

# Univerzita Karlova v Praze

Lékařská fakulta v Plzni

Ústav klinické biochemie a hematologie



**Studijní program:** Biochemie a patobiochemie

**MUDr. Pavel Brož**

*Moderní markery orgánového poškození v klinické praxi*

*Modern markers of organ damage in clinical practice*

## Disertační práce

**Vedoucí práce:** MUDr. Daniel Rajdl, Ph.D.

Plzeň 2018

**Prohlášení autora:**

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracoval samostatně a že jsem řádně uvedl a citoval všechny použité prameny a literaturu. Současně prohlašuji, že práce nebyla využita k získání jiného nebo stejného titulu.

Souhlasím s trvalým uložením elektronické verze mé práce v databázi systému meziuniverzitního projektu Theses.cz za účelem soustavné kontroly podobnosti kvalifikačních prací.

V Plzni dne 15. 8. 2018

MUDr. Pavel Brož

Podpis.....

**Identifikační záznam**

Brož Pavel. Moderní markery orgánového poškození v klinické praxi. Modern markers of organ damage in clinical practice. Plzeň, 2018. 122 stran.

Disertační práce. Univerzita Karlova v Praze, Lékařská fakulta UK v Plzni. Ústav klinické biochemie a hematologie, Plzeň.

Školitel: Rajdl Daniel

**Poděkování:**

Děkuji MUDr. Danielu Rajdlovi, Ph.D. za cenné připomínky, rady a trpělivost, pracovníkům Ústavu tělovýchovného lékařství, zejména MUDr. Jaroslavu Novákovi, Ph.D. za pomoc při provedení praktické části studie, panu doc. MUDr. Milanu Hromádkovi, Ph.D. za provedení kardiologické části studie a v neposlední řadě kolegyním a kolegům Ústavu klinické biochemie a hematologie za pomoc při zpracování vzorků.

## Obsah

1	Úvod .....	7
2	Současný stav problematiky .....	12
2.1	Fyziologie svalů. Změny v organismu v průběhu fyzické zátěže .....	12
2.2	Fyziologie srdeční činnosti s ohledem na fyzickou zátěž .....	16
2.3	Dlouhodobá adaptace organismu na fyzickou zátěž .....	19
2.4	Projevy inaktivity, adekvátní fyzická aktivita .....	21
2.5	Vyšetření kardiovaskulárního aparátu v souvislosti se zátěží .....	22
2.5.1	Zátěžová vyšetření .....	22
2.5.2	Transportní kapacita pro kyslík, $VO_2max$ .....	23
2.5.3	Funkce respiračního systému, ventilační parametry .....	24
2.5.4	Stanovení anaerobního prahu .....	24
2.5.5	Tepová frekvence, systolický objem, ejekční frakce .....	26
2.5.6	Hodnocení TK a EKG při zátěži .....	26
2.5.7	Zobrazovací metody .....	27
2.6	Poškození myokardu .....	29
2.6.1	Ischemie myokardu, infarkt myokardu .....	29
2.6.2	Diagnostika infarktu myokardu .....	30
2.6.3	Markery poškození myokardu před kardiálními troponiny .....	31
2.6.4	Kardiální troponiny .....	32
2.6.5	Definice IM s využitím kardiálních troponinů .....	35
2.6.6	Vysoce senzitivní troponiny .....	38
2.6.7	Zvýšení hladin kardiálních troponinů v souvislosti s fyzickou zátěží .....	40
2.6.8	Rozdíly v dynamice cTn u zdravého a poškozeného myokardu .....	42
2.6.9	Příčiny elevace kardiálních troponinů po zátěži .....	44
2.6.10	Faktory ovlivňující uvolnění kardiálních troponinů po zátěži .....	48
2.6.11	Markery myokardiální fibrózy, galectin-3 .....	49
2.7	Ovlivnění renálních funkcí s ohledem na fyzickou zátěž .....	49
2.7.1	Glomerulární filtrace .....	50
2.7.2	Tubulární funkce .....	52
2.7.3	Vybrané markery poškození ledvin .....	53
3	Experimentální část .....	55

3.1	Studie vlivu extrémní běžecké zátěže v soutěžním prostředí .....	55
3.1.1	Cíle práce .....	55
3.1.2	Studovaná populace .....	55
3.1.3	Design studie .....	55
3.1.4	Sběr vzorků, analýza materiálu .....	55
3.1.5	Statistická analýza .....	56
3.1.6	Výsledky .....	57
3.2	Studie normalizované zátěže na běhacím ergometru .....	62
3.2.1	Cíle práce .....	62
3.2.2	Studovaná populace .....	62
3.2.3	Design studie .....	63
3.2.4	Echokardiografické vyšetření, měření TK, hodnocení EKG .....	63
3.2.5	Zátěžové vyšetření do maxima .....	64
3.2.6	Dvouhodinová normalizovaná zátěž .....	64
3.2.7	Sběr vzorků, analýza materiálu .....	65
3.2.8	Statistická analýza .....	66
3.2.9	Výsledky .....	66
3.3	Diskuze .....	86
3.4	Závěr .....	98
4	Seznam literatury .....	99
5	Seznam zkratk .....	118
6	Seznam publikací autora .....	121

# 1 Úvod

## Souhrn:

Pravidelná fyzická aktivita je prokázanou součástí zdravého životního stylu. Nepřiměřená fyzická zátěž však může vést k subjektivním a objektivním příznakům, které dovedou sportovce k lékaři. Hospitalizace z kardiálních i nekardiálních příčin po výraznější zátěži, např. po dokončení půlmaratonu, není vzácná, dokonce ani u mladých jedinců. Markery poškození orgánů, které se v klinické praxi používají, mohou mít po fyzické zátěži interpretační limity, na které nejsou lékaři zvyklí. Zároveň se objevují nové markery nebo vylepšené generace zavedených ukazatelů a studie zaměřené na hledání jejich vztahů s parametry trénovanosti, zátěže a zobrazovacími vyšetřeními mohou přispět k lepšímu pochopení a správnější interpretaci. Zejména práce založené na sledování hladin markerů poškození orgánů po standardizované zátěži jsou poměrně vzácné. Naším cílem bylo popsat dynamiku a vztahy vybraných klinicky používaných markerů poškození orgánů po extrémní fyzické zátěži v soutěžním prostředí a standardizované vytrvalostní zátěži v kontrolovaných laboratorních podmínkách.

Ve spolupráci s Ústavem tělovýchovného lékařství a kardiologickým oddělením jsme provedli 2 studie. Cílem naší první práce bylo posoudit vliv extrémní běžecké zátěže na hodnoty vysoce senzitivního troponinu I (hsTnI), galektinu-3, ultrasenzitivního CRP (uCRP), a renálních parametrů, zejména cystatinu C a NGAL. Cílem naší druhé práce bylo sledování koncentrací vysoce senzitivního troponinu T (hsTnT) a hsTnI v průběhu dvouhodinové normalizované zátěže na běhacím ergometru a nalezení možné souvislosti s echokardiografickými a dalšími parametry zjištěnými během zátěže. Dalšími cíli bylo porovnat zjištěné změny hsTnT a hsTnI s jednohodinovým rule-out a rule-in algoritmem pro diagnostiku akutního IM bez elevace ST úseku a posoudit změny renálních parametrů při zátěži v laboratorních podmínkách.

Do první studie bylo zahrnuto 37 běžců (5 žen), medián (minimum – maximum) věku 39 (22–66) let, účastnících se Mistrovství České republiky v běhu na 100 km, 12hodinového, 24hodinového běhu a maratonu, při kterých závodníci absolvovali vzdálenost od 42,2 do 181 km. Všem účastníkům byly provedeny 2 odběry krve, před závodem a po závodě. Ze vzorků krve byly stanoveny koncentrace hsTnI, NGAL, cystatinu C, galektinu-3 a ultrasenzitivního CRP.

Do druhé studie bylo zahrnuto 19 mužů, medián (minimum – maximum) věku 37 (24–48) let, trénovaných jedinců, bez trvalé medikace a anamnézy kardiovaskulárního či jiného chronického onemocnění. Plazmatické koncentrace hsTnT a hsTnI, kreatininu a cystatinu C byly stanoveny před, 60 minut po začátku, na konci, hodinu po skončení a 24 hodin po skončení běhu. Před během, 60 minut po doběhnutí

a 24 hodin po doběhnutí byly stanoveny močové koncentrace NGAL a albuminu. Abychom simulovali vliv zátěže na interpretaci kardiálních troponinů v případě hospitalizace pacienta po vytrvalostním běhu, aplikovali jsme hodnoty hsTnT a hsTnI ihned po zátěži a hodinu po skončení zátěže do jednohodinového rule-out rule-in algoritmu užívaného v diagnostice IM bez elevací ST úseku.

Výsledky první studie provedené během reálného závodu vedly ke zjištění, že extrémní zátěž vedla ke statisticky signifikantní změně v koncentraci hsTnI, NGAL, cystatinu C, galektinu-3 i uCRP. Kromě uCRP nebyla zjištěna korelace žádného z parametrů se vzdáleností či dobou běhu. Byla zjištěna hraničně významná negativní korelace změny koncentrace hsTnI se změnou koncentrace cystatinu C ( $r = -0,32$   $p = 0,05$ ).

Ve druhé studii provedené v laboratorních podmínkách s normalizovanou zátěží jsme zjistili, že zvýšení koncentrací hsTnT a hsTnI v průběhu zátěže bylo rovněž statisticky signifikantní. Hodinu po skončení běhu došlo ke zvýšení hodnot hsTnT nad 99. percentil smíšené populace u 68 % jedinců v případě hsTnT a u 21 % jedinců v případě hsTnI. Druhý den po zátěži byly u jednoho běžce v případě hsTnT a u 2 běžců v případě hsTnI koncentrace vyšší než před začátkem zátěže. Mnohočetná regresní analýza prokázala, že změny v koncentracích obou troponinů jsou významně determinovány silou stěny levé komory srdeční, tréninkovým objemem, tělesnou teplotou po doběhnutí a relativní změnou v koncentraci kreatininu.

Při posouzení hodnot cTn vzhledem k jednohodinovému algoritmu by v případě hsTnT nebyl nikdo vyloučen z hlediska podezření na přítomnost IM, 5 (26 %) běžců by spadalo do kategorie „pozitivní“ a 14 (74 %) případů by spadalo do skupiny vhodné k observaci. V případě hsTnI by rovněž nikdo nebyl vyloučen, 4 (21 %) běžců by spadalo do skupiny „pozitivní“, 15 (79 %) běžců by spadalo do skupiny vhodné k observaci.

Výhodou první studie je, že kopíruje reálné uspořádání sportovních závodů a v případě zdravotních problémů se zdravotníci budou setkávat právě s těmito pacienty. Nevýhodou je nemožnost standardizovat zátěž sportovců, méně informací o průběhu zátěže, příjmu tekutin a o dalších faktorech, které mohou mít na laboratorní parametry vliv. Studie je výjimečná nemalým vzorkem jedinců elitní běžecké úrovně. Fyzická zátěž extrémního charakteru vede k ovlivnění všech zmíněných parametrů, avšak jejich absolutní hodnoty ani změny v koncentracích nekorelují s délkou či dobou běhu.

Druhá studie je unikátní svým designem a zaměřením na hodnoty cTn a renálních parametrů v souvislosti s normalizovanou zátěží v laboratorních podmínkách a pomáhá najít parametry podílející se na ovlivnění koncentrace cTn v souvislosti se zátěží. Současně se zabývá klinickým dopadem často opomíjeného vlivu fyzické zátěže na výsledné hodnocení jednoho z moderních algoritmů diagnostiky infarktu myokardu.



Naše práce vedou k některým zajímavým závěrům, zejména že ke zvýšení vybraných markerů orgánového poškození v porovnání s hodnotami před zátěží může dojít i v případech, kdy nedošlo k extrémní, dlouhotrvající či velmi intenzivní zátěži a patrně se jedná o jeden z fyziologických pochodů v rámci adaptace na zátěž. Současně je vypracován model, který udává, že síla stěny LK, relativní změna koncentrace kreatininu, tréninkový objem a tělesná teplota po doběhnutí částečně determinují změnu v koncentraci hsTnT a hsTnI.

**Klíčová slova:** vysoce senzitivní troponin T, vysoce senzitivní troponin I, cystatin C, kreatinin, NGAL, galektin-3, standardizovaná fyzická zátěž, echokardiografie

**Summary:**

Physical activity is a useful tool in the prevention of many diseases. Hospitalization after strenuous exercise from cardiac or noncardiac causes, even in young athletes without previous symptoms, can occur. These situations are not uncommon and e.g. after completing a half-marathon clinical symptoms suspicious from cardiac etiology can be present. Limitations of biomarkers used in daily clinical practice can lead to misinterpretation with additional consequences to the patient's outcome. Our goal was to describe changes of markers used in daily clinical practice after extreme physical activity and after exercise under laboratory conditions.

We performed two studies in cooperation with Department of cardiology and Department of sports medicine. The goal of our first study was to examine high sensitivity troponin I (hsTnI), galectin-3, cystatin C, NGAL and ultrasensitive CRP (uCRP) after extremely long run during the competition in long distance running. The goal of our second study was to examine high-sensitivity troponin T (hsTnT) and hsTnI, creatinine and cystatin C, and urine albumin and NGAL after a standardized two-hour treadmill run under laboratory conditions and to find possible connection with echocardiographic, laboratory and other assessed parameters. The second goal of study under laboratory conditions was to compare changes in hsTnI and hsTnT with ESC 2015 0/1 rapid rule-out and rule-in algorithm for non-ST elevation myocardial infarction and to evaluate changes in renal parameters.

37 runners (5 females) were included in our first study. The age of runners [(median (min-max))] was 39 (22-66) years. Runners run 100 (42.2-181) km. Two blood samples were collected and concentrations of hsTnI, NGAL, cystatin C, galectin-3 and uCRP were measured.

19 trained men enrolled in our second study undergone normalized two hour-long treadmill run. The age of runners was 37 (24-48) years. Concentrations of hsTnT, hsTnI levels, creatinine and cystatine C were assessed before the run, 60 minutes after the start, at the end of the run, one hour after the end of the run and 24 hours after the end of the run. Concentrations of urine creatinine, albumin and NGAL were assessed before the run, 60 minutes after the run and 24 hours after the run. Changes of all parameters were calculated and correlation coefficients between changes in hsTnT and hsTnI values and echocardiographic, anthropometric and other laboratory parameters were calculated. The multiple linear regression model was used to find the explanatory variables for hsTnT and hsTnI changes. Values of hsTnT and hsTnI were evaluated using 0h/1h algorithm for non-ST elevation myocardial infarction diagnosis.

Results of our first study suggests, that extremely long run leads to statistically significant changes in concentrations of hsTnI, NGAL, cystatin C, galectin-3 and uCRP,

however only in case of uCRP correlation with running distance and time of run was found. Statistically significant negative correlation was found between hsTnI and cystatin C changes ( $r = -0.32$   $p = 0.05$ ).

In our second study, changes in hsTnT and hsTnI levels were statistically significant. One hour after the end of the run values of hsTnT were higher in 68 % of cases and values of hsTnI were higher in 21 % cases than 99. percentile (for whole population). 24 hours after the run were concentrations in 1 case of hsTnT and 2 different cases of hsTnI higher than before the run. According to the multiple regression model changes in both troponins can be explained by relative left wall thickness, training volume, body temperature after the run and creatinine changes.

According to the 0h/1h algorithm, in case of hsTnT, none of runners was excluded, 5 (26 %) runners were stratified into “positive” group and 14 (74 %) cases were stratified into “observe” group. In case of hsTnI, nobody was excluded, 4 (21 %) runners were stratified into “positive” group and 15 (79 %) cases were stratified into “observe” group.

The design of our first study is similar to other studies assessing changes of laboratory parameters after running, however is unique by number of runners undergoing extremely long run. Results of our first study suggests that extreme run leads to changes in all mentioned parameters, however only in case of uCRP changes of concentrations correlated with distance and time of run.

Our second study suggests, that relative left ventricle wall thickness, creatinine changes, training volume and body temperature after the run can predict changes in hsTnT and hsTnI levels. Increased levels of cTn can be present even in cases without extreme or long intensity exercise. When medical attention is needed after physical exercise, cTn levels should be tested only when clinical suspicion and the patient’s history indicate a high probability of myocardial damage, however interpretation of results in these cases can be challenging. Finally, changes in renal parameters can be observed, however these changes are dependent on the design of the study and biomarkers.

Our work leads to interesting conclusions. Changes in cardiac troponin concentration does not have to be caused by intensive or high intensity exercise. Additionally, we created model partly explaining changes in cardiac troponin changes.

**Keywords:** high sensitivity troponin T, high sensitivity troponin I, NGAL, galectin-3, running, standardized exercise, echocardiography

## 2 Současný stav problematiky

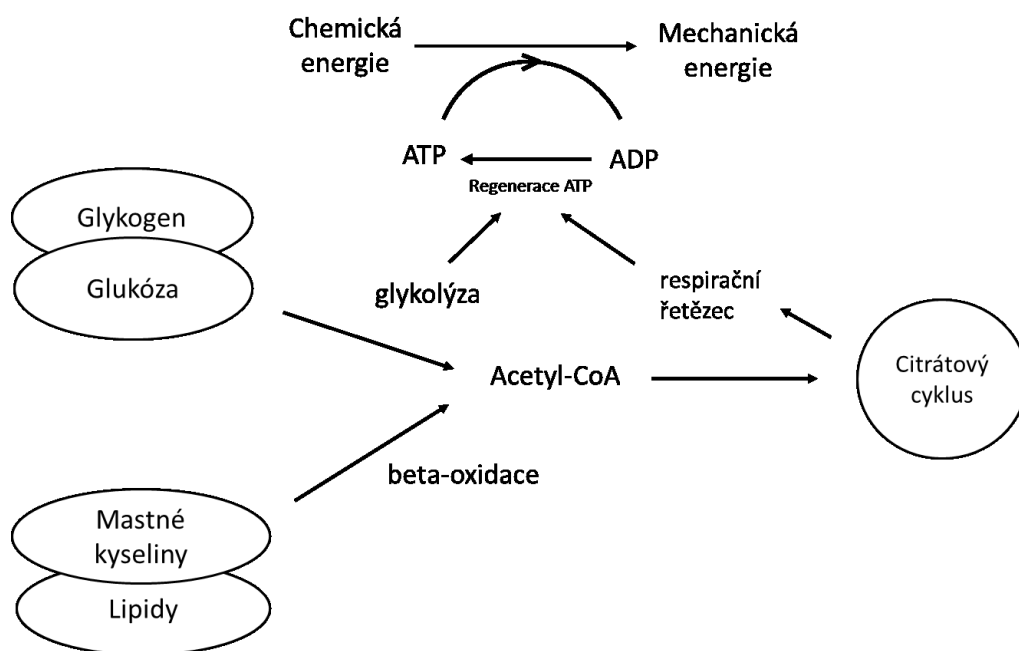
### 2.1 Fyziologie svalů. Změny v organismu v průběhu fyzické zátěže

Svaly jsou tvořeny svalovými vlákny. Svalové vlákno obsahuje velké množství buněk, které mají délku i několika centimetrů a průměr několik desítek mikrometrů. Základní jednotku svalového vlákna tvoří sarkomera, která obsahuje aktin a myozin. Svalová vlákna lze rozdělit na 3 typy. Pomalá vlákna I. typu, rychlá vlákna II. typu, která mají 2 podtypy – oxidativní a rychlá vlákna glykolytická. Zastoupení pomalých a rychlých vláken u každého jedince je poměrně variabilní. Svalstvo končetin obsahuje zejména rychlá vlákna, kdežto svalstvo posturální, na rozdíl od svalstva končetin pracující v bdělém stavu víceméně nepřetržitě, obsahuje zejména pomalá vlákna. Vlákna I. typu mají nižší aktivitu enzymu katalyzujícího hydrolýzu adenosintrifosfátu (ATP), ATPázy, nižší schopnost rychlého přemístování  $\text{Ca}^{2+}$  iontů, vyšší počet mitochondrií a vyšší koncentraci myoglobinu. Naopak vlákna II. typu mají vyšší aktivitu ATPázy obsažené v myozinu, jsou schopna rychleji přesunovat  $\text{Ca}^{2+}$  ionty, mají vyšší schopnost glykolýzy a menší množství mitochondrií. Vlákna II. typu jsou schopna rychlejší akce za cenu rychlejšího vyčerpání (1). Typem tréninku lze však typ vláken ovlivnit, a proto uvedené dělení na svalová vlákna může být vnímáno jako orientační (2).

Svalová činnost je pod vlivem neurohumorální regulace. Při zátěži dochází ke zvýšení aktivity sympatiku, naopak aktivita parasympatiku klesá. Rovněž stoupá koncentrace adrenalinu, noradrenalinu a dalších hormonů. Vliv katecholaminů při fyzické zátěži způsobuje změny, které napomáhají organismu v adaptaci na zátěž. Dochází k nastartování pochodů směřujících ke zvýšení glykémie, např. štěpení glykogenu. Katecholaminy, zejména adrenalin, působí též na myokard pozitivně chronotropně (*zvýšení frekvence*), pozitivně dromotropně (*zrychlené šíření vzruchu*), pozitivně inotropně (*zvýšená síla kontrakce kardiomyocytů*) a bathmotropně (*zvýšení dráždivosti*). Současně dochází ke změnám na periférii, spíše ale působením noradrenalinu. Na rozdíl od lehké až střední zátěže je těžká zátěž brána jako stresová situace, což vede k nastartování mechanismů směřujících ke zvýšení sekrece adrenalinu dřením nadledvin. Je-li organismus vystavován zátěži dlouhodobě, dochází k rozvoji adaptačních mechanismů a postupně klesá popsany efekt sympatiku na srdeční sval i další systémy. Současně při fyzické zátěži dochází k vzestupu koncentrace růstového hormonu, což podporuje lipolýzu.

Při aktivní práci svalu se mezi sebe zasouvají molekuly aktinu a myozinu za spotřeby energie z ATP. Molekula ATP je štěpena pomocí ATPázy obsažené v myozinu (3). Energie pro svalovou kontrakci je předávána cestou ATP, který se mění na

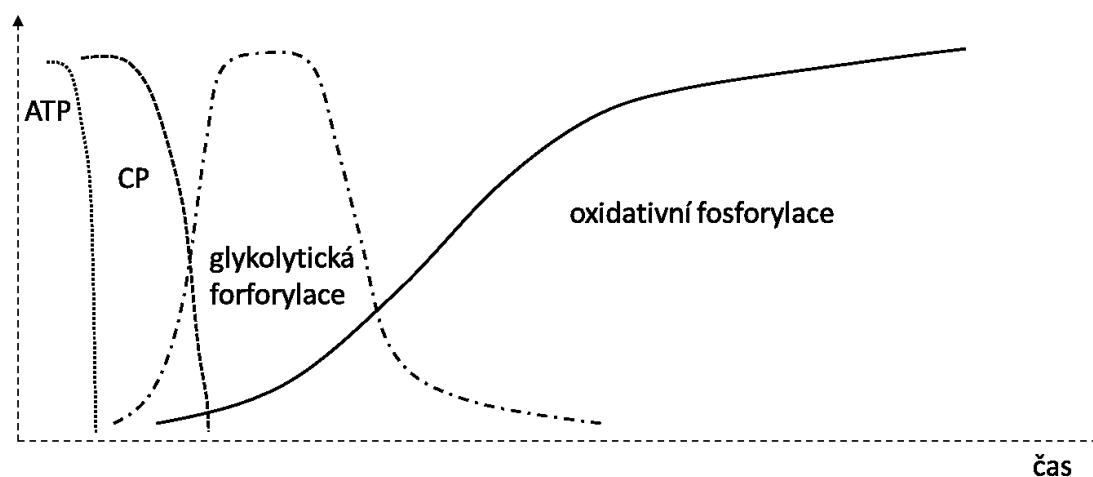
adenosindiofosfát (ADP) a adenosinmonofosfát (AMP). Energie potřebná ke svalové práci je v počáteční fázi hrazena kreatinfosfátem (CP). Energie uložená ve formě CP je ale vyčerpána v řádech desítek sekund a je třeba využít jiného substrátu. Např. ve vláknech typu IIB je energie následně hrazena zejména glykogenolýzou, energie z lipidů je využívána zejména ve vláknech typu I. Resyntetizování ATP se děje cestou glykolytické fosforylace či cestou jiného substrátu, zejména volných mastných kyselin, případně laktátu (**Obrázek 1**). Glykolytická forma zisku energie je omezená na cca 1-2 minuty, naopak oxidativní fosforylace je sice pomalejší, ale prakticky neomezený zdroj energie – jedná se o ideální formu zisku energie při vytrvalostním výkonu (**Obrázek 2**). V tucích je v lidském organismu uloženo nejvíce energie. Současně energie uložena v jednom gramu tuků (37,6 kJ) je vyšší než v případě cukrů (17,2 kJ) a bílkovin (16,7 kJ) (4). Pro oxidativní fosforylaci slouží jako zdroj glukóza např. z glykogenu či ideálně volné mastné kyseliny uložené v myocytech či tělesných zásobách (5,6). Tato cesta zisku energie je však limitována dostatkem kyslíku v periferních tkáních.



**Obrázek 1** Zjednodušené schéma přeměny chemické energie na mechanickou z hlavních energetických zdrojů během zátěže.

K nastartování glykolýzy dochází velmi rychle po počátku fyzické aktivity a k jejímu vrcholu dochází již po 15-20 sekundách. Proto je důležité, aby energie byla nadále poskytována dalšími cestami jako glykolytická cesta a následně oxidativní fosforylace. Při štěpení glykogenu však rovněž relativně rychle dochází ke snižování jeho zásob. Ke zpracování laktátu dochází zejména v játrech, myokardu, ale významně i ve svalech (7).

Energie je nejefektivněji přeměňována na práci za plně aerobního metabolismu. Vykonaná práce je závislá na velikosti dodávky  $O_2$  do svalů, kterou je organismus schopen zajistit. Je tedy závislá zejména na stavu kardiovaskulárního aparátu, ale i dalších systémů, např. respiračního aparátu. Jaký substrát bude v průběhu zátěže využíván, je do značné míry závislé na intenzitě fyzické aktivity a s tím související mírou fyzické zdatnosti jedince. Při fyzické aktivitě nízké intenzity (do cca 25 % maximální spotřeby  $O_2$ ) je energie hrazena zejména z tukových zásob. S vyšší intenzitou zátěže roste podíl glukózy jako energetického substrátu. Při zátěži vyšší než 65-75 % maximální spotřeby  $O_2$  již významně klesá podíl energie hrazené z lipidů pod 50 % (6). V optimálním případě dochází k ustanovení rovnovážného stavu, při kterém je energie získávána zejména oxidativní fosforylací.



**Obrázek 2** Zdroje energie při fyzické aktivitě v závislosti na čase.

Počátkem vytrvalostní zátěže bývá energie hrazena z glycidů, poté postupně z tuků (5). Popsané charakteristiky metabolismu jsou pod vlivem hormonální regulace, zejména katecholaminů, glukagonu a inzulínu. Podle respiračního kvocientu (RQ) lze sledovat převažující substrát zisku energie. Při převažující glycidové utilizaci je RQ přibližně roven 1, při utilizaci lipidů se blíží hodnotě 0,7. Mezi významné zdroje energie patří i laktát. Zejména myokard je schopen zmetabolizovat velké množství laktátu (4,7). Vzhledem k tomu, že laktát proniká snadno do buněk, dochází k jeho zpracování přednostně a glukóza zůstává ušetřena pro pozdější využití. Aminokyseliny nejsou jako zdroje energie v průběhu fyzické zátěže tak důležité jako glycidy a lipidy (8).

Pro praktické účely byl zaveden pojem metabolický ekvivalent (MET). Jedná se o energetický výdej, který je definován jako množství kyslíku spotřebované v klidu vsedě. Souvisí s množstvím  $O_2$ , které je organismus schopen distribuovat do tkání (9). Vyjadřuje

se v ml za minutu na kilogram tělesné hmotnosti. Klidový MET je  $3,5 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{kg}^{-1}$ , tedy u 70 kg vážícího muže je spotřeba kyslíku v klidu cca 250 ml za minutu. Práce či zátěž, ke které je nutná intenzita 2 MET, představuje pro tohoto muže spotřebu 500 ml  $\text{O}_2$ , 5 MET pak představuje 1000 ml. Práce intenzity pod 3 MET je považována za lehkou, práce o intenzitě nad 7 MET je považována za velmi těžkou.

Aktivita	MET
chůze (5 km.hod <sup>-1</sup> )	3
těžké domácí práce (mytí oken, malování)	4-7
štípání dřeva	5-7
badminton	6-7
cyklistika (cca 20 km/hod)	5-10
běžecké lyžování (10 km/hod)	5-16
squash	8-12
běh (13 km.hod <sup>-1</sup> )	13
plavání (3 km.hod <sup>-1</sup> )	9

**Tabulka 1** Příklady hodnot MET u vybraných aktivit (9).

Limitujícím faktorem tolerance navyšování zátěže je adekvátní dodávka kyslíku do tkání a výdej oxidu uhličitého. Dochází ke zvýšení dechové frekvence a dechového objemu. Výhodnější je pomalejší dýchání o větším objemu, protože se zvyšující se frekvencí dýchání významně narůstá ventilace mrtvého prostoru. Zvýšený tonus sympatiku vede současně k bronchodilataci, ke snížení funkčního mrtvého prostoru a ke zvýšení alveolární ventilace. Změny kardiovaskulárního systému vedou zejména ke zvýšení minutového srdečního výdeje v důsledku zvýšení TF a systolického objemu (SO) (viz též dále). Současně dochází ke změnám v prokrvení jednotlivých tkání. V klidu protéká svalstvem přibližně 20 % objemu minutového srdečního výdeje, ale při intenzivní zátěži dochází ke zvýšení až na 80 % v důsledku dilatace arteriolárního systému ve svalech a vazokonstrikce v jiných systémech, např. v gastrointestinálním traktu. Současně je důležité udržet adekvátní prokrvení dalších systémů jako CNS, ale např. i kůže jako systému důležitého pro udržení adekvátní termoregulace (10). Zvýšené prokrvení kůže dále zvyšuje nároky na kardiovaskulární systém. Dochází k dalšímu strmějšímu nárůstu spotřeby  $\text{O}_2$ . Do cca 70 % maximální spotřeby  $\text{O}_2$  je nárůst ve spotřebě  $\text{O}_2$  lineární. Při dále narůstající zátěži následuje větší vzestup minutové ventilace oproti spotřebě  $\text{O}_2$  jako důsledek kompenzace nastupující metabolické acidózy při rostoucí produkci laktátu (11).

K řadě pochodů dochází rovněž po skončení zátěže. Cca 20-25 %  $O_2$  je využito na úhradu zásob  $O_2$  v krvi a v myoglobinu a cca 15-20 % na resyntetizování ATP a CP. Dalších až 40 % je využito ke glukoneogenezi a resyntéze glykogenu v játrech. Současně je  $O_2$  využito v klidu na práci dýchacích svalů, obnovu a udržení iontové homeostázy a výdej přebytečného tepla. Zejména v případě fyzické zátěže střední intenzity dochází k metabolizování nemalého množství laktátu již během fyzické zátěže. Při vyšší intenzitě zátěže se laktát metabolizuje ve větší míře i ve fázi regenerace. Úplné odstranění laktátu společně s navrácením iontové rovnováhy a tenze krevních plynů do normálních hodnot však může trvat i řadu hodin. U adaptovaných jedinců právě popsané pochody probíhají rychleji a subjektivně je zátěž vnímána mírněji.

## **2.2 Fyziologie srdeční činnosti s ohledem na fyzickou zátěž**

Klidový membránový potenciál kardiomyocytu je -90 mV. Při podráždění dochází k šíření akčního potenciálu, což vede ke kontrakci. Stejně jako v případě myocytů kosterního svalstva dochází k rychlé depolarizaci (cca 2 ms) a následně k přestřelení do pozitivních hodnot, následované plató fází (cca 200 ms), po které dochází k repolarizaci. Počáteční depolarizace je způsobena tokem sodíkových iontů do buňky, plató fáze připadá na vrub  $Ca^{2+}$  a  $K^+$  iontů procházejících přes membránu, repolarizace je pak způsobena uzavřením  $Ca^{2+}$  kanálů a zvýšením průchodu  $K^+$  iontů směrem ven z buňky. Při vzestupu srdeční frekvence dochází ke zrychlení depolarizační fáze.

K vykonávání srdeční práce je zapotřebí energie. Stejně jako v případě příčně pruhovaného svalstva, je zdrojem rychlé energie pro srdeční akci ATP. Současně je energie uložena v myokardu též ve formě CP. Myokard pracuje prakticky pouze aerobně, protože je v kardiomyocytech přítomna velká koncentrace mitochondrií. V klidu je anaerobní metabolismus zdrojem energie pouze z 1 %, při zátěži maximálně z 10 %. Samotný anaerobní metabolismus není dostačující k zajištění účinné srdeční akce. Spotřeba  $O_2$  v srdci je v klidu cca 0,08 – 0,1 ml  $O_2$  na gram tkáně za minutu, tedy u cca 300 g vážícího myokardu je spotřeba kyslíku 24–30 ml.min<sup>-1</sup>. Při zátěži se spotřeba  $O_2$  zvyšuje přibližně 4x. ATP potřebné jako zdroj energie je u myokardu získáván z cca 60 % z volných mastných kyselin, z 35 % z glycidů a z 5 % z ketolátek a aminokyselin. Dále je myokard schopen metabolizovat ve významné míře laktát.

Aby byla zachována efektivní činnost srdce, je třeba, aby správně fungovaly všechny jeho součásti, tedy vznik a vedení vzruchu, činnost myokardu, stejně tak mechanická činnosti srdce včetně činnosti chlopního aparátu. Atrioventrikulární chlopně jsou umístěny mezi síněmi a komorami z důvodu zabránění návratu krve do komor, poloměsíčitě, resp. semilunární chlopně hrají důležitou roli v zabránění návratu



krve z velkých tepen zpět do komor. Srdeční akce se skládá ze dvou základních fází, systolické a diastolické fáze. Fáze systoly je ještě rozdělena na fázi izovolumické kontrakce charakteristické narůstajícím tlakem za stejného objemu, následována ejekční fází, kdy dojde ke zmenšení objemu komor. Následuje fáze diastoly skládající se z fáze izovolumetrické relaxace s poklesem tlaku za stálého objemu a následně plnicí fází, kdy dochází ke zvětšení objemu komor za stejného tlaku.

Poměr tepového objemu a objemu komory na konci diastoly se nazývá ejekční frakce (EF). Patří mezi jeden z nejvíce užívaných parametrů při hodnocení mechanické funkce srdce, resp. levé komory. V klidu je za fyziologického stavu systola předsíní využívána velmi málo, protože jsou komory již dostatečně naplněny. Při nutnosti zvýšeného výdeje se diastola zkracuje významněji než systola a vzhledem k tomu, že by se komory nestačily dostatečně naplnit, hraje systola předsíní významnou roli.

V souvislosti s mechanickou činností srdce vznikly 2 termíny z anglického jazyka – afterload a preload. Afterload (český termín „dotížení“ se však v medicíně běžně neužívá) je zátěž, kterou musí překonat myokard komor během fáze izovolumetrické kontrakce, aby došlo k vypuzení krve, resp. aby mohlo dojít k izotonické kontrakci. Preload (český termín „předtížení“ se rovněž v medicíně běžně nepoužívá) je charakterizován náplní srdeční komory na konci diastoly. O vztahu množství vypuzené krve a na náplni komory vypovídá Starlingův zákon. Jedná se o závislost objemu vypuzené krve na náplni v diastole. Zákon popisuje fyziologickou reakci myokardu, kdy při zvýšené náplni dojde k vypuzení většího množství krve. Jinými slovy tlak v komorách před kontrakcí je úměrný počáteční tenzi vláknů, což poté určuje sílu svalové kontrakce.

V průběhu popsaného jevu nehrají roli hodnoty systolického ani diastolického tlaku, jedná se o reakci na úrovni vláken myokardu, kdy síla kontrakce vlákna je závislá na počáteční délce vlákna. Popsaný jev lze vysvětlit interakcí mezi vlákny aktinu a myozinu. Při výraznějším zkrácení svalového vlákna je zkrácena rovněž sarkomera a při kontrakci nedojde k vytvoření takového množství vazeb mezi aktinem a myozinem ve srovnání se situací, kdy je vlákno více nataženo. Naopak při prodloužení sarkomery nad optimální délku opět dochází ke snížení počtu vazeb mezi aktinem a myozinem a tedy ke snížení síly kontrakce.

Srdeční výdej (cardiac output – CO, minutový srdeční objem) je množství krve, které srdce za minutu přečerpá. Jedná se tedy o součin objemu krve vypuzené během jednoho stahu (stroke volume, SV) a tepové frekvence (TF) ( $\text{min}^{-1}$ ).

$$\text{CO} = \text{SV} \times \text{TF}$$

Je závislý na několika faktorech. V klidu je za fyziologického stavu přibližně 5 litrů, nicméně při zátěži je zdravé srdce schopno zvýšit objem přečerpané krve až na 20 litrů. Souvislost CO s dalšími parametry je vyjádřena Fickovou rovnicí

$$CO = \frac{\text{spotřeba } O_2}{(paO_2 - pvO_2) \cdot Hb \cdot 13,5}$$

Je patrná závislost CO na rostoucí spotřebě  $O_2$ , arteriovenózní diferenci kyslíku a koncentraci hemoglobinu (Hb). Během fyzické práce se v důsledku zvýšené spotřeby  $O_2$  postupně zvyšuje množství transportovaného kyslíku, až je dosaženo maximální transportní kapacity pro  $O_2$  pro daný organismus. Limitací dosažení vyšších hodnot může být schopnost tkání extrahovat kyslík, maximální TF, tepový objem, či nedostatečná transportní kapacita Hb pro  $O_2$ . Nejprve strmá křivka závislosti spotřeby kyslíku ( $VO_2$ ) na vykonané práci začne nabývat plochého tvaru. V klidovém režimu je srovnatelný srdeční výdej u trénovaných i netrénovaných jedinců. V průběhu zátěže v důsledku zvýšení preloadu a snížení afterloadu významně narůstá rozdíl u obou skupin. Při maximální zátěži je u netrénovaných jedinců CO cca  $20 \text{ L} \cdot \text{min}^{-1}$ , u trénovaných až  $40 \text{ L} \cdot \text{min}^{-1}$ . Tím jde částečně vysvětlit rozdíl v maximální spotřebě  $O_2$  od cca  $35 \text{ ml } O_2 \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$  u netrénovaných a až do cca  $85 \text{ ml } O_2 \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$  u trénovaných jedinců. Spotřeba  $O_2$  během zátěže stoupá zpočátku lineárně, při vzestupu TF o cca 10 tepů/min stoupne spotřeba  $O_2$  o cca  $3,5 \text{ ml } O_2 \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$  (12).

Při déletrvajícím zátěži stejné intenzity a neměnicím se minutovém srdečním výdeji vzrůstá TF, ale klesá tepový srdeční objem. Dochází ke zkrácení srdečního cyklu zejména zkrácením diastolické fáze. Střední tlak v plicnici zůstává prakticky nezměněn (13). Příčinou může být jak snížený preload, tak zhoršená kontraktilita myokardu. Podíl může mít též přesun tekutin do extracelulárního prostoru a ztráta vody a iontů. Současně může mít vliv redistribuce krve při snaze o zachování účinné termoregulace (5). Popsané změny pak vedou ke snížení centrálního objemu krve, zhoršení venózního návratu a snížení plnicího tlaku. Následně dochází ke snížení síly kontrakce myokardu a zmenšení tepového objemu.

Mezi běžné změny v organismu na úrovni kardiovaskulárního systému v průběhu zátěže patří změny v cévní rezistenci na periférii a s nimi související změny v hodnotách krevního tlaku (TK). Činnost svalů napomáhá pumpovat krev směrem k srdci. Dochází k poklesu periferní cévní rezistence a následně zvýšení prokrvení pracujících svalových skupin. Typicky dochází k elevaci systolického TK se stoupající  $VO_2$ , diastolický TK zůstává stejný či mírně klesá. Mezi patologické změny TK v průběhu zátěže může patřit příliš velký (např. u osob s klidovou hypertenzí) nebo naopak malý nárůst, popř. dokonce pokles hodnot TK. Jestliže nedochází k adekvátní odpovědi TK na zátěž, je velmi pravděpodobná limitace na úrovni kardiovaskulárního aparátu v podobě ischemie, srdečního selhání či dalších příčin (hodnocení TK při zátěži viz dále) (11).

### **2.3 Dlouhodobá adaptace organismu na fyzickou zátěž**

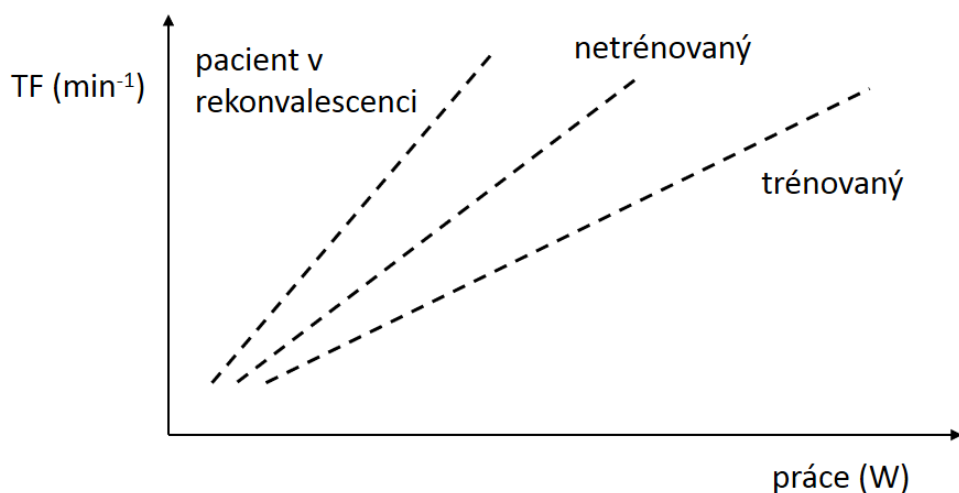
Již po několika týdnech pravidelné fyzické aktivity dochází neohledě na věk či zdravotní stav jedince k adaptačním mechanismům vedoucím k pozitivnímu ovlivnění kardiopulmonální kapacity. Důsledkem je hrazení energie s menším podílem anaerobního metabolismu a menší hromadění laktátu. Současně dochází ke zvýšení podílu energie čerpané z lipidů, což vede k uchování zásob glykogenu. Při tréninku dochází rovněž ke zvyšování kapacity enzymatického aparátu zapojeného do anaerobního metabolismu i oxidativní fosforylace (14,15). Pravidelná fyzická zátěž spouští adaptační mechanismy na úrovni svalů, kardiovaskulárního, respiračního aparátu i dalších systémů. Zejména při adaptaci na aerobní zátěž dochází ke zvýšení schopnosti svalů extrahovat kyslík z krve. Zvýšení enzymatické kapacity oxidativních enzymů vede ke snížení nároků svalové tkáně na dodávku kyslíku. Adaptace kardiovaskulárního aparátu hraje klíčovou roli v přizpůsobení organismu na zátěž. Míra přizpůsobení je do velké míry dána rovněž geneticky, např. muži se přizpůsobují o cca 25 % rychleji než ženy. S věkem rychlost adaptace klesá (12).

Účelem dlouhodobé adaptace na fyzickou zátěž je zajistit rychlejší dodávku kyslíku do pracujících svalů. Mezi první změny patří snížení TF při stejné intenzitě zátěže. Klidová TF může u trénovaných jedinců klesnout i pod 40 tepů za minutu. Dochází ke zvýšení kapilární perfuze a zlepšení extrakce  $O_2$  z krve. Dlouhodobý trénink vede k negativně chronotropnímu, dromotropnímu a bathmotropnímu efektu a pozitivně inotropnímu efektu na srdce (16). Důsledkem je klidová bradykardie, menší vzestup TF při zátěži, prodloužení PQ intervalu a zvětšení tepového objemu v důsledku zvýšení ejekční frakce při snížení endsystolického objemu.

Současně dochází k dilataci levostranných srdečních oddílů a hypertrofii srdeční svaloviny, což je podkladem pro remodelaci myokardu u trénovaných jedinců a vznik tzv. sportovního srdce (16). Sportovní srdce má o cca 25 % větší objem než srdce průměrně stejně staré populace netrénovaných jedinců. Všechny srdeční dutiny jsou objemnější, srdeční stěna komor a septa je mírně zesílena. U vytrvalostních sportů dochází zejména k excentrické hypertrofii. U silových sportů dochází spíše ke koncentrické hypertrofii. Důsledkem je schopnost docílit zvýšeného minutového srdečního výdeje. Na rozdíl od hypertrofie vznikající v důsledku neléčené hypertenze dochází u sportovního srdce k fyziologické adaptaci, jejímž důsledkem je schopnost plnit zvýšené nároky na kardiovaskulární systém (17).

Výše popsané změny vedou k prodloužení doby relaxace, zvýšení preloadu a současně ke zvýšení síly kontrakce (17). K morfologické adaptaci dochází současně i u pravého srdce (56). Všechny tyto změny vedou ke zvýšení srdečního výdeje během

zátěže a současně ke zvýšení transportní kapacity pro kyslík. K adaptačním změnám v důsledku tréninku však dochází rovněž na úrovni cévního aparátu. Jedinci pravidelně sportující mají sníženou tuhost cév oproti jedincům se sedavým způsobem života. Současně dochází ke zvýšení antioxidační kapacity (18,19). U netrénovaných osob je průběh závislosti TF na narůstající intenzitě zátěže strmější než u trénovaných osob. Ještě strmější než u netrénovaných, je průběh závislosti u osob v rekonvalescenci (**Obrázek 3**).



**Obrázek 3** Graf závislosti TF na práci v důsledku tréninku (6).

K adaptačním změnám dochází současně na úrovni respiračního systému. Dochází k pomalejšímu vyčerpání respiračních svalů a ke snížení spotřeby energie při stejné práci. Dále dochází k nárůstu dechového objemu, snížení dechové frekvence a k nárůstu schopnosti extrakce O<sub>2</sub> ze vzduchu v plicích alveolech. V průběhu submaximální a maximální zátěže může právě únava respiračních svalů být limitujícím faktorem dosažení vyššího výkonu.

Mezi další změny probíhající v rámci adaptace na dlouhodobou zátěž patří změna v plazmatickém objemu. Již po několika dnech pravidelné fyzické aktivity dochází ke zvýšení objemu o cca 10-15 %, po několika týdnech až o 20 %. Současně dochází ke změně rovnováhy vegetativního nervového systému, ke změně tonu mezi sympatikem a parasympatikem ve prospěch parasympatiku. Dochází též k adaptaci kostního aparátu, který získává vlivem působení sil při zátěži větší denzitu. Dochází k posílení vaziva a současně se zvyšuje počet satelitních buněk schopných nahradit poškozené buňky (20).

## **2.4 Projevy inaktivity, adekvátní fyzická aktivita**

Stav kardiovaskulárního aparátu, zejména srdce, je hlavní proměnnou při určení aerobní kapacity každého jedince. Byly publikovány práce dokladující, že i u pacientů se srdečním selháním aerobní trénink prokazatelně zvyšuje kardiorespirační kapacitu. Jen zřídka však hodnota transportní kapacity pro  $O_2$  u těchto pacientů překročí hodnoty  $20 \text{ ml} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$  (21,22). Fyzická aktivita silně inverzně koreluje s incidencí diabetu mellitu 2. typu, hypertenzí, depresí a dalšími onemocněními, naopak má prokazatelný efekt na snížení celkové mortality (23–25). Některé práce udávají, že při posuzování celkové mortality může být kardiorespirační kapacita vhodnější marker predikce celkové mortality než BMI (20).

Provozování fyzické aktivity je vhodné vzhledem k prevenci řady onemocnění nejen kardiovaskulárního systému. To platí jak u zdravé populace, tak u jedinců se zvýšeným rizikem vzniku chronického onemocnění, a dokonce i u pacientů s již probíhajícími onemocněními (23,25). Existuje řada doporučení o vhodné minimální fyzické aktivitě jako prevenci vzniku kardiovaskulárního onemocnění, např. 150-300 minut střední fyzické aktivity za týden, popř. 75-150 minut fyzicky náročné aktivity za týden, popř. 20 km chůze za týden, 10 000 kroků za den (26).

S mechanizmy adaptace organismu v důsledku pohybové aktivity kontrastují změny vznikající v důsledku inaktivity. U zdravých jedinců ležících 3 týdny na lůžku byl dokladován pokles maximální spotřeby kyslíku o cca 20-35 %, vzestup klidové TF, pokles tepového objemu, enddiastolického objemu, celkového objemu krve, zvýšení tenze sympatiku a snížení tenze parasympatiku. Současně je po období cca dvacetidenního klidu popisován pokles síly srdeční stěny levé komory (LK) a vzestup TK systolického i diastolického v důsledku vzestupu odporu na periférii (27,28).

Fyzická inaktivita současně vede k negativní dusíkové bilanci i ztrátám vápníku z kostí. Ubývá svalové hmoty, snižuje se prokrvení svalstva, zkracují se šlachy, při upoutání na lůžko mohou vznikat kontraktury. Zhoršuje se glukózová tolerance v důsledku snížení citlivosti na inzulín. Současně je popisováno prodloužení iničiální fáze zátěže, oddálení nástupu rovnovážného stavu a prodloužení doby zotavovací fáze s pomalejší normalizací TF. Fyzická inaktivita vede současně ke změnám v metabolismu, zejména k vzestupu RQ v důsledku zvýšeného metabolizování glykogenu místo lipidů. Dochází k vzestupu LDL a poklesu HDL cholesterolu. Významný je též pokles aktivity všech dehydrogenáz a pokles aktivity glykogen-syntázy, jejíž aktivita klesá již po cca 5 dnech nečinnosti (12).

Podle některých autorů však mohou být intenzivní tréninková či dlouhodobá extrémní zátěž zdrojem patologických změn kardiovaskulárního aparátu, např.

diastolické dysfunkce, ztlustění stěny velkých tepen, popř. kalcifikace koronárních arterií (29,30). Některé práce zpochybňují, zda všechny změny kardiovaskulárního aparátu v důsledku dlouhodobé fyzické aktivity lze považovat za fyziologické a uvádějí zvýšenou hodnotu cTn či natriuretických peptidů jako možný rizikový faktor náhlé srdeční smrti i u jedinců bez dosud známé anamnézy kardiovaskulárního onemocnění (31). Současně je třeba zmínit, že navzdory relativně frekventním kolapsům v průběhu závodů např. vytrvalostního charakteru je kardiovaskulární etiologie těchto událostí poměrně vzácná (17).

## **2.5 Vyšetření kardiovaskulárního aparátu v souvislosti se zátěží**

Běžně užívané pojmy zátěžové fyziologie charakterizují u každého jedince zejména jeho kardiorespirační kapacitu, která je pro posouzení fyzické zdatnosti nejdůležitější. Některá z níže uvedených vyšetření se obvykle provádějí pouze na specializovaných pracovištích. Vybrané příklady těchto vyšetření budou stručně shrnuty dále. U parametrů zátěžových vyšetření jsou obecně známy hodnoty, kterých by měl daný jedinec dosáhnout, aby nebyl pro jednotlivé sporty málo výkonný, popř. na jaké úrovni zátěže by měl být trénink prováděn, aby byl dostatečně efektivní. Mezi další indikace těchto vyšetření patří zjištění rezerv kardiovaskulárního aparátu např. u pacientů s chronickými onemocněními k posouzení kvality jejich života, popř. u pacientů v rekonvalescenci k nastavení adekvátní zátěže v období rehabilitace (6).

### **2.5.1 Zátěžová vyšetření**

K posouzení kapacity kardiovaskulárního aparátu, resp. zjištění některých níže zmíněných parametrů, je indikováno provedení zátěžových testů, kterých existuje celá řada. Dají se rozdělit na statické a dynamické. Do dynamických testů se řadí např. test na bicyklovém ergometru, walking test, test schůdkový, test na běhacím ergometru a další testy. K posouzení statické zátěže se užívá např. hand-grip test. Je řada protokolů zátěžových testů, vhodnější jsou tzv. rampové testy, kdy se stupňovitě zvyšuje zátěž během cca 10 minut, což umožňuje sledovat závislost mezi zátěží a spotřebou O<sub>2</sub>. Existují též testy založené na farmakologické zátěži vhodné u pacientů, kteří nejsou schopni podstoupit zmíněné nefarmakologické testy. Mezi běžně užívaná farmaka v této indikaci patří zejména dobutamin či dipyridamol. Možné je též podávat látky s bronchodilatačním či bronchokonstrikčním účinkem. Další výhodou farmakologických testů je, že je možno např. současně užít zobrazovacích metod např. srdce.

Jak bylo zmíněno úvodem této kapitoly, uvedená zátěžová vyšetření nemají indikace pouze v oblasti sportovní medicíny, ale též řadu indikací v běžné medicíně:

- Diagnostika intolerance běžné fyzické aktivity (odhalení skrytého onemocnění kardiovaskulárního aparátu, choroby respiračního aparátu).
- Vyhodnocení rezerv pacientů s kardiovaskulárním onemocněním (stanovení prognózy, indikace transplantace srdce).
- Vyhodnocení rezerv pacientů s respirační insuficiencí (pacienti s CHOPN, intersticiální plicní procesy, cystickou fibrózou).
- Vyhodnocení rezerv pacientů před plánovanou operací (resekce plicní tkáně, pacienti před rozsáhlejší nitrobřišní operací).
- Vyhodnocení nastavení adekvátní zátěže v průběhu rehabilitace.
- Vyhodnocení rezerv vzhledem k indikaci transplantace plic.

V průběhu zátěže je vhodné též posouzení subjektivního hodnocení zátěže. To se nejčastěji provádí pomocí Borgovy škály. Např. v případě užití stupnice Borg I se hodnotí vnímání zátěže vyšetřovaným, kdy stupnice má 6-20 bodů, hodnota 6 je nejlehčí a 20 je nejtěžší vnímaná zátěž. Při vynásobení bodové hodnoty číslem 10 by měla získaná hodnota přibližně odpovídat TF. Stupnice Borg II hodnotí intenzitu bolesti na hrudi, dolních končetin a dušnost vyšetřovaného (32).

### 2.5.2 Transportní kapacita pro kyslík, $VO_2\max$

Z anglické literatury též „oxygen uptake“. Jedná se o parametr charakterizující schopnost organismu transportovat kyslík do periferních tkání, resp. pracujících svalů. Tato schopnost je závislá na řadě veličin jako Hb,  $SAO_2$ , disociační křivka saturace hemoglobinu, tedy též na  $pO_2$ , teplotě a pH. Dále je určena činností srdce, resp. TF a tepovým objemem. Současně souvisí se schopností tkání extrahovat  $O_2$  z krve, což je dále závislé na hustotě kapilární sítě, koncentraci mitochondrií a prokrvení pracujících svalových skupin. Důležitá je správná funkce dýchací soustavy.

Parametr  $VO_2\max$  je maximální dosažitelná schopnost transportovat kyslík do velkých svalových skupin. Vzhledem k tomu, že hmotnost a složení těla jsou faktory ovlivňující  $VO_2\max$ , je tento parametr udáván na kg tělesné hmotnosti. Jeho hodnoty jsou závislé na pohlaví, věku, tělesné konstituci a jsou ovlivnitelné tréninkem. Tento parametr má význam ve sportovní medicíně, více ve vytrvalostním sportu než v technicky zaměřených disciplínách. Důležitý je rovněž k posouzení kardiorespirační kapacity a rezerv organismu u pacientů např. po IM (33). Často nemusí být maximální hodnoty dosaženo vzhledem k předčasnému vyčerpání, což je třeba zohlednit při provádění zátěžových testů. Nejlepších výsledků se dosáhne během testování při sportu specifickém pro daného jedince. Např. maximální  $VO_2\max$  při testování běžce tedy není vhodné měřit na bicyklovém ergometru. Současně je třeba, aby fyzická zátěž probíhala

určitou dobu, obvykle několik minut, a hodnota  $VO_2$  max byla naměřena po dosažení maximální minutové ventilace a maximální TF po vyčerpání rezerv. Mezi limitující faktory dosažení lepšího výsledku mohou patřit všechny parametry zmíněné výše, které mají vliv na transportní kapacitu  $O_2$ , tedy ventilace, parametry ovlivňující difuzi  $O_2$  přes alveolo-kapilární membránu a distribuci krve do cílových tkání.

### 2.5.3 Funkce respiračního systému, ventilační parametry

V souvislosti s posuzováním funkce kardiovaskulárního aparátu je nutné posuzovat rovněž funkci respiračního systému pomocí ventilačních i respiračních parametrů. Mezi základní z těchto parametrů patří dechová frekvence (DF), která fyziologicky během zátěže stoupá z klidových hodnot přibližně 16 dechů za minutu na cca dechů 60 za minutu. Současně dochází ke zvýšení dechového objemu až na 3 L z klidových cca 500 mL. U jedinců více adaptovaných na zátěž jsou rezervy větší. Na rozdíl od klidové minutové ventilace, která je u jedince trénovaného a netrénovaného prakticky shodná, jsou velké rozdíly v maximální minutové ventilaci, kde může být rozdíl i 100 %. Známým a často užívaným parametrem je vitální kapacita plic (VC), která v důsledku tréninku stoupá (potápěči, plavci), avšak např. u vytrvalců dosahuje často pouze průměrných hodnot. Běžně užívaným parametrem v klinické i sportovní praxi je objem vydechnutého vzduchu při usilovném výdechu, forced vital capacity (FVC) či objem vydechnutého vzduchu při usilovném výdechu za 1 sekundu, forced expiratory volume ( $FEV_1$ ). Současně mezi parametry související s respiračním systémem patří rovněž právě  $VO_2$ max. Důležitá je arteriovenózní diference kyslíku, což je parametr charakterizující extrakci  $O_2$  tkáněmi. Při zátěži stoupá, více u trénovaných jedinců, běžně se její vyšetření však neprovádí.

Výdej  $CO_2$  je limitován obdobnými parametry jako transportní kapacita pro kyslík.  $CO_2$  je však schopen difundovat rychleji než  $O_2$ . Je-li spotřebováván glykogen, poměr  $CO_2$  a  $O_2$  je téměř roven 1. Jakmile dochází ke zvýšení zátěže a produkci laktátu, současně se zvyšuje produkce  $CO_2$ , což vede ke zvýšení poměru  $VCO_2/VO_2$ . V ustálené fázi tedy respirační kvocient (RQ), resp. respiratory exchange ratio (RER) odráží míru energetického substrátu, ze kterého je získávána energie (RQ glycidů je roven 1, tuků 0,7 a bílkovin 0,8). V případech spojených s laktátovou acidózou a hyperventilací dochází k vzestupu RER nad 1,0.

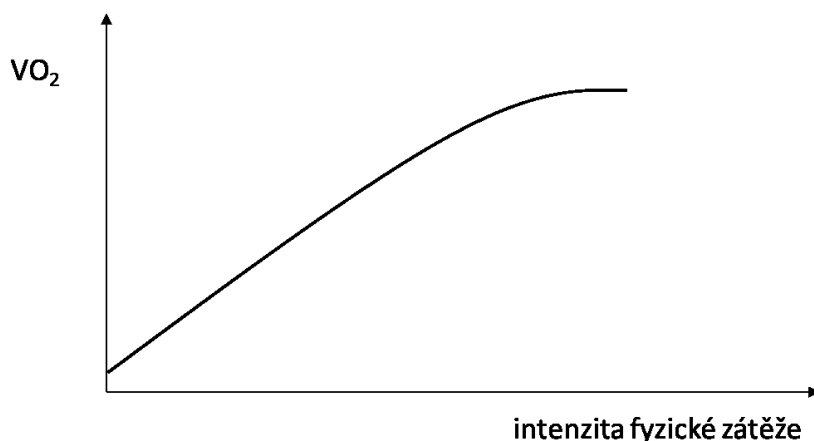
### 2.5.4 Stanovení anaerobního prahu

Jedná se o běžně prováděnou součást funkčního testování. Anaerobní práh (AP), též laktátový práh, popř. ventilační práh, je v souvislosti s fyzickou aktivitou brán jako počátek výskytu metabolické acidózy zapříčiněné vzestupem koncentrace laktátu



v arteriální krvi (11). AP určuje horní limit zátěže, která může být prováděna téměř kompletně aerobně. Při nástupu AP by měla existovat rovnováha, při které je stejné množství laktátu tvořeno a stejné množství zmetabolizováno. AP bývá vyjádřen pomocí spotřeby  $O_2$ , při které k tomuto jevu dochází, vyjadřuje se též jako procento  $VO_2max$ . Existuje více postupů určení AP. Pojem laktátový práh by měl být užíván pouze v případech, kde je koncentrace laktátu v rámci testu stanovována. Ventilací práh je pojem charakterizující změny ve ventilaci právě v důsledku kompenzace nastupující metabolické acidózy (11).

Stanovení AP je vhodné nejen z pohledu sportovní medicíny, ale též z pohledu běžné klinické praxe. AP může být snížen vlivem řady faktorů, jedná se tedy o poměrně nespécifický ukazatel vyžadující vždy další vyšetření v případech, že jsou jeho hodnoty neočekávaně sníženy. Hodnoty pod 40 %  $VO_2max$  mohou indikovat srdeční, ale i další onemocnění. U většiny jedinců se sedavým způsobem života je hodnota AP přibližně 50-60 %  $VO_2max$ , avšak existuje poměrně široká variabilita a AP může nabývat hodnot mezi 35 a 80 %  $VO_2max$  (34). Při intenzivnější práci než hodnota AP dochází se zvyšující se zátěží postupně ke snižování tolerance zátěže (**Obrázek 4**) (35). Stanovení AP významně ovlivňuje metodika stanovení, popř. jaká forma zátěže je zvolena. Mezi bicyklovou ergometrií a běhacím ergometrem může být rozdíl 5-10 %.



**Obrázek 4** Graf závislosti spotřeby  $O_2$  na intenzitě zátěže.

Existuje více možností stanovení AP. Jedna z možností je odečtení hodnoty AP z grafu závislosti minutové ventilace a  $VO_2$  v místě, kdy přestane existovat přímo úměrná závislost v důsledku větší tvorby  $CO_2$  při nastupující kumulaci laktátu. Mezi přesnější metody patří stanovení koncentrace laktátu z arterializované krve, kdy se z křivky koncentrace laktátu v místě jejího zlomu vypočítá hodnota AP. Další běžně užívanou možností, byť poměrně nepřesnou, je stanovení AP pomocí TF.

### 2.5.5 Tepová frekvence, systolický objem, ejekční frakce

TF je snadno měřitelný, hojně využívaný parametr. U zdravých jedinců dochází k lineárnímu vzestupu TF se stoupající spotřebou  $O_2$ . Předpokladem je, že dosažení maximální TF je spojeno s dosažením  $VO_2\max$ . Existuje variabilita hodnoty maximální tepové frekvence (TFmax) vzhledem k věku, nicméně se předpokládá, že každý jedinec by měl být schopen dosažení TFmax bez většího rozdílu vůči očekávané hodnotě. TFmax je možno určit pomocí řady orientačních vztahů, např. 220 - věk, avšak řada z nich má určité nedostatky, např. podhodnocení u starších jedinců. TFmax bývá snížena zejména u pacientů s kardiopulmonálním onemocněním, ale nemusí tomu tak být u všech (36). Hodnota TF v klidovém stavu nepřímo vyjadřuje míru trénovanosti daného jedince, i když se nejedná o příliš spolehlivý parametr.

SV je parametr, který je závislý na hodnotě preloadu a afterloadu a do určité míry souvisí s TF. V průběhu tréninku dochází ke zvýšení SV v důsledku zvětšujícího se srdce a snižování odporu na periférii. Ideální hodnota SV je při TF kolem 120-130/min. Při vyšších hodnotách TF není plnění komor již dostatečně efektivní a může dojít k poklesu SV a minutového objemu. S uvedenými pojmy souvisí pojem EF, což je poměr mezi množstvím vypuzené krve a objemem na konci diastoly. EF je s dalšími parametry jako např. CO parametr zjistitelný při echokardiografickém vyšetření.

### 2.5.6 Hodnocení TK a EKG při zátěži

Mezi parametry, které je vhodné sledovat v průběhu zátěžového vyšetření, patří též TK a hodnocení elektrokardiografické (EKG) křivky.

Hodnocení změn TK v průběhu stupňovaných zátěžových protokolů může do značné míry vypovídat o stavu kardiovaskulárního aparátu, zejména u pacientů s kardiovaskulárním onemocněním. Fyziologicky by v průběhu zátěže mělo docházet k vzestupu systolického TK. Hodnoty diastolického TK by se měnit neměly, popř. mohou mírně klesat. V průběhu zátěže dynamického charakteru z důvodu snížení periferní cévní rezistence nedochází k tak výraznému zvýšení TK jako při zátěži statického charakteru. Jestliže dojde v průběhu zátěžového vyšetření k poklesu systolického TK o 10 mm Hg a více a jsou přítomny známky ischemie, mělo by dojít k ukončení testu. Po skončení zátěže se fyziologicky během několika minut hodnoty TK postupně snižují na výchozí hodnoty.

Hodnocení EKG křivky patří k běžně vyšetřovaným parametrům při zátěžovém vyšetření. Nejčastěji se používá zapojení elektrod dle Masona a Likara (37). Existuje řada fyziologických změn na EKG, ke kterým může během zátěže dojít, jako např. změny charakteru P-vlny, zkrácení PQ- či QT-intervalů, lehké junkční deprese ST-úseku, změny

charakteru vlny T (zvětšení amplitudy, oploštění či inverze T-vlny) či snížení amplitudy R kmitů. Dále existuje řada změn, které by se při zátěži vyskytovat neměly a jejich přítomnost je spojována se zvýšeným rizikem náhlé srdeční smrti (38). Patří mezi ně horizontální nebo descendentní deprese ST-úseku, významnější elevace ST úseku, popř. vznik četnějších supraventrikulárních, polytopních či komorových extrasystol, fibrilace či flutter síní, popř. převodní poruchy. Byly vypracovány programy zdůrazňující vhodnost testování EKG zejména profesionálně sportujících jedinců. Navzdory rostoucí zálibě a doporučení provozovat různé pohybové aktivity u zbylé části populace neexistuje dosud shoda, jak by se mělo v rámci prevence smrti z kardiovaskulárních příčin s ohledem na hodnocení EKG křivky postupovat. Plošné vyšetřování nerizikové, neprofesionálně sportující části populace obecně doporučováno není (38,39).

### 2.5.7 Zobrazovací metody

Mezi hlavní příklady z oblasti zobrazovacích metod využitelné z hlediska sledování funkce srdce patří echokardiografická vyšetření. Tato skupina metod využívá k získání informací o srdci ultrazvuk a v dnešní době patří mezi základní vyšetřovací metody v kardiologii (40). Mezi její výhody patří absence kontraindikací, nežádoucích účinků, relativně dobrá dostupnost a současně schopnost podat řadu informací o anatomii, struktuře i funkci srdce. Určitou nevýhodou je nutnost zkušeného echokardiografisty a relativně špatná vyšetřitelnost u cca 10-12 % pacientů, zejména obézních.

Pomocí jednorozměrné echokardiografie je možno vyšetřit dutinu levé komory, její stěnu, část pravé komory a dutinu levé síně a kořen aorty. Vyšetření se provádí ve 3. a 4. mezižebří parasternálně vlevo. Při této metodě dochází k zobrazení pohyblivých částí srdce. Je možno vyšetřit řadu parametrů, mezi které patří rozměry obou komor, síla stěny levé komory a mezikomorového septa, průměr aorty při odstupu, velikost levé síně a další parametry. Chyba měření je pro klinickou praxi více než dostatečná. Automatickými matematickými postupy se vypočítávají další parametry, mezi které patří např. systolická funkce a objem levé komory, hmotnost a další parametry.

Při dvourozměrné echokardiografii se tvoří obraz řezu srdcem v konkrétní rovině. Vyšetření se provádí ve třech základních na sebe kolmých rovinách. Mezi základní projekce, které tak vznikají, jsou parasternální projekce v dlouhé ose, parasternální projekce v krátké ose, apikální čtyřdutinová projekce, apikální dvoudutinová projekce.

Doplerovská echokardiografie na rozdíl od jedno- a dvou rozměrné echokardiografie získává informace na základě proudění krve a Dopplerova jevu. Existují současně barevné techniky k mapování krevního proudu. Jedná se o metodiku, která významně zlepšuje vizualizaci a představu o proudění krve zobrazovaným řezem, resp. projekcí. Na základě uznávané mezinárodní konvence je krevní proud na základě

směru proudění vyobrazen pomocí předem dohodnutých barev. Rychlost proudění je znázorněna pomocí odstínu dané barvy.

Existují rovněž speciální metodiky, kam se řadí transezofageální echokardiografie – jedná se již o invazivní vyšetření, kdy dochází k zobrazení srdce a srdečních oddílů po zavedení flexibilního endoskopu do jícnu. Vyšetření je vhodné v případech, kdy není z nějakého důvodu vhodné provedení transtorakální echokardiografie např. při perioperační echokardiografii při srdečních i mimosrdečních operacích, popř. když není transtorakální echokardiografie dostatečně výtěžná.

Zátěžová echokardiografie je v klinické praxi velmi využívána k určení ischemické části myokardu, protože k poruše kinetiky (hypokinezi, akinezi či dyskinezi) dochází dříve, než jsou patrné změny na EKG popř. než se vyskytne bolest typická pro ischemii myokardu. Při nalezení postižené části myokardu lze následně snadněji identifikovat postiženou věnčitou tepnu.

Kontrastní echokardiografie – jako kontrastní látky se nejčastěji využívá suspenze vzduchových mikrobublinek ve fyziologickém roztoku, popř. v dalších nosných roztocích. Možné je též užití komerčně využívaných „ultrazvukových“ kontrastních látek. Použití mikrobublinek je vhodné např. k identifikaci pravolevých zkratů, protože za fyziologických okolností se do levého srdce bublinky vzduchu po přechodu krve z pravého srdce přes plicní řečiště nedostanou. Vyšetření myokardiální perfuze se provádí po podání speciálních kontrastních látek, po jejichž podání dochází ke zlepšení echogenity myokardu. Při poruše perfuze nedojde ke zlepšení echogenity postižené oblasti.

Trojrozměrná echokardiografie je metoda schopná přesnějšího zobrazení např. chlopenního aparátu. Je vhodná např. v období před plánovanou operací chlopenního aparátu. Intravaskulární ultrazvuk či intrakardiální ultrazvuk jsou vyšetřovací metody vyžadující zavedení katetru do koronární tepny či do nitrosrdečních oddílů. Následně je možno vyšetřit přítomné aterosklerotické pláty a jejich strukturu, popř. je možno monitorovat polohu katétrů při intervenčních výkonech.

Mezi vyšetřovací metody v kardiologii patří dále invazivní vyšetřovací metody jako srdeční katetrizace, angiografické vyšetření či selektivní koronarografie, kdy se kontrastní látka vstříkuje přímo do srdečních oddílů či koronárního řečiště ke zhodnocení anatomických poměrů a zjištění přítomnosti různých patologických stavů.

K možnostem vyšetření srdce patří využití dalších zobrazovacích metod. Výpočetní tomografie umožňuje poměrně přesné zobrazení anatomie srdce a v kombinaci s podáním kontrastní látky se využívá např. k posouzení přítomnosti plicní embolie. Magnetická rezonance je šetrná metoda nezatěžující vyšetřovaného rentgenovým zářením. Se speciální kontrastní látkou je vhodná k posouzení přítomnosti

různých patologických stavů jako např. anomálie v proudění krve či srdeční činnosti, přítomnosti kardiomyopatie, zánětlivých změn či přítomnost poinfarktových jizev. Zajímavé možnosti z pohledu vyšetření srdce poskytují též nukleární zobrazovací metody. V praxi se využívá podání radiofarmaka a následná detekce nejčastěji perfuze myokardu v klidu i po zátěži, popř. prokrvení plic v rámci diagnostiky plicní embolie.

## **2.6 Poškození myokardu**

Myokard může být poškozen přímým i nepřímým mechanismem. Mezi nejčastější příčiny přímého poškození patří poranění při dopravních nehodách či úraz elektrickým proudem. Poškození přímým mechanismem je na buněčné úrovni spojeno s poškozením nejčastěji v místě přechodu jednotlivých sarkomer. Právě v oblasti Z-linie, kde je přítomna vyšší koncentrace proteinů, dochází k největšímu poškození. Poškození nepřímým mechanismem může být zapříčiněno řadou patologických stavů a činitelů, např. léky, toxiny, ischemií, přehřátím i podchlazením, endokrinopatiemi, elektrolytovou dysbalancí, poruchami acidobazické rovnováhy, těžkou hypo i hypertyreózou, popř. bakteriálními i virovými infekcemi. (41–44).

### **2.6.1 Ischemie myokardu, infarkt myokardu.**

Kardiovaskulární onemocnění, zejména ischemická choroba srdeční (ICHS), patří společně s nádorovými onemocněními mezi hlavní příčiny mortality v rozvinutých zemích (45,46). Existuje řada významných rizikových faktorů rozvoje aterosklerózy vedoucích k onemocnění kardiovaskulárního aparátu jako hypertenze, diabetes mellitus, kouření, porucha lipidogramu, obezita a další. Přítomnost rizikových faktorů by měla být cíleně zjišťována při každé periodické prohlídce (47).

Akutní koronární syndrom (AKS) je termín zahrnující infarkt myokardu (IM) s elevací ST úseku (STEMI) i bez elevace ST úseku (NSTEMI) a anginu pectoris. Bývá téměř vždy spojen s rupturou aterosklerotického plátu a parciální či kompletní trombózou postižené arterie (48,49). Ve většině případů je prvním příznakem IM typická bolest na hrudi s propagací do krku a dolní čelisti, ramena a levé ruky. U některých pacientů však mohou být příznaky méně typické jako například pocit zkrácení dechu, nauzea, zvracení, únava, palpitace či synkopy (50,51). V některých případech však nemusí být bolest na hrudi vůbec přítomna, například v případě němé ischemie myokardu. Němá ischemie myokardu může být relativně častá, například až u poloviny pacientů se stabilní ICHS nebo až u 12 % na inzulínu nezávislých pacientů s diabetem (52). Nejdůležitější pro adekvátní terapii IM je zejména včasná diagnostika.

## 2.6.2 Diagnostika infarktu myokardu

Již v průběhu minulého století World Health Organization (WHO) ustanovila, že k určení diagnózy IM musí být splněny minimálně 2 ze 3 podmínek – charakteristická bolest na hrudi, elevace srdečních enzymů a přítomnost typických abnormalit na EKG. Mezi biomarkery užívané v diagnostice IM v té době patřila kreatinkináza (CK), CK-MB izoenzym kreatinkinázy nebo laktátdehydrogenáza (LD). V případě, že nebyla splněna alespoň 2 kritéria a byla přítomna bolest na hrudi, onemocnění bylo klasifikováno jako angina pectoris (53). Biochemické markery nekrózy tedy začaly hrát klíčovou úlohu v diagnostice IM. Důležitá byla rychlost vzestupu hladin, nicméně např. v případě CK-MB mohla doba od počátku bolestí na hrudi po překročení hodnoty cut-off pro IM trvat 4-6 hodin a bylo třeba počítat i s jinými zdroji CK-MB, než je myokard. Právě vzhledem k poměrně špatné specifitě starších markerů užívaných v diagnostice IM byla ke stanovení diagnózy nutná přítomnost charakteristického vzestupu a poklesu v koncentracích. Proto bylo třeba v průběhu prvních 12-24 hodin často nutné provést několik odběrů krve.

Dle „univerzální definice“ IM z roku 2012 je diagnóza akutního IM stanovena, je-li přítomen vzestup a/nebo pokles hodnot srdečních biomarkerů (nejlépe cTn) a alespoň jedna z hodnot přesahuje 99. percentil zdravé populace za přítomnosti alespoň jedné z následujících podmínek – přítomnost symptomů ischemie myokardu či nové ischemické změny na EKG jako změny v úseku ST, vlně T (popř. ST-T), nově vzniklá blokáda Tawarova raménka, vývoj patologických kmitů Q, či zobrazovacími metodami zaznamenaná ztráta viabilního myokardu či porucha motility srdeční stěny, popř. je identifikován intrakoronární trombus při angiografii či pitvě (54). V případě IM s elevací ST úseku dostačuje přítomnost klinických příznaků a změn na EKG v podobě ST elevací alespoň ve dvou svodech (50,51,55).

Byla vypracována řada algoritmů vhodných k diagnostice IM. Posuzovány jsou jednak absolutní hodnoty cTn, jednak dynamika, resp. změny v koncentracích cTn. Dle doporučení European Society of Cardiology (ESC) z roku 2015 je vhodné využití tzv. 0/3 h algoritmu, tedy stanovení koncentrací v čase 0 a o 3 hodiny déle. Možné je rovněž využití tzv. 0/1 h algoritmu, tedy druhý náběr provést hodinu po prvním náběru (51). Oba zmíněné algoritmy předpokládají dostupnost tzv. vysoce senzitivních souprav na stanovení cTn. Zkrácení čekací doby je přínosem, protože umožní jednak časnější stanovení diagnózy a současně zkrátí čekací dobu pacientů na příjmech nemocnic, což vede ke zkvalitnění poskytované péče.

### 2.6.3 Markery poškození myokardu před kardiálními troponiny

Mezi vlastnosti ideálního markeru poškození myokardu patří vysoká specifita pro myokard (56). Podstatné je, aby byl marker dostatečně senzitivní, byla možná automatizace nutná pro rutinní použití a stanovení nebylo příliš drahé. Současně je vhodné, aby následně došlo k relativně rychlé normalizaci hodnot za účelem diagnostiky případného reinfarktu (57,58).

Během historického vývoje byla od cca šedesátých let 20. století v diagnostice IM užívána řada biochemických markerů, zejména enzymů, avšak žádný z těchto markerů dlouho neměl zmíněné vlastnosti ideálního markeru. Mezi první markery využívané v diagnostice IM by se dala řadit AST. Její elevace u pacientů s IM byla popsána již počátkem 50. let minulého století, avšak využití tohoto enzymu vzhledem k jeho nespecifitě nenašlo širšího využití (53).

Mezi více využívané markery patřila LD, která však rovněž neměla dostatečnou specifitu, protože se vyskytuje nejen v myokardu, ale i v dalších tkáních. Současně neměla LD pro využití v diagnostice IM ani dostatečnou senzitivitu. Nízká diagnostická specifita LD byla v polovině 60. let 20. století částečně vylepšena možností stanovení izoenzymů specifických pro myokard, konkrétně LD-1 izoenzymu, popřípadě poměru LD-1 a LD-2 izoenzymů (59,60). Limitace využití LD spočívala však též v analytické části, protože stanovení LD-1 izoenzymu se opíralo zejména o využití elektroforetických metod, což nebylo pro rutinní praxi diagnostiky IM schůdné. Rovněž přítomná *in vitro* či *in vivo* vzniklá hemolýza působila zvýšení LD-1 izoenzymu, což komplikovalo interpretaci výsledků (58,59).

Vhodnější v diagnostice IM bylo využití CK. CK je enzym katalyzující fosforylaci kreatinu na CP. CK je obsažena zejména v kosterním svalstvu, myokardu a mozkové tkáni. Je tvořena dvěma podjednotkami, které mají 2 typy – M (muscle) a B (brain). Kombinací mezi jednotlivými podjednotkami vzniknou 3 izoenzymy – CK-MM, CK-BB a CK-MB. Právě CK-MB izoenzym je exprimován zejména v myokardu. Proto stanovení CK-MB izoenzymu, popř. poměru CK-MB a celkové CK nabízí lepší diagnostickou specifitu než celková CK. Další možností v diagnostice IM je s využitím imunochemických souprav stanovit tzv. CK-MB mass jako hmotnostní koncentraci CK-MB izoenzymu (58). Při stanovení CK-MB mass se stanovuje nejen přítomnost intaktního enzymu, ale též degradované produkty, které se při poškození kardiomyocytů rovněž uvolňují a jsou schopny navázat se na protilátku při imunochemickém stanovení. Z časového hlediska k vzestupu aktivity CK, resp. koncentrace CK-MB dochází do cca 4 hodin od vzniku ischemie. Následuje relativně rychlý pokles, což je využitelné v diagnostice reinfarktu (57,58).

I přes možnosti, jak vylepšit diagnostickou využitelnost CK, je její hlavní nevýhodou nedostačující specifita, protože ke zvýšení jejích hladin dochází i při poškození příčně pruhovaného svalstva z různých příčin, stejně tak po větší fyzické zátěži jako je absolvování maratonu či triatlonu. Problematickou může být rovněž diagnostika IM u pacientů se svalovými atrofiemi nebo traumaty včetně poškození svalů při chirurgickém výkonu, kdy dochází k výrazné elevaci zejména CK-MM izoenzymu, což může vést k falešné negativitě CK-MB podjednotky. Současně byla publikována možnost zvýšené exprese CK-B genu u regenerujících příčně pruhovaných svalů (61,62).

Další vlastnost ideálního markeru poškození myokardu, kterou CK příliš nespĺňuje, je rychlost vzestupu po vzniku obtíží. Dobře využitelný byl v tomto ohledu myoglobin. Myoglobin je bílkovina s nízkou molekulovou hmotností (17,8 kDa) obsahující ve své molekule hemovou strukturu, je přítomen v příčně pruhovaném svalstvu a myokardu a váže na sebe jednu molekulu O<sub>2</sub>. Z krevního oběhu je rychle eliminován ledvinami právě díky jeho nízké molekulové hmotnosti a i při poškození myokardu je do cca 24 hodin z oběhu eliminován. K elevaci koncentrace myoglobinu dochází nejen při postižení myokardu, ale i kosterního svalstva nebo u pacientů s renální insuficiencí. Myoglobin má navzdory svojí nespecifitě výhodu právě ve schopnosti rychlého vzestupu již cca 1-2 hodiny po vzniku potíží. Vzhledem k této vlastnosti je výhodou vysoká negativní prediktivní hodnota z hlediska přítomnosti IM. Jestliže nejsou hodnoty myoglobinu v prvních hodinách po vzniku potíží zvýšené, je vysoká pravděpodobnost, že pacient nemá IM. V době, kdy ještě nebyla běžně k dispozici možnost stanovení koncentrace cTn, představovala kombinace myoglobinu a CK, nebo CK-MB, popř. CK-MB mass výhodnou kombinaci laboratorních vyšetření využitelných v diagnostice IM.

#### 2.6.4 Kardiální troponiny

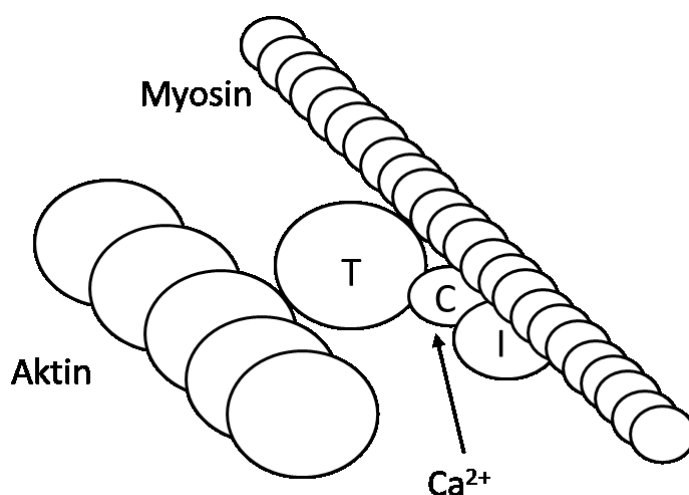
Uvedené limitace cytosolických markerů nekrozy myokardu vedly ke snaze najít strukturální protein obsažený v kardiomyocytech. Ačkoli se mezi strukturální proteiny řadí myoglobin, díky své nespecifitě nebyl pro účely diagnostiky IM ideální. Proto měl strukturální protein využitelný v diagnostice IM ve své molekule obsahovat v ideálním případě rozdílnou aminokyselinovou sekvenci v porovnání s kosterním svalstvem. Nalezení takového proteinu mělo být následováno snahou vytvořit protilátku proti takové bílkovině a následně vyvinout imunochemickou analytickou soupravu schopnou rychlé rutinní analýzy. Současně bylo třeba najít bílkovinu s malou molekulou, aby při poškození kardiomyocytu došlo k rychlému vyplavení do oběhu. Jako možné markery poškození myokardu byla následně navržena celá řada proteinů, např. heart fatty acid binding protein (HFABP), lehké řetězce myosinu (MLC), těžké řetězce myosinu (MHC), natriuretické peptidy (NP) a součásti troponinového komplexu.



Analyt	Buněčná lokalizace (Mr/kDa)	Poločas eliminace	Počátek vzestupu/ doba návratu do normálu	Výhody	Nevýhody
<b>AST</b>	mitochondrie (93)	34 h	4–8 h / 3–6 d	Jeden z prvních markerů využitelných v dg. IM	Nespecifičnost
<b>LD, LD1 izoenzym</b>	cytoplazma (135)	110 h	10 h / 10–14 d	Možnost zvýšení specifičnosti při stanovení LD1 izoenzymu	Nespecifičnost Obtížná automatizace při stanovení LD-1 izoenzymu
<b>CK, CK-MB, CK-MB-mass</b>	cytoplazma (86)	17 h (13 v případě CK-MB)	1–3 h / 3–5 d	Rychlost poklesu Vyšší specifičnost CK-MB, CK-MB mass	Nespecifičnost celkové CK
<b>Myoglobin</b>	cytoplazma (17,8)	15 min	0,5–2 h / 24 h	Rychlost vzestupu Vysoká negativní prediktivní hodnota v prvních hodinách	Nespecifičnost
<b>cTnI</b>	cytoplazma, část kontraktiního komplexu (22,5; fragmenty)	2–4 h	1–6 h / 5–10 d*	Vysoká specifičnost, vysoká senzitivita, časný vzestup u posledních generací	**
<b>cTnT</b>	cytoplazma, část kontraktiního komplexu (37, fragmenty)	2–4 h	1–3 h / 5–14d*	Vysoká specifičnost, vysoká senzitivita, časný vzestup u posledních generací	**

**Tabulka 2** Přehled vývoje rutinně využívaných markerů nekrózy myokardu. \*Rychlost poklesu může být variabilní v závislosti na velikosti nekrotického ložiska. \*\* Rozebráno podrobněji v textu.

Uvedení stanovení cTn do praxe, konkrétně troponinu I (TnI) a troponinu T (TnT), bylo velkým krokem v diagnostice IM. cTn jsou strukturální bílkoviny, které jsou součástí kontraktálního aparátu příčně pruhovaného svalstva a myokardu. Existují 3 podtypy cTn – T, I, a C. TnC váže kalcium, TnT váže celou troponinovou jednotku na tropomyozin a TnI inhibuje aktomyozin-ATPázu (**Obrázek 5**). V případě absence  $\text{Ca}^{2+}$  nedochází ke kontrakci v důsledku inhibice vazby aktinu na myozin. Po uvolnění  $\text{Ca}^{2+}$  ze sarkoplazmatického retikula dochází k navázání  $\text{Ca}^{2+}$  na TnC a změnou konformace troponinového komplexu dojde k odkrytí vazebných míst pro aktin na myozinovém řetězci. Důsledkem je cyklická souhra mezi aktinem a myozinem. Pro vazbu aktinu s myozinem je nutná aktivace aktomyozin-ATPázy. Po odstranění  $\text{Ca}^{2+}$  je interakce troponinu a tropomyozinu opět inhibována. Konformační změna po navázání  $\text{Ca}^{2+}$  na TnC je klíčová v řízení svalové kontrakce. Jedná se tedy o funkční celek participující na kontrakci vláken příčně pruhovaného svalstva a myokardu (63). V diagnostice IM se využívá pouze TnT a TnI vzhledem k odlišné struktuře těchto molekul v myokardu a příčně pruhovaném svalstvu. TnC není orgánově specifický pro myokard (64).



**Obrázek 5** Schéma komplexu aktin-myosin-troponinový komplex.

Již v případě prvních analytických souprav na stanovení cTn se jednalo o poměrně citlivé vyšetřovací metody. Dostatečná senzitivita pro účely diagnostiky IM však ještě nebyla spolehlivě vyřešena, protože u zdravé populace nebyly hodnoty cTn detekovatelné, a rovněž u pacientů s IM zejména v prvních hodinách po vzniku obtíží nebyly analytické soupravy dostatečně citlivé, aby zachytily počínající vzestup hladin cTn. Často bylo nezbytné posouzení dynamiky koncentrací cTn a hodnoty zmíněných markerů se vyšetřovaly ihned po příjezdu pacienta do nemocnice a následně po několika hodinách, např. po 4 a 8 hodinách (65). Následný pokles též nebyl dostatečně rychlý pro účely diagnostiky případného reinfarktu. V případě TnT se jednalo až o 14 dní, v případě

TnI až o 10 dní dlouhé diagnostické okno (58). Současně se stanovením koncentrací TnI nebo TnT se proto využívalo vlastností CK a myoglobinu zmíněných výše.

Klinickým pracovníkům se sice s příchodem cTn dostal do ruky marker s vysokou specifíčností pro myokard, avšak u první generace analytických souprav v případě TnT nebylo dosaženo tak vysoké specifíčnosti pro poškození myokardu a byla popsána elevace hladin např. u pacientů s rbdomyolýzou či renální insuficiencí, popř. u pacientů s chronickými myopatiemi, u kterých nebylo prokázáno poškození myokardu jinými metodami (66,67). Byly publikovány práce popisující, že tento jev může být způsoben reexpresí TnT buňkami příčně pruhovaného svalstva během svalové regenerace (68). Analytické soupravy na stanovení cTnI touto nevýhodou netrpěly, avšak i v případě pozdějších generací souprav cTnT je možno tento jev pozorovat (69).

### 2.6.5 Definice IM s využitím kardiálních troponinů

Na přelomu tisíciletí byla předními kardiologickými a biochemickými společnostmi vydána nová doporučení. V roce 1999 se jednalo o doporučení National Academy of Clinical Biochemistry (NACB), International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (IFCC), American Heart Association (AHA), American College of Cardiology (ACC) a v roce 2000 byl vydán konsensus AHA, ACC a ESC. Oba dokumenty doporučovaly revizi dosud platných doporučení diagnostiky IM. Mezi nejdůležitější změny patřilo nahrazení enzymů užívaných v diagnostice IM troponiny. Mezi další významné změny patřilo zahrnutí všech jednotek se stejnou etiologií, tedy ischemie myokardu – stabilní i nestabilní angina pectoris, non-Q IM, IM s ST elevací – do pojmu AKS. Konsensus ECS/ACC/AHA uvedl, že vyšetření aktivity CK-MB není za účelem diagnostiky ischemického poškození myokardu již dále nutné a dostačující je stanovení koncentrací cTnI, popř. cTnT (70). Nadále nebyla a není nutná přítomnost změn na EKG pro diagnostiku některých forem IM a pacienti s bolestmi na hrudi a pozitivními hodnotami cTn se klasifikují do skupiny NSTEMI, popř. non-QIM. Pro diagnostiku STEMI, popř. QIM je nutná přítomnost změn na EKG. Byla uvedena definice elevace cTn jako překročení 99. percentilu zdravé populace alespoň jednou během prvních 24 hodin od vzniku potíží (70). Diagnostický algoritmus IM viz **Obrázek 6**.

Další vývoj se ubíral různými směry, např. byla snaha najít markery, které odliší ischemii od nekrózy, popř. vyvinout další markery odrážející riziko vzniku kardiovaskulární příhody. Hledání markerů ischemie vedlo ke snaze detekovat ischemii ještě před rozvinutím infarktového ložiska. V této indikaci byl zkoumán zejména ischemií modifikovaný albumin (IMA), avšak jeho využití však nedoznalo většího rozšíření (71). Ukázalo se, že cTnT, cTnI i CK-MB mohou být rovněž markery rizika vzniku

kardiovaskulární příhody, stejně tak markery zánětu jako myeloperoxidáza (MPO) nebo C-reaktivní protein (CRP) (72,73).

Postupem času byla opět nutná změna definice IM. Byl navržen model uvádějící, že poškození kardiomyocytů může nastat působením faktorů rozličné etiologie. Současně bylo uvedeno, že k uvolnění cTn z myokardu může dojít, i když není nekróza přítomna. Jako součást diagnostického algoritmu v rámci pátrání po etiologii poškození kardiomyocytů je možno využít EKG i zobrazovacích metod. Konsenzus s názvem „Universal definition of myocardial infarction“ z roku 2007 připouští vznik akutního infarktu myokardu (AIM) v důsledku akutní ischemie, avšak rovněž i z jiných příčin (74). Dokument zahrnuje 6 typů MI, včetně spontánního MI, náhlé srdeční smrti a několika typů IM, které se mohou vyvinout během nebo po léčebném invazivním zákroku. Cut-off hodnoty jsou rovněž založeny na 99. percentilu konkrétní analytické soupravy cTn. Současně dokument navrhuje, aby vzestup o více než 3 směrodatné odchylky či vzestup cTn o 20 % ve dvou vzorcích s odstupem cca 3-6 hodin po předchozím náběru cTn byl určující pro stanovení diagnózy reinfarktu (74).

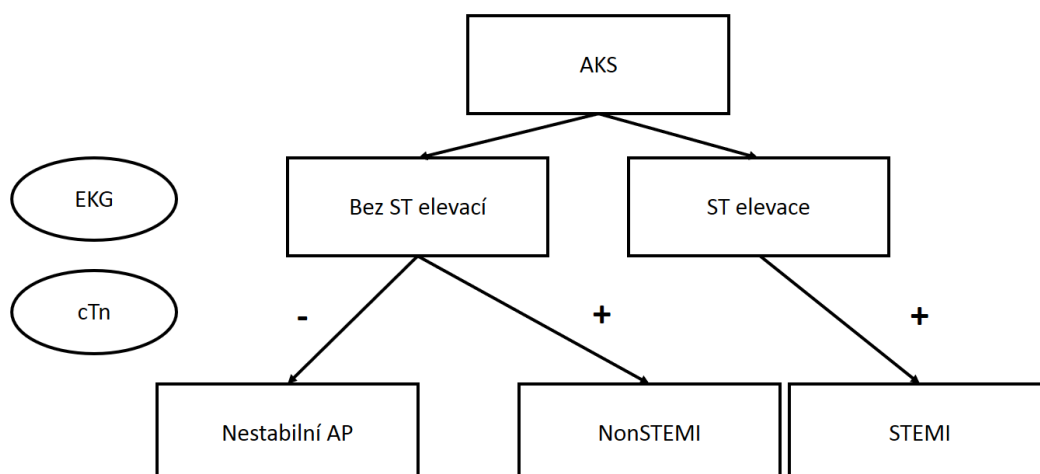
Postupný vývoj citlivějších analytických souprav na stanovení cTn vedl k další revizi uvedených doporučení. Ta byla uvedena v roce 2012 s názvem „Third universal definition of myocardial infarction“ (54). V dokumentu jsou revidovány podtypy IM:

- Spontánní IM (IM typu 1) – IM spojený s rupturou, ulcerací, disekcí atd. aterosklerotického plátu a následným vznikem intraluminárního trombu
- IM podmíněný ischemickou nerovnováhou (IM typu 2)
- Srdeční smrt v důsledku IM (IM typu 3) – pacienti postižení srdeční smrtí s příznaky typickými pro ischemii myokardu, avšak u kterých vzhledem k rychlému průběhu nebyly odebrány vzorky s hodnotami kardiálních markerů svědčících pro postižení myokardu
- IM spojený s revaskularizací myokardu při PCI (IM typu 4a)
- IM spojený s revaskularizací myokardu při PCI v souvislosti s trombózou stentu (IM typu 4b)
- IM ve vztahu k CABG (IM typu 5)

Současně byly prezentovány možnosti elevace cTn v důsledku malého poškození myokardu na základě poměrně širokého spektra příčin. Přehled příčin elevace cTn dokladuje, že byt' se jedná o tkáňově specifický marker, nejedná se o marker specifický pro konkrétní mechanismus poškození jedné tkáně (53). Mezi možné příčiny elevace cTn se řadí:

- Tachykardie či bradykardie
- Disekce aorty
- Hypertrofická kardiomyopatie
- Kongestivní srdeční selhání
- Šokový stav nekardiální etiologie
- Respirační insuficience
- Kontuze myokardu
- Srdeční ablace či operace na srdci
- Myokarditida, endokarditida, perikarditida
- Embolizace plicnice
- Rabdomyolýza
- Sepse
- Cévní mozková příhoda
- Amyloidóza, sarkoidóza, hemochromatóza
- Dlouhotrvající či extrémní fyzická zátěž
- Renální selhání
- Popáleniny většího rozsahu
- Hypertenze
- Aplikace cytotoxických látek jako antracykliny či herceptin, otrava CO

Některé práce však prokázaly, že pacienti nesplňující kritéria IM, avšak s elevovanými hladinami cTn, mají zvýšenou pravděpodobnost budoucího IM, reinfarktu či smrti z kardiálních příčin v porovnání se zbytkem populace (75).



**Obrázek 6** Klasifikace AKS (54).

První generace analytických souprav na stanovení cTn byly schopny detekovat již 1 g poškozené tkáně myokardu, pozdější generace byly schopny zachytit ještě menší množství. Analytická část stanovení cTn však nebyla zdaleka vyřešena a v průběhu let se potýkala s některými dalšími úskalími. Problematika specifičnosti první generace stanovení cTnT byla zmíněna výše. Dalším problémem byla a do jisté míry stále je diskrepance nejen mezi výsledky poskytovanými různými výrobci souprav, ale i mezi analytickými soupravami jednotlivých generací stejného výrobce. Nebyla a stále není návaznost v nastavení kalibrátorů mezi jednotlivými výrobci. Právě zmíněné charakteristiky vedly k nutnosti ustanovení cut-off hodnot individuálně pro každou analytickou soupravu, což může v praxi mást klinické pracovníky (76). Vzhledem k tomu, že byl cTnT vyráběn pouze jedním výrobcem, potýkal se méně s problémy podobného charakteru. V důsledku snahy o standardizaci vyšetření hladin cTn navrhla AACC referenční materiál k zavedení primárního standardu cTnI a US National Institute of Standards and Technology (NIST) nyní poskytuje kalibrační standard. Navzdory této možnosti však nedošlo k eliminaci rozdílů ve stanoveních jednotlivých výrobců a je třeba stále u každé soupravy stanovit individuální hodnoty cut-off (77).

### 2.6.6 Vysoce senzitivní troponiny

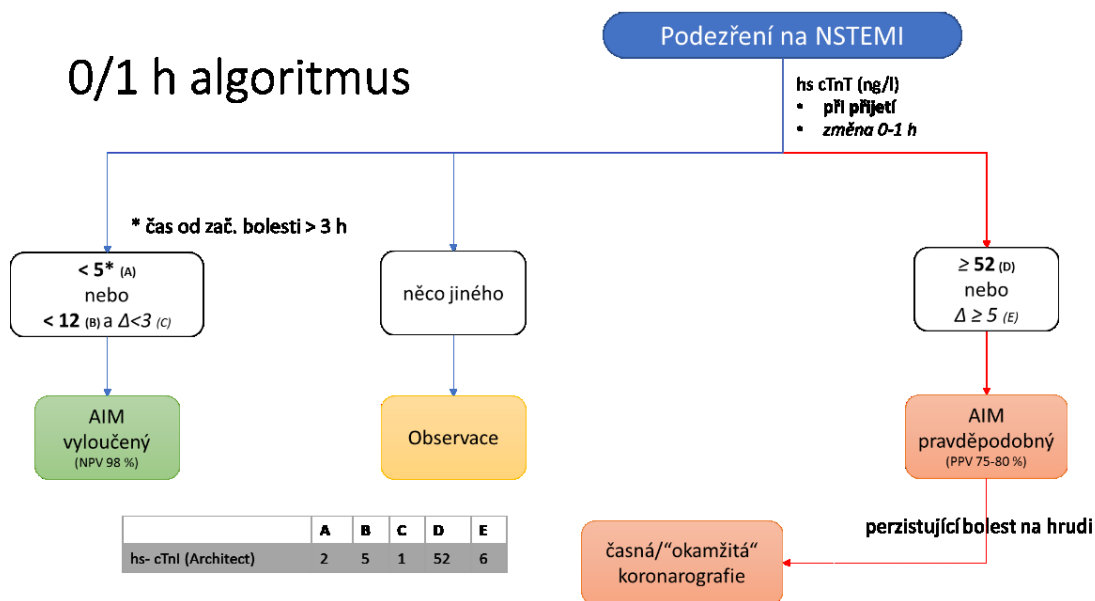
Se snahou poskytnout vyšší analytickou senzitivitu byly vyvíjeny novější generace stanovení cTn. Novější generace stanovení cTn byly nazývány „sensitive“, „high sensitive“, „highly sensitive“, popř. „high performance“, „ultrasensitive“ nebo „high

sensitivity“, avšak jasná kritéria „vysoce senzitivních“ souprav definována nebyla. Často zmiňovanými vlastnostmi „vysoce senzitivních“ souprav jsou:

- procento naměřených hodnot cTn ve zdravé (referenční) populaci – u „vysoce senzitivních souprav“ by mělo být vyšší než 50 %
- nepreciznost na 99. percentilu – u „vysoce senzitivních“ souprav by měla být nižší než 10 % (78)

Tyto soupravy se pro účely rutinní praxe dostaly klinickým pracovníkům do rukou kolem roku 2010 (51,79). Poslední generace jsou schopny detekovat nekrózu myokardu o velikost 1  $\mu\text{g}$ . Důsledkem snížení limitu detekce (LoD) mohou nejnovější generace souprav změřit hodnoty cTn u více jak 95 % zdravé populace v porovnání s přibližně 15 % u starších generací (53,80).

Zlepšení analytických vlastností stanovení cTn vedlo k možnosti vytvořit rychlé diagnostické algoritmy s dostatečnou spolehlivostí na rozhodovací mezi. Je možné identifikovat pacienty, kteří mohou být bezpečně propuštěni do domácí péče s vyšší než 99% negativní prediktivní hodnotou pro přítomnost IM či smrti z kardiální příčiny v průběhu následujících 30 dnů. Současně je možné identifikovat pacienty, které je třeba přijmout a léčit, nebo pozorovat (51,81,82). 1h algoritmus pro diagnostiku NSTEMI dle ESC doporučení z roku 2015 je popsán níže (**Obrázek 7**) (51).



**Obrázek 7** Jedn hodinový algoritmus pro zařazení a vyloučení pacientů s podezřením na NSTEMI. Uvedeny jsou i cut-off hodnoty pro hsTnT (ve schématu) a hsTnI (v tabulce). NPV, PPV – negativní a pozitivní prediktivní hodnota.

Byla zvažována možnost zavedení rozhodovacích mezí závislých na věku či pohlaví, avšak studie orientující se na tuto problematiku nevedly k jednoznačným závěrům. Například bylo zjištěno, že zavedení referenčních mezí dle pohlaví může vést k lepší identifikaci žen se závažnými kardiovaskulárními příhodami, však u mužů tato souvislost prokázána nebyla (83).

Mohlo se zdát, že s příchodem analytických souprav posledních generací na stanovení cTn byl nalezen ideální marker nekrózy myokardu. Pro klinické a laboratorní pracovníky však vyvstala další úskalí. Zvýšené koncentrace cTn jsou častěji přítomny též u pacientů bez ischemie myokardu nebo jiné zjevné příčiny (53). Příkladem je zvýšení koncentrací cTn po fyzické zátěži.

V literatuře je často možné setkat se s mírně zavádějící terminologií budící dojem, že se jedná o stanovení jiných molekul, avšak cílovými molekulami v případě „vysoce senzitivních“ analytických souprav na stanovení cTn jsou stále myokardiální troponiny T a I. Je-li nadále zmíněn v textu pojem vysoce senzitivní troponiny, resp. hsTnI či hsTnT, jsme si vědomi ne úplně přesné terminologie, avšak jedná se o pojmy běžně užívané, když je pomýšleno na analytické soupravy posledních generací splňující výše popsaná kritéria. Bezespору přesnější by bylo uvádění termínu „kardiální troponin“ s uvedením generace soupravy na stanovení.

#### 2.6.7 Zvýšení hladin kardiálních troponinů v souvislosti s fyzickou zátěží

Zvýšené koncentrace cTn jsou spojovány se zvýšenou morbiditou, mortalitou a zvýšeným rizikem srdečního selhání (84). Sportovní aktivita je zejména v rozvinutých zemích nástrojem k využití volného času, ale rovněž k prevenci řady onemocnění nejen kardiovaskulárního aparátu, ale i osteoporózy, osteoartritidy, nádorů a dalších onemocnění (23). Mnoho lidí po celém světě tráví týdně hodiny sportovní aktivitou na profesionální i neprofesionální úrovni. Hospitalizace po intenzivní či dlouhotrvající zátěži u starších, ale i mladých jedinců, např. po dokončení půlmaratonu, však není vzácná. U jedinců hospitalizovaných v důsledku vyčerpání při sportovním výkonu mohou, ale nemusí být přítomny klinické známky suspektní z kardiální etiologie (17).

Zvýšení hladin cTn v souvislosti s fyzickou zátěží bylo extenzivně studováno a byť mechanismus uvolnění cTn nebyl plně objasněn, existuje řada teorií (85–93). Možnost zachytit malé změny v koncentracích cTn přišla právě až s příchodem analytických souprav, které byly schopny stanovit koncentrace troponinů i u většiny zdravých jedinců (53,79). První generace souprav na stanovení cTn nebyly v řadě případů schopné detekovat cTn ani po dlouhotrvající či extrémní zátěži, např. ani po absolvování tzv. ultramaratonů, tedy závodů spočívajících v uběhnutí vzdáleností přesahujících délku



klasického maratonu o mnoho kilometrů (92,94). K zdůraznění termínu „syndromu běžců (runner's syndrome)“ došlo po zavedení posledních generací analytických souprav na stanovení cTn do běžné praxe. Zvýšilo se procento sportovců, kteří po zátěži překročí 99. percentil. Např. ve studii Mingelse bylo publikováno, že 86 % účastníků maratonu mělo hodnoty hsTnT vyšší než 99. percentil zdravé populace (95). Rovněž zátěž ani nemusí být extrémní či dlouhotrvající, např. Shave publikoval změny cTn u zdravých jedinců již po 30 minutách intenzivního běhu (96).

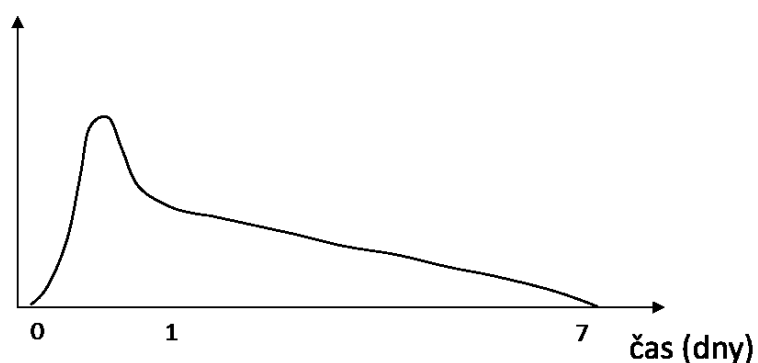
Výsledky z dostupných studií se shodují v tom, že před začátkem fyzické zátěže bývají hladiny cTn nižší než po zátěži a následně při kontrolním náběru za 24 hodin dochází obvykle k poklesu hladin k počátečním hodnotám (87,92). Middletonová však publikovala v případě některých běžců v čase cca 24 hodin po uběhnutí maratonu na běhacím ergometru přítomnost dalšího píku v koncentracích cTnT (91). Jednalo se o studii založenou na sledování hladin cTnT starší generace a nebyly uvedeny detaily ohledně studované kohorty běžců, popř. na jaké úrovni zátěže byl běh absolvován. Studie Tiana založená na sledování hladin hsTnT při normalizované zátěži v laboratorních podmínkách však přítomnost druhého píku v koncentracích hsTnT neprokázala (97).

Většina dostupných studií byla realizována v soutěžním prostředí a náběry krve na stanovení hladin cTn byly provedeny před závodem, po závodě a případně ještě další den po závodě (93,98). Podobně designované studie však měly řadu limitací. Počet probandů ve studii byl často malý a známá je cross-reaktivita s troponiny kosterního svalstva u první generace analytických souprav na stanovení cTnT. Současně byli zejména zpočátku vybíráni pouze jedinci účastníci se extrémnějších závodů jako např. iron man, ultramaraton, apod. Jak docházelo k vývoji souprav na stanovení cTn, zlepšovaly se nadále jejich analytické vlastnosti, bylo možno detekovat hodnoty cTn u stále většího procenta jedinců po zátěži. Dalším limitem dostupných studií bývá dodržení designu náběrů se stanovením sledovaných parametrů i během zátěže zejména v soutěžním prostředí. Současně je prakticky vyloučeno, aby každý z účastníků v soutěžním prostředí absolvoval stejnou míru zátěže s ohledem na svoji kardiopulmonální kapacitu. Dále samotné soutěžní prostředí bývá zdrojem stresu a může ovlivnit řadu laboratorních parametrů (99). Rovněž byly publikovány práce zabývající souvislostí hodnot cTn po fyzické zátěži a parametrů zjištěných při echokardiografickém vyšetření či magnetické rezonanci (MR) (86,100–102). Tyto studie však poskytly rozdílné závěry. Korelace mezi změnami v hodnotách cTn a echokardiografickými parametry byla publikována ojediněle (101). Studie zabývající se změnami v hladinách cTn během zátěže v laboratorních podmínkách jsou poměrně vzácné (86,97).

V anglicky psané literatuře je poměrně často uváděn termín „exercise-induced troponin elevation“, který bychom mohli přeložit jako „elevace koncentrací cTn v souvislosti se cvičením nebo fyzickou zátěží“. U některých autorů však je elevace hladin cTn chápána jako zvýšení hladin cTn v porovnání s hodnotami před zátěží, v jiných případech byla elevace chápána jako dosažení hodnot vyšších než 99. percentil, což může vést k nejednoznačné interpretaci výsledků některých studií (98,103).

#### 2.6.8 Rozdíly v dynamice cTn u zdravého a poškozeného myokardu

Existují rozdíly v dynamice uvolnění cTn u zdravého myokardu po zátěži a u myokardu, u kterého dojde k poškození kardiomyocytů např. v důsledku ischemie. Je-li přítomna ischemie, postupně dochází ke spuštění kaskády pochodů vedoucích k buněčné smrti. Aerobní metabolismus se mění na anaerobní, současně dochází k omezení funkce  $\text{Na}^+\text{-K}^+$  ATPázy jako enzymu vyžadujícího velkou dodávku energie. Zvyšuje se produkce laktátu, popř. fosfátů. Vzhledem k nízké molekulové hmotnosti se tyto molekuly objevují v cirkulaci již během minut. Dochází k nevratným změnám, což vede ke vzniku nekrózy. Existují však poměrně účinné kompenzační mechanismy a k ireverzibilnímu poškození dochází až po cca hodině od vzniku ischemie (104). V případě molekul, které jsou přítomny pouze v cytosolu, je v průběhu jejich koncentrací v krvi v závislosti na čase patrný pouze jeden pík. Molekuly jako lehké řetězce myozinu, které jsou přítomny pouze vázané intracelulárně ve funkční jednotce myozinu, vykazují též monofazický, ale relativně opožděný pík. Naopak troponiny, které mají nefunkční cytosolickou, ale i funkční vázanou frakci, vykazují v případě poškození myokardu bifazický vzestup (**Obrázek 8**).



**Obrázek 8** Dynamika uvolnění cTn. Nahoře – cytoplazmatická frakce při přechodné ischemii, dole – cytoplazmatická a následně strukturální frakce při poškození kardiomyocytu.

Bylo však prokázáno, že v důsledku reverzibilní ischemie může dojít k rychlému vzestupu a poklesu v koncentraci cTn a současně nemusí být přítomny typické symptomy ischemie (104). V cytoplasmě nejsou přítomny intaktní molekuly troponinu, přítomny jsou pouze fragmenty molekul vznikající v důsledku degradace sarkomery. Ve studii na zvířecích modelech bylo prokázáno, že k uvolnění cytosolické formy do krevního oběhu dochází až po určité době a přechodná ischemie nemusí být uvolněním obsahu cytosolu do krevního oběhu provázena. V práci McDonougha, kde na krysích modelech byla při různém rozsahu ischemie zjišťována přítomnost degradačních produktů cTn, bylo prokázáno, že cTnI a cTnT jsou progresivně degradovány z amino i karboxy konce molekul a existují různé formy degradačních produktů. Byly zjištěny produkty degradace cTnI o velikosti 15 a 24kDa a v případě cTnT 25, 27, 33 a 35 kDa (105).

Studie na pacientech po AIM prokázaly, že při poškození kardiomyocytů jsou v krevním oběhu přítomny intaktní molekuly i degradační produkty cTn. Ve studii Mingelse bylo prokázáno, že zejména u pacientů s chronickou renální insuficiencí v konečném stádiu mohou být v krevním oběhu přítomny degradační produkty molekul

cTn o ještě menší velikosti než 18 kDa (106). Protilátky komerčních souprav na stanovení koncentrací cTn jsou však schopny reakce s centrální částí molekuly cTnI i cTnT a jsou schopny detekce fragmentů molekul obsahujících tuto část (107). U pacientů s chronickou renální insuficiencí v důsledku zhoršené renální clearance dochází k elevaci koncentrací cTn právě v důsledku detekce fragmentů molekul cTn komerčními kity (108).

### 2.6.9 Příčiny elevace kardiálních troponinů po zátěži

Existuje řada teorií vysvětlujících elevaci hladin cTn po fyzické zátěži. Jednou z možností je poškození kardiomyocytů. Tento mechanismus je zmiňován zejména v pracích staršího data (109,110). V řadě případů se však jedná o studie založené na sledování hodnot cTn během soutěží extrémnějšího charakteru. Této teorii přispívá, že např. u atletů je pravděpodobnost vzniku náhlé srdeční smrti přibližně 2-3x vyšší v porovnání s normální populací a současně je známo, že zejména extrémní zátěž bývá spojena se změnami iontové rovnováhy, koncentrací katecholaminů a dalších laboratorních parametrů (111–114). Dlouhodobá či extrémní zátěž může být zdrojem patologických změn kardiovaskulárního aparátu, např. ztluštění stěny velkých tepen, popř. kalcifikace koronárních arterií (29,30). Některé studie odhalily u jedinců účastnících se maratonu elevaci markerů fibrózy jako např. galektinu-3 (115). Bylo publikováno několik studií, které udávají, že po fyzické zátěži dojde ke změnám zjištěným při echokardiografickém vyšetření i pomocí MR srdce. V některých případech tyto změny korelují s elevací hodnot cTn, v některých ne (101,110,116–118). Současně některé studie uvádějí, že např. po dokončení maratonu nebylo poškození myokardu např. pomocí metod nukleární MR prokázáno (119,120). Většina autorů se nyní přiklání k názoru, že pozátěžová elevace hodnot cTn pravděpodobně není důsledkem poškození kardiomyocytů, avšak dlouhodobý důsledek zvýšených hodnot cTn zůstává nejasný (121,122).

Více uznávanou teorií než poškození kardiomyocytů, je uvolnění jejich cytosolického obsahu do krevního oběhu (123,124). Z celkového množství cTn obsaženého v kardiomyocytech je přibližně 6-8 % cTnT a 3 % cTnI přítomno v cytosolu ve volné formě v podobě degradovaných produktů (125). V důsledku relativně nízké elevace po zátěži a tendenci k rychlé normalizaci je proto usuzováno, že elevace cTn po zátěži je způsobena uvolněním cytosolického „poolu“ cTn (**Obrázek 9**). Současně právě charakter průběhu hladin cTn po IM přispívá k názoru, že v případě elevace cTn po zátěži se nejedná o nevratné poškození kardiomyocytů (126). První pík u pacientů s IM je způsoben vyplavením cytosolického poolu, druhé maximum vzniká v důsledku destrukce kontraktálního aparátu. První pík by měl vzniknout do cca 6 hodin a následně

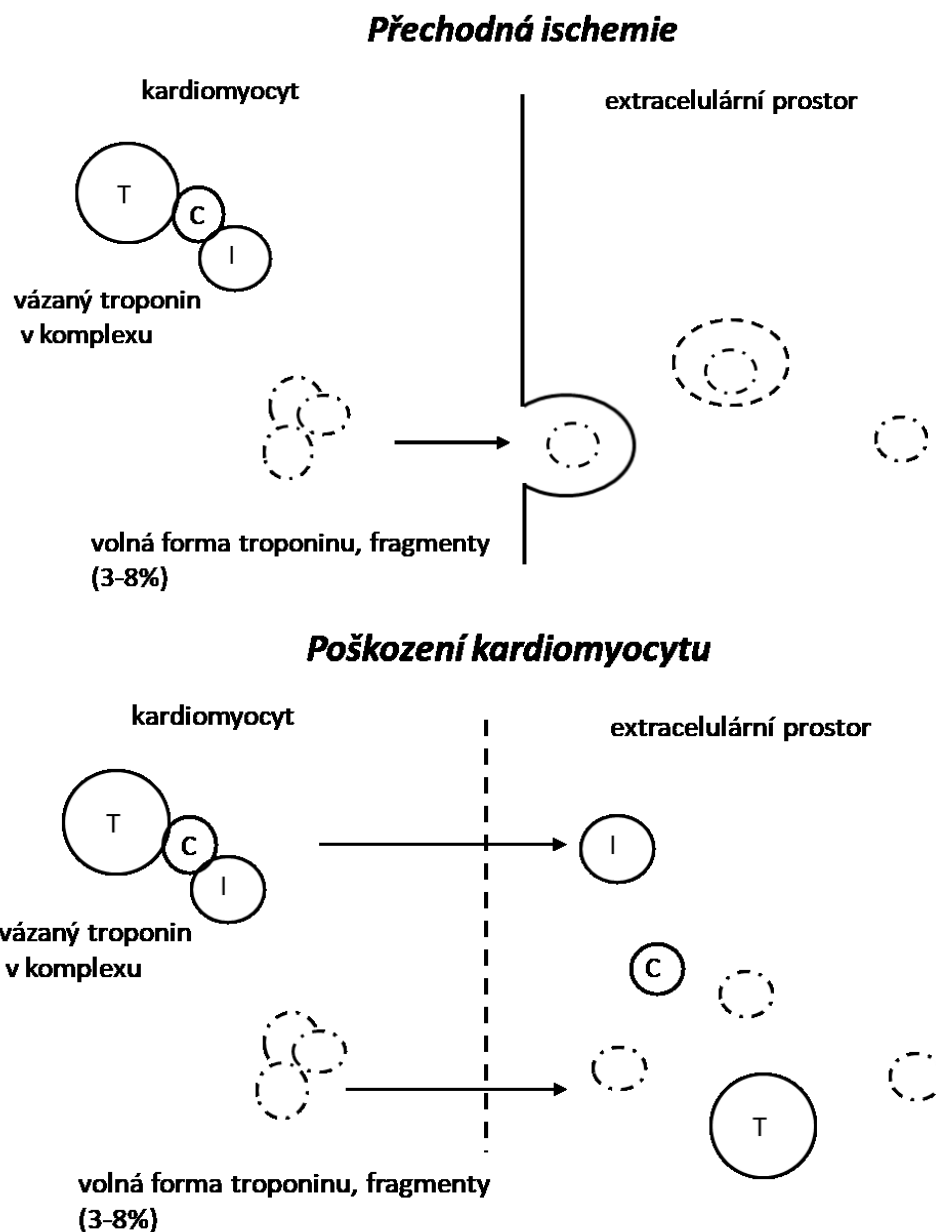
by se měly hodnoty cTn vrátit k výchozím do cca 24-48 hodin. Vzhledem k rozdílnému zastoupení cTnI a cTnT v cytosolu, rozdílné molekulové hmotnosti jednotlivých podjednotek a rozdílným analytickým soupravám lze vysvětlit určité rozdíly v hodnotách a dynamice obou rutinně vyšetřovaných troponinů (125,127). Dosud však nebyla provedena studie na zdravých jedincích po zátěži zaměřená na srovnání přítomnosti intaktních molekul, degradačních produktů či obou zmíněných forem cTn.

Jak již bylo zmíněno, průběh hladin cTn, ke kterému dochází po fyzické zátěži, nekoresponduje s vyplavením cTn z nekrotického myokardu. Vyplavení z tzv. cytosolického poolu je vysvětlováno zvýšením permeability membrány a následným vyplavením fragmentů molekul cTn (89,128). Nebylo prokázáno, že by zhoršení buněčné integrity bylo spojeno s ireverzibilním poškozením kardiomyocytů (129). Hickman ve své práci navrhl, že během ischemie dochází ke vzniku tzv. plazmatických výchlípek, které se při obnovení adekvátní oxygenace vstřebávají a mizí, avšak při přetrvávající ischemii se zvětšují a jejich obsah je uvolněn do cytoplazmy. Při déletrávající ischemii dochází k buněčné smrti. Přechodná ischemie během fyzické zátěže je dostatečná k vytvoření těchto výchlípek, avšak není dostačující k rozvinutí nekrózy (130,131).

Zejména při fyzické zátěži vysoké intenzity dochází k produkci reaktivních forem kyslíku, tzv. reactive oxygen species (ROS). To následně vede ke zvýšené peroxidaci lipidů a může dojít k porušení integrity membrány. Existují názory, že zvýšená permeabilita kardiomyocytu vzniká v důsledku zvýšené produkce ROS. Zvýšené hodnoty cTn u adolescentů po zátěži mohou být vysvětleny ještě nedovyvinutým systémem antioxidační kapacity a nezralým kardiovaskulárním systémem více náchylným k poškození cestou ROS (86,124). Koncentrace cTn a markery peroxidace lipidů však dosud v žádné studii současně zkoumány nebyly.

Dále je třeba zmínit možnost ovlivnění metabolismu  $Ca^{2+}$  a acidobazických poměrů, což může rovněž vést ke zvýšení buněčné permeability (132,133). Publikována je též možnost ovlivnění metabolismu integrinů. Jedná se o transmembránové glykoproteiny, které mohou být ovlivněny v důsledku roztažení kardiomyocytu během fyzické zátěže. Následně dochází ke změně komunikace mezi integriny a cytoskeletem, což může vést k uvolnění troponinů (134). Někteří autoři zvažují možnost fyziologické remodelace myokardu u sportovců jako formu adaptace na fyzickou zátěž a následně ovlivnění metabolismu cTn. To podporuje tvrzení, že tzv. atletické srdce nabývá větších rozměrů, ale v souvislosti s fyzickou zátěží dochází u více trénovaných jedinců k uvolnění menšího množství cTn. Současně při opakované zátěži dochází k menšímu uvolnění cTn, což může být chápáno jako adaptační mechanismus na fyzickou zátěž (86,135).

Existují též teorie, že vyplavení cTn během fyzické zátěže může souviset se zánětlivou odpovědí během zátěže. Mezi markery zánětu vyšetřované v souvislosti se zátěží se řadí zejména ultrasenzitivní CRP, IL-6 nebo MPO. Některé publikace popisují korelaci mezi těmito markery a elevací cTn (90,136). Jiné práce však tuto souvislost neprokázaly (137), současně zobrazovacími metodami, např. pomocí MR vyšetření srdce, přítomnost zánětu v důsledku zátěže prokázána nebyla (119).



**Obrázek 9** Patofyziologie uvolnění cTn. Nahoře – při přechodné ischemii cestou cytoplazmatických výchlipek. Dole – děletrvající ischemie s následným poškozením kardiomyocytu.

Zmiňována je též možnost ovlivnění koncentrace hladin cTn v důsledku dehydratace, která může být v případě zejména extrémnějších výkonů výrazná (138). Někteří autoři uvádějí jako významný faktor ovlivňující metabolismus cTn rovněž zhoršení renální clearance (139). Byly publikovány práce zmiňující korelaci koncentrace cTn a kreatininu, avšak elevace obou zmíněných parametrů nemusí být přítomna

(97,140). Možnost reexprese kardiálních troponinů v regenerujících svalech příčně pruhovaného svalstva byla již zmíněna výše.

#### 2.6.10 Faktory ovlivňující uvolnění kardiálních troponinů po zátěži

Intenzita a délka trvání zátěže jsou parametry, které mohou významně ovlivnit hladinu cTn. Jak již bylo zmíněno, zpočátku byly publikovány práce zaměřené zejména na uvolnění hladin cTn po extrémní či dlouhotrvající zátěži (127). V některých studiích byla zmíněna intenzita zátěže jako prediktor elevace cTn (141,142), ne však vždy (143). Dále byla publikována práce prokazující elevaci již po 30 minutách intenzivního tréninku, v jiné studii bylo prokázáno, že fyzická zátěž vysoké intenzity trvající 45 minut má větší efekt na uvolnění cTn než fyzická aktivita o délce 90 minut nízké intenzity (96,124). Mezi běžně udávané parametry korelující s elevací cTn patří menší tréninková zátěž či menší zkušenosti závodníka. Tato souvislost však nebyla prokázána ve všech studiích (98,101,144). Dále byly publikovány studie dokladující souvislost mezi mírou vyplavení cTn a změnou TF během závodu, stejně tak dobou nutnou k dosažení klidové TF po závodu (145,146). V jiné studii zaměřené na sledování uvolnění cTn v souvislosti se zdoláním maratonu došlo u skupiny se zátěží indukovanou hypertenzí nad 210 mm Hg k signifikantně vyšší elevaci cTn než u skupiny s nižšími hodnotami TK.

Dalším faktorem ovlivňujícím uvolnění cTn po zátěži je věk. Byly publikovány práce, ve kterých u adolescentů docházelo k výraznější elevaci než u dospělých jedinců, např. v práci Tiana porovnávali zvýšení troponinů po normalizované zátěži u dospělých a adolescentů (97). V některých dalších studiích bylo publikováno větší zvýšení troponinů u mladších dospělých jedinců než u starších, avšak většina studií tuto souvislost neudává a současně se nejednalo o studie s normalizovanou zátěží (103,147).

Nemalá variabilita v publikovaných pracích je zřetelná z pohledu načasování sběru vzorků. Ve většině případů je sběr vzorků koncipován jako sledování koncentrace cTn před a po zátěži, a následně pak v různých časových odstupech po zátěži. Ve studii Middletonové byly náběry provedeny v průběhu maratonu na běhacím ergometru a pak v časech 1, 2, 3, 6, 12, 24 a 48 hodin po zátěži. Z výsledků je patrné, že kromě prvního píku v koncentracích cTn mezi cca 60 a 120 minutami došlo u většiny jedinců v průběhu několika hodin po zátěži ke vzniku ještě druhého píku v koncentracích cTn, v některých případech pak došlo k normalizaci hladin do 24 hodin po zátěži (91). V případě studií designovaných na sběr vzorků před zátěží, po zátěži a 24 hodin po zátěži nemusí být případná další elevace v hodnotách cTn tedy vůbec zachycena. Je patrné, že některé studie založené na sledování koncentrací cTn v souvislosti s fyzickou zátěží mohly vést ke špatným závěrům v důsledku špatně rozvrženého sběru vzorků (98).



Konečně byla též snaha o posouzení rizikových faktorů vzniku kardiovaskulárního onemocnění jako možných faktorů ovlivňujících elevaci cTn v souvislosti se zátěží, avšak např. ve studii založené na sledování korelace změn cTn s hodnotami BMI nebyla souvislost prokázána, stejně tak v případě porovnání dvou skupin s přítomným strukturálním poškozením myokardu a bez něj (98,122).

### 2.6.11 Markery myokardiální fibrózy, galectin-3

Galectin-3 je protein náležející do široké skupiny galectinů, který obsahuje domény rozpoznávající sacharidy a domény připomínající kolagen (collagen-like). Díky tomu se může vázat na celou řadu strukturálních molekul extracelulární matrix a některé buněčné receptory (např. fibronektina a laminin). Hraje tak roli v adhezi buněk, jejich aktivaci a chemoatrakci, buněčném růstu, diferenciaci i apoptóze. Makrofágy mohou secernovat galectin-3 do extracelulárního prostoru a aktivovat tak klidové fibroblasty, které začnou produkovat fibrózní matrix. Galectin-3 je exprimován v mnoha tkáních, včetně srdečního svalu, jater, ledvin a kosterních svalů. Je navržen jako marker fibrotizujícího procesu myokardu, zejména u pacientů se srdečním selháním (148). Klinicky může pomoci ve stratifikaci rizika pacientů se srdečním selháním (149), ideálně v kombinaci s klinickými skórovacími systémy a dalšími biomarkery (např. cTn, NP a sST2). Nicméně jednoznačné algoritmy a doporučení pro klinické použití tohoto markeru nejsou zatím dostupné.

## 2.7 Ovlivnění renálních funkcí s ohledem na fyzickou zátěž

Fyziologické i patologické procesy spojené s fyzickou zátěží mohou ovlivnit renální funkce nebo vést i k poškození ledvin. Hlavními patofyziologickými mechanismy jsou zejména dehydratace, redistribuce cirkulujícího objemu a ev. poškození svalů. Úvodem zmiňme základní přístupy k zjištění ledvinných funkcí a vybrané markery poškození ledvin.

Příčiny zhoršené funkce ledvin jsou tradičně děleny na:

- **prerenální** – způsobené sníženou perfuzí ledviny, nejčastěji při hypovolémii či hypotenzi. Výsledkem je aktivace systému renin-angiotenzin-aldosteron, při hyperosmolalitě dochází rovněž ke zvýšené sekreci antidiuretického hormonu. Výsledkem je zvýšené vstřebávání sodíku a vody a ztráty  $H^+$  a  $K^+$ .
- **renální** – příčinou je vlastní poškození renálního parenchymu. Poškozena je jak glomerulární membrána, tak i tubulární funkce. Kromě specifických onemocnění ledvin (např. glomerulonefritidy) a vlivu toxických látek (např.

rentgen kontrastní látky, těžké kovy, aminoglykosidová antibiotika) se v patofyziologii může uplatnit i proteinurie, hemoglobinurie a myoglobinurie při poškození svalů. Precipitací myoglobinu v kyselém pH moči při fyzické zátěži v kombinaci s dehydratací může dojít k obstrukci tubulů a k akutnímu poškození ledvin.

- **postrenální** – vzniká obstrukcí odtoku moči na různých úrovních – např. ureteru urolitiázou, močové trubice hyperplazií prostaty nebo jakékoli části močového traktu nádorem vylučovacího systému nebo okolních tkání.

Prerenální i postrenální příčiny často vedou k poškození renálního parenchymu. Praktičtější je tedy dělení dle toho, zda došlo nebo nedošlo ke strukturálnímu poškození ledvin. Z pohledu hodnocení renálních funkcí je důležité posouzení glomerulárních a tubulárních funkcí.

### 2.7.1 Glomerulární filtrace

Glomerulární filtrace (GF) je aktivní děj, při kterém se krev pod tlakem filtruje přes glomerulární membránu. Ta je selektivně propustná pro nízkomolekulární látky (např.  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Cl}^-$  a další ionty; mikroproteiny až do velikosti cca 68 kDa). Filtrační membrána je negativně nabitá (pokrytá vrstvou heparansulfátu) a proto filtruje molekuly nejen podle velikosti ale i podle náboje – negativně nabitě molekuly (hlavně albumin) procházejí hůře. Glomerulární filtrací vzniká primární moč, která je na tubulární straně nefronu dále zpracovávána (viz Tubulární funkce) a zakončena vznikem definitivní moče. Tradičně udávaný objem primární moče je 170-180 litrů za den (tedy asi 2 ml/s). Jde o idealizované číslo, průměrná GF u zdravého mladého člověka je 1,78 ml/s/1,73 m<sup>2</sup>. Fyziologicky začíná klesat zhruba po 40. roku přibližně o 0,15 ml/s za 10 let. Většina patologických dějů v ledvinách nakonec vede k zániku celého nefronu a odráží se i v poklesu glomerulární filtrace. Proto považujeme glomerulární filtraci za nejlepší klinicky dostupný ukazatel funkce ledvin.

Při měření nebo odhadu glomerulární filtrace používáme 2 základní principy – vymizení volně filtrované látky z plazmy (clearance) nebo měření koncentrace volně filtrované látky jen v plazmě. Clearance nízkomolekulární látky je očištění plazmy od této látky za jednotku času. Ideální látka použitelná v hodnocení ledviné clearance musí volně pronikat glomerulárním sítím a nesmí být resorbována ani secernována v tubulech. Zlatým standardem měření glomerulární filtrace je steady-state clearance inulínu. Nevýhodou je pracné nastolení rovnovážného stavu infuzí s inulínem. Používá se však celá řada dalších látek (např. <sup>51</sup>Cr-EDTA, iothalamát), u kterých se variantně měří clearance po podání bolusové dávky. Klinicky je stále užívána clearance kreatininu,

který se v organismu fyziologicky nachází. Základním nedostatkem je secernování tubuly a nutnost 24h sběru moči. Klinicky nejrozšířenější jsou odhady GF ze sérové koncentrace kreatininu a ze sérové koncentrace cystatinu C (150).

#### 2.7.1.1 *Odhady GF založené na sérovém kreatininu*

Kreatinin je nízkomolekulární látka (113 Da) produkovaná ve svalech z kreatinu a kreatinfosfátu. Je volně filtrován glomeruly a částečně (cca 10 %) secernován v tubulech. S rostoucí koncentrací kreatininu v krvi stoupá i jeho sekrece do tubulů a částečně i vylučování dalšími cestami (stolice). Koncentraci kreatininu v krvi tedy neovlivňuje jen glomerulární filtrace, ale i další faktory, z nichž nejvýznamnější je právě svalová hmota. Existuje celá řada rovnic (např. MDRD, CKD-EPI, BIS1, FAS), které byly odvozeny z různých populací (jak pacientů s chronickým onemocněním ledvin, tak i zdravých lidí). Jejich společnou vlastností je, že se snaží počítat s významnými faktory ovlivňující svalovou hmotu jako věk (se stoupajícím věkem obvykle klesá svalová hmota), pohlaví (ženy mívají menší svalovou hmotu než muži) a rasa (negroidní rasa má vyšší zastoupení svalů). Je třeba však počítat s některými omezeními:

- rovnice jsou použitelné pro „průměrného“ jedince daného věku a pohlaví, na individuální úrovni se od reálné GF mohou značně odlišovat (např. u atletů s velkou svalovou hmotou budou GF podhodnocovat).
- rovnice jsou určeny pro použití u stabilních pacientů, zejména pro diagnostiku chronického onemocnění ledvin. Pro zjištění GF po akutní zátěži nejsou primárně určeny a jak vliv změn v metabolismu svalů během zátěže, tak i dietní vlivy (příjem kreatinu jako doplňku stravy) mohou u sportovců způsobit významné odchylky odhadu od reálné GF. Odborná literatura však zatím nenabízí mnoho vodítek, jak by se mělo postupovat v praxi. Více prací se přiklání k názoru, že spolehlivější odhady GF při fyzické zátěži získáme pomocí cystatinu C nebo clearance kreatininu (151,152).
- analytické interference (zejména glukózy a celková bílkovina) u stále hojně používané Jaffého metody stanovení a nedostatečná mezilaboratorní porovnatelnost výsledků ztěžuje interpretaci výsledků.

#### 2.7.1.2 *Odhady GF založené na sérovém cystatinu C*

Cystatin C je mikroprotein (13 kDa), který je produkován v relativně konstantním množství všemi jadernými buňkami, je volně filtrován glomerulem a v proximálním tubulu je vstřebán a zcela degradován. Proto je jeho sérová koncentrace používána k odhadu glomerulární filtrace. Klinicky se uplatňuje tam, kde selhává odhad založený na sérovém

kreatininu – u pacientů se sarkopenií nebo se zvýšenou svalovou hmotou (sportovci), u těhotných. Používá se také jako konfirmační metoda u pacientů s odhadnutou GF dle sérového kreatininu těsně pod 1 ml/s. Všechny moderní rovnice pro odhad GF mají i verzi pro cystatin C (CKD-EPI, BIS2, FAS). Na obecné úrovni je shoda s reálnou glomerulární filtrací obdobná jako u odhadů založených na sérovém kreatininu. Racionální použití obou markerů však vychází z adekvátního použití podle příslušných limitů odhadů.

Existují též limitace pro odhady založené na cystatinu C např. v důsledku vlivů, které zvyšují produkci cystatinu C. Patří mezi ně hypertyreóza, kortikoterapie nebo produkce některými nádory (hematologické malignity, melanom). Snížení koncentrace můžeme nalézt např. u hypotyreózy, popř. se diskutuje o konzumpci při zánětlivých stavech.

Důležitý je také rozdíl ve velikosti molekuly kreatininu a cystatinu C – cystatin C je asi 100x větší a může se tedy za různých okolností chovat jinak. Někteří autoři dokonce vyčleňují zvláštní klinickou jednotku, tzv. „Shrunken pore syndrome“, která se vyskytuje při některých emergentních situacích (např. po kardiochirurgických operacích, při preeklampsii). Patofyziologie tohoto syndromu se vysvětluje relativním zmenšením filtračních pórů v glomerulární membráně. Malý kreatinin je stále ještě volně filtrován, ale větší cystatin C již neprojde. Nacházíme pak významně menší hodnoty odhadů založených na cystatinu C v porovnání s odhady založenými na kreatininu.

### 2.7.2 Tubulární funkce

Mezi tubulární funkce patří zejména koncentrační a acidifikační schopnost, sekrece a resorpce nízkomolekulárních látek. Žádnou z těchto funkcí nelze jednoznačně umístit do některé části tubulů, obvykle probíhají v různé míře v celém průběhu tubulů. Hlavní části tubulů lze charakterizovat takto:

- proximální tubulus – reabsorpce většiny  $\text{HCO}_3^-$ ,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$  a vody; resorpce filtrovaných proteinů a jejich degradace; jedná se o metabolicky nejaktivnější část tubulu a současně o nejčastěji poškozené místo nefrotoxickými látkami
- Henleho klička – vytváření kortikoapikálního gradientu urey,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$  a  $\text{Cl}^-$  pro diluci nebo koncentraci moče
- distální tubulus a sběrné kanálky – regulace homeostázy  $\text{Na}^+$  a  $\text{K}^+$  (účinek aldosteronu), acidifikace moči (vylučování  $\text{H}^+$  a produkce  $\text{NH}_4^+$ ), účinek antidiuretického hormonu (otevření akvaporinů, vstřebání vody a koncentrace moči)

Klinicky používáme jako orientační markery koncentrační schopnosti ledvin specifickou hmotnost nebo osmolalitu moče. Jak ledviny zacházejí s nízkomolekulárními látkami, je možno zjistit pomocí praktické frakční exkrece. Jde o část nízkomolekulární látky, která se dostane do definitivní moči z celkově profiltrovaného množství této látky. Na příkladu vody si lze představit, že při profiltrovaném množství 180 l za den (množství primární moče) obvykle vyloučíme přibližně 2 l moče, tedy přibližně 1 %. Podobně můžeme uvažovat u  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{HCO}_3^-$ , např. při dehydrataci budeme očekávat snížení frakční exkrece sodíku a vody vlivem účinku aldosteronu (sekundární hyperaldosteronismus) a antidiuretického hormonu. Zacházení ledvin s  $\text{H}^+$  orientačně odráží pH moče a související vylučování  $\text{NH}_4^+$  a  $\text{Cl}^-$ . Spolu s plícemi jsou právě ledviny zásadní orgán při kompenzaci poruch acidobazické rovnováhy, které při fyzickém výkonu mohou vznikat. Nejčastěji se setkáváme s metabolickou acidózou (laktátovou a ketoacidózou) a při jejich kompenzaci využívají ledviny, jak schopnosti vstřebávat  $\text{HCO}_3^-$ , tak jej i nově tvořit z glutaminu a následně produkovat  $\text{NH}_4^+$ . Tím jsou ledviny schopny až pětinašobně zvýšit vylučování  $\text{H}^+$ .

### 2.7.3 Vybrané markery poškození ledvin

Včasná detekce poškození ledvin je zásadní pro management jak akutního, tak chronického onemocnění ledvin. Přestože v nefrologii chybí orgánově specifický a dostatečně citlivý marker, postupně se objevují některé nadějně ukazatele.

#### 2.7.3.1 Albumin v moči, proteinurie

Albuminurie je klinicky používaným a validovaným markerem poškození ledvin, který se dostal i do klasifikace chronického onemocnění ledvin (stádium A1 až A3). Často vyjadřujeme koncentraci albuminu v moči jako poměr s koncentrací močového kreatininu, albumin/creatinine ratio (ACR) pro zohlednění koncentrace moče, resp. příjmu tekutin. Obdobně lze jako marker poškození ledvin použít i kvantitativní proteinurii nebo orientačně semikvantitativní stanovení proteinu testáčným močovým proužkem.

Zdá se, že ACR je relativně senzitivním, ale nespecifickým ukazatelem poškození ledvin i u akutního poškození ledvin (153,154). Validace pro detekci poškození ledvin po zátěži však zatím chybí.

#### 2.7.3.2 NGAL v moči

Neutrophil gelatinase-associated lipokalin (NGAL) je mikroprotein (25 kDa) produkováný tubulárními buňkami již za 1-3 hodiny zejména po ischemickém poškození ledviny. Vzestup NGAL je proporcionální k tíži postižení. Měří se v moči, kde je spíše známkou poškození tubulů, a v séru, kde souvisí spíše s glomerulární filtrací. NGAL však

produkují i stimulované epitelie bronchů a tlustého střeva, nelze tedy mluvit o orgánově specifickém markeru (155).

### 2.7.3.3 Další markery poškození ledvin

Z dalších markerů ve stručném výčtu uvádíme některé molekuly zmiňované v recentní literatuře (155):

- **KIM-1 (Kidney injury molecule 1)** je 39 kDa velký močový protein, který je časně po poškození (1-3 h) exprimován v tubulech ledvin. Nejlépe reaguje na ischemické poškození ledvin, diagnostická účinnost se mění s věkem a etiologií poškození ledvin.
- **Interleukin-18** se účastní zánětlivé reakce při ischemicko-reperfučním poškození ledvin zprostředkovaním infiltrace neutrofilů a makrofágů do parenchymu ledviny. Exprimován je opět časně, ale zvýšení nacházíme i u jiných zánětlivých stavů včetně infekce močových cest, při poškození plic, ischemii myokardu a při chronickém onemocnění ledvin.
- **L-FABP (liver-type fatty acid-binding protein)** fyziologicky zajišťuje transport mastných kyselin. Exprese se však snižuje při ischemicko-reperfučním poškození. Exprimován je v mnoha tkáních (játra, ledviny, plíce, pankreas, střeva), v ledvinách se exprese zvyšuje do 2 h od poškození. Může být však zvýšen u obézních pacientů, pacientů s metabolickým syndromem, hypertenzí, při akutním respiračním selhání a u pacientů s nealkoholickou steatohepatitidou.
- **TIMP2 (tissue inhibitor of metalloproteinase 2) a IGFBP7 (insulin-like growth factor binding protein 7)** jsou mikroproteiny (21 a 29 kDa) měřené v moči. Komerčně je kombinace těchto 2 markerů nazývána Nephrocheck. Markery se exprimují v renálních tubulárních buňkách při buněčném stresu, velmi časně po inzultu. Jde o citlivý marker, který je dokonce schválen FDA (Food and drug administration) pro klinické použití. Analyticky však trpí negativní interferencí s bilirubinem v moči a albumin výsledky falešně zvyšuje. Nevýhodou je také rychlý pokles (za 1 až 2 dny) bez ohledu na případné zlepšení poškození ledvin. Nelze jej tedy použít na monitorování stavu. Nezanedbatelnou nevýhodou je vysoká cena stanovení.

## 3 Experimentální část

### 3.1 Studie vlivu extrémní běžecké zátěže v soutěžním prostředí

#### 3.1.1 Cíle práce

Cílem práce bylo zjistit vliv extrémní běžecké zátěže v soutěžním prostředí na hodnoty hsTnI, cystatinu C, galektinu-3, uCRP a NGAL.

#### 3.1.2 Studovaná populace

Do studie bylo zahrnuto 37 jedinců (5 žen), medián věku 39 (22–66) let (medián [min–max]), účastnících se Mistrovství České republiky v běhu na 100 km, 12hodinového, 24hodinového běhu a maratonu. Závodníci absolvovali vzdálenost 100 (42,2–181) km za dobu 12 hodin (3 hodiny 09 minut a 30 sekund–24 hodin).

#### 3.1.3 Design studie

Všem účastníkům byly provedeny 2 odběry krve. První odběr byl proveden před závodem (vzorek “před”), druhý ihned po doběhnutí (vzorek “po”). Všichni účastníci podepsali informovaný souhlas, který byl schválen lokální etickou komisí.

#### 3.1.4 Sběr vzorků, analýza materiálu

Všechny odběry krve byly provedeny z loketní jamky v poloze vsedě. První vzorek byl odebrán hodinu před závodem. Druhý vzorek byl odebrán ihned po doběhnutí. V případě náběru “před” byly odebrány 2 zkumavky krve (VACUETTE® TUBE 4 ml Lithium Heparin (LiHep) Separator, Greiner Bio-One GmbH, Kremsmünster, Rakousko). V případě druhého náběru byly odebrány též 2 zkumavky krve (LiHep). Všechny vzorky odebrané do zkumavek s LiHep byly do hodiny od odběru centrifugovány při 2000 g po dobu 10 minut. Vzorky plazmy byly skladovány při -70 °C, dokud nebyla provedena analýza.

Ze vzorků plazmy byly stanoveny koncentrace hsTnI, galektinu-3, cystatinu C, NGAL, celkové bílkoviny, uCRP a myoglobinu. Koncentrace cystatinu C, celkové bílkoviny, myoglobinu a uCRP byly stanoveny na systému Cobas pomocí originálních setů firmy Roche (Cobas 8000 Analyzer, Cobas c702 and e602 modules, Roche Diagnostics, Basilej, Švýcarsko). Koncentrace hsTnI byla stanovena pomocí systému Abbott (STAT High Sensitive Troponin-I, Abbott Architect i2000SR, Abbott Diagnostics, Düsseldorf, Německo), koncentrace NGAL byla stanovena na analyzátoru Beckman Coulter (Beckman Coulter AU 640, Beckman Coulter, Lismeehan, O’Callaghan’s Mills, Co. Clare, Ireland) užitím setu NGAL Test BioPorto (BioPorto Diagnostics A/S, Hellerup,

Dánsko), koncentrace galektinu-3 pak ELISA testem pomocí kitu firmy MyBiosource (MyBiosource.com, San Diego, USA) za užití Nexgen ELISA 4 readeru (Adaltis, Rome, Italy). Všechny vzorky byly analyzovány v jedné analytické sérii.

### 3.1.5 Statistická analýza

Není-li uvedeno jinak, popis dat je vyjádřen jako medián (min–max). Vzhledem k nenormálnímu rozložení dat a relativně malému souboru jedinců bylo užito neparametrických testů. Změny v koncentracích hsTnI, galektinu-3, cystatinu C, NGAL, celkové bílkoviny, uCRP a myoglobinu před během a po něm byly posouzeny pomocí Wilcoxonova párového testu. Spearmanův korelační koeficient byl užit k posouzení vztahů mezi změnami ve vybraných parametrech. K posouzení zastoupení vzorků nad 99. percentilem referenční populace bylo pro muže a ženy u hsTnI užito hodnot 27,0 a 11,4 ng/L (156). Za statisticky významnou byla považována hladina významnosti při  $p < 0,05$ . Ke statistické analýze byly použity MedCalc software (MedCalc Software, verze 16.4.1, MedCalc Software bvba, Ostend, Belgie) a R software (verze 3.1.3, R Development Core Team, R Foundation for Statistical Computing, Vídeň, Rakousko).



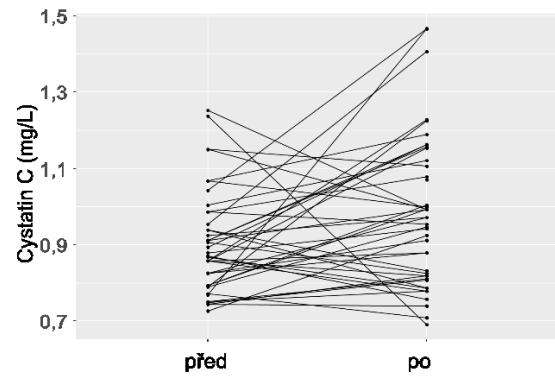
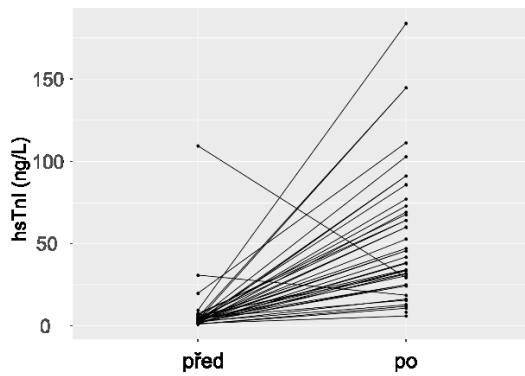
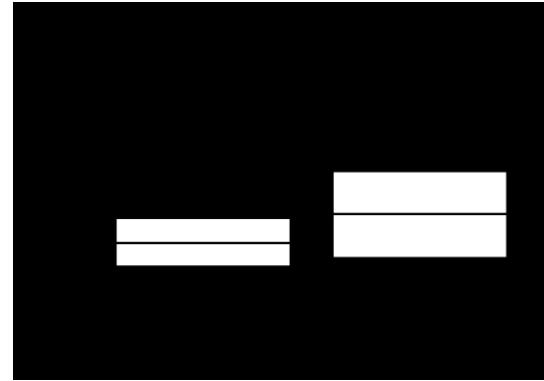
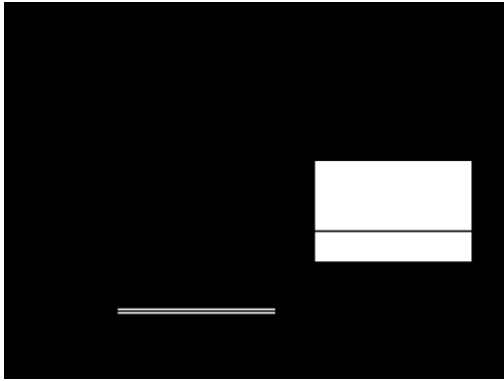
### 3.1.6 Výsledky

Přehled změn v koncentracích u sledovaných parametrů uvádí **Tabulka 3**.

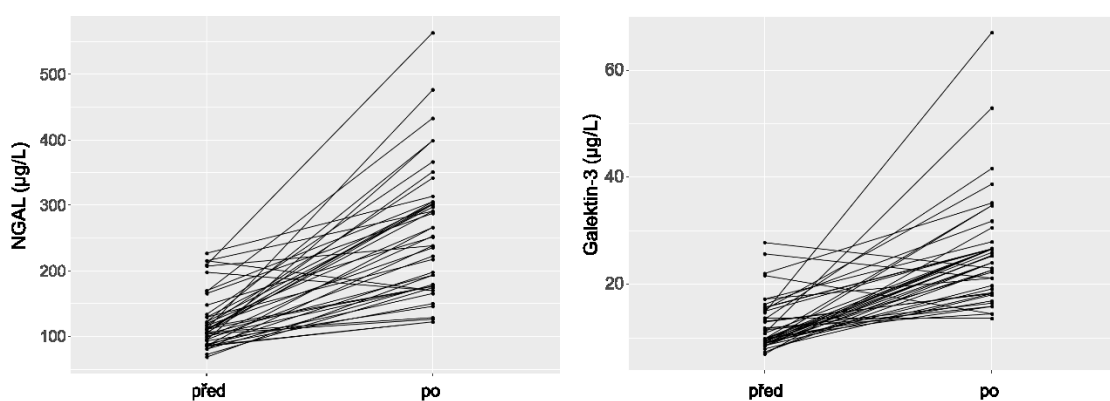
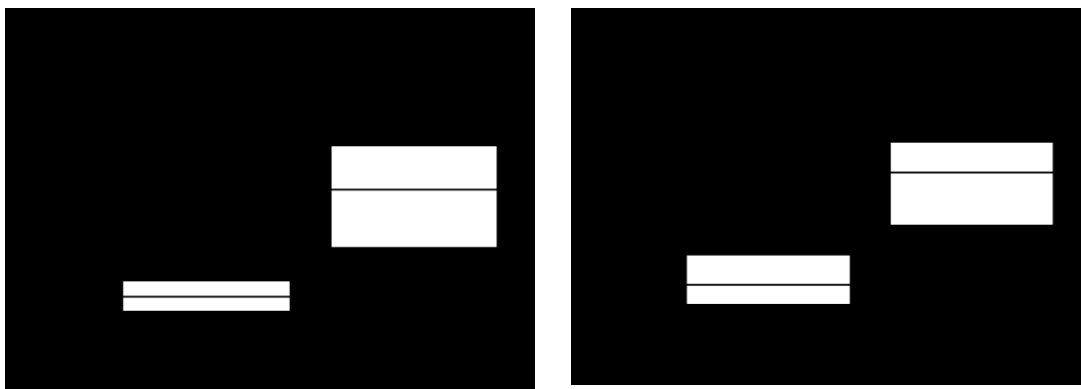
	Náběr „před“	Náběr „po“	p (CI)
hsTnI (ng/L)	3,8 (2,1–5,38)	41,7 (25,2–73,1)	<0,0001 (31,7–61,1)
galektin-3 (µg/L)	10,9 (9,3–15)	24 (18,2–26,7)	<0,0001 (8,8–14,9)
NGAL (µg/L)	111 (95–134)	252 (176–302)	<0,0001 (99,9–161,0)
cystatin C (mg/L)	0,86 (0,79–0,96)	0,97 (0,83–1,12)	0,009 (0,02–0,18)
CB (g/L)	83,6 (79,6–88,55)	83,0 (78,9–88,1)	0,48 (-1,5–3,25)
uCRP (mg/L)	0,48 (0,32–1,01)	2,56 (1,49–4,67)	<0,0001 (9–15)
myoglobin (µg/L)	55,5 (48,75–68,5)	2385 (966–3545)	<0,0001 (1787–3477)

**Tabulka 3** Přehled změn v koncentracích u sledovaných parametrů. **CI** – 95% interval spolehlivosti. **CB** – celková bílkovina, **uCRP** – ultrasenzitivní C-reaktivní protein. Data uvedena jako medián (interkvartilové rozpětí).

Došlo ke statisticky významné změně v koncentracích hsTnI ( $p < 0,0001$ ), NGAL ( $p < 0,0001$ ), cystatinu C ( $p = 0,009$ ), galektinu-3 ( $p < 0,0001$ ), myoglobinu ( $p < 0,0001$ ) a uCRP ( $p < 0,0001$ ). Nedošlo ke statisticky významné změně v koncentraci celkové bílkoviny ( $p = 0,48$ ) (**Tabulka 3**). Krabicové grafy a individuální průběhy hladin sledovaných parametrů přehledně zobrazují níže uvedené grafy (**Obrázek 10**, **Obrázek 11**).



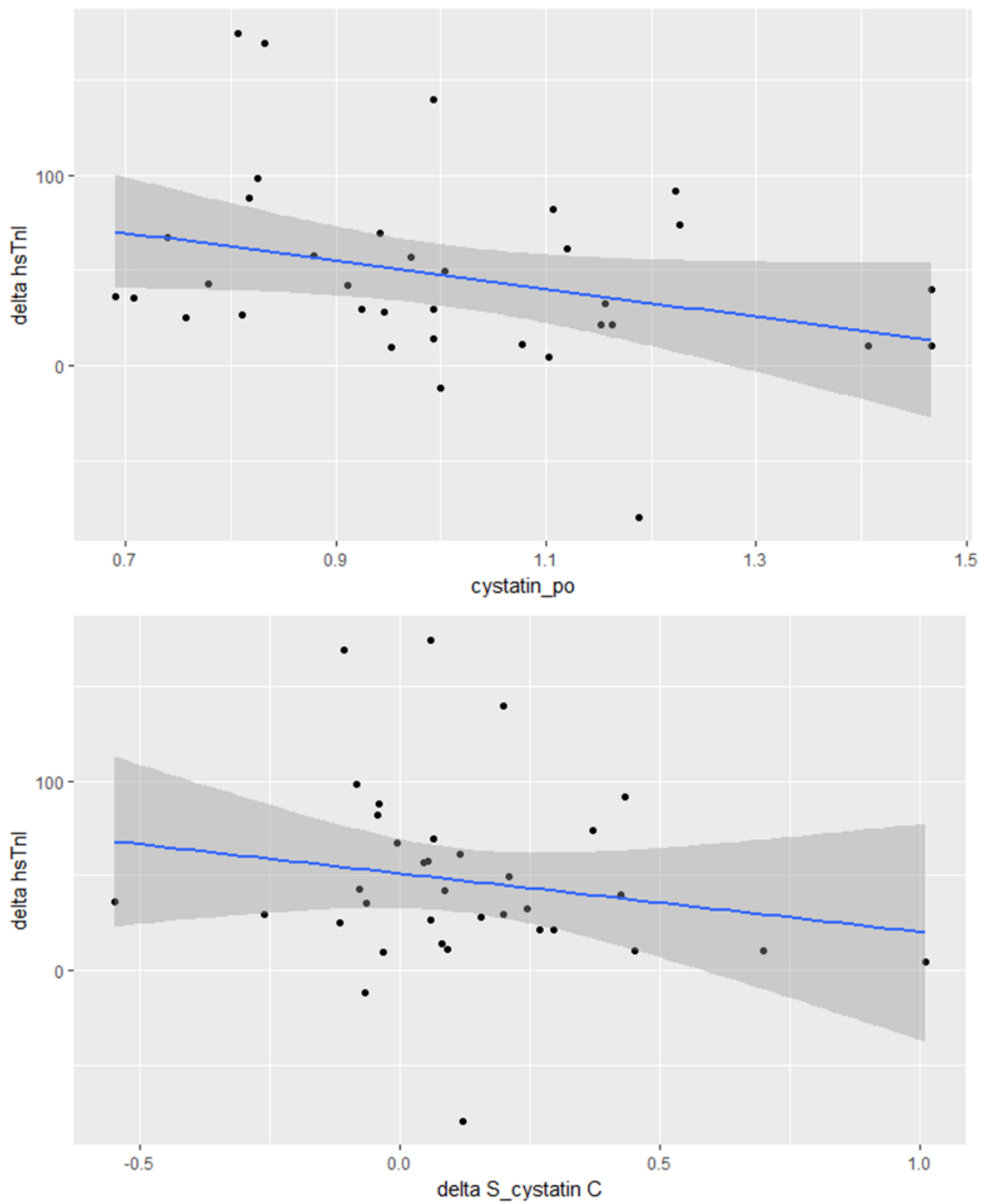
**Obrázek 10** Boxploty (nahore) a individuální průběhy hladin (dole) hsTnI ( $p < 0,0001$ ) a cystatinu C ( $p = 0,009$ ). Z individuálních průběhů hodnot je patrné, že vzestup hsTnI je pravidlem, ale průběhy cystatinu C jsou variabilnější.



**Obrázek 11** Boxploty (nahore) a průběhy hladin (dole) NGAL ( $p < 0,0001$ ) a galektinu-3 ( $p < 0,0001$ ) v séru.

Před vyběhnutím byla koncentrace hsTnI nad cut-off hodnotu zvýšena u 4 (11 %) běžců, z toho u 2 žen. Po doběhnutí byla koncentrace hsTnI nad cut-off hodnotu zvýšena u 30 (79 %) závodníků včetně všech žen. Ve dvou případech (u mužů) byla zjištěna vyšší koncentrace hsTnI před závodem než po doběhnutí (v prvním případě byla koncentrace u náběru „před“ 30,7 ng/L, u odběru „po“ pak 18,7 ng/L, v druhém případě „před“ 109,2 ng/L a „po“ 29,4 ng/L).

Korelační analýzou (**Tabulka 4**) byla zjištěna korelace mezi změnou v koncentraci hsTnI a změnou v koncentraci galektinu-3 a překvapivá hraniční negativní korelace mezi změnou v koncentraci hsTnI a cystatinu C po doběhnutí (**Obrázek 12**), avšak nebyla zjištěna korelace mezi koncentrací hsTnI po doběhnutí a koncentrací či změně v koncentraci NGAL, galektinu-3, cystatinu C nebo uCRP (**Tabulka 4**). Pouze uCRP (změna i hodnota po) silně korelovala s délkou a dobou běhu (**Tabulka 5**).



**Obrázek 12** Korelační grafy změny koncentrace hsTnI (delta hsTnI) a koncentrace cystatinu v náběru "po" ( $p = 0,047$ ) a změny v koncentraci cystatinu (delta S\_cystatin C,  $p = 0,12$ ).

hsTnl ( $\Delta$ )	NGAL („po“) $r = -0,27$ $p = 0,09$	NGAL ( $\Delta$ ) $r = -0,25$ $p < 0,12$
hsTnl ( $\Delta$ )	galektin-3 („po“) $r = 0,1$ $p = 0,54$	galektin-3 ( $\Delta$ ) <b><u><math>r = 0,43</math> <math>p = 0,009</math></u></b>
hsTnl ( $\Delta$ )	cystatin C („po“) <b><u><math>r = -0,323</math> <math>p = 0,047</math></u></b>	cystatin C ( $\Delta$ ) $r = -0,25$ $p = 0,12$
hsTnl ( $\Delta$ )	uCRP („po“) $r = 0,06$ $p = 0,74$	uCRP ( $\Delta$ ) $r = -0,04$ $p = 0,80$

**Tabulka 4** Výsledky korelační analýzy změny v koncentracích hsTnl před během a po doběhnutí – hsTnl ( $\Delta$ ) s vybranými parametry.  $\Delta$  – změna příslušného parametru.

	Doba běhu	Uběhnutá vzdálenost
hsTnl (po)	$r = -0,04$ $p = 0,78$	$r = 0,17$ , $p = 0,31$
hsTnl ( $\Delta$ )	$r = -0,05$ $p = 0,77$	$r = 0,11$ $p = 0,50$
NGAL (po)	$r = -0,26$ $p = 0,12$	$r = -0,3$ $p = 0,23$
NGAL ( $\Delta$ )	$r = -0,28$ $p = 0,09$	$r = -0,2$ $p = 0,07$
Cystatin C (po)	$r = -0,17$ $p = 0,30$	$r = -0,18$ $p = 0,28$
Cystatin C ( $\Delta$ )	$r = -0,11$ $p = 0,50$	$r = -0,14$ $p = 0,42$
Galektin-3 (po)	$r = -0,13$ $p = 0,42$	$r = -0,14$ $p = 0,42$
Galektin-3 ( $\Delta$ )	$r = -0,08$ $p = 0,65$	$r = -0,11$ $p = 0,54$
uCRP (po)	<b><u><math>r = 0,68</math> <math>p &lt; 0,0001</math></u></b>	<b><u><math>r = 0,71</math> <math>p &lt; 0,0001</math></u></b>
uCRP ( $\Delta$ )	<b><u><math>r = 0,59</math> <math>p &lt; 0,0001</math></u></b>	<b><u><math>r = 0,68</math> <math>p &lt; 0,0001</math></u></b>

**Tabulka 5** Tabulka korelací sledovaných parametrů s uběhnutou vzdáleností a dobou běhu. Korelační koeficienty spočteny pro hodnotu po doběhnutí (po) a změnu v koncentracích sledovaných markerů ( $\Delta$ ).

## 3.2 Studie normalizované zátěže na běhacím ergometru

### 3.2.1 Cíle práce

Cílem práce bylo v rámci studie založené na sledování hladin hsTnT a hsTnI během a po dvouhodinové standardizované zátěži v laboratorních podmínkách popsat průběhy a najít možnou souvislost koncentrací hsTn s echokardiografickými a dalšími klinickými a laboratorními parametry zjištěnými během dvouhodinové zátěže a před ní. Sekundárním cílem bylo simulovat vliv standardizované zátěže na rozhodování o přítomnosti NSTEMI v případě hospitalizace. Tohoto cíle jsme dosáhli porovnáním zjištěné koncentrace hsTnT a hsTnI s jednohodinovým rule-out a rule-in algoritmem pro diagnostiku akutního IM bez elevace ST úseku.

### 3.2.2 Studovaná populace

Do studie bylo zařazeno 19 mužů, nekuřáků. Dalšími podmínkami pro zařazení do studie byly dokončení maratónu pod 3 hodiny a 30 minut během posledního roku, absence anamnézy diabetu mellitu, kardiovaskulárního, renálního nebo nádorového onemocnění, popř. užívání chronické medikace. Antropometrické údaje, tréninková historie a vybrané výkonnostní parametry všech účastníků studie jsou shrnuty níže (**Tabulka 6**).

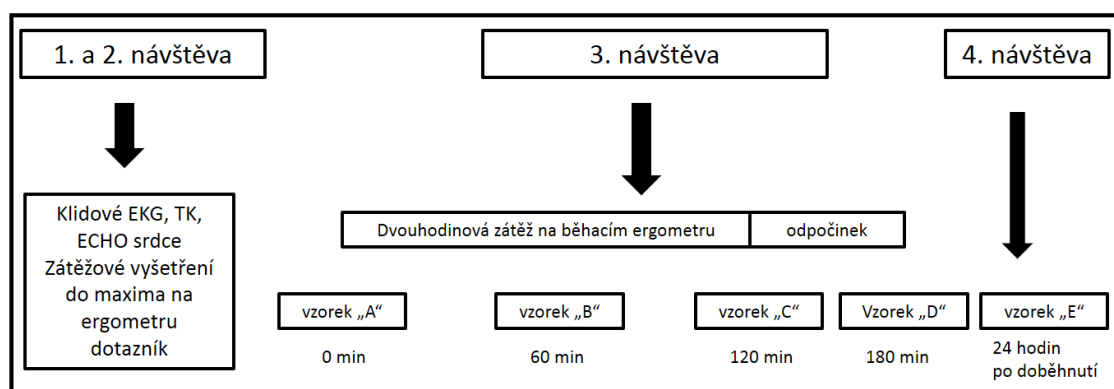
<b>Věk [roky]</b>	37 (24–48)
<b>BMI [kg.m<sup>-2</sup>]</b>	22,8 (20,6–27,2)
<b>Tréninkový objem (běh) [km za měsíc]</b>	160 (100–350)
<b>Tréninkový objem (všechny sporty) [hodiny za týden]</b>	14 (10–22)
<b>VO<sub>2</sub>max [ml.kg<sup>-1</sup>.min<sup>-1</sup>]</b>	59,7 (36,9–75,3)
<b>TF (klidová) [tepů za minutu]</b>	51 (40–65)
<b>VC [mL]</b>	5370 (4560–6950)

**Tabulka 6** Tréninková historie, vybrané výkonnostní parametry a antropometrické údaje běžců zařazených do studie ( $n = 19$ ).

Data jsou prezentována jako medián (min – max). **BMI** – body mass index, **VO<sub>2</sub> max** – maximální transportní kapacita O<sub>2</sub>, **TF** – tepová frekvence, **VC** – vitální kapacita plic

### 3.2.3 Design studie

Všichni účastníci obdrželi dotazník obsahující otázky ohledně zdravotního stavu, anamnézy a tréninkové historie. 1–3 měsíce před hlavním experimentem všichni účastníci absolvovali 2 návštěvy. Během první bylo provedeno transtorakální echokardiografické vyšetření srdce a změřen klidový TK. Během druhé návštěvy bylo natočeno klidové 12svodové EKG k identifikaci případných patologických změn, popř. k odhalení známek hypertrofie myokardu užitím Cornellových kritérií (39,157). Součástí druhé návštěvy bylo provedení stupňovaného zátěžového testu do maxima na běhacím ergometru k určení kardiorepirační kapacity a AP každého účastníka. Dvouhodinová normalizovaná zátěž byla podstoupena v průběhu třetí návštěvy, během které byly odebrány 4 vzorky krve a 2 vzorky moče. Během čtvrté návštěvy 24 hodin po skončení zátěže byl proveden odběr jednoho vzorku krve a jednoho vzorku moče (**Obrázek 13**). Den před třetí návštěvou museli všichni účastníci studie dodržovat klidový režim. Během posledního týdne před dvouhodinovou zátěží nebyla povolena účast v soutěži nebo jiná intenzivní zátěž. K transportu do laboratoře během třetí a čtvrté návštěvy bylo možno užití pouze auta nebo veřejné hromadné dopravy. Všichni účastníci podepsali informovaný souhlas, který byl schválen lokální etickou komisí.



**Obrázek 13** Design studie.

### 3.2.4 Echokardiografické vyšetření, měření TK, hodnocení EKG

Echokardiografické vyšetření jsme prováděli na echokardiografickém přístroji Vivid 7, GE Medical Systems, Horton, Norsko.

Hodnocení LK zahrnovalo změření diastolického a systolického rozměru, tloušťky mezikomorového septa a zadní stěny. Byla provedena kalkulace hmotnosti LK. Systolická funkce LK byla stanovena podle metody Simpson ve dvou na sebe kolmých řezech ve čtyřdutinové a dvoudutinové apikální projekci.

Posouzením rozměru a respirační variace dolní duté žíly (DDŽ) při vyšetření ze subkostální projekce jsme odhadovali výši centrálního žilního tlaku (CŽT). Místo měření rozměru DDŽ bylo těsně před ústím jaterní žíly. Respirační variaci jsme hodnotili při klidném dýchání a poté při usilovném nádechu nosem.

K odhadu plnicího tlaku LK jsme použili parametry popisující její diastolickou funkci. Jedná se o vrcholovou rychlost plnění LK v časné diastole (vlna E), decelerační čas časného diastolického plnění a vrcholovou rychlost plnění LK při síňovém stahu (vlna A), které získáme umístěním vzorkovacího objemu do oblasti mezi vrcholy mitrálních cípů v apikální čtyřdutinové projekci.

Měření TK bylo u každého účastníka provedeno vsedě, na levé ruce po 5 minutách klidu (Omron M6 Comfort, Omron Healthcare Co, Kyoto Japan).

Natočení 12svodové EKG křivky bylo provedeno v klidu vleže. Hodnocení bylo provedeno s cílem vyloučení přítomnosti postischemických změn, popř. z hlediska posouzení možné hypertrofie dle Cornellových kritérií (157). Pro případné hodnocení v průběhu vlastní fyzické zátěže nelze zajistit dostatečnou kvalitu záznamu.

### 3.2.5 Zátěžové vyšetření do maxima

Pro stanovení  $VO_2\max$ ,  $TF\max$  a anaerobního prahu byl proveden stupňovaný zátěžový test do maxima na běhacím ergometru (LODE, Groningen, Holandsko). Nejprve byla absolvována vždy 3 minuty dlouhá zátěž při rychlostech 7, 9 a nakonec 11  $km.h^{-1}$ . Po úvodní zátěži byla dále postupně zvyšována rychlost o 1  $km.h^{-1}$  každých 30 sekund až do vyčerpání. Po dobu celého testu byly měřeny koncentrace  $O_2$  a  $CO_2$  ve vydechovaném vzduchu pomocí analyzátoru Junkalor (Saxon Junkalor, Dessau, Německo) s využitím senzorů Pawatron (Pawatron, Zürich, Švýcarsko). TF byla monitorována systémem Polar (Polar, Kempele, Finsko). TF, spotřeba  $O_2$ , výdej  $CO_2$ , ventilační ekvivalent pro  $O_2$  a pro  $CO_2$ , DF, RER byly zaznamenávány v 30 s intervalech.

### 3.2.6 Dvouhodinová normalizovaná zátěž

Po 10 minutách běhu při rychlosti 8  $km.h^{-1}$  byla postupně zvyšována rychlost, dokud nebylo dosaženo cílové rychlosti, která byla nastavena na 90 % TF anaerobního prahu. Během dvouhodinové zátěže bylo umožněno běžcům pít tekutiny dle potřeby. Každých 15 minut byla zjišťována míra subjektivního vnímání zátěže a výsledek byl zaznamenán pomocí Borgovy škály (32). Hodnoty  $VO_2$ ,  $VCO_2$  a TF byly monitorovány a zaznamenávány během celé zátěže po 30 sekundách. Jakmile sledované parametry začínaly indikovat možnost dosažení AP, rychlost běhu byla snížena o 1  $km.h^{-1}$ . V polovině dvouhodinové zátěže byl běh za účelem odběru krve přerušen na cca 5 minut. Ihned po doběhnutí byla změřena *per rectum* tělesná teplota všem účastníkům



studie. Jako parametr vhodný pro sledování míry dehydratace v průběhu dvouhodinové zátěže byli všichni běžci zvázeni těsně před vyběhnutím a ihned po doběhnutí.

### 3.2.7 Sběr vzorků, analýza materiálu

Všechny odběry krve byly provedeny z loketní jamky v poloze vsedě. První vzorek byl odebrán vždy 10 minut před dvouhodinovou zátěží – vzorek “A”, 1 hodinu po vyběhnutí – vzorek “B”, na konci běhu (2 hodiny po startu) – vzorek “C”, 1 hodinu po doběhnutí (3 hodiny po startu) – vzorek “D” a 24 hodin po konci běhu – vzorek “E” (**Obrázek 13**). V případě vzorku “A” byly odebrány 3 zkumavky (1x VACUETTE® TUBE 4 ml K<sub>3</sub>EDTA a 2x VACUETTE® TUBE 4 ml Lithium Heparin (LiHep) Separator, Greiner Bio-One GmbH, Kremsmünster, Rakousko). V případě dalších náběrů byly odebrány 2 zkumavky (LiHep). Současně se vzorky “A”, “D” a “E” byl odebrán vzorek moče (1x VACUETTE® Urine tube). Vzorky odebrané do zkumavek s K<sub>3</sub>EDTA byly zpracovány do hodiny po odběru. Všechny vzorky odebrané do zkumavek s LiHep byly cca 15 minut po odběru centrifugovány při 2000 g po dobu 10 minut. Vzorky plazmy a moče byly skladovány při -70 °C, dokud nebyla provedena analýza.

V případě všech běžců byla ze vzorku “A” (K<sub>3</sub>EDTA) provedena rutinní analýza krevního obrazu (stanovení počtu erytrocytů, leukocytů, trombocytů, hemoglobinu). Ze vzorků s LiHep byly stanoveny koncentrace bilirubinu, kreatininu, urey, celkové bílkoviny, albuminu, cystatinu C, myoglobinu, laktátu a aktivita aspartátaminotransferázy (AST) a alaninaminotransferázy (ALT), hsTnT a hsTnI. Ze vzorků moče byly stanoveny koncentrace albuminu, NGAL a kreatininu. Stanovení počtu erytrocytů, leukocytů, trombocytů a koncentrace hemoglobinu bylo provedeno na hematologickém analyzátoru (Beckman Coulter, DxH 800 Beckman Coulter, Krefeld, Německo). Koncentrace bilirubinu, kreatininu, urey, cystatinu C, celkové bílkoviny, albuminu, myoglobinu, laktátu, hsTnT a aktivita ALT, AST byly stanoveny na systému Cobas pomocí originálních setů Roche (Cobas 8000 Analyzer, Cobas c702 and e602 modules, Roche Diagnostics, Basilej, Švýcarsko). Koncentrace albuminu v moči byla stanovena pomocí systému Cobas (Cobas 6000, Cobas c501, Roche Diagnostics, Basilej, Switzerland), koncentrace hsTnI byla stanovena pomocí systému Abbott (STAT High Sensitive Troponin-I, Abbott Architect i2000SR, Abbott Diagnostics, Düsseldorf, Německo), koncentrace NGAL byla stanovena na analyzátoru Beckman Coulter (Beckman Coulter AU 640, Beckman Coulter, Lismeehan, O’Callaghan’s Mills, Co. Clare, Ireland) užitím setu NGAL Test BioPorto (BioPorto Diagnostics A/S, Hellerup, Dánsko). eGFR bylo vypočítáno podle kombinované (sérový cystatin C a kreatinin) rovnice CKD-EPI dle doporučení KDIGO z roku 2012 (158). Všechny vzorky byly analyzovány v jedné analytické sérii. Limit detekce pro hsTnI byl 2 ng/L a pro hsTnT 5 ng/L.

### 3.2.8 Statistická analýza

Není-li uvedeno jinak, popis dat je vyjádřen jako medián (min–max). Vzhledem k relativně malému souboru jedinců a nenormálnímu rozdělení dat bylo užito neparametrických testů. Trendy v hladinách hsTnT a hsTnl byly testovány neparametrickou variantou ANOVA s opakovanými měřeními (Friedmanův test). Trendy v mediánech měřených hodnot v čase byly detekovány pomocí testu Jonckheere–Terpstra. Byly vypočítány relativní změny v koncentracích hsTnT a hsTnl (relativní rozdíl mezi hodnotou naměřenou ve vzorku „A“ a nejvyšší hodnotou) a použity pro porovnání s ostatními parametry. Spearmanův korelační koeficient byl užít k nalezení vztahů mezi relativními změnami hsTnT, resp. hsTnl s tréninkovou historií, vybranými echokardiografickými, antropometrickými a dalšími biochemickými parametry zjištěnými během dvouhodinového běhu. Za zvýšení hodnot hsTnl a hsTnT jsme považovali jakoukoli pozitivní změnu vůči hodnotě ve vzorku „A“. Při posouzení zastoupení vzorků nad 99. percentilem referenční populace bylo pro mužskou/celou populaci v případě hsTnT užito hodnot 15,5/14,0 ng/L a v případě hsTnl 27,0/19,3 ng/L (156,159). Za statisticky významnou byla považována hladina významnosti při  $p < 0,05$ . Mnohonásobná lineární regrese byla užita k nalezení parametrů vysvětlujících relativní změny v koncentracích hsTnT, resp. hsTnl během zátěže. Parametry zavzaté do regresního modelu na základě výsledků publikovaných studií a našich pracovních hypotéz byly věk, BMI, tělesná teplota po doběhnutí, relativní síla stěny LK, relativní rozměr LK v diastole, medián laktátu během zátěže, fyzická aktivita za týden, změny v koncentracích cystatinu C, kreatininu a myoglobinu. Vysvětlující (nezávislé) parametry výsledného regresního modelu byly vybrány krokovou (backward and forward) metodou. Splnění podmínek adekvátního použití regresní analýzy bylo provedeno grafickou analýzou reziduí. Ke statistické analýze byly užity MedCalc software (MedCalc Software, verze 16.4.1, MedCalc Software bvba, Ostend, Belgie) a R software (verze 3.1.3, R Development Core Team, R Foundation for Statistical Computing, Vídeň, Rakousko). Vzorky „C“ a „D“ byly rozděleny podle jednohodinového algoritmu do skupin „pozitivní“, „negativní“, „observace“ (vzorek „C“ na konci běhu reprezentoval „čas 0“ a vzorek „D“ hodinu po doběhnutí reprezentoval „čas 1“) dle jednohodinového algoritmu ESC doporučení z roku 2015, **Obrázek 7** (51).

### 3.2.9 Výsledky

#### 3.2.9.1 Změny sledovaných parametrů během zátěže a po ní

EKG vyšetření neodhalilo u žádného z účastníků přítomnost ischemických ani převodních poruch, současně užitím voltážových Cornellových kritérií nebyly ani

v jednom případě zjištěny EKG známky hypertrofie myokardu (39,160). U žádného z účastníků nebyl zjištěn patologický nálezn při echokardiografickém vyšetření. Vybrané echokardiografické parametry a data zjištěná během dvouhodinové zátěže jsou shrnuty níže (**Tabulka 7, Tabulka 8**).

<b>LK hmotnost [g]</b>	169,0 (125,0–247,0)
<b>LK hmotnost/BSA [g.m<sup>-2</sup>]</b>	85,1 (66,2–119,3)
<b>Síla stěny LK [rel]</b>	0,36 (0,27–0,47)
<b>Rozměr LK v diastole [mm<sup>2</sup>]</b>	50,0 (46,0–60,0)
<b>Rozměr LK v diastole/BSA [mm.m<sup>-2</sup>]</b>	26,0 (21,4–28,7)

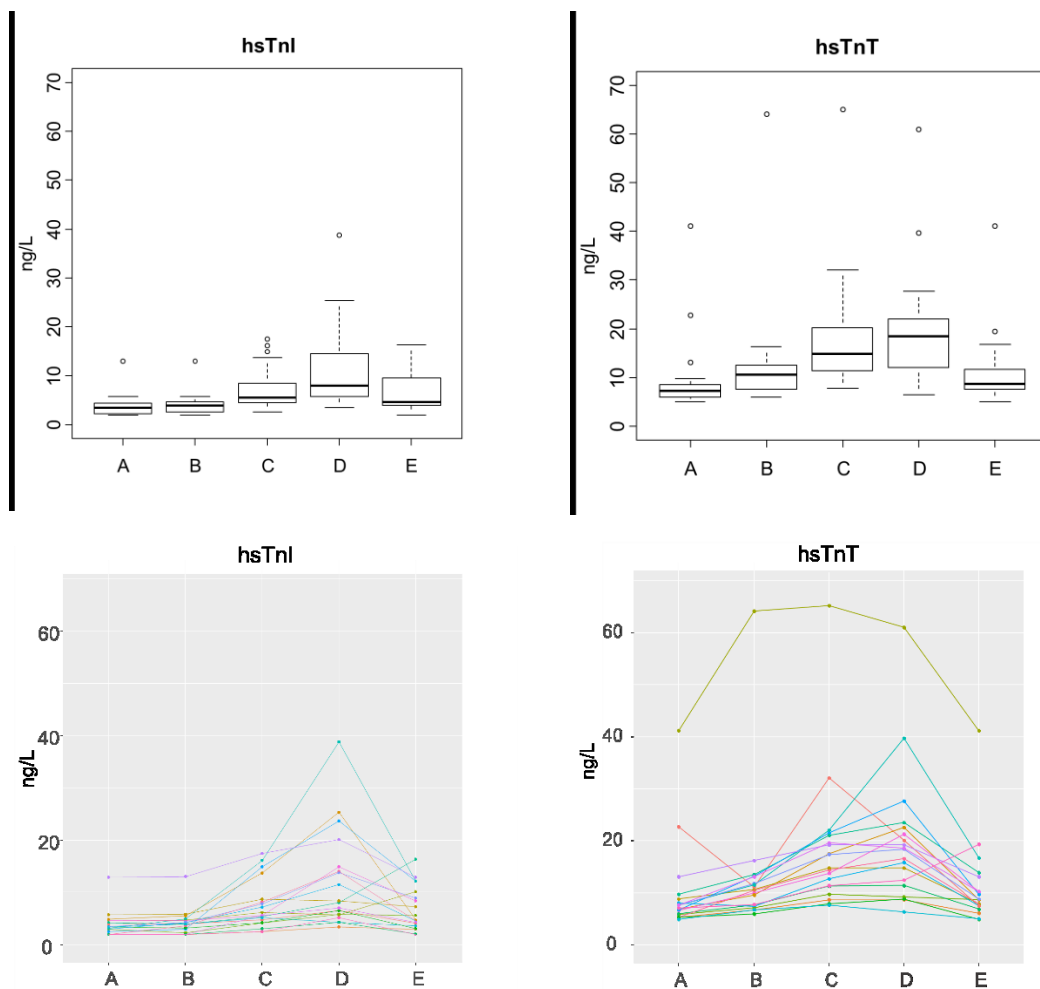
**Tabulka 7** Vybrané echokardiografické parametry naměřené před dvouhodinovou zátěží. **LK** – levá komora, **BSA** – body surface area, tělesný povrch. Hodnoty uvedeny jako medián (min – max).

<b>TF [tepů za minutu]*</b>	160,0 (126,0–180,0)
<b>Uběhnutá vzdálenost [km]</b>	25,0 (18,0–28,0)
<b>Příjem tekutin [L]</b>	0,5 (0,1–1,65)
<b>Tělesná teplota po doběhnutí [°C]</b>	39,5 (38,4–40,6)
<b>Borgova škála</b>	13,0 (10,5–14,8)
<b>Úbytek hmotnosti [kg]**</b>	2,4 (0,3–4,9)

**Tabulka 8** Vybrané hodnoty naměřené během dvouhodinové zátěže. Hodnoty uvedeny jako medián (min – max), \***TF** – průměrná tepová frekvence v průběhu dvouhodinové zátěže. \*\***Úbytek hmotnosti** zaznamenán jako parametr zohledňující změnu v hydrataci v průběhu zátěže, vypočítán jako rozdíl hmotnosti po dvouhodinové zátěži a před ní.

Změny v koncentracích hsTnT a hsTnI vykazovaly statisticky významné změny ( $p < 0,0001$  a  $p < 0,0001$  resp., **Obrázek 14, Tabulka 9**). Hodinu po startu byly koncentrace hsTnT a hsTnI ve vzorku „B“ v porovnání se vzorkem „A“ zvýšeny v 17 (90 %) a 16 (84 %) případech, resp. V případě hsTnI však změna v koncentraci nebyla statisticky významná na rozdíl od hsTnT ( $p < 0,05$ ). Na konci běhu byly koncentrace obou troponinů (vzorek „C“) v porovnání se vzorkem „A“ zvýšeny u obou troponinů u všech běžců. 24 hodin po doběhnutí (vzorek „E“) byly koncentrace hsTnT v 18 (95 %) případech a koncentrace hsTnI v 17 (90 %) případech nižší než na konci běhu. Individuální trendy a

boxploty koncentrací hsTnI a hsTnT níže (**Obrázek 14**). **Tabulka 9** shrnuje i počty (%) případů, kde koncentrace hsTnT a hsTnI dosáhly nad hodnoty 99. percentilu (156,159).



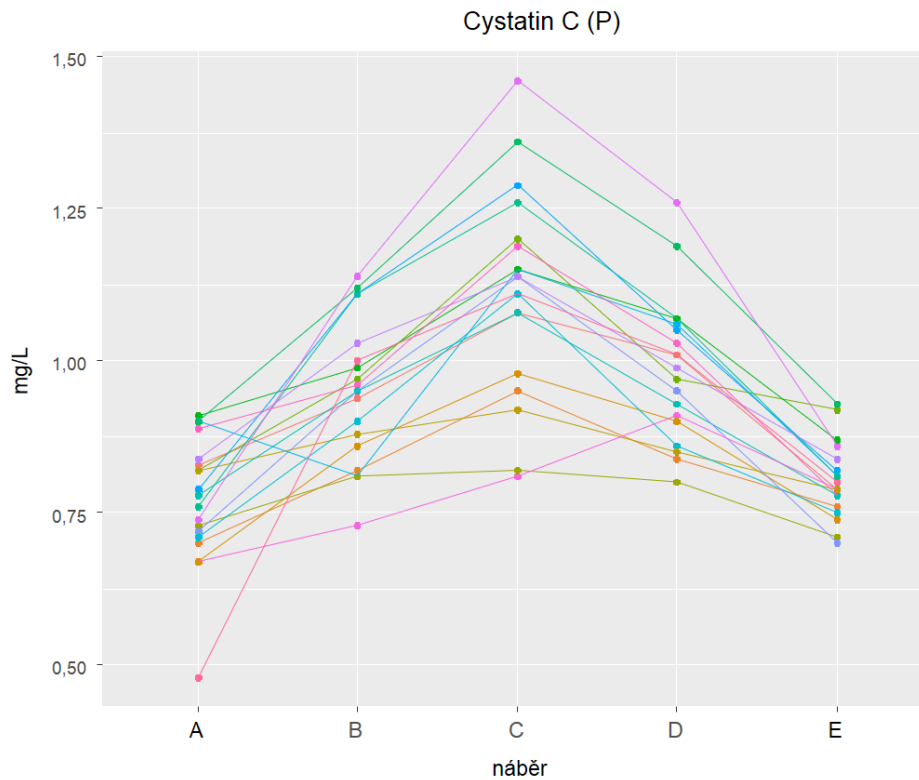
**Obrázek 14** Nahoře – boxploty koncentrací hsTnI a hsTnT. Dole – trendy koncentrací hsTnI a hsTnT u jednotlivých běžců ( $p < 0,0001$ ,  $p < 0,0001$  resp.). **A** – před dvouhodinovou zátěží, **B** – 1 hodinu po počátku dvouhodinové zátěže, **C** – na konci dvouhodinové zátěže, **D** – 1 hodinu po konci běhu (3 hodiny po počátku zátěže), **E** – 24 hodin po skončení zátěže.

	Vzorek A	Vzorek B	Vzorek C	Vzorek D	Vzorek E
<b>hsTnT*</b>	2 (11 %) / 2 (11 %)	2 (11 %) / 2 (11 %)	9 (47 %) / 11 (58 %)	12 (63 %) / 13 (68 %)	3 (16 %) / 3 (16 %)
<b>Medián 1.–3. kvartil (min – max) [ng/L]</b>	7,2 5,6–8,5 (5,0–41,1)	10,6 7,6–12,5 (6,0–64,1)	14,8 11,4–20,3 (7,7–65,1)	18,5 12,0–22,0 (6,4–61,0)	8,7 7,4–11,8 (5,0–41,2)
<b>Změny mezi jednotlivými vzorky (hsTnT)</b>	–	A–B p <0,05	A–C p <0,05	A–D p <0,05	A–E p = NS
<b>hsTnI*</b>	0 (0 %) / 0 (0 %)	0 (0 %) / 0 (0 %)	0 (0 %) / 0 (0 %)	1 (5,3 %) / 4 (21 %)	0 (0 %) / 0 (0 %)
<b>Medián 1.–3. kvartil (min – max) [ng/L]</b>	3,4 2,3–4,4 (2,0–12,9)	3,9 2,2–4,7 (2,0–13,0)	5,6 4,5–8,5 (2,5–17,5)	8,0 5,8–14,5 (3,4–38,8)	4,7 3,9–9,5 (2,0–16,3)
<b>Změny mezi jednotlivými vzorky (hsTnI)</b>	–	A–B p = NS	A–C p <0,05	A–D p <0,05	A–E p <0,05

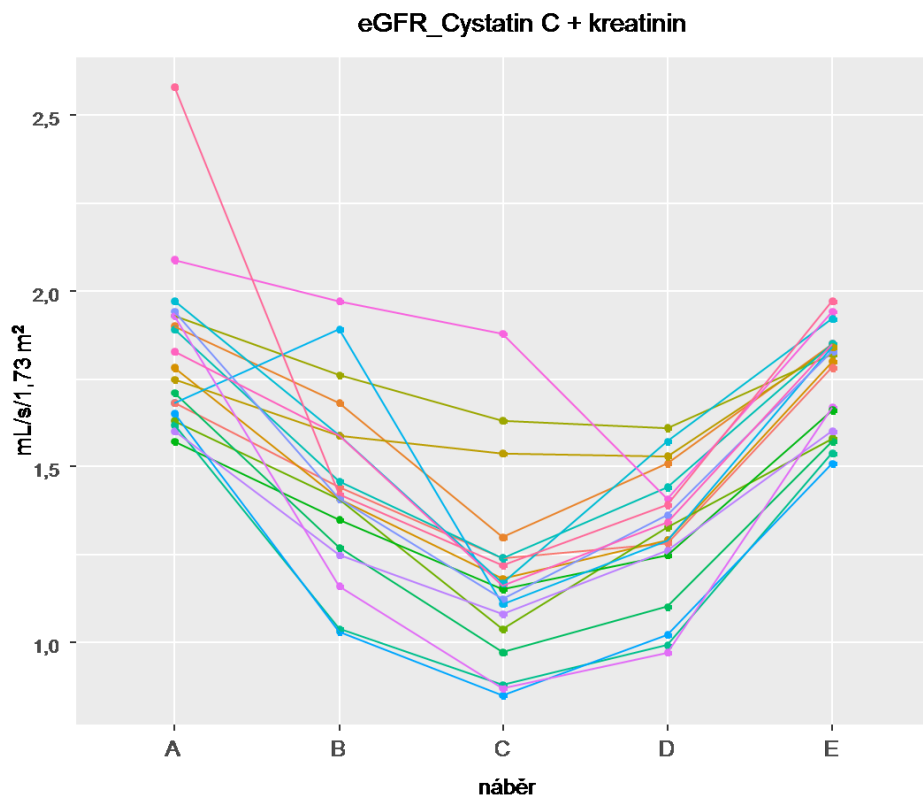
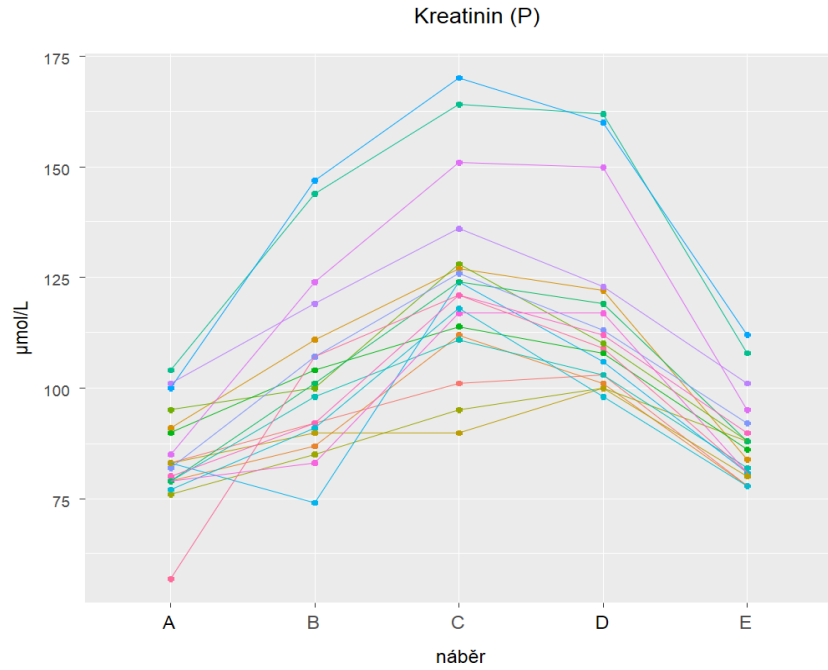
**Tabulka 9** Průběhy hodnot hsTnT a hsTnI, včetně počtů případů (%), kdy jednotlivé vzorky v případě hsTnI a hsTnT překročily hodnotu 99. percentilu zdravé populace.  
\* Jako hodnotu 99. percentilu pro mužskou/celou populaci jsme použili 15,5/14 ng/L v případě hsTnT a 27/19,3 ng/L v případě hsTnI (156,159).

Při posouzení hodnot vzhledem k jednohodinovému algoritmu diagnostiky IM bez elevací ST úseků nebyl žádný z běžců zařazen do skupiny „negativní“. Vzorek „C“ (po doběhnutí) jsme považovali za hodnotu při přijetí do nemocnice a vzorek „D“ za vzorek jednu hodinu poté. V případě hsTnT bylo 5 (26 %) běžců zařazeno do skupiny „pozitivní“ a zbylých 14 (74 %) bylo zařazeno do skupiny vhodné k observaci. V případě hsTnI nebyl rovněž nikdo vyloučen, 4 (21 %) běžci bylo zařazeno do skupiny „pozitivní“ a zbylých 15 (79 %) bylo zařazeno do skupiny vhodné k observaci. Žádný z běžců po celou dobu experimentu neměl příznaky ischemie myokardu, avšak v jednom případě musela být zátěž na cca 5 minut přerušena z důvodu subjektivního nedostatku vzduchu v důsledku dýchání polomaskou pro měření RER při zátěži.

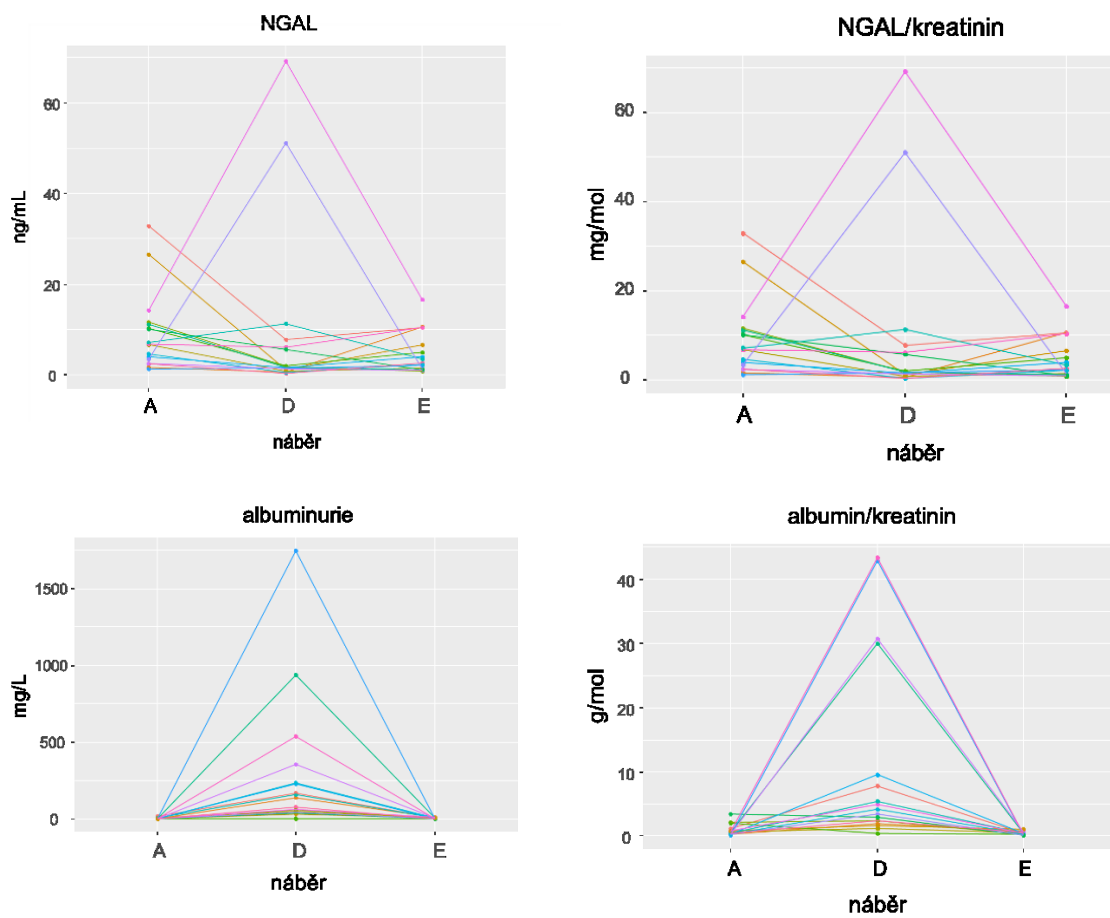
Hodnocení renálních parametrů bylo založeno na měření změn koncentrací kreatininu a cystatinu C v plazmě a NGAL a albuminu v moči. Výsledky jsou shrnuty a ilustrovány níže (**Tabulka 10, Obrázek 15-18**).



**Obrázek 15** Trendy koncentrací plazmatického (P) cystatinu C v průběhu experimentu ( $p < 0,0001$ ). **A** – před dvouhodinovou zátěží, **B** – 1 hodinu po počátku dvouhodinové zátěže, **C** – na konci dvouhodinové zátěže, **D** – 1 hodinu po konci běhu (3 hodiny po počátku zátěže), **E** – 24 hodin po skončení zátěže.

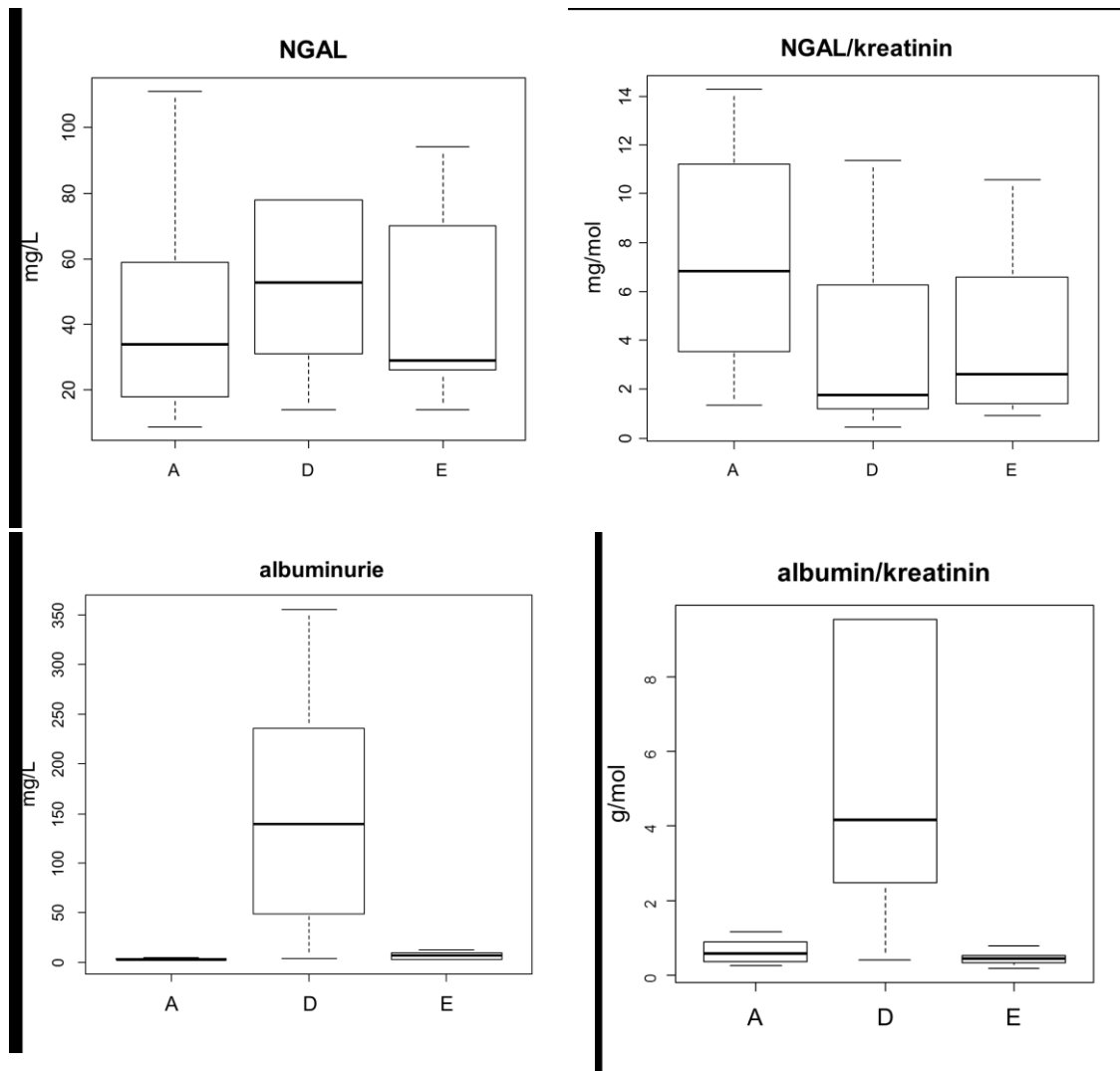


**Obrázek 16** Nahoře trendy plazmatických koncentrací kreatininu ( $p < 0,0001$ ) a dole trendy odhadu glomerulární filtrace ( $p < 0,0001$ ) v průběhu experimentu. **A** – před dvouhodinovou zátěží, **B** – 1 hodinu po počátku dvouhodinové zátěže, **C** – na konci dvouhodinové zátěže, **D** – 1 hodinu po konci běhu (3 hodiny po počátku zátěže), **E** – 24 hodin po skončení zátěže, **eGFR** – estimated glomerular filtration rate.



**Obrázek 17** Nahoře trendy močových koncentrací NGAL ( $p = 0,2$ ) a poměru NGAL/kreatinin ( $p = 0,047$ ). Dole trendy koncentrací albuminu ( $p < 0,0001$ ) a poměru albumin/kreatinin ( $p < 0,0001$ ) v moči. **A** – před dvouhodinovou zátěží, **D** – 1 hodinu po konci běhu (3 hodiny po počátku zátěže), **E** – 24 hodin po skončení zátěže.





**Obrázek 18** Nahoře boxploty močových koncentrací NGAL ( $p = 0,2$ ) a poměru NGAL/kreatinin ( $p = 0,047$ ). Dole boxploty koncentrací albuminu ( $p < 0,0001$ ) a poměru albumin/kreatinin ( $p < 0,0001$ ). A – před dvouhodinovou zátěží, D – 1 hodinu po konci běhu (3 hodiny po počátku zátěže), E – 24 hodin po skončení zátěže. V případě NGAL a NGAL/kreatinin grafy vyobrazeny bez odlehlých hodnot.

	Vzorek A	Vzorek B	Vzorek C	Vzorek D	Vzorek E	**p
<b>Kreatinin (S)</b> <b>1.–3. kvartil</b> <b>(min – max)</b> <b>[mmol/L<sup>-1</sup>]</b>	83,0 79,0–90,0 (57,0–104) B,C,D <sup>†</sup>	100,0 90,0–109,0 (74,0–147)	121,0 113–128 (90,0–170)	110,0 103,0–120,0 (98,0–162)	86,0 81,0–91,0 (78,0–112)	<b>&lt;0,0001</b>
<b>Cystatin C (S)</b> <b>1.–3. kvartil</b> <b>(min – max)</b> <b>[mg/L<sup>-1</sup>]</b>	0,78 0,71–0,83 (0,48–0,91) B,C,D <sup>†</sup>	0,95 0,87–1,01 (0,73–1,14)	1,14 1,03–1,19 (0,48–1,5)	0,99 0,91–1,06 (0,80–1,26)	0,79 0,77–0,83 (0,70–0,93)	<b>&lt;0,0001</b>
<b>eGFR (CKD-EPI)</b> <b>1.–3. kvartil</b> <b>(min – max)</b> <b>Krea+Cys</b> <b>[mL/s/1,73m<sup>2</sup>]</b>	1,78 1,66–1,93 (1,57–2,58) B,C,D <sup>†</sup>	1,42 1,31–1,59 (1,03–1,97)	1,16 1,06–1,24 (0,85–1,9)	1,33 1,25–1,43 (0,97–1,61)	1,82 1,63–1,85 (1,51–1,9)	<b>&lt;0,0001</b>
<b>Albumin (U)</b> <b>1.–3. kvartil</b> <b>(min – max)</b> <b>[mg/L<sup>-1</sup>]</b>	3,0 3,0–5,0 (3,0–16,0) D,E <sup>†</sup>	–	–	108,0 45,2–234,0 (4,0–1746,0)	7,0 3,0–10,0 (3,0–13,0)	<b>&lt;0,0001</b>
<b>Albumin/ kreatinin (U)</b> <b>1.–3. kvartil</b> <b>(min – max)</b> <b>[mg/mmol<sup>-1</sup>]</b>	0,57 0,36–0,83 (0,24–3,41) D <sup>†</sup>	–	–	3,79 2,32–9,11 (0,40–43,41)	0,47 0,33–0,59 (0,18–1,04)	<b>&lt;0,0001</b>
<b>NGAL (U)</b> <b>1.–3. kvartil</b> <b>(min – max)</b> <b>[ng/L<sup>-1</sup>]</b>	34,0 19,0–55,0 (9,0–451,0)	–	–	48,0 31,8–77,3 (14,0–929,0)	34,0 26,0–82,0 (14,0–447)	0,20
<b>NGAL/kreatinin (U)</b> <b>1.–3. kvartil</b> <b>(min – max)</b> <b>[ng/mmol<sup>-1</sup>]</b>	6,74 3,49–10,76 (1,36–32,9) D <sup>†</sup>	–	–	1,80 1,24–6,14 (0,45–69,2)	3,46 1,47–8,55 (0,9–20,6)	<b>0,047</b>

**Tabulka 10** Souhrn změn renálních parametrů zahrnující sérové koncentrace kreatininu a cystatinu C, odhad eGFR a močové koncentrace NGAL a albuminu. Běžci byli klasifikováni s ohledem na recentní doporučení pro diagnostiku akutní renální insuficience (AKI) (161). Počet (%) běžců s AKI je uvedeno v tabulce. \*Klasifikace AKI je na základě absolutní změny koncentrace kreatininu  $\geq 26,5 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ . \*\*p–hodnoty zjištěny na základě ANOVA analýzy (Friedmanův test), † – Vzorky statisticky významně odlišné od vzorku “A” ( $p < 0,05$ ). **S** – sérum, **U** – moč, **NGAL** – lipokalin asociovaný s gelatinázou neutrofilů, **eGFR (CKD-EPI)** – glomerulární filtrace vypočtena na základě hodnot cystatinu C a kreatininu užitím kombinované CKD-EPI rovnice (158). **AKI** – acute kidney injury.

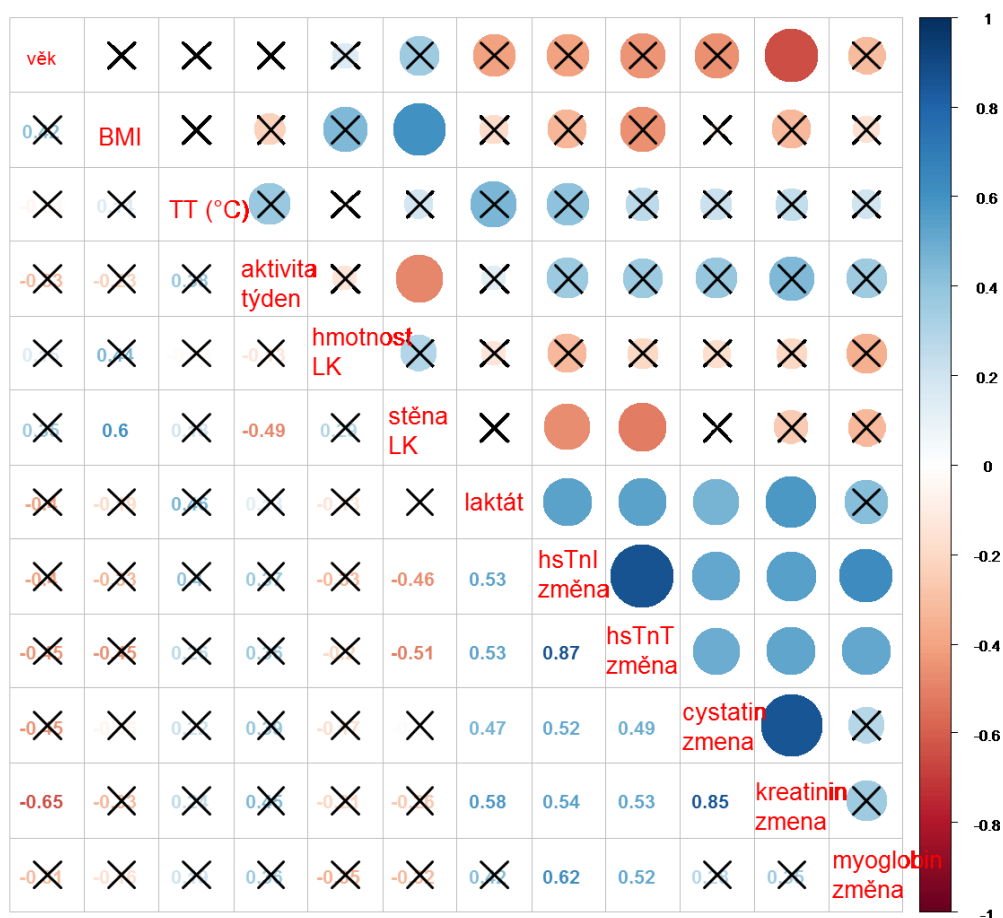
### 3.2.9.2 Korelace a regresní analýza

Detaily korelační analýzy relativních změn hsTnT a hsTnI s antropometrickými, biochemickými a echokardiografickými parametry a dalšími parametry zjištěnými během dvouhodinové zátěže detailně rozebírá **Tabulka 11** a přehledně shrnuje **Obrázek 19**.

**Tabulka 11** na další straně shrnuje detaily korelační analýzy. Uveden Spearmanův korelační koeficient relativních změn hsTnT a hsTnI s vybranými parametry, zahrnutý p-hodnoty. Medián laktátu byl vypočten ze vzorků A – D. V případě kreatininu, myoglobinu, cystatinu C a eGFR byly změny vypočteny jako relativní změna mezi vzorkem A a maximální hodnotou. **BMI** – body mass index, **NGAL** – neutrophil gelatinase-associated lipocalin, **eGFR** – estimated glomerular filtration rate vypočtená pomocí CKD-EPI kreatinin-cystatin C kombinované rovnice (158), **TF** – tepová frekvence, **LK** – levá komora, **BSA** – body surface area, **U** – urine.

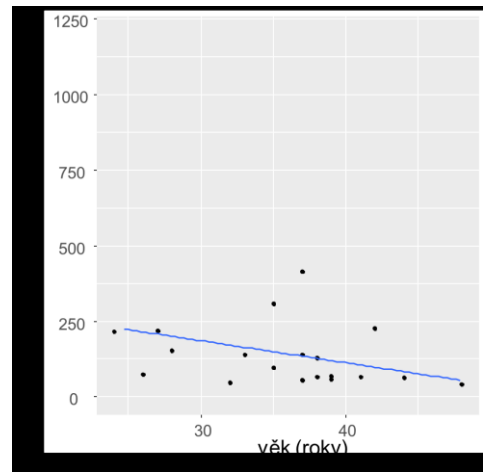
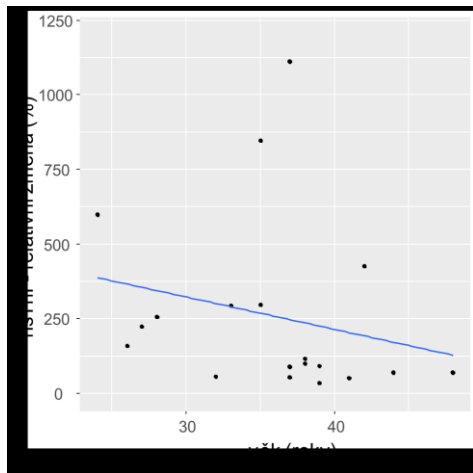
	hsTnI	hsTnT
<b>Antropometrické parametry</b>		
Věk [roky]	r = -0,40 p = 0,08	<b><u>r = -0,45 p = 0,05</u></b>
BMI [kg.m <sup>-2</sup> ]	r = -0,33 p = 0,16	r = -0,45 p = 0,051
Trénink – celková fyzická aktivita [hodiny/týden]	r = 0,37 p = 0,12	r = 0,36 p = 0,13
Trénink – uběhnutá vzdálenost [km/měsíc]	r = -0,02 p = 0,94	r = 0,03 p = 0,90
VO <sub>2</sub> max. kg [ml.kg <sup>-1</sup> .min <sup>-1</sup> ]	r = 0,27 p = 0,26	r = 0,24 p = 0,33
<b>Dvouhodinová zátěž</b>		
Uběhnutá vzdálenost [km]	r = 0,23 p = 0,35	r = 0,18 p = 0,47
TF (medián)	r = 0,28 p = 0,24	r = 0,41 p = 0,08
TF/TF <sub>max</sub>	r = 0,12 p = 0,63	r = 0,27 p = 0,27
Borgova škála (medián)	r = 0,09 p = 0,73	r = 0,10 p = 0,68
VO <sub>2</sub> /VO <sub>2</sub> max	r = 0,10 p = 0,69	r = 0,09 p = 0,73
Tělesná teplota po doběhnutí	r = 0,40 p = 0,09	r = 0,26 p = 0,30
Pokles hmotnosti	r = -0,19 p = 0,45	r = 0,12 p = 0,62
Laktát (medián)*	<b><u>r = 0,53 p = 0,02</u></b>	<b><u>r = 0,53 p = 0,02</u></b>
Kreatinin (rel. změna)	<b><u>r = 0,54 p = 0,02</u></b>	<b><u>r = 0,53 p = 0,02</u></b>
Myoglobin (rel. změna)	<b><u>r = 0,62 p = 0,005</u></b>	<b><u>r = 0,52 p = 0,02</u></b>
Cystatin C (rel. změna)	<b><u>r = 0,52 p = 0,02</u></b>	<b><u>r = 0,49 p = 0,03</u></b>
Cystatin C (náběr „C“)	r = 0,16 p = 0,50	r = 0,29 p = 0,23
eGFR (rel. změna)	<b><u>r = 0,57 p = 0,01</u></b>	<b><u>r = 0,54 p = 0,02</u></b>
Albumin/kreatinin (U) (rel. změna)	r = 0,44 p = 0,07	<b><u>r = 0,48 p = 0,045</u></b>
NGAL/kreatinin (U) (rel. změna)	<b><u>r = 0,63 p = 0,006</u></b>	<b><u>r = 0,55 p = 0,02</u></b>
<b>Echokardiografické parametry</b>		
Hmotnost LK [g]	r = -0,33 p=0,17	r = -0,20 p = 0,41
Hmotnost LK/BSA [g.m <sup>-2</sup> ]	r = -0,24 p = 0,33	r = -0,37 p=0,12
Síla stěny LK [rel]	<b><u>r = -0,46 p=0,047</u></b>	<b><u>r = -0,51 p = 0,02</u></b>
Rozměr LK v diastole [mm <sup>2</sup> ]	r = 0,18 p = 0,47	r = 0,12 p=0,62
Rozměr LK v diastole [mm.m <sup>-2</sup> ]	r = 0,42 p = 0,07	r = 0,37 p=0,12

## Korelace vybraných parametrů se změnami koncentrací hsTnI a hsTnT

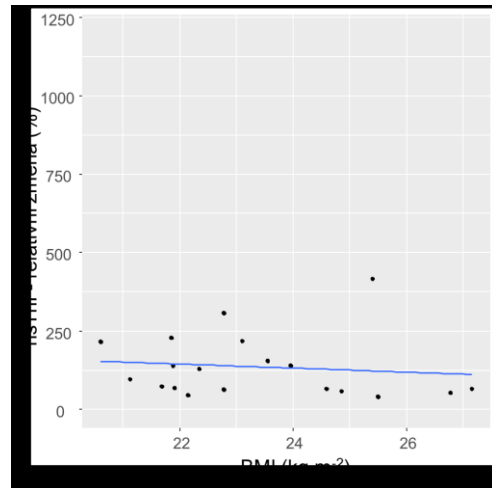
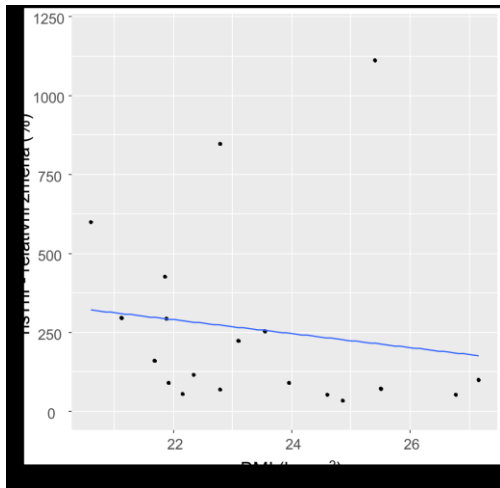


**Obrázek 19** Přehledné znázornění korelačních koeficientů vybraných parametrů. Modře znázorněna pozitivní korelace, červeně negativní korelace, velikost kolečka odpovídá velikosti korelačního koeficientu, číselný údaj udává Spearmanův korelační koeficient. Černým křížkem jsou přeškrtnuty statisticky nevýznamné korelace, kde  $p > 0,05$ .

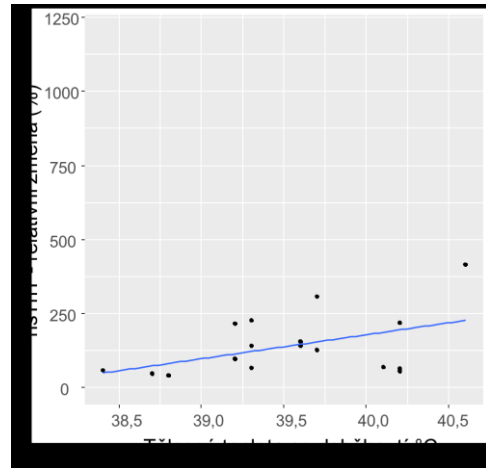
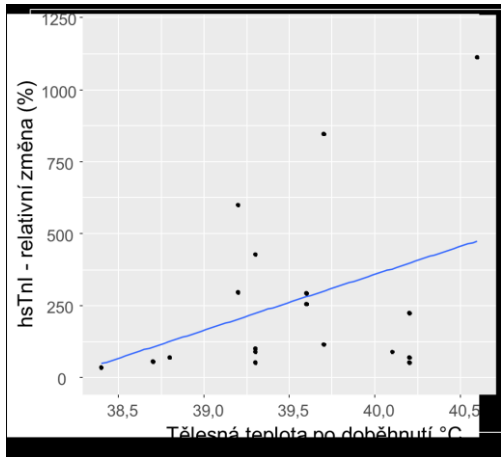
Níže jsou uvedeny grafy závislostí relativních změn koncentrací hsTnI, resp. hsTnT na vybraných parametrech vstupujících do regresního modelu, které detailně informují o síle a kvalitě vztahu na úrovni jednotlivých měření (**Obrázek 20-28**).



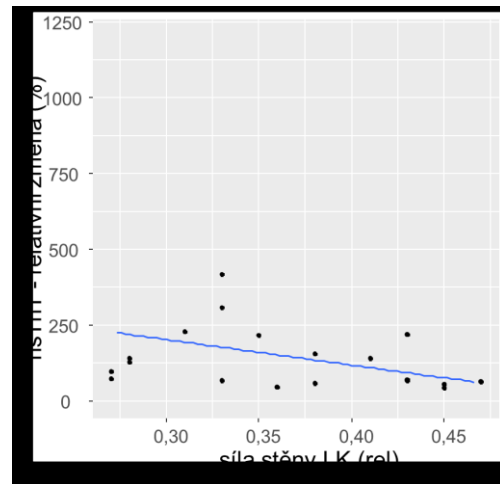
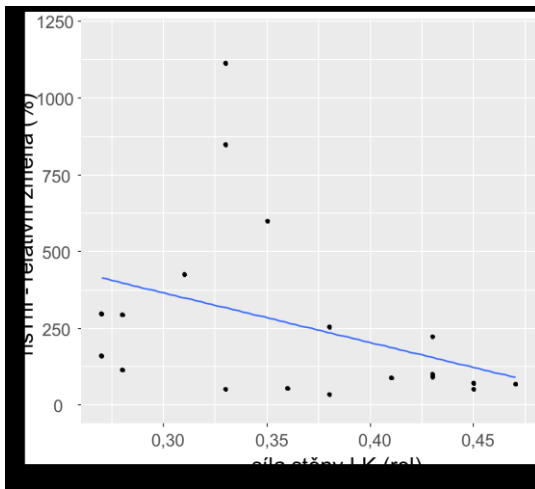
**Obrázek 20** Graf závislosti relativní změny koncentrace hsTnI (vlevo), hsTnT (vpravo) a věku ( $r = -0,40$   $p = 0,08$ ;  $r = -0,45$   $p = 0,05$ ).



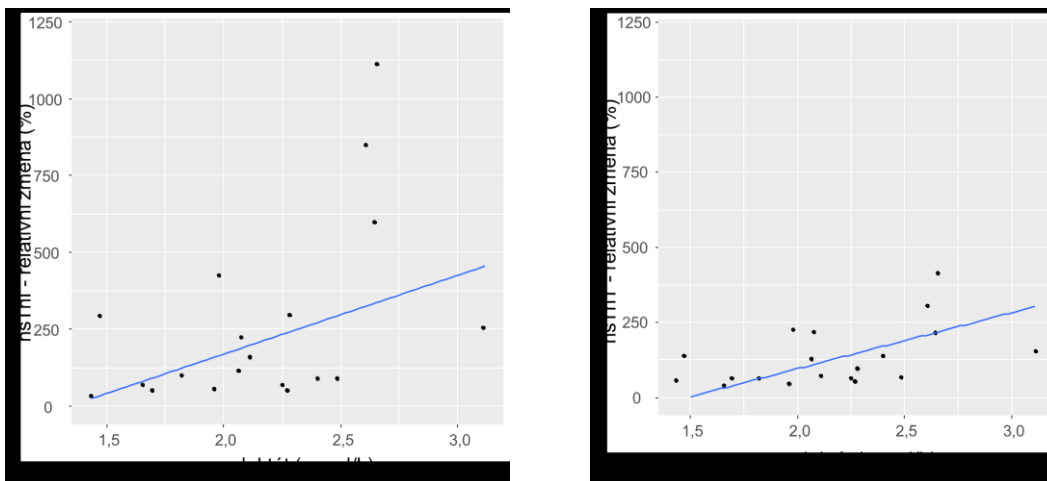
**Obrázek 21** Graf závislosti relativní změny koncentrace hsTnI (vlevo), hsTnT (vpravo) a BMI ( $r = -0,33$   $p = 0,16$ ;  $r = -0,45$   $p = 0,051$ ).



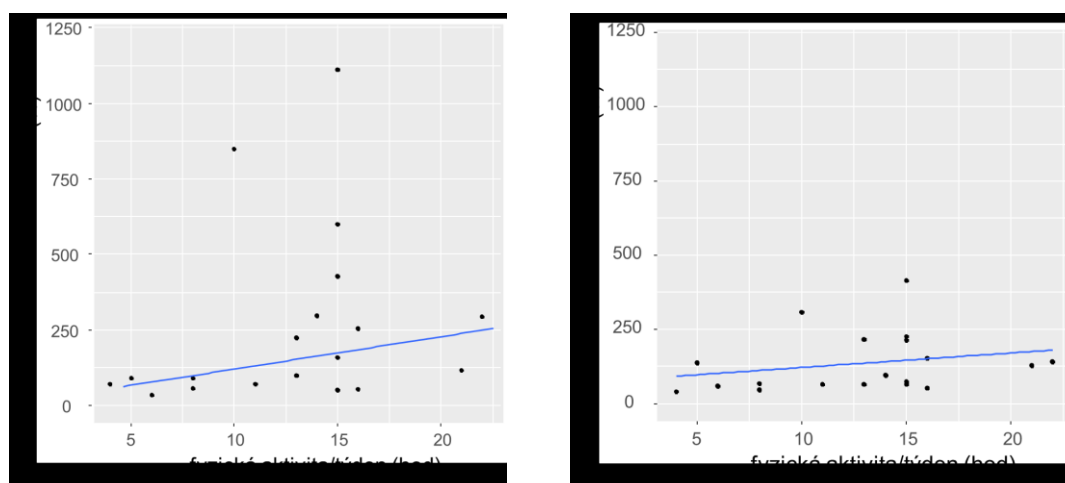
**Obrázek 22** Graf závislosti relativní změny koncentrace hsTnI (vlevo), hsTnT (vpravo) a tělesné teploty po doběhnutí ( $r = 0,40$   $p = 0,1$ ;  $r = 0,26$   $p = 0,29$ ).



**Obrázek 23** Graf závislosti relativní změny koncentrace hsTnI (vlevo), hsTnT (vpravo) a relativní síly stěny LK ( $r = -0,46$   $p = 0,047$ ;  $r = -0,51$   $p = 0,02$ ).

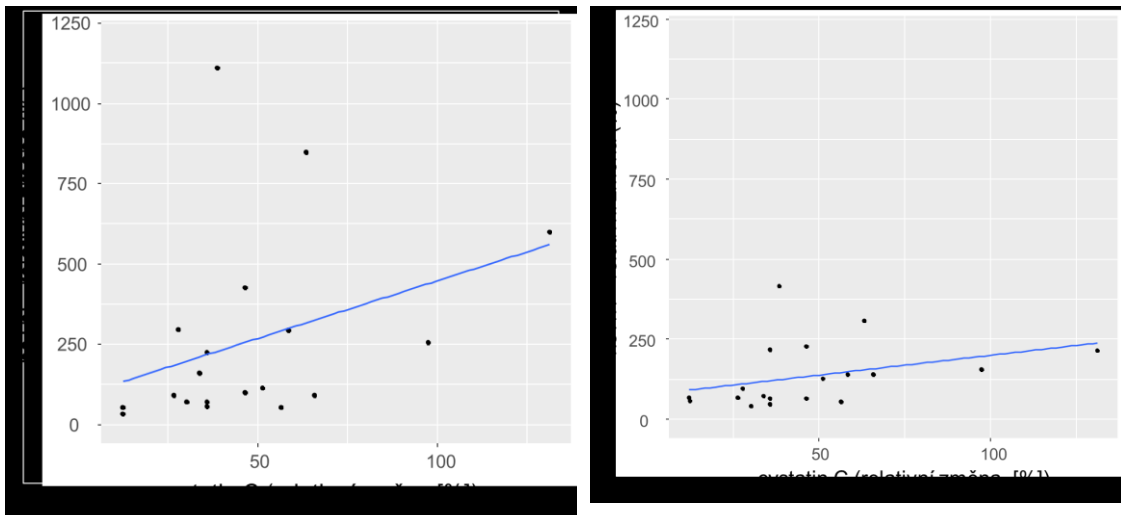


**Obrázek 24** Graf závislosti relativní změny koncentrace hsTnI (vlevo), hsTnT (vpravo) a mediánu koncentrace laktátu (užito hodnot zjištěných při náběru A, B, C a D) ( $r = 0,53$   $p = 0,02$ ;  $r = 0,53$   $p = 0,02$ ).

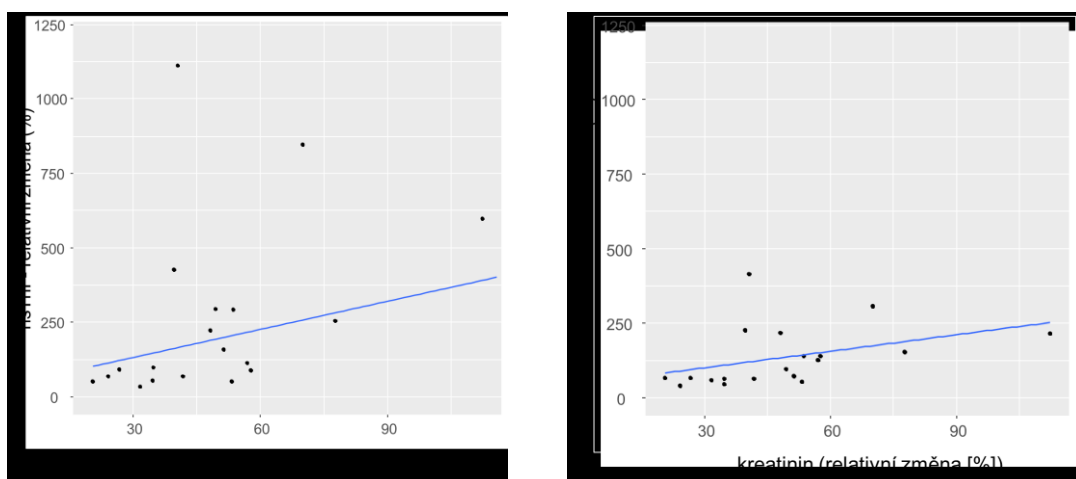


**Obrázek 25** Graf závislosti relativní změny koncentrace hsTnI (vlevo), hsTnT (vpravo) a fyzické aktivity absolvované za týden ( $r = 0,37$   $p = 0,12$ ;  $r = 0,36$   $p = 0,13$ ).

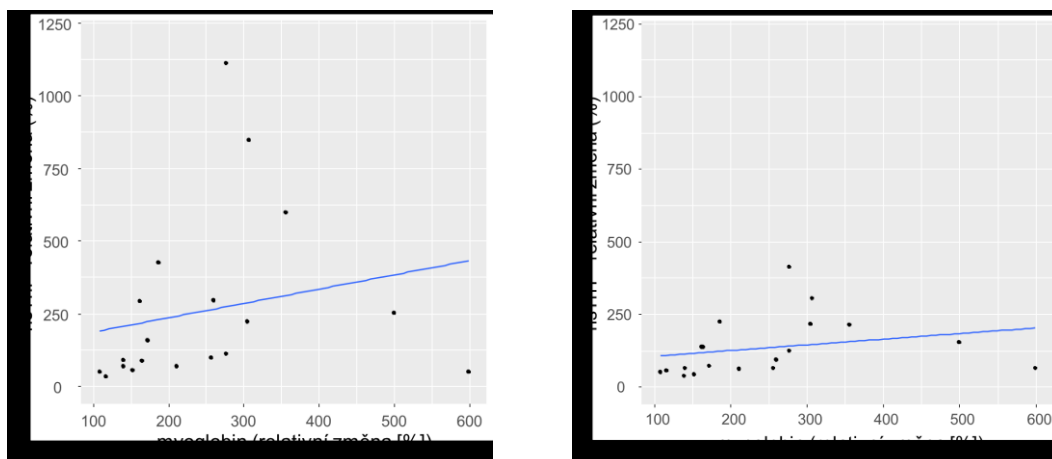




**Obrázek 26** Graf závislosti relativní změny koncentrace hsTnI (vlevo), hsTnT (vpravo) a relativní změny koncentrace cystatinu C ( $r = 0,52$   $p = 0,02$ ;  $r = 0,49$   $p = 0,03$ ).

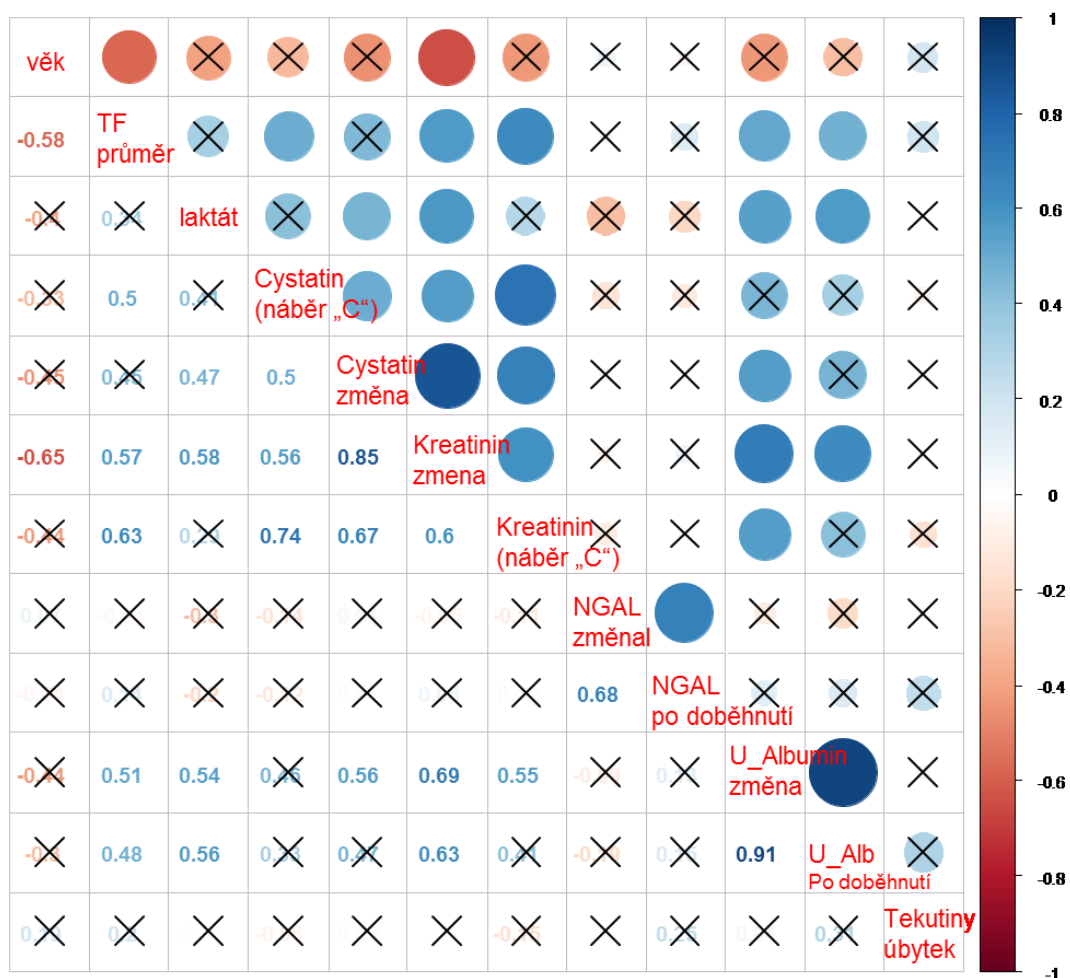


**Obrázek 27** Graf závislosti relativní změny koncentrace hsTnI (vlevo), hsTnT (vpravo) a relativní změny koncentrace kreatininu ( $r = 0,54$   $p = 0,02$ ,  $r = 0,53$   $p = 0,02$ ).



**Obrázek 28** Graf závislosti relativní změny koncentrace hsTnI (vlevo), hsTnT (vpravo) a relativní změny koncentrace myoglobinu ( $r = 0,62$   $p = 0,005$ ;  $r = 0,52$   $p = 0,02$ ).

## Korelace vybraných parametrů s renálními parametry



**Obrázek 29** Přehledně znázorněná korelace renálních a některých vybraných parametrů. Modře znázorněna pozitivní korelace, červeně negativní korelace, velikost kolečka odpovídá velikosti korelačního koeficientu, číselný údaj udává Spearmanův korelační koeficient. Černým křížkem jsou přeškrtnuty statisticky nevýznamné korelace, kde  $p > 0,05$ .

	<b>TF</b>	<b>laktát</b>	<b>ztráta tekutin</b>	<b>věk</b>
<b>cystatin C</b>				
náběr C	<b><u>r = 0,5 p = 0,029</u></b>	r = 0,41 p = 0,08	r = -0,06 p = 0,80	r = -0,32 p = 0,17
změna koncentrace	r = 0,46 p = 0,052	<b><u>r = 0,47 p = 0,04</u></b>	r = 0,02 p = 0,93	r = -0,45 p = 0,051
<b>kreatinin</b>				
náběr C	<b><u>r = 0,63 p = 0,004</u></b>	r = 0,29 p = 0,23	r = -0,15 p = 0,54	r = -0,43 p = 0,06
změna koncentrace	<b><u>r = 0,57 p = 0,01</u></b>	<b><u>r = 0,58 p = 0,009</u></b>	r = -0,01 p = 0,99	<b><u>r = -0,65 p = 0,003</u></b>
<b>NGAL</b>				
po doběhnutí	r = 0,14 p = 0,57	r = -0,30 p = 0,21	r = 0,25 p = 0,33	r = -0,04 p = 0,87
změna koncentrace	r = -0,04 p = 0,88	r = -0,2 p = 0,42	r = 0,01 p = 0,99	r = 0,07 p = 0,77
<b>albuminurie</b>				
po doběhnutí	<b><u>r = 0,48 p = 0,046</u></b>	<b><u>r = 0,56 p = 0,015</u></b>	r = 0,31 p = 0,22	r = -0,30 p = 0,23
změna koncentrace	<b><u>r = 0,51 p = 0,029</u></b>	<b><u>r = 0,54 p = 0,019</u></b>	r = 0,04 p = 0,87	r = -0,43 p = 0,07

**Tabulka 12** Tabulka korelací renálních parametrů s průměrnou tepovou frekvencí během zátěže (TF), mediánem koncentrace laktátu (náběry A-D), ztrátou tekutin a věkem.

Podle výsledného modelu mnohonásobné lineární regrese relativní změny v koncentracích obou troponinů během normalizované zátěže jsou významně determinovány relativní silou stěny LK, časem stráveným sportovní aktivitou během týdne, relativní změnou v koncentracích kreatininu a tělesnou teplotou po doběhnutí. Detaily viz **Tabulka 13**.

	hsTnT			hsTnI		
	Estimate	Std. Error	P	Estimate	Std. Error	P
<b>Intercept</b>	-5356,94	1312,7	0,001	-14738,5	3880,5	0,003
<b>BMI [kg.m<sup>-2</sup>]</b>	20,022	10,922	0,09	65,692	32,285	0,06
<b>Tělesná teplota [°C]</b>	144,378	34,654	0,001	395,559	102,439	0,002
<b>Fyzická aktivita [hodiny/týden]</b>	-14,867	5,068	0,01	-47,265	14,982	0,008
<b>Kreatinin (rel. změna)</b>	2,199	0,792	0,02	6,913	2,341	0,01
<b>Síla stěny LK [rel]</b>	-1609,30	402,89	0,002	-5130,47	1190,96	0,008

**Tabulka 13** Konečný model mnohonásobné regresní analýzy, kde relativní změny hsTnT a hsTnI jsou uvažovány jako závislé proměnné a BMI, tělesná teplota po doběhnutí, počet strávených hodin sportovní aktivitou týdně, relativní změna v koncentraci kreatininu a relativní síla stěny LK jako vysvětlující proměnné (Adjustované  $R^2$ : 0,60,  $p = 0,005$  pro hsTnT, adjustované  $R^2$ : 0,60,  $p = 0,005$  pro hsTnI).

### 3.3 Diskuze

První uvedená studie založená na extrémní zátěži v soutěžním prostředí je navržena jako většina studií zejména dříve publikovaných. Hlavním přínosem naší první práce je popis změn koncentrací a jejich vztahů u galectinu-3, hsTnI, uCRP a cystatinu C po extrémní sportovní zátěži soutěžního charakteru. Patrné jsou silné i slabé stránky provedené studie. Mezi silné stránky patří nemalý vzorek jedinců elitní úrovně účastnících se závodu extrémního charakteru, resp. Mistrovství České republiky. Mezi slabé stránky patří absence kontrolního náběru např. 24 hodin po dokončení závodu, absence sledování příjmu a výdeje tekutin, zajištění normalizované zátěže a vyšší uniformity sledované populace. Negativem všech podobně koncipovaných studií je i absence možnosti jakkoli vyloučit případnou fyzickou zátěž v období před samotným závodem, kdy zejména u elitních běžců je v rámci tréninkových programů doporučováno absolvovat zátěž, byť lehčího charakteru, i den před závodem.

Ve druhé studii jsme detailně popsali dynamiku kardiálních troponinů, kreatininu, cystatinu C v séru a NGAL a poměru albuminu ke kreatininu (ACR) v moči. V této studii je cenný zejména design studie, který umožnil aplikovat standardizovanou zátěž u všech probandů a hledat vztahy mezi laboratorními, echokardiografickými parametry a údaji o trénovanosti, výkonosti a známkách dehydratace a přetížení organismu. Toto uspořádání je v publikované literatuře vzácné a umožňuje lépe charakterizovat změny obou klinicky používaných kardiálních troponinů a dalších vyšetřovaných parametrů v kontextu standardizované zátěže a dalších vyšetřovacích metod (EKG, echokardiografie) (86,96,97,124). Nemalou výhodou je sledování změn zmíněných renálních parametrů v laboratorním prostředí včetně sledování bilance tekutin. Druhá práce se zabývá též interpretací naměřených hodnot cTn při využití jednohodinového algoritmu diagnostiky IM bez elevací ST úseku. Studie normalizované zátěže zahrnovala poměrně homogenní skupinu trénovaných jedinců mužského pohlaví. Relativně malý vzorek sledovaných jedinců vyvažuje malá variabilita některých parametrů (zejména cTn), kde jsou změny prakticky uniformní a významně odlišné závěry nelze při vyšetření více probandů očekávat. Podobně designované studie jsou organizačně výrazně náročnější než běžně publikované práce zaměřené na hodnocení cTn v souvislosti se zátěží. Design studií založený na častějších odběrech napomáhá lépe sledovat dynamiku hladin cTn na rozdíl od studií s méně častými odběry krve (86,91).

V naší první studii je patrné zvýšení hodnot hsTnI před závodem nad zvolenou cut-off hodnotu v případě 4 běžců, z toho u 2 žen. Ve dvou z těchto případů (u mužů) došlo v průběhu závodu k poklesu hodnot hsTnI (z 30,7 ng/L na 18,7 ng/L a ze 109,2 ng/L na 29,4 ng/L) na rozdíl od žen, u kterých došlo k dalšímu zvýšení hodnot (z 19,3 ng/L na

111,3 ng/L a v druhém případě z 20,1 ng/L na 60,2 ng/L). V publikovaných pracích zejména staršího data není v řadě případů elevace hodnot cTn nad určenou cut-off hodnotu před zátěží zmíněna (97,142), často právě v důsledku užití starších generací analytických souprav na stanovení cTn (162). V některých případech je elevace hodnot nad cut-off hodnotu před zátěží publikována (163). V metodice studií v mimosoutěžním prostředí je ve většině případů zmíněna nutnost nepodstupovat fyzickou zátěž v určitém časovém období před zátěží např. v práci, kterou publikoval Li, kde rovněž nebyla popsána elevace před závodem u žádného z účastníků (164). Přítomnost elevace v předzávodním období je pravděpodobnější, není-li vysloven požadavek na absenci fyzické zátěže před závodem, stejně jako v případě naší první práce. Ačkoli nebyl prokázán kumulativní vliv na změnu cTn po dvou po sobě následujících bězích (86), vliv zátěže 24 hodin před vlastním experimentem nelze vyloučit (91).

Navzdory očekávanému závěru na základě dříve publikovaných prací jsme v naší první studii neprokázali, že by byly změny v koncentracích cTn ovlivněny dobou zátěže nebo uběhnutou vzdáleností (98). Příčinou může být, že se v určitých ohledech nejednalo o uniformní populaci a některé další faktory, u kterých byl rovněž prokázán vliv na vyplavení cTn, nebyly známy, např. tréninková historie, anamnéza jednotlivých účastníků nebo echokardiograficky zjištěná změna v morfologii srdce závodníků. Souvislost změn hsTnI a hsTnT s uběhnutou vzdáleností jsme neprokázali ani v naší druhé studii. Díky kontrolovanému průběhu druhé studie je však možno vyslovit závěr, že při konstantní individualizované zátěži na 90 % AP nemá uběhnutá vzdálenost během 2hodinového běhu vliv na nárůst kardiálních troponinů.

Studie problematiky změn laboratorních parametrů zaměřené na ženskou populaci jsou mnohem méně časté (93), avšak v poslední době dochází k nárůstu žen účastnících se závodů vytrvalostního charakteru (165). V naší první studii je patrná markantnější elevace cTn ve skupině žen v porovnání se skupinou mužů – 173,9 (60,2–736,9) ng/L vs 37,9 (3,7–144,6) ng/L, data prezentována jako medián (min–max). Ve studii založené na sledování účastníků bostonského maratonu bylo ženské pohlaví popsáno jako faktor predisponující ke zvýšené elevaci cTn (144), což je ve shodě s naší prací, avšak tento závěr byl publikován ojedinele. Mezi častější závěry patří, že pohlaví nemá vliv na vyplavení cTn (98). Očekávanou limitací naší studie je však malý vzorek ženské populace.

Věk jako často uvažovaný faktor, který má vliv na množství vyplaveného cTn, jsme v naší první studii detailněji neanalyzovali, protože ne všichni účastníci závodu uběhli stejnou vzdálenost a současně nebyla ani zajištěna standardizace absolvované zátěže. V druhé studii jsme prokázali, že změna v koncentraci hsTnT i hsTnI negativně korelovala s věkem, byť s hraniční statistickou významností. Většina studií věk jako

faktor ovlivňující změnu v koncentracích cTn v souvislosti s fyzickou zátěží nezmiňuje (98), avšak existují práce, které vyšší věk jako prediktor menšího množství uvolněného cTn do krevního oběhu udávají (144,163,166). Jedná se však o studie založené na sledování uvolnění cTn v soutěžním prostředí a diskutován je zejména vliv tréninku, zkušeností a možnosti vyvinout vyšší fyzické úsilí v mladším věku než ve starším věku. V této souvislosti je zvažován vliv různé míry zátěže u jednotlivých jedinců účastnících se soutěží, avšak v případě naší druhé studie je míra zátěže standardizována. Existují rovněž práce udávající korelaci vyššího věku s větším uvolněním cTn, avšak ne vždy jsou ze sledované populace vyloučeni jedinci s kardiovaskulárním onemocněním (31).

Při posuzování změn v koncentracích hsTnI v případě první studie je patrné, že u většiny účastníků po absolvovaném běhu došlo k elevaci hodnot hsTnI a ke zvýšení zastoupení jedinců, kteří měli koncentraci hsTnI nad cut-off hodnotu, což je ve shodě s publikovanými pracemi (93). Hlavní limitací je zde absence kontrolního náběru např. za 24 hodin a posouzení možné přítomnosti další elevace cTn. Při posuzování změn cTn ve studii založené na dvouhodinové normalizované zátěži došlo u většiny účastníků k významnému poklesu hodnot hsTnI i hsTnT v náběru 24 hodin po zátěži. Výjimku tvořil jeden běžec v případě hsTnT a 2 rozdílní běžci v případě hsTnI, kde přetrvávaly vyšší hladiny nebo došlo dokonce k dalšímu vzestupu. Middletonová publikovala u 9 běžců, kteří absolvovali maraton na běhacím ergometru, vzestup v hodnotách cTnT přibližně hodinu po vyběhnutí a následně pokles koncentrací již před koncem běhu u všech běžců. Následně však byl přítomen druhý pík v koncentraci cTnT a tendence k návratu k původním hodnotám byla přítomna u většiny z 9 běžců po cca 24 hodinách. Přítomnost druhého píku v hodnotách cTn jako reakce na fyzickou zátěž a pokles hodnot troponinu již během zátěže je poměrně ojediněle publikovaný závěr (91). Studie Middletonové je nicméně pěkným příkladem, jak ignorování analytických vlastností metody může vést ke zkresleným závěrům. V publikaci není metoda stanovení podrobněji popsána, ale použitá 3. generace souprav na stanovení TnT nepatří k vysoce senzitivním metodám a pozorovaná „normalizace“ a „bifazický průběh“ jsou vzhledem k hodnotám okolo 10 ng/L spíše na hranici nebo pod limitem detekce metody. Většina naměřených hodnot uvedených v této studii je z pohledu analytických vlastností metody „nulových“ a je tedy pravděpodobné, že spíše než o „normalizaci“ a „bifazický průběh“ šlo o oscilaci hodnot na hranici měřitelnosti, kde lze předpokládat velkou nepřesnost. Naproti tomu naše druhá studie má srovnatelný design studie, ale používá moderní vysoce senzitivní metody stanovení kardiálních troponinů s přijatelným variačním koeficientem kolem 30 % na limitu detekce (2 ng/L pro TnI, 5 ng/L pro TnT). Pod limitem detekce bylo před zátěží v případě hsTnI 5 (26 %) hodnot a v případě hsTnT 0 (0 %) hodnot. Ihned po zátěži i hodinu po zátěži bylo v případě hsTnI i hsTnT pod limitem detekce 0 (0 %)



hodnot. Je tedy zřejmé, že k úplné normalizaci hladin cTnT nemusí dojít ani 24 hodin po zátěži a vliv na interpretaci 1h algoritmu (umístění pacienta do větve pro „vyřazení“) by byl patrný i po relativně dlouhé době po absolvování zátěže. Můžeme jen spekulovat, zda pomalý pokles nebo i vzestup hodnot troponinů 24 hodin po zátěži lze přičíst na vrub např. nedodržení klidového režimu či větší pohotovosti ke zvýšení troponinů v pozátěžovém období i při minimální zátěži. Pro zodpovězení této otázky bude třeba navrhnout studie se standardizovanou zátěží v různých časových intervalech po první zátěži. V literatuře popisovaná rozdílná dynamika uvolnění cTn po zátěži v porovnání s dynamikou vyplavení cTn při IM (167) není dle našich výsledků mnohdy jednoznačně odlišitelná a v klinické praxi nelze na rozdílnou dynamiku při obou stavech spoléhat.

V naší studii normalizované zátěže jsme prokázali, že změny cTn mohou souviset s relativní silou stěny LK. Čím silnější je stěna LK, tím je následně menší změna v koncentraci obou cTn. Silnější stěna LK byla popsána jako jedna ze součástí adaptace na dlouhotrvající fyzickou zátěž u atletů. Možné vysvětlení uvolnění většího množství cTn u srdce se slabší srdeční stěnou lze nalézt v její předpokládané větší distenzi. Silnější stěna bude během zátěže pravděpodobně méně namáhána. Studie zabývající se změnami v koncentracích cTn a echokardiografickými parametry nevedly vždy ke shodným závěrům (93,101,110,116–118). Zjištění korelace změn koncentrací cTn a echokardiografických parametrů či parametrů jiných zobrazovacích metod však bylo publikováno pouze v některých pracích, jednalo se zejména o diastolickou dysfunkci, zvýšený tlak v plicnici a dysfunkci pravé komory (99). Navzdory zjištěné dysfunkci levého srdce v souvislosti se zátěží korelace se změnami v koncentracích cTn publikována nebyla (102). Dojde-li v souvislosti se zátěží ke změnám echokardiografických parametrů, bývají přechodné. Současně se nabízí možnost uplatnění mechanismu uvolnění cTn formou ovlivnění metabolismu integrinů (134). V souvislosti s echokardiografickými parametry vnímáme jako největší limitaci naší studie absenci echokardiografického vyšetření po zátěži. Na druhou stranu nelze po zátěži očekávat změnu strukturálního parametru jako je síla stěny LK. Provedení pozátěžové TTE by tedy pravděpodobně na našem závěru nic nezměnilo.

V naší práci jsme v regresním modelu prokázali, že množství uvolněného cTn může být ovlivněno tréninkovým objemem. U osob s absolvovaným větším tréninkovým objemem nedochází k tak výraznému uvolnění cTn jako u jedinců méně trénujících. Tento faktor již byl studován v řadě prací, avšak námi popsaný vztah byl prokázán pouze v některých případech (98). V naší studii bylo cílem, aby všichni účastníci byli zatíženi stejnou mírou vzhledem ke své kardiopulmonální kapacitě, která byla zjištěna během zátěžového testu do maxima. V úvodním dotazníku každý ze sportovců poskytl údaje ohledně počtu naběhaných km za měsíc a tréninkovém objemu celkově, tedy dobou

strávenou během a dalšími sportovními aktivitami, nejčastěji tréninkem absolvovaným na kole, při tenisu, squashi, badmintonu, plavání a při běžeckém lyžování. Vzhledem k tomu, že se nejednalo o skupinu jedinců specializovanou pouze na běh a nebylo možno všechny účastníky sledovat při tréninku, dokonalá standardizace tréninkových jednotek je z tohoto pohledu relativně obtížná. Někteří z vyšetřovaných se určitou část sezony připravují na rozdílné soutěže, ne pouze v běhu, což může výpovědní hodnotu též částečně ovlivnit. Ve všech případech se jednalo zejména o aerobní formu zátěže. Námi nalezený protektivní efekt objemu tréninku vzhledem k vzestupu kardiálních troponinů je tedy nutné interpretovat velmi opatrně. K potvrzení či vyvrácení našeho zjištění by bylo třeba uspořádat studii s probandy s jasně definovanou a kontrolovanou tréninkovou zátěží.

Vliv tělesné teploty po zátěži jako faktoru ovlivňujícího vyplavení cTn nebyl dosud publikován, ovšem měření rektální teploty po zátěži není časté. Známý je významný vliv zátěže na kardiovaskulární aparát v souvislosti s termoregulací, resp. že v průběhu fyzické zátěže je v případě zvyšující se tělesné teploty nutné adekvátně zvýšit průtok kůží a tím zvýšit výdej tepla. To vede k významnému zvýšení nároků na kardiovaskulární aparát (6). Zvýšení termoregulace může postupně vést k dehydrataci, což dále zvyšuje nároky na kardiovaskulární aparát. Dochází k redukci plnění srdce vedoucí ke snížení srdečního výdeje. V případě, kdy v průběhu fyzické zátěže není zajištěna adekvátní termoregulace, může dojít poměrně rychle k vyčerpání rezerv organismu (138,168). Souvislost zvýšeného vyplavení cTn u jedinců s vyšší tělesnou teplotou tedy vnímáme jako do jisté míry očekávanou odpověď v důsledku zvýšených nároků na kardiovaskulární systém.

Z grafů průběhů hladin jednotlivých troponinů u konkrétních běžců lze pozorovat, že byť naměřené hodnoty hsTnI a hsTnT silně korelují, existují určité odlišnosti. Navzdory publikovaným pracím zabývajícím se srovnáním obou troponinů v klinické praxi (169,170) jsou práce studující elevaci cTn v souvislosti s fyzickou zátěží v drtivé většině případů zaměřené na stanovení koncentrace pouze jednoho z troponinů (93), podobně jako v případě naší první studie. Zmiňován je mírný rozdíl v dynamice během zátěže mezi hsTnI a hsTnT ve prospěch hsTnT, u kterého již 30 minut po zátěži dochází ke statisticky signifikantní změně na rozdíl od hsTnI (125). Jev je vysvětlován právě zvýšeným zastoupením fragmentů hsTnT (6-8 %) v porovnání s hsTnI (3 %) v cytoplasmě. Tento výsledek je ve shodě s naší druhou studií, kde je patrná statisticky signifikantní změna po hodině běhu pouze u hsTnT, ale u hsTnI jsme ji nepozorovali (**Tabulka 9**). Zmíněný rozdíl v dynamice je dobře patrný též na průbězích a boxplotech popisujících změny v koncentracích jednotlivých troponinů (**Obrázek 14**). Je třeba zdůraznit, že zmiňovaná Lippiho práce (125) své závěry odvozuje ze změn troponinů na

úrovni desetin ng/L (jedinou významnou změnou je zde vzestup hsTnT z 5,1 na 5,8 ng/L po 30 minutách od počátku zátěže) – změny jsou tedy při absolvované zátěži prakticky zanedbatelné a o vzestupech či trendech lze mluvit jen s určitou nadsázkou. Překvapivá je zde i absence korelace mezi naměřenými hodnotami TnT a TnI ( $r = 0,128$ ). Naproti tomu námi popsané dynamiky obou kardiálních troponinů jsou robustně vyjádřené a korelace mezi změnami obou troponinů vysoké ( $r = 0,87$ ).

Z pohledu stanovení koncentrace cTn je poměrně aktuální problém možnost ovlivnění analýzy tzv. makrotroponiny, což jsou komplexy fragmentů troponinu a imunoglobulinů, resp. IgG, které mohou vést ke vzniku falešně pozitivního výsledku (171). Tato alternativa byla publikována zejména s ohledem na stanovení hsTnI (172). Na průběžích koncentracích jednotlivých troponinů v průběhu druhého experimentu je v jednom případě patrná elevace hsTnT nad hodnotu 99. percentilu ve všech náběrech v porovnání s hodnotami hsTnI (**Tabulka 14**). Možná přítomnost makrotroponinu T byla publikována ojediněle (173). Konfirmaci přítomnosti makrotroponinu T jsme neprováděli, avšak jeho přítomnost je v tomto případě velmi suspektní.

	Vzorek A	Vzorek B	Vzorek C	Vzorek D	Vzorek E
hsTnI (ng/L)	4,6	4,7	6,2	5,7	10,10
hsTnT (ng/L)	41,1	64,1	65,1	61,0	41,2

**Tabulka 14** Hodnoty hsTnI a hsTnT u běžce č. 5.

Při interpretaci zjištěných hodnot hsTnT a hsTnI v důsledku dvouhodinové zátěže s ohledem na jednohodinový algoritmus diagnostiky IM bez ST elevace je zřejmé, že podobné algoritmy ve srovnatelné situaci nejsou použitelné. Jak zmiňuje Shave, vyšetření koncentrací cTn by mělo být prováděno pouze v indikovaných případech (92). Je však známa řada případů, kdy dochází ke kolapsu v průběhu fyzické zátěže a diferenciálně diagnosticky není možné přítomnost poškození myokardu okamžitě vyloučit. Anamnéza bývá často neznámá a na EKG mohou být zachyceny změny, které nejsou jasně interpretovatelné či jsou staršího data. Současně bolest na hrudi nemusí být přítomna. V těchto případech se nelze vyšetření koncentrací cTn vyhnout a je třeba počítat s možným vlivem fyzické zátěže na hodnoty cTn. Interpretace výsledku se v těchto případech stává velmi obtížnou a není možné vyloučit další nutné vyšetřování, které generuje náklady, může zvyšovat délku hospitalizace a pravděpodobnost vzniku dalších komplikací. V důsledku lepších analytických vlastností moderních analytických souprav lze očekávat vyšší procento jedinců se zvýšenými hodnotami cTn po fyzické zátěži než dříve. Populace sledovaná v naší práci se skládala z jedinců dobře

adaptovaných na zátěž podobného charakteru, kterou průměrný jedinec běžně nepodstupuje. Pro netrévaného jedince se sedavým způsobem života může být míra zátěže, která způsobí vyplavení cTn, posunuta do nižších hodnot absolvované zátěže. Např. Savukoski publikovala ve studii zaměřené na hodinové cvičení pro začátečníky s kettlebellem elevaci cTn nad cut-off hodnotu u 18 % jedinců v případě hsTnI a 36 % jedinců v případě hsTnT (85). Toto tvrzení je ve shodě s našimi závěry, že k elevaci cTn není nutná dlouhotrvající či extrémní zátěž. Zejména v době algoritmizace vyšetřovacích postupů založených na využití dostupných diagnostických možností však může docházet ke zbytečnému provádění nejen laboratorních testů. Je třeba pátrat po dalších možnostech, jakým způsobem by se mělo v podobných případech postupovat.

Vyšetření hladin galektinu-3 v souvislosti s fyzickou zátěží bylo studováno v kontextu se zátěží aerobního charakteru (174), popř. 30 a 60 kilometrového běhu (115,175). V animálním modelu byla však příčinou vzestupu galektinu-3 exprese v kosterních svalech, nikoliv v myokardu. Rovněž absence korelace se známkami fibrózy při zobrazení magnetickou rezonancí u sportovců podporují tuto hypotézu (175). U pacientů indikovaných k dipyridamolové zátěžové echokardiografii došlo k významnému zvýšení galektinu-3 častěji ve skupině s pozitivním výsledkem zátěžového testu (176). Zařazení galektinu-3 do naší práce bylo provedeno vzhledem k možnosti nahlédnout na další patogenetický mechanismus ovlivnění myokardu v souvislosti se zátěží. V naší první studii je patrné zvýšení galektinu-3 v souvislosti s absolvovanou extrémní zátěží. Byla zjištěna korelace změn v koncentracích galektinu-3 se změnou koncentrace hsTnI. Zda mají jedinci s větším vzestupem koncentrace galektinu-3 v souvislosti s fyzickou zátěží vyšší riziko srdečního selhání či jiných kardiovaskulárních příhod, však vyžaduje provedení dalších studií.

Z pohledu renálních parametrů jsou námi provedené studie založené na stanovení koncentrace cystatinu C a NGAL v plazmě v první studii a kreatininu, cystatinu C v plazmě a NGAL a albuminu v moči ve studii s normalizovanou zátěží. Cystatin C a kreatinin v séru shodně stoupaly v obou studiích. Podobně reagoval i sérový NGAL v první studii. Výhodou druhé studie je, že sleduje rovněž příjem tekutin a úbytek hmotnosti v průběhu absolvované zátěže jako spolehlivý ukazatel vodní bilance. Souvislost mezi tekutinovým úbytkem a zmíněnými parametry jsme však neprokázali. Zejména na základě druhé námi provedené kontrolované studie lze tedy zpochybnit možný prerenální vliv jako faktor ovlivňující míru změny uvedených parametrů. Takový mechanismus je však v řadě prací zmiňován (177) jako významný faktor ovlivňující parametry renálních funkcí při zátěži nejen omezením průtoku ledvinami, ale i cestou „zahuštění“ vnitřního prostředí a „zvýšením koncentrace“ vyšetřovaných markerů. Vlivem redistribuce tekutin nemusí být tento faktor tak významný, jak je často zmiňováno,

za předpokladu současného udržení určitého stupně prokrvení renálního parenchymu. Předpokladem je absence ovlivnění renálních funkcí dalším mechanismem, např. excesivní rhabdomyolýzou (178).

Studie založené na sledování renálních parametrů v souvislosti se zátěží jsou založeny nejčastěji na sledování koncentrace kreatininu v séru (131,177,179), cystatin C byl v této souvislosti méně zkoumán (180). Provedené studie jsou obvykle ve shodě, že dochází k laboratorním známkám renální insuficience. McCullough ve své publikaci předpokládá, že tyto změny jsou v souvislosti se zátěží zapříčiněny uvolněním kreatininu jako produktu metabolismu kreatinu a zmiňuje možné ovlivnění přítomnou dehydratací (177). Lippi publikoval práci založenou na sledování laboratorních parametrů u 13 mužů po absolvování ultramaratonu. Hypotetizuje, že na základě významného omezení průtoku krve některými systémy v důsledku fyzické zátěže, např. gastrointestinálním traktem a ledvinami, může dojít k jejich poškození. Studie Lippiho a McCullougha se shodují, že v důsledku fyzické zátěže dochází k laboratorním známkám renální insuficience. Nicméně ve studii Wolyniece byl prováděn pravidelný sběr moče a odběry krve každých 25 km v průběhu 100 km dlouhého ultramaratonu a následně vypočtena clearance kreatininu. Bylo zjištěno, že navzdory změnám zjištěných na základě sérových koncentrací kreatininu, při posuzování renálních funkcí pomocí clearance kreatininu nebyl pokles ve funkci ledvin zaznamenán (181).

Jsou k dispozici některé starší práce založené na clearance exogenních látek a je sledována jejich clearance v souvislosti s fyzickou zátěží. Např. Neviackas nezjistil žádné změny v clearance kyseliny paraaminohipurové a inulinu u běžců v chladném prostředí, avšak zjistil pokles inulinové clearance u běžců v teplém prostředí (182). Toto tvrzení podporuje teorii redistribuce krve při zátěži v chladném prostředí a možné překročení míry regulačního efektu redistribuce tekutin v teplém prostředí. Dále např. studie Irvinga prokázala, že clearance kreatininu je normální během závodu a až po skončení závodu dochází dokonce k jejímu zvýšení (183). Z právě uvedeného je zřejmé, že z pohledu vyšetřování renálních funkcí v souvislosti se zátěží je důležitý nejen zvolený marker hodnocení funkce ledvin, ale i postup při určení ovlivnění renálních funkcí, a v neposlední řadě též samotný design studie. V případě některých markerů, endogenních produktů metabolismu, je patrná hlavní limitace vyplývající z jejich zvýšeného obratu při zátěži (sérový kreatinin), u jiných zase zapojení např. do kaskády pochodů při zánětlivé reakci (sérový cystatin), která byla jako součást reakce na fyzickou zátěž publikována (184). Situaci mohou komplikovat dalších známé limitace uvedených markerů endogenní povahy, jak je známe z běžné klinické a laboratorní praxe, např. objem svalové hmoty. I z našeho pozorování absence vztahu mezi vodní bilancí a změnami sérového kreatininu a cystatinu C je zřejmé, že výpovědní hodnota těchto

sérových markerů a odhadů GF na nich založených je během zátěže velmi omezená. Navzdory známým limitacím se proto jeví výhodné hodnocení renálních funkcí pomocí exogenně podávaných markerů, např. inulinu. Varianta s ustálenou koncentrací inulinu a sběrem moče je však zřejmě během zátěže málo reálná. V úvahu přicházejí postupy po jednorázovém podání exogenní látky, popřípadě opakované dynamické určení GF pomocí zobrazovacích metod.

Ve studii založené na normalizované zátěži jsme na rozdíl od ostatních sledovaných markerů renálního poškození neprokázali statisticky signifikantní zvýšení v koncentraci močového NGAL a v případě poměru NGAL/kreatinin bylo zjištěno zvýšení s pouze hraniční statistickou významností. Z průběhu jednotlivých trendů je však patrné, že je v případě koncentrace NGAL i poměru NGAL/kreatinin přítomen výraznější vzestup zejména u dvou probandů. Ve zmíněných případech nebyl však zjištěn např. extrémnější vliv úbytku tekutin než u ostatních jedinců. U některých běžců je patrný dokonce i pokles po doběhnutí a je tedy zřejmé, že v případě NGAL v moči není průběh hladin u všech jedinců uniformní a nelze vyvodit obecně platné závěry (**Obrázek 17**).

Lippi pozoroval u běžců ultramaratonu podobné změny sérového i močového NGAL jako my. Vysvětlení autoři hledali v kombinaci snížené perfuze ledvin, působení volných radikálů a indukci zánětlivých změn zátěží (180). K dispozici však měli pouze náběry před a po běhu, kdežto my u močového NGAL vycházíme ze 3 časových bodů (před, po a 24 h po normalizované zátěži), které nám umožňují komplexnější zhodnocení dynamiky a trendu k normalizaci. Vzhledem k velmi variabilnímu individuálnímu průběhu močového NGAL při porovnání s dynamikou močového albuminu však nenacházíme odůvodnění, proč NGAL v moči uvádět jako marker poškození ledvin při fyzické zátěži.

U albuminurie v naší druhé studii je průběh změn poměrně uniformní u všech účastníků: vzestup po zátěži a návrat k bazálním hodnotám 24 hodin po zátěži (**Obrázek 17**). Individuálně jsou však změny vyjádřeny v různé míře. Při hledání možných faktorů, které ovlivňují míru zvýšení albuminurie, jsme našli významnou pozitivní korelaci změny albuminurie s průměrnou tepovou frekvencí ( $r = 0,51$ ; **Obrázek 29**, **Tabulka 12**). Nabízí se tak vysvětlení, že zkrácením diastoly při vyšší tepové frekvenci setrvávají glomerulární kapiláry delší dobu pod vlivem systolického tlaku a podobně jako u hypertenzních pacientů propustí více albuminu. Podobně silná korelace změny močového albuminu s průměrným laktátem během zátěže může naznačovat, že změny jsou vázány spíše na intenzitu metabolismu, než že by odrážely poškození ledvin. Obdobně lze uvažovat i o vzájemných korelacích změny albuminu, průměrného laktátu a změn sérového cystatinu C a kreatininu a jejich vazbě na průměrnou tepovou frekvenci během zátěže: zvýšení těchto parametrů může být pouze odrazem zvýšených metabolických nároků během zátěže. Poškození ledvin se nám vzhledem

k přechodnému zvýšení markerů, absenci vazby na bilanci tekutin v naší studii a k literárním údajům naznačujícím zachování GF během zátěže (179) jeví jako méně pravděpodobné vysvětlení. Přítomnost pozátěžové albuminurie či proteinurie je běžně publikována, avšak souvislost s případnými pozdějšími komplikacemi na úrovni poškození kardiovaskulárního systému či renálních funkcí prokázána nebyla (185,186).

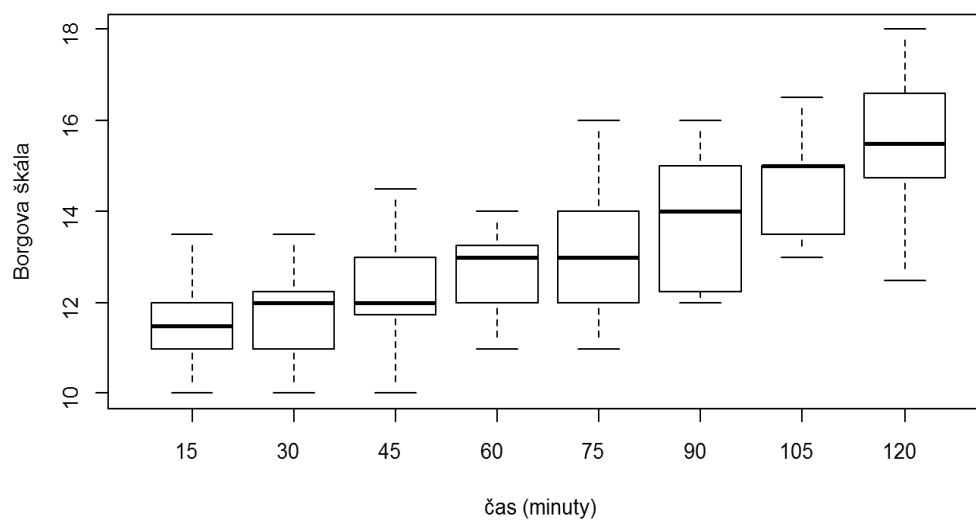
Jsou publikovány práce zabývající se souvislostí zvýšené koncentrace cystatinu C a neschopnosti adekvátně zvýšit tepovou frekvenci při zátěži u pacientů s metabolickým syndromem (187). V této studii, na rozdíl od našeho pozorování u zdravých sportovců při normalizované zátěži, měli pacienti s nízkou (neadekvátně zvýšenou) TF při zátěži vyšší cystatin C. Může jít o rozdíl mezi fyziologickou a patologickou adaptací – fyziologicky zajistí organismus dostatečnou glomerulární filtraci i přes snížený průtok ledvinami (182) zvýšením TF a zvýšením cystatinu C a kreatininu v séru je způsobeno nerenálními vlivy. Patologicky chybí adekvátní zvýšení TF při zátěži a zvýšení cystatinu C je odrazem nedostatečné perfuze ledvin a poklesu glomerulární filtrace.

Zajímavý a velmi kontroverzní je námi pozorovaný vztah mezi změnami hsTnI a koncentrací cystatinu C v první studii. Čím nižší byly hodnoty cystatinu C po extrémní zátěži v soutěžním uspořádání, tím vyšší byl vzestup hsTnI po zátěži. V druhé studii jsme tuto souvislost neprokázali. Ačkoliv je za rizikový faktor kardiovaskulárních chorob a celkové mortality většinou považována vysoká hodnota cystatinu C, některé práce našly poměrně přesvědčivý vztah mezi nízkými hodnotami cystatinu C a rizikem abdominálního aneurysmatu aorty nebo onemocněním věnčitých tepen (188). Vysvětlení autoři hledají ve snížení antiproteolytické kapacity, aktivaci metaloproteináz účastnících se v patofyziologii rozvoje aterosklerotického plátu a nastartování zánětlivých změn. Po zátěži je tento vztah popisován vzácně, nicméně Bjornstad v mnohočetné regresi našel hraničně významnou negativní korelaci eGFR odhadnuté pomocí cystatinu C s vrcholovou  $VO_2$  u adolescentních diabetiků I. typu (189). Naše druhá studie však obdobný vztah neprokázala, resp. nebyla zjištěna statisticky signifikantní korelace.

Zvláštní problematikou je sledování míry hrazení energie pomocí jednotlivých energetických substrátů a s tím související nastavení zvolené zátěže, případně sledování příjmu energetických doplňků v průběhu zátěže. Bylo publikováno, že obsah svalového glykogenu v průběhu zátěže může souviset s poklesem výkonu. Např. Costill publikoval úbytek svalového glykogenu v druhé polovině tříhodinového běhu a s ním související úbytek výkonu při zvýšení subjektivně vnímaného pocitu únavy (190). Běžně doporučovaný tréninkový program je založen na prevenci vyčerpání svalového glykogenu, pokud možno co nejdéle od startu, ve formě adekvátně volené zátěže. Současně např. Americká společnost sportovní medicíny doporučuje v průběhu zátěže

doplnění 30-60 g glycidů každou hodinu (191). Z uvedeného vyplývá, že při studiích koncipovaných obdobně jako v případě naší studie normalizované zátěže dochází v rozdílných časech od počátku zátěže v závislosti na řadě faktorů (míra trénovanosti, hrazení energie a další) k vyčerpání svalového glykogenu, což vede k ovlivnění RER a s tím související zvýšení subjektivní míry zátěže. Při přetrvávající stejné zátěži pak může dojít k vzestupu laktátu. Na grafu níže (**Obrázek 30**) je patrné, že při hodnocení subjektivní míry vnímání zátěže dle Borga byla ve vyšetřované populaci patrná tendence k vzestupu pocitu zátěže. Ta je běžně po prvních 60-90 minutách i přes konstantní zátěž pociťována více intenzivněji než v první hodině zátěže právě v důsledku zmíněných pochodů (190). Jako přínosný parametr sledování nastavení zvolené zátěže je proto vhodné volit nejen TF, ale rovněž sledovat spotřebu  $O_2$  a výdej  $CO_2$ . Jak je uvedeno v tabulce (**Tabulka 11**), změna v koncentracích hsTnT ani hsTnI nekorelovala s průměrnou TF během zátěže, poměru TF vůči maximální TF ( $TF/TF_{max}$ ), ani průměrnou hodnotou ze sledovaného poměru  $VO_2/VO_{2max}$ . Některé práce se zabývaly možnou korelací změn v koncentracích cTn a TF, např. variability TF v časovém období od 2 dnů před závodem do 4 dnů po závodě. Studie Aagaarda uvádí, že u jedinců s delší dobou nutnou k návratu TF k normálu a u jedinců s větším poklesem TF po závodě byla zjištěna statisticky signifikantní korelace s koncentrací hsTnT (145). Naše studie byla koncipována odlišně a spíše jsme neočekávali zjištění souvislosti TF a změn v hodnotách cTn v průběhu dvouhodinového běhu vzhledem k normalizované zátěži u všech jedinců. Absenci monitorace hodnot TF v pozátěžovém období však vnímáme jako limitaci naší práce.





**Obrázek 30** Stupeň subjektivního vnímání zátěže hodnocený dle škály podle Borga každých 15 minut u všech účastníků studie normalizované dvouhodinové zátěže.

### 3.4 Závěr

Hlavním přínosem naší první práce je popis změn koncentrací a vztahů galectinu-3, hsTnI, uCRP, NGAL a cystatinu C po extrémní sportovní zátěži soutěžního charakteru. Ve druhé studii jsme detailně popsali dynamiku kardiálních troponinů, kreatininu, cystatinu C v séru a NGAL a ACR v moči. V druhé studii je cenný zejména design studie, který umožnil aplikovat standardizovanou zátěž u všech probandů a hledat vztahy mezi laboratorními a echokardiografickými parametry a údaji o trénovanosti, výkonnosti a známkách dehydratace a přetížení organismu.

V naší studii zaměřené na stanovení hladin hsTnT a hsTnI u běžců během normalizované zátěže na běhacím ergometru v souvislosti s echokardiografickými a dalšími parametry bylo prokázáno, že síla stěny LK, relativní změna koncentrace kreatininu, tréninkový objem a tělesná teplota po doběhnutí mohou z části predikovat změnu v koncentraci hsTnT a hsTnI. Současně naše studie potvrdila, že elevace hsTn nad hodnoty před zátěží může být přítomna i v situacích, kdy není přítomna extrémní či dlouhotrvající zátěž. To vede k závěru, že i u netréovaných jedinců po zátěži, která pro trénovaného jedince nemusí být zdaleka zatěžující, např. po chůzi, se může tento jev v určitém procentu vyskytnout. Fyzicky zdatní jedinci s elevovanými hladinami troponinů po dvouhodinových a delších závodech tak tvoří jen pomyslnou špičku ledovce. Současně se nabízí možnost provedení dalších studií zaměřených na normalizovanou zátěž u netréované populace.

Problematika ovlivnění renálních parametrů v souvislosti se zátěží naráží na řadu úskalí. Například naše data podporují hypotézu, že zvýšení cystatinu C a kreatininu je spíše odrazem zvýšených metabolických nároků organismu během zátěže a souvisí se zvýšením tepové frekvence. Jako vhodnější se proto jeví zaměřit se více nejen na výběr markeru jako takového, např. některého z markerů exogenní povahy, ale i na možnost testování renálních parametrů v laboratorních podmínkách se snahou o provedení sběru moče.

Jak je zřejmé z naší druhé studie, hodnoty cTn souvisí se zatížením kardiovaskulárního aparátu, s renálními parametry, mírou tréninkové zátěže a tělesnou teplotou. Nabízí se tedy možnost využití kardiálních troponinů ve sportovní medicíně jako parametru odrážejícího míru trénovanosti a adaptace na zátěž, hypoteticky i jako screeningového markeru pro selekci sportujících jedinců s vyšším rizikem kardiovaskulárních komplikací (86). Otázkou zůstává, do jaké míry by bylo možno využít hodnoty cTn pro posouzení míry „overtrainingu“ či míry adaptace u jedinců, kteří podstupují fyzickou zátěž prakticky denně v rámci zavedeného tréninkového programu.

## 4 Seznam literatury

1. Schiaffino S. Fibre types in skeletal muscle: a personal account. *Acta Physiologica*. 2010 Aug 1;199(4):451–63.
2. Dawson B, Fitzsimons M, Green S, Goodman C, Carey M, Cole K. Changes in performance, muscle metabolites, enzymes and fibre types after short sprint training. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol*. 1998 Jul;78(2):163–9.
3. Trojan S. *Lékařská fyziologie*. Praha: Grada; 1999.
4. Racek J. *Klinická biochemie*. Praha: Galén; 2006.
5. Booth FW, Ruegsegger GN, Toedebusch RG, Yan Z. Endurance Exercise and the Regulation of Skeletal Muscle Metabolism. *Prog Mol Biol Transl Sci*. 2015;135:129–51.
6. Máček M. *Fyziologie a klinické aspekty pohybové aktivity*. 2011.
7. van Hall G. Lactate kinetics in human tissues at rest and during exercise. *Acta Physiologica*. 2010 Aug 1;199(4):499–508.
8. Gibala MJ. Regulation of skeletal muscle amino acid metabolism during exercise. *Int J Sport Nutr Exerc Metab*. 2001 Mar;11(1):87–108.
9. Jetté M, Sidney K, Blümchen G. Metabolic equivalents (METs) in exercise testing, exercise prescription, and evaluation of functional capacity. *Clin Cardiol*. 1990 Aug;13(8):555–65.
10. Holmér I, Bergh U. Metabolic and thermal response to swimming in water at varying temperatures. *Journal of Applied Physiology*. 1974 Nov 1;37(5):702–5.
11. ATS/ACCP Statement on Cardiopulmonary Exercise Testing. *Am J Respir Crit Care Med*. 2003 Jan 15;167(2):211–77.
12. Lavie CJ, Arena R, Swift DL, Johannsen NM, Sui X, Lee D, et al. Exercise and the Cardiovascular System: Clinical Science and Cardiovascular Outcomes. *Circ Res*. 2015 Jul 3;117(2):207–19.
13. Burton DA, Stokes K, Hall GM. Physiological effects of exercise. *Contin Educ Anaesth Crit Care Pain*. 2004 Dec 1;4(6):185–8.
14. Murias JM, Edwards JA, Paterson DH. Effects of short-term training and detraining on  $\dot{V}O_2$  kinetics: Faster  $\dot{V}O_2$  kinetics response after one training session: Training and detraining changes in  $\tau\dot{V}O_2$ . *Scandinavian Journal of Medicine & Science in Sports*. 2016 Jun;26(6):620–9.
15. Bosquet L, Berryman N, Dupuy O, Mekary S, Arvisais D, Bherer L, et al. Effect of training cessation on muscular performance: A meta-analysis.

- Scandinavian Journal of Medicine & Science in Sports. 2013 Jun;23(3):e140–9.
16. Joyner MJ, Green DJ. Exercise protects the cardiovascular system: effects beyond traditional risk factors. *The Journal of Physiology*. 2009 Dec 1;587(23):5551–8.
  17. Maron BJ, Pelliccia A. The Heart of Trained Athletes. *Circulation*. 2006 Oct 10;114(15):1633–44.
  18. Santos-Parker JR, LaRocca TJ, Seals DR. Aerobic exercise and other healthy lifestyle factors that influence vascular aging. *Adv Physiol Educ*. 2014 Dec;38(4):296–307.
  19. Dawson EA, Green DJ, Cable NT, Thijssen DHJ. Effects of acute exercise on flow-mediated dilatation in healthy humans. *J Appl Physiol*. 2013 Dec;115(11):1589–98.
  20. Lee D, Sui X, Artero EG, Lee I-M, Church TS, McAuley PA, et al. Long-Term Effects of Changes in Cardiorespiratory Fitness and Body Mass Index on All-Cause and Cardiovascular Disease Mortality in Men. *Circulation*. 2011 Dec 6;124(23):2483–90.
  21. Laughlin MH, Oltman CL, Bowles DK. Exercise training-induced adaptations in the coronary circulation. *Med Sci Sports Exerc*. 1998 Mar;30(3):352–60.
  22. Arena RA. Functional Capacity and Exercise Training Have Earned a Primary Role in the Assessment and Treatment of Patients with Heart Failure. *Heart Failure Clinics*. 2015 Jan 1;11(1):xv–xvii.
  23. Lavie CJ, Lee D, Sui X, Arena R, O’Keefe JH, Church TS, et al. Effects of Running on Chronic Diseases and Cardiovascular and All-Cause Mortality. *Mayo Clin Proc*. 2015 Nov;90(11):1541–52.
  24. Hu G, Barengo NC, Tuomilehto J, Lakka TA, Nissinen A, Jousilahti P. Relationship of Physical Activity and Body Mass Index to the Risk of Hypertension: A Prospective Study in Finland. *Hypertension*. 2004 Jan 1;43(1):25–30.
  25. Swift DL, Lavie CJ, Johannsen NM, Arena R, Earnest CP, O’Keefe JH, et al. Physical Activity, Cardiorespiratory Fitness, and Exercise Training in Primary and Secondary Coronary Prevention. *Circulation Journal*. 2013;77(2):281–92.
  26. American College of Sports Medicine, Chodzko-Zajko WJ, Proctor DN, Fiatarone Singh MA, Minson CT, Nigg CR, et al. American College of

- Sports Medicine position stand. Exercise and physical activity for older adults. *Med Sci Sports Exerc.* 2009 Jul;41(7):1510–30.
27. Wagner PD. A re-analysis of the 1968 Saltin et al. “Bedrest” paper. *Scand J Med Sci Sports.* 2015 Dec;25 Suppl 4:83–7.
  28. Hussey J, Bell C, Bennett K, O’Dwyer J, Gormley J. Relationship between the intensity of physical activity, inactivity, cardiorespiratory fitness and body composition in 7–10-year-old Dublin children. *Br J Sports Med.* 2007 May;41(5):311–6.
  29. O’Keefe JH, Patil HR, Lavie CJ, Magalski A, Vogel RA, McCullough PA. Potential Adverse Cardiovascular Effects From Excessive Endurance Exercise. *Mayo Clin Proc.* 2012 Jun;87(6):587–95.
  30. Increased Coronary Artery Plaque Volume Among Male Marathon Runners [Internet]. *DementiaToday.* 2014 [cited 2017 Jun 15]. Available from: <http://dementiatoday.com/increased-coronary-artery-plaque-volume-among-male-marathon-runners/>
  31. Sahlén A, Gustafsson TP, Svensson JE, Marklund T, Winter R, Linde C, et al. Predisposing Factors and Consequences of Elevated Biomarker Levels in Long-Distance Runners Aged  $\geq 55$  Years. *American Journal of Cardiology.* 2009;104(10):1434–40.
  32. Borg GAV. Psychophysical bases of perceived exertion. *Medicine & Science in Sports & Exercise* 1982. 1982;14(5):377–81.
  33. Albouaini K, Eged M, Alahmar A. Cardiopulmonary exercise testing and its application. *Postgrad Med J.* 2007 Nov;83(985):675–82.
  34. Simonton CA, Higginbotham MB, Cobb FR. The ventilatory threshold: quantitative analysis of reproducibility and relation to arterial lactate concentration in normal subjects and in patients with chronic congestive heart failure. *Am J Cardiol.* 1988 Jul 1;62(1):100–7.
  35. Sullivan CS, Casaburi R, Storer TW, Wasserman K. Non-invasive prediction of blood lactate response to constant power outputs from incremental exercise tests. *Europ J Appl Physiol.* 1995 Sep 1;71(4):349–54.
  36. Graves JE, Pollock ML, Swart D, Panton LB, Garzarella L, Lowenthal DT, et al. 1044 Does 220-age Accurately Predict Maximal Heart Rate In The Elderly? *Medicine & Science in Sports & Exercise* [Internet]. 1993 May 1 [cited 2018 Mar 2];25(5). Available from: <https://insights.ovid.com/medicine-science-sports->

exercise/mespex/1993/05/001/1044-does-220-age-accurately-predict-maximal-heart/1047/00005768

37. Papouchado M, Walker PR, James MA, Clarke LM. Fundamental differences between the standard 12-lead electrocardiograph and the modified (Mason-Likar) exercise lead system. *Eur Heart J*. 1987 Jul;8(7):725–33.
38. Fletcher GF, Ades PA, Kligfield P, Arena R, Balady GJ, Bittner VA, et al. Exercise Standards for Testing and Training: A Scientific Statement From the American Heart Association. *Circulation*. 2013 Aug 20;128(8):873–934.
39. Chatard J-C, Mujika I, Goiriena JJ, Carré F. Screening young athletes for prevention of sudden cardiac death: Practical recommendations for sports physicians. *Scand J Med Sci Sports*. 2016 duben;26(4):362–74.
40. Klener P, Univerzita Karlova. *Vnitřní lékařství*. Praha: Galén : Karolinum; 2011.
41. Cervellin G, Comelli I, Lippi G. Rhabdomyolysis: historical background, clinical, diagnostic and therapeutic features. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine* [Internet]. 2010 Jan 1 [cited 2017 Jun 12];48(6). Available from: <https://www.degruyter.com/view/j/cclm.2010.48.issue-6/cclm.2010.151/cclm.2010.151.xml>
42. Saengsirisuwan V, Phadungkij S, Pholpramool C. Renal and liver functions and muscle injuries during training and after competition in Thai boxers. *British Journal of Sports Medicine*. 1998 Dec;32(4):304.
43. Cramer RM, Aagaard P, Qvortrup K, Langberg H, Olesen J, Kjær M. Myofibre damage in human skeletal muscle: effects of electrical stimulation versus voluntary contraction. *J Physiol*. 2007 Aug 15;583(Pt 1):365–80.
44. Brancaccio P, Lippi G, Maffulli N. Biochemical markers of muscular damage. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine* [Internet]. 2010 Jan 1 [cited 2017 Jun 12];48(6). Available from: <https://www.degruyter.com/view/j/cclm.2010.48.issue-6/cclm.2010.179/cclm.2010.179.xml>
45. Population NRC (US) C on, Gribble JN, Preston SH. *Mortality By Cause, 1970 to 2015* [Internet]. National Academies Press (US); 1993 [cited 2018 Jan 31]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK236445/>
46. tax \* All products require an annual contract Prices do not include sales. Leading ten causes of death in upper income countries 2015 | Statistic

- [Internet]. Statista. [cited 2018 Jan 31]. Available from: <https://www.statista.com/statistics/311941/top-ten-causes-of-death-in-upper-income-countries/>
47. Cannon CP. Cardiovascular disease and modifiable cardiometabolic risk factors. *Clinical Cornerstone*. 2007 Jan 1;8(3):11–28.
  48. Makki N, Brennan TM, Girotra S. Acute Coronary Syndrome. *J Intensive Care Med*. 2015 May 1;30(4):186–200.
  49. Acute Coronary Syndrome: Practice Essentials, Background, Etiology. 2016 Dec 11; Available from: <https://emedicine.medscape.com/article/1910735-overview>
  50. Ibanez B, James S, Agewall S, Antunes MJ, Bucciarelli-Ducci C, Bueno H, et al. 2017 ESC Guidelines for the management of acute myocardial infarction in patients presenting with ST-segment elevationThe Task Force for the management of acute myocardial infarction in patients presenting with ST-segment elevation of the European Society of Cardiology (ESC). *Eur Heart J*. 2018 Jan 7;39(2):119–77.
  51. Roffi M, Patrono C, Collet J-P, Mueller C, Valgimigli M, Andreotti F, et al. 2015 ESC Guidelines for the management of acute coronary syndromes in patients presenting without persistent ST-segment elevationTask Force for the Management of Acute Coronary Syndromes in Patients Presenting without Persistent ST-Segment Elevation of the European Society of Cardiology (ESC). *Eur Heart J*. 2016 Jan 14;37(3):267–315.
  52. Conti CR, Bavry AA, Petersen JW. Silent Ischemia. *Journal of the American College of Cardiology*. 2012 Jan 31;59(5):435–41.
  53. Bodor GS. Biochemical Markers of Myocardial Damage. *EJIFCC*. 2016 Apr 20;27(2):95–111.
  54. Thygesen K, Alpert JS, Jaffe AS, Simoons ML, Chaitman BR, White HD. Third Universal Definition of Myocardial Infarction. *Circulation*. 2012 Oct 16;126(16):2020–35.
  55. Widimský P, Rokyta R, Hlinomaz O. Summary of the 2015 ESC Guidelines for the management of acute coronary syndromes in patients presenting without persistent ST-segment elevation. Prepared by the Czech Society of Cardiology. *Cor et Vasa*. 2016 Feb;58(1):e4–28.
  56. Zima T, Univerzita Karlova. *Laboratorní diagnostika*. Praha: Galén: Karolinum; 2007.
  57. Jaroslav Racek. *Klinická biochemie*. Druhé vydání. Galén; 2006. 329 p.

58. Laboratorní diagnostika - Tomáš Zima, hlavní autor a pořadatel | Zdravotnické nakladatelství GALÉN [Internet]. [cited 2017 Jun 16]. Available from: <http://www.galen.cz/idistrik/vydav/?page%5Bbook%5D=5386>
59. Hammermeister KE, Merendino KA. Confusion Due to Similar LDH Isoenzyme Patterns in Myocardial Infarction and Prosthetic Valve Hemolytic Anemia. *The Annals of Thoracic Surgery*. 1971 May 1;11(5):431–7.
60. Paloheimo JA, Pitkänen E. Elevated lactic dehydrogenase (LDH) activity and the lactic dehydrogenase isoenzyme pattern of serum. *Ann Med Intern Fenn*. 1965;54(3):129–36.
61. Wu AH, Wang XM, Gornet TG, Ordóñez-Llanos J. Creatine kinase MB isoforms in patients with skeletal muscle injury: ramifications for early detection of acute myocardial infarction. *Clinical Chemistry*. 1992 Dec 1;38(12):2396–400.
62. Vretou-Jockers E, Vassilopoulos D. Skeletal muscle CK-B activity in neurogenic muscular atrophies. *J Neurol*. 1989 Jul;236(5):284–7.
63. Katrukha IA. Human cardiac troponin complex. Structure and functions. *Biochemistry (Moscow)*. 2013 Dec;78(13):1447–65.
64. Parmacek MS, Leiden JM. Structure, function, and regulation of troponin C. *Circulation*. 1991 Sep 1;84(3):991–1003.
65. Braunwald E, Antman EM, Beasley JW, Califf RM, Cheitlin MD, Hochman JS, et al. ACC/AHA Guidelines for the Management of Patients With Unstable Angina and Non–ST-Segment Elevation Myocardial Infarction: Executive Summary and Recommendations: A Report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines (Committee on the Management of Patients With Unstable Angina). *Circulation*. 2000 Sep 5;102(10):1193–209.
66. Gaze DC, Collinson PO. Multiple molecular forms of circulating cardiac troponin: analytical and clinical significance. *Annals of Clinical Biochemistry*. 2008 Jul 1;45(4):349–55.
67. Braun SL, Pongratz DE, Bialk P, Liem S, Schlotter B, Vogt W. Discrepant results for cardiac troponin T and troponin I in chronic myopathy, depending on instrument and assay generation. *Clin Chem*. 1996 Dec;42(12):2039–41.



68. Bodor GS, Servant L, Voss EM, Smith S, Porterfield D, Apple FS. Cardiac troponin T composition in normal and regenerating human skeletal muscle. *Clinical Chemistry*. 1997 Mar 1;43(3):476–84.
69. Schmid J, Liesinger L, Birner-Gruenberger R, Stojakovic T, Scharnagl H, Dieplinger B, et al. Elevated Cardiac Troponin T in Patients With Skeletal Myopathies. *Journal of the American College of Cardiology*. 2018 Apr 10;71(14):1540–9.
70. Antman E, Bassand J-P, Klein W, Ohman M, Lopez Sendon JL, Rydén L, et al. Myocardial infarction redefined—a consensus document of The Joint European Society of Cardiology/American College of Cardiology committee for the redefinition of myocardial infarction: The Joint European Society of Cardiology/ American College of Cardiology Committee\*\*A list of contributors to this ESC/ACC Consensus Document is provided in Appendix B. *Journal of the American College of Cardiology*. 2000 Sep 1;36(3):959–69.
71. Roy D, Quiles J, Aldama G, Sinha M, Avanzas P, Arroyo-Espliguero R, et al. Ischemia Modified Albumin for the assessment of patients presenting to the emergency department with acute chest pain but normal or non-diagnostic 12-lead electrocardiograms and negative cardiac troponin T. *International Journal of Cardiology*. 2004 Nov 1;97(2):297–301.
72. Kacprzak M, Zielinska M. Prognostic value of myeloperoxidase concentration in patients with ST-segment elevation myocardial infarction treated with primary percutaneous coronary intervention. *International Journal of Cardiology*. 2016 listopad;223:452–7.
73. Zimmermann O, Li K, Zaczekiewicz M, Graf M, Liu Z, Torzewski J. C-Reactive Protein in Human Atherogenesis: Facts and Fiction. *Mediators Inflamm* [Internet]. 2014;2014. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3995305/>
74. Thygesen K, Alpert JS, White HD, Jaffe AS, Apple FS, Galvani M, et al. Universal definition of myocardial infarction. *Circulation*. 2007 Nov 27;116(22):2634–53.
75. Newby LK, Christenson RH, Ohman EM, Armstrong PW, Thompson TD, Lee KL, et al. Value of Serial Troponin T Measures for Early and Late Risk Stratification in Patients With Acute Coronary Syndromes. *Circulation*. 1998 Nov 3;98(18):1853–9.
76. Apple FS, Quist HE, Doyle PJ, Otto AP, Murakami MM. Plasma 99th Percentile Reference Limits for Cardiac Troponin and Creatine Kinase MB

Mass for Use with European Society of Cardiology/American College of Cardiology Consensus Recommendations. *Clinical Chemistry*. 2003 Aug 1;49(8):1331–6.

77. Christenson RH, Duh SH, Apple FS, Bodor GS, Bunk DM, Panteghini M, et al. Toward Standardization of Cardiac Troponin I Measurements Part II: Assessing Commutability of Candidate Reference Materials and Harmonization of Cardiac Troponin I Assays. *Clinical Chemistry*. 2006 Sep 1;52(9):1685–92.
78. Lippi G, Schena F, Dipalo M, Montagnana M, Salvagno GL, Aloe R, et al. Troponin I measured with a high sensitivity immunoassay is significantly increased after a half marathon run. *Scandinavian Journal Of Clinical And Laboratory Investigation*. 2012 Jun;72(6):467–70.
79. Lippi G, Cervellin G. Do we really need high-sensitivity troponin immunoassays in the emergency department? Maybe not. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM)* [Internet]. 2014 Jan 1 [cited 2017 Jun 13];52(2). Available from: <https://www.degruyter.com/view/j/cclm.2014.52.issue-2/cclm-2013-0524/cclm-2013-0524.xml>
80. Venge P, Johnston N, Lindahl B, James S. Normal Plasma Levels of Cardiac Troponin I Measured by the High-Sensitivity Cardiac Troponin I Access Prototype Assay and the Impact on the Diagnosis of Myocardial Ischemia. *Journal of the American College of Cardiology*. 2009 Sep 22;54(13):1165–72.
81. Shah ASV, Anand A, Sandoval Y, Lee KK, Smith SW, Adamson PD, et al. High-sensitivity cardiac troponin I at presentation in patients with suspected acute coronary syndrome: a cohort study. *Lancet*. 2015 Dec 19;386(10012):2481–8.
82. Jaeger C, Wildi K, Twerenbold R, Reichlin T, Rubini Gimenez M, Neuhaus J-D, et al. One-hour rule-in and rule-out of acute myocardial infarction using high-sensitivity cardiac troponin I. *Am Heart J*. 2016 Jan;171(1):92-102.e1-5.
83. Cullen L, Greenslade JH, Carlton EW, Than M, Pickering JW, Ho A, et al. Sex-specific versus overall cut points for a high sensitivity troponin I assay in predicting 1-year outcomes in emergency patients presenting with chest pain. *Heart*. 2016 Jan;102(2):120–6.
84. deFilippi CR, de Lemos JA, Christenson RH, Gottdiener JS, Kop WJ, Zhan M, et al. Association of serial measures of cardiac troponin T using

- a sensitive assay with incident heart failure and cardiovascular mortality in older adults. *JAMA*. 2010 Dec 8;304(22):2494–502.
85. Savukoski T, Mehtälä L, Lindahl B, Venge P, Pettersson K. Elevation of cardiac troponins measured after recreational resistance training. *Clinical Biochemistry*. 2015 srpen;48(12):803–6.
  86. Nie J, George KP, Tong TK, Tian Y, Shi Q. Effect of Repeated Endurance Runs on Cardiac Biomarkers and Function in Adolescents: *Medicine & Science in Sports & Exercise*. 2011 Nov;43(11):2081–8.
  87. Vilela EM, Bastos JCC, Rodrigues RP, Nunes JPL. High-sensitivity troponin after running—a systematic review. *Neth J Med*. 2014 Jan;72(1):5–9.
  88. Lippi G, Plebani M. High-Sensitive Troponin Testing and the “Runner’s Syndrome.” *The Journal of Emergency Medicine*. 2011 ervenec;41(1):85–7.
  89. Michieisen ECHJ, Wodzig WKWH, Van Dieijen-Visser MP. Cardiac Troponin T Release after Prolonged Strenuous Exercise. *Sports Medicine*. 2008 květen;38(5):425–35.
  90. Scherr J, Braun S, Schuster T, Hartmann C, Moehlenkamp S, Wolfarth B, et al. 72-h kinetics of high-sensitive troponin T and inflammatory markers after marathon. *Med Sci Sports Exerc*. 2011 Oct;43(10):1819–27.
  91. Middleton N, George K, Whyte G, Gaze D, Collinson P, Shave R. Cardiac Troponin T Release Is Stimulated by Endurance Exercise in Healthy Humans. *J Am Coll Cardiol*. 2008 Listopad;52(22):1813–4.
  92. Shave R, Baggish A, George K, Wood M, Scharhag J, Whyte G, et al. Exercise-Induced Cardiac Troponin Elevation: Evidence, Mechanisms, and Implications. *Journal of the American College of Cardiology*. 2010 ervenec;56(3):169–76.
  93. Sedaghat-Hamedani F, Kayvanpour E, Frankenstein L, Mereles D, Amr A, Buss S, et al. Biomarker Changes after Strenuous Exercise Can Mimic Pulmonary Embolism and Cardiac Injury—A Metaanalysis of 45 Studies. *Clinical Chemistry*. 2015 Oct 1;61(10):1246–55.
  94. Shave R, George KP, Atkinson G, Hart E, Middleton N, Whyte G, et al. Exercise-Induced Cardiac Troponin T Release: A Meta-Analysis. *Medicine & Science in Sports & Exercise*. 2007 Dec;39(12):2099–106.
  95. Mingels A, Jacobs L, Michielsen E, Swaanenburg J, Wodzig W, Dieijen-Visser M van. Reference Population and Marathon Runner Sera Assessed by Highly Sensitive Cardiac Troponin T and Commercial

- Cardiac Troponin T and I Assays. *Clinical Chemistry*. 2009 Jan 1;55(1):101–8.
96. Shave R, Ross P, Low D, George K, Gaze D. Cardiac troponin I is released following high-intensity short-duration exercise in healthy humans. *International Journal of Cardiology*. 2010 listopad;145(2):337–9.
  97. Tian Y, Nie J, Huang C, George KP. The kinetics of highly sensitive cardiac troponin T release after prolonged treadmill exercise in adolescent and adult athletes. *Journal of Applied Physiology*. 2012 Aug 1;113(3):418–25.
  98. Gresslien T, Agewall S. Troponin and exercise. *International Journal of Cardiology*. 2016 Oct 15;221:609–21.
  99. Taggart P, Boyett MR, Logantha SJRJ, Lambiase PD. Anger, Emotion, and Arrhythmias: from Brain to Heart. *Front Physiol* [Internet]. 2011 Oct 19 [cited 2016 Jan 18];2. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3196868/>
  100. Scharhag J, Urhausen A, Schneider G, Herrmann M, Schumacher K, Haschke M, et al. Reproducibility and clinical significance of exercise-induced increases in cardiac troponins and N-terminal pro brain natriuretic peptide in endurance athletes. *Eur J Cardiovasc Prev Rehabil*. 2006 Jun;13(3):388–97.
  101. Neilan TG, Januzzi JL, Lee-Lewandrowski E, Ton-Nu T-T, Yoerger DM, Jassal DS, et al. Myocardial Injury and Ventricular Dysfunction Related to Training Levels Among Nonelite Participants in the Boston Marathon. *Circulation*. 2006 Nov 28;114(22):2325–33.
  102. George K, Shave R, Oxborough D, Cable T, Dawson E, Artis N, et al. Left ventricular wall segment motion after ultra-endurance exercise in humans assessed by myocardial speckle tracking. *Eur J Echocardiogr*. 2009 Mar;10(2):238–43.
  103. Shave RE, Whyte GP, George K, Gaze DC, Collinson PO. Prolonged exercise should be considered alongside typical symptoms of acute myocardial infarction when evaluating increases in cardiac troponin T. *Heart*. 2005 Sep;91(9):1219–20.
  104. Wu AHB. Release of cardiac troponin from healthy and damaged myocardium. *Frontiers in Laboratory Medicine*. 2017 Sep;1(3):144–50.
  105. McDonough JL, Arrell DK, Eyk JEV. Troponin I Degradation and Covalent Complex Formation Accompanies Myocardial Ischemia/Reperfusion Injury. *Circulation Research*. 1999 Jan 22;84(1):9–20.

106. Mingels AMA, Cardinaels EPM, Broers NJH, Sleeuwen A van, Streng AS, Dieijen-Visser MP van, et al. Cardiac Troponin T: Smaller Molecules in Patients with End-Stage Renal Disease than after Onset of Acute Myocardial Infarction. *Clinical Chemistry*. 2017 Mar 1;63(3):683–90.
107. Panteghini M, Apple FS, Christenson RH, Dati F, Mair J, Wu AH. Proposals from IFCC Committee on Standardization of Markers of Cardiac Damage (C-SMCD): Recommendations on use of biochemical markers of cardiac damage in acute coronary syndromes. *Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation*. 1999 Jan 1;59(sup230):103–12.
108. Diris JHC, Hackeng CM, Kooman JP, Pinto YM, Hermens WT, Van D-V. Impaired Renal Clearance Explains Elevated Troponin T Fragments in Hemodialysis Patients. *Circulation*. 2004;109(1):23–5.
109. Whyte GP, George K, Sharma S, Lumley S, Gates P, Prasad K, et al. Cardiac fatigue following prolonged endurance exercise of differing distances. *Med Sci Sports Exerc*. 2000 Jun;32(6):1067–72.
110. Rifai N, Douglas PS, O'Toole M, Rimm E, Ginsburg GS. Cardiac troponin T and I, electrocardiographic wall motion analyses, and ejection fractions in athletes participating in the Hawaii Ironman Triathlon. *The American Journal of Cardiology*. 1999 Duben;83(7):1085–9.
111. Schmied C, Borjesson M. Sudden cardiac death in athletes. *J Intern Med*. 2014 Feb;275(2):93–103.
112. Sanchis-Gomar F, Lippi G. Physical activity - an important preanalytical variable. *Biochem Med (Zagreb)*. 2014 Feb 15;24(1):68–79.
113. Fallon KE, Sivyer G, Sivyer K, Dare A. The biochemistry of runners in a 1600 km ultramarathon. *British Journal of Sports Medicine*. 1999 Aug;33(4):264.
114. Smith J, Garbutt G, Lopes P, Pedoe D. Effects of prolonged strenuous exercise (marathon running) on biochemical and haematological markers used in the investigation of patients in the emergency department. *Br J Sports Med*. 2004 Jun;38(3):292–4.
115. Salvagno GL, Schena F, Gelati M, Danese E, Cervellin G, Guidi GC, et al. The concentration of high-sensitivity troponin I, galectin-3 and NT-proBNP substantially increase after a 60-km ultramarathon. *Clin Chem Lab Med*. 2014 Feb;52(2):267–72.
116. Breuckmann F, Möhlenkamp S, Nassenstein K, Lehmann N, Ladd S, Schmermund A, et al. Myocardial late gadolinium enhancement:

- prevalence, pattern, and prognostic relevance in marathon runners. *Radiology*. 2009 Apr;251(1):50–7.
117. La Gerche A, Burns AT, Mooney DJ, Inder WJ, Taylor AJ, Bogaert J, et al. Exercise-induced right ventricular dysfunction and structural remodelling in endurance athletes. *Eur Heart J*. 2012 Apr;33(8):998–1006.
  118. Vidotto C, Tschan H, Atamaniuk J, Pokan R, Bachl N, Müller MM. Responses of N-terminal pro-brain natriuretic peptide (NT-proBNP) and cardiac troponin I (cTnI) to competitive endurance exercise in recreational athletes. *Int J Sports Med*. 2005 Oct;26(8):645–50.
  119. Mousavi N, Czarnecki A, Kumar K, Fallah-Rad N, Lytwyn M, Han S-Y, et al. Relation of Biomarkers and Cardiac Magnetic Resonance Imaging After Marathon Running. *The American Journal of Cardiology*. 2009 květen;103(10):1467–72.
  120. O'Hanlon R, Wilson M, Wage R, Smith G, Alpendurada FD, Wong J, et al. Troponin release following endurance exercise: is inflammation the cause? a cardiovascular magnetic resonance study. *J Cardiovasc Magn Reson*. 2010 Jul 2;12:38.
  121. Passaglia DG, Emed LGM, Barberato SH, Guerios ST, Moser AI, Silva MMF, et al. Acute effects of prolonged physical exercise: Evaluation after a twenty-four-hour ultramarathon. *Arquivos Brasileiros de Cardiologia*. 2013;100(1):21–8.
  122. Baker P, Davies SL, Larkin J, Moulton D, Benton S, Roberts A, et al. Changes to the cardiac biomarkers of non-elite athletes completing the 2009 London Marathon. *Emerg Med J*. 2014 May;31(5):374–9.
  123. Denvir MA, Galloway PJ, Meighan AS, Blyth M, Alexander C, Fleming C, et al. Changes in skeletal and cardiac muscle enzymes during the Scottish Coast to Coast Triathlon. *Scott Med J*. 1999 Apr;44(2):49–51.
  124. Fu F, Nie J, Tong TK. Serum cardiac troponin T in adolescent runners: Effects of exercise intensity and duration. *International Journal of Sports Medicine*. 2009;30(3):168–72.
  125. Lippi G, Impellizzeri F, Salvagno GL, Mion M, Zaninotto M, Cervellin G, et al. Kinetics of highly sensitive troponin I and T after eccentric exercise. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*. 2010 Nov;48(11):1677–9.
  126. Wu AHB, Feng Y-J, Moore R, Apple FS, McPherson PH, Buechler KF, et al. Characterization of cardiac troponin subunit release into serum after

- acute myocardial infarction and comparison of assays for troponin T and I. *Clinical Chemistry*. 1998 Jun 1;44(6):1198–208.
127. Urhausen A, Scharhag J ürgen, Herrmann M, Kindermann W. Clinical significance of increased cardiac troponins T and I in participants of ultra-endurance events. *American Journal of Cardiology*. 2004 Sep 1;94(5):696–8.
  128. Genetic Polymorphisms and the Pharmacokinetics of Calcineurin Inhibitors: Calcineurin inhibitors [Internet]. [cited 2014 Mar 12]. Available from: [http://www.medscape.com/viewarticle/549094\\_2](http://www.medscape.com/viewarticle/549094_2)
  129. Koller A, Schobersberger W. Cytosolic Release of Cardiac Troponin After Marathon Running. *The American Journal of Cardiology*. 2009 Sep 1;104(5):742–3.
  130. Hickman PE, Potter JM, Aroney C, Koerbin G, Southcott E, Wu AHB, et al. Cardiac troponin may be released by ischemia alone, without necrosis. *Clinica Chimica Acta*. 2010 Mar 2;411(5):318–23.
  131. Lippi G, Banfi G. Exercise-related increase of cardiac troponin release in sports: An apparent paradox finally elucidated? *Clinica Chimica Acta*. 2010 duben;411(7–8):610–1.
  132. Whyte G, George K, Shave R, Dawson E, Stephenson C, Edwards B, et al. Impact of marathon running on cardiac structure and function in recreational runners. *Clinical Science*. 2005 Jan 1;108(1):73–80.
  133. Shave R, Dawson E, Whyte G, George K, Gaze D, Collinson P. Altered cardiac function and minimal cardiac damage during prolonged exercise. *Med Sci Sports Exerc*. 2004 Jul;36(7):1098–103.
  134. Hessel MHM, Atsma DE, van der Valk EJM, Bax WH, Schalij MJ, van der Laarse A. Release of cardiac troponin I from viable cardiomyocytes is mediated by integrin stimulation. *Pflugers Arch*. 2008 Mar;455(6):979–86.
  135. Mehta R, Gaze D, Mohan S, Williams KL, Sprung V, George K, et al. Post-exercise cardiac troponin release is related to exercise training history. *Int J Sports Med*. 2012 May;33(5):333–7.
  136. Saravia SGM, Knebel F, Schroeckh S, Ziebig R, Lun A, Weimann A, et al. Cardiac troponin T release and inflammation demonstrated in marathon runners. *Clin Lab*. 2010;56(1–2):51–8.
  137. Bartzeliotou AI, Margeli AP, Tsironi M, Skenderi K, Bacoula C, Chrousos GP, et al. Circulating levels of adhesion molecules and markers of endothelial activation in acute inflammation induced by prolonged brisk exercise. *Clin Biochem*. 2007 Jul;40(11):765–70.

138. Kenefick RW, Sawka MN. Heat Exhaustion and Dehydration as Causes of Marathon Collapse. *Sports Medicine*. 2007 nov;37(4/5):378–81.
139. Hubble KM, Fatovich DM, Grasko JM, Vasikaran SD. Cardiac troponin increases among marathon runners in the Perth Marathon: The troponin in marathons (TRIM) study. *Medical Journal of Australia*. 2009;190(2):91–3.
140. Planer D, Leibowitz D, Hadid A, Erlich T, Sharon N, Paltiel O, et al. The effect of prolonged physical activity performed during extreme caloric deprivation on cardiac function. *PLoS ONE*. 2012;7(2):e31266.
141. Serrano-Ostáriz E, Terreros-Blanco JL, Legaz-Arrese A, George K, Shave R, Bocos-Terraz P, et al. The impact of exercise duration and intensity on the release of cardiac biomarkers. *Scandinavian Journal of Medicine & Science in Sports*. 2011 Apr 1;21(2):244–9.
142. Kłapcińska B, Wańkiewicz Z, Chrapusta SJ, Sadowska-Krępa E, Czuba M, Langfort J. Metabolic responses to a 48-h ultra-marathon run in middle-aged male amateur runners. *European Journal of Applied Physiology*. 2013;113(11):2781–93.
143. Roth HJ, Leithäuser RM, Doppelmayr H, Doppelmayr M, Finkernagel H, Von D, et al. Cardiospecificity of the 3rd generation cardiac troponin T assay during and after a 216 km ultra-endurance marathon run in Death Valley. *Clinical Research in Cardiology*. 2007;96(6):359–64.
144. Fortescue EB, Shin AY, Greenes DS, Mannix RC, Agarwal S, Feldman BJ, et al. Cardiac Troponin Increases Among Runners in the Boston Marathon. *Annals of Emergency Medicine*. 2007;49(2):137–143.e1.
145. Aagaard P, Sahlén A, Bergfeldt L, Braunschweig F. Heart rate and its variability in response to running--associations with troponin. *Med Sci Sports Exerc*. 2014 Aug;46(8):1624–30.
146. Stewart GM, Kavanagh JJ, Koerbin G, Simmonds MJ, Sabapathy S. Cardiac electrical conduction, autonomic activity and biomarker release during recovery from prolonged strenuous exercise in trained male cyclists. *Eur J Appl Physiol*. 2014 Jan;114(1):1–10.
147. Tulloh L, Robinson D, Patel A, Ware A, Prendergast C, Sullivan D, et al. Raised troponin T and echocardiographic abnormalities after prolonged strenuous exercise--the Australian Ironman Triathlon. *Br J Sports Med*. 2006 Jul;40(7):605–9.



148. Passino C, Barison A, Vergaro G, Gabutti A, Borrelli C, Emdin M, et al. Markers of fibrosis, inflammation, and remodeling pathways in heart failure. *Clinica Chimica Acta*. 2015 Mar 30;443:29–38.
149. Wang C-H, Yang N-I, Liu M-H, Hsu K-H, Kuo L-T. Estimating systemic fibrosis by combining galectin-3 and ST2 provides powerful risk stratification value for patients after acute decompensated heart failure. *Cardiology Journal*. 2016;23(5):563–72.
150. Kitiyakara C, Yamwong S, Vathesatogkit P, Chittamma A, Cheepudomwit S, Vanavanan S, et al. The impact of different GFR estimating equations on the prevalence of CKD and risk groups in a Southeast Asian cohort using the new KDIGO guidelines. *BMC Nephrology*. 2012 Jan;13:1.
151. Poortmans JR, Gulbis B, De Bruyn E, Baudry S, Carpentier A. Limitations of serum values to estimate glomerular filtration rate during exercise. *Br J Sports Med*. 2013 Dec;47(18):1166–70.
152. Odutayo A, Cherney D. Cystatin C and acute changes in glomerular filtration rate. *Clinical Nephrology*. 2012 Jul 1;78(07):64–75.
153. Zappitelli M, Coca SG, Garg AX, Krawczeski CD, Philbrook HT, Sint K, et al. The association of albumin/creatinine ratio with postoperative AKI in children undergoing cardiac surgery. *Clinical Journal of the American Society of Nephrology*. 2012 Nov;7(11):1761–9.
154. Deng Y, Chi R, Chen S, Ye H, Yuan J, Wang L, et al. Evaluation of clinically available renal biomarkers in critically ill adults: A prospective multicenter observational study. *Critical Care*. 2017 Mar 7;21(1):46.
155. Rizvi MS, Kashani KB. Biomarkers for Early Detection of Acute Kidney Injury. *The Journal of Applied Laboratory Medicine: An AACC Publication*. 2017 Nov 1;2(3):386–99.
156. Krintus M, Kozinski M, Boudry P, Capell NE, Köller U, Lackner K, et al. European multicenter analytical evaluation of the Abbott ARCHITECT STAT high sensitive troponin I immunoassay. *Clin Chem Lab Med*. 2014 Nov;52(11):1657–65.
157. Casale PNMD, Devereux RBMD, Alonso DRMD, Campo E, Kligfield PMD. Improved sex-specific criteria of left ventricular hypertrophy for clinical and computer interpretation of electrocardiograms: validation with autopsy findings. *Circulation*. 1987 Mar;75(3):565–72.
158. The New International Recommendations for Chronic Kidney Disease - AACC.org [Internet]. [cited 2017 Mar 8]. Available from:

<https://www.aacc.org/publications/cln/articles/2014/october/kidney-disease>

159. Giménez MR, Twerenbold R, Boeddinghaus J, Nestelberger T, Puelacher C, Hillinger P, et al. Clinical Effect of Sex-Specific Cutoff Values of High-Sensitivity Cardiac Troponin T in Suspected Myocardial Infarction. *JAMA Cardiol.* 2016 Nov 1;1(8):912–20.
160. Lang RM, Badano LP, Mor-Avi V, Afilalo J, Armstrong A, Ernande L, et al. Recommendations for Cardiac Chamber Quantification by Echocardiography in Adults: An Update from the American Society of Echocardiography and the European Association of Cardiovascular Imaging. *Journal of the American Society of Echocardiography.* 2015 leden;28(1):1–39.e14.
161. Kellum JA, Lameire N, Aspelin P, Barsoum RS, Burdmann EA, Goldstein SL, et al. Work group membership. *Kidney Int.* 2012;2:1.
162. Saenz AJ, Lee-Lewandrowski E, Wood MJ, Neilan TG, Siegel AJ, Januzzi JL, et al. Measurement of a Plasma Stroke Biomarker Panel and Cardiac Troponin T in Marathon Runners Before and After the 2005 Boston Marathon. *Am J Clin Pathol.* 2006 Aug 1;126(2):185–9.
163. Eijsvogels TMH, Hoogerwerf MD, Maessen MFH, Seeger JPH, George KP, Hopman MTE, et al. Predictors of cardiac troponin release after a marathon. *Journal of Science and Medicine in Sport.* 2015 Jan 1;18(1):88–92.
164. Li F, Yi L, Yan H, Wang X, Nie J, Zhang H, et al. High-sensitivity cardiac troponin T release after a single bout of high-intensity interval exercise in experienced marathon runners. *J Exerc Sci Fit.* 2017 Dec;15(2):49–54.
165. Knechtle B, Nikolaidis PT. Physiology and Pathophysiology in Ultra-Marathon Running. *Front Physiol [Internet].* 2018 Jun 1;9. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5992463/>
166. Neumayr G, Gaenger H, Pfister R, Sturm W, Schwarzacher SP, Eibl G, et al. Plasma levels of cardiac troponin I after prolonged strenuous endurance exercise. *The American Journal of Cardiology.* 2001 Feb 1;87(3):369–71.
167. Cardiac Biomarker Changes After Endurance Sports [Internet]. American College of Cardiology. [cited 2018 Aug 2]. Available from: <http://www.aacc.org/latest-in-cardiology/articles/2016/04/14/0958cardiac-biomarker-changes-after-endurance-sports>

168. Tipton M, Bradford C. Moving in extreme environments: open water swimming in cold and warm water. *Extrem Physiol Med*. 2014 Jun 11;3:12.
169. Gimenez MR, Twerenbold R, Reichlin T, Wildi K, Haaf P, Schaefer M, et al. Direct comparison of high-sensitivity-cardiac troponin I vs. T for the early diagnosis of acute myocardial infarction. *European Heart Journal*. 2014 Sep 7;35(34):2303–11.
170. Kimenai DM, Henry RMA, van der Kallen CJH, Dagnelie PC, Schram MT, Stehouwer CDA, et al. Direct comparison of clinical decision limits for cardiac troponin T and I. *Heart*. 2016 Apr;102(8):610–6.
171. Wong SL, Isserow S, Pudek M. Macrotroponin Causing Elevation in Cardiac Troponin I. *Canadian Journal of Cardiology*. 2014 Aug 1;30(8):956.e5-956.e6.
172. Warner JV, Marshall GA. High incidence of macrotroponin I with a high-sensitivity troponin I assay. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM)*. 2016;54(11):1821–1829.
173. Franeková J, Bláha M, Bělohoubek J, Kotrbatá M, Sečník P, Kubíček Z, et al. A clinical and laboratory approach used to elucidate discordant results of high-sensitivity troponin T and troponin I. *Clinica Chimica Acta*. 2015 Jun 15;446:128–31.
174. Khajeian N, Moghadasi M. Effect of 8 weeks regular endurance training on galectin-3 changes after a strenuous aerobic exercise. *Journal of Physical Activity and Hormones*. 2017 Sep 1;1(3):29–38.
175. Haettasch R, Spethmann S, De Boer RA, Ruifrok WPT, Schattke S, Wagner M, et al. Galectin-3 increase in endurance athletes. *Eur Heart J* [Internet]. 2013 Aug 1 [cited 2018 Jul 21];34(suppl\_1). Available from: [https://academic-oup-com.ezproxy.is.cuni.cz/eurheartj/article/34/suppl\\_1/P5765/2863502](https://academic-oup-com.ezproxy.is.cuni.cz/eurheartj/article/34/suppl_1/P5765/2863502)
176. Lippi G, Salvagno GL, Robuschi F, Scioscioli F, Ruffini L, Cervellini G. Influence of dipyridamole stress echocardiography on galectin-3, amino-terminal B-type natriuretic peptide (NT-proBNP) and high-sensitivity troponin T. *Acta Cardiol*. 2014 Aug;69(4):377–83.
177. McCullough PA, Chinnaiyan KM, Gallagher MJ, Colar JM, Geddes T, Gold JM, et al. Changes in renal markers and acute kidney injury after marathon running. *Nephrology*. 2011 Nov;16(2):194–9.
178. Clarkson PM. Exertional rhabdomyolysis and acute renal failure in marathon runners. *Sports Med*. 2007;37(4–5):361–3.

179. Lipman GS, Krabak BJ, Rundell SD, Shea KM, Badowski N, Little C. Incidence and Prevalence of Acute Kidney Injury During Multistage Ultramarathons. *Clin J Sport Med*. 2016 Jul;26(4):314–9.
180. Mingels A, Jacobs L, Kleijnen V, Wodzig W, Dieijen-Visser M van. Cystatin C a marker for renal function after exercise. *Int J Sports Med*. 2009 Sep;30(9):668–71.
181. Wołyniec W, Ratkowski W, Kasproicz K, Jastrzębski Z, Małgorzewicz S, Witek K, et al. Glomerular Filtration Rate is Unchanged By Ultramarathon. *J Strength Cond Res*. 2017 Dec 27;
182. Neviackas JA, Bauer JH. Renal function abnormalities induced by marathon running. *South Med J*. 1981 Dec;74(12):1457–60.
183. Irving RA, Noakes TD, Irving GA, Van Zyl-Smit R. The Immediate and Delayed Effects of Marathon Running on Renal function. *The Journal of Urology*. 1986 Dec 1;136(6):1176–80.
184. The effect of physical activity on mediators of inflammation - Nimmo - 2013 - Diabetes, Obesity and Metabolism - Wiley Online Library. [cited 2018 Aug 13]; Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1111/dom.12156>
185. Bellinghieri G, Savica V, Santoro D. Renal alterations during exercise. *J Ren Nutr*. 2008 Jan;18(1):158–64.
186. Robinson ES, Fisher ND, Forman JP, Curhan GC. Physical Activity and Albuminuria. *Am J Epidemiol*. 2010 Mar 1;171(5):515–21.
187. Tanindi A, Olgun H, Tuncel A, Celik B, Pasaoglu H, Boyaci B. Exercise electrocardiographic responses and serum cystatin C levels among metabolic syndrome patients without overt diabetes mellitus. *Vasc Health Risk Manag*. 2011;7:59–65.
188. Salgado JV, Souza FL, Salgado BJ. How to understand the association between cystatin C levels and cardiovascular disease: Imbalance, counterbalance, or consequence? *Journal of Cardiology*. 2013 Dec 1;62(6):331–5.
189. Bjornstad P, Cree-Green M, Baumgartner A, Maahs DM, Cherney DZ, Pyle L, et al. Renal Function Is Associated With Peak Exercise Capacity in Adolescents With Type 1 Diabetes. *Diabetes Care*. 2015 Jan;38(1):126–31.
190. Costill DL, Hargreaves M. Carbohydrate nutrition and fatigue. *Sports Med*. 1992 Feb;13(2):86–92.

191. American Dietetic Association, Dietitians of Canada, American College of Sports Medicine, Rodriguez NR, Di Marco NM, Langley S. American College of Sports Medicine position stand. Nutrition and athletic performance. *Med Sci Sports Exerc.* 2009 Mar;41(3):709–31.

## 5 Seznam zkratek

ADP – adenosindiofosfát  
ACC – American College of Cardiology  
ACR – albumin creatinine ratio  
AHA – American Heart Association  
AIM – akutní infarkt myokardu  
AMP – adenosinmonofosfát  
AKS – akutní koronární syndrom  
AP – anaerobní práh  
ALT – alaninaminotransferáza  
AST – aspartátaminotransferáza  
ATP – adenosintrifosfát  
BMI – body mass index  
BSA – body surface area  
CB – celková bílkovina  
CK – kreatinkináza  
CK-BB – izoenzym kreatinkinázy  
CK-MB – izoenzym kreatinkinázy  
CK-MB mass – Hmotnostní koncentrace CK  
CO – cardiac output, srdeční výdej  
CP – kreatinfosfát  
cTn – kardiální troponiny  
CW – continuous wave  
CŽT – centrální žilní tlak  
DDŽ – dolní dutá žíla  
DF – dechová frekvence  
EF – ejekční frakce  
eGFR – estimated glomerular filtration rate  
EKG – elektrokardiogram  
ESC – The European Society of Cardiology  
FDA – Food and drug administration  
FEV1 – forced expiratory volume (usilovný výdech za 1 sekundu)  
Hb – hemoglobin  
HFABP – Heart fatty acid binding protein  
hsTn – vysoce senzitivní troponiny (high sensitivity troponins)  
hsTnI – vysoce senzitivní troponin I

hsTnT – vysoce senzitivní troponin I  
IFCC – International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine  
IGFBP7 – insulin-like growth factor binding protein 7  
ICHS – ischemická choroba srdeční  
IM – infarkt myokardu  
IMA – ischemií modifikovaný albumin  
KIM-1 – Kidney injury molecule 1  
L-FABP – liver-type fatty acid-binding protein  
LD – laktátdehydrogenáza  
LiHep – Lithium Heparin  
LK – levá komora srdeční  
LoD – limit detekce (Limit of detection)  
MET – metabolický ekvivalent  
MHC – těžké řetězce myosinu  
MLC – lehké řetězce myosinu  
MPO – myeloperoxidáza  
MR – magnetická rezonance  
NACB – National Academy of Clinical Biochemistry  
NGAL – lipokalin asociovaný s gelatinázou neutrofilů  
NIST – US National Institute of Standards and Technology  
NSTEMI – infarkt myokardu bez elevací ST úseku  
NP – natriuretické peptidy  
PAPs – systolický tlak v plicnici  
PW-TDI – pulzní dopplerovská tkáňová echokardiografie  
RER – respiratory Exchange ratio  
ROS – reactive oxygen species  
RQ – respirační kvocient  
SV – systolický objem  
STEMI – infarkt myokardu s elevací ST úseku  
TDE – Tissue Doppler echocardiography  
TF – tepová frekvence  
TFmax – maximální tepová frekvence  
TIMP2 – tissue inhibitor of metalloproteinase 2  
TK – tlak krevní  
TnC – troponin C  
TnI – troponin I  
TnT – troponin T

U – urine

uCRP – ultrasenzitivní C-reaktivní protein

VC – vitální kapacita plic

VO<sub>2</sub> – spotřeba kyslíku

VO<sub>2</sub>max – maximální spotřeba kyslíku

WHO – World Health Organization



## 6 Seznam publikací autora

Brož P, Rajdl D, Novak J, Hromadka M, Racek J, Trefil L, et al. High-Sensitivity Troponins after a Standardized 2-Hour Treadmill Run. 2018. *Journal of Medical Biochemistry*. Article in Press. Accepted December 5, 2017.

Brož P, Rajdl D, Racek J, Zeman V, Novák J, Trefil L. Relationship between cold water swimming and increased cardiac markers: A pilot study. *Klinická Biochemie a Metabolismus*. 2017;25(1):27–31.

Jehlicka P, Matas M, Rajdl D, Huml M, Mocková A, Dort J, Brož P, Sýkora J. How to assess high-sensitive troponin T in newborns? *Cesko-Slovenska Pediatrie*. 2016;71(4):212–5.

Mrázová K, Zeman D, Bořecká K, Ženková J, Brož P, Mareš J, et al. Doporučení k vyšetřování mozkomíšního moku. Dostupné z: [http://www.cskb.cz/res/file/doporuceni/Dop\\_likvor\\_20161201.pdf](http://www.cskb.cz/res/file/doporuceni/Dop_likvor_20161201.pdf)

Brož P, Rajdl D, Racek J, Zenkova J, Petrikova V. Cerebrospinal fluid spectrophotometry. Do we need to hurry? *Klinická Biochemie a Metabolismus*. 2017;25(4):186–8.

Brož P, Rajdl D, Racek J, Zenkova J, Petrikova V. Influence of pneumatic tube system transport on routinely assessed and spectrophotometric cerebrospinal fluid parameters. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM)*. 2017,55(1),pp 47–52. Dostupné z: <http://www.degruyter.com/view/j/cclm.ahead-of-print/cclm-2016-0143/cclm-2016-0143.xml>

Brož P, Rajdl D, Racek J, Petr T, Vitek L. Two cases of spuriously elevated cerebrospinal glucose concentration. *Annals of Clinical Biochemistry*. 2015;52(1):161–4.

Tomešová J, Gruberová J, Brož P, Lacigová S, Krčma M, Rušavý Z. Methods of skin microcirculation assessment. *Vnitřní Lekarství*. 2013;59(10):895–902.

Brož P, Ženková J, Řezáčová K. Cerebrospinal fluid analysis in the diagnosis of subarachnoid hemorrhage. *Klinická Biochemie a Metabolismus*. 2013;21(4):220–5.

Lacigová S, Čechurová D, Brož P, Gruberová J, Jankovec Z, Žourek M, et al. Glycated haemoglobin - Is it its exclusive position in diabetology under threat? *Vnitřní Lekarství*. 2008;54(3):251–6.