

# Biokemijski markeri ishemije miokarda

---

Bešlić, Petar

Master's thesis / Diplomski rad

2014

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, School of Medicine / Sveučilište u Zagrebu, Medicinski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:105:399133>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-12**



Repository / Repozitorij:

[Dr Med - University of Zagreb School of Medicine Digital Repository](#)



**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU**  
**MEDICINSKI FAKULTET**

**Petar Bešlić**

**Biokemijski markeri ishemije miokarda**

**DIPLOMSKI RAD**



**Zagreb, 2014.**

**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU**  
**MEDICINSKI FAKULTET**

**Petar Bešlić**

**Biokemijski markeri ishemije miokarda**

**DIPLOMSKI RAD**

**Zagreb, 2014.**

Ovaj diplomski rad izrađen je na Klinici za unutarnje bolesti, KB Sveti Duh, Zagreb, pod vodstvom dr. sc. Mire Bakule, dr.med. i predan je na ocjenu u akademskoj godini 2013./2014.

## POPIS KRATICA

<b>ACB test</b>	test vezanja kobalta za albumin (engl. <i>Albumin Cobalt Binding test</i> )
<b>ACBP</b>	acil-CoA vežući protein (engl. <i>acyl-CoA binding protein</i> )
<b>ACSy</b>	acil-CoA sintetaza (eng. <i>acyl-CoA synthetase</i> )
<b>ADH</b>	antidiuretski hormon
<b>AIM</b>	akutni infarkt miokarda
<b>AKS</b>	akutni koronarni sindrom
<b>AMP</b>	adenozin monofosfat (engl. <i>Adenosine monophosphate</i> )
<b>ATP</b>	adenozin trifosfat (eng. <i>Adenosine triphosphate</i> )
<b>AUC</b>	površina ispod krivulje (engl. <i>area under the curve</i> )
<b>BNP</b>	natriuretski peptid tipa B
<b>Ca<sup>++</sup></b>	ion kalcija
<b>Cd<sup>2+</sup></b>	ion kadmija
<b>CD36</b>	translokaza masnih kiselina
<b>Cho</b>	kolin
<b>CoA</b>	koenzim A
<b>CPK</b>	kreatin fosfokinaza (engl. <i>creatine phosphokinase</i> )
<b>CRP</b>	C-reaktivni protein
<b>cTnI</b>	kardiospecifični troponin I (engl. <i>cardiac troponin I</i> )
<b>cTnT</b>	kardiospecifični troponin T (engl. <i>cardiac troponin T</i> )
<b>Cu<sup>++</sup></b>	ion bakra
<b>DTT</b>	ditiotritol
<b>EKG</b>	elektrokardiogram
<b>ELISA test</b>	enzimska imunoanaliza (engl. <i>Enzyme-linked immunosorbent assay</i> )
<b>FABPc</b>	citoplazmatski H-FABP (engl. <i>cytoplasmic fatty acid binding protein</i> )
<b>FABPpm</b>	protein koji veže masne kiseline (engl. <i>fatty acid binding protein</i> )
<b>FATP</b>	transportni protein masnih kiselina (engl. <i>fatty acid transport protein</i> )
<b>FFA<sub>U</sub></b>	slobodne masne kiseline (engl. <i>unbound free fatty acids</i> )
<b>GP</b>	glikogen fosforilaza (engl. <i>glycogen phosphorylase</i> )
<b>GPBB</b>	glikogen fosforilaza BB (engl. <i>glycogen phosphorylase BB</i> )
<b>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	vodikov peroksid

<b>H-FABP</b>	srčani protein koji veže masne kiseline (engl. <i>heart fatty acid-binding protein</i> )
<b>HPLC-MS</b>	tekućinska kromatografija visoke djelotvornosti povezana s masenom spektrometrijom (engl. <i>high performance liquid chromatography with mass spectrometry</i> )
<b>hs-TnT</b>	visoko osjetljiv troponin T (engl. <i>highly sensitive troponin T</i> )
<b>HSA</b>	humani serumski albumin
<b>ICAM-1</b>	unutarstanična adhezijska molekula 1 (engl. <i>intercellular adhesion molecule- 1</i> )
<b>IL-6</b>	interleukin-6
<b>IMA</b>	ishemijom modificirani albumin
<b>KVB</b>	kardiovaskularna bolest
<b>LDL</b>	lipoprotein niske gustoće (engl. <i>low-density lipoprotein</i> )
<b>MMP-9</b>	matriksna metaloproteinaza-9
<b>MPO</b>	mijeloperoksidaza
<b>NADPH</b>	nikotinamid adenin dinukleotid fosfat (engl. <i>nicotinamide adenine dinucleotide phosphate</i> )
<b>NMR</b>	nuklearna magnetska rezonancija
<b>NPV</b>	negativna prediktivna vrijednost
<b>NO</b>	dušikov monoksid
<b>NSTEMI</b>	infarkt miokarda bez ST-elevacije (engl. <i>non-ST elevation myocardial infarction</i> )
<b>NT-proBNP</b>	N-terminalni moždani natriuretski peptid (engl. <i>N-terminal prohormone of brain natriuretic peptide</i> )
<b>O<sub>2</sub></b>	kisik
<b>O<sub>2</sub><sup>••</sup></b>	superoksidni anion
<b>OH<sup>•</sup></b>	hidroksilni radikal
<b>oxLDL</b>	oksidirani LDL
<b>PA</b>	fosfatidna kiselina (engl. <i>phosphatidic acid</i> )
<b>PAPP-A</b>	plazmatski protein A povezan s trudnoćom (engl. <i>pregnancy-associated plasma protein A</i> )
<b>PCHO</b>	plazmatski kolin
<b>PCI</b>	perkutana koronarna intervencija (engl. <i>percutaneous coronary intervention</i> )

<b>PGF</b>	faktor rasta placente (engl. <i>placental growth factor</i> )
<b>PLA</b>	fosfolipaza A (engl. <i>Phospholipase A</i> )
<b>PLD</b>	fosfolipaza D (engl. <i>Phospholipase D</i> )
<b>POCT</b>	test za primjenu uz bolesničku postelju (engl. <i>point-of-care test</i> )
<b>PPV</b>	pozitivna prediktivna vrijednost
<b>RBC</b>	eritrociti (engl. <i>Red blood cells</i> )
<b>sCD40L</b>	topljivi CD40 ligand (engl. <i>soluble CD40 ligand</i> )
<b>Scho</b>	kolin u serumu
<b>SOD</b>	superoksid dismutaza
<b>STEMI</b>	infarkt miokarda sa ST-elevacijom (engl. <i>ST elevation myocardial infarction</i> )
<b>TNF-<math>\alpha</math></b>	faktor nekroze tumora alfa (engl. <i>tumor necrosis factor alpha</i> )
<b>UA</b>	nestabilna angina (engl. <i>unstable angina</i> )
<b>VCAM-1</b>	vaskularna adhezijska molekula 1 (engl. <i>vascular cell adhesion molecule 1</i> )
<b>WBCHO</b>	kolin u punoj krvi (engl. <i>whole blood choline</i> )

## **SADRŽAJ**

1. UVOD.....	1
2. AKUTNI KORONARNI SINDROM .....	2
2.1. Definicija .....	2
2.2. Epidemiologija .....	2
2.3. Patofiziologija ishemije miokarda.....	3
2.4. Klinička slika .....	7
2.5. Dijagnostički postupak.....	8
3. BIOKEMIJSKI MARKERI ISHEMIJE MIOKARDA.....	12
3.1. Ishemijom modificirani albumin.....	12
3.2. Kopeptin .....	17
3.3. Slobodne masne kiseline.....	20
3.4. Glikogen fosforilaza BB .....	23
3.5. Kolin .....	26
3.6. Srčani protein koji veže masne kiseline.....	29
4. ZAKLJUČAK .....	32
5. ZAHVALE.....	34
6. LITERATURA.....	35
7. ŽIVOTOPIS.....	46



# SAŽETAK

## BIOKEMIJSKI MARKERI ISHEMIJE MIOKARDA

**Autor: Petar Bešlić**

Otkrivanje reverzibilne ishemije prije razvoja ireverzibilne nekroze miokarda je veliki dijagnostički i terapijski izazov. Ukoliko bi se prolazna ishemija mogla otkriti biokemijski, rana terapijska intervencija mogla bi spriječiti progresiju do mionekroze. Oko 40 % bolesnika s akutnim koronarnim sindromom (AKS) ne razvije nekrozu unatoč izraženoj koronarnoj bolesti i kardijalnoj ishemiji. Sekvencijsko određivanje troponina uz snimanje elektrokardiograma (EKG) vrlo je osjetljiva metoda za dijagnostiku infarkta miokarda, ali ne i za prepoznavanje ishemije. Stoga je razumljiva znanstvena težnja za otkrivanjem ranog markera ishemije miokarda mjerljivog prije razvoja nekroze koju danas otkrivamo porastom troponina tek nakon četiri sata. Dosadašnja istraživanja ističu nekoliko različitih markera kojima je zajednička osobina promptni porast u ishemijskom okruženju (pet minuta do tri sata) te brz povratak na normalu (tri do 24 sata). Najperspektivnijim se čine ishemijom modificirani albumin (IMA), glikogen fosforilaza izoenzim BB (GPBB), nevezane slobodne masne kiseline (FFA<sub>U</sub>) i njihov specifični srčani protein koji veže masne kiseline (H-FABP), kolin i kopeptin. Uvođenje biokemijskih markera ishemije miokarda u kliničku praksu zahtijeva dodatnu evaluaciju. Za većinu ne postoje standardizirani analitički postupci, istraživanja za referentne intervale, niti ujednačene kliničke evaluacije. Uz to, nespecifični su za miokard budući da i druga ishemijom zahvaćena tkiva mogu biti izvorište navedenih markera. Zbog svega toga je njihova vrijednost u otkrivanju ishemije miokarda ograničena i za sada nisu primjenjivi u rutinskoj kliničkoj praksi.

**Ključne riječi:** biokemijski markeri, ishemija miokarda, akutni koronarni sindrom, ishemijom modificirani albumin, kolin, kopeptin, slobodne masne kiseline, glikogen fosforilaza BB, srčani protein koji veže masne kiseline

## **SUMMARY**

### **BIOCHEMICAL MARKERS OF MYOCARDIAL ISCHAEMIA**

**Author: Petar Bešlić**

Diagnosis of reversible ischaemia before the development of irreversible necrosis of myocytes is a great diagnostic and therapeutic challenge. If transient ischemia could be detected biochemically, early therapeutic intervention could stop progression of myonecrosis. Approximately 40% of patients with ACS does not develop necrosis despite severe coronary artery disease and myocardial ischaemia. The combination of serial troponin levels and ECG are very sensitive markers for detection of myocardial infarction, but they do not detect ischemia. Therefore, there is a reasonable scientific tendency to reveal markers which could reliably detect ischaemia even in the absence of necrosis which is diagnosed as late as after four hours by troponin level increase. Several biomarkers currently under investigation tend to be short-lived, increase promptly or within 3 h, and return to reference value within 3-24 h. The most promising of them are ischemia-modified albumin (IMA), glycogen phosphorylase BB (GPBB), unbound free fatty acid (FFA<sub>U</sub>) and their intracellular binding protein, heart-type fatty acid-binding protein (H-FABP), choline and copeptin. However, their application in the clinic requires further evaluation. Most of them are not standardized lab tests, lack reference interval evaluations or consistent assay validation. Moreover, none of them is specific to the myocardium since other organs can also be the origin of these biomarkers. Therefore, their use in detecting ischemia is limited. At present, none of these biomarkers are appropriate for routine clinical use.

**Key words:** biochemical markers, myocardial ischemia, acute coronary syndrome, ischemia modified albumin, choline, copeptin, glycogen phosphorylase BB, unbound free fatty acids, heart type fatty acid-binding protein

## 1. UVOD

Akutne oblike koronarne bolesti – stenokardiju kod stabilne angine pektoris, te nestabilnu anginu i infarkt miokarda – karakterizira ishemija, a s njenom progresijom i nekroza miokarda. U laboratorijskoj dijagnostici akutnog koronarnog sindroma rutinski se upotrebljavaju etablirani markeri nekroze miokarda kao što su troponin i MB izoenzim kreatin-kinaze, dok za reverzibilnu ishemiju miokarda za sada nema zadovoljavajuće kvalitetnih i pouzdanih markera. Nerijetko je u kliničkoj praksi teško odrediti radi li se o ishemiji miokarda ili o tegobama druge naravi, primjerice kod bolesnika s bolovima u prsima i pritom nekonkluzivnim EKG-om (zbog bloka lijeve grane, hipertrofije ili opterećenja lijeve klijetke, postinfarktne aneurizmatске elevacije ST spojnice ili uz lažno negativni, „nijemi“ EKG), kod bolesnika s normaliziranim EKG-om nakon protekle epizode bolova u prsima, ali isto tako i kod nalaza „nijeme“ ishemije miokarda, bez stenokardije, kada je pri ergometrijskom testiranju teško razlučiti radi li se o stvarno ili lažno pozitivnom elektrokardiografskom nalazu.

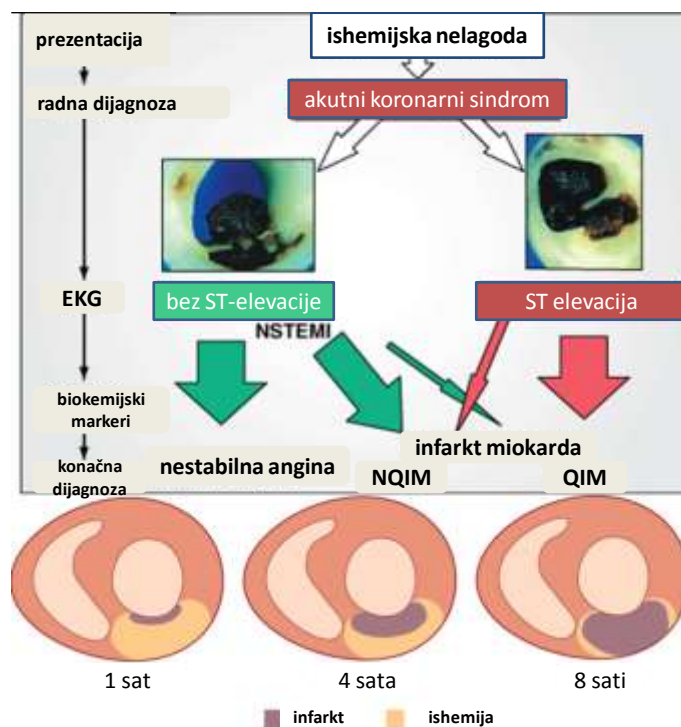
Zbog spomenutih dijagnostičkih poteškoća sve se intenzivnije provode istraživanja potencijalnih biokemijskih markera reverzibilne ishemije miokarda koji bi mogli imati veliku dijagnostičku i prognostičku važnost.

U tu svrhu su testirani brojni markeri, od kojih će u ovom tekstu biti spomenuti slijedeći: slobodne masne kiseline nevezane za albumin (engl. *unbound free fatty acids*, FFA<sub>U</sub>), BB izoenzim glikogen-fosforilaze (engl. *glycogen phosphorylase BB*, GPBB), kolin, kopeptin, srčani protein koji veže masne kiseline (engl. *heart fatty acid binding protein*, H-FABP) te kao najperspektivniji marker – ishemijom modificirani albumin (IMA), čija se istraživanja provode i kod nas (Knežević B, 2006), (Dravinski Z, 2004). IMA je jedini komercijalno dostupan marker te licenciran za kliničku upotrebu od strane FDA u SAD-u, ali samo u kombinaciji s troponinom i EKG-om u svrhu isključenja kardijalne ishemije u bolesnika s nejasnim bolovima u prsima (Apple *et al.* 2005).

## 2. AKUTNI KORONARNI SINDROM

### 2.1. Definicija

Naziv akutni koronarni sindrom (AKS) odnosi se na skup kliničkih sindroma uzrokovanih naglim nastankom poremećaja krvotoka u koronarnim arterijama s posljedičnom ishemijom odgovarajućeg dijela miokarda. AKS obuhvaća spektar od nestabilne angine pektoris i infarkta miokarda bez ST-elevacije na EKG-u (NSTEMI, *engl. non ST-elevation myocardial infarction*) do infarkta miokarda sa ST-elevacijom (STEMI, *engl. ST-elevation myocardial infarction*) (slika 1). U užem smislu riječi, akutni koronarni sindrom odnosi se na nestabilnu anginu pektoris i NSTEMI, jer oba ta oblika imaju istu patofiziološku osnovu i isti terapijski pristup.



**Slika 1. Klinički sindromi koji čine akutni koronarni sindrom.** Preuzeto iz: [medicinembbs.blogspot.com/2011/06/what-is-difference-between-nstemi-and.html](http://medicinembbs.blogspot.com/2011/06/what-is-difference-between-nstemi-and.html) (datum pristupa na stranicu: 15.1.2014.)

### 2.2. Epidemiologija

Kardiovaskularne bolesti (KVB) značajan su javnozdravstveni problem diljem svijeta. KVB su vodeće nezarazne bolesti, odgovorne za gotovo polovinu smrtnosti od nezaraznih bolesti. Prema podacima Svjetske zdravstvene organizacije (WHO),

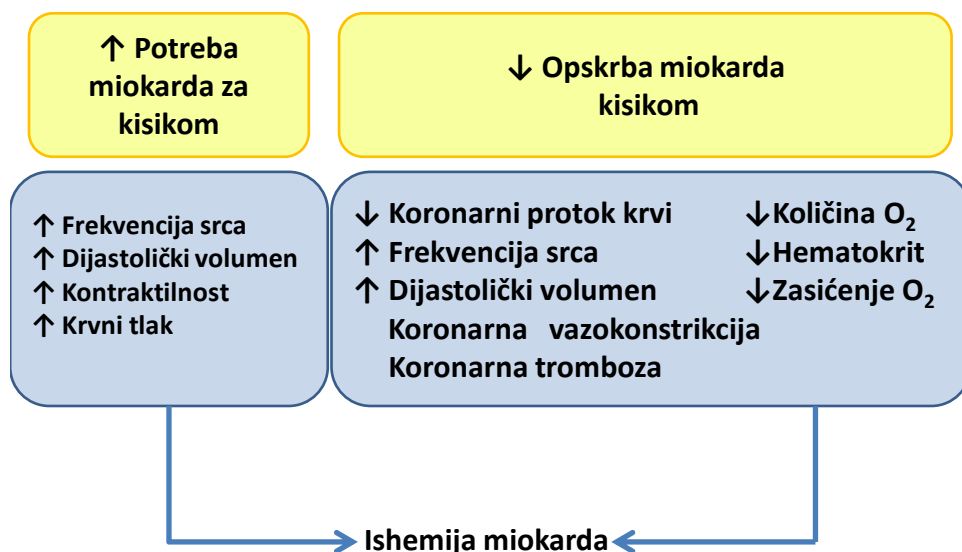
2008. godine KVB su bile uzrok smrti 17,3 milijuna ljudi u svijetu (30% sveukupne smrtnosti), od toga 7,3 milijuna smrti od ishemijskih bolesti srca. Udio prijevremenih smrti od KVB varira od 4% u visoko dohodovnim zemljama do 42% u nisko dohodovnim zemljama. Procjenjuje se da će zbog KVB do 2030. godine godišnje umirati 23,6 milijuna ljudi (WHO, 2011) (Mendis *et al.* 2011). Međutim, u nekim razvijenim zemljama došlo je do smanjenja smrtnosti i do 50% u posljednjih 30 godina (npr. SAD, Finska), što ukazuje na mogućnost utjecaja na obolijevanje i umiranje od kardiovaskularnih bolesti.

Na razini Europe KVB su odgovorne za nešto više od četiri milijuna smrti godišnje, odnosno 47% svih smrti (52% smrtnosti u žena i 42% u muškaraca), a u zemljama Europske Unije (EU) odgovorne su za 40% smrti (43% smrtnosti u žena i 36% u muškaraca). Nešto manje od polovine smrti od KVB uzrokovano je ishemijskim bolestima srca u muškaraca i žena. U većini zemalja sjeverne, zapadne i južne Europe smrtnost, incidencija i letalitet od KVB opadaju posljednjih tridesetak godina, dok u nekim zemljama srednje i istočne Europe incidencija i letalitet još uvijek rastu (Nichols *et al.* 2012).

U Hrvatskoj su KVB također vodeći uzrok smrti s udjelom od 48,3% u ukupnoj smrtnosti 2012. godine. U 2012. godini umrlo je 24.988 osoba od KVB, a od toga 14.133 žena i 10.855 muškaraca. Najčešće dijagnostičke podskupine kao uzrok smrti su ishemijske bolesti srca s udjelom od 22,2% (11.464 umrle osobe). Analizirajući kretanje smrtnosti od KVB uočava se trend smanjenja smrtnosti posljednjih deset godina (18,3%), što je izraženije za cerebrovaskularne bolesti, nego za ishemijsku bolest srca i to osobito za dob 0-64 godine (Kralj 2012).

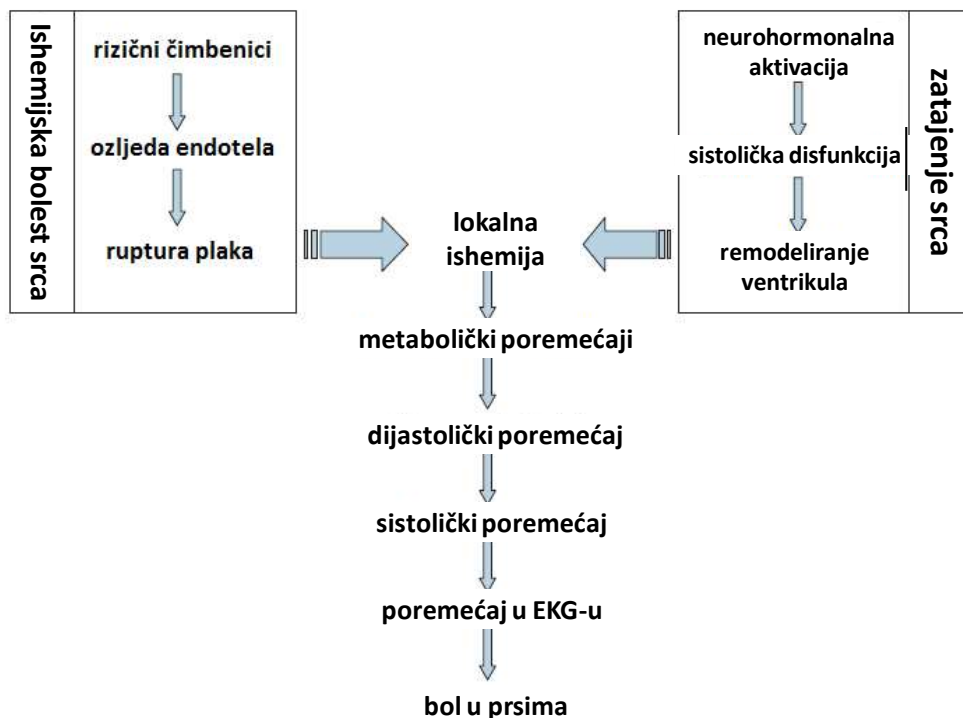
### **2.3. Patofiziologija ishemije miokarda**

Ishemija miokarda nastaje kada nastane neravnoteža između potrebe i opskrbe miokarda kisikom (*slika 2*).



**Slika 2.** Dijagram patofiziologije zbog povećane potrebe miokarda za kisikom/ smanjene opskrbe kisikom. Preuzeto iz: Miller 7<sup>th</sup> ed, Fig. 62-18

Posljedična hipoksija i anaerobni metabolizam glavna su metabolička obilježja ishemije nakon čega slijede poremećaj funkcije miokarda, promjene u EKG-u te klinički simptomi (*slika 3*).

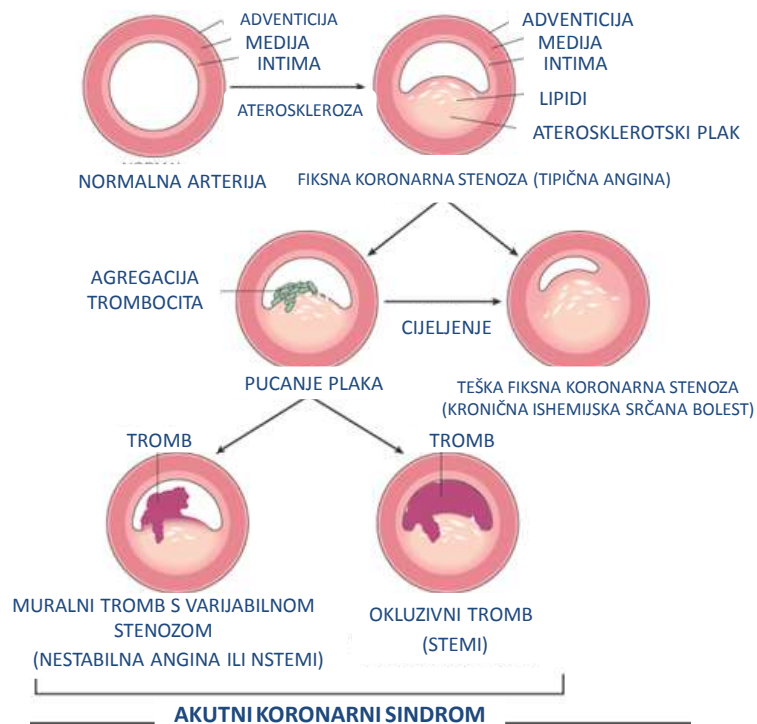


**Slika 3.** Razvoj ishemije u ishemičnoj kaskadi. Preuzeto iz: Gaze 2013. InTechOpen.

Potreba miokarda za kisikom ovisi o nekoliko čimbenika od kojih su najvažniji srčana frekvencija, kontraktilnost miokarda, tlačno opterećenje ili „afterload“ i volumno opterećenje odnosno napetost stijenki ventrikula ili „preload“. S druge strane, opskrba miokarda kisikom prije svega ovisi o koronarnoj cirkulaciji. Normalna koronarna cirkulacija ima dovoljnu vazodilatacijsku rezervu za povećanje protoka kako bi zadovoljila povećanu potrebu za kisikom koja nastaje tijekom tjelesne aktivnosti ili stresa druge etiologije. Za razliku od zdravih, aterosklerotski promijenjene koronarne arterije već u ranim stadijima bolesti, prije nastanka značajnog suženja, gube normalnu vazodilatacijsku rezervu. Zbog toga pri povećanim potrebama miokarda za kisikom (s ishemijom ili bez nje, ovisno o kompenzacijskim mehanizmima) ne može doći do adekvatnog povećanja koronarnog protoka. U ranoj fazi bolesti to je prije svega posljedica disfunkcije endotela koja rezultira smanjenim stvaranjem dušikovog monoksida – NO. Kako aterosklerotski proces napreduje i nastanu značajna suženja, koronarni protok biva smanjen već u mirovanju, a u slučaju porasta potrebe miokarda za kisikom dodatno je povećanje koronarnog protoka nedovoljno pa nastaje ishemija.

Izolirano gledajući, aterosklerotski plak dovodi do suženja koronarne arterije, a ovisno o tipu plaka razlikuju se različiti klinički sindromi (*slika 4*). Tako stabilni aterosklerotski plak sa suženjem promjera koronarne arterije za pedeset ili više posto u slučaju porasta potrebe miokarda za kisikom može dovesti do ishemije miokarda (fiksna stenoza). Stabilni aterosklerotski plak može biti uzrokom ishemije ukoliko sužava arteriju i za manje od 50%, budući da prateća disfunkcija endotela u susjednim „zdravim“ segmentima arterije može dovesti do koronarnog spazma (dinamička stenoza) i posljedičnog smanjenja opskrbe miokarda kisikom.

S druge strane, nestabilni plak je mjesto gdje aterosklerotska bolest u slučaju ruptуре plaka prelazi u aterotrombotsku, pri čemu formiranjem tromba na rupturiranom plaku dolazi do povećanja stupnja stenoze i smanjenja opskrbe miokarda kisikom. Takvo pogoršanje može biti prolazno ukoliko se tromb spontano lizira (još jedan oblik dinamičke stenoze) ili trajno ako dođe do organizacije tromba i stvaranja stabilnog aterosklerotskog plaka s većim stupnjem suženja od onoga prije nastanka tromba (način progresije odnosno rasta aterosklerotskog plaka). Tromb koji nastaje na mjestu rupturiranog plaka može ne samo povećati stupanj stenoze nego i potpuno zatvoriti arteriju (okluzija).



**Slika 4. Patogeneza akutnog koronarnog sindroma.** Preuzeto sa: <http://medicinembbs.blogspot.com/2011/01/cadcoronary-artery-disease.html>. (datum pristupa na stranicu: 15.1.2014.)

Patogeneza koronarne ateroskleroze je multifaktorijalna. Ozljedom endotela dolazi do adhezije i migracije leukocita iz cirkulacije u intimu stijenke koronarne krvne žile te migracije glatkih mišićnih stanica iz medije u intimu. Makrofazi, regrutirani u stijenku arterije, uslijed nakupljanja kolesterola iz oksidiranih LDL-čestica postaju pjenaste stanice koje čine prvu fazu u tvorbi ateroma, dakle prvu fazu procesa aterogeneze.

Prema dosadašnjim saznanjima, za kliničku manifestaciju ateroskleroze nije toliko bitna veličina ateroma, koliko njegov sastav. Postoje mali ateromi koji se sačinjeni pretežito od lipida, mnoštva makrofaga pretrpanih lipidima i upalnih stanica, prekriveni tankom vezivnom kapom. Istraživanja su pokazala da se na rubovima takvih ateroma nalazi mnoštvo makrofaga i limfocita T, uz relativno malo stanica glatkog mišićja. Makrofagi i limfociti luče upalne medijatore koji inhibiraju sintezu kolagena te induciraju proizvodnju metaloproteinaza. Sve to dovodi do lakšeg pucanja vezivne kape plaka, pa se takvi ateromi nazivaju se još i nestabilnim, vulnerabilnim ili ranjivim. Zbog prisutne upalne komponente nazivaju se i aktiviranima.

Pucanjem fibrozne kape dolazi do prodora krvi iz lumena u aterom te posljedičnog doticaja faktora koagulacije iz lumena i trombogenog sadržaja lipidne jezgre. Na tom



mjestu formira se jezgra tromba. Okluzivni proces se zatim širi u lumen krvne žile agregacijom trombocita u fibrinsku mrežu. Djelomično začepljenje uzrokuje ishemiju, odnosno nekrozu ukoliko već postoji neravnoteža opskrbe miokarda kisikom, a potpuno začepljenje prvotno dovodi do ishemije koja napreduje u nekrozu ukoliko se začepljenje nastavi (>20min) i ukoliko nije razvijena odgovarajuća kolateralna opskrba krvlju. Kod nekih bolesnika s kroničnom ishemijskom bolesti i razvijenim kolateralnim krvnim žilama niti potpuna okluzija koronarne arterije ne mora nužno dovesti do infarkta miokarda niti do ST-elevacije na elektrokardiogramu. Nekada može doći do spontane razgradnje tromba ili organizacije muralnog tromba, što neće uzrokovati kliničke simptome. Daljnjom fibrozom i procesom cijeljenja tanka fibrozna kapa i nestabilni plak pretvaraju se u stabilni plak s debelim fibroznim slojem.

Ishemija miokarda, u čijoj je osnovi neravnoteža između opskrbe i potrebe miokarda za kisikom, može nastati i bez ateroskleroze koronarnih žila. Neaterosklerotski uzroci koronarne stenoze mogu se pronaći kod pacijenata s kongenitalnim anomalijama koronarnih arterija (rijetko prisutnim u odrasloj populaciji), kolagenim bolestima krvnih žila, stenozom aortnog zaliska, ili hipertrofijskom kardiomiopatijom. Navedeni uzroci dovode do takozvane opskrbne ishemije (engl. *supply ischaemia*). Razvoj nestabilne angine može biti ubrzan i smanjenim koronarnim protokom krvi pri hipotenziji, ili smanjenom opskrbom miokarda kisikom pri anemiji ili hipoksemiji. Nerijetko su istovremeno prisutna dva ili više uzroka opskrbne ishemije.

S druge strane ishemija nastala zbog povećanih potreba miokarda za kisikom dok je koronarna arterija sužena ali protočna naziva se zahtjevnom ishemijom (engl. *demand ischaemia*). Zahtjevna ishemija može se primjerice uočiti kod tjelesnog napora, vrućice, hipertireoidizma, ili dugotrajne tahikardije.

Nema značajne razlike u kliničkoj slici pacijenta s ishemijom miokarda bilo da je uzrok koronarna ateroskleroza, bilo da su u pitanju drugi koronarni i nekoronarni uzroci ishemije miokarda.

## **2.4. Klinička slika**

Ishemija miokarda klinički se može manifestirati na više načina. Pacijenti se najčešće prezentiraju pojavom boli u prsnom košu pri fizičkom opterećenju, hladnom vremenu ili emocionalnom uzbuđenju, koja prolazi nakon kratkog odmora ili terapije

sublingvalnim nitroglicerinom. Bol traje dvije do deset minuta. Ova nelagoda poznata je i kao stabilna angina pectoris.

Akutna bol u prsnom košu može se javiti i u mirovanju te se u pravilu širi u lijevu ili obje ruke, rame i donju čeljust (zbog zajedničkog izlaza senzornih neurona srca i navedenih područja iz stražnjeg roga kralješničke moždine), nije strogo lokalizirana i može biti popraćena dispnejom, prekomjernim znojenjem, povraćanjem, osjećajem slabosti ili pojačanom anksioznosti. Ne popušta na upotrebu nitroglicerina te traje duže od 15-20 minuta. Ova klinička slika upućuje na nestabilnu anginu pectoris ili infarkt miokarda.

Bolesnici katkad umjesto o boli govore o težini, pritisku ili osjećaju nelagode u prsima. Žene se u manjoj mjeri od muškaraca prezentiraju tipičnim simptomima pa ponekad opisuju samo slabost, umor, probadanje u prsima ili bol u epigastriju (Kosuge *et al.* 2006). Atipični simptomi također su češći u starijoj populaciji i kod pacijenata koji boluju od dijabetesa. Kod njih se može javiti dispneja ili osjećaj anksioznosti bez boli u prsima. Dok tipični simptomi povećavaju vjerojatnost dijagnoze AIM, atipične prezentacije ne smiju se rabiti u svrhu isključenja dijagnoze. Nedavno istraživanje je pokazalo da i do 60% AIM spada u tihe AIM- bez boli u prsima i bilo kojih drugih simptoma (Valensi *et al.* 2011).

## **2.5. Dijagnostički postupak**

Dijagnoza AKS-a se zasniva na kliničkoj slici, prisutnosti rizičnih čimbenika, pažljivoj i brznoj analizi EKG-a, nalazima srčanih enzima, te ehokardiografiji i koronarografiji. Anamneza i status služe za procjenu kliničke slike te procjenu prisutnosti rizičnih čimbenika za AKS, no imaju nisku osjetljivost i specifičnost; njihova vrijednost je u tome što daju uvid u diferencijalne dijagnoze nakon isključenja dijagnoze AKS-a. Klinički status može biti u potpunosti uredan, no pažljivom auskultacijom ponekad se čuje treći ili četvrti srčani ton što upućuje na poremećaj sistole ili dijastole. Nadalje, svakom pacijentu s bolovima u prsima, koja nije traumatski uzrokovana, nužno je snimiti EKG. U istraživanju provedenom na 3027 osoba s mogućim AKS-om osjetljivost EKG-a pri prijemu je bila 80%, a specifičnost 60%, što je premalo da bi se EKG mogao rabiti samostalno bez dodatnih mjerenja vrijednosti biokemijskih markera (Kudenchuk *et al.* 1998). Također se preporuča rutinska uporaba ehokardiografije kako bi se uočili patološki ispadi kontraktilnosti i

isključile diferencijalne dijagnoze (Mohler *et al.* 1998). U slučaju elevacije ST-spojnice svakom pacijentu je potrebno učiniti koronarografiju te perkutanu koronarnu intervenciju unutar 24 sata od nastupa simptoma. S druge strane, ako elevacija ST-spojnice nije zamijećena na EKG-u, individualni rizični čimbenici za ishemiju miokarda te kliničko stanje pacijenta služe u procjeni potrebe za invazivnim zahvatom te vremenom njegova izvođenja (Becker & Merkely 2012).

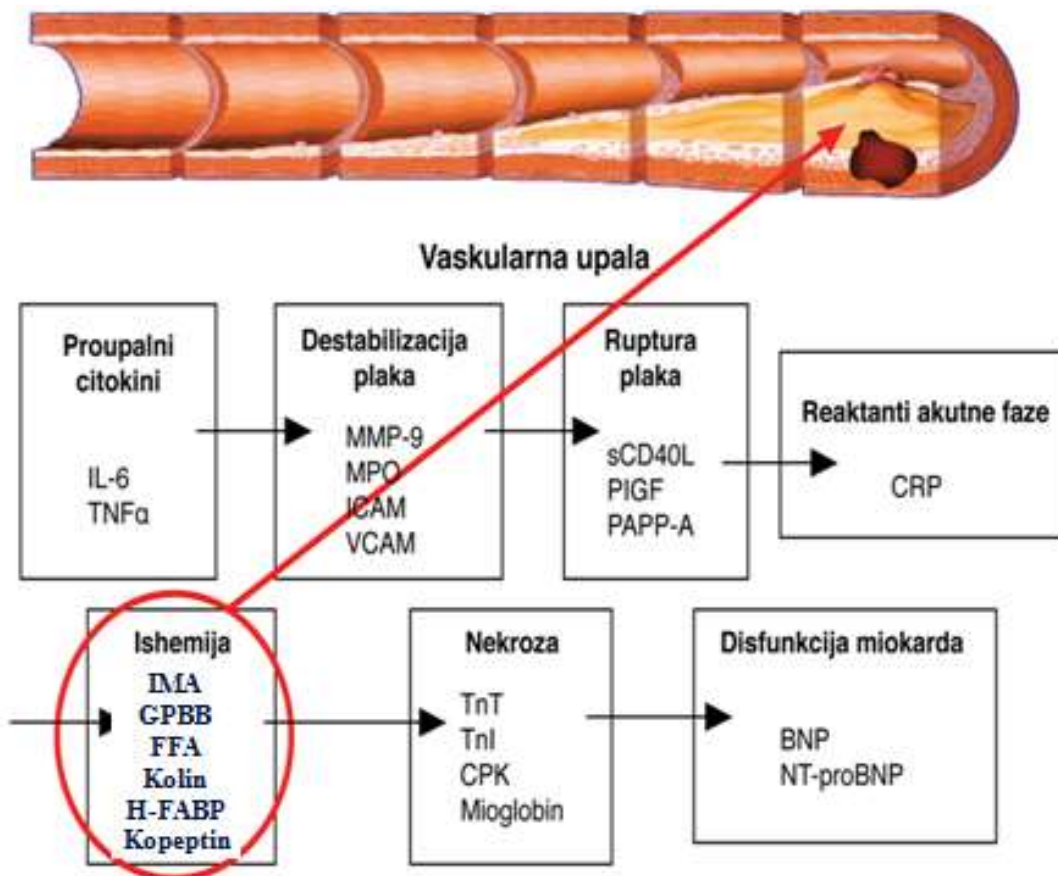
Srčani troponini i kreatin fosfokinaza se rutinski rabe u dijagnostici AKS-a, no njihove koncentracije ne povisuju se unutar prvih nekoliko sati (tri do četiri sata od nastupa boli u prsima) i detektiraju samo nekrozu miokarda, čime se gubi vrijednost rane dijagnostike, prije no što možebitno nastupi nekroza miocita. Zbog toga su postojali pokušaji uvođenja mioglobina u kliničku praksu za ranu dijagnozu, koji nisu zaživjeli s obzirom na nisku specifičnost za srčani mišić (de Winter *et al.* 1995). Posljednjih godina opisano je nekoliko biokemijskih markera koji detektiraju različite stadije razvoja AKS-a (*slika 5*).

S obzirom na svrhu upotrebe, mogu se podijeliti na dijagnostičke i prognostičke. S dijagnostičkog stajališta bitno je pronaći markere koji će otkriti pacijente s AKS-om u fazi reverzibilne ishemije prije razvoja ireverzibilne nekroze miokarda (*slika 6*). Ovaj dijagnostički cilj još je u povojima i za sada nema zlatnog standarda za procjenu ishemije miokarda.

U slučaju da se neki od potencijalnih markera ishemije miokarda pokaže brzim, jednostavnim i pouzdanim testom za utvrđivanje rane ishemije miokarda, njegovo uvođenje u praksu omogućilo bi bržu i precizniju dijagnostiku te posljedično učinkovitiju terapiju u osoba kod kojih postoji aktualna, pa i latentna ishemija.

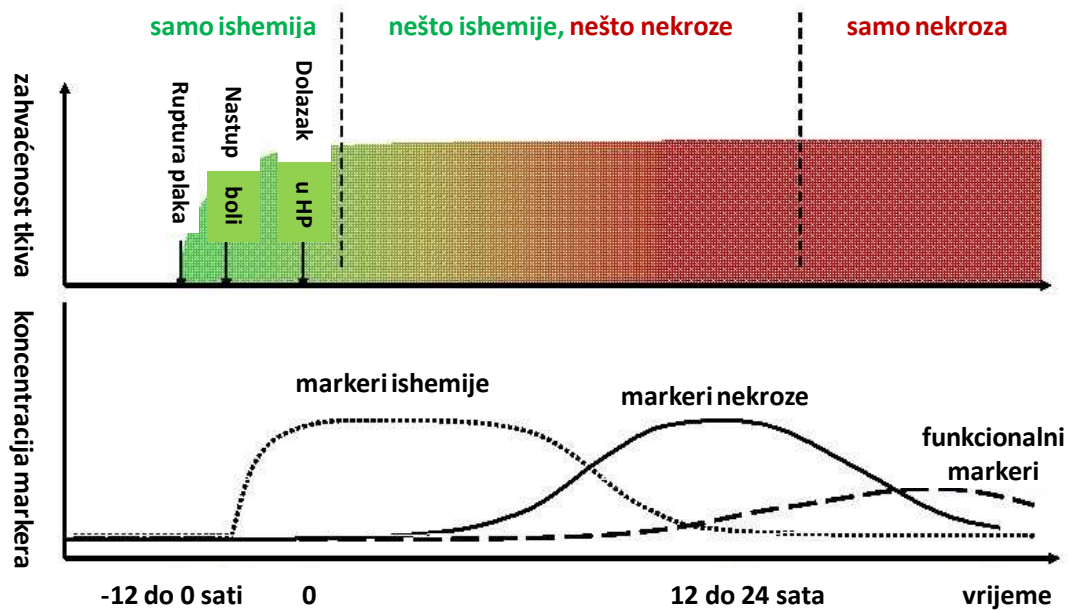
Idealni biomarker ishemije miokarda imao bi sljedeća obilježja (Morrow *et al.* 2003):

- pojavljuje se u krvi rano nakon početka ishemije;
- stabilan je u krvi;
- vraća se na bazalne koncentracije unutar 24 sata;
- jednostavan je za određivanje;
- ima dobra analitička svojstva;
- jeftin je, i, najvažnije,
- ima visoku osjetljivost i specifičnost.



**Slika 5. Biokemijski profil u akutnom koronarnom sindromu:** vaskularna upala → ruptura plaka → ishemijska → nekroza → disfunkcija miokarda. IL-1, interleukin-1; TNF $\alpha$ , faktor nekroze tumora- $\alpha$ ; MMP-9, matriks metaloproteinaza-9; MPO, mijeloperoksidaza; ICAM, unutarstanične adhezijske molekule; VCAM, vaskularne adhezijske molekule; sCD40L, topljivi CD40 ligand; PIGF, faktor rasta placente; PAPP-A, protein plazme A povezan s trudnoćom; CRP, C-reaktivni protein; IMA, ishemijski modifikirani albumin; GPBB, glikogen fosforilaza BB; FFA, slobodne masne kiseline; H-FABP, srčani protein koji veže masne kiseline; TnT, troponin T; TnI, troponin I; CPK, kreatin fosfokinaza; BNP, B-tip natriuretskog peptida; NT-proBNP, N-terminalni proBNP.

Slika preuzeta iz: Apple FS (2005) Clin Chem 51(5): 810-24



**Slika 6. Značaj biokemijskih markera ishemije miokarda u akutnom koronarnom sindromu.** Preuzeto iz: <http://www.intechopen.com/books/ischemic-heart-disease/biomarkers-of-cardiac-ischemia> (datum pristupa na stranicu: 5.3.2014.)

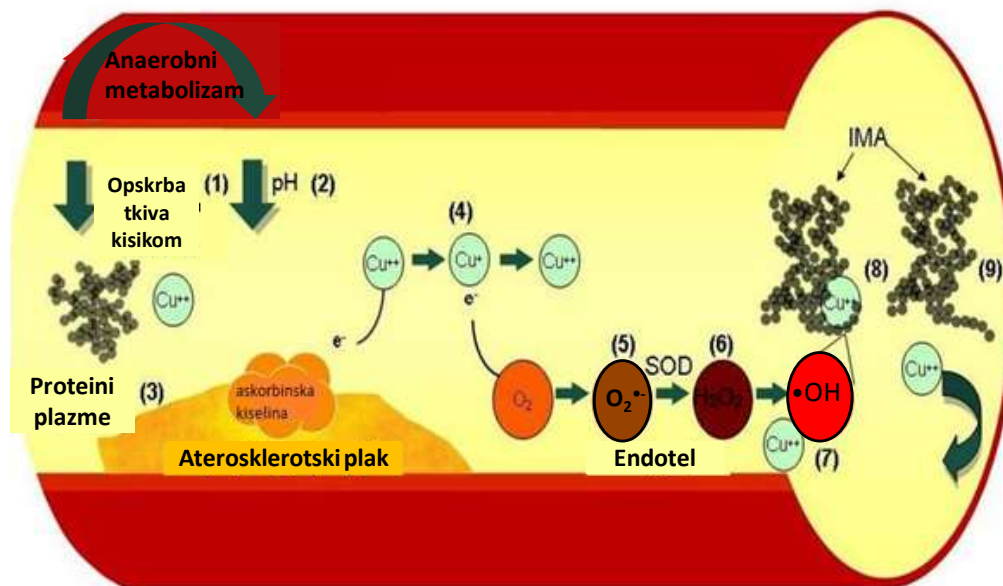
### **3. BIOKEMIJSKI MARKERI ISHEMIJE MIOKARDA**

#### **3.1. Ishemijom modificirani albumin**

N-terminalni kraj humanog serumskog albumina (HSA) je mjesto vezanja tranzicijskih metala, i ima osobitu sklonost kobaltu, bakru i niklu. Osjetljiv je na biokemijsku razgradnju i manje je stabilan od albumina drugih vrsta (Chan *et al.* 1995). Ranih devedesetih godina dvadesetog stoljeća otkriveno je da izloženost HSA ishemičnom tkivu dovodi do promjene sposobnosti N-terminalnog kraja da se veže za ione tranzicijskih metala. Takav oblik HSA naziva se ishemijski modificirani albumin (IMA). Teorijski, za sada nepotvrđen u praksi mehanizam promjene HSA u IMA-u uključuje hipoksiju, acidozu, oštećenje superoksidnim radikalima, pucanje stanične membrane ovisno o energiji, te izloženost slobodnim ionima željeza i bakra (Bar-Or *et al.* 2000, Roy *et al.* 2006) (*slika 7*).

Novija fizikalno-kemijska ispitivanja serumskog albumina i kobalta ukazuju na drugačije objašnjenje stvaranja IMA-e. Smatra se da uslijed povišene koncentracije slobodnih masnih kiselina dolazi do smanjenja sposobnosti albumina da preuzme kobalt (*slika 8*). Koncentracije slobodnih masnih kiselina povišene su tijekom ishemijske miokarda, ali i u drugim uvjetima koji koreliraju s visokim vrijednostima IMA-e.

Poluvrijeme života HSA je 19-20 dana. Prve rezultate kinetike stvaranja i nestanka IMA-e iz cirkulacije dalo je istraživanje provedeno u osoba podvrgnutih angioplastici, gdje se ishemijska inducirala u kontroliranim uvjetima (Bar-Or *et al.* 2001). Koncentracija IMA-e porasla je šest do deset minuta nakon nastupa ishemijske epizode, uz sniženje nakon šest sati i povratak na normalne vrijednosti kroz 12-24 sata. Porast IMA-e nastupio je znatno ranije negoli porast srčanog troponina i natriuretskih peptida, koji su etablirani i najčešće korišteni markeri nekroze i disfunkcije miokarda. Vršne vrijednosti koncentracije IMA-e ovisile su o broju i učestalosti napuhavanja balona – bile su tim više što je balon duže opstruirao protok krvi. Iz toga proizlazi da IMA nije samo pretkazatelj ishemijske epizode nego i indikator težine ishemijske epizode. Određena istraživanja pokazala su kako su se vrijednosti IMA-e normalizirale unutar dva i po sata od PCI kod pacijenata s dijagnozom STEMI (Hjortshøj *et al.* 2009).

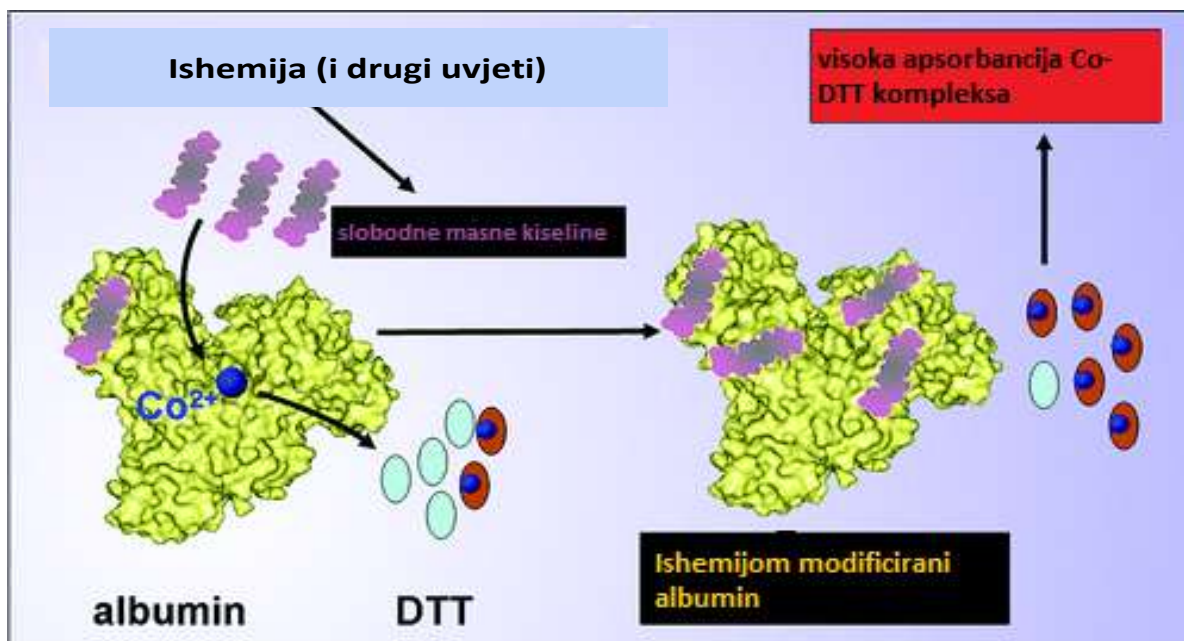


**Slika 7. Pretpostavljeni mehanizam stvaranja IMA-e.** Smanjeni protok krvi rezultira nedostatnom opskrbom tkiva kisikom (1), što pak uzrokuje niži pH (2). Bakar ( $\text{Cu}^{++}$ ) se otpušta s mjesta slabog vezanja na bjelančevine plazme (3). Metal je vezan na N-terminalnom dijelu. U prisutnosti askorbinske kiseline  $\text{Cu}^{++}$  se pretvara u  $\text{Cu}^{+}$  (4) koji reagira s kisikom, pa se stvaraju radikali superoksida ( $\text{O}_2^{\cdot -}$ ) (5). Enzim superoksid dismutaza (SOD) dismutira  $\text{O}_2^{\cdot -}$  stvarajući tako vodikov peroksid ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) (6). Vodikov peroksid se uobičajeno bezopasno rastvara na vodu i kisik djelovanjem jednog drugog enzima, katalaze. Međutim, u prisutnosti metala kao što je bakar,  $\text{H}_2\text{O}_2$  podliježe Fentonovoj reakciji i stvara hidroksilne slobodne radikale ( $\text{OH}^{\cdot}$ ) (7). Serumski albumin čisti slobodni bakar ( $\text{Cu}^{++}$ ) koji se tada čvrsto veže na N-terminalni kraj.  $\text{OH}^{\cdot}$  je visoko reaktivan i sposoban oštetiti nukleinske kiseline, lipide i bjelančevine, uključujući albumin. Jedno od mjesta oštećenja je N-terminalni kraj, gdje  $\text{OH}^{\cdot}$  mijenja aminokiseline (8). Promijenjeni albumin ne može se vezati na  $\text{Cu}^{++}$ , pa se vezani bakar oslobađa iz veze s albuminom (9), gdje ga po hipotezi Marxa ponovno može preuzeti N-terminalni kraj drugog albumina u lančanoj reakciji, na taj način ponavljajući proces vezanja albumina i stvaranja  $\text{OH}^{\cdot}$ . Slika preuzeta iz: Gaze DC (2009) Drug Metab Pharmacokinet 24(4): 333-41.

U oba ova slučaja prikaza kinetike IMA-e primjetna je znatna razlika između poluvremena života HSA i IMA-e, gdje se kratki poluživot IMA-e teorijski može objasniti reverzibilnom kemijskom promjenom HSA ili proteolitičkom razgradnjom IMA-e.

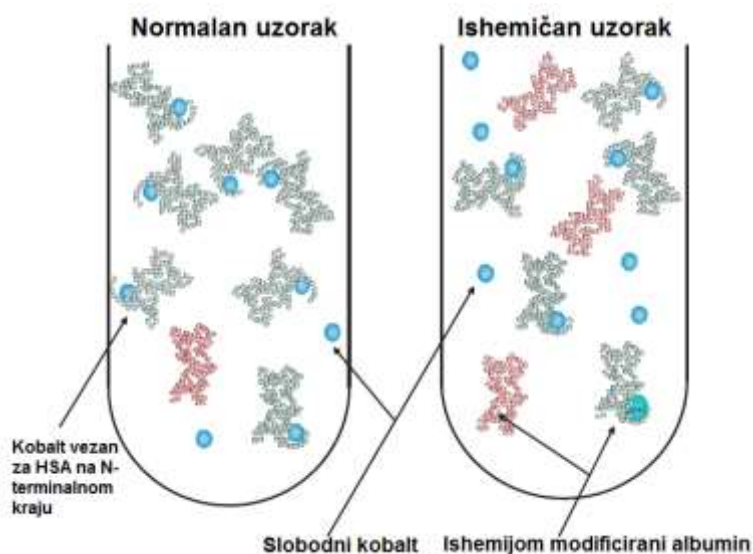
Test vezanja kobalta za albumin (ACB test, engl. *Albumin Cobalt Binding test*) je klinički kemijski test kojim se neizravno određuje koncentracija IMA-e mjerenjem kapaciteta albumina da veže kobalt. Unaprijed određena količina kobalta doda se u uzorak seruma pri čemu se kobalt veže za HSA, ali ne i za IMA-u. Zbog toga je koncentracija IMA-e proporcionalna koncentraciji slobodnog kobalta, što se





**Slika 8. Noviji pretpostavljeni mehanizam stvaranja IMA-e.** Kemijski definiranim modelom koji se sastojao od goveđeg serumskog albumina, kobalta te miristata (sol miristinske masne kiseline), proučavana je povezanost koncentracije miristinske masne kiseline i vezanja kobalta za albumin. Mjerenja su provedena izotermalnom titracijskom kalorimetrijom, <sup>111</sup>Cd NMR spektroskopijom, i ACB testom. Opaženo je značajno smanjene vezanja kobalta za albumin nakon što se dodao miristat, što je posredno dokazano povišenom apsorbancijom spoja Co-ditiotreitola. Smanjena mogućnost vezanja kobalta za albumin bila je usporediva s onima kod kliničkih ACB testova. DTT- ditiotreitol. Slika preuzeta iz: Jin Lu (2012) *J Med Chem*, 10;55(9):4425-30

mjeri metodom spektrofotometrije nakon dodavanja ditiotreitola (izvor svjetlosti) koji na sebe veže sav nevezani kobalt (Wu *et al.* 2001) (slika 9).



**Slika 9. Mjerenje IMA-e ACB testom.** Slika preuzeta iz: Gaze 2013. InTechOpen.



Uzorke je potrebno analizirati unutar dva i po sata od prikupljanja krvi, te treba izbjeći razrjeđivanje uzorka. No, serum zamrznut na  $-20^{\circ}\text{C}$  može se čuvati vremenski neograničeno, pod uvjetom da je zamrznut unutar jednog sata od prikupljanja krvi (Gidenne *et al.* 2004). Osim ručnih, koriste se i automatski spektrofotometri (Gidenne *et al.* 2004). Također je opisana automatska metoda mjerenja kapaciteta vezanja HSA za nikal (da Silva *et al.* 2011).

Porast koncentracije IMA-e nije specifičan samo za srčanu ishemiju. Teoretski gledano, IMA može nastati tijekom ishemije bilo kojeg tkiva ili organa. Razna istraživanja su pak pokazala porast vrijednosti IMA-e tijekom plućne embolije, pri čemu se IMA nudi dobrom alternativom mjerenju D-dimera (Turedi *et al.* 2007), ishemijskog moždanog udara (Senes *et al.* 2007), kronične bubrežne bolesti (Sharma *et al.* 2007), hemodijalize (Kiyici *et al.* 2010, Albarello *et al.* 2012), hiperlipidemije i pretilosti (Valle Gottlieb *et al.* 2010, Kazanis *et al.* 2011), dijabetesa (Piwowar *et al.* 2008), mezenterijske ishemije (Polk *et al.* 2008), preeklampsije (Papageorghiou *et al.* 2008) i drugih bolesti.

Validacija bilo kojeg testa ishemije miokarda u kliničkoj praksi je upitna s obzirom da trenutno nema prihvaćenog dijagnostičkog zlatnog standarda, kojim se nekad smatrao laktat u krvi, te da nema testa koji bi se izvodio paralelno u svrhu usporedbe rezultata.

Većini pacijenata koji se u hitnoj službi prezentiraju s bolovima u prsima i suspektnim AKS-om na kraju bude isključena dijagnoza akutnog infarkta miokarda i nestabilne srčane angine. Zbog toga bi idealna uloga biomarkera ishemije miokarda bila da služi kao test isključenja i time bi mu najlogičnija bila uporaba u hitnoj službi. U istraživanju na 208 pacijenata pregledanih u hitnoj službi unutar tri sata od nastupa bolova u prsima, osjetljivost IMA-e je bila 82% i specifičnost 46%, dok je kombinacija elektrokardiograma, troponina T i IMA-e identificirala 95% osoba kod kojih se bol u prsima mogla pripisati ishemijskoj srčanoj bolesti (Sinha *et al.* 2004). Nadalje, u istraživanju na 538 pacijenata primljenih zbog bolova u prsima ustanovljena je 100% osjetljivost IMA-e i cTnT-a mjerenih zajedno pri prijemu za konačnu dijagnozu AIM (Collinson *et al.* 2006). Čini se da mjerenje IMA-e ima najveću korist kada se rabi istovremeno s drugim testovima ili kao slijed testova. Prospektivno opservacijsko istraživanje pokazalo je da mjerenje IMA-e i troponina T kod dolaska ima visoku osjetljivost (97,6%), ali znatno nižu specifičnost (13,6%) u razlikovanju tegoba uzrokovanih ishemijom miokarda od neishemične boli (Abadie *et al.* 2005).

Mišljenja istraživača se, međutim, razilaze oko pitanja da li IMA, mjerena bilo sama bilo u kombinaciji sa srčanim troponinom, ili nekim drugim markerom srčane nekroze, ima dijagnostičku vrijednost. Prospektivno istraživanje uključivalo je 277 pacijenata s bolovima u prsima hitnoj službi s ciljem utvrđivanja dijagnostičke vrijednosti IMA-e rabljene zajedno s troponinom u stratifikaciji rizika za razvoj AIM. IMA i troponin su mjereni kao početni markeri te troponin nakon osam sati kao konačni test. Osjetljivost početnog testa bila je 97,6%, specifičnost 13,6%, PPV 16,8% te NPV 97%. Istraživači su smatrali da IMA rabljena zajedno s troponinom nema dovoljno dobru dijagnostičku vrijednost u usporedbi sa samim troponinom ponajviše zbog niske specifičnosti testa (Keating *et al.* 2006). Drugo veliko prospektivno istraživanje koje je uključivalo 189 pacijenata u hitnoj službi s bolovima u prsima. Pokazalo je da je IMA loš prediktor razvoja ozbiljnih srčanih komplikacija (smrt, AIM, kongestivno srčano zatajenje, teške aritmije, simptomi boli u prsima u trajanju dužem od 15 min) unutar 72 sata (Worster *et al.* 2005).

Dijagnostička točnost ACB testa upitna je kod ekstremno sniženih ili povišenih vrijednosti albumina u serumu (Hakligör *et al.* 2010), posebice ukoliko se ne upotrebljavaju korektivne formule za standardizaciju nalaza (Lippi *et al.* 2007). Još jedan analitički problem jest ovisnost vrijednosti IMA-e o promjeni temperature testa. Vrijednosti su se dijagnostički značajno razlikovale na sobnoj temperaturi i pri 37°C (Hausen *et al.* 2012).

Najkonzistentniji nalaz u mnoštvu istraživanja o IMA-i je visoka negativna prediktivna vrijednost (NPV). To je istaknuto metaanalizom podataka u više od 1800 osoba s bolovima u prsima kojom se utvrđivala uloga IMA-e kao testa isključenja AKS-a. Utvrđeno je da rezultat IMA-e ima 91% NPV za isključenje AKS-a, što se povisuje na 97% kad ga se koristi u kombinaciji s mjerenjima troponina T i normalnim ili nedijagnostičkim EKG-om mjerenih unutar tri sata od nastupa bolova u prsima (Peacock *et al.* 2006).

Nedavno istraživanje, provedeno na 60 pacijenata s AIM i 40 kontrola, pokušalo je utvrditi vrijednost nalaza IMA-e u slini kod pacijenata s AIM te ih usporediti s vrijednostima IMA-e u serumu. IMA je mjerena prvi i drugi dan od samog početka AIM pomoću kolorimetrijske metode. Vrijednosti IMA-e u slini bile su značajno povišene prvi dan nakon AIM-a ( $P < 0.05$ ) te je utvrđena pozitivna povezanost vrijednosti IMA-e u slini i vrijednosti u serumu prilikom oba dana mjerenja ( $R = 0.298$ ,

$P < 0.05$ ;  $R = 0.319$ ,  $P < 0.05$ ). U zaključku se smatra da se vrijednosti IMA-e u slini mogu rabiti kao alternativni marker za dijagnozu AIM-a (Toker *et al.* 2013).

Prognostička vrijednost IMA-e istraživana je kod pacijenata s AKS-om (Consuegra-Sanchez *et al.* 2008, Aparci *et al.* 2007, Bali *et al.* 2008, Van Belle *et al.* 2010). Uz graničnu vrijednost dobivenu analizom ROC krivulje od 477 KU/L, utvrđena je značajno viša jednogodišnja smrtnost kod pacijenata koji su imali vrijednosti IMA-e  $>477$  KU/L. Rabeći Coxov regresijski model, IMA je bila prediktor smrtnosti neovisno o nalazima povišenog krvnog tlaka, dijabetesa ili starije životne dobi (Aparci *et al.* 2007). U većem istraživanju na 207 pacijenata koji su se javili u hitnu službu unutar tri sata od početka bolova u prsima, od kojih je 31 umro unutar 30 dana od prezentacije (srčana smrt, AIM ili rekurentna angina) te 16 unutar jedne godine (svi uzroci smrti), procjenjivana je kratkoročna i dugoročna prognostička vrijednost IMA-e. Zapažena je značajno viša kratkoročna (20,4% vs. 9,6%,  $P = 0,03$ ) i dugoročna stopa smrtnosti (11,7% vs. 3,8%,  $P = 0,046$ ) kod pacijenata s nalazom IMA-e  $>93.3$  KU/L (Consuegra-Sanchez *et al.* 2008). U Francuskoj je provedeno istraživanje na 471 pacijentu s dijagnozom AIM u svrhu utvrđivanja vrijednosti IMA-e, mjerene unutar 24 sata, kao pretkazatelja lošeg ishoda nakon mjesec dana te nakon godinu dana od postavljanja dijagnoze. Rabeći kvartilnu analizu, od svih pacijenata s lošim ishodom, njih 40% je imalo IMA koncentracije u najvišem kvartilnom razredu ( $>104$  KU/L), dok je samo 20% bilo u najnižem kvartilnom razredu ( $<83$  KU/L) (Van Belle *et al.* 2010). Kod pacijenata s dijagnozom STEMI, liječenih perkutanom koronarnom intervencijom, IMA je snažan pretkazatelj 30-dnevne smrtnosti, no ne daje dodatnu prognostičku vrijednost TIMI (engl. *Thrombolysis In Myocardial Infarction*) skor u rizika (Dominguez-Rodriguez *et al.* 2009).

### **3.2. Kopeptin**

Preprovazopresin je prekursor nekoliko peptida: antidiuretskog hormona (ADH), kopeptina i neurofizina II. Antidiuretski hormon sudjeluje u regulaciji endogenog odgovora na stres putem hipotalamo-hipofizno-adrenalne sprege, potiče bubrežno zadržavanje vode te sudjeluje u osmoregulaciji i kardiovaskularnoj homeostazi. Kopeptin, C-terminalni kraj preprovazopresina, je glikopeptid dug 39 aminokiselina, kojemu još uvijek nije poznata uloga u cirkulaciji (*slika 10*).



**Slika 10. Prekursor preprovazopresin, dug 164 aminokiseline.** Preuzeto iz: Nickel *et al.* (2012). *BMC Medicine*

Utvrđeno je da se koncentracija ADH povećava pri zatajenju srca te pri različitim vrstama šoka, no kao marker je nestabilan budući da ima kratko poluvrijeme života (5-15 min). Kopeptin ima sličnu kinetiku kao ADH u *in vivo* uvjetima, dok je u *in vitro* uvjetima stabilniji te se može detektirati unutar jedan do dva tjedna na sobnoj temperaturi. Zahvaljujući stabilnosti *in vitro*, kopeptin se rabi kao surogatni marker nestabilnog ADH (Morgenthaler *et al.* 2006, Reichlin *et al.* 2009).

U istraživanju (Keller *et al.* 2010) ustanovljena je 75% senzitivnost kopeptina u otkrivanju infarkta miokarda unutar tri sata od nastupa bolova u prsima kada je rabljen sam, dok je senzitivnost porasla na 85% u kombinaciji s TnT-om. Utvrđeno je da su vrijednosti kopeptina značajno povišene kod pacijenata s AIM u usporedbi s pacijentima s drugim dijagnozama, kao što su nestabilna angina, srčani simptomi nekoronarnog uzroka, nesrčani simptomi i simptomi nepoznatog uzroka (20.8 pmol/l vs. 6.0 pmol/l,  $p < 0.001$ ), ali samo kad se kopeptin određuje unutar četiri sata od nastupa simptoma (Reichlin *et al.* 2009). Rabeći graničnu (engl. *cutoff*) vrijednost kopeptina  $<14\text{pmol/L}$  u kombinaciji s  $\text{TnT} < 0.01\ \mu\text{g/L}$ , senzitivnost u dijagnostici AIM bila je 98,8%, a NPV 99,7%. No, pacijenti kojima je konačna dijagnoza bila nestabilna angina pectoris, imali su vrijednosti slične kao i pacijenti s drugim uzrocima boli u prsima što u ovom slučaju ukazuje da kopeptin ne otkriva ishemiju miokarda nego samo nekrozu (Reichlin *et al.* 2009).

Istraživanje koje je mjerilo vrijednosti hs-TnT-a (engl. *highly sensitive troponin T*) i kopeptina kod bolesnika sa suspektnim AIM pri dolasku u hitnu službu u svrhu isključenja dijagnoze, pokazalo je pozitivnu korelaciju između ova dva markera ( $r=0,41$ ;  $P < 0.001$ ). Rabeći *cutoff* vrijednost hs-TnT-a  $<14\ \text{pg/mL}$  osjetljivost je bila 92,3%, specifičnost 53,5%, PPV 16,7%, te NPV 98,6%, dok je osjetljivost kopeptina bila 69,2%, specifičnost 47,3%, PPV 11,7% te NPV 93,9%. Kada su ova dva markera upotrijebljena zajedno, osjetljivost za rano isključenje dijagnoze AIM iznosila je 100%, specifičnost 34,9%, PPV 13,4% i NPV 100% (Lotze *et al.* 2011). Slične rezultate

pokazalo je i istraživanje (Maisel *et al.* 2013) na 1967 ispitanika s bolovima u prsima koji su se prezentirali u hitnoj službi unutar šest sati od početka simptoma, s tim da su se mjerili cTnI i kopeptin. NPV kombinacije ova dva markera za isključenje AIM bila je 99%. U istraživanju (Thelin *et al.* 2013) prikazano je da hs-TnT i kopeptin sami nisu dovoljni za rano isključenje dijagnoze AKS-a, ali imaju veću osjetljivost za dijagnozu AKS-a (83%) nego ponavljana mjerenja hs-TnT (77%).

Istraživanje koje se bavilo prognostičkim potencijalom kopeptina kod pacijenata s dijagnozom AIM pokazalo je da je kopeptin neovisni prediktor zatajenja srca ili smrti 60 dana nakon AIM. Koncentracija kopeptina bila je najviša pri prijemu te je dosegla plato od trećeg do petog dana. Stalno povišene razine kopeptina u ovim danima iza prijema povezane su s većom smrtnošću te ponovnim prijemom zbog zatajenja srca, neovisno o već etabliranim konvencionalnim faktorima rizika (Khan *et al.* 2007). Također je dokazana vrijednost kopeptina, rabljenog zajedno s GRACE bodovanjem rizika pri AKS-u, kao prediktora smrtnog ishoda bilo kojeg uzroka šest mjeseci nakon dijagnosticiranja NSTEMI (Narayan *et al.* 2011). S druge strane, u istraživanju (Sánchez *et al.* 2013) kod pacijenata s NSTEMI nije dokazana dodatna prognostička vrijednost kopeptina zajedno s troponinom naspram same prognostičke vrijednosti troponina u prognoziranju teških komplikacija kao što su smrtni ishod, komplikacije koronarne bolesti i moždani udar nakon mjesec dana.

Što se tiče ograničenja potencijalne upotrebe kopeptina, istraživanje (Bhandari *et al.* 2009) je pokazalo povišene vrijednosti kopeptina kod zdravih muškaraca u odnosu na žene, te povišene vrijednosti kopeptina kod smanjene glomerularne filtracije i to posebice kod muškaraca. Kopeptin nije specifičan za ishemiju miokarda. Naime, kopeptin je endogeni hormon stresa koji doseže visoke vrijednosti kod kritično bolesnih pacijenata (Katan *et al.* 2010, Voors *et al.* 2009). U istraživanju (Lotze *et al.* 2011) ovaj se fenomen mogao uočiti kod srčanih bolesti poput AIM, dekompenziranog srčanog zatajenja, atrijske tahikardije, kao i kod drugih bolesti poput plućne embolije, upale pluća i akutnih bolesti s oslabljenom cirkulacijom.

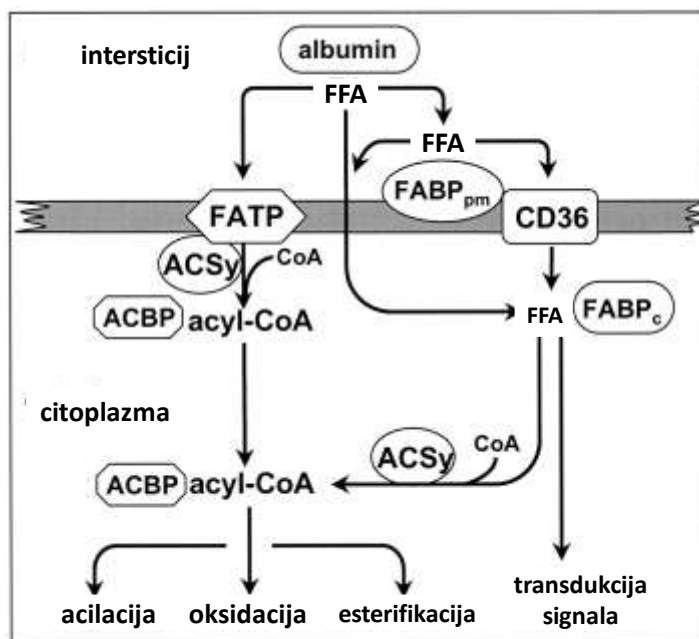
Iako se kopeptin čini obećavajućim biomarkerom, ponajprije u kombinaciji sa srčanim troponinom za rano isključenje dijagnoze AIM, potrebna su daljnja klinička istraživanja prije uvođenja u svakodnevnu praksu.

### 3.3. Slobodne masne kiseline

Masne kiseline su karboksilne kiseline s dugim alifatskim lancem koje nastaju razgradnjom fosfolipida ili triglicerida. Dugolančane plazmatske masne kiseline su ili esterificirane u glicerol ili neesterificirane (FFA). Većina FFA cirkulira vezana za albumin, dok se u vrlo malom postotku pojavljuju kao nevezane slobodne masne kiseline (FFA<sub>U</sub>) (Richieri & Kleinfeld 1995). Koncentracija cirkulirajućih FFA ograničena je dostupnošću veznih mjesta na albuminu.

U aerobnim uvjetima, neesterificirana dugolančana FFA predstavlja primarni metabolički supstrat za stanice miokarda. Odgovorna je za dvije trećine proizvodnje ATP-a, dok se metabolizmom glukoze zadovoljava preostala trećina potreba miokarda za kisikom (Liedtke, 1981). Točan mehanizam unosa FFA u miocite ostaje nejasan. U citoplazmi, dugolančane FFA se vežu za protein koji veže masne kiseline (FABP), što vjerojatno olakšava njihov transport na vanjsku mitohondrijsku membranu gdje se esterificiraju/ aktiviraju pomoću dugolančane acil-CoA sintetaze (*slika 11*). Jednom aktivirani, acil-CoA esteri uglavnom podliježu  $\beta$ -oksidaciji, no određena količina se, ili pohranjuje u obliku triglicerida, ili pak ugrađuje u membranske fosfolipide.

Tijekom hipoksije i ishemije, neesterificirane masne kiseline imaju štetni učinak na srčano tkivo te su povezane sa povećanom incidencijom ventrikularnih aritmija i smrtnih ishoda u pacijenata sa AIM (Oliver *et al.* 1968, Gupta *et al.* 1969). Mehanizam štetnog djelovanja FFA tijekom ishemije uključuje akumulaciju toksičnih međuprodukata metabolizma masnih kiselina, supresiju iskorištavanja glukoze te razdvajanje oksidativnog metabolizma od elektronskog transfera (Liedtke, 1981). Eksperimentalno, na životinjskim modelima, dokazano je da inhibitori metabolizma FFA reduciraju veličinu infarkta te smanjuju postishemijsku srčanu disfunkciju (Hendrickson *et al.* 1997).



**Slika 11. Shematski prikaz molekularnog mehanizma unosa i metabolizma FFA.** Nakon razdvajanja od albumina iz plazme, FFA ulaze kroz lipidni dvosloj (sivo) pasivnom difuzijom, preko membranskih proteina ili kombinacijom oba načina (desna strana sheme). Membranski transportni proteini koji sudjeluju u ovom procesu su protein koji veže masne kiseline (*FABP<sub>pm</sub>*), translokaza masnih kiselina (*CD36*) i transportni protein masnih kiselina (*FATP*). FFA se unutar stanice vežu za citoplazmatski H-FABP (*FABP<sub>c</sub>*), te nakon aktivacije s CoA za acil-CoA vezujući protein (*ACBP*). *ACSy*, acil-CoA sintetaza. Prema: Azzary et al. (2006), str.22, uz dopuštenje Clinical Chemistry

Kao metoda mjerenja  $FFA_U$  razvijen je rekombinantni protein koji veže masne kiseline vezan za fluorescentnu tvar (ADIFAB) (Richieri *et al.* 1992, 1999), a zatim i druga generacija testa koja koristi fluorescentnu molekularnu probu (ADIFAB2) i prenosivi čitač, čime je postao potencijalni rani marker sa *point-of-care* primjenom.

Mehanizam otpuštanja  $FFA_U$  još uvijek nije u potpunosti jasan, no moguće objašnjenje je da povećana razina katekolamina, koja uslijedi nakon srčane ishemije, može aktivirati otpuštanje  $FFA_U$  lipolizom u adipocitima.

U istraživanju (Bhardwaj *et al.* 2011) provedenom na 318 pacijenata s akutnim bolovima u prsima, FFA je imala osjetljivost 75%, specifičnost 72% te NPV 92% za dijagnozu AKS-a, dok je TnT imao osjetljivost 22% te specifičnost 84%. Ustanovljeno je da FFA daje dodatnu prognostičku vrijednost mjerenju TnT-a u dijagnosticiranju AKS-a.

U *tablici 1.* prikazana su istraživanja koja su evaluirala uporabljivost ovog biokemijskog markera kao markera ishemije miokarda te njegovu prognostičku vrijednost.

### Tablica 1. Klinička upotreba FFA<sub>U</sub> mjerenja.

Prema: Azzary *et al.* (2006), str.22, uz dopuštenje Clinical Chemistry

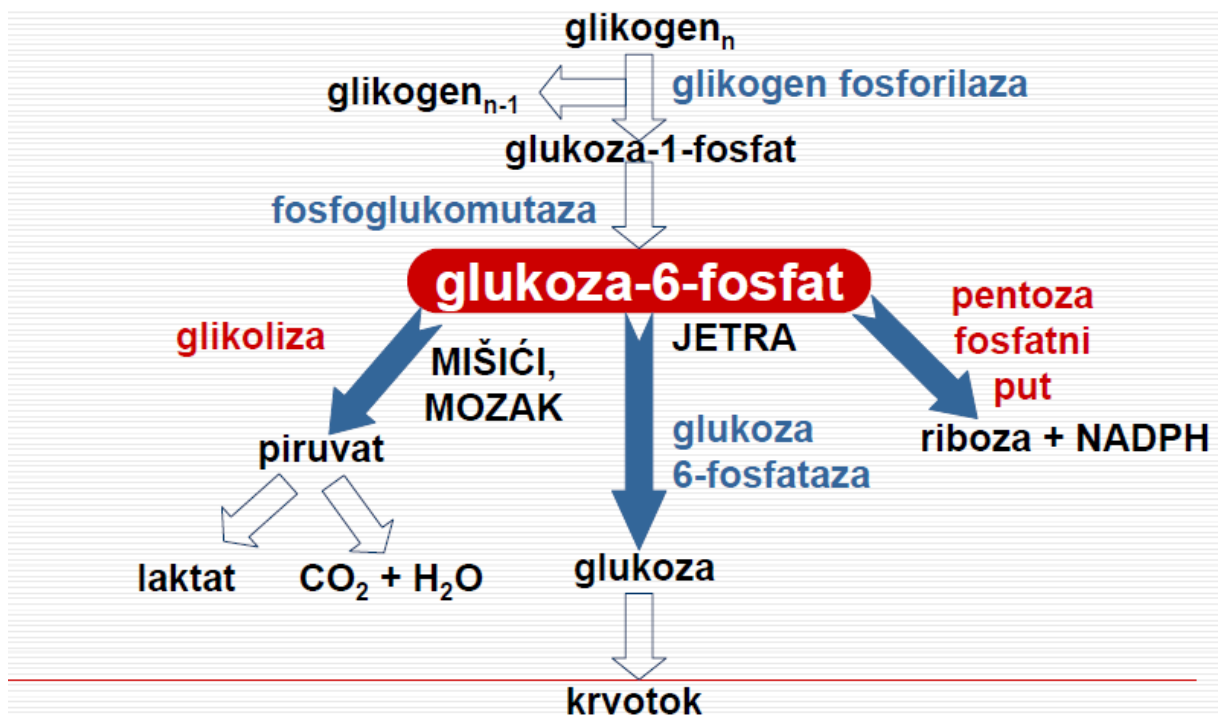
Klinička uporaba	Opis istraživanja	Rezultati	Zaključci/ komentari	Literatura
Marker ishemije	FFA <sub>U</sub> mjeren kod 22 pacijenta prije i 30 min nakon angioplastike	Povišenje FFA <sub>U</sub> 14 puta u odnosu na bazalne koncentracije; najviše koncentracije zapažene su kod pacijenata s promjenama ST-segmenta	Povišene koncentracije FFA <sub>U</sub> mogu biti osjetljiv biomarker ishemije miokarda	(Kleinfeld <i>et al.</i> 1996)
Marker ishemije	458 pacijenata s AIM uključeni u TIMI II istraživanje; uzorak krvi uzet je pri prezentaciji bolesti te 50min, pet sati i osam sati nakon fibrinolize tkivnim aktivatorom plazminogena (t-PA)	Osjetljivost testa bila je 91% pri prijemu te 98% 50 min. nakon tPA (granična vrijednost:5nmol/L); specifičnost je bila 93% za nekardiovaskularne pacijente te zdrave pojedince; povišene koncentracije korelirale su sa smrtnim ishodom (4 puta veća smrtnost kod najviših koncentracija naspram najnižih)	Povišene koncentracije FFA <sub>U</sub> mogu biti osjetljiv biomarker ishemije miokarda	(Kleinfeld <i>et al.</i> 2002)
Prognostička vrijednost	5250 zdravih muškaraca srednjih godina praćeni 22 godine; mjerene su FFA <sub>U</sub> koncentracije	Utvrđeno je da su FFA <sub>U</sub> neovisni čimbenik rizika iznenadne smrti (OR <sup>a</sup> =1,70; 95% CI, 1,21-2,13)	FFA <sub>U</sub> imaju aritmogenu ulogu te pridonose povećanoj učestalosti prematurnih ventrikularnih kompleksa te posljedično smrtnom ishodu	(Jouven, 2001)

Dostupna istraživanja ukazuju da određivanje koncentracije FFA<sub>U</sub> kod pacijenata koji se prezentiraju ishemičnim simptomima može osigurati rano prepoznavanje srčane ishemije te da su neovisni čimbenik rizika iznenadne smrti. Potrebna su daljnja istraživanja kohortnog tipa sa širokim spektrom pacijenata suspektih na ishemiju miokarda da bi se u potpunosti procijenile mogućnosti ovog biokemijskog markera.



### 3.4. Glikogen fosforilaza BB

BB-izoenzim glikogen fosforilaze (engl. *glycogen phosphorylase BB isoenzyme*, GPBB) je glikogenolitički enzim koji ima esencijalnu ulogu u regulaciji metabolizma ugljikohidrata i pretežno se nalazi u miokardu (Peetz *et al.* 2005, Hofmann *et al.* 1989). Katalizira prvi korak glikogenolize, u kojemu se glikogen pretvara u glukoza-1-fosfat u reakciji s neorganskim fosfatom (*slika 12*).

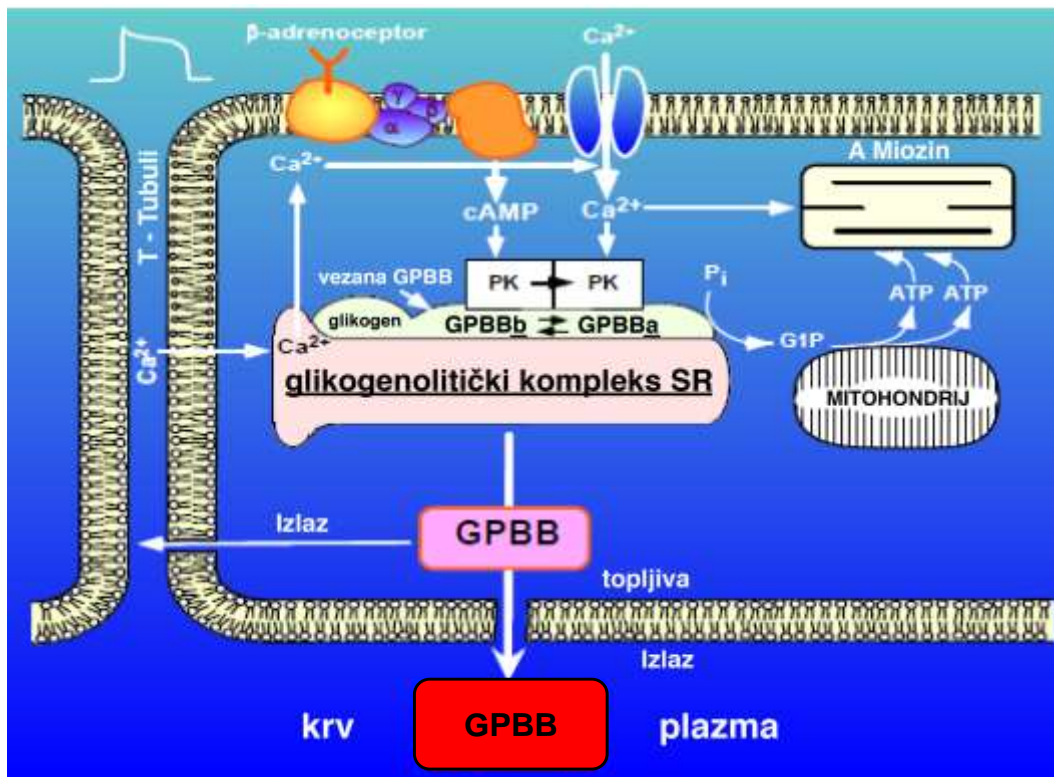


**Slika 12. Razgradnja glikogena.** NADPH- nikotinamid adenin dinukleotid fosfat. Preuzeto iz: [http://www.pmfst.hr/~pavela/biokemijalold/Metabolizam\\_glikogena.pdf](http://www.pmfst.hr/~pavela/biokemijalold/Metabolizam_glikogena.pdf). (datum pristupa: 9.3.2014.)

Mobilizacijom glikogena, primarna uloga GPBB-a je osigurati opskrbu glukozom u uvjetima hipoksije i hipoglikemije. Aktivnost GP-a je alosterično regulirana vezanjem c-AMP-a i fosforilacijom. GPBB je zajedno s glikogenom vezan za sarkoplazmatsku mrežicu formirajući makromolekulski glikogenolitički kompleks. Stupanj udruživanja GPBB-a u ovom kompleksu ovisi o metaboličkom stanju miokarda (*slika 13*).

Tijekom akutne ishemije, fosforilaza kinaza prevodi GPb u aktivniji oblik Gpa pri čemu dolazi do razgradnje glikogena u glukoza-1-fosfat i pretvorbe GP-a u topljivi, citoplazmatski oblik. Na taj način nastaje visoki koncentracijski gradijent GPBB-a,

glavnog izooblika GP-a u miokardu, i otpuštanje iz stanica srčanog mišića, shodno povećanoj permeabilnosti staničnih membrana, kakva se javlja u ishemiji miokarda (Lacnak *et al.* 2007, Stejskal *et al.* 2007) (slika 13).



**Slika 13. Otpuštanje GPBB-a iz kardiomiocita kod ishemije miokarda.** GP je zajedno s glikogenom usko udružen s vezikulama sarkoplazmatskog retikuluma (SR) u normalnim uvjetima. Otpuštanje GPBB-a, glavnog izooblika u miokardu, znatno ovisi o razgradnji glikogena, koju u većoj mjeri katalizira GP<sub>a</sub> (fosforilirani aktivni oblik ovoga izoenzima), a u manjoj mjeri GP<sub>b</sub> (nefosforilirani oblik ovisan o AMP). Poznato je da ishemija pogoduje pretvorbi vezanog GP<sub>b</sub>-a u GP<sub>a</sub>, čime se ubrzava razgradnja glikogena, što je, kako se čini, konačni preduvjet za dobivanje GP-a u topljivom obliku. Do isticanja GPBB-a u izvanstaničnu tekućinu može doći samo ako ishemija prouzroči strukturne promjene stanične membrane. Slika preuzeta iz: Rabitzsch G (1995). Clin Chem 41(7):966-78

Fiziološki oblik GP-a je dimer koji se sastoji od dvije identične podjedinice (homodimer). Postoji u obliku tri izoenzima: kao BB (moždani), MM (mišićni) i LL (jetreni). Izoenzimi BB i MM se nalaze u ljudskom srcu, no GPBB izoenzim je dominantno zastupljen. GPBB se, osim u srcu i mozgu, nalazi se u malim količinama i u drugim tkivima (leukociti, slezena, bubrezi, mokraćni mjehur, testisi, jetra, probavni sustav i aorta).

Iako je ovaj enzim istraživani dugi niz godina, tek se posljednjih desetak godina pokušava uvesti u kliničku praksu kao rani marker ishemije/ infarkta miokarda.

Budući se u krvi nalazi u mikrogramskoj količini (0,6-4,0 µg/L), za određivanje njegove koncentracije moraju se koristiti osjetljive imunoenzimske metode.

Danas su za mjerenje GPBB-a dostupni komercijalni testovi zasnovani na ELISA metodi, te GPBB-POCT test za primjenu uz bolesničku postelju. HPBB-POCT je brzi, kvantitativni test u kojem se kao uzorak mogu koristiti krv, plazma ili serum. Vrijeme potrebno za analizu je oko 15 minuta.

Istraživanja su pokazala povišenje GPBB-a u prva četiri sata nakon AKS-a (Rabitzsch *et al.* 1993, Rabitzsch *et al.* 1995, Krause *et al.* 1996). Vršne vrijednosti je dostizao nakon 6-20 sati te se vraćao na vrijednosti unutar referentnog raspona jedan do dva dana nakon okluzije koronarne arterije s infarciranjem miokarda. Ako je postignuta rana reperfuzija, GPBB bi se povisio i dosezao vršne vrijednosti još i ranije (Rabitzsch *et al.* 1995).

U istraživanjima se GPBB pokazao kao biokemijski marker s visokom osjetljivošću. Razina GPBB-a porasla je unutar četiri do šest sati od početka bolova u prsima kod bolesnika s nestabilnom anginom (UA) i dokazana je veća osjetljivost u odnosu na ostale kardiospecifične biokemijske markere (Mair *et al.* 1994). U istraživanju koje je mjerilo vrijednosti GPBB-a, CK-MB, mioglobina i cTnT-a jedan sat nakon prijema pacijenata s AKS-om, GPBB je imao najvišu osjetljivost (100%) i specifičnost (96%) nakon prvog sata u pacijenata sa STEMI. Kod UA/NSTEMI pacijenata GPBB je bio povišen (94% nakon tri sata), za razliku od mioglobina (67%), CK-MB (55%), i cTnT (33,8%) (Peetz *et al.* 2005).

U metaanalizu osam istraživanja koja su evaluirala dijagnostičku vrijednost GPBB-a unutar šest sati od nastupa simptoma kod pacijenata suspektnih na AKS, uključeno je ukupno 941 osoba, od kojih je 506 bilo s dijagnozom AIM, uz 435 kontrola s nekardijalnim uzrokom bolova u prsima. Pri 95% rasponu pouzdanosti osjetljivost GPBB-a bila je 85,4%, specifičnost 76,7%, NPV 82,6%, a PPV 80,2%. U nekim istraživanjima istovremeno je mjerena i vrijednost troponina, no nije zapaženo značajno dodatno dijagnostičko poboljšanje u odnosu na sam troponin. U zaključku metaanalize, GPBB rabljen sam se ne smatra prikladnim za rutinsku upotrebu u dijagnostici AIM-a, dok su za njegovu kombinaciju s troponinom potrebna dodatna veća istraživanja (Lippy *et al.* 2013).

U istraživanju (Peetz *et al.* 2005) pronađene su povišene koncentracije GPBB-a kod osoba s raznim nekardijalnim bolestima. Kako se i očekivalo, 86,7% osoba je nakon operacije s koronarnom prenosnicom i 100% osoba nakon reanimacije imalo

vrijednosti GPBB-a >10 ng/ml. Povišene koncentracije GPBB-a u plazmi izmjerene su i kod 55,6% osoba na dijalizi te 71,4% osoba s povišenom kreatin fosfokinazom. Sve osobe sa srčanim zatajenjem imale su povišene plazmatske koncentracije GPBB-a. Iznenadujuće, jako povišene vrijednosti GPBB-a zabilježene su kod 81,8% osoba s virusnim hepatitisom, 70% osoba s jetrenom cirozom, te kod svih osoba nakon operacije zamjene zgloba (Peetz *et al.* 2005).

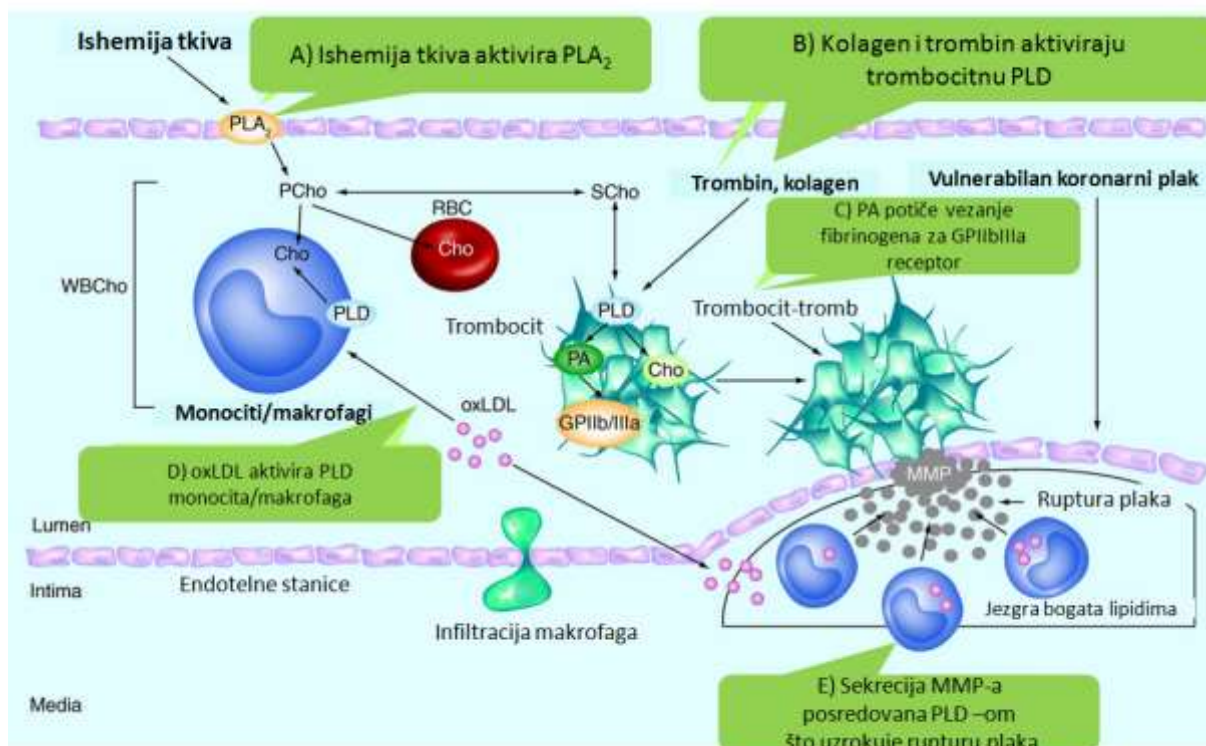
U istraživanju (Bozkurt *et al.* 2011) prikazana je povezanost kratkoročne prognoze (ponovna hospitalizacija ili smrtni ishod nakon mjesec dana) pacijenata s UA i vrijednosti GPBB-a. GPBB je bio povišen iznad granične vrijednosti od 10ng/mL kod 33% vs. 5% pacijenata s i bez prethodno navedenih komplikacija ( $p=0,028$ ). Istraživanje (Lillpopp *et al.* 2012) je procjenjivalo prognostičku vrijednost GPBB-a u 1818 osoba primljenih sa suspektnim AKS-om. GPBB mjeren pri prijemu je bio pretkazatelj smrtnog ishoda, kasnijeg nastupa AIM-a, revaskularizacije ili hospitalizacije zbog srčane bolesti nakon šest mjeseci (omjer rizika= 1,13;  $P = 0,07$ ).

### 3.5. Kolin

Kolin (2-hidroksi-N,N,N-trimetiletanamin,  $C_5H_{11}NO$ ) je u vodi topljivi esencijalni nutritijent koji nastaje kao proizvod fosfodieterskog cijepanja fosfolipidne membrane, i to fosfatidilkolina i sfingomijelina, kataliziranog fosfolipazom D (PLD, engl. *Phospholipase D*). Fiziološka funkcija kolina je osiguranje strukturnog integriteta stanice. Osim toga, kolin je prekursor proizvodnje acetilkolina te izvor metilnih grupa koje sudjeluju u putu sinteze S-adenozilmetionina.

Koncentracije kolina u punoj krvi (engl. *whole blood choline*, WBCHO) i plazmatskog kolina (PCHO) brzo rastu nakon aktiviranja fosfolipaze D i staničnih receptora pri destabilizaciji aterosklerotskog plaka i tkivnoj ishemiji (Apple *et al.* 2005). Nekoliko eksperimentalnih istraživanja podupire koncept aktivacije fosfolipaze D u koronarnom aterosklerotskom plaku kao ključnog događaja u nekoliko temeljnih procesa destabilizacije aterosklerotskog plaka: stimulaciji makrofaga oksidiranim LDL-om (Gomez-Munoz *et al.* 2000), sekreciji enzima matriksne metaloproteinaze (Williger *et al.* 1999), aktivaciji trombocita kolagenom i trombinom (Chiang 1994, Martinson *et al.* 1998) te poticaju vezanja fibrinogena za glikoproteinski IIb/IIIa receptor (Smyth *et al.* 1992). Fosfolipazu D proizvode makrofagi unutar

aterosklerotskog plaka (O'Brien *et al.* 1999). Nadalje, ishemijsko oštećenje membrane stanice također dovodi do razgradnje fosfolipida, posljedičnog otpuštanja kolina i njegovog ulaska u eritrocite putem prijenosnika kolina (Shaikh & Downar 1981, Deves *et al.* 1986) (slika 14).



**Slika 14. Patofiziološki mehanizmi oslobađanja kolina u AKS-u.** Kolin se pri teškoj ishемiji oslobađa iz ishemičnog tkiva u krvnu plazmu te sekundarno ulazi u krvne stanice (A). Kolin je glavni enzimatski produkt povećane aktivnosti PLD-a koja se javlja zbog aktivacije tromboцita trombinom i kolagenom (B), sudjelovanja PA u poticanju vezanja fibrinogena za GPIIb/IIIa (C), aktivacije monocita i makrofaga oxLDL-om (D), posredovanja u sekreciji MMP-a. Cho-kolin; LDL- lipoprotein niske gustoće (engl. *low-density lipoprotein*); MMP- matriksna metaloproteinaza; oxLDL- oksidirani LDL; Pcho- plazmatski kolin; PA- fosfatidna kiselina (engl. *phosphatidic acid*); PLA- fosfolipaza A (engl. *Phospholipase A*); PLD- fosfolipaza D (engl. *Phospholipase D*); RBC-eritrociti (engl. *Red blood cells*); Scho- kolin u serumu; WBCho- kolin pune krvi (engl. *Whole-blood choline*). Preuzeto iz: Danne & Möckel (2010).

Prva ispitivanja koja su koristila protonsku magnetsku rezonancijsku spektroskopiju dokazala su povišene vrijednosti WBCHO kod AKS-a. Potom se koristila HPLC masena spektrometrija (HPLC-MS) za prospektivno mjerenje WBCHO kod prijema osoba s AKS-om (Danne *et al.* 2003). WBCHO mjerен pri prijemu bio je značajan prediktor srčane smrti, srčanog zastoja, aritmije, zatajenja srca ili potrebe za perkutanom koronarnom intervencijom (PCI) nakon 30 dana praćenja. Kolin nije bio dobar marker nekroze stanica miokarda, ali je razlikovao pacijente s nestabilnom anginom pectoris visokog i niskog rizika (osjetljivost 86,4%; specifičnost 86,2%).

Usporedba WBCHO i PCHO kod 222 pacijenta sa suspektnim AKS-om bez povišenog cTnI pri prijemu ukazuje na bitne međusobne razlike u mogućnosti ranog stupnjevanja rizika. PCHO se u fazi praćenja kroz prvih 12 sati nije pokazao dobrim pretkazateljem akutnog infarkta miokarda, dok je WBCHO bio visoko prediktivan. No, za događaje kao što su teške aritmije, koje se obično pojavljuju u prva 24 sata nakon prijema, oba markera pokazala su jednaku prediktivnost (Danne *et al.* 2003). Ovi rezultati idu u korist razmišljanjima da je jedino WBCHO pretkazatelj rizika povezanog s uznapredovanom nestabilnošću aterosklerotskog plaka zbog toga što fosfolipazom D uzrokovana aktivacija trombocita i leukocita povisuje unutarstaničnu koncentraciju kolina, što nije mjerljivo u krvoj plazmi. Iako se mnogo proučavanih biokemijskih markera vaskularne upale i nestabilnosti plaka zasniva na mjerenjima u serumu i krvnoj plazmi, određivanje kolina u punoj krvi (WBCHO) može biti korisno zbog toga što se mnogi ključni procesi stanične upale i aktivacije uglavnom odražavaju promjenama unutarstaničnih koncentracija.

Oštećenje stanične membrane u ranoj fazi ishemije kod pacijenata s teškim aritmijama ili hemodinamskom nestabilnošću može se detektirati mjerenjem i PCHO i WBCHO jer se kolin iz oštećenih tkiva najprije otpušta u krvnu plazmu da bi nakon toga bio unesen u krvne stanice. Pri interpretaciji rezultata korisno je imati podatke o koncentracijama oba kolina kako bi se preciznije utvrdilo da li rizici aktivacije fosfolipaze D proistječu iz procesa destabilizacije plaka, iz tkivne ishemije ili oboje. Na ovaj način postoji mogućnost usmjeravanja naprednih terapijskih postupaka prema rizičnim pacijentima, zasnovano na mjerenjima WBCHO i PCHO pri prijemu.

Preliminarni podaci analize koncentracija WBCHO kod pacijenata u intenzivnim jedinicama bez dokazane tkivne ishemije pokazali su da je u 98% slučajeva koncentracija ispod 99. percentile, a u 88,5% ispod 90. percentile intervala vrijednosti referentne populacije, ukazujući na prihvatljivu specifičnost ovog biokemijskog markera i kod pacijenata s drugim teškim bolestima. Vrijednosti WBCHO iznad 90. percentile (28,2  $\mu\text{mol/L}$ ) i 99. percentile (57,5  $\mu\text{mol/L}$ ) kod pacijenata sa sumnjom na akutni koronarni sindrom ukazuju na značajno povišen srčani rizik, dok se kod PCHO vrijednosti iznad 99. percentile (25,0  $\mu\text{mol/L}$ ) rabe za stupnjevanje rizika (Apple *et al* 2005).

Može se zaključiti da je kolin obećavajući novi biokemijski marker. Povišene koncentracije WBCHO i PCHO pri prijemu u bolnicu zbog sumnje na AKS pretkazatelji su nepovoljnih srčanih ishoda. Nadalje, WBCHO je bolji prediktivni alat

nego PCHO za rano stupnjevanje rizika kod pacijenata koji imaju negativan srčani troponin pri prijemu. No, ograničenje upotrebe ovog biokemijskog markera je trenutna metodologija mjerenja koja nije prikladna za hitnu kliničku praksu. Potreban je razvoj brzih POC i centralnih laboratorijskih testova kako bi se ova pretraga mogla dalje preispitivati.

### **3.6. Srčani protein koji veže masne kiseline**

Srčani protein koji veže masne kiseline (engl. *heart fatty acid binding protein*, H-FABP) je mali (132 aminokiseline), unutarstanični, u vodi topljivi protein, niske molekularne mase (15kDa) koji je po općim karakteristikama nalik na mioglobin. H-FABP sudjeluje u transportu i metabolizmu masnih kiselina (*slika 11*). Također ima ulogu u zaštiti stanica miokarda od prevelike koncentracije masnih kiselina u stanici, posebno tijekom ishemije (Glatz *et al.* 1996, 2001). Iako je uglavnom prisutan u miokardu, manje količine mogu se pronaći u mozgu, bubrezima i skeletnom mišićju (Chan *et al.* 2010).

Otpuštanje H-FABP-a iz oštećenih stanica miokarda okriveno je prije više od 20 godina (Glatz *et al.* 1988) te se od tada istražuje njegova uloga kao biokemijskog markera oštećenja miokarda. Iako se H-FABP uglavnom promatrao kao biokemijski marker nekroze miokarda, istraživanje (Tambara *et al.* 2004) je pokazalo njegovu moguću korist kao markera ishemije.

Nakon srčane ishemije i posljedičnog oštećenja staničnih membrana miocita, H-FABP se otpušta u izvanstanični prostor. Zbog male veličine te dobre topljivosti, brzo ulazi u cirkulaciju. Povećane koncentracije mogu se detektirati unutar 30 minuta od nastupa ishemične epizode, dok se vršna koncentracija u krvi postiže nakon šest do osam sati, po čemu slijedi povratak na početne bazalne vrijednosti nakon 24-30 sati (Pelsers *et al.* 2005). Neupotrebljiv je kao test kod pacijenata koji se prezentiraju šest i više sati nakon nastupa simptoma zbog brzog renalnog klirensa (Ruzgar *et al.* 2006, Mad *et al.* 2007, Haltern *et al.* 2010). Istraživanja su pokazala bolja svojstva H-FABP-a kao ranog markera srčane ishemije naspram mioglobina. Osjetljivost i specifičnost H-FABP-a mjerenih unutar 12 sati od početka simptoma bolova u prsima bile su 92,9% i 67,3%, dok su za mioglobin iznosili 88,6% te 57,1%. (Okamoto *et al.* 2000, Pelsers *et al.* 2005).



H-FABP brzim testom može se ranije isključiti dijagnoza AIM-a nego kreatin fosfokinazom, cTnT ili cTnI (Chan *et al.* 2004, Seino *et al.* 2004). Ipak, sustavni pregled literature (Mitchell *et al.* 2005) i metaanaliza (Body 2009) ne podupiru rutinsku upotrebu H-FABP-a u dijagnosticiranju AKS-a u hitnoj službi.

Samo nekoliko istraživanja (Erlikh *et al.* 2003, Ishii *et al.* 2003, Pelsers *et al.* 2004, Jolly *et al.* 2011) je utvrđivalo prognostičku vrijednošću H-FABP-a kod pacijenata s AKS-om. U istraživanju (Ishii *et al.* 2003) mjerene su vrijednosti H-FABP-a i cTnT-a kod pacijenata s mogućim AKS-om unutar šest sati od nastupa bolova u prsima te je procijenjivana prognostička vrijednost nakon šest mjeseci s obzirom na smrtni ishod ili AIM. Relativni rizik kod pacijenata s povišenim vrijednostima FABP-a ( $>9.8 \mu\text{g/L}$ ) te normalnim vrijednostima TnT-a ( $<0.02 \mu\text{g/L}$ ) bio je značajan ( $R=8,96$ ). Nužna su daljnja istraživanja prognostičke vrijednosti ovog biokemijskog markera.

U kombinaciji sa srčanim troponinima i EKG-om, H-FABP može biti koristan kako bi cjelokupno pokrio dijagnostički prozor pacijenata koji se prezentiraju s mogućim AKS-om na hitnom prijemu. U istraživanju je kombinacija H-FABP-a i troponina imala osjetljivost 97%, te NPV 97% (Halter *et al.* 2010).

H-FABP se uglavnom nalazi u stanicama miokarda, no nalazi se u manjim količinama i u stanicama poprečno-prugastog mišićja (van Nieuwenhoven *et al.* 1995), iz kojeg se pri ozljedama ili pri velikom naporu otpušta u cirkulaciju (Sorichter *et al.* 1998, Yuan *et al.* 2003). Za razlikovanje ozljede srčanog (omjer 2/10) i poprečno-prugastog (omjer 20/70) mišića rabi se omjer mioglobina/ H-FABP (van Nieuwenhoven *et al.* 1995).

Glavna prednost H-FABP-a kao markera je mogućnost isključenja bolesnika koji nemaju AIM vrlo rano nakon pojave simptoma. Činjenica da H-FABP može biti prisutan u cirkulaciji i u odsutnosti AIM-a otežava razlikovanje pacijenata sa AIM i nestabilnom anginom pectoris te zahtijeva daljnja istraživanja kako bi se odredila dijagnostička granična vrijednost. Ograničenja upotrebe su mali dijagnostički prozor nakon akutnog zbiljanja, te povišena vjerojatnost lažno visokih rezultata kod bolesnika s bubrežnom insuficijencijom. Iako je kinetika H-FABP-a nakon AIM slična onima drugih biokemijskih markera poput mioglobina, CD40 topljivog liganda, ishemijski modificiranog albumina, PAPP-A, mijeloperoksidaze - ovaj biokemijski marker je više specifičan za srčani mišić (Glatz *et al.* 1998) što ga čini obećavajućim u upotrebi zajedno s konvencionalnim troponinskim testovima. Nadalje, prednost mu



je dostupnost brzih kromatografskih testova uz postelju pacijenta, te potpuno automatskih turbidimetričnih imunoeseja koji omogućuju brzo mjerenje (Ahmad & Sharma 2012).

## 4. ZAKLJUČAK

Postoji rastući interes za pronalaženjem novih biokemijskih markera koji bi bili senzitivniji i mjerljivi u krvi u kraćem vremenskom periodu od početka ishemično-nekrotične lezije, u usporedbi s danas rutinski rabljenim markerima poput kardiospecifičnih troponina, koji zahtijevaju šest do dvanaest sati kako bi isključili dijagnozu AIM. Također postoji potreba uvođenja u kliničku praksu markera koji će otkriti ishemiju miokardnog tkiva, razlikujući je sasvim jasno od nekroze, čak i one minimalne, uz mogućnost kvantifikacije njezine težine. Ukoliko bi se biokemijskom metodom reverzibilna ishemija otkrila prije razvoja ireverzibilne nekroze miokarda, moglo bi se terapijski intervenirati i spriječiti razvoj mionekroze. Osim toga, negativan nalaz biokemijskog markera ishemije mogao bi koristiti i za isključenje akutne ishemije u pacijenta u hitnoj službi s dvojbom elektrokardiografskim i kliničkim nalazima. Rezultati dosadašnjih istraživanja ne daju dovoljno dokaza za rutinsku primjenu bilo kojeg, pojedinačno rabljenog, novog markera ishemije miokarda u dijagnozi AKS-a budući da za većinu ne postoje standardizirani analitički postupci, istraživanja za referentne intervale, niti ujednačene kliničke evaluacije. Uz to, nespecifični su za miokard jer i drugi ishemični organi mogu biti izvorište ovih markera. Potencijalna klinička vrijednost ponajviše leži u njihovoj negativnoj prediktivnoj vrijednosti, a time i kao testa isključenja AKS-a.

S druge strane, postoje dokazi za moguću kliničku upotrebu pojedinih markera ishemije u kombinaciji sa srčano-specifičnim troponinom. Upotreba multimarkerskog pristupa može povećati dijagnostičku osjetljivost. Nadalje, može skratiti vrijeme potrebno za procjenu i isključenje dijagnoze AKS-a u hitnoj službi unutar šest sati od početka kliničkih simptoma, skraćujući tako vrijeme boravka pacijenta na hitnom prijemu i smanjujući troškove.

Potrebna su daljnja istraživanja novih markera poput kolina, kopeptina, H-FABP, IMA, FFA<sub>U</sub>, GPBB-a kao sastavnica multimarkerskog pristupa u svrhu sigurnog i efikasnog isključivanja AKS-a u hitnoj službi.

Možda će budući razvoj ovog područja pokazati da smo tek odškrinuli vrata i zavirili u proces ateroskleroze, nestabilnosti plaka i nestabilnosti pacijenta. Mnogi procesi intraplakalno, endotelijalno, lokalno na mjestu samog kritičnog događaja, kao

i sistemski odgovori, inflamatorni, trombotski, fibrinolitički i neurohumoralni, za sada su nam nedovoljno poznati.

## **5. ZAHVALE**

Zahvaljujem svojoj obitelji na neizmjernoj i bezuvjetnoj podršci tijekom mog školovanja i studiranja, mentoru na darovanom vremenu, strpljenju i korisnim savjetima pri izradi ovog diplomskog rada te dr.med. Ana-Mariji Liberati-Čizmek za sudjelovanje u gramatičkim i pravopisnim korekcijama.

## 6. LITERATURA

1. Abadie JM, Blassingame CL, Bankson DD. (2005). Albumin cobalt binding assay to rule out acute coronary syndrome. *Ann Clin Lab Sci*, 35:66-72.
2. Adams JE 3rd, Abendschein DR, Jaffe AS (1993). Biochemical markers of myocardial injury. Is MB creatine kinase the choice for the 1990s? *Circulation*, 88:750–63.
3. Ahmad MI & Sharma N (2012). Biomarkers in acute myocardial infarction. *J Clin Exp Cardiol* , 3:222.
4. Albarello K, dos Santos GA, Bochi GV, Sangoi MB, Almeida TC, Paz da Silva JE, Garcia SC, Moresco RN. (2012). Ischemia modified albumin and carbonyl protein as potential biomarkers of protein oxidation in hemodialysis. *Clin Biochem*, 45(6):450-4.
5. Aparci M, Kardesoglu E, Ozmen N, Ozcan O, Cebeci BS, Cingozbay BY, Dincturk M. (2007). Prognostic significance of ischemia-modified albumin in patients with acute coronary syndrome. *Coron Artery Dis* , 18:367-373.
6. Apple FS, Wu AH, Mair J, Ravkilde J, Panteghini M, Tate J, Pagani F, Christenson RH, Mockel M, Danne O, Jaffe AS (2005). Future biomarkers for detection of ischemia and risk stratification in acute coronary syndrome. *Clin Chem*, 51(5):810-24
7. Azzazy HM, Pelsers MM, Christenson RH (2006). Unbound free fatty acids and heart-type fatty acid-binding protein: diagnostic assays and clinical applications. *Clin Chem*, 52(1):19-29.
8. Bali L, Cuisset T, Giorgi R, Monserrat C, Quilici J, Carrega L, Mouret JP, Nait-Saidi L, Mielot C, Lambert M, Guieu R, Bonnet JL. (2008). Prognostic value of ischaemia-modified albumin in patients with non-ST-segment elevation acute coronary syndromes. *Arch Cardiovasc Dis* , 101:645-651.
9. Bar-Or D, Lau E, Winkler JV. (2000). A novel assay for cobalt albumin binding and its potential as a marker for myocardial ischemia-a preliminary report. *J Emerg Med*, 19(4): 311–315.
10. Bar-Or D, Winkler JV, Vanbenthuisen K, Harris L, Lau E, Hetzel FW. (2001). Reduced albumin-cobalt binding with transient myocardial ischemia after elective percutaneous transluminal coronary angioplasty: a preliminary comparison to creatine kinase-MB, myoglobin. *Am Heart J*, 141(6):985-91
11. Becker D, Merkely B (2012). Acute coronary syndrome. *Orv Hetil.* 23;153(51): doi: 10.1556/OH.2012.29473.

12. Bhandari SS, Loke I, Davies JE, Squire IB, Struck J, Ng LL. (2009). Gender and renal function influence plasma levels of copeptin in healthy individuals. *Clin Sci (Lond)* , 116(3):257-63.
13. Bhardwaj A, Truong QA, Peacock WF, Yeo KT, Storrow A, Thomas S, Curtis KM, Foote RS, Lee HK, Miller KF, Januzzi JL Jr (2011). A multicenter comparison of established and emerging cardiac biomarkers for the diagnostic evaluation of chest pain in the emergency department. *Am Heart J*, 162(2):276-282
14. Body, R. (2009). Heart fatty acid binding protein for rapid diagnosis of acute myocardial infarction in the emergency department. *Emerg Med J* , 26:519–22.
15. Bozkurt S, Kaya EB, Okutucu S, Aytemir K, Coskun F, Oto A. (2011). The diagnostic and prognostic value of first hour glycogen phosphorylase isoenzyme BB level in acute coronary syndrome. *Cardiol J*, 18(5):496-502.
16. Chan B, Dodsworth N, Woodrow J, Tucker A, Harris R. (1995). Site-specific N-terminal auto-degradation of human serum albumin. *Eur J Biochem*, 227(1–2): 524–528.
17. Chan CP, Sanderson JE, Glatz JFC, Cheng WS, Hempel A, Renneberg R. A superior early myocardial infarction marker (2004). Human heart-type fatty acid-binding protein. *Z Kardiol*, 93 388-397
18. Chan D, Ng LL (2010). Biomarkers in acute myocardial infarction. *BMC Med* , 8:34.
19. Chiang, T (1994). Activation of phospholipase D in human platelets by collagen and thrombin and its relationship to platelet aggregation. *Biochim Biophys Acta* , 1224:147–55.
20. Collinson PO, Gaze DC, Bainbridge K, Morris F, Morris B, Price A, Goodacre S (2006). Utility of admission cardiac troponin and "Ischemia Modified Albumin" measurements for rapid evaluation and rule out of suspected acute myocardial infarction in the emergency department. *Emerg Med J*, 23:256-261.
21. Consuegra-Sanchez L, Bouzas-Mosquera A, Sinha MK, Collinson PO, Gaze DC, Kaski JC (2008). Ischemia-modified albumin predicts short-term outcome and 1-year mortality in patients attending the emergency department for acute ischemic chest pain. *Heart Vessels*, 23:174-180.
22. da Silva SH, Pereira Rda S, Hausen Bdos S, Signor C, Gomes P, de Campos MM, Moresco RN (2011). Assessment of the nickel-albumin binding assay for diagnosis of acute coronary syndrome. *Clin Chem Lab Med*, 49:541-546.
23. Danne O, Möckel M (2010). Choline in acute coronary syndrome: an emerging biomarker with implications for the integrated assessment of plaque vulnerability. *Expert Rev Mol Diagn*, 10(2):159-71

24. Danne O, Möckel M, Lueders C, Mügge C, Zschunke GA, Lufft H, Müller C, Frei U (2003). Prognostic implications of elevated whole blood choline levels in acute coronary syndromes. *Am J Cardiol*, 91: 1060-1067.
25. de Winter RJ, Koster RW, Sturk A, Sanders GT (1995) Value of myoglobin, troponin T, and CK-MBmass in ruling out an acute myocardial infarction in the emergency room. *Circulation*, 92: 3401-3407.
26. Deves R, Reyes G, Krupka RM (1986). The carrier reorientation step in erythrocyte choline transport: pH effects and the involvement of a carrier ionizing group. *J Membr Biol*, 93:165–75.
27. Dominguez-Rodriguez A, Abreu-Gonzalez P, Jimenez-Sosa A, Samimi-Fard S, Idaira HB. (2009). Does ischemia modified albumin add prognostic value to the Thrombolysis In Myocardial Infarction risk score in patients with ST-segment elevation myocardial infarction treated with primary angioplasty? *Biomarkers*, 14:43-48.
28. Dravinski Ž, Rumenjak V, Miličević G, Bakula M (2004). Assessment of serum albumin cobalt binding assay in patients suspected suffer from acute myocardial infarction. *Clin Chem Lab Med*, 42:A63.
29. Erlikh AD, Katrukha AG, Trifonov IR, Bereznikova AV, Gratsianskiĭ NA (2003). Prognostic value of serum heart fatty acid-binding protein in patients with non-ST elevation acute coronary syndrome:results of follow-up for 6 months. *Circulation*, 18:IV-648.
30. Gaze DC (2009). Ischemia modified albumin: a novel biomarker for the detection of cardiac ischemia. *Drug Metab Pharmacokinet* 24(4): 333-41
31. Gaze DC (2013). Biomarkers of Cardiac Ischemia, Ischemic Heart Disease, ISBN:978-953-51-0993-8, InTech, DOI:10.5772/55250.  
<http://www.intechopen.com/books/ischemic-heart-disease/biomarkers-of-cardiac-ischemia>
32. Gidenne S, Ceppa F, Fontan E, Perrier F, Burnat P (2004). Analytical performance of the Albumin Cobalt Binding (ACB) test on the Cobas MIRA Plus analyzer. *ClinChem Lab Med* , 42:455-461.
33. Glatz JF, Storch J (2001). Unraveling the significance of cellular fatty acid-binding proteins . *Curr Opin Lipidol* , 12:267–74.
34. Glatz JF, van Bilsen M, Paulussen RJ, Veerkamp JH, van der Vusse GJ, Reneman RS (1988). Release of fatty acid-binding protein from isolated rat heart subjected to ischemia and reperfusion or to the calcium paradox. *Biochim Biophys Acta* , 961:148–52.

35. Glatz JF, van der Vusse GJ, Simoons ML, Kragten JA, van Dieijen-Visser MP, Hermens WT (1998). Fatty acid-binding protein and the early detection of acute myocardial infarction. *Clin Chim Acta* , 272: 87-92.
36. Glatz JF, van der Vusse GJ. (1996). Cellular fatty acid-binding proteins: their function and physiological significance. *Prog Lipid Res* , 35:243–82.
37. Gomez-Munoz A, Martens JS, Steinbrecher UP (2000). Stimulation of phospholipase D activity by oxidized LDL in mouse peritoneal macrophages. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 20:135–43.
38. Gupta DK, Jewitt DE, Young R, Hartog M, Opie LH (1969). Increased plasma-free-fatty-acid concentrations and their significance in patients with acute myocardial infarction. *Lancet*, 2:1209-1213.
39. Hakligör A, Kösem A, Seneş M, Yücel D (2010). Effect of albumin concentration and serum matrix on ischemia-modified albumin. *Clin Biochem*, 43:345–8.
40. Haltern G, Peiniger S, Bufe A, Reiss G, Gulker H, Scheffold T (2010). Comparison of usefulness of heart-type fatty acid binding protein versus cardiac troponin T for diagnosis of acute myocardial infarction. *Am J Cardiol*, 105:1–9.
41. Hausen BS, Signor C, Kober H, Tatsch E, Pereira RS, Duarte T, *et al.* (2012). Effect of temperature on albumin cobalt binding and its influence on ischemia-modified albumin levels in patients with suspected acute coronary syndrome. *Clin Lab*; 58:169–72.
42. Hendrickson SC, St Louis JD, Lowe JE, Abdel-aleem S (1997). Free fatty acid metabolism during myocardial ischemia and reperfusion. *Mol Cell Biochem*, 166: 85-94.
43. Hjortshøj S, Dethlefsen C, Kristensen SR, Ravkilde J (2009) Kinetics of ischaemia modified albumin during ongoing severe myocardial ischaemia. *Clin Chim Acta*; 403:114-20
44. Hofmann U, Rabitzsch G, Löster K, Handschack W, Noll F, Krause EG (1989). Immunenzymometric assay for the heart specific glycogen phosphorylase BB in human serum using monoclonal antibodies. *Biomed Biochim Acta* , 48: S132–S136.
45. Ishii J, (2003). Heart-type fatty acid-binding protein is a useful marker for diagnosis of acute myocardial infarction and risk stratification of cardiac mortality and cardiac events in patients with early hours of acute coronary syndrome. *Circulation*, 18: IV-316.
46. Jolly SS, Shenkman H, Brieger D, Fox KA, Yan AT, Eagle KA, Steg PG, Lim KD, Quill A, Goodman SG; GRACE Investigators (2011). Quantitative troponin and death, cardiogenic shock, cardiac arrest and new heart failure in patients with non-ST-segment elevation acute coronary syndromes (NSTEMI ACS): insight from the Global Registry of Acute Coronary Events. *Heart* 97 , 197-202.



47. Jouven X, Charles MA, Desnos M, Ducimetiere P (2001). Circulating nonesterified fatty acid level as a predictive risk factor for sudden death in the population. *Circulation*; 104:756–61
48. Katan M, Christ-Crain M (2010). The stress hormone copeptin: a new prognostic biomarker in acute illness. *Swiss Med Wkly*.140:w13101
49. Kazanis K, Dalamaga M, Kassi E, Nounopoulos C, Manolis AS, Merantzi G, Jullien G, Dionyssiou-Asteriou A (2011). Serum levels of ischemia modified albumin in overweight/obese postmenopausal women: a potential biomarker of atherosclerotic burden associated with oxidative stress. *Maturitas*, 70:182-187.
50. Keating L, Bengler JR, Beetham R, Bateman S, Veysey S, Kendall J, Pullinger R (2006). The PRIMA study: presentation ischaemia modified albumin in the emergency department. *Emerg Med J*, 23:764-768.
51. Keller T, Tzikas S, Zeller T, Czyz E, Lillpopp L, Ojeda FM, Roth A, Bickel C, Baldus S, Sinning CR, Wild PS, Lubos E, Peetz D, Kunde J, Hartmann O, Bergmann A, Post F, Lackner KJ, Genth-Zotz S, Nicaud V, Tiret L, Münzel TF, Blankenberg S (2010). Copeptin improves early diagnosis of acute myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol* , 55:2096–106.
52. Khan SQ, Dhillon OS, O'Brien RJ, Struck J, Quinn PA, Morgenthaler NG, Squire IB, Davies JE, Bergmann A, Ng LL (2007). C-terminal provasopressin (copeptin) as a novel and prognostic marker in acute myocardial infarction: Leicester Acute Myocardial Infarction Peptide Study (LAMP). *Circulation* 115 , 2103-2110.
53. Kiyici A, Mehmetoğlu I, Karaoğlu H, Atalay H, Solak Y, Türk S (2010). Ischemia-modified albumin levels in patients with end-stage renal disease patients on hemodialysis: does albumin analysis method affect albumin-adjusted ischemia-modified albumin levels? *J Clin Lab Anal*, 24:273-277.
54. Kleinfeld AM, Kleinfeld KJ, Adams JE (2002). Serum levels of unbound free fatty acids reveal high sensitivity for early detection of acute myocardial infarction in patients samples from the TIMI II trial . *J Am Coll Cardiol*, 39: 312A.
55. Kleinfeld AM, Prothro D, Brown DL, Davis RC, Richieri GV, DeMaria A (1996). Increases in serum unbound free fatty acid levels following coronary angioplasty. *Am J Cardiol* , 78: 1350-1354.
56. Knežević, B; Rumenjak, V; Dravinski, Ž; Miličević, G; Gavranović, Ž; Bakula, M (2006). Procjena analitičke i dijagnostičke vrijednosti kolorimetrijskog testa vezanja kobalta na albumin kod bolesnika sa sumnjom na akutni koronarni sindrom. *Biochem Med*, 16(Suppl 1): S118.

57. Krause EG, Rabitzsch G, Noll F, Mair J, Puschendorf B (1996). Glycogen phosphorylase isoenzyme BB in diagnosis of myocardial ischaemic injury and infarction. *Mol Cell Biochem*, 160–161: 289–295.
58. Kudenchuk PJ, Maynard C, Cobb LA, Wirkus M, Martin JS, Kennedy JW, Weaver WD (1998). Utility of the prehospital electrocardiogram in diagnosing acute coronary syndromes: the Myocardial Infarction Triage and Intervention (MITI) Project. *J Am Coll Cardiol*, 32(1):17-27.
59. Lacnák B, Stejskal D, Jedelský L, Karpíšek M, Sprongl L (2007). Utilization of glycogen phosphorylase BB measurement in the diagnosis of acute coronary syndromes in the event of chest pain. *Vnitr Lek*, 53: 1164–1169.
60. Li CJ, Li JQ, Liang XF, Li XX, Cui JG, Yang ZJ, Guo Q, Cao KJ, Huang J (2010). Point-of-care test of heart-type fatty acid-binding protein for the diagnosis of early acute myocardial infarction. *Acta Pharmacol Sin*, 31:307–12.
61. Liedtke, A (1981). Alterations of carbohydrate and lipid metabolism in the acutely ischemic heart. *Prog Cardiovasc Dis*, 23:321-326.
62. Lillpopp L, Tzikas S, Ojeda F, Zeller T, Baldus S, Bickel C, Sinning CR, Wild PS, Genth-Zotz S, Warnholtz A, Lackner KJ, Münzel T, Blankenberg S, Keller T (2012). Prognostic information of glycogen phosphorylase isoenzyme BB in patients with suspected acute coronary syndrome. *Am J Cardiol*, 110(9):1225-30.
63. Lippi G, Mattiuzzi C, Comelli I, Cervellin G (2013). Glycogen phosphorylase isoenzyme BB in the diagnosis of acute myocardial infarction: a meta-analysis. *Biochem Med (Zagreb)*, 23(1):78-82.
64. Lippi G, Montagnana M, Salvagno GL, Guidi GC (2007). Standardization of ischemia-modified albumin testing: adjustment for serum albumin. *Clin Chem Lab Med*, 45:261–2.
65. Lotze U, Lemm H, Heyer A, Müller K (2011). Combined determination of highly sensitive troponin T and copeptin for early exclusion of acute myocardial infarction: first experience in an emergency department of a general hospital. *Vasc Health Risk Manag*, 7:509-15
66. Lu J, Stewart AJ, Sadler PJ, Pinheiro TJ, Blindauer CA (2012). Allosteric inhibition of cobalt binding to albumin by fatty acids: implications for the detection of myocardial ischemia. *J Med Chem*, 10;55(9):4425-30
67. Mad P, Domanovits H, Fazelnia C, Stiassny K, Russmüller G, Cseh A, Sodeck G, Binder T, Christ G, Szekeres T, Laggner A, Herkner H (2007). Human heart-type fatty-acid-binding protein as a point-of-care test in the early diagnosis of acute myocardial infarction. *QJM*, 100: 203-210.

68. Mair J, Puschendorf B, Smidt J, Lechleitner P, Dienstl F, Noll F, Krause E G, Rabitzsch G (1994). Early release of glycogen phosphorylase in patients with unstable angina and transient ST-T alterations. *Br Heart J*, 72: 125–127.
69. Maisel A, Mueller C, Neath SX, Christenson RH, Morgenthaler NG, McCord J, Nowak RM, Vilke G, Daniels LB, Hollander JE, Apple FS, Cannon C, Nagurney JT, Schreiber D, deFilippi C, Hogan C, Diercks DB, Stein JC, Headden G, Limkakeng AT Jr, Anand I, Wu AH, Papassotiriou J, Hartmann O, Ebmeyer S, Clopton P, Jaffe AS, Peacock WF. (2013). Copeptin helps in the early detection of patients with acute myocardial infarction: primary results of the CHOPIN trial. *J Am Coll Cardiol*, 62(2):150-60.
70. Martinson EA, Scheible S, Marx-Grunwitz A, Presek P (1998). Secreted ADP plays a central role in thrombin-induced phospholipase D activation in human platelets. *Thromb Haemost*, 80:976–81.
71. McCann CJ, Glover BM, Menown IB, Moore MJ, McEneny J, Owens CG, Smith B, Sharpe PC, Young IS, Adgey JA (2009). Prognostic value of a multimarker approach for patients presenting to hospital with acute chest pain. *Am J Cardiol*, 103(1): 22-28.
72. Mitchell AM, Brown MD, Menown IB, Kline JA (2005). Novel protein markers of acute coronary syndrome complications in low-risk outpatients: a systematic review of potential use in the emergency department. *Clin Chem*, 51:2005–12.
73. Mohler ER, Ryan T, Segar DS, *et al.* (1998). Clinical utility of troponin T levels and echocardiography in the emergency department. *Am Heart J*; 135:253–260
74. Morgenthaler NG, Struck J, Alonso C, Bergmann A (2006). Assay for the measurement of copeptin, a stable peptide derived from the precursor of vasopressin. *Clin Chem*, 52:112–9.
75. Morrow DA, de Lemos JA, Sabatine MS, Antman EM (2003). The search for a biomarker of cardiac ischemia. *Clin Chem* , 49: 537-539.
76. Mothes E, Faller P (2007). Evidence that the principal ColI-binding site in human serum albumin is not at the N-terminus: implication on the albumin cobalt binding test for detecting myocardial ischemia. *Biochemistry*, 46(8): 2267–2274.
77. Narayan H, Dhillon OS, Quinn PA, Struck J, Squire IB, Davies JE, Ng LL (2011). C-terminal provasopressin (copeptin) as a prognostic marker after acute non-ST elevation myocardial infarction: Leicester Acute Myocardial Infarction Peptide II (LAMP II) study. *Clin Sci (Lond)*, 121(2):79-89.
78. Nickel CH, Bingisser R, Morgenthaler NG (2012) The role of copeptin as a diagnostic and prognostic biomarker for risk stratification in the emergency department. *BMC Medicine*, 10:7 doi:10.1186/1741-7015-10-7
79. O'Brien KD, Pineda C, Chiu WS, Bowen R, Deeg MA (1999). Glycosylphosphatidylinositol-specific phospholipase D is expressed by macrophages in

- human atherosclerosis and colocalizes with oxidation epitopes. *Circulation*, 99:2876–82.
80. Okamoto F, Sohmiya K, Ohkaru Y, Kawamura K, Asayama K, Kimura H, Nishimura S, Ishii H, Sunahara N, Tanaka T (2000). Human heart-type cytoplasmic fatty acid-binding protein (H-FABP) for the diagnosis of acute myocardial infarction. Clinical evaluation of H-FABP in comparison with myoglobin and creatine kinase isoenzyme MB. *Clin Chem Lab Med* , 38:231–8.
  81. Oliver MF, Kurien VA, Greenwood TW (1968). Relation between serum-free-fatty acids and arrhythmias and death after acute myocardial infarction. *Lancet*, 1: 710-714.
  82. Papageorghiou AT, Prefumo F, Leslie K, Gaze DC, Collinson PO, Thilaganathan B (2008). Defective endovascular trophoblast invasion in the first trimester is associated with increased maternal serum ischemia modified albumin. *Hum Reprod*, 23:803-806.
  83. Peacock F, Morris DL, Anwaruddin S, Christenson RH, Collinson PO, Goodacre SW, Januzzi JL, Jesse RL, Kaski JC, Kontos MC, Lefevre G, Mutrie D, Sinha MK, Uettwiller-Geiger D, Pollack CV. (2006). Meta-analysis of ischemia-modified albumin to rule out acute coronary syndromes in the emergency department. *Am Heart J*, 152:253-262.
  84. Peetz D, Post F, Schinzel H, Schweigert R, Schollmayer C, Steinbach K, Dati F, Noll F, Lackner KJ. (2005). Glycogen phosphorylase BB in acute coronary syndromes. *Clin Chem Lab Med* , 43:1351–1358.
  85. Pelsers MM, Hermens WT, Glatz JF (2005). Fatty acid-binding proteins as plasma markers of tissue injury. *Clin Chim Acta* , 352:15–35.
  86. Pelsers, M (2004). Fatty acid -binding protein as plasma marker for tissue injury (pHD thesis). *Maastricht University*.
  87. Piwowar A, Knapik-Kordecka M, Warwas M (2008). Ischemia-modified albumin level in type 2 diabetes mellitus - Preliminary report. *Dis Markers*, 24:311-317.
  88. Polk JD, Rael LT, Craun ML, Mains CW, Davis-Merritt D, Bar-Or D (2008). Clinical utility of the cobalt-albumin binding assay in the diagnosis of intestinal ischemia. *J Trauma*, 64:42-45.
  89. Rabitzsch G, Mair J, Lechleitner P, Noll F, Hofmann U, Krause EG, Dienstl F, Puschendorf B (1995). Immunoenzymometric assay of human glycogen phosphorylase isoenzyme BB in diagnosis of ischemic myocardial injury. *Clin Chem*, 41: 966–978.
  90. Rabitzsch G, Mair J, Lechleitner P, Noll F, Hofmann V, Krause EG, Dienstl F, Puschendorf B (1993). Isoenzyme BB of glycogen phosphorylase b and myocardial infarction. *Lancet*, 341: 1032–1033.
  91. Reichlin T, Hochholzer W, Stelzig C, Laule K, Freidank H, Morgenthaler NG, Bergmann A, Potocki M, Noveanu M, Breidthardt T, Christ A, Boldanova T, Merki R, Schaub N,

- Bingisser R, Christ M, Mueller C (2009). Incremental value of copeptin for rapid rule out of acute myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol* 54, 60-68.
92. Richieri GV, Kleinfeld AM (1995). Unbound free fatty acid levels in human serum. *J Lipid Res* , 36: 229-240.
  93. Richieri GV, Ogata RT, Kleinfeld AM (1992). A fluorescently labeled intestinal fatty acid binding protein. Interactions with fatty acids and its use in monitoring free fatty acids. *J Biol Chem*, 267: 23495-23501.
  94. Richieri GV, Ogata RT, Kleinfeld AM (1999). The measurement of free fatty acid concentration with the fluorescent probe ADIFAB: a practical guide for the use of the ADIFAB probe. *Mol Cell Biochem*, 192:87-94.
  95. Roy D, Quiles J, Gaze DC, Collinson P, Kaski JC, Baxter GF (2006). Role of reactive oxygen species on the formation of the novel diagnostic marker ischaemia modified albumin. *Heart*; 92:113–4.
  96. Ruzgar O, Bilge AK, Bugra Z, Umman S, Yilmaz E, Ozben B, Umman B, Meric M (2006). The use of human heart-type fatty acid -binding protein as an early diagnostic biochemical marker of myocardial necrosis in patients with acute coronary syndrome, and its comparison with troponin-T and creatine kinase-myocardial band. *Heart vessels*, 21:309-314.
  97. Sánchez M, Llorens P, Herrero P, Martín-Sánchez FJ, Piñera P, Miró O (2013). The utility of copeptin in the emergency department as a predictor of adverse outcomes in non-ST-elevation acute coronary syndrome: the COPED-PAO study. *Emerg Med J*.
  98. Seino Y, Tomita Y, Takano T, Ohbayashi K (2004). Office cardiologists cooperative study on whole blood rapid panel tests in patients with suspicious acute myocardial infarction: comparison between heart-type fatty acid-binding protein and troponin T tests. *Circ J* , 68:144–8.
  99. Seneş M, Kazan N, Coşkun O, Zengi O, Inan L, Yücel D (2007). Oxidative and nitrosative stress in acute ischaemic stroke. *Ann ClinBiochem*, 44:43-47.
  100. Shaikh NA, Downar E (1981). Time course of changes in porcine myocardial phospholipid levels during ischemia. A reassessment of the lysolipid hypothesis. *Circ Res* , 49:316–25.
  101. Sharma R, Gaze DC, Pellerin D, Mehta RL, Gregson H, Streather CP, Collinson PO, Brecker SJ (2007). Evaluation of ischaemia-modified albumin as a marker of myocardial ischaemia in end-stage renal disease. *Clin Sci (Lond)* , 113:25-32.
  102. Sinha MK, Roy D, Gaze DC, Collinson PO, Kaski JC (2004). Role of "Ischemia modified albumin", a new biochemical marker of myocardial ischaemia, in the early diagnosis of acute coronary syndromes. *Emerg Med J*, 21:29-34.

103. Smyth SS, Hillery CA, Parise LV (1992). Fibrinogen binding to purified platelet glycoprotein IIb-IIIa (integrin alpha IIb beta 3) is modulated by lipids. *J Biol Chem*, 267:15568–77.
104. Sorichter S, Mair J, Koller A, Pelsers MM, Puschendorf B, Glatz JF (1998). Early assessment of exercise induced skeletal muscle injury using plasma fatty acid binding protein. *Br J Sports Med*, 32:121–4.
105. Stejskal D, Lacnak B, Jedelsky L, Stepanova L, Proskova J, Solichova P, Kadalova L, Janosova M, Seitlova P, Karpisek M, Sprongl L (2007). Use of glycogen phosphorylase BB measurement with POCT in the diagnosis of acute coronary syndromes. A comparison with the ELISA method. *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub*, 151: 247–249.
106. Tambara K, Fujita M, Miyamoto S, Doi K, Nishimura K, Komeda M (2004). Pericardial fluid level of heart-type cytoplasmic fatty acid-binding protein (H-FABP) is an indicator of severe myocardial ischemia. *J cardiol*, 93:281-284.
107. Thelin J, Borna C, Erlinge D, Ohlin B (2013). The combination of high sensitivity troponin T and copeptin facilitates early rule-out of ACS: a prospective observational study. *BMC Cardiovasc Disord*, 13(1):42.
108. Toker A, Aribas A, Yerlikaya FH, Tasyurek E, Akbuğa K (2013). Serum and saliva levels of ischemia-modified albumin in patients with acute myocardial infarction. *J Clin Lab Anal*, 27(2):99-104.
109. Turedi S, Gunduz A, Mentese A, Karahan SC, Yilmaz SE, Eroglu O, Nuhoglu I, Turan I, Topbas M (2007). Value of ischemia-modified albumin in the diagnosis of pulmonary embolism. *Am J Emerg Med*, 25:770-773.
110. Valle Gottlieb MG, da Cruz IB, Duarte MM, Moresco RN, Wiehe M, Schwanke CH, Bodanese LC (2010). Associations among metabolic syndrome ischemia, inflammatory, oxidatives, and lipids biomarkers. *J Clin Endocrinol Metab*, 95:586-591.
111. Van Belle E, Dallongeville J, Vicaut E, Degrandart A, Baulac C, Montalescot G (2010). Ischemia-modified albumin levels predict long-term outcome in patients with acute myocardial infarction. The French Nationwide OPERA study. *Am Heart J*, 159:570-576.
112. Van Nieuwenhoven FA, Kleine AH, Wodzig WH, Hermens WT, Kragten HA, Maessen JG, Punt CD, Van Dieijen MP, Van der Vusse GJ, Glatz JF (1995). Discrimination between myocardial and skeletal muscle injury by assessment of the plasma ratio of myoglobin over fatty acid-binding protein. *Circulation*, 92:2848–54.
113. Voors AA, von Haehling S, Anker SD, et al (2009). C-terminal proavopressin (copeptin) is a strong prognostic marker in patients with heart failure after acute myocardial infarction: results from the OPTIMAAL study. *Eur Heart J*, 30:1187–1194

114. Williger BT, Ho WT, Exton JH. (1999). Phospholipase D mediates matrix metalloproteinase-9 secretion in phorbol ester stimulated human fibrosarcoma cells. *J Biol Chem*, 274:735–8.
115. Worster A, Devereaux PJ, Heels-Ansdell D, Guyatt GH, Opie J, Mookadam F, Hill SA (2005). Capability of ischemia-modified albumin to predict serious cardiac outcomes in the short term among patients with potential acute coronary syndrome. *CMAJ*, 172:1685-1690.
116. Wu AH, Morris DL, Fletcher DR, Apple FS, Christenson RH, Painter PC (2001). Analysis of the albumin cobalt binding (ACB) test as an adjunct to cardiac troponin I for the early detection of acute myocardial infarction. *Cardiovasc Toxicol*, 1:147–51.
117. Yuan Y, Kwong AW, Kaptein WA, Fong C, Tse M, Glatz JF, Chan C, Renneberg R (2003). The responses of fatty acid-binding protein and creatine kinase to acute and chronic exercise in junior rowers. *Res Q Exerc Sport*, 74:277–83.

## **7. ŽIVOTOPIS**

Rođen sam 29.6.1988. godine u Splitu. Završio sam Osnovnu školu Ivana Mažuranića u Posušju, BiH, te Gimnaziju fra Grge Martića, također u Posušju, BiH. Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu upisao sam 2007. godine. Trenutno sam student šeste godine. U slobodno vrijeme bavim se košarkom, vježbanjem u teretani, trčanjem.