

# Rani laboratorijski biljezi infarkta miokarda

---

**Vidas, Antonia**

**Undergraduate thesis / Završni rad**

**2018**

*Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj:* **Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, Faculty of Medicine / Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Medicinski fakultet**

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:152:166399>

*Rights / Prava:* [In copyright](#) / [Zaštićeno autorskim pravom.](#)

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-07-21**



*Repository / Repozitorij:*

[Repository of the Faculty of Medicine Osijek](#)



**SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU**  
**MEDICINSKI FAKULTET OSIJEK**

**Sveučilišni preddiplomski studij medicinsko laboratorijske  
dijagnostike**

**Antonia Vidas**

**RANI LABORATORIJSKI BILJEZI**  
**INFARKTA MIOKARDA**

**Završni rad**

**Osijek, 2018.**

Rad je ostvaren u Zavodu za kliničku laboratorijsku dijagnostiku, Kliničkog bolničkog centra Osijek

Mentor rada: doc. dr. sc. Sanja Mandić, mag. med. biochem.

Rad ima 23 stranice, 2 tablice i 5 slika

*Veliku zahvalnost prije svega dugujem mentorici doc. dr. sc. Sanji Mandić na pruženoj prilici za suradnju, izdvojenom vremenu, strpljenju i potpori mojemu stručnom i znanstvenom usavršavanju te pomoći pri ostvarenju rada.*

*Posebno zahvaljujem svojoj obitelji na svim odricanjima i razumijevanju. Hvala što ste mi omogućili studiranje i sve ove godine bili uz mene.*

*Hvala mojim kolegama i prijateljima koji su moje studiranje učinili ljepšim i ugodnijim.*

## Sadržaj:

1. UVOD .....	1
1.1. Akutni infarkt miokarda .....	1
1.1.1. Epidemiologija.....	1
1.1.2. Klinička slika .....	1
1.1.3. Dijagnostički postupci .....	2
1.2. Biljezi infarkta miokarda .....	2
1.2.1. Troponin.....	2
1.2.2. Mioglobin.....	3
1.2.3. Srčani protein koji veže masne kiseline.....	3
1.2.4. Kopeptin.....	3
2. CILJ .....	1
3. ISPITANICI I METODE .....	6
3.1. Ispitanici .....	6
3.1.1. Prikupljanje uzoraka .....	6
3.2. Metode .....	7
3.3. Statističke metode.....	10
4. REZULTATI.....	11
5. RASPRAVA.....	14
6. ZAKLJUČAK .....	16
7. SAŽETAK.....	17
8. SUMMARY .....	19
9. LITERATURA.....	21
10. ŽIVOTOPIS .....	23

## 1. UVOD

### 1.1. Akutni infarkt miokarda

Akutni koronarni sindrom (ACS) stanje je koje označuje akutnu, kritičnu ishemiju miokarda i podrazumijeva dva entiteta: nestabilnu anginu pektoris i infarkt miokarda. Akutni infarkt miokarda (AIM) ili srčani napadaj pojavljuje se kada je protok krvi u području srčanog mišića nenadano blokiran. Jedan od glavnih uzroka AIM-a jest ruptura aterosklerotičnoga plaka i stvaranje tromba. Unutar dijagnoze infarkta miokarda suvremeni pristup nalaže stupnjevanje prema riziku, odnosno podjelu ovisno o ranim elektrokardiografskim (EKG) obilježjima na AIM bez elevacije ST-segmenta (NSTEMI) i infarkt s elevacijom ST-segmenta (STEMI). Riječ je o podjeli koja određuje odabir akutnog liječenja.

#### 1.1.1. Epidemiologija

Akutni koronarni sindrom glavni je uzročnik smrti pučanstva diljem svijeta. Prema najnovijim podacima iz SAD-a, ondje svake minute od koronarne bolesti umire jedan čovjek, a čak 47% bolesnika s koronarnim incidentom umrijet će unutar jedne godine (1). U Hrvatskoj, prema statističkim podacima, udio smrtnosti od akutnoga koronarnog sindroma iznosi čak više od 50%. Prema registrima zapadnoeuropskih zemalja i SAD-a, posljednjih godina dolazi do porasta nestabilne angine i NSTEMI-ja u odnosu prema STEMI-ju (1). Godišnje u svijetu od infarkta miokarda umre 3,8 milijuna muškaraca i 3,4 milijuna žena (1).

#### 1.1.2. Klinička slika

Akutni infarkt miokarda daje raznovrsnu kliničku sliku koja uključuje poremećaje ritma, srčanu insuficijenciju, šok i naglu smrt. Najčešći i vodeći simptom AIM-a jest bol u prsištu. On se obično pojavljuje u predjelu iza prsne kosti, u obliku žarenja, nelagode ili pritiska. Bol se katkada širi u vrat ili u ruke (najčešće u lijevo rame ili u lijevu ruku). Bol može biti potaknut nekim jačim tjelesnim naporom, stresom, ali se često pojavljuje i bez vidljivih povoda. Infarkt miokarda obično nastupa naglo, a bol traje najmanje 30 minuta te može potrajati i 1 do 2 sata ili duže. Osim kliničke slike i EKG-a, od pomoći pri postavljanju dijagnoze može biti i podatak o obiteljskoj anamnezi te postojanje rizičnih čimbenika kao što su pušenje, hipertenzija, hiperlipoproteinemija, pretilost, šećerna bolest i dr. (1).

### 1.1.3. Dijagnostički postupci

Prema Svjetskoj zdravstvenoj organizaciji (SZO), dijagnoza infarkta miokarda postavlja se na temelju prisutnost najmanje dvaju od vodećih triju kriterija, a to su: bol u prsištu, promjene na EKG-u te povećanje srčanih biljega najmanje 2 puta od normalnih vrijednosti (2).

### 1.2. Biljezi infarkta miokarda

Biomarkeri ili biljezi biološki su parametri koji služe kao pokazatelji normalnih bioloških procesa, patogenih procesa ili odgovora na terapijske intervencije.

Biljezi infarkta miokarda proteinske su komponente staničnih struktura koje se oslobađaju u cirkulaciju kada nastupi ozljeda miokarda. Imaju ključnu ulogu u dijagnozi, stupnju rizika i liječenju bolesnika s bolovima u prsima. Idealan biljeg jest onaj u kojemu postoji specifični, lako mjerljiv porast koji jasno korelira s predvidljivim ishodom kao dokazom ishemije, upale, nekroze, rupture plaka ili zatajenja srca (3). Kao glavni izazov za istraživače i kliničare ostaje dokazati i pokazati jesu li novi, tj. budući biomarkeri korisni za potvrdu infarkta miokarda ili njegovo isključenje.

#### 1.2.1. Troponin

Troponin je složeni protein koji regulira kontrakcije poprečnoprugastih mišića. Kompleks troponin sastoji se od triju različitih polipeptidnih komponenata: troponina T (asimetrični globularni protein ili komponenta koja veže tropomiozin), troponina I (bazični globularni protein koji inhibira miozinsku ATPazu) i troponina C (komponenta koja veže Ca). Kompleks služi za reguliranje interakcije miozina i aktina ovisno o kalciju i time ima ulogu u kontrakciji mišića. Troponin I (cTnI) postoji u trima različitim molekularnim oblicima koji odgovaraju specifičnim izotipovima koji se nalaze u skeletnim mišićima i srcu. Testovi cTnI mogu otkriti ozljede srčanog mišića s velikom osjetljivošću i specifičnošću. cTnI ulazi u krvotok unutar 4 – 8 sati nakon pojave bola u prsima, a maksimalni mu je porast unutar 12 – 16 sati. cTnI ostaje povišen 5 – 9 dana nakon infarkta miokarda te ga zbog toga smatramo najvažnijim biljegom infarkta miokarda. Test određivanja cTnI zajedno s pacijentovom kliničkom slikom i elektrokardiogramom „zlatni je standard“ za dijagnosticiranje AIM (9).

### 1.2.2. Mioglobin

Mioglobin je citoplazmatski hemoprotein koji veže kisik, a oslobađa se iz stanica miokarda, kada su oštećene. Pronađen je i u skeletnim i u srčanim mišićnim stanicama. Iako postoje dokazi o nekoliko oblika mioglobina, mioglobin specifičan za srce još nije otkriven (6). Budući da ima najmanju molekularnu masu od svih proteinskih biljega, prvi dopijeva u krvotok. Mioglobin je jedan od prvih biljega infarkta miokarda koji rastu iznad normalnih razina, povećavajući se u krvi mjerljivo iznad osnovne razine u roku od 1 do 3 sata nakon infarkta. Mioglobin svoj maksimalni 'pik' doseže nakon 6 – 12 sati, a vrijednost se vraća unutar referentnog intervala u roku od 24 do 36 sati. Iako mioglobin nije savršeni srčani biljeg za dijagnosticiranje AIM-a, najstariji je pokazatelj propadanja miokardijalnih stanica. Određivanje je mioglobina najkorisnije u usporedbi s drugim srčanim biljezima u brzom određivanju AIM-a, posebno u bolesnika s atipičnim bolovima u prsima ili nespecifičnim promjenama na EKG-u (10).

### 1.2.3. Srčani protein koji veže masne kiseline

Nedavno je predložen srčani protein koji veže masne kiseline (H-FABP), citosolni protein male molekularne mase. Izoforma H-FABP-a prisutna je u visokoj koncentraciji unutar srčanih miocita, iako se u nižim koncentracijama nalazi i u drugim tkivima kao što su skeletni mišići, bubrežni tubuli, mozak itd. (11). Može se transportirati u krv brže od ostalih biljega te je osjetljiviji u ranoj fazi AIM-a, ali njegova specifičnost nije zadovoljavajuća (4). H-FABP kao biljeg ishemije može biti koristan alat u praćenju i prognozi infarkta miokarda. Povećane koncentracije H-FABP-a mogu se otkriti unutar 30 minuta nakon početka ishemije, vršna se koncentracija postiže unutar 4 – 6 sati, a na početku se vrijednosti vraća nakon gotovo 24 – 30 sati. Iako ga njegova mala molekularna masa čini korisnim ranim biljekom, to također znači da će brzo biti uklonjen bubrežnim putem. Pri oštećenju bubrega, razina H-FABP-a u plazmi je znatno povećana, što otežava interpretaciju. Kod normalne funkcije bubrega ponovni porast koncentracije H-FABP-a može biti indikativan za ponovni infarkt, koji možemo propustiti biljekom kao što je cTnI, koji se polagano vraća na početnu vrijednost (11).

### 1.2.4. Kopeptin

Arginin vazopresin (vazotocin) odgovoran je za razne hemodinamske funkcije koje pridonose vaskularnom tonusu i održavanju volumena krvi. Unatoč teoretskoj dijagnostičkoj ulozi u kardiovaskularnim bolestima, njegova je klinička primjena ograničena kratkim poluživotom u cirkulaciji. Kopeptin kao C-terminalni dio



## UVOD

argininvazopresin prekursorskog peptida stabilniji je i osigurava lako mjerenje oslobađanja argininvasopresina (5). Jedan od najvažnijih često predloženih i opsežno istraženih biomarkera za olakšavanje dijagnoze AIM-a jest kopeptin (13). Kopeptin se brzo oslobađa iz hipofize u krv kao reakcija na promjenu osmolarnosti, pad sistoličkoga krvnoga tlaka ili stres. Uklanja se iz krvi u roku od nekoliko sati preko mehanizma koji još nije potpuno razumljiv. Nakon akutnog infarkta miokarda razina kopeptina koji cirkulira brzo se povisuje do vršnih vrijednosti, a zatim pada tijekom sljedećih 2 do 5 dana. Kopeptin je biološki neaktivan i stabilan. Posljednjih se godina kopeptin smatra obećavajućim biomarkerom u brojnim akutnim bolestima (12). Iako je dobar biomarker u mnogim akutnim bolestima, nedavno objavljene analize potvrdile su da kopeptin sam daje neznatnu dijagnostičku vrijednost u postavljanju sumnje na AIM. Dakle, sam kopeptin nije dovoljan za postavljanje dijagnoze u bolesnika sa sumnjom na akutni koronarni sindrom (13).

## 2. CILJ

Glavni cilj: ovim istraživanjem koje obuhvaća analizu cTnI-ja, mioglobina, H-FABP-a i kopeptina trebalo bi procijeniti njihovu dijagnostičku korist u dijagnosticiranju akutnog infarkta miokarda.

Specifični ciljevi:

1. Ispitati postoji li razlika u vrijednostima mioglobina u bolesnika s infarktom miokarda u usporedbi s kontrolnom skupinom.
2. Ispitati postoji li razlika u vrijednostima H-FABP-a u bolesnika s infarktom miokarda u usporedbi s kontrolnom skupinom.
3. Ispitati postoji li razlika u vrijednostima kopeptina u bolesnika s infarktom miokarda u usporedbi s kontrolnom skupinom.
4. Usporediti osjetljivost i specifičnost mioglobina, H-FABP-a i kopeptina u dijagnosticiranju akutnog infarkta miokarda.

### 3. ISPITANICI I METODE

#### 3.1. Ispitanici

Na temelju konačne dijagnoze koju je utvrdio liječnik na osnovi svih dijagnostičkih i kliničkih pokazatelja ispitanici su bili podijeljeni u dvije skupine:

1. pacijenti s NSTEMI AIM-om (svi ispitanici s kliničkim simptomima infarkta miokarda i bez elevacije ST-segmenta u EKG-u, ali s naknadnim klinički značajnim porastom TnI).
2. Kontrolni ispitanici (svi ispitanici s kliničkim simptomima infarkta miokarda, a bez elevacije ST-segmenta u EKG-u i bez naknadnog klinički znatnog porasta TnI-ja).

Iz istraživanja su isključeni bolesnici kojima su simptomi koji upućuju na mogući AIM trajali dulje od 3 sata, pacijenti koji su prilikom prijma imali elevaciju ST-segmenta na EKG-u, pacijenti koji su preboljeli AIM ili su prije toga bili podvrgnuti perkutanoj koronarnoj intervenciji te pacijenti sa smanjenom funkcijom bubrega.

##### 3.1.1. Prikupljanje uzoraka

Za istraživanje su iskorišteni preostali uzorci venske krvi prikupljeni venepunkcijom u epruvetu bez antikoagulansa, uzeti od pacijenata sa simptomima koji upućuju na mogući akutni infarkt miokarda, a koji su primljeni u Objedinjenom hitnom prijemu KBC-a Osijek. Istraživanje je provedeno u razdoblju od tri mjeseca. cTnI se rutinski mjerio u sklopu obrade takvih pacijenata, a u ostatnom su uzorku naknadno izmjerene koncentracije mioglobina, H-FABP-a i kopeptina.

### 3.2. Metode

Uzorci venske krvi centrifugirani su 10 minuta na 3500 rpm. Tim je postupkom odvojen serum od stanica te je on poslužio za mjerenje koncentracija cTnI-ja, mioglobina, H-FABP-a i kopeptina. Budući da su mioglobin, H-FABP i kopeptin mjereni naknadno, ostatni su uzorci seruma nakon analiziranja cTnI-ja pohranjeni u hladnjak na  $-20^{\circ}\text{C}$  do analize. Koncentracije cTnI-ja izmjerene su kemiluminiscentnom imunoanalizom baziranom na LOCI tehnologiji (slika 1.), a mioglobin heterogenom imunoanalizom na Dimension EXL s LM analizatoru (Siemens Healthcare Diagnostics Inc., Newark, SAD) (slika 1.). H-FABP je izmjeren na Beckman Coulter AU 480 analizatoru (Beckman Coulter Inc., Brea, SAD) imunoturbidimetrijskom metodom (Randox Laboratories Ltd.) (slika 2.). Kopeptin je izmjeren heterogenom enzimimunokemijskom metodom (ELISA) na analizatoru Labsystems iEMS Reader MF (LabsystemsOy, Helsinki, Finska) (slika 3.).

#### Mjerenje koncentracije troponina

Koncentracije TnI-ja izmjerene su kemiluminiscentnom imunoanalizom baziranom na LOCI tehnologiji. LOCI reagensi uključuju dva sintetska reagensa i biotinizirani srčani troponin I. Prvi je reagens obložen streptavidinom i sadržava bojilo za fotosenzibilizaciju. Drugi je reagens obložen drugim protusrčanim troponinom I i sadržava kemiluminescentnu boju. Uzorak se inkubirao kemijskim sredstvima i biotiniziranim protutijelom te je zatim vezan za biotin kako bi se oblikovali imunokompleksi. Osvjetljenjem kompleksa na 680nm oslobađao se slobodni kisik koji je difundirao u kemijska sredstva i poticao kemijsku reakciju. Rezultirajući signal mjeren je na 612 nm i izravna je funkcija koncentracije srčanoga troponina I u uzorku.

#### Mjerenje koncentracije mioglobina

Uzorak u kojemu se određivala koncentracija mioglobina inkubiran je s česticama krom-dioksida obloženima monoklonalnim protutijelima specifičnima za mioglobin da bi se formirao mioglobin kompleks. Čestice su magnetski odvojene, a supernatant je uklonjen. Tijekom drugog koraka čestica/mioglobin kompleks inkubirana je s  $\beta$ -galaktozidaza označenim monoklonalnim protutijelima specifičnima za mioglobin kako bi se formirala čestica/mioglobin/ konjugirani sendvič. Zatim je nevezani konjugat uklonjen magnetskim odvajanjem i ispran. Sendvič  $\beta$ -galaktozidaza kombiniran je s kromogenim supstratom klorofenol crvena- $\beta$ -d-galaktopiranozidom (CPRG) i kataliziran hidrolizom supstrata u

## ISPITANICI I METODE

crveni klorofenol (CPR). Koncentracija mioglobina prisutnog u uzorku izravno je proporcionalna stopi promjene boje zbog formiranja CRP-a mjenog na 577 nm.



**Slika 1.** Uređaj za mjerenje koncentracije mioglobina i cTnI-ja

### **Mjerenje koncentracije srčanoga proteina koji veže masne kiseline**

Metode za određivanje koncentracije H-FABP-a započinje reakcijom uzorka s puferom i anti-H-FABP-om premazanim lateksom. Formacija kompleksa protutijelo – antigen tijekom reakcije rezultira povećanjem zamućenosti čija je vrijednost mjerena količinom svjetlosti apsorbiranom na 700 nm. Kao uzorak mogu se rabiti serum, plazma litijevim heparinatom i  $K_2$  EDTA. Vrijednosti se analiziraju Advia 1650 analizatorom.



**Slika 2.** Uređaj za mjerenje koncentracije H-FABP-a

### **Mjerenje koncentracije kopeptina**

Priredili smo jažice za razrijeđeni standard, jažice bez sadržaja i s uzorkom. Dodali smo 100  $\mu\text{L}$  razrijeđenoga standarda u odgovarajuće jažice te smo ih prekrili plastičnom folijom i inkubirali 1 sat na 37°C. U drugom smo koraku iz svake jažice uklonili tekućinu, bez ispiranja. Zatim smo u svaku jažicu dodali 100 $\mu\text{L}$  reagensa A (radne otopine), ponovno ih prekrili plastičnom folijom i inkubirali 1 sat na 37°C. U sljedećem smo koraku aspirirali otopinu i isprali s 350  $\mu\text{L}$  otopine za ispiranje koristeći se štrcaljkom, višekanalnom pipetomu i višestrukim raspršivačem, te smo jažice ostavili 1 – 2 minute. Nakon toga posve smo uklonili preostalu tekućinu iz svih jažica tako što smo ih okrenuli na upijajući papir. Nakon posljednjeg ispiranja sve smo uklonili puferom za ispiranje i okrenuli jažice na upijajući papir. U svaku smo jažicu dodali 100  $\mu\text{L}$  reagensa B (radne otopine), prekrili ih plastičnom folijom i inkubirali 30 minuta na 37°C. Zatim smo proces ispiranja ponovili 5 puta. U sljedećem smo koraku u svaku jažicu dodali 90  $\mu\text{L}$  otopine supstrata, prekrili ih plastičnom folijom te inkubirali 10 – 20 minuta na 37°C. Dodavanjem otopine supstrata tekućina je postala plava. U predzadnjem smo koraku dodali 50  $\mu\text{L}$  stop-otopine u svaku jažicu, a tekućina je postala žuta zbog dodane otopine. Zatim smo nježno promiješali tekućinu kako bi se promjena boje pojavila ravnomjerno. U posljednjem smo koraku uklonili kapljice vode i otiske prstiju s dna jažica te provjerili da nema mjehurića na površini tekućine. Mjerenje se izvodilo na 450 nm.



**Slika 3.** Uređaj za mjerenje koncentracije kopeptina

### 3.3. Statističke metode

Statistički program MedCalc, verzija 12.4.0.0. (MedCalc Software, Mariakerke, Belgium), primijenjen je za statističku obradu podataka. Deskriptivna je statistika poslužila za prikaz podataka. Normalnost raspodjele ispitana je Kolmogorov-Smirnovljevim testom. Podatci koji su slijedili normalnu raspodjelu prikazani su kao srednje vrijednosti i pripadajuće standardne devijacije (SD), a podatci koji nisu slijedili normalnu raspodjelu prikazani su kao medijani uz odgovarajuće interkvartilne raspone (IQR). Razlika među ispitivanim skupinama testirana je odgovarajućim parametrijskim ili neparametrijskim testom (t-test ili Mann-Whitneyev U-test). Fisherovim egzaktnim testom provedena je usporedba kvalitativnih podataka. ROC analiza poslužila je za usporedbu specifičnosti i osjetljivosti analiziranih bilježa u ranom dijagnosticiranju AIM-a.  $P < 0,05$  predloživala je razinu značajnosti koja je iskorištena za ocjenu značajnosti dobivenih rezultata.

## REZULTATI

### 4. REZULTATI

Demografski i klinički parametri ispitivanih skupina prikazani su u tablici 1.

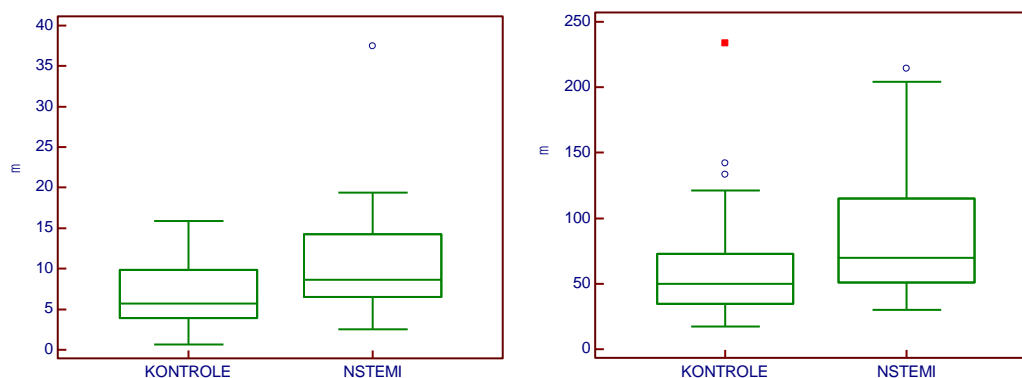
**Tablica 1.** Demografski i klinički parametri ispitivanih skupina

	Ispitanici s NSTEMI AIM (N=29)	Kontrolni ispitanici (N=36)	P-vrijednost
Dob ( $\bar{x}$ , raspon)	64 (24-83)	54 (23-82)	<0,004*
Spol ž/m	12/17	18/18	0,618 <sup>†</sup>
TnI ( $\mu\text{g/L}$ )	0,037 (0,009 -0,065)	0,009 (0,009 – 0,009)	< 0,001 <sup>‡</sup>
Kopeptin (ng/L)	102,2 $\pm$ 28,0	105,8 $\pm$ 59,3	0,764*
H-FABP ( $\mu\text{g/L}$ )	10,7 $\pm$ 7,0	6,9 $\pm$ 3,8	0,001*
Mioglobin ( $\mu\text{g/L}$ )	87 $\pm$ 51	62 $\pm$ 42	0,034*

\* t-test; <sup>†</sup>Fisher egzakti test; <sup>‡</sup>Mann-Whitney test; <sup>&</sup>t-test

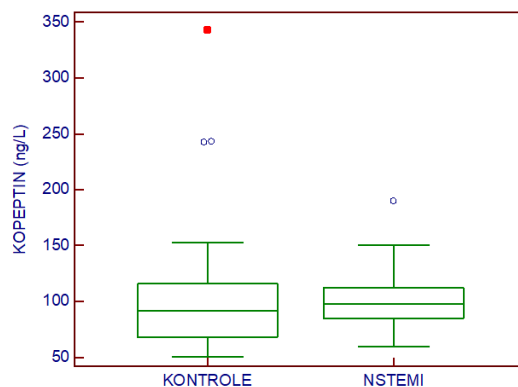
Pacijenti kojima je potvrđen NSTEMI akutni infarkt miokarda bili su starije životne dobi. Iako Fisherovim egzaktnim testom nije utvrđena razlika u raspodjeli spola među skupinama, među pacijentima s NSTEMI akutnim infarktom miokarda bilo je nešto više muškaraca. Koncentracije TnI-ja statistički su se značajno razlikovale među skupinama, međutim, svi su ispitanici pri prijemu imali vrijednosti koncentracija TnI-ja u okviru normalnih vrijednosti, što je ujedno bio kriterij izbora pacijenata.

Koncentracije mioglobina i H-FABP-a statistički su bile značajno više u pacijenata s NSTEMI akutnim infarktom miokarda, dok se vrijednosti koncentracija kopeptina nisu razlikovale među skupinama. Usporedbe rezultata prikazane su na slici 3.



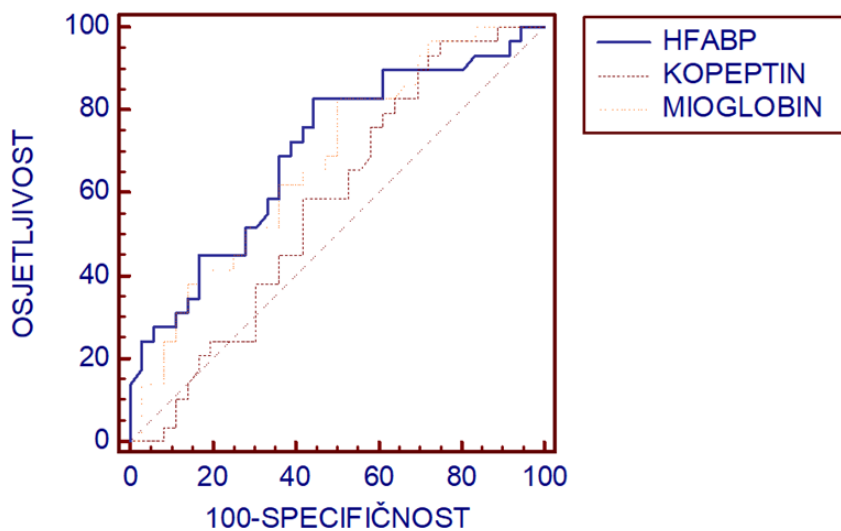


## REZULTATI



**Slika 4.** Usporedba koncentracija kopeptina, H-FABP-a i mioglobina između kontrolnih ispitanika i ispitanika s NSTEMI akutnim infarktom miokarda. Središnja linija u grafičkome prikazu označuje medijan, četverokut označuje interkvartilni raspon, vodoravne linije ispod i iznad četverokuta označuju minimalnu i maksimalnu vrijednost bez stršećih i ekstremnih vrijednosti, kružići označuju stršeće vrijednosti, a crveni kvadratići označuju ekstremne vrijednosti.

Rezultati usporedbe ROC krivulja kopeptina, H-FABP-a i mioglobina prikazani su slikom 5.



**Slika 5.** Usporedba ROC krivulja za kopeptin, H-FABP i mioglobin

Specifičnost i osjetljivost ispitivanih analita u razlikovanju pacijenata s NSTEMI akutnim infarktom miokarda od kontrolnih ispitanika te pripadajuće AUC vrijednosti prikazane su u tablici 2.

## REZULTATI

**Tablica 2.** Osjetljivost, specifičnost i AUC vrijednost za kopeptin, H-FABP i mioglobin

	Osjetljivost	Specifičnost	AUC	Granična vrijednost	P-vrijednost
	%	%			
KOPEPTIN (ng/L)	96,6	25,0	0,570	67,2	0,303
H-FABP (μg/L)	82,8	55,6	0,698	5,86	0,003
MIOGLOBIN (μg/L)	82,8	50,0	0,675	47,8	0,008

## 5. RASPRAVA

Akutni infarkt miokarda (AIM) pojavljuje se kada je protok krvi u području srčanog mišića nenadano blokiran. Prema Svjetskoj zdravstvenoj organizaciji (SZO), dijagnoza infarkta miokarda postavlja se na temelju prisutnosti najmanje dvaju od vodećih triju kriterija, a to su: bol u prsištu, promjene na EKG-u te povećanje srčanih biljega najmanje 2 puta od normalnih vrijednosti (2). Mioglobin, kreatin-kinaza (CK), CK srčani izoenzim (CK-MB) te troponin I i T danas se naširoko primjenjuju u stratifikaciji pacijenata s akutnim bolom u prsima za otkrivanje oštećenja tkiva miokarda. Međutim, oni nemaju visoku dijagnostičku osjetljivost za AIM u ranoj fazi, posebno unutar 3 sata od pojave bolova.

Ovo je istraživanje provedeno na 65 ispitanika koji su na temelju konačne dijagnoze koju je utvrdio liječnik s obzirom na sve dijagnostičke i kliničke pokazatelje bili podijeljeni u dvije skupine: 29 pacijenata s NSTEMI AIM (svi ispitanici s kliničkim simptomima infarkta miokarda i bez elevacije ST-segmenta u EKG-u, ali s naknadnim klinički značajnim porastom TnI-ja) te 36 kontrolnih ispitanika (svi ispitanici s kliničkim simptomima infarkta miokarda, a bez elevacije ST-segmenta u EKG-u i bez naknadnoga klinički značajnog porasta TnI-ja).

Ovim istraživanjem koje obuhvaća analizu cTnI-ja, mioglobina, H-FABP-a i kopeptina napravljena je usporedba dijagnostičke koristi spomenutih biljega u dijagnosticiranju akutnog infarkta miokarda. Najbolje je rezultate pokazao H-FABP koji je imao najvišu AUC vrijednost (0,698) uz relativno visoku osjetljivost (82,8%) i zadovoljavajuću specifičnost (55,6%). S obzirom na to da je osjetljiviji u ranoj fazi AIM-a te da se povećane koncentracije mogu pronaći već unutar 30 minuta od početka ishemije, dobiveni su rezultati u skladu s očekivanjem. Osim toga, time su potvrđeni rezultati sličnih istraživanja koja upućuju na obećavajuću ulogu određivanja H-FABP-a kao ranog testa u dijagnosticiranju akutnog infarkta miokarda. Primjerice, Pyati K. Anand i suradnici (7) proveli su istraživanje u koje je bilo uključeno 80 ispitanika koji su također bili podijeljeni u dvije skupine: one sa sumnjom na AIM i kontrolne ispitanike, te su dokazali da H-FABP ima veću osjetljivost i specifičnost od CK-MB-a i mioglobina u bolesnika sa sumnjom na AIM unutar 3 sata od pojave bola u prsima. S druge strane, brojni radovi upozoravaju na nedostatak specifičnosti H-FABP-a jer je on prisutan u različitim tkivima poput skeletnih mišića, jetre, crijeva, bubrega, mozga (8).

## RASPRAVA

Mioglobin je ovim istraživanjem pokazao jednaku osjetljivost (82,8%) kao i H-FABP, ali ipak manju specifičnost. Iako ima dokaza o postojanju nekoliko oblika mioglobina, mioglobin specifičan za srce još nije otkriven (6). Određivanje je mioglobina, prema literaturnim podacima, najkorisnije u kombinaciji s drugim srčanim biljezima u brzom određivanju AIM-a, posebno u bolesnika s atipičnim bolovima u prsima ili nespecifičnim promjenama na EKG-u (10).

Kopeptin je u ovom istraživanju pokazao najveću osjetljivost (96,6%), ali mu je specifičnost bila snižena (25,0%) u usporedbi s ostalim biljezima. Takav je rezultat i očekivan jer kopeptin nije specifičan za srce. Nisku specifičnost kopeptina prikazali su i Möckel M. i Searle J. u svojem istraživanju u kojemu su pokazali da kombinacija biljega troponina i kopeptina pruža najbolje rezultate u bolesnika s niskim do srednjim rizikom od AIM-a (14).

Ograničavajući čimbenik ovog istraživanja jest relativno mali broj ispitanika uključenih u istraživanje.

Zaključno, H-FABP se u ovom istraživanju zbog svoje visoke osjetljivosti i specifičnosti pokazao kao najbolji biljeg za isključivanje AIM-a. To upućuje na to da bi H-FABP zbog relativno brzog pojavljivanja u krvi nakon infarkta, već unutar 3 sata od pojave bola u prsištu, mogao smanjiti nepotrebno zadržavanje pacijenata na hitnom prijmu ako nemaju AIM. Može li određivanje H-FABP-a u kombinaciji s kopeptinom koji je pokazao veću osjetljivost (96,6%) od H-FABP-a, bez obzira na svoju nisku specifičnost, biti bolji test za rano otkrivanje AIM-a, ostaje tek odrediti.

### 6. ZAKLJUČAK

Na temelju provedenog istraživanja i dobivenih rezultata mogu se izvesti sljedeći zaključci.

1. Vrijednosti mioglobina bile su značajno više u pacijenata s NSTEMI AIM-om u usporedbi s kontrolnom skupinom.
2. Vrijednosti H-FABP-a bile su značajno više u pacijenata s NSTEMI AIM-om u usporedbi s kontrolnom skupinom.
3. Vrijednosti koncentracije kopeptina nisu se razlikovale među ispitivanim skupinama.
4. H-FABP se pokazao najboljim biljegom u stratifikaciji pacijenata sa sumnjom na AIM. Mioglobin je pak pokazao jednaku osjetljivost kao i H-FABP, ali ipak sa smanjenom specifičnošću.

Možemo reći da je ovo istraživanje pokazalo da je H-FABP najbolji rani biljeg za stratifikaciju pacijenata s bolom u prsištu i sumnjom na AIM. Test se pokazao visoko osjetljivim uz zadovoljavajuću specifičnost pa bi njegova primjena, prema tome, primarno trebala biti u svrhu isključivanja AIM-a. Njegovim bi se određivanjem smanjili broj pacijenata na hitnom prijmu te njihovo nepotrebno zadržavanje zbog bola u prsištu koji može biti i nespecifičan. Ostaje u idućim istraživanjima odrediti bi li kombinacija određivanja kopeptina, koji pokazuje najvišu osjetljivost, zajedno s H-FABP-om bila bolja za stratifikaciju takvih pacijenata.

## 7. SAŽETAK

### Uvod

Akutni infarkt miokarda (AIM) pojavljuje se kada je protok krvi u području srčanog mišića nenadano blokiran. Prema Svjetskoj zdravstvenoj organizaciji (SZO), dijagnoza infarkta miokarda postavlja se na temelju prisutnost najmanje dvaju od vodećih triju kriterija, a to su: bol u prsištu, promjene na EKG-u te povećanje srčanih biljega najmanje 2 puta od normalnih vrijednosti (2).

Cilj je istraživanja bio procijeniti dijagnostičku korist cTnI-ja, mioglobina, H-FABP-a i kopeptina u dijagnosticiranju akutnog infarkta miokarda.

### Ispitanici i metode

U istraživanje je bilo uključeno 65 ispitanika koji su na temelju konačne dijagnoze koju je utvrdio liječnik s obzirom na sve dijagnostičke i kliničke pokazatelja bili podijeljeni u dvije skupine: 29 pacijenata s NSTEMI AIM-om te 36 kontrolnih ispitanika. Za istraživanje su se rabili preostali uzorci venske krvi prikupljeni venepunkcijom u epruvetu bez antikoagulansa pacijenata sa simptomima koji upućuju na mogući akutni infarkt miokarda, a koji su primljeni na Objedinjenom hitnom prijemu KBC-a Osijek. Uzorci venske krvi centrifugirali su se 10 minuta na 3500 rpm, a serum je poslužio za mjerenje koncentracija cTnI-ja, mioglobina, H-FABP-a i kopeptina. Koncentracije cTnI-ja izmjerene su kemiluminiscentnom imunoanalizom baziranom na LOCI tehnologiji, a mioglobin heterogenom imunoanalizom na Dimension EXL s LM analizatoru (Siemens Healthcare Diagnostics Inc., Newark, SAD). H-FABP je izmjeren na Beckman Coulter AU 480 analizatoru (Beckman Coulter Inc., Brea, SAD) imunoturbidimetrijskom metodom (Randox Laboratories Ltd.). Kopeptin je izmjeren heterogenom enzimmunokemijskom metodom (ELISA) na analizatoru Labsystems iEMS Reader MF (Labsystems Oy, Helsinki, Finska).

### Rezultati

Vrijednosti H-FABP-a bile mnogo više u pacijenata s NSTEMI AIM-om nego u kontrolnoj skupini (NSTEMI AIM:  $10,7 \pm 7,0 \mu\text{g/L}$ , kontrolni ispitanici:  $6,9 \pm 3,8 \mu\text{g/L}$ ,  $P = 0,001$ ). Vrijednosti mioglobina također su bile više u bolesnika s NSTEMI AIM-om u usporedbi s kontrolnom skupinom (NSTEMI AIM:  $87 \pm 51 \mu\text{g/L}$ , kontrolni ispitanici:  $62 \pm 42 \mu\text{g/L}$ ,  $P = 0,034$ ). Vrijednosti koncentracija kopeptina nisu se razlikovale među

## SAŽETAK

skupinama (NSTEMI AIM:  $102,2 \pm 28,0$  ng/L, kontrolni ispitanici:  $105,8 \pm 59,3$  ng/L,  $P = 0,764$ ). Prema rezultatima ROC analize, H-FABP je imao AUC vrijednost 0,698 (osjetljivost: 83%, specifičnost: 56%), vrijednost mioglobina 0,675 (osjetljivost: 83%, specifičnost: 50%), a kopeptina 0,570 (osjetljivost: 97%, specifičnost: 25%).

### **Zaključak**

Istraživanje je pokazalo da je H-FABP bolji biljeg u stratifikaciji pacijenata s bolom u prsištu od mioglobina i kopeptina te bi njegova primjena bila korisna pri isključivanju AIM-a.

**Ključne riječi:** NSTEMI AIM, tropinin, H-FABP, mioglobin, kopeptin

### 8. SUMMARY

#### Introduction

Acute Myocardial Infarction (AMI) occurs when blood flow to the heart muscle area is suddenly blocked. According to the World Health Organization (WHO) myocardial infarction diagnosis is based on the presence of at least 2 of the leading 3 criteria, namely: chest pain, ECG changes, and heart rate increase at least 2 times the normal values (2).

The aim of the study was to evaluate the diagnostic benefit of cTnI, myoglobin, H-FABP and copeptin in the diagnosis of acute myocardial infarction.

#### Materials and Methods

Sixty five subjects were included in the study, all based on the final diagnosis given by the medic, and according to the diagnostic and clinical indicators the subjects were divided into two groups: 29 patients with NSTEMI AIM and 36 controled subjects. For the study, the remaining samples of venous blood were used, collected by venipuncture in the non-anticoagulant tube of patients with symptoms indicating possible acute myocardial infarction, which were received at integrated emergency reception of Clinical Hospital Centre Osijek. Venous blood samples were centrifuged for 10 minutes at 3500 rpm and serum was used to measure cTnI, myoglobin, H-FABP and copeptin concentrations. CTnI concentrations were measured by chemiluminescence immunoassay based on LOCI technology and myoglobin was measured by heterogeneous immunoassay on Dimension EXL with LM analyzer (Siemens Healthcare Diagnostics Inc., Newark, USA). H-FABP was measured by the Beckman Coulter AU 480 analyzer (Beckman Couter Inc., Brea, USA) by immunoturbidimetric method (Randox Laboratories Ltd.). Copeptin was measured by a heterogeneous enzyme immunochemical assay (ELISA) on the Labsystems iEMS Reader MF (LabsystemsOy, Helsinki, Finland) analyzer.

#### Results

The H-FABP values were significantly higher in patients with NSTEMI AIM than in the controled group (NSTEMI AIM:  $10.7 \pm 7.0 \mu\text{g} / \text{L}$ , controled subjects:  $6.9 \pm 3.8 \mu\text{g} / \text{L}$ ,  $P = 0.001$ ). Myoglobin values were also higher in patients with NSTEMI AIM compared to controled group (NSTEMI AIM:  $87 \pm 51 \mu\text{g} / \text{L}$ , controled subjects:  $62 \pm 42 \mu\text{g} / \text{L}$ ,  $P = 0.034$ ). The concentration values of the copeptin did not differ between the groups (NSTEMI AIM:  $102.2 \pm 28.0 \text{ng} / \text{L}$ , controled subjects:  $105.8 \pm 59.3 \text{ng} / \text{L}$ ,  $P = 0.764$ ).



## SUMMARY

According to the results of the ROC analysis, H-FABP had an AUC value of 0.698 (sensitivity: 83%, specificity: 56%), myoglobin 0.675 (sensitivity: 83%, specificity: 50%), and copeptin 0.570 (sensitivity: 97%, specificity: 25 %).

### **Conclusion**

The study has shown that H-FABP is a better marker for stratification of chest pain than myoglobin and copeptin, and its use was effective when excluding AIM.

### **Key words**

NSTEMI AIM, troponine, H-FABP, myoglobin, copeptin

**9. LITERATURA**

1. Miličić D. Pristup bolesniku s akutnim koronarnim sindromom. *Medicus*. 2013;12(1):51-63
2. Rifai N., Horvath R., Wittwer CT. *Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics*. Elsevier. 2018
3. Singh V., Martinezclark P., Pascual M., Shaw ES., Oneill W. Cardiac biomarkers-the old and the new : a review. *Coronary Artery Disease*. 2010;21:244-256
4. Elmadbouh I., Mahfouz R., Bayomy N., Faried W., Ghanayem N. The value of human hearth-type fatty acid binding protein in diagnosis of patients with acute chest pain. *Egyptian Society of Cardiology*. 2012:1110-2608
5. Maisel A., Mueller C., Neath SX., Christenson RH., Morgenthaler NG., McCord J. et al. Copeptin helps in the early detection of patients with acute myocardial infarction. *Journal of the American College of Cardiology*. 2013;62(2):0735-1097
6. Siemens Dimension. Heterogeneous Immunoassay Module. 2015-02-06
7. Pyati KA., Devaranavadagi BB., Sajjannar LS., Nikam VS., Shannawaz M.,Sudharani. Heart-type fatty acid binding protein: a better cardiac biomarker than CK-MB and myoglobin in the early diagnosis of acute myocardial infarction. *Journal of Clinical and Diagnostic Research*. 2015;9(10):BC08-BC11
8. Cubranic Z., Madzar Z., Matijevic S., Dvornik S., Fistic E., Tomulic V. Et al. Diagnostic accuracy of heart fatty acid binding protein (H-FABP) and glycogen phosphorylase isoenzyme BB (GPBB) in diagnosis of acute myocardial infarction in patients with acute coronary syndrome. *Biochemia Medica*. 2012;22(2):225-36
9. Shah AS., Griffiths M., Lee KK., McAllister DA., Hunter AL., Ferry AV. High sensitivity cardiac troponin and the under-diagnosis of myocardial infarction in woman:prospective cohort study. *BMJ*. 2015
10. Mythili S., Malathi N. Diagnostic markers of acute myocardial infarction. *Biomed Rep*. 2015;3(6):743-748
11. Loughrey CM., Young IS. *Clinical Biochemistry: Metabolic and Clinical Aspects (Third Edition)*. 2014
12. Boeckel J-N., Oppermann J., Anadol R., Fichtlscherer S., Zeiher AM., Keller T. Analyzing the release of copeptin from the heart in acute myocardial infarction using a transcoronary gradient model. *Scientific reports*. 2016

## LITERATURA

13. Reinstadler SJ., Klug G., Feistritzer H-J., Metzler B., Mair J. Copeptin testing in acute myocardial infarction: Ready for routine use? Hindawi Publishing Corporation. 2015
14. Möckel M., Searle J., Copeptin—marker of acute myocardial infarction. Curr Atheroscler Rep. 2014;16:421

## **10. ŽIVOTOPIS**

**ANTONIA VIDAS**

### **Datum i mjesto rođenja**

19. studenoga 1995., Osijek

### **Obrazovanje**

2010. – 2014., Tehnička škola i prirodoslovna gimnazija „Ruđer Bošković“ Osijek

2014.–2018., Preddiplomski sveučilišni studij medicinsko laboratorijske dijagnostike na Medicinskom fakultetu Sveučilišta Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku.