-GMT s obsahem cholesterolových plaků. Vyšší hladina cholesterolu a infiltrace makrofágy může vést k poškození endotelu oxidovaným LDL, který by mohl usnadnit průchod plazmatické b-GMT do plaku (8).

Makrofágy, které jsou charakteristické svým prozánětlivým fenotypem, mohou přispívat k akumulaci b-GMT uvnitř aterosklerotického plátu. Tato skutečnost může hrát roli v progresi aterosklerózy modulací zánětlivých procesů a podporováním nestability aterosklerotického plátu (21).

Bylo prokázáno, že korelace mezi intraplakovou aktivitou GMT a plazmatickou f-GMT naznačuje, že i tato frakce by mohla proniknout plakem do poškozeného endotelu (8).

### **3.4. Vztah Gama-glutamyltransferasy a albuminu**

Albumin je hlavním plazmatickým proteinem a obecně se využívá k stanovení míry nutričního stavu a jaterní funkce. V poslední době koncentrace sérového albuminu byla spojena se zvýšeným rizikem rozvoje AIM, onemocnění koronárních tepen a CMP. Poměr GMT a albuminu by mohl být novým nezávislým prediktorem mortality a krvácivých příhod u pacientů s KVO a po prodělané PCI. Skupina s nízkým poměrem měla signifikantně vyšší počet úmrtí. Pacienti s vyšším poměrem GMT a albuminu mají téměř o 60 % nižší riziko krvácivých příhod (22).

### **3.5. Gama-glutamyltransferasa a statiny**

V klinické praxi se ke snížení hladin LDL používají statiny. V oblasti kardiologie se statiny staly standardem pro prevenci i léčbu ICHS. Statiny mají i pleotropní účinky. Tento účinek napomáhá ke zlepšení biologické dostupnosti oxidu dusnatého, reparaci poškozených buněk, podporuje angiogenezi, funguje jako protizánětlivý mediátor a antioxidant. Výzkum prokázal, že pokud statiny sníží hladiny LDL na 2-3 mmol/l, je riziko kardiovaskulárních příhod sníženo o 40–50 % (23).

Jak již bylo zmíněno, sérové hladiny GMT korelují s mnoha kardiovaskulárními rizikovými faktory. GMT přítomná v ateriálních aterosklerotických plátech může podporovat oxidaci LDL prostřednictvím redoxní reakce, která vede k dalšímu rozvoji plaku. Vztah mezi GMT a statiny (konkrétně atorvastatinem) ukazuje že, statiny snižují hladinu LDL a obsah LDL i GMT v ateromatózních placích. Studie prokázala, že LDL může být transportován do plaku pomocí GMT, která poté hraje významnou roli v progresi roli. Pokud je po nasazení

statinů hladina LDL snížena, exprese GMT v plaku je rovněž snížena. Další teorií je, že atorvastatin může snížit expresi GMT tím, že dojde ke snížení zánětlivých faktorů včetně oxidačního stresu. Za zánětlivé faktory lze považovat CRP a IL-6, které odrážejí stav aterosklerotického zánětu. Mnoho studií prokázalo pozitivní korelace mezi hladinami sérové GMT, CRP a IL-6. GMT je hlavním enzymem, který katalyzuje metabolismus thiolového antioxidantu G-SH. Jeho úroveň může odrážet stupeň zánětu a oxidačního stresu. Podle experimentu na laboratorních myších bylo zjištěno, že myši krmené atorvastatinem vykazovaly hladiny GMT, CRP a IL-6 snížené (23).

#### **4. Metody stanovení Gama-glutamyltransferasy**

Aktivitu GMT lze stanovit několika způsoby. Můžeme stanovit celkovou aktivitu GMT, nebo jednotlivé frakce. K stanovení celkové GMT se využívají spektrofotometrické metody. K stanovení frakcí se využívá kapalinová chromatografie.

##### **4.1. Spektrofotometrické stanovení**

Spektrofotometrické stanovení je jednoduché a slouží k určení konkrétní enzymatické aktivity (24).

Měření sérové GMT se většinou měří metodou podle Szasze. Jedná se o kinetickou metodu pro stanovení celkové GMT s použitím L-y-glutamyl-p-nitroanilidu jako substrátu a glycyglycinu jako akceptoru. Aby se zabránilo špatné rozpustnosti L-y-glutamyl-p-nitroanilidu, Persijn a van der Slik zjistili, že L-y-glutamyl-3-karboxy-4-nitroanilid by byl lepší z hlediska stability a rozpustnosti.

Když se jako substrát použije L-y-glutamyl-p-nitroanilid, GMT katalyzuje přenos gama-glutamylové skupiny z bezbarvého substrátu L-y-glutamyl-p-nitroanilidu na akceptorový glycyglycin za vzniku barevného produktu p-nitroanilinu. Změna absorbance je potom přímo úměrná aktivitě GMT ve vzorku.

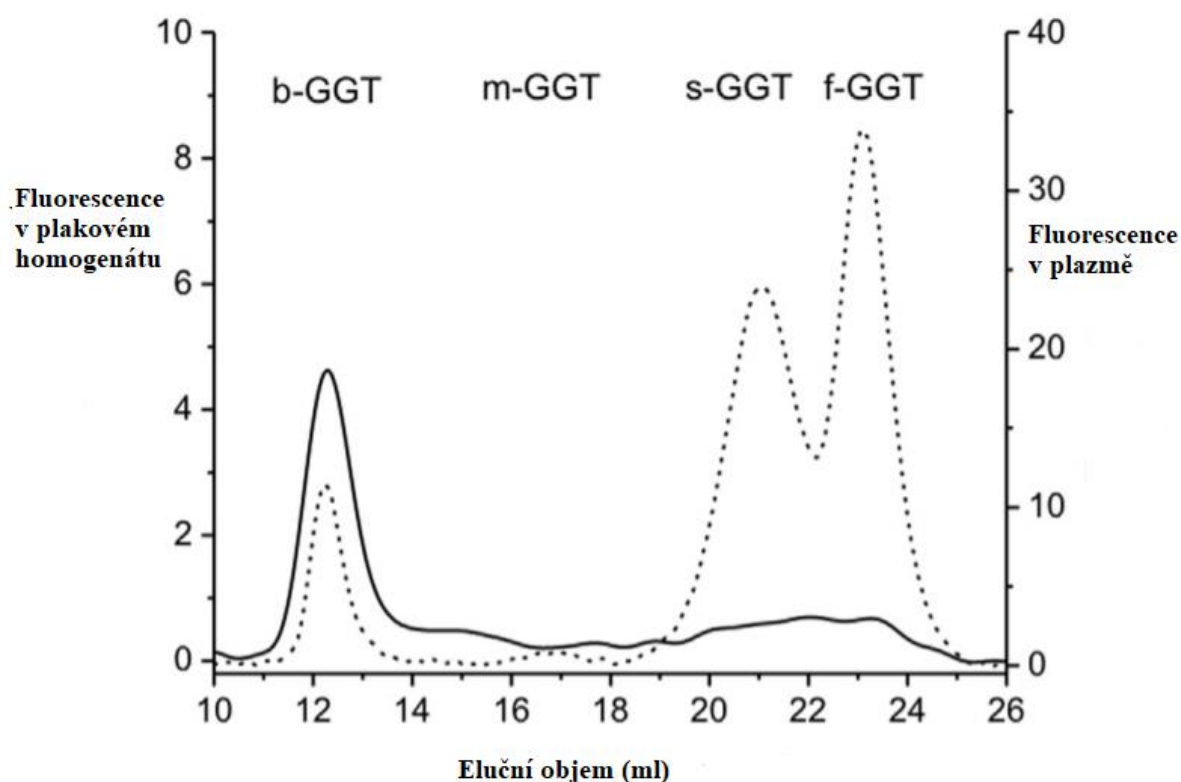
Zatímco když se použije L-y-glutamyl-3-karboxy-4-nitroanilid jako donorový substrát, GMT katalyzuje přenos gama-glutamylové skupiny na glycyglycinový akceptor za vzniku 3-karboxy-4-nitroanilinu a 5-amino-2-nitrobenzoátu. Změna absorbance při 410 nm souvisí s koncentrací 5-amino-2-nitrobenzoátu a je úměrná aktivitě GMT (25).



## 4.2. Vysokoučinná kapalinová chromatografie

Jedná se o separační metodu, která je založená na rozdělení organických látek mezi mobilní a stacionární fázi. Je velmi univerzální pro studium enzymové chemie. Pomocí této metody jsme schopni sledovat jednotlivé enzymatické reakce a vyhodnotit jejich relativní význam (26).

Vysokoučinná kapalinová chromatografie (HPLC) může být využita pro jakýkoli enzymatický test, který vyžaduje separaci substrátů a produktů před kvantifikací rozsahu reakce. Popularita HPLC je způsobena několika důvody: HPLC nabízí nepřekonatelnou přesnost, specifitu, citlivost a reprodukovatelnost. Výkonné počítače automatizují chod vzorků a shromažďování dat. Současné kolony (zejména náplně C18) oddělují velmi širokou škálu vzorků a řada on-line detektorů poskytuje prostředky k detekci prakticky jakékoli sloučeniny (27).



Obrázek 2: Eluční profil aktivity GMT v homogenátu plaku (souvislá čára) a plazmě (přerušovaná čára) získaný od stejného pacienta (2)

Frakční analýza GMT probíhá následovně. Plakové homogenáty a vzorky plazmy se vstříkují do kolony pro gelovou filtraci poté, co byly filtrovány polyvinylidenfluoridovým filtrem. Aktivita GMT se měří pomocí gama-glutamyl-7-amido-4-methyl-kumarinu, který je substrátem. Jako akceptor transpeptidační reakce se využívá glycyglycin. Pro detekci se využívá fluorescenční detektor detekuje signál amino-4-methylkumarinu a obvykle pracuje v excitačních/emisních vlnových délkách 380/440 nm. Za dodržení reakčních podmínek je plocha pod křivkou úměrná aktivitě GMT (Obrázek 2) (8).

## A) PRAKTICKÁ ČÁST

### 5. Materiály, pacienti a metoda stanovení

#### 5.1. Pomůcky

- Spektrofotometr (SHIMADZU UVmini-1240, Japonsko)
- Chladnička (Liebherr LH KTS 1414, Německo)
- Hlubokomrazicí box MDF – U3386S (Panasonic, Japonsko)
- Laboratorní třepačka REAX TOP s názvem (Heidolph, Německo)
- Blokový termostat ISOTEMP 145 D (Fisher Scientific, ČR)
- Automatické pipety: 10  $\mu$ l, 100  $\mu$ l, 1000  $\mu$ l (BioHit, Finsko)
- Mikrokumavky Eppendorf: 1 500  $\mu$ l
- Skleněné odměrné válce a kádinky
- Plastové kyvety (Brand GmbH + CO, Německo)
- Plastová stříčka (Fisher Scientific, ČR)
- Laboratorní rukavice X-GEN plus (Genesee Scientific, USA)

#### 5.2. Chemikálie

Ke stanovení byla použita souprava činidel od firmy Erba Lachema s.r.o. V následujících tabulkách (Tabulka 4-6) jsou uvedena složení činidel a reakční směsi.

**Tabulka 4: Složení činidla 1**

Činidlo 1	koncentrace
Tris pufr (pH 8,25)	125 mmol/l
Glycylglycin	125 mmol/l

**Tabulka 5: Složení činidla 2**

Činidlo 2	koncentrace
L- $\gamma$ -glutamyl-3-carboxy-4-nitroanilid	20 mmol/l

**Tabulka 6: Složení reakční směsi**

	<b>koncentrace</b>
Tris pufr (pH 8,25)	90,9 mmol/l
Glycylglycin	90,9 mmol/l
L- $\gamma$ -glutamyl-3-carboxy-4-nitroanilid	3,64 mmol/l

### **5.3. Pacienti**

Séra, která byla použita pro tuto bakalářskou práci, byla zpracována od pacientů Pardubické nemocnice (Interní klinika – Kardiologické oddělení). Tito pacienti dali informovaný souhlas (Příloha 1) k zařazení do studie s názvem „Zánětlivá reakce po implantaci koronárních stentů“. Tato studie je zaměřena na sledování markerů zánětu a oxidačního stresu u pacientů po perkutánní koronární intervenci (PCI). V souladu s touto studií byl dne 13.12. 2013 vydán souhlas Etické komise při Pardubické nemocnici, který uvádíme v Příloze 2.

V této práci jsme použili vzorky pacientů rozdělených do následujících skupin:

- 1) podle závažnosti onemocnění (Tabulka 7):
  - Pacienti, kteří se dostavili na dokončení revaskularizace (DR) po akutním koronárním syndromu (AKS) – AIM a nestabilní AP.
  - Pacienti, kteří se dostavili na DR a trpí stabilní anginou pectoris (SAP).
  - Pacienti s AIM.
  - Pacienti se SAP.
- 2) Podle typu implantovaného stentu (Tabulka 8):
  - Pacienti s lékovým stentem
  - Pacienti s absorbovatelným stentem

**Tabulka 7: Přehled základních údajů o pacientech rozdělených dle závažnosti onemocnění**

	<b>DR po AKS</b> <b>n = 8</b>	<b>DR SAP</b> <b>n = 4</b>	<b>AIM</b> <b>n = 2</b>	<b>SAP</b> <b>n = 6</b>
<b>Muži</b>	87,5 %	50 %	50 %	83,33 %
<b>Ženy</b>	12,5 %	50 %	50 %	16,66 %
<b>Typ aplikovaného stentu: Lékový/absorbovatelný</b>	62,5/37,5 %	50/50 %	50/50 %	33,33/66,66 %
<b>Věk nad 60 let</b>	75 %	100 %	0 %	83,33 %
<b>Nadváha</b>	100 %	100 %	50 %	66,66 %
<b>Kouření (současní/exkuřáci)</b>	50 %	75 % (vše exkuřáci)	100 % (exkuřáci)	50 % (exkuřáci)
<b>Diabetes mellitus</b>	12,5 %	0 %	0 %	33,33 %
<b>Statiný</b>	87,5 %	100 %	100 %	50 % až po zákroku  50 % již před zákrokem
<b>Hypertenze</b>	87,5 %	100 %	100 %	100 %
<b>AIM v minulosti</b>	50 %	0 %	0 %	0 %
<b>CMP v minulosti</b>	12,5 %	25 %	0 %	0 %
<b>Současně probíhající onemocnění</b>	100 %	100 %	100 %	100 %

**Tabulka 8: Přehled základních údajů o pacientech rozdělených podle typu implantovaného stentu**

	<b>Lékový stent</b>	<b>Absorbovatelný stent</b>
<b>Muži</b>	70 %	70 %
<b>Ženy</b>	30 %	30 %
<b>Věk nad 60 let</b>	80 %	70 %
<b>Nadváha</b>	80 %	60 %
<b>Kouření (současní/exkuřáci)</b>	50 %	80 %
<b>Diabetes mellitus</b>	10 %	10 %
<b>Statiny</b>	70 %	100 %
<b>Hypertenze</b>	90 %	70 %
<b>AIM v minulosti</b>	10 %	10 %
<b>CMP v minulosti</b>	20 %	0 %
<b>Současně probíhající onemocnění</b>	100 %	100 %

## 5.4. Vzorky

Stanovení GMT jsme prováděli ze vzorků séra. Od každého pacienta byly získány čtyři vzorky:

- A) Před zákrokem
- B) 24 hodin po zákroku
- C) 48 hodin po zákroku
- D) 3–12 měsíců po zákroku

Krev pro získání séra byla během transportu uchována v ledu a následně zpracována. Po transportu byla krev ponechána přibližně 30 minut při laboratorní teplotě. Dále byla provedena centrifugace, 10 minut při 3500 otáčkách za minutu. Získané sérum bylo odpipetováno do Eppendorf zkumavek a zmraženo při teplotě - 80 °C.

Pro stanovení GMT byla séra vyjmuta z mrazáku ponechána při laboratorní teplotě po dobu přibližně 30 minut. Po rozmrznutí sér byla stanovována aktivita GMT.

## 5.5. Princip metody

Kinetická kolorimetrická metoda podle Persij & van der Slik, standardizovaná na metodu doporučenou IFCC.

L- $\gamma$ -glutamyl-3carboxy-4-nitroanilid + glycyglycin

↓ GMT

L- $\gamma$ -glutamyl-glycyglycin + 5-amino-2-nitro-benzoát

Gamma-glutamyltransferasa katalyzuje přenos  $\gamma$ -glutamylové skupiny z L- $\gamma$ -glutamyl-3-karboxy-4-nitroanilidu na glycyglycin.

Množství uvolněného 5-amino-2-nitro-benzoátu je přímo úměrné aktivitě GMT ve vzorku a měří se kineticky při 405 nm.

## 5.6. Postup

### Příprava pracovních roztoků

Ke stanovení bylo použito jednoreagenční metody, proto jsme připravovali pracovní roztok v poměru 4 díly činidla 1 k 1 dílu činidla 2

Stabilita pracovních roztoků je udávána: 14 dní při 20–25 °C v temnu nebo 6 týdnů při 2–8 °C v temnu.

#### a) Příprava kontrolního vzorku

Lyofilizovaný kontrolní vzorek jsme rozpustili v předepsaném množství destilované vody, lehce promíchali a nechali 30 minut rozpouštět. Dále byl vzorek připraven ke kontrolnímu měření a ověření správnosti metody.

#### b) Příprava kalibrátoru

Příprava byla obdobná jako u kontrolního vzorku s tím rozdílem, že kalibrátor se rozpouštěl pouze 15 minut.

**Tabulka 9: Příprava směsi pracovní roztok-vzorek**

	<b>Reagenční blank</b>	<b>Kalibrátor</b>	<b>Vzorek</b>
<b>Pracovní roztok</b>	1000 ml	1000 ml	1000 ml
<b>Vzorek</b>	-	-	0,100 ml
<b>Kalibrátor</b>	-	0,100 ml	-
<b>Destilovaná voda</b>	0,100 ml	-	-

#### a) Měření vzorku

- Pro přípravu směsi pracovní roztok-vzorek jsme dodržovali postup uvedený v Tabulce 9.
- Směs ve zkumavce jsme promíchali na Vortexu a nechali inkubovat 1 minutu v termostatu při 37 °C.
- Během inkubace jsme nastavili na spektrofotometru fotometrické měření, vlnovou délku na 405 nm. Pro měření jsme zvolili kyvetu o tloušťce 1 cm.



- Po inkubaci jsme směs opatrně přelili ze zkumavky do plastové kyvety, kterou jsme umístili do spektrofotometru a začali měřit čas.
- Měřili jsme absorbanci po dobu tří minut a po každé minutě jsme si opsali hodnotu absorbance.
- Po skončení měření jsme vypočítali průměrnou absorbanci.

#### **b) Měření kalibrátoru a kontrolního vzorku**

Před měřením skutečných vzorků pacientů je třeba nejprve ověřit správnost metody. Výslednou hodnotu koncentrace GMT jsme poté porovnávali s hodnotami, které uvedl výrobce (Erba Lachema s.r.o.) kalibrátoru a kontrolního vzorku.

K získání hodnot absorbance kalibrátoru a kontrolního vzorku jsme postupovali stejně jako u měření vzorku.

#### **c) Výpočet aktivity GMT**

Po změření absorbancí kontrolního vzorku a kalibrátoru, bylo třeba zjistit výslednou aktivitu a porovnat ji s tabelovanými hodnotami. K výpočtu koncentrace jsme použili následující vzorec:

$$GMT (\mu\text{kat}/l) = c_{\text{kalibrátoru}} \cdot \frac{A_{\text{vzorku}}}{A_{\text{kalibrátoru}}}$$

Po ověření správnosti metody jsme provedli měření sér pacientů, které bylo obdobné jako měření kontrolního vzorku i kalibrátoru.

**Tabulka 10: Referenční hodnoty aktivit GMT**

	<b>Aktivita</b>
<b>Muži</b>	0,18 – 1,02 $\mu\text{kat}/l$
<b>Ženy</b>	0,15 – 0,65 $\mu\text{kat}/l$

Výrobce Erba Lachema s.r.o. uvádí vlastní referenční hodnoty aktivit GMT pro metodu podle Persij & van der Slik. (Tabulka 7)

## 6. Výsledky

**Tabulka 11: Výsledky aktivit GMT u pacientů, kteří se dostavili na DR po AKS (AIM nebo nestabilní AP)**

Onemocnění	Akutní koronární syndrom			
	Čas odběru	Před zákrokem	24 h	48 h
Enzym	GMT [ $\mu$ kat/l]			
Pacient 41	<b>1,2402</b>	<b>1,3323</b>	<b>1,6828</b>	<b>2,5737</b>
Pacient 43	0,4187	0,3707	0,5034	0,8877
<b>Pacient 51</b>	<b>0,6789</b>	<b>1,7419</b>	<b>1,1243</b>	<b>0,8371</b>
Pacient 63	0,9339	<b>1,4966</b>	<b>1,2029</b>	<b>1,1179</b>
Pacient 66	0,3890	<b>1,1148</b>	<b>1,9251</b>	<b>2,2283</b>
Pacient 65	0,8941	0,7754	0,3769	0,7745
Pacient 69	0,5255	0,9492	<b>1,4524</b>	<b>1,5430</b>
Pacient 39	0,3945	0,4116	<b>1,3414</b>	není
<b>Průměr</b>	0,6843	<b>1,0241</b>	<b>1,2011</b>	<b>1,4232</b>
<b>Směrodatná odchylka</b>	0,3122	0,4944	0,5359	0,7223

**Tabulka 12: Výsledky aktivit GMT u pacientů se stabilní AP, kteří se dostavili na DR**

<b>Onemocnění</b>	<b>Stabilní (chronická) Angina pectoris</b>			
<b>Čas odběru</b>	<b>Před zákrokem</b>	<b>24 h</b>	<b>48 h</b>	<b>3-12 měsíců po zákroku</b>
<b>Enzym</b>	<b>GMT [<math>\mu</math>kat/l]</b>			
Pacient 75	<b>1,0324</b>	0,9728	0,8897	0,6740
Pacient 67	0,4622	není	není	<b>1,3038</b>
Pacient 77	<b>1,6525</b>	<b>2,7646</b>	<b>1,9917</b>	<b>2,2097</b>
Pacient 58	0,6662	<b>1,9963</b>	0,9380	<b>1,3604</b>
<b>Průměr</b>	0,9533	<b>1,9112</b>	<b>1,2731</b>	<b>1,3870</b>
<b>Směrodatná odchylka</b>	0,5224	0,8989	0,6227	0,6305

**Tabulka 13: Výsledky aktivit GMT u pacientů, kteří trpí stabilní AP**

<b>Onemocnění</b>	<b>Stabilní (chronická) Angina pectoris</b>			
<b>Čas odběru</b>	<b>Před zákrokem</b>	<b>24 h</b>	<b>48 h</b>	<b>3-12 měsíců po zákroku</b>
<b>Enzym</b>	<b>GMT [<math>\mu</math>kat/l]</b>			
Pacient 55	0,5554	<b>1,7037</b>	<b>1,4902</b>	0,5421
Pacient 53	0,8766	<b>1,5062</b>	<b>2,3940</b>	<b>1,8523</b>
Pacient 54	<b>1,3984</b>	<b>1,0305</b>	<b>1,1159</b>	0,5898
Pacient 50	0,6692	<b>1,1426</b>	<b>1,2533</b>	<b>1,3416</b>
Pacient 62	0,3970	0,8919	0,8059	<b>1,5342</b>
Pacient 68	0,5339	<b>1,1681</b>	<b>1,1652</b>	není
<b>Průměr</b>	0,7384	<b>1,2405</b>	<b>1,3707</b>	<b>1,1720</b>
<b>Směrodatná odchylka</b>	0,3610	0,3051	0,5478	0,5828

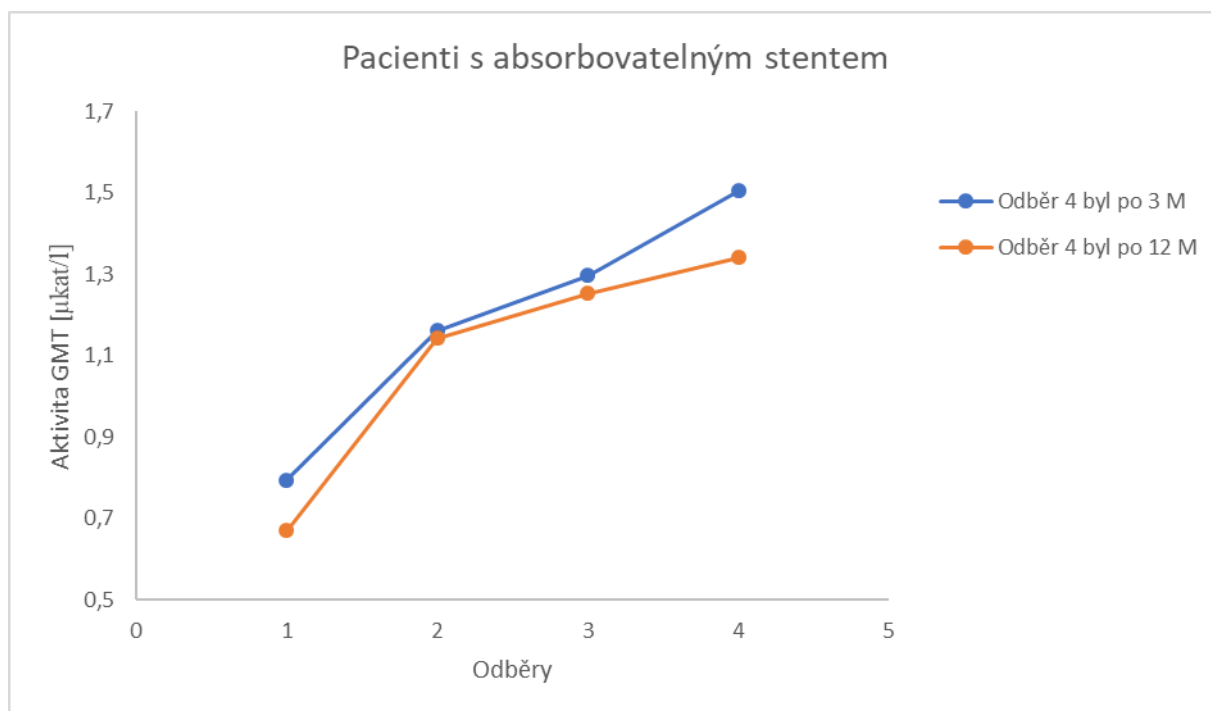
**Tabulka 14: Výsledky aktivit GMT u pacientů po AIM**

Onemocnění	Akutní infarkt myokardu			
Čas odběru	Ihned po přijetí	24 h	48 h	3-12 měsíců po zákroku
Enzym	GMT [ $\mu$ kat/l]			
Pacient 64	<b>0,9389</b>	<b>1,3543</b>	<b>1,6249</b>	<b>2,2063</b>
Pacient 76	0,2873	0,8919	0,4648	0,7574
<b>Průměr</b>	0,6131	<b>1,1231</b>	<b>1,0448</b>	<b>1,4818</b>
<b>Směrodatná odchylka</b>	0,4607	0,3267	0,8203	1,0245

V tabulkách 11 až 14 jsme muže zvýraznili modrou barvou a ženy červenou barvou. Aktivitu GMT vyšší než jsou referenční hodnoty jsme zvýraznili tučným písmem.

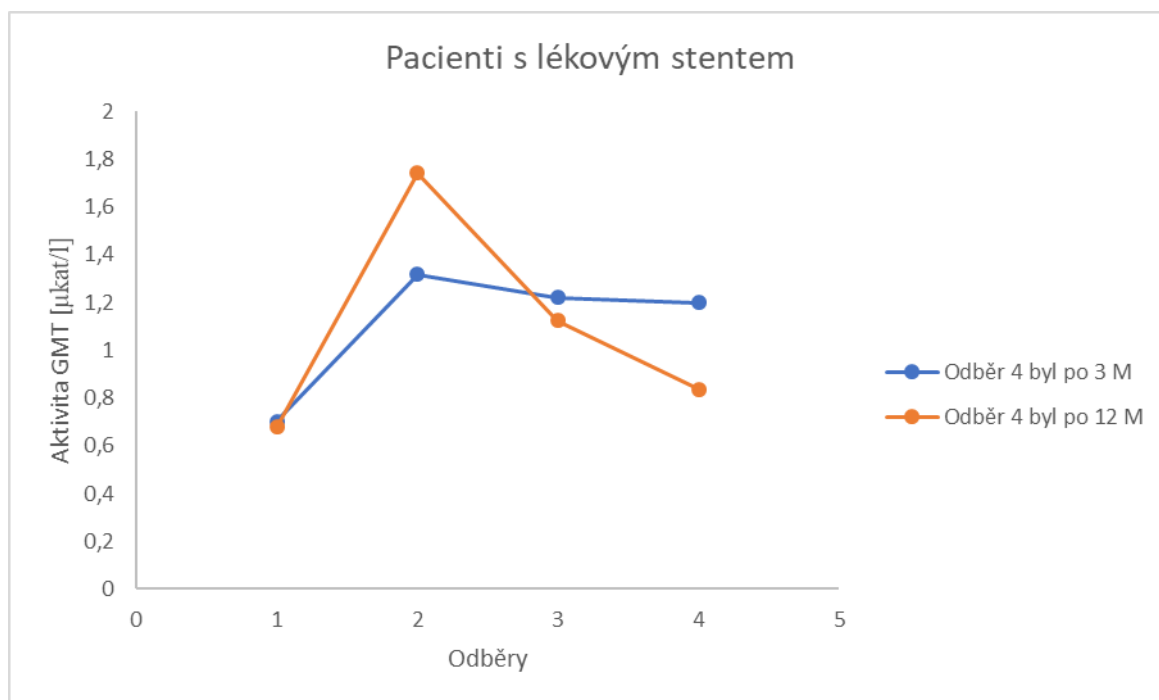
Rozdělení pacientů podle typu implantovaného stentu jsme znázornili pomocí dvou grafů (Obrázek 3, Obrázek 4). Zde je pomocí X,Y bodových grafů vyobrazena změna aktivit GMT v čase. Aktivity GMT jsou uvedeny jako průměr všech pacientů na každém odběru.

Obrázek 3 Pacienti s absorbovatelným stentem



Obrázek 3: Aktivita GMT mění se s časem u pacientů s absorbovatelným stentem: Odběr 1 – odběr před PCI; Odběr 2 – odběr 24 hodin po PCI; Odběr 3 – odběr 48 hodin po PCI; Odběr 4 – odběr 3 nebo 12 měsíců po PCI.

Obrázek 4: Pacienti s lékovým stentem



Obrázek 4: Aktivita GMT mění se s časem u pacientů s lékovým stentem: Odběr 1 – odběr před PCI; Odběr 2 – odběr 24 hodin po PCI; Odběr 3 – odběr 48 hodin po PCI; Odběr 4 – odběr 3 nebo 12 měsíců po PCI.

## 7. Diskuse

V této práci jsme aktivitu GMT měřili spektrofotometrickou kolorimetrickou metodou. Jako substrát jsme použili L- $\gamma$ -glutamyl-3-carboxy-4-nitroanilid, ze kterého se glutamyllová skupina přenáší na glycyglycin. Během této reakce vzniká žluté zbarvení, které je způsobeno 5-amino-2-nitro-benzoátem.

V této metodě bylo třeba se soustředit na několik zásadních věcí. Velice důležité bylo míchání. Z počátku jsme vzorek s pracovním roztokem míchali v kyvetě pomocí špičky pipety. Tento postup se ukázal jako nedostatečný, proto jsme začali směsi míchat ve Vortexu. Dále se nám zdálo, že pracovní roztok vykazuje nestabilitu na světle, proto jsme ho uchovávali během měření zabalený v alobalu.

Další komplikací byla hemolýza. Při měření aktivity GMT se měří intenzita žlutého zbarvení. Z literárních zdrojů se zdá, že při mírné hemolýze aktivita GMT klesá. Pokud nastane silnější hemolýza, dochází k interferenci červeného zbarvení se žlutým, kdy červené zbarvení žluté překryje a dojde ke zvýšení absorbance. Dále z literatury víme, že největší komplikace při měření aktivity GMT způsobuje střední až těžká hemolýza. V erythrocytech je obsah GMT několikanásobně větší než v krvi. Při silné hemolýze se začne uvolňovat GMT z erythrocytů a aktivita GMT strmě vzroste. Tato skutečnost může být způsobena kombinací nárůstu červeného zbarvení, které samo o sobě zvyšuje absorbanci a uvolněním GMT z erythrocytů. Při tomto druhu hemolýzy dochází zpravidla k nárůstu GMT přibližně o 26 % (28), (29). Při vyhodnocení jsme brali v potaz 6 silně hemolyzovaných vzorků, u kterých bude reálná aktivita GMT v séru pravděpodobně nižší. V jednom ze vzorků jsme objevili drobnou chylozitu. Ta může způsobovat drobný pokles aktivity GMT, neboť jeho zákal zkresluje hodnoty absorbance.

GMT je především známa jako enzym indikující poškození jaterní, žlučové a ledvinové tkáně. V posledním desetiletí se aktivity GMT objevují také jako možný marker oxidačního stresu a aterosklerózy. GMT katalyzuje štěpení G-SH, který je jedním z hlavních intracelulární antioxidantů. Spojení aterosklerózy a GMT vede ke dvěma teoriím. Buď GMT koreluje se známými kardiovaskulárními rizikovými faktory (obezita, DM, kouření atd.), nebo má přímou patofyziologickou roli ve vývoji aterosklerózy skrze oxidační stres. Jak je známo, oxidační stres je jedním z hlavních iniciátorů aterosklerózy. Vlivem oxidačního stresu dochází ke generaci reaktivních forem kyslíku, které podporují zánět a poškozují endotelovou tkáň. Kromě vzniku reaktivních forem kyslíku dochází také k oxidaci lipoproteinů o nízké hustotě,

kteří mají přímý cytotoxický účinek na buňky endotelu a dochází k degradaci kolagenu (2). Tyto patologické pochody vedou ke vzniku a progresi aterosklerotického plátu.

V této práci jsme se zaměřili na běžné pacienty Pardubické nemocnice (Interní klinika – Kardiologické oddělení), kteří jsou zahrnuti do studie „Zánětlivá reakce po implantaci koronárních stentů“. Tito pacienti trpí běžnými kardiovaskulárními komplikacemi, které většinou vyústí v nemoci jako AKS, SAP. Pacienty jsme také rozdělili do skupin podle typu implantovaného stentu. Měřili jsme sérové vzorky pacientů s lékovým stentem a u pacientů s absorbovatelným stentem. Občas se může stát, že imunitní systém na stent reaguje formou zánětu, dochází k restenóze nebo dokonce může dojít k rozvoji trombu v oblasti stentu. Proto je snaha vyvinout stent, který by plnil svoji funkci, časem se sám rozložil a nezpůsobil v těle zánět. Jedná se o absorbovatelný stent, který je součástí tohoto výzkumu.

Z našich výsledků je patrné, že komplikace po PCI vykazují častěji pacienti s novým absorbovatelným stentem než s lékovým. Dokonce u dvou pacientů došlo k život ohrožujícím stavům, tudíž u nich nemáme 2. a 3. odběr. U těchto pacientů došlo k brzké trombóze přímo na nově implantovaném stentu, a proto se z testování tohoto stentu dočasně upustilo. Je možné, že absorbovatelný stent by skutečně mohl přinést inovaci v rámci kardiologických zákroků, nicméně se zdá, že je spíše vhodný pro pacienty, kteří nemají potíže s trombotickými stavy. Trombotické stavy vykazují shluk trombocytů v místě zánětu. Aktivita GMT v membránách trombocytů je vyšší než v krvi, to může být jedním z důvodů zvýšené aktivity GMT (30). Trombotické stavy podporuje i podíl GMT na metabolismu leukotrienů, konkrétně přeměna leukotrienu C4 na leukotrien C5 (2).

Podle Obrázku 3 je patrné, že aktivita GMT, u pacientů s nově implantovaným absorbovatelným stentem, stoupá s časem, což u lékové stentu nebylo. Tato skutečnost může být způsobena možným podrážděním endotelu a vznikem zánětu v oblasti stentu. Přímá role GMT v patofyziologii aterosklerózy je především podpořena zvýšeným oxidačním stresem.

Podle našich dosavadních výsledků bychom mohli podpořit hypotézu, že by se GMT dala využít jako marker zánětu, jelikož u většiny našich pacientů došlo k nárůstu aktivit GMT po PCI. Z literatury víme, že GMT koreluje se zánětlivými markery jako hs-CRP nebo IL-6. Mimo jiné oba tyto zánětlivé markery mají svou roli ve vývoji aterosklerózy (23), (31).

Při nahlédnutí do lékařských karet pacientů (viz Příloha), jsme si potvrdili, že všichni trpí přidruženými chorobami. Téměř všichni pacienti mají zvýšený BMI, arteriální hypertenzi, zvýšené hladiny LDL-cholesterolu a různé stupně srdečního selhávání. Také většina z nich



jsou nebo byli aktivními kuřáky. Všechna zmíněná fakta jsou považována za obecně známé kardiovaskulární rizikové faktory (32). Tito pacienti obecně neměli jaterní, ledvinové nebo žlučové onemocnění. Myslíme si, že hlavními přidruženými nemocemi u našich pacientů jsou hyperlipoproteinémie, dyslipidémie a hypertenze.

Bohužel literatura na téma GMT a ateroskleróza je omezená a nepodařilo se nám najít důkaz, který by podporoval, že GMT by se dala využít jako biomarker různých stupňů kardiovaskulárních příhod. Naši pacienti měli podobné aktivity GMT bez rozdílu na závažnost jejich komplikací.

Podle literatury se zdá, že GMT by se dala využít jako biomarker mortality kardiovaskulárních příhod u mladších pacientů. V naší práci tuto hypotézu potvrdit nemůžeme, jelikož naše dva pacienty s ohrožením života se naštěstí podařilo zachránit.

## ZÁVĚR

Podle našeho názoru je stanovení aktivity GMT enzymatickou kolorimetrickou metodou vhodné pouze pro stanovení celkové aktivity GMT. Tuto metodu mohou negativně ovlivnit faktory jako hemolýza, nedostatečné míchání a nestabilita pracovního roztoku. V rámci studie GMT ve vztahu k ateroskleróze by bylo vhodné stanovit jednotlivé frakce GMT, jelikož z literatury víme, že b-GMT byla nalezena v aterosklerotických plátech.

GMT nelze využít jako biomarker stupně závažnosti kardiovaskulárních onemocnění. V našich výsledcích jsme nenalezli zásadní rozdíly aktivit GMT u pacientů po AKS oproti pacientům se SAP. Dle dostupné literatury by se GMT dala spíše využít jako prediktor mortality kardiovaskulárních příhod u mladších pacientů. Zdá se, že GMT má svůj význam ve vztahu k PCI. U většiny našich pacientů došlo ke zvýšení aktivit GMT po PCI bez ohledu na to, jaký stent jim byl implantován. Typ stentu ovlivňoval aktivity GMT spíše dlouhodobě. U lékového stentu aktivita GMT s časem klesala, zatímco u absorbovatelného stoukala. Vzrůst aktivit GMT u pacientů s absorbovatelným stentem může ukazovat na rozvoj možné zánětlivé reakce na implantovaný stent. Tato skutečnost podporuje teorii, že GMT by mohla být brána jako biomarker zánětu.

Naším cílem bylo spíše nastínit, zda má smysl zkoumat GMT ve vztahu k ateroskleróze. Tato problematika určitě má svůj smysl, nicméně pro další výzkumy bychom doporučili prozkoumat širší věkový rozptyl pacientů – směrem k mladším pacientům; zhodnotit větší počet pacientů a hlouběji prozkoumat vztah GMT a albuminu.

## POUŽITÁ LITERATURA

- 1) GOLDBERG, David M. Structural, Functional, and Clinical Aspects of  $\gamma$ -Glutamyltransferase. *CRC Critical Reviews in Clinical Laboratory Sciences* [online]. 2008, **12**(1), 1-58 [cit. 2020-07-15]. DOI: 10.3109/10408368009108725. ISSN 0590-8191. Dostupné z: <http://www.tandfonline.com/doi/full/10.3109/10408368009108725>
- 2) NDREPEPA, Gjin, Roisin COLLERAN a Adnan KASTRATI. Gamma-glutamyl transferase and the risk of atherosclerosis and coronary heart disease. *Clinica Chimica Acta* [online]. 2018, **476**, 130-138 [cit. 2020-07-15]. DOI: 10.1016/j.cca.2017.11.026. ISSN 00098981. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0009898117304692>
- 3) VAN BEEK, Jenny H.D.A., Marleen H.M. DE MOOR, Lot M. GEELS, et al. The association of alcohol intake with gamma-glutamyl transferase (GGT) levels: Evidence for correlated genetic effects. *Drug and Alcohol Dependence* [online]. 2014, **134**, 99-105 [cit. 2020-07-15]. DOI: 10.1016/j.drugalcdep.2013.09.016. ISSN 03768716. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0376871613003955>
- 4) TORRES, Nimbe, Martha GUEVARA-CRUZ, Laura A. VELÁZQUEZ-VILLEGAS a Armando R. TOVAR. Nutrition and Atherosclerosis. *Archives of Medical Research* [online]. 2015, **46**(5), 408-426 [cit. 2020-07-16]. DOI: 10.1016/j.arcmed.2015.05.010. ISSN 01884409. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0188440915001307>
- 5) TOWNSEND, Nick, Lauren WILSON, Prachi BHATNAGAR, et al. Cardiovascular disease in Europe: epidemiological update 2016. *European Heart Journal* [online]. 2016, **37**(42), 3232-3245 [cit. 2020-07-15]. DOI: 10.1093/eurheartj/ehw334. ISSN 0195-668X. Dostupné z: <https://academic.oup.com/eurheartj/article-lookup/doi/10.1093/eurheartj/ehw334>
- 6) ZHAO Xue-Qiao, Pathogenesis of atherosclerosis, [čerpáno 2020-07-10]. Dostupné z: [https://www-uptodate-com.ezproxy.is.cuni.cz/contents/pathogenesis-of-atherosclerosis?search=pathogenesis%20of%20atherosclerosis&source=search\\_result&selectedTitle=1~150&usage\\_type=default&display\\_rank=1#H27901057](https://www-uptodate-com.ezproxy.is.cuni.cz/contents/pathogenesis-of-atherosclerosis?search=pathogenesis%20of%20atherosclerosis&source=search_result&selectedTitle=1~150&usage_type=default&display_rank=1#H27901057)

- 7) FRANZINI, Maria, Alessandro CORTI, Barbara MARTINELLI, et al.  $\Gamma$ -Glutamyltransferase activity in human atherosclerotic plaques—Biochemical similarities with the circulating enzyme. *Atherosclerosis* [online]. 2009, **202**(1), 119-127 [cit. 2020-07-15]. DOI: 10.1016/j.atherosclerosis.2008.03.023. ISSN 00219150. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0021915008002359>
- 8) PUCCI, Angela, Maria FRANZINI, Marco MATTEUCCI, et al. B-Glutamyltransferase activity in human vulnerable carotid plaques. *Atherosclerosis* [online]. 2014, **237**(1), 307-313 [cit. 2020-07-15]. DOI: 10.1016/j.atherosclerosis.2014.09.028. ISSN 00219150. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0021915014014300>
- 9) CHO, Yun Kyung, Yu Mi KANG, Jenie Yoonoo HWANG, et al. Association between serum gamma-glutamyltransferase and the progression of coronary artery calcification. *Atherosclerosis* [online]. 2015, **243**(1), 300-306 [cit. 2020-07-15]. DOI: 10.1016/j.atherosclerosis.2015.09.027. ISSN 00219150. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0021915015301362>
- 10) YI, Sang-Wook, Sang-Hun LEE, Hee-Jin HWANG a Jee-Jeon YI. Gamma-glutamyltransferase and cardiovascular mortality in Korean adults: A cohort study. *Atherosclerosis* [online]. 2017, **265**, 102-109 [cit. 2020-07-15]. DOI: 10.1016/j.atherosclerosis.2017.08.028. ISSN 00219150. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0021915017312509>
- 11) LEE, Douglas S., Jane C. EVANS, Sander J. ROBINS, et al. Gamma Glutamyl Transferase and Metabolic Syndrome, Cardiovascular Disease, and Mortality Risk. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology* [online]. 2007, **27**(1), 127-133 [cit. 2020-07-17]. DOI: 10.1161/01.ATV.0000251993.20372.40. ISSN 1079-5642. Dostupné z: <https://www.ahajournals.org/doi/10.1161/01.ATV.0000251993.20372.40>
- 12) Clare O'DONNELL, in *Contact Lens Practice (Third Edition)*, 2018 EFRON, Nathan, ed. *Contact lens practice*. Third edition. Edinburgh: Elsevier, 2018; 314 – 320 ISBN 978-0-7020-6660-3. dostupné z: <https://www.sciencedirect.com/topics/medicine-and-dentistry/diabetes-mellitus>

- 13) GIOVANNI Davì, ... Natale Vazzana, in *Platelets* (Third Edition), 2013 MICHELSON, Alan D., ed. *Platelets*. 3rd ed. London: Elsevier, 2013. ISBN 978-0-12-387837-3. dostupné z: <https://www.sciencedirect.com/topics/medicine-and-dentistry/diabetes-mellitus>
- 14) M, B.S., D.A.S. Patted, D.V. Krisnamurthy, T Dak a D.S.K. Jayaram. PDB9 serum GGT and HSCRP: early predictors of oxidative stress and inflammation in type 2 diabetes mellitus patients with good and poor glycemic control. *Value in Health* [online]. 2019, **22** [cit. 2020-07-15]. DOI: 10.1016/j.jval.2019.09.891. ISSN 10983015. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1098301519332693>
- 15) LEE, Jun-Hyuk, Hye Sun LEE a Yong-Jae LEE. Serum  $\gamma$ -glutamyltransferase as an independent predictor for incident type 2 diabetes in middle-aged and older adults: Findings from the KoGES over 12 years of follow-up. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases* [online]. 2020 [cit. 2020-07-15]. DOI: 10.1016/j.numecd.2020.04.027. ISSN 09394753. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0939475320301496>
- 16) NDREPEPA, Gjin, Roisin COLLERAN, Anke LUTTERT, et al. Prognostic value of gamma-glutamyl transferase in patients with diabetes mellitus and coronary artery disease. *Clinical Biochemistry* [online]. 2016, **49**(15), 1127-1132 [cit. 2020-07-15]. DOI: 10.1016/j.clinbiochem.2016.05.018. ISSN 00099120. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0009912016300686>
- 17) NDREPEPA, Gjin a Adnan KASTRATI. Gamma-glutamyl transferase and cardiovascular disease. *Annals of Translational Medicine* [online]. 2016, **4**(24), 481-481 [cit. 2020-07-15]. DOI: 10.21037/atm.2016.12.27. ISSN 23055839. Dostupné z: <http://atm.amegroups.com/article/view/12996/13456>
- 18) LIU, Shengnan, Tara NELEMAN, Eline M.J. HARTMAN, et al. Automated Quantitative Assessment of Coronary Calcification Using Intravascular Ultrasound. *Ultrasound in Medicine & Biology* [online]. 2020 [cit. 2020-07-15]. DOI: 10.1016/j.ultrasmedbio.2020.04.032. ISSN 03015629. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0301562920302040>

- 19) LEE, Woncheol, Jae-Hong RYOO, Byung Seong SUH, et al. Association of coronary artery calcification and serum gamma-glutamyl transferase in Korean. *Atherosclerosis* [online]. 2013, **226**(1), 269-274 [cit. 2020-07-15]. DOI: 10.1016/j.atherosclerosis.2012.10.059. ISSN 00219150. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0021915012007459>
- 20) BIAN, Lu-Qin, Zheng-Yun ZHANG, Sung-Joo KIM, et al. Gamma glutamyltransferase as a novel marker of coronary artery calcification in women. *Journal of Cardiovascular Medicine* [online]. 2012, **13**(11), 684-690 [cit. 2020-07-15]. DOI: 10.2459/JCM.0b013e328356a432. ISSN 1558-2027. Dostupné z: <http://journals.lww.com/01244665-201211000-00003>
- 21) BELCASTRO, Eugenia, Maria FRANZINI, Silvana CIANCHETTI, et al. Monocytes/macrophages activation contributes to b-gamma-glutamyltransferase accumulation inside atherosclerotic plaques. *Journal of Translational Medicine* [online]. 2015, **13**(1) [cit. 2020-07-15]. DOI: 10.1186/s12967-015-0687-6. ISSN 1479-5876. Dostupné z: <http://www.translational-medicine.com/content/13/1/325>
- 22) ZHENG, Ying-Ying, Ting-Ting WU, You CHEN, et al. Gamma-glutamyl transferase to albumin ratio as a novel predictor of bleeding events and mortality in patients after percutaneous coronary intervention: A retrospective cohort study. *Catheterization and Cardiovascular Interventions* [online]. 2020, **95**(S1), 572-578 [cit. 2020-07-15]. DOI: 10.1002/ccd.28696. ISSN 1522-1946. Dostupné z: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/ccd.28696>
- 23) LI, Gang, Xiao-wei WU, Wei-hua LU, et al. Effect of atorvastatin on the expression of gamma-glutamyl transferase in aortic atherosclerotic plaques of apolipoprotein E-knockout mice. *BMC Cardiovascular Disorders* [online]. 2014, **14**(1) [cit. 2020-07-15]. DOI: 10.1186/1471-2261-14-145. ISSN 1471-2261. Dostupné z: <https://bmccardiovascdisord.biomedcentral.com/articles/10.1186/1471-2261-14-145>
- 24) WELLING, Gjalte W., Albert Jan SCHEFFER a Sytske WELLING-WESTER. Determination of enzyme activity by high-performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications* [online]. 1994, **659**(1-2), 209-225 [cit. 2020-07-15]. DOI: 10.1016/0378-4347(94)00154-5. ISSN 03784347. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/0378434794001545>

- 25) BULUSU, Sudha a Manisha SHARMA. What does serum  $\gamma$ -glutamyltransferase tell us as a cardiometabolic risk marker? *Annals of Clinical Biochemistry* [online]. 2016, **53**(3), 312-332 [cit. 2020-07-15]. DOI: 10.1177/0004563215597010. ISSN 0004-5632. Dostupné z: <http://journals.sagepub.com/doi/10.1177/0004563215597010>
- 26) ROSSOMANDO, Edward F. High-performance liquid chromatography in enzymatic analysis. *Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications* [online]. 1991, **566**(2), 275-286 [cit. 2020-07-15]. DOI: 10.1016/0378-4347(91)80245-8. ISSN 03784347. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/0378434791802458>
- 27) LAMBETH, David O. a Wallace W. MUHONEN. High-performance liquid chromatography-based assays of enzyme activities. *Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications* [online]. 1994, **656**(1), 143-157 [cit. 2020-07-15]. DOI: 10.1016/0378-4347(94)00072-7. ISSN 03784347. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/0378434794000727>
- 28) KOSEOGLU, Mehmet, Aysel HUR, Aysenur ATAY a Serap CUHADAR. Effects of hemolysis interference on routine biochemistry parameters. *Biochimica Medica* [online]. 2011, , 79-85 [cit. 2020-07-16]. DOI: 10.11613/BM.2011.015. ISSN 18467482. Dostupné z: <http://www.biochimica-medica.com/en/journal/21/1/10.11613/BM.2011.015>
- 29) RANDALL, A. g., P. Garcia-webb a J. P. Beiylyby. Interference by Haemolysis, Icterus and Lipaemia in Assays on the Beckman Synchron CX5 and Methods for Correction. *Annals of Clinical Biochemistry: An international journal of biochemistry and laboratory medicine* [online]. 1990, **27**(4), 345-352 [cit. 2020-07-16]. DOI: 10.1177/000456329002700411. ISSN 0004-5632. Dostupné z: <http://acb.sagepub.com/lookup/doi/10.1177/000456329002700411>
- 30) ERTEM, Şeyma, Ahmet Goktug ERTEM, Mehmet Akif ERDOL, et al.  $\Gamma$ -Glutamyltransferase Subtype and Major Adverse Cardiac Events. *Angiology* [online]. 2020, **71**(3), 292-292 [cit. 2020-07-15]. DOI: 10.1177/0003319719862961. ISSN 0003-3197. Dostupné z: <http://journals.sagepub.com/doi/10.1177/0003319719862961>

- 31) BO, Simona. Associations between  $\gamma$ -glutamyl transferase, metabolic abnormalities and inflammation in healthy subjects from a population-based cohort: A possible implication for oxidative stress. *World Journal of Gastroenterology* [online]. 2005, **11**(45) [cit. 2020-07-17]. DOI: 10.3748/wjg.v11.i45.7109. ISSN 1007-9327. Dostupné z: <http://www.wjgnet.com/1007-9327/full/v11/i45/7109.htm>
- 32) JEON, Jooeun, Dae Hyun KIM, Woojin KIM, et al. Dose-response relationship between gamma-glutamyltransferase and the risk of atherosclerotic cardiovascular diseases in Korean adults. *Atherosclerosis* [online]. 2020, **292**, 152-159 [cit. 2020-07-15]. DOI: 10.1016/j.atherosclerosis.2019.11.004. ISSN 00219150. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S002191501931562X>



## **PŘÍLOHY**

### **Příloha 1: Informovaný souhlas o zařazení do studie:**

#### **INFORMACE PRO ÚČASTNÍKY STUDIE**

Vážená paní, vážený pane,

v současné době probíhá na našem pracovišti ve spolupráci s Univerzitou Pardubice výzkumná práce (studie) s názvem „Zánětlivá reakce po implantaci koronárních stentů“.

Tato výzkumná práce je zaměřena na sledování ukazatelů zánětu a oxidačního stresu v krvi pacientů po perkutánní koronární intervenci (PCI) a vyhodnocení jejich významu v závislosti na typu použitého stentu.

V současné době je standardní léčbou ischemické choroby srdeční tzv. perkutánní koronární intervence (PCI), která spočívá v roztažení zúženého místa věnčité tepny speciálním balónkem a jeho následné vyztužení stentem. Stentů je několik typů, nejčastěji jsou používány stenty kovové, jejichž struktura je potažená léčivou látkou, která se postupně uvolňuje a brání následnému opětovnému zužování věnčité tepny v reakci na cizí materiál stentu. Tyto stenty označujeme jako tzv. „lékové stenty“. Nověji jsou dostupné stenty, které jako kostru místo kovu využívají organickou látku (kyselinu polymléčnou), která se v organismu postupně rozkládá, až přibližně po dvou letech z organismu zcela zmizí. Výhodou tohoto typu stentu je možnost navrácení věnčité tepny do stavu blízkého stavu původnímu, tedy se zachovanou schopností reagovat na přirozené podněty k rozšíření či zúžení tepny. Nevýhodou je pak nemožnost zavést tyto stenty do všech typů zúžení, tj. nelze je využít ve všech situacích. Tyto stenty nazýváme „absorbovatelné stenty“ a jsou rovněž potažené výše uvedeným léčivem zabraňujícím opětovnému zúžení tepny.

V předkládané práci budeme srovnávat laboratorní parametry zánětlivé odpovědi na zavedení těchto dvou typů stentů. Předchozí práce prokázaly, že čím vyšší je zánětlivá reakce po výkonu na věnčité tepně, tím vyšší je riziko pozdějších komplikací ve smyslu opětovného zužování věnčité tepny či srdečního infarktu.

K účasti v této výzkumné práci jste byl/a osloven/a vzhledem k tomu, že Váš zdravotní stav vyžaduje ošetření zúžení věnčité tepny stentem a zároveň jde o zúžení tepny, které je vhodné k zavedení obou typů stentů.

V případě, že se rozhodnete pro účast v této výzkumné práci, bude na základě náhodného výběru (tzv. randomizace) zvolen k ošetření zúžení věnčité tepny jeden z výše uvedených typů stentů. Rizika spojená s účastí ve studii se neliší od běžných rizik v souvislosti s PCI a zavedením stentu. Tato rizika jsou podrobně popsána v Informovaném souhlase s provedením koronarografie/PCI, který jste před výkonem podepsal/a.

Zátěž vyplývající ze zařazení do studie spočívá ve třech odběrech 19 ml krve během stávající hospitalizace a ve vyplnění dotazníku, dále v klinické kontrole a odběru krve po jednom roce. Další podrobnosti a informace Vám budou na požádání sděleny.

Vaše účast na této studii je zcela dobrovolná.

Jméno:

Pořadové číslo:

## PÍSEMNÉ PROHLÁŠENÍ O SOUHLASU S ÚČASTÍ VE STUDII

Byl(a) jsem seznámen(a) s povahou studie a souhlasím se zařazením do tohoto výzkumného projektu.

Dále souhlasím s tím, že údaje o mé osobě, které byly získány během studie, budou předávány třetím osobám pouze v anonymní formě, tzn. bez uvedení mého jména a identifikačních údajů.

V Pardubicích dne ..... Podpis (účastníka studie):

Se získanými osobními údaji bude nakládáno jako s ochraňovanými skutečnostmi a tyto údaje budou využity pouze pro potřeby studie a nebudou sdělovány třetím osobám.

V Pardubicích dne ..... Jméno a podpis (řešitele- studie):

## Příloha 2: Prohlášení Etické komise:

### Prohlášení / Declaration

Tímto potvrzují, že Etická komise při Pardubické krajské nemocnici, a.s. postupuje v souladu s principy Správné klinické praxe (ICP GCP), novelizovaným zákonem o léčivech 378/2007 Sb. a novelizovanou vyhláškou o Správné klinické praxi č. 226/2008 Sb., a že vyjádření bylo poskytnuto dostatečným počtem členů EK.

I hereby certify that the ethics committee operates according to ICH GCP guidelines, the Amended Act on Pharmaceuticals No. 378/2007 Coll. and the Amended Decree of Good Clinical Practice No. 226/2008 Coll., and that the notification was provided by a sufficient number of members.

V Pardubicích dne ..... 15. 11. 2013 .....

Etická komise  
při Pardubické krajské nemocnici, a.s.  
Tulovská 44  
532 03 Pardubice

.....  
podpis předsedy/pověřené osoby

Etické komise při Pardubické krajské nemocnici, a.s.

EC Chairman's /Designee's Signature

### Příloha 3: Přehled detailnějších informací o pacientech:

#### Pacienti s lékovým stentem

Pacient	Dlouhodobý vývoj	Jiné nemoci
43	3M po DR – klinický efekt revaskularizace dobrý – zlepšení po dechové stránce, klidové záchvaty dušnosti odezněly, bolesti na hrudi se neprojevují, pacient je bez komplikací.	Dušnost při rychlejší chůzi, žaludeční vředy, osteoporóza
51	12 M po DR, fyzicky je bez obtíží	Dyslipidémie, Dušnost při fyzické aktivitě
63	3M od DR, po zákrocích bez obtíží	Hyperlipoproteinémie, dušnost při fyzické aktivitě, celý stav AIM nastal po pádu a zlomenině nohy
66	3M po DR, dlouhodobě se zadýchává při chůzi do schodů, stav bez zhoršení po AIM	Hyperlipoproteinémie, vertebroalgický syndrom páteře
68	3M po prvním zákroku – nikoliv po DR Nadále se zadýchává při chůzi do 2-3.p., jinak bez obtíží, před měsícem byla zjištěna při kontrolní koronarografii a CT uvedena opět hraniční stenóza.	Dyslipidémie, dušnost při rychlejší chůzi, artróza v kolenu, stav po borelióze, glaukom

69	3M, velmi dobrý stav, pacient sledován spádovým kardiologem, námahová dušnost či bolest na hrudi se neprojevuje, měl 1 krátkou epizodu tlaku na hrudi, která spontánně a rychle odezněla.	Dušnost při rychlejší chůzi, dyslipidémie, artróza kyčlí
75	3M, Klinický efekt zákroků velmi dobrý, od zákroků bez obtíží, bez námahové dušnosti či bolesti na hrudi, asi rok udává bolesti v levém lýtku – doporučení na cévní poradnu.	Hyperlipoproteinémie, dušnost při rychlejší chůzi
77	3M, po výkonech se cítí určitě lépe, nadále mívá při fyzické námaze pocit zadýchání, bolesti na hrudi vymizely	Dyslipidémie, thyreopatie - eufunkční
76	3M po DR, po výkonu obtíže méně časté, zmizely pocity bušení srdce, zmenšila se frekvence tlaků na hrudi. Zůstávají při jízdě na kole a spíše po ránu. Nezvládá větší námahu, uvádí, že nemůže sekat trávu sekačkou.	Hyperlipoproteinémie, palpitace bez záchyty arytmie

55	3 M po výkonu, Obtíže ustoupily zcela, asi měsíc po výkonu občasné zvláštní pocity na hrudi, přisuzováno stentu, ale vymizelo to.	Hyperlipoproteinémie, dušnost při rychlejší chůzi, lehká kombinovaná aortální vada, asthma bronchiale, mikroskopická hematurie, stav po prostatektomii pro karcinom plus lymfadenektomii, stav po operaci kýly, stav po hepatitidě A, stav po odstranění basaliomu na spánku vpravo, stav po mukotomii+antrostromii (nosní sliznice dolních nosních kůstek a čelistních dutin)
----	---	--

## Pacienti s absorbovatelným stentem

Pacient	Dlouhodobý vývoj	Jiné nemoci
39	Není odběr D	Dušnost při fyzické námaze, hypercholesterolemie, mírná normocytová anemie
41	3M po PCI- DR po AIM, první 2 měsíce dobré, ale nyní cítí tlaky na hrudi – námahové, únava (velká), obtíže podobné, jaké byly před AIM, bolesti nejsou, jen tlaky, objednan k rekoronarografii za 3 týdny, více není popsáno	Dušnost při fyzické námaze, hypercholesterolemie, stav po benigním nádoru slinných žláz
50	12M - Velmi dobrý klinický efekt, bez AP – zcela bez bolestí, ani v námaze, bez zadýchávání, fyzicky zvládá vše co dříve.	Hyperlipoproteinémie
53	3M - Po výkonu zlepšení stavu - nyní vnímá větší dušnost při zátěži, je to podobné jako před PCI. Pacient byl objednan k rekoronarografii příští týden.	Dušnost při rychlejší chůzi, hyperlipidémie
54	3 M po výkonu - od výkonu bez bolestí na hrudi, zadýchá se při větší námaze. Spíše	Dyslipidémie, dušnost při rychlejší chůzi

	<p>psychické potíže (úzkosti).</p> <p>Měsíc před roční kontrolou po zákroku absolvovala kontrolní koronarografii, která byla čistá, zda byly příčinou psychické či objektivní problémy se nepodařilo zjistit.</p>	
<b>62</b>	<p>Za 4 dny po DR – trombóza stentu – došlo k AIM. Absorbovatelný stent byl nahrazen lékovým.</p> <p>3M po dokončení revaskularizace – setrvalé bolesti na hrudi, nezávislé na námaze, občas zmizí, špatně zvládá polohu v předklonu. Byla provedena koronarografie, která byla čistá, pacient byl doporučen k plicnímu vyšetření.</p>	<p>Dušnost při rychlé chůzi, hyperlipoproteinémie, hemangiom jater</p>
<b>64</b>	<p>3M, po uvedeném zákroku následovala 2. PCI, už po 1. výkonu odezněly bolesti na hrudi, při námaze ale po zákrocích pocit horšího dechu, v klidu bez obtíží.</p>	<p>Hyperlipoproteinémie, dušnost při fyzické aktivitě, stav po polypektomii pro adenokarcinom v polypu, stav po thyreidoktomii pro tyreotoxikózu</p>
<b>65</b>	<p>3M po DR, bez AP, zadýchávání je stejné jako před infarktem – plicní</p>	<p>Hyperlipoproteinémie, dušnost opři fyzické námaze, chronická obstrukční plicní</p>



	diagnóza	nemoc, stav po odstranění plicního laloku – histol. Mycobacterium (podobné stavu po tuberkulóze)
<b>67</b>	AIM – trombóza stentu den po DR  3M po DR -zadýchává se méně, námahový tlak na hrudi	Dyslipidémie, astma, chronická hepatitis, porušená glukózová tolerance
<b>58</b>	3M - Obtíže odezněly, nově ale zažívací potíže charakteru pálení žáhy, dále vnímá někdy suchý kašel, fyzická kondice dobrá, změny v medikaci naplánovány vzhledem k nově uváděným obtížím.	Dušnost při fyzické námaze, hyperlipidémie, stav po lymfské borelióze, obezita