

Agnieszka Nowak¹, Seweryn Nowak², Czesław Chowaniec¹, Romuald Wojnicz³

Troponina w medycynie sądowej

Troponin in forensic medicine

- ¹ Z Katedry i Zakładu Medycyny Sądowej i Toksykologii Sądowo-Lekarskiej Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w Katowicach
p.o. Kierownik: dr med. C. Chowaniec
- ² Z I Kliniki Kardiologii Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w Katowicach
Kierownik: prof. dr hab. n. med. K. Mizia-Stec
- ³ Z Katedry Histologii i Embriologii Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w Katowicach
Kierownik: prof. dr hab. n. med. R. Wojnicz

Praca ma charakter poglądowy. Na podstawie przeglądu dostępnego piśmiennictwa, staramy się odpowiedzieć na pytanie, czy i w jakim zakresie współczesna medycyna sądowa wykorzystuje możliwość ilościowego i jakościowego oznaczenia troponiny. Praca ta stanowi jednocześnie wstęp do omówienia wyników własnych badań w tej dziedzinie. Wielu badaczy sugeruje przydatność oznaczenia we krwi sekcyjnej czy płynach ustrojowych troponin sercowych w medycynie sądowej diagnostyce nagłych zgonów sercowych. W naszej ocenie wymagane są jednak dalsze badania nad wpływem na wynik oznaczeń cTnI i cTnT takich czynników, jak zmiany pośmiertne, obecność pośmiertnej flory bakteryjnej, procesów degradacji białek, rodzaj zastosowanej metodyki badania i inne. Przytoczone prace sugerują, że dodatnie oznaczenia troponin sercowych świadczą raczej o uszkodzeniu kardiomiocytów, niż o przyczynie tego uszkodzenia. Wydaje się również, że wykorzystanie metod immunohistochemicznych pozwala na wiarygodne postawienie rozpoznania świeżego zawału mięśnia sercowego, pod warunkiem jednoczesnego wykorzystania kilku markerów. Dalszych badań wymaga optymalizacja doboru tychże, jak również próba ustalenia zależności pomiędzy ich detekcją, a czasem przeżycia od pierwszych dolegliwości bólowych. Powyższe mogłoby być pomocne w opiniowaniu sądowo-lekarskim.

In this review we try to answer the question whether and to what degree contemporary forensic pathology takes advantage of quantitative and

qualitative troponin determinations. The report is simultaneously an introduction to discussing our results in this area. To perform this review we used the database "PubMed". Polish literature, concurrent with the objective of the study and not included in "PubMed" or included in "OLDMEDLINE" was also analyzed. The identified publications, which were concurrent with the aim of the study, were read and citations were checked. If among the cited papers we found one that was concurrent with the subject of the review, it was also included. While several studies support the use of post-mortem blood and body fluid levels of cardiac troponin T and I as a marker of sudden cardiac death, in our opinion, further research is required to determine the effects of post-mortem autolysis, microbial activity, metabolic derangement and the use of different sample matrices in autopsy cases.

Słowa kluczowe:

troponiny sercowe, przegląd piśmiennictwa, medycyna sądowa

Key words:

cardiac troponin, literature review, forensic medicine

WSTĘP: CO TO JEST TROPONINA

Uszkodzenie kardiomiocytów, co najczęściej kończy się ich martwicą, następuje, gdy przepływ w naczyniach wieńcowych nie jest w stanie zapewnić odpowiedniej ilości tlenu i substancji od-

żywczych np. w następstwie niedokrwienia, zapalenia, działania czynników toksycznych lub urazu. Zwiększa się przepuszczalność błony komórkowej i dochodzi do jej uszkodzenia. Skutkuje to przedostaniem się białek zawartych w komórce kardiomiocyta do krwi. W pierwszej kolejności przedostają się białka cytozolowe (białko wiążące kwasy tłuszczowe, mioglobina), następnie izoenzym sercowy kinazy kreatynowej, a na końcu białka strukturalne – troponiny [1].

Troponiny (Tn) to białka regulacyjne, uczestniczące w skurczu komórek mięśni szkieletowych oraz mięśnia sercowego. W skład kompleksu troponinowego wchodzi 3 różne białka, kodowane przez odrębne geny [2, 3].

Troponina C (TnC) o masie 18 kD, wiąże jony wapnia i jest kodowana przez 2 geny. Jeden z genów ulega ekspresji w mięśniu sercowym i wolno kurczących się mięśniach szkieletowych, drugi w szybko kurczących się mięśniach szkieletowych. Z tego też powodu TnC nie jest swoista tylko dla uszkodzenia/martwicy mięśnia sercowego, ale stwierdza się ją również we krwi podczas uszkodzenia mięśni szkieletowych.

Troponina T (TnT) o masie 33 kD, poprzez troponiozynę, łączy kompleks troponinowy z miofilamentem cienkim. Jest kodowana przez różne geny, tak więc w mięśniach szkieletowych i mięśniu sercowym ekspresji ulegają odpowiednio albo tylko izoformy szkieletowe tych troponin, albo tylko izoformy sercowe. Co prawda w mięśniu sercowym występują 4 jej izoformy, ale tylko jedna w warunkach fizjologicznych u osób dorosłych (w trakcie rozwoju płodowego, płodowe izoformy mięśniowe są zastępowane izoformami sercowymi).

Troponina I (TnI) o masie 23,5 kD, przy niskim stężeniu jonów wapnia w komórce, łączy się z aktyną, przez co zapobiega tworzeniu się kompleksu aktyna-miozyna, co z kolei prowadzi do zahamowania skurczu.

Sercowa troponina I (cTnI) na N-końcu łańcucha peptydowego posiada unikalną sekwencję 31 reszt aminokwasowych. Sekwencja ta służy jako epitop dla specyficznych przeciwciał, wykorzystywanych w testach immunodiagnostycznych do wykrywania cTnI.

We krwi występuje mieszanina różnych postaci cTn. I tak np. cTnI występuje w postaci wolnej i związanej z cTnC (kompleks cTnI-TnC dominuje

i w mniejszym stopniu z cTnT (kompleks cTnT-cTnI-cTnC). Zatem cTnI i cTnT są uwalniane z kardiomiocytów jako cząsteczki niezmienione, kompleksy oraz produkty ich degradacji [3].

Wzrost stężenia we krwi stwierdza się po upływie 3-12 godzin, osiągając maksymalne stężenie po 12 godzinach od zamknięcia tętnicy dozawałowej. Normalizacja stężenia występuje po około 10 dniach (do 3 tygodni w przypadkach pełnościennych zawałów) [2].

Czas połowicznego rozpadu troponin we krwi wynosi około 2 godzin [53].

OZNACZANIE TROPONIN SERCOWYCH

Troponiny sercowe w diagnostyce klinicznej oznaczają się w surowicy, osoczu lub krwi pełnej przy pomocy metod immunologicznych i zautomatyzowanych analizatorów.

Wartości nieprawidłowe występują w przypadkach wzrostu poziomu troponiny, z co najmniej 1 wartością przekraczającą 99 centyl zakresu referencyjnego.

Według danych literaturowych stężenia cTn w surowicy i osoczu mogą się istotnie różnić, w zależności od metody analitycznej i użytego analizatora. Kwas etyleno-diamino-czterooctowy (EDTA) zapobiegający krzepnięciu krwi w próbówce wpływa na stopień tworzenia kompleksów przez cTnI, czego efektem mogą być różne, zależne od metody zmiany wyników oznaczeń. Heparyna stosowana w dużych dawkach może poprzez maskowanie swoistych epitopów na cząsteczkach cTn powodować zaniżenie oznaczanego stężenia. Hemoliza może zmniejszać stężenie cTnT i zwiększać stężenie cTnI w przypadku niektórych metod oznaczania.

W przeciwieństwie do cTnT dostępnych jest wiele metod oznaczania cTnI. Nie są one jednak wystandardyzowane i wykazano istotne różnice między wynikami oznaczeń wykonanych różnymi metodami [3].

Solnica podaje również, że różne substancje interferujące, w przypadku wszystkich metod immunochemicznych, mogą wywoływać nieprawidłowości w oznaczaniu cTn, dając wyniki zarówno fałszywie dodatnie, jak i ujemne (w tym interferencja przeciwciał heterofilnych lub ludzkich auto-przeciwciał).

INTERPRETACJA WYNIKÓW

Według uniwersalnej definicji świeżego zawału mięśnia sercowego wprowadzonej przez Joint ESC/ACCF/AHA/WHF Task Force for the Universal Definition of Myocardial Infarction (Uniwersalna definicja zawału serca. Uzgodnione stanowisko ekspertów European Society of Cardiology, American College of Cardiology, American Heart Association i World Heart Federation [2007]) termin „zawał serca“ powinno się stosować wtedy, gdy istnieją dowody potwierdzające martwicę mięśnia sercowego w sytuacji klinicznej odpowiadającej niedokrwieniu mięśnia sercowego. Za dowód taki przyjmuje się m.in. wykrycie wzrostu lub spadku stężenia biomarkerów sercowych (zwłaszcza troponiny) [4].

Jeśli stężenie cTn jest zwiększone, ale nie ma cech niedokrwienia mięśnia sercowego, należy rozważyć inne możliwe przyczyny prowadzące do uszkodzenia mięśnia sercowego, tj.:

1. stłuczenie serca lub inny uraz – operacja, ablacja, elektrostymulacja itd.
2. zastoinowa niewydolność serca (ostra i przewlekła)
3. rozwarstwienie aorty
4. wada zastawki aortalnej
5. kardiomiopatia przerostowa
6. tachy- lub bradyarytmie, blok serca
7. zespół balonującego koniuszka (*tako-tsubo*)
8. rabdmioliza z uszkodzeniem serca
9. zatorowość płucna, ciężkie nadciśnienie płucne
10. niewydolność nerek
11. ostre choroby neurologiczne – udar mózgu, krwotok podpajęczynówkowy
12. choroby naciekowe – np. skrobiawica, hemochromatoza, sarkoidoza, twardzina układowa
13. choroby zapalne – np. zapalenie mięśnia sercowego (pierwotne), zajęcie mięśnia sercowego w przebiegu zapalenia wsierdzia lub osierdzia
14. toksyczne działanie leków lub wpływ toksyn
15. stan krytyczny, zwłaszcza u chorych z niewydolnością oddechową lub sepsą
16. oparzenia, zwłaszcza >30% powierzchni ciała
17. ekstremalny wysiłek fizyczny [4].

CEL PRACY

Wraz z wprowadzeniem do diagnostyki klinicznej oznaczeń troponin sercowych, również w medycynie sądowej podjęto próby ich wykorzystania, w celu ustalenia sercowo-pochodnej przyczyny zgonu.

Praca ma charakter poglądowy. Na podstawie przeglądu dostępnego piśmiennictwa, staramy się odpowiedzieć na pytanie, czy i w jakim zakresie współczesna medycyna sądowa wykorzystuje możliwość ilościowego i jakościowego oznaczenia troponiny. Praca ta stanowi jednocześnie wstęp do omówienia wyników własnych badań w tej dziedzinie.

MATERIAŁ I METODA

Do wykonania niniejszego przeglądu piśmiennictwa użyto:

I. elektronicznej bazy informacji „PubMed”, którą we wrześniu 2011 roku przeszukano w dwójki sposób:

1. na wejściowej stronie bazy danych wpisano zwrot troponin, autopsy;
2. do tezauryś Medical Subject Headings (MeSH) wprowadzono logiczny zwrot ((Autopsy [MESH] or Forensic[Mesh]) and „Troponin”).

II. W przeglądzie literatury zostało również uwzględnione polskie piśmiennictwo zbieżne z celem pracy, a nie występujące w bazie „PubMed”.

Wyszukane publikacje, które były zgodne z celem pracy, przeczytano i sprawdzono cytowania. Jeżeli wśród cytowanych prac odnaleziono taką, która była zbieżna z tematem przeglądu, to również została ona w nim uwzględniona

WYNIKI

Łącznie 48 prac spełniało założone kryteria [5-52], z czego w przypadku 8 prac wykorzystano jedynie ich streszczenia, ponieważ pełne teksty dostępne były tylko w języku japońskim lub chińskim [16, 20, 24, 26, 29, 31, 37, 42].

Zdecydowana większość publikacji pochodziła z ośrodków europejskich (19 prac) i azjatyckich (18 prac).

W części wybranych prac oznaczano troponiny sercowe czy to w płynach ustrojowych, czy tkance mięśnia sercowego.

Jako materiał do badań biochemicznych wykorzystano przede wszystkim surowicę pobieraną z żyły udowej, z żyły podobojczykowej, krew pełną, krew z prawej i lewej komory serca, jednocześnie krew z różnych okolic anatomicznych, płyn z worka osierdziowego, płyn mózgowo-rdzeniowy. W niektórych pracach, równoległe z płynami, pobierano wycinki z mięśnia sercowego bądź to do badań immunohistochemicznych, bądź do pomiaru stężenia troponiny w masie mięśnia sercowego.

Tylko w 9 publikacjach grupa badana obejmowała więcej niż 100 przypadków [5, 21, 22, 31, 32, 33, 34, 35, 42]. W ponad połowie prac liczba ta była niższa niż 50 przypadków. W 1998 roku czasopismo *Lancet* opublikowało pracę z wykorzystaniem oznaczeń troponiny T w przypadkach stłuczeń serca, w oparciu o 13 osobową grupę badaną [6].

Czas od zgonu do rozpoczęcia badań biochemicznych był bardzo różny i kształtował się od 1 godziny [8] do 5 dni [9].

Pozyskane ze zwłok płyny ustrojowe badano w kierunku oznaczenia w nich poziomu markerów martwicy mięśnia sercowego, w tym przede wszystkim troponiny T, troponiny I, CK, CK-MB, mioglobiny, AspAT oraz poziomu markerów niewydolności serca (pro-ANP), NT-pro BNP.

Troponiny oznaczano w zdecydowanej większości przypadków przy pomocy metod immunoenzymatycznych, z wykorzystaniem zautomatyzowanych analizatorów standardowo używanych w diagnostyce klinicznej. Są to testy ilościowe do oznaczania ludzkiej sercowej troponiny, przy użyciu techniki ELFA (metoda enzymoimmunofluorescencyjna).

Podstawą badania jest enzymoimmunologiczna metoda kanapkowa, przebiegająca jednoetapowo z końcowym odczytem fluorescencji.

W części prac użyto do badania innych testów (jak np. Cardiac T Rapie Assai kits) [6, 14, 23, 31].

W przypadkach, gdzie pobierano wycinki z mięśnia sercowego, wykonywano klasyczne barwienia hematoksyliną i eozyną, ale również wykorzystywano barwienia immunohistochemiczne (barwienie na obecność troponiny I, troponiny T, fibrynogenu, fibronektyny, mioglobiny, C5b-9, troponiny C, białka wiążącego kwasy tłuszczowe, C4d, C9)

[9, 11, 12, 13, 14, 15, 17, 27, 48].

Do oznaczeń markerów martwicy mięśnia sercowego wykorzystywano również masę mięśnia sercowego [15, 17].

Spośród wszystkich 48 prac 2 dotyczyły przypadków kazuistycznych.

Zhu B. L. i inni opisali 29-letniego mężczyznę, który zmarł po 16 godzinach pobytu w izbie wytrzeźwień, bez udzielenia mu pomocy medycznej. Mężczyzna był nietrzeźwy. W badaniach pośmiertnych wykazano również ogniskową martwicę i ogniska degeneracji oraz ubytek mioglobiny w mięśniu sercowym. Wykazano ponadto mioglobinurię oraz podwyższony poziom troponin sercowych i CK-MB w płynie worka osierdziowego. Za przyczynę zgonu przyjęto uszkodzenie mięśnia sercowego w przebiegu zaawansowanej, ostrej, alkoholowej miopatii z towarzyszącą mioglobinurią [16].

Również zespół Zhu B. L. i inni opisali dwa przypadki zatrucia cyjankiem sodu, gdzie w badaniach pośmiertnych wykazano m.in. podwyższone stężenie troponin sercowych, CK-MB oraz erytropoetyny we krwi. Na tej podstawie autorzy pracy wnioskowali odnośnie czasu przeżycia każdej z ofiar, sugerując, iż był on dłuższy u osoby z wyższym poziomem wskazanych wyżej markerów [20].

Sabucedo i inni w swoich badaniach zajmowali się problemem ustalenia czasu zgonu na podstawie oznaczania degradacji troponiny I w 1 gramie mięśnia sercowego, w oparciu o 6-cio osobową grupę badaną [17]. Wyniki badań sugerują, że jest to użyteczny marker w oznaczeniu czasu zgonu w okresie do pięciu dni od zgonu.

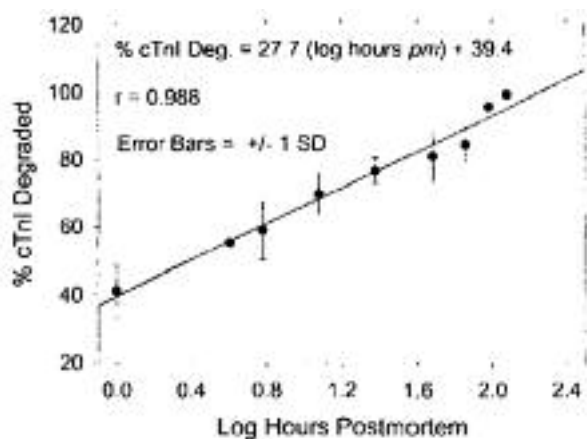
Wyniki oznaczania cTnI w masie mięśnia sercowego sugerowały natomiast, że jej stężenie u osób starszych jest niższe, niż u osób młodszych (poniżej 35 r.ż.) [15].

Zhu B. L. z zespołem w swojej pracy wykazali m.in. wzrost po zgonie poziomu cTnT w płynie worka osierdziowego, przy czym badania sekcyjne były wykonywane do 72 godzin od zgonu [34].

Zasadnicze pole zainteresowania autorów analizowanych publikacji dotyczyło możliwości wykazania sercowo-pochodnej przyczyny zgonu, na podstawie wykonanych oznaczeń biochemicznych i badań dodatkowych histopatologicznych.

Dressler J. i inni porównywali stężenia troponiny T (cTnT) w przypadkach stłuczeń serca i resuscytacji. Średnie stężenie cTnT w przypadkach stłuczeń

serca wynosiło 97,75 ng/ml w porównaniu z 0,07 ng/ml przy resuscytacji. Praca nie zawierała żadnych bliższych danych odnośnie norm laboratoryjnych do jakich się odnoszono, czasu jaki upłynął pomiędzy wykonaniem oznaczenia, a zgonem oraz z jakich okolic anatomicznych pobrano krew. Wysznięto natomiast wnioski o przydatności oznaczeń troponiny T w przypadkach stłuczeń serca [6].



Ryc. 1. Linijna zależność pomiędzy procentem zdegradowanej cTnI, a log z czasu zgonu.

Fig. 1. Plot of percent degraded human cardiac troponin I versus the log of the time postmortem. A linear relationship is achieved by performing a log transformation of the postmortem time. From Sabucedo et al. [17].

Peter J. i inni natomiast w 25 przypadkach stłuczeń serca wykazali średnie stężenie troponiny T surowicy krwi obwodowej na poziomie 5,5056 ng/ml, a krwi pobranej z serca na poziomie 198,3804 ng/ml [28].

Cina S. J. i inni w analizowanych przypadkach zgonów sercowych wykazali średnie stężenie troponiny I (cTnI) w surowicy na poziomie 93,4 ng/ml. W przypadku zgonów o innym podłożu, średnie stężenie cTnI wynosiło natomiast 16,6 ng/ml. W prezentowanej pracy stężenie cTnI w surowicy powyżej 40 ng/ml wykazano tylko w przypadkach zgonów sercowych [7].

Osuna E. i inni chcieli porównać stężenie cTnI w surowicy i płynie worka osierdziowego z wynikami oznaczeń innych markerów biochemicznych martwicy mięśnia sercowego i wynikami badań histopatologicznych, w celu wykazania ostrej martwicy. Średnie stężenie cTnI w płynie worka osierdziowego wynosiło 2,45 ng/ml w przypadkach zawału serca (w surowicy 1,0 ng/ml). W tej samej pracy w przypadkach urazów czaszkowo-mózgowych wartość ta wynosiła 1,1 ng/ml w płynie z worka osierdziowego, a w surowicy 0,6 ng/ml [8].

Niektórzy autorzy sugerują nawet, że dodatni wynik cTnT u osób powyżej 50 roku życia pozwala na odstępianie od pełnego badania sekcijnego [14].

Część autorów porównywała wyniki badań laboratoryjnych oznaczeń markerów martwicy mięśnia sercowego z wynikami oznaczeń immunohistochemicznych [11, 27, 47] lub wykonywała tylko oznaczenia immunohistochemiczne z wykorzystaniem troponiny [12, 25, 36, 48]. Ortmann i inni sugerują, że wykorzystanie oznaczenia ubytku mioglobiny w mięśniu sercowym, przy jego uszkodzeniu, jest równocenne lub nawet diagnostycznie korzystniejsze, niż oznaczenie ubytku troponin czy białek wiążących kwasy tłuszczowe [12]. Campobasso C. P. i współp. podają natomiast, że tylko kompilacja kilku markerów – takich jak C5b-9, mioglobiny, troponin sercowych i fibronektyny daje wiarygodne rozpoznanie w przypadkach nagłych zgonów sercowych [36]. Podobne stanowisko prezentuje Jenkins C. P. i inni, z których prac wynika, że ubytek samej troponiny T nie stanowi podstawy do rozpoznania wczesnego zawału mięśnia sercowego, z powodu ujawnienia podobnych zmian w myokardium w przypadkach zgonów niezwiązanych z przyczyną sercową. Dopiero kompilacja kilku barwień immunohistochemicznych w tym C4d, C9 daje podstawę do postawienia rozpoznania wczesnego zawału mięśnia sercowego [48].

Odrębna grupa badaczy zajmowała się problemem oznaczeń troponiny i innych markerów martwicy mięśnia sercowego w płynach ustrojowych, w przypadkach zgonów o różnej przyczynie. Michiue T. i inni badali stężenie we krwi cTnI u 5 osób, w przypadku których zgon spowodowany był rażeniem prądem. Zakres uzyskanych wartości dla krwi pobranej z serca wynosił od 24,475 ng/ml do 9270 ng/ml, a w krwi obwodowej zakres ten wy-

nosił od 9 do 2354 ng/ml. Autorzy pracy nie podali metodyki pracy i wartości norm laboratoryjnych, z których korzystali. Na podstawie wyników badań biochemicznych sformułowali wniosek, że w jednej części przypadków doszło do uszkodzenia błony komórkowej kardiomiocytów, a w drugiej do ich zniszczenia. Zasugerowali związek pomiędzy zmianami patologicznymi i biochemicznymi w przypadkach rażeń prądem [44].

Hitoshi Maeda i inni wykazali w oparciu o przebadanych 257 przypadków, że podwyższony poziom cTnI i cTnT w płynie mózgowo-rdzeniowym występował w zgonach spowodowanych hipertermią po urazie głowy, uduszeniem i w niektórych przypadkach nagłych zgonów sercowych [46].

Największa grupa badana, bo aż 405 różnych przypadków, w pracy Bao-Li Zhu i innych dotyczyła oznaczania poziomu cTnT we krwi i płynie worka osierdziowego. Przypadki, gdzie badanie sekcyjne wykonane zostało do 12 godzin po zgonie, wartości cTnT w obu płynach ustrojowych były niższe niż w tych przypadkach, gdzie badanie to wykonano w 12-48 godzin po zgonie.

W grupie, gdzie badanie sekcyjne przeprowadzono do 12 godzin po zgonie, nie stwierdzono statystycznie istotnych różnic w poziomie cTnT pomiędzy przypadkami ze świeżym zawałem mięśnia sercowego (AMI), a pozostałymi przypadkami zgonów, za wyjątkiem utonięcia, gdzie poziom troponiny był niski (grupa badana obejmowała jednak tylko 4 przypadki).

Autorzy stwierdzili, że podwyższony poziom cTnT w badanych płynach ustrojowych może być związany z ciężkością uszkodzenia myocardium w chwili zgonu, gdzie przyczyna zgonu może być różna [32, 33].

Tylko jedna praca chińskich autorów, podjęta temat stabilności cTnT po zgonie, wykorzystując do tego celu model zwierzęcy. Niestety pełen tekst pracy jest dostępny tylko w języku chińskim. Z wniosku zamieszczonego w streszczeniu wynika, że badanie immunohistochemiczne wykonane w przypadkach świeżego zawału mięśnia sercowego musi mieć miejsce do 7 dni po zgonie, w przypadkach, gdy zwłoki przechowywane są w temperaturze 4°C [37].

Kilku autorów negatywnie oceniało możliwość wykorzystania wyników pośmiertnego oznaczenia troponiny w płynach ustrojowych w diagnostyce

sercowo-pochodnej przyczyny zgonu. I tak Davies S. J. porównała w 5 przypadkach poziom troponiny T i I oznaczonej za życia i po zgonie. Z wniosku pracy wynikało, że oznaczanie cTn we krwi po zgonie jest nieprzydatne, ponieważ oznaczenie zostało sprawdzone dla surowicy u osób żywych oraz że podwyższony poziom troponiny jest po zgonie markerem ciężkości choroby zasadniczej i nie jest specyficzny dla sercowo-pochodnej przyczyny zgonu.

W konkretnym przypadku warto przytoczyć wyniki oznaczeń, jest to bowiem jedyna praca porównująca wyniki oznaczenia troponiny przed i po zgonie. Co więcej oznaczeń dokonywano również w określonych interwałach czasowych po zgonie z różnych okolic anatomicznych. W poniższej tabeli, za autorami prezentujemy wyniki ich pracy. W pierwszym przypadku przyczyną zgonu był świeży zawał mięśnia sercowego. W przypadkach II-V przyczyna zgonu nie była sercowo-pochodna (brak bliższych danych) [25].

Autorzy japońscy po analizie 110 przypadków sekcyjnych (z czego tylko 7 o sercowo-pochodnej przyczynie zgonu) konkludują, że poziom cTnT jest różny w zależności od przyczyny zgonu, zmian pośmiertnych i faktu resuscytacji [31].

Do podobnych wniosków dochodzą autorzy słowaccy, których punktem wyjścia było porównanie cTnI i pro-ANP (atrial natriuretic peptide), jako markerów nagłego zgonu sercowego [39].

Z pracy Vargas S. O. i innych wynika natomiast, że nie stwierdzono korelacji pomiędzy świeżym zawałem mięśnia sercowego, przewlekłym niedokrwieniem mięśnia sercowego, resuscytacją czy czasem po zgonie, a poziomem cTnI. Autorzy konkludują, że troponina jest oznaczalna w materiale pośmiertnym, chociaż jej poziom w ich badaniach nie ma związku z chorobami serca, ale wydaje się mieć związek z uszkodzeniem mięśnia sercowego [40]. Do podobnych wniosków dochodzą autorzy czescy, obserwujący podwyższony poziom troponiny I w 87% przypadków zgonów sercowo-pochodnych i w 91% w grupie zgonów nie sercowo-pochodnych [50].

W dokonanym przeglądzie literatury znaleziono tylko jedną pracę poglądową, której celem była próba systematyzacji wyników badań nad zastosowaniem oznaczeń troponiny w medycynie sądowej. Niestety pełen tekst pracy dostępny jest tylko w języku chińskim [29].

Tabela I. Zażyciowe i pośmiertne oznaczenie troponiny T i I w pięciu przypadkach.
From Davies et al. [25].

Table I. Antemortem and postmortem determinations of troponin T and I in five cases.
From Davies et al. [25].

Próbka Sample	Czas pobrania Time of sample collection	Miejsce pobrania Site of sample collection	cTnT $\mu\text{g/l}$	cTnI $\mu\text{g/l}$	cTnI (rozcieńczenie 1:10) $\mu\text{g/l}$ cTnI (diluted 1:10) $\mu\text{g/l}$
Przypadek 1 / Case 1					
AM	10 min AM / 10 minutes AM	nieznane / unknown	2,55	2,02	
PM	2 dni PM / 2 days PM	żyła główna górna / superior vena cava	36,5	1,95	
	3 dni PM / 3 days PM	żyła udowa prawa / right femoral vein	1,35	10,23	
	3 dni PM / 3 days PM	żyła biodrowa prawa / right iliac vein	0,019	1,1	
	4 dni PM / 4 days PM	żyła udowa prawa / right femoral vein	0,698	5,44	
	7 dni PM / 7 days PM	żyła udowa lewa / left femoral vein	*	0,28	0,3
Przypadek 2 / Case 2					
AM	<24 godzin AM / <24 hours AM	nieznane / unknown	0,18	1,91	
PM	5 dni PM / 5 days PM	żyła biodrowa prawa / right iliac vein	7,17	29,6	
Przypadek 3 / Case 3					
AM	<48 godzin AM / <48 hours AM	nieznane / unknown	<0,01	0,07	
PM	1 dzień PM / 1 day PM	żyły biodrowe (obie) / bilateral iliac veins	15,14	WF / HF	415,8
Przypadek 4 / Case 4					
AM	24 godziny AM / <24 hours AM	nieznane / unknown	0,43	2,34	
PM	6 dni PM / 6 days PM	serce / heart	0,57	5,24	
	6 dni PM / 6 days PM	serce / heart	0,463	2,46	
	6 dni PM / 6 days PM	żyły biodrowe (obie) / bilateral iliac veins	0,279	4,59	
	6 dni PM / 6 days PM	żyły biodrowe (obie) / bilateral iliac veins	1,377	3,57	
Przypadek 5 / Case 5					
AM	<12 godzin AM	nieznane / unknown	2,374	0,22	
PM	1 dzień PM / 1 day PM	żyły biodrowe / bilateral iliac veins	4,568	2,33	
	4 dni PM / 4 days PM	żyły biodrowe / bilateral iliac veins	6,187	2,58	
	4 dni PM / 4 days PM	żyły biodrowe / bilateral iliac veins	4,568	4,6	

WF – wysoka fluorescencja / HF – high fluorescence

DYSKUSJA

W diagnostyce pośmiertnej podejmowane są próby wykorzystania oznaczeń troponin sercowych przede wszystkim w celu ustalenia przyczyny zgo-

nu. Jedna praca dotyczyła również próby ustalenia czasu zgonu [17].

Korzystano nie tylko z płynów ustrojowych, ale również z masy mięśnia sercowego czy pobranych podczas badania sekcijnego wycinków. Te ostatnie

wykorzystywano do badań immunohistochemicznych.

Opierając się na wynikach badań laboratoryjnych pośmiertnego oznaczania troponin sercowych (cTn), nie można ustalić kryteriów rozpoznania czy to świeżego zawału mięśnia sercowego, czy stłuczenia serca. Dressler J. i inni w przypadkach stłuczenia serca stwierdzali średnie stężenie cTnT 97,75 ng/ml [6]. Natomiast Peter J. i inni 5,5056 ng/ml [28].

Cina S. J. i inni sugerowali rozpoznanie zgonu sercowego przy poziomie cTnI powyżej 40 ng/ml [7]. U Osuna E. średnie stężenie cTnI w surowicy w zgonach sercowych wynosiło 1,0 ng/ml [8]. Przyjmując kryteria Cina, w przypadkach Osuna brakuje podstaw do rozpoznania zgonu o podłożu sercowopochodnym.

Wyniki analizowanych prac są nieporównywalne. W wielu pracach autorzy nie precyzują z jakich analizatorów korzystali przy badaniach biochemicznych oraz jakie były zakresy norm oznaczania troponiny we współpracujących laboratoriach. O ile bowiem oznaczanie troponiny T jest możliwe tylko na bazie aparatów jednego producenta, o tyle w przypadku troponiny I, jest wielu producentów, z których każdy ustala własne normy.

Autorzy prac, którzy wnioskowali o możliwości zastosowania oznaczenia cTn w praktyce medycyny sądowej, nie wyznaczali obowiązującego zakresu normy, a podjęta w tym zakresie próba (Cina S. J. i inni [7]) nie znalazła potwierdzenia w wynikach innych prac. Nie odnosili również wyników swoich prac do obowiązujących norm laboratoryjnych, na bazie których pracowali. Odnosili wyniki własnych oznaczeń w grupie badanej zgonów sercowych, do wyników oznaczeń w przypadkach zgonów z innych przyczyn, stwierdzając, że w tej pierwszej wyniki są podwyższone, co jest prawdą, ale w pozostałych grupach wyniki są również wysokie.

Przy oznaczeniu troponin korzystano z różnych płynów ustrojowych (płyn worka osierdziowego, płyn mózgowo-rdzeniowy) nie walidując metody badawczej, a przecież oznaczanie tego markera w praktyce klinicznej walidowane było dla krwi u osoby żywej.

W przeglądzie piśmiennictwa nie odnaleziono pracy, której celem było badanie zachowania troponiny po zgonie.

Tak naprawdę nie wiadomo, jak zachowuje się

ten marker po zgonie. Tylko w jednej z prac, w jednym przypadku oznaczono stężenie troponiny w kolejnych interwałach czasowych, w materiale pobieranym z tych samych zwłok [25]. Wyniki wskazywały, że poziom troponiny spada w czasie, co wydawać by się mogło prawdopodobne, mając na uwadze czas połowicznego rozpadu tego białka $t_{1/2} = \text{ok. } 2\text{h}$. Kolejne przypadki w tej pracy nie potwierdziły już niestety tej zależności.

W pozostałych pracach pobierano krew jednokrotnie w różnych odstępach czasu od zgonu.

Wszystkie prace wykazywały wysokie stężenie troponin w płynie z worka osierdziowego, w porównaniu z badaną w tym samym czasie surowicą czy krwią pełną pobraną obwodowo.

Również większość badaczy była zgodna, że podwyższony poziom troponin występuje w przypadkach zgonów sercowych, chociaż punktem odniesienia były oznaczenia tych markerów u zmarłych, gdzie zgon nastąpił z innej przyczyny, niż zgon sercowy. W tych przypadkach również stwierdzano podwyższone poziomy troponiny, co dowodzić by mogło, że nie jest to marker specyficzny dla zgonów sercowych.

Uwagę zwraca również dobór przypadków w grupach kontrolnych, w skład których wchodziły stany chorobowe, o których wiadomo, że zażyciowo związane są ze wzrostem troponin.

W przypadkach prac, gdzie jednocześnie oznaczano troponiny sercowe biochemicznie i immunohistochemicznie, we wnioskach nie podjęto próby ustalenia czasu w jakim stwierdzano dodatnie wyniki, tj. w jakim czasie od dolegliwości bólowych doszło do zgonu i jakie ma to przełożenie na wyniki oznaczeń biochemicznych i immunohistochemicznych. W orzecniczej praktyce medycyny sądowej ma to niejednokrotnie rozstrzygające znaczenie i prace takie byłyby bardzo cenne.

Tylko w pojedynczych pracach z badań biochemicznych wykluczano krew hemolizowaną. Badano natomiast krew rozcieńczoną, krew z dodatkiem heparyny czy EDTA, co jak wiadomo w praktyce klinicznej nie jest stosowane ze względu na możliwość błędów w oznaczeniu [8, 14].

Autorzy jednej z prac wykazali przydatność oznaczenia troponiny C w diagnostyce stłuczeń serca, gdzie jak wiadomo TnC nie jest swoista tylko dla uszkodzenia/martwicy mięśnia sercowego, ale stwierdza się ją również we krwi podczas uszkodzenia mięśni szkieletowych [28].

WNIOSKI

Wielu badaczy sugeruje przydatność oznaczenia we krwi sekcyjnej czy płynach ustrojowych troponin sercowych, w medyczo-sądowej diagnostyce nagłych zgonów sercowych. W naszej ocenie wymagane są jednak dalsze badania nad wpływem na wynik oznaczeń cTnI i cTnT, takich czynników jak zmiany pośmiertne, obecność pośmiertnej flory bakteryjnej, procesów degradacji białek, rodzaju zastosowanej metodyki badania i innych.

Przytoczone prace sugerują, że dodatnie oznaczenia troponin sercowych świadczą raczej o uszkodze-

niu kardiomyocytów, niż o przyczynie tego uszkodzenia.

Wydaje się również, że wykorzystanie metod immunohistochemicznych pozwala na wiarygodne postawienie rozpoznania świeżego zawału mięśnia sercowego, pod warunkiem jednoczesowego wykorzystania kilku markerów. Dalszych badań wymaga optymalizacja doboru tychże, jak również próba ustalenia zależności pomiędzy ich detekcją, a czasem przeżycia od pierwszych dolegliwości bólowych. Powyższe mogłyby być pomocne w opinio-

waniu sądowo-lekarskim.

PIŚMIENNICTWO

1. Stępień E., Śnieżek-Maciejewska M., Szajna-Zych M., Sadowski J.: Biochemiczne markery niedokrwienia mięśnia sercowego w diagnostyce okołoperacyjnego uszkodzenia serca. *Forum Kardiologów* 2002, 4: 135-142.

2. Szczeklik A.: *Choroby wewnętrzne. Tom I Med. Prakt.* Kraków 2005: 27-28.

3. Solnica B.: Troponiny sercowe w diagnostyce ostrych stanów kardiologicznych. Zalecenia European Society of Cardiology 2010 *Med. Prakt.* 2010/12

4. Thygesen K., Alpert J. S., White H. D.: Joint ESC/ACCF/AHA/WHF Task Force for the Redefinition of Myocardial Infarction Universal definition of myocardial infarction *Eur. Heart J* 2007, 28: 2525-2538

5. Hausdörfer C., Pedal I., Zimmer G., Rempis A., Strobel G.: Catecholamines, myofibrillary degeneration of the heart muscle and cardiac troponin T in various types of agony. *Arch Kriminol.* 1995 Jul-Aug; 196 (1-2): 46-57.

6. Dressler J., Felscher D., Koch R., Müller E. *Lancet.*: Troponin T in legal medicine. 1998 Jul 4, 352 (9121): 38.

7. Cina S. J., Li D. J., Chan D. W., Boitnott J. K., Hruban R. H., Smialek J. E.: Serum concentrations of cardiac troponin I in sudden death: a pilot study. *Am J Forensic Med Pathol.* 1998 Dec, 19 (4): 324-328.

8. Osuna E., Pérez-Cárceles M. D., Alvarez M. V., Noguera J., Luna A.: Cardiac troponin I (cTn I) and

the postmortem diagnosis of myocardial infarction. *Int J Legal Med.* 1998, 111 (4): 173-176.

9. Hansen S. H., Rossen K.: Evaluation of cardiac troponin I immunoreaction in autopsy hearts: a possible marker of early myocardial infarction, *Forensic Sci. Int.* 99 (1999): 189-196.

10. Cina S. J., Thompson W. C., Fischer J. R. Jr, Brown D. K., Titus J. M., Smialek J. E.: A study of various morphologic variables and troponin I in pericardial fluid as possible discriminators of sudden cardiac death. *Am J Forensic Med Pathol.* 1999 Dec, 20 (4): 333-337.

11. Ooi D. S., Isotalo P. A., Veinot J. P.: Correlation of Antemortem Serum Creatine Kinase, Creatine Kinase-MB, Troponin I, and Troponin T with Cardiac Pathology; *Clinical Chemistry* (2000) 46: 3, 338-344.

12. Ortmann C., Pfeiffer H., Brinkmann B.: A comparative study on the immunohistochemical detection of early myocardial damage. *Int J Legal Med.* 2000, 113 (4): 215-220.

13. Ortmann C., Pfeiffer H., Brinkmann B.: Immunohistochemical alterations after intravital and post-mortem traumatic myocardial damage. *Int J Legal Med.* 2001 Aug, 115 (1): 23-28.

14. Cina S. J., Brown D. K., Smialek J. E., Collins K. A.: A rapid postmortem cardiac troponin T assay: laboratory evidence of sudden cardiac death. *Am J Forensic Med Pathol.* 2001 Jun, 22 (2): 173-176.

15. Welsh T. M., Kukes G. D., Sandweiss L. M.: Differences of Creatine Kinase MB and Cardiac Troponin I Concentrations in Normal and Diseased

Human Myocardium. *Annals of Clinical & Laboratory Science*, 2002 vol. 32, no. 1.

16. Zhu B. L., Quan L., Oritani S., Ishida K., Fujita M. Q., Ogawa M., Maeda H.: Acute alcoholism with myoglobinuria: an autopsy case report. *Chudoku Kenkyu*. 2003 Jan, 16 (1): 73-76. Artykuł w języku japońskim.

17. Sabucedo A. J., Furton K. G.: Estimation of postmortem interval using the protein marker cardiac Troponin I. *Forensic Sci Int*. 2003 Jun 24, 134 (1): 11-16.

18. Berestovskaia V. S., Eremina M. V., Kozlov A. V.: Cardiac markers in the pericardial fluid in sudden coronary death. *Klin Lab Diagn*. 2003 May, (5): 8-10. Artykuł w języku rosyjskim.

19. Zhu B. L., Ishida K., Taniguchi M., Quan L., Oritani S., Tsuda K., Kamikodai Y., Fujita M. Q., Maeda H.: Possible postmortem serum markers for differentiation between fresh-, saltwater drowning and acute cardiac death: a preliminary investigation *Legal Med*. 2003 Vol: 5, Supplement.

20. Zhu B. L., Oritani S., Quan L., Li D. R., Ogawa M., Maeda H.: Two suicide fatalities from sodium cyanide ingestion: differences in blood biochemistry. *Chudoku Kenkyu*. 2004 Jan, 17 (1): 65-68. Artykuł w języku japońskim.

21. Ellingsen C. L., Hetland Ø.: Serum concentrations of cardiac troponin T in sudden death. *Am J Forensic Med Pathol*. 2004 Sep, 25 (3): 213-215.

22. Pérez-Cárceles M. D., Noguera J., Jiménez J. L., Martínez P., Luna A., Osuna E.: Diagnostic efficacy of biochemical markers in diagnosis post-mortem of ischaemic heart disease. *Forensic Sci Int*. 2004 May 28, 142 (1): 1-7.

23. Al-Ahmad R. S., Mahafzah A. M., Al-Mousa E. N.: Immunological changes in acute myocardial infarction. *Saudi Med J*. 2004 Jul, 25 (7): 923-928.

24. Maeda H.: Pathophysiochemistry of acute death: an approach to evidence-based assessment in forensic pathology]. *Nihon Hoigaku Zasshi*. 2004 Sep, 58 (2): 121-129. Artykuł w języku japońskim.

25. Davies S. J., Gaze D. C., Collinson P. O.: Investigation of cardiac troponins in postmortem subjects: comparing antemortem and postmortem levels. *Am J Forensic Med Pathol*. 2005 Sep, 26 (3): 213-215.

26. Zhu B. L., Ishikawa T., Oritani S., Quan L., Li D. R., Zhao D., Michiue T., Ogawa M., Maeda

H.: Five fatalities due to inhalation of „asphyxiant gases“: pathophysiological analysis in autopsy cases. *Chudoku Kenkyu*. 2005 Jan, 18 (1): 77-81. Artykuł w języku japońskim.

27. Martínez Díaz F., Rodríguez-Morlensín M., Pérez-Cárceles M. D., Noguera J., Luna A., Osuna E.: Biochemical analysis and immunohistochemical determination of cardiac troponin for the post-mortem diagnosis of myocardial damage. *Histol Histopathol*. 2005 Apr, 20 (2): 475-481.

28. Peter J., Kirchner A., Kuhlisch E., Menschikowski M., Neef B., Redler J.: The relevance of the detection of troponins to the forensic diagnosis of cardiac contusion. *Forensic Sci. Int.* 160 (2006) 127-133.

29. He K., Lu J. P., Zhu X. J., Wang Z. Y.: Research evolvement of postmortem diagnosis of early myocardial infarction in forensic pathology. *Fa Yi Xue Za Zhi*. 2006 Oct 15, 22 (5): 381-384. Artykuł w języku chińskim.

30. Khalifa A. B., Najjar M., Addad F., Turki E., Mghirbi T.: Cardiac troponin T (cTn T) and the post-mortem diagnosis of sudden death. *Am J Forensic Med Pathol*. 2006 Jun, 27 (2): 175-177.

31. Matoba K., Terazawa K., Watanabe S., Yamada N., Ueda M.: Problems in applying a rapid assay kit for cardiac troponin T to medico-legal blood samples. *Hokkaido Igaku Zasshi*. 2006 Sep, 81 (5): 359-363. Artykuł w języku japońskim.

32. Zhu B. L., Ishikawa T., Michiue T., Li D. R., Zhao D., Oritani S., Kamikodai Y., Tsuda K., Okazaki S., Maeda H.: Postmortem cardiac troponin T levels in the blood and pericardial fluid. Part 1. Analysis with special regard to traumatic causes of death. *Legal Med*. 8 (2006): 86-93.

33. Zhu B. L., Ishikawa T., Michiue T., Li D. R., Zhao D., Oritani S., Kamikodai Y., Tsuda K., Okazaki S., Maeda H.: Postmortem cardiac troponin T levels in the blood and pericardial fluid. Part 2: Analysis for application in the diagnosis of sudden cardiac death with regard to pathology. *Legal Med*. 8 (2006): 94-101.

34. Zhu B. L., Ishikawa T., Michiue T., Li D. R., Zhao D., Tanaka S., Kamikodai Y., Tsuda K., Okazaki S., Maeda H.: Postmortem pericardial natriuretic peptides as markers of cardiac function in medico-legal autopsies. *Int J Legal Med* (2007) 121: 28-35.

35. Zhu B. L., Ishikawa T., Michiue T., Li D. R.,

- Zhao D., Bessho Y., Kamikodai Y., Tsuda K., Okazaki S., Maeda H.: Postmortem cardiac troponin I and creatine kinase MB levels in the blood and pericardial fluid as markers of myocardial damage in medicolegal autopsy *Legal Med.* 9 (2007): 241-250.
36. Campobasso C. P., Dell'Erba A. S., Addante A., Zotti F., Marzullo A., Colonna M. F.: Sudden cardiac death and myocardial ischemia indicators: a comparative study of four immunohistochemical markers. *Am J Forensic Med Pathol.* 2008 Jun, 29 (2): 154-161.
37. Xiong X. M., Deng S. X.: Expression of cTnT in rabbit hearts during myocardial ischemia and its postmortem stability: *Fa Yi Xue Za Zhi.* 2008 Apr, 24 (2): 90-93. Artykuł w języku chińskim.
38. Wehner F., Moos N. R. M., Wehner H. D., Martin D., Schulz M. M.: Immunocytochemical examination of biological traces on expanding bullets (QD-PEP). *Forensic Sci. Int.* 2008 182 1-3 (66-70).
39. Sidlo J., Parrák V., Kvasnicka P., Majdan M., Sidlová H.: On the use of biochemical markers in diagnostics of sudden cardiac death. *Soud Lek.* 2008 Jul, 53 (3): 31-34.
40. Vargás S. O., Grudzien Ch., Tanasijević M. J.: Postmortem cardiac troponin-I levels predict intramyocardial damage at autopsy. *J Thromb Thrombolysis* (2008) 26: 132-137.
41. Casalod Y., Alegret R., Martinez-Jarreta B., Gomez Zapata M., Luna A.: Association between immunohistochemical markers of myocardial damage and apoptosis. *Legal Med* 2009 Apr 11, Suppl 1: 311-312.
42. Mao R. M., Zheng Q. Q., Li X. L., Xiong C. Y., Zhu B. L.: The application of biochemical indexes detecting in sudden cardiac death in forensic autopsy. *Fa Yi Xue Za Zhi.* 2009 Dec, 25 (6): 451-454. Artykuł w języku chińskim.
43. Luna A.: Is postmortem biochemistry really useful? Why is it not widely used in forensic pathology? *Leg Med (Tokyo).* 2009 Apr, 11 Suppl 1: 27-30. Epub 2009 Apr 1.
44. Michiue T., Ishikawa T., Zhao D., Kamikodai Y., Zhu B. L., Maeda H.: Pathological and biochemical analysis of the pathophysiology of fatal electrocution in five autopsy cases. *Leg Med (Tokyo).* 2009 Apr, 11 Suppl 1: 549-552. Epub 2009 Apr 14.
45. Torres C., Jarreta B. M., Alegret R., Hernandez del Rincón J. P., Falcon M., Gómez Zapata M., Pérez-Cárceles M. D., Osuna E., Luna A.: Analysis of ionic ratios in the interventricular wall and their relation with cardiac damage as seen in anatomo-pathological and cardiac biomarkers. *Leg Med (Tokyo).* 2009 Apr, 11 Suppl 1: 360-362. Epub 2009 Apr 28.
46. Maeda H., Michiue T., Zhu B. L., Ishikawa T., Quan L.: Analysis of cardiac troponins and creatine kinase MB in cerebrospinal fluid in medicolegal autopsy cases. *Leg Med (Tokyo).* 2009 Apr, 11 Suppl 1: 266-268. Epub 2009 Feb 28.
47. Ouyang J., Guzman M., Desoto-Lapaix F., Pincus M. R., Wiczorek R.: Utility of desmin and a Masson's trichrome method to detect early acute myocardial infarction in autopsy tissues. *Int J Clin Exp Pathol* 2010, 3 (1): 98-105.
48. Jenkins C. P., Cardona D. M., M. D., Bowers J. N., Oliai B. R., Allan R. W., Normann S. J.: The Utility of C4d, C9, and Troponin T Immunohistochemistry in Acute Myocardial Infarction. *Arch Pathol Lab Med.* 2010 Vol 134, 256-263.
49. Batalis N. I., Marcus B. J., Papadea C. N., Collins K. A.: The role of postmortem cardiac markers in the diagnosis of acute myocardial infarction. *J Forensic Sci.* 2010 Jul;55(4):1088-1091. Epub 2010 Mar 25.
50. Tomásková E., Vorel F.: Some possibilities in the diagnosis of early acute ischaemic changes in the heart muscle in sudden death. *Soud Lek.* 2010 Jul, 55 (3): 32-35.
51. Wang Q., Michiue T., Ishikawa T., Zhu B. L., Maeda H.: Combined analyses of creatine kinase MB, cardiac troponin I and myoglobin in pericardial and cerebrospinal fluids to investigate myocardial and skeletal muscle injury in medicolegal autopsy cases. *Leg Med (Tokyo).* 2011 Sep, 13 (5): 226-232. Epub 2011 Jun 17.
52. Sabatasso S., Vaucher P., Augsburg M., Donzé N., Mangin P., Michaud K.: Sensitivity and specificity of NT-proBNP to detect heart failure at post mortem examination *Int J Legal Med* (2011) 125: 849-856.
53. Katus H. A., Scheffold T., Remppis A.: Proteins of the troponin complex, *Lab. Med.* 23 (1992): 311-317.

Adres do korespondencji:
Katedra i Zakład Medycyny Sądowej
i Toksykologii Sądowo-Lekarskiej
Śląskiego Uniwersytetu Medycznego
w Katowicach
ul. Medyków 18
40-752 Katowice
e-mail: aagnieeszkaa@poczta.onet.pl