



*One World, One Home, One Heart.*

# BIOMARKERI U DIJAGNOSTICI AKUTNOG KORONARNOG SINDROMA

# Kardiovaskularne bolesti



One World, One Home, One Heart.

- Vodeći uzrok letalnog ishoda u industrijskim zemljama i zemljama u razvoju.
- Republika Srbija je treća u svetu po broju umrlih od bolesti srca, odmah iza Ukrajine i Rusije!

# Epidemiologija

- U Srbiji, na godišnjem nivou od ovih bolesti umre preko 50.000 ljudi.
- Najveći broj umrlih od različitih oblika KVB bio je u najproduktivnijim godinama života (25-64 godine).



# Akutni koronarni sindrom (AKS)

- Grupa različitih kliničkih stanja koja nastaju kao posledica akutne ishemije i/ili nekroze miokarda čiji je najčešći uzrok akutna koronarna lezija, nastala rupturom aterosklerotičnog plaka u koronarnoj arteriji sa pratećom trombozom, inflamacijom, vazokonstrikcijom i mikroembolizacijom.

# Klinička prezentacija AKS

- Nestabilna angina pektoris
- Akutni infarkt miokarda bez i sa elevacijom ST segmenta
- iznenadna srčana smrt





One World, One Home, One Heart.

# Akutni koronarni sindrom

- Najčešći razlog hitne hospitalizacije i uzrok smrti kardiovaskularnih bolesnika u svetu.

U Srbiji tokom 2010 godine

- registrovano 22.078 novoobolelih (m 13.405 ž 8.673)
- 6600 smrtnih ishoda od AKS-a

# Statistika u Srbiji 2010 godine

od akutnog infarkta miokarda

- obolelo 17.857 osoba
- umrlo 6.327 ljudi.

od nestabilne angine pektoris

- obolelo 4221 osoba
- umrlo 273 ljudi.

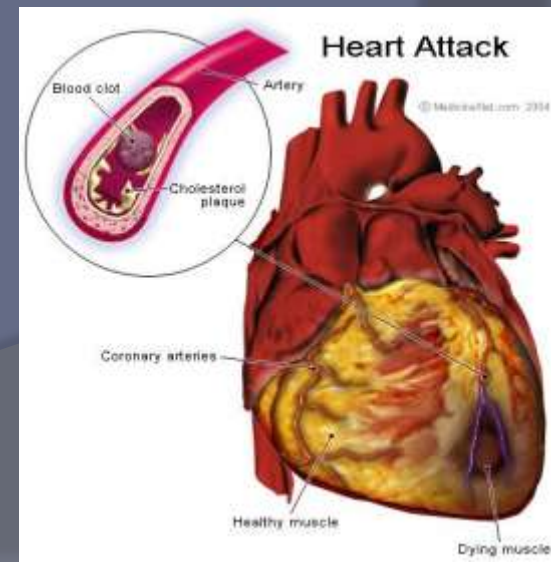


One World, One Home, One Heart.

# patofiziologija AMI



- Erozija ili ruptura aterosklerotskog plaka sa različitim stepenom tromboze, distalne embolizacije i posledične miokardne hipoperfuzije, predstavlja bazu patofiziološkog mehanizma ovog entiteta





# Vodeći simptom u dijagnozi i terapiji

- bol u grudima ishemijskog tipa ili ekvivalenti anginoznog bola
- elektrokardiogram



One World, One Home, One Heart.

# Dijagnostika



One World, One Home, One Heart.

- Rezultati elektrokardiograma
- lekarski pregled,
- klinička istorija pacijenta
- laboratorijska nalazi

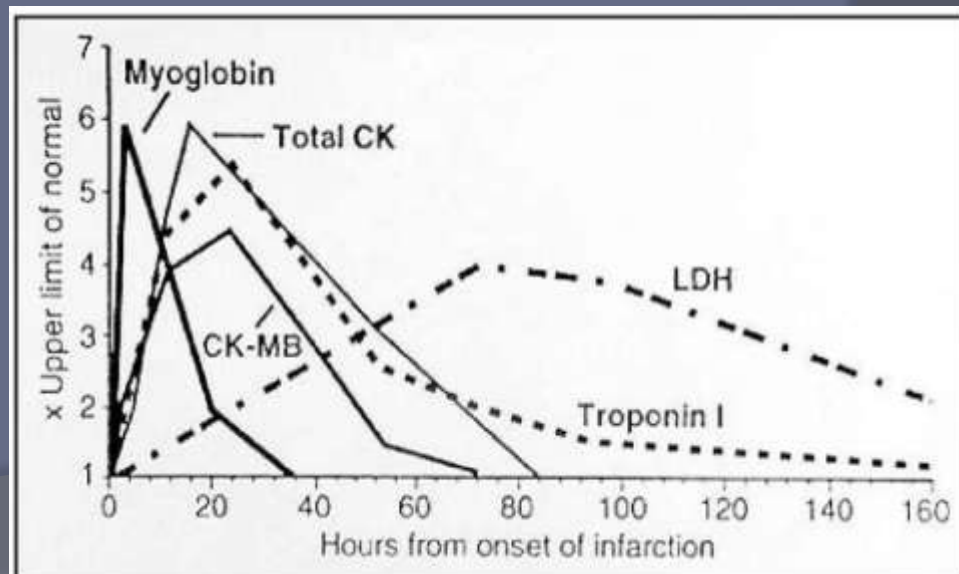




One World, One Home, One Heart.

# Biomarkeri

- Markeri nekroze miocita, troponini,
- markeri inflamacije
- markeri srčane funkcije



# Laboratorijska dijagnostika

- Pod biohemijskim markerima miokardnog oštećenja podrazumevaju se endogene supstance enzimske ili proteinske prirode koje prelaze u perifernu cirkulaciju posle oštećenja miokarda bilo koje etiologije.
- To znači da one nisu samo karakteristične za nekrozu miokarda ishemijske etiologije, već mogu biti rezultat i mehaničkog ili toksičnog oštećenja miokarda .



- Neki od ovih markera specifični su za miokard (troponini) tj. nalaze se samo u njemu,
- dok su drugi nespecifični i mogu se naći i u drugim ćelijama i tkivima, npr. u skeletnoj muskulaturi.
- **Markeri nekroze miocita, troponini, ušli su u preporuke za dijagnozu i lečenje infarkta miokarda i nestabilne angine pectoris**

- praćenje kardijalnih markera i to:
  - enzimskog parametara kreatinin kinaze (**ck**),
  - njegovog izoenzima **ck-mb** i
  - specifičnog proteina, **troponina I**
- povećava se mogućnost ranog otkrivanja infarkta miokarda.
- neophodno serijsko praćenje, t.j uzimanje ovih markera u određenim intervalima.

# CK(kreatin kinaza)

ili kreatin fosfokinaza (CPK )

- pokazuje porast je **CK** već 3-6 sati,
- prelazi gornji limit referentnih vrednosti nakon 6-8 časova od pojave bola u grudima.
- Maksimum dostiže između 18 i 30 časova, a unutar referentnih vrednosti se vraća posle trećeg i četvrtog dana.
- lažno pozitivne vrednosti kod bolesnika sa miopatijama, traumom skeletne muskulature, posle intramuskularne aplikacije lekova, posle napornih fizičkih vežbi i sportova.
- U akutnom infarktu savetuje se uzimanje uzoraka na  
6-12 h.

# CK-MB

- enzim koji je prisutan u visokim koncentracijama u miokardu.
- Ovaj izoenzim kreatin kinaze se često koristi u dijagnostici akutnog infarkta miokarda.
- preko normale raste u toku prvih 4 – 8 sati nakon akutnog infarkta miokarda,
- maksimalnu koncentraciju između 12 i 24 sata i vraća se na normalu u toku 3 dana.
- Koncentracija CK – MB u krvi može biti povišena kao rezultat akutnog ili hroničnog oštećenja mišića, uključujući intezivno vežbanje i traumu.



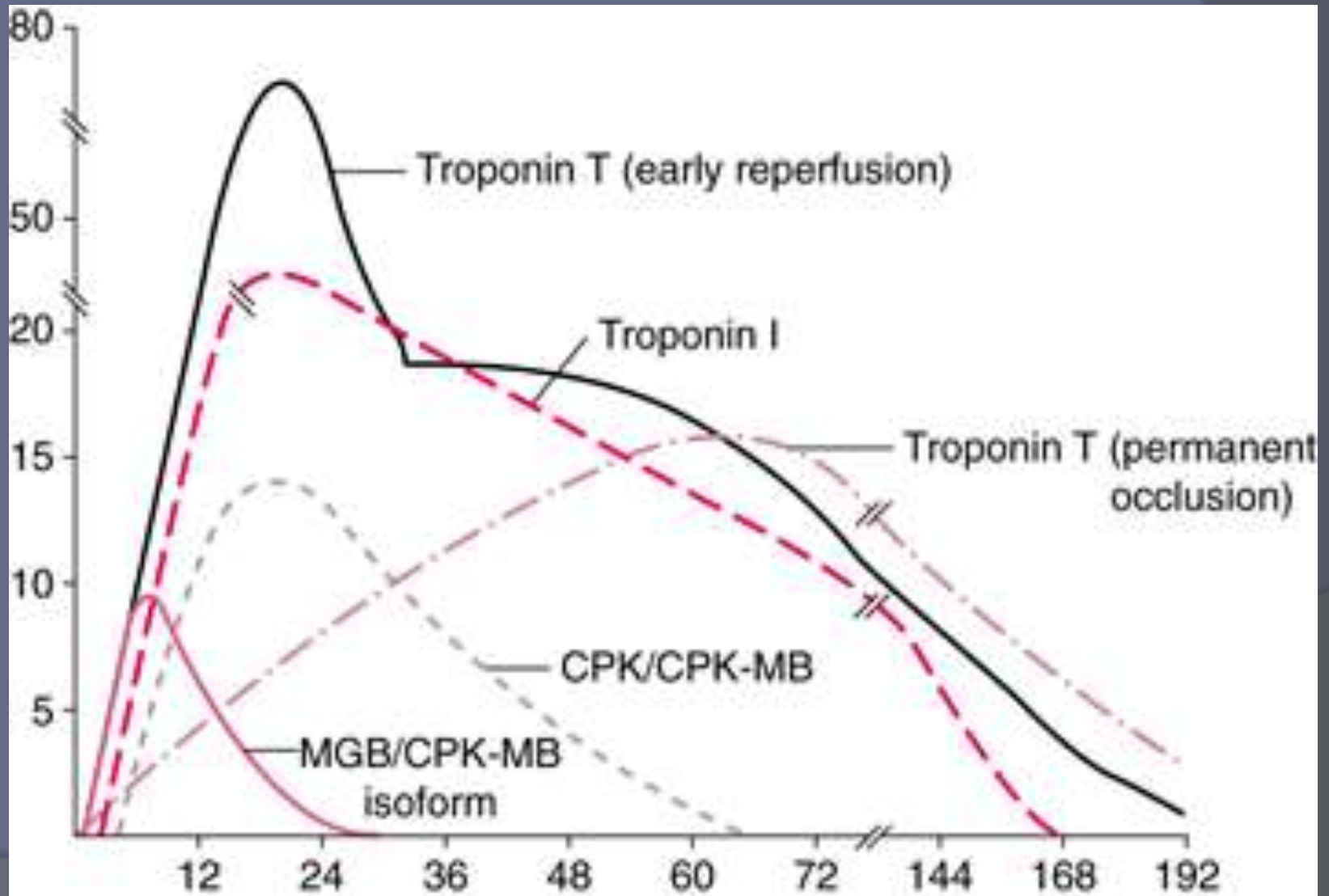
# TROPONIN I

- Troponini I i T predstavljaju specifične regulatorne proteine koji kontrolišu interakciju između aktina i miozina, i u cirkulaciji se pojavljuju uglavnom nakon ireverzibilnog oštećenja miokarda .
- vreme poluživota iznosi oko 120 minuta.
- Pacijenti sa minornim oštećenjem miokarda mogu imati povećanje srčanog troponina u odsustvu povećanja aktivnosti ck i ckmb.
- Analizom troponina možemo utvrditi oštećenje miokarda od 2 sata do četrnestog dana od nastanka bola.

# TROPONIN I

- Koncentracija dostiže pik između 12 i 16 sati i ostaje povišena u toku 5 – 9 dana nakon oštećenja miokarda.
- Srčani troponin I je primarno povišen kao rezultat infarkta miokarda
- Može biti povišen i kao rezultat malog srčanog oštećenja što podrazumeva: nestabilnu anginu, srčane kontuzije, srčani transplantat, koronarni arterijski bypass graft operaciju, fizičku traumu srca, kongestivnu srčanu insuficijenciju i druge uslove koji mogu oštetiti miokard.
- Srčani troponin I nije povišen kao rezultat povrede skeletnih mišića

# Promene u koncentraciji srčanih markera u serum nakon infarkta miokarda



- Određivanje aktivnosti enzima CK, izoenzima CK-MB, i specifičnog proteina troponina I predstavljaju najznačajniju primenu u kliničkoj hemiji.
- Svaka fizička trauma srca u toku kardio-hiruških operacija ( uključujući i transplataciju srca ), takođe dovodi do povećane aktivnosti CK i CK-MB u dovoljnoj meri da maskira povećanja uzrokovana infarktom miokarda nastalim u toku operacije .
- Određivanje troponina I, tada je od velikog značaja

.

- Svaka laboratorija mora za srčane markere da utvrdi referentne vrednosti, da poznaje vrednosti kod pacijenata bez infarkta, a sa drugim srčanim oboljenjima (npr.kod kongestivnog srčanog oboljenja, kod nestabilne angine, itd.).
- To znači da za izabrane srčane markere treba pažljivo utvrditi takozvane prelomne koncentracije (cut-off vrednosti) koje se koriste pri proceni srčanih oštećenja.

TnI < 0,5 ng/ml    CKMB < 25 U/l

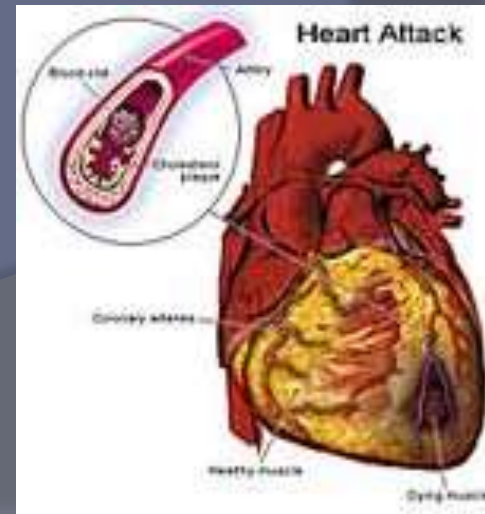
# Access 2

- U Laboratorijskoj službi IKVB Dedinje analizu troponina I određujemo na aparatu Access 2, Beckman coulter



# MARKERI INFLAMACIJE

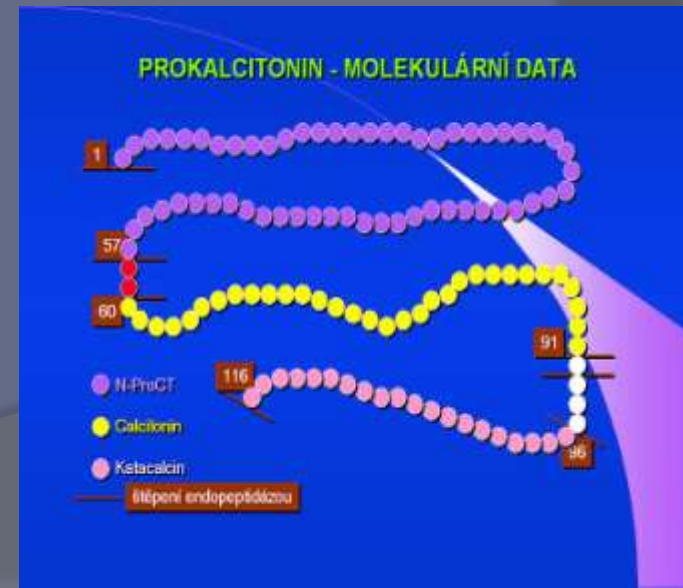
Inflamacija, sistemska i lokalna, igra važnu ulogu u nastanku akutnog koronarnog sindroma. Zapaljenjski proces determiniše stabilnost ili nestabilnost plaka. Zbog toga se postavlja pitanje da li markeri inflamacije mogu da pomognu u stratifikaciji rizika i identifikaciji bolesnika, koji samim tim mogu da imaju korist od određene vrste terapijskih procedura.



# MARKERI INFLAMACIJE

Markeri inflamacije koji su u upotrebi su:

- prokalcitonin (PCT)
- HS-CRP
- C-reaktivni protein (CRP)
- broj leukocita
- sedimentacija eritrocita
- fibrinogen.

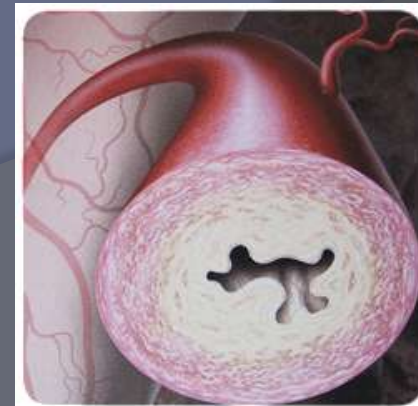




# MARKERI INFLAMACIJE

Markeri inflamacije koji su u fazi istraživanja su:

- CD40 ligand,
- mijelo-peroksidaza (MPO),
- monocitni hemoatraktant protein-1 (MCP-1),
- holin i
- plazma protein A (PAPP-A).



# PROKALCITONIN (PCT)

Prokalcitonin (PCT) je prohormon štitaste žlezde, čiji nivo u cirkulaciji raste nakon stimulacije lipopolisaharidima (LPS). Nivo PCT u serumu počinje da raste 2-6 sati nakon LPS stimulacije, a njegov poluživot u cirkulaciji iznosi 20-24 h. PCT je trenutno najpouzdaniji pokazatelj razvoja sistemske bakterijske infekcije i sistemskog inflamatornog odgovora (SIRS). PCT od izuzetne vrednosti, kako za rano otkrivanje infekcija, tako i za predikciju komplikacija kod pacijenata sa akutnim koronarnim sindromom.

# C-REAKTIVNI PROTEIN (CRP)

CRP je marker koji se već koristi za procenu inflamacije kod bolesnika sa aterosklerozom. **Bolesnici sa nestabilnom anginom pectoris i povišenim vrednostima CRP-a imaju povećenu učestalost infarkta miokarda, srčane smrti i potrebe za revaskularizacijom miokarda u odnosu na pacijente bez povišenih vrednosti CRPa**

# C-REAKTIVNI PROTEIN (CRP)

Prognostički značaj povišenih vrednosti CRP-a nije u korelaciji sa nivoom troponina.

Povišene vrednosti CRP-a su udružene sa ubrzanom progresijom ateroskleroze, pa samim tim snižene vrednosti CRP-a dovode se u vezu sa padom mortaliteta od koronarne bolesti.

# hs CRP (*high sensitivity* CRP)

*Određivanje visoko osetljivog (high sensitivity, hs) C-reaktivnog proteina*

hs CRP se odskora primenjuje kao marker aterosklerotskog rizika. Hs CRP danas predstavlja inflamatorni marker izbora. Centri za kontrolu i prevenciju oboljenja (The Centers for Disease Control and Prevention, CCDC) i Američko udruženje za srce (American Heart Association, AHA) dali su preporuke za korišćenje ovog markera u primarnoj prevenciji pacijenata sa stabilnim koronarnim oboljenjima ili akutnim koronarnim sindromom.

# hs CRP (*high sensitivity* CRP)

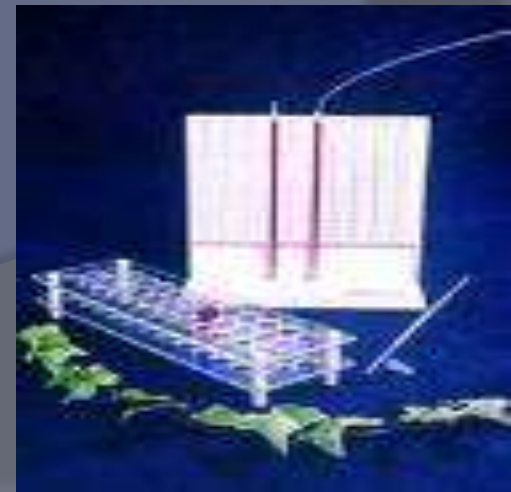
Pokazano je da se kod osoba sa povišenim koncentracijama hs CRP, primena aspirina i/ili statina može da smanji rizik od nastanka budućih koronarnih događaja. Takođe je pokazano da se hs CRP može da se koristi kao prognostički marker kod bolesnika sa akutnim koronarnim sindromom čak i u odsustvu nekroze miokarda pri čemu hs CRP odražava »ranjivost« plaka i verovatnoću njegove ruptуре.

# BROJ LEUKOCITA

- Udruženo sa lošom prognozom i povećanim mortalitetom kod takvih bolesnika.
- Raste 2 sata od početka anginoznog bola, maksimalne vrednosti postiže posle 2 do 4 dana, a vraća se na normalu u toku prve nedelje.
- Često dolazi i do promena u relativnoj leukocitarnoj formuli sa porastom udela polimorfonuklearnih leukocita.

# SEDIMENTACIJA ERITROCITA

- Normalna prvog i drugog dana, a zatim raste i dostiže maksimalne vrednosti 4 i 5 dana, da bi zatim više nedelja ostala povišena.







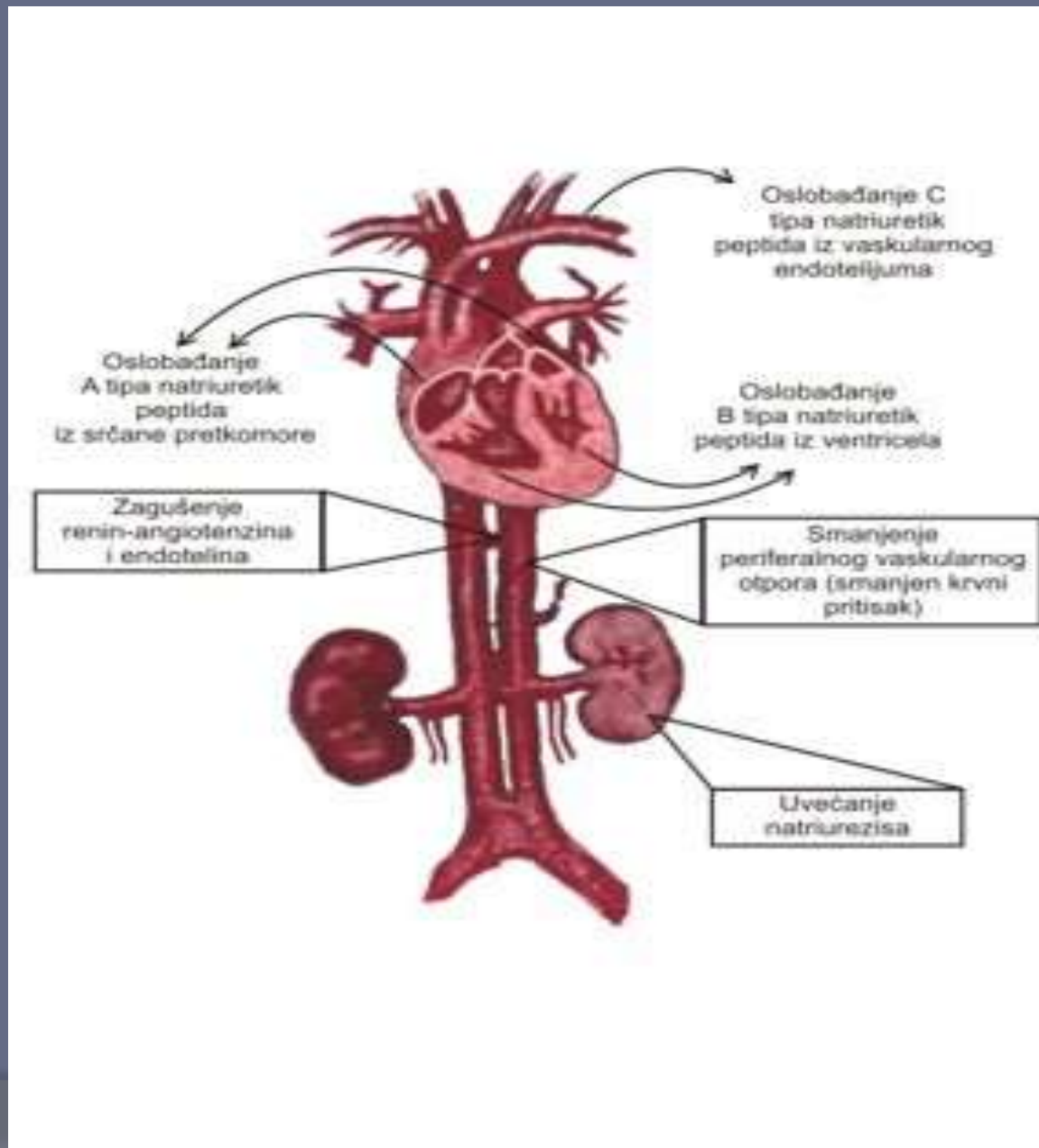
# Markeri srčane funkcije

- Od kada je 2001 godine, ušao u preporuke za dijagnozu srčane slabosti moždani natriuretski peptid (BNP) i njegov N-terminalni prohormon (NT-pro BNP) su u stalnom fokusu kardiologa

# Moždani natriuretski peptid (BNP)

- Moždani natriuretski peptid (BNP) se sekretuje iz miokarda kao odgovor na stres zida (volumen, pritisak) a u zadnje vreme sa sigurnošću je dokazano da i ishemija izaziva njegovu sekreciju što mu daje novi značaj i dimenziju u okviru akutnih koronarnih sindroma.
- Na eksperimentalnim modelima kod izazvanog infarkta podvezivanjem koronarne arterije zapaženo je da je transkripcija gena za BNP povećana i u infarktnom i u okolnom viabilnom području.

Na slici je detaljnije prikazan natriuretski peptid (A,B I C-tip)



# BNP u akutnom koronarnom sindromu

- BNP koncentracija raste rapidno nakon 24h od početka akutnog infarkta miokarda i nadalje teži stabilizaciji.
- Drugi porast BNP dešava se oko 5. dana u slučaju postojanja remodelovanja leve komore.
- Prognostički značaj BNP raste sa procenom i ejekcione frakcije ali i bez nje predstavlja nezavistan prognostički marker za neželjene događaje (srčanu slabost i smrt).

- Moždani natriuretski peptid direktno reflektuje stepen disfunkcije leve komore uzrokovane akutnim infarktom miokarda.
- Takođe postoji jaka korelacija između nivoa moždanog natriuretskog peptida (BNP) u plazmi i smrtnosti među bolesnicima bez miokardne nekroze (detektovane kao odsustvo porasta troponina). Što ukazuje da BNP ukazuje na širinu i ozbiljnost ishemijskog inzulta čak i kad ireverzibilne promene nisu zastupljene.

- Porast BNP-a u pacijenata sa ACS je registrovan i u odsustvu miokardne nekroze.
- Miokardna ishemija u nestabilnoj angini pectoris povećava regionalni komorski zidni stres što vodi ka lokalnoj depresiji miokardne kontrakcije, što uslovljava porast BNP-a.
- Među bolesnicima sa nestabilnom anginom pectoris i bez povišenog nivoa troponina I , stepen povećanja BNP-a ima prognostički značaj.

### MARKERS OF CARDIAC MYOCYTE STRAIN

- BNP
- NT-proBNP
- MR-proANP

### MARKERS OF CARDIAC MYOCYTE REMODELING

- ST2
- Galectin-3
- GDF-15



### MARKERS OF CARDIAC MYOCYTE INJURY

- High Sensitivity Troponins

### MARKERS OF CONCOMITANT INJURY/INFECTION SEEN IN HEART FAILURE

#### ACUTE KIDNEY INJURY

- NGAL



#### PNEUMONIA

- Procalcitonin

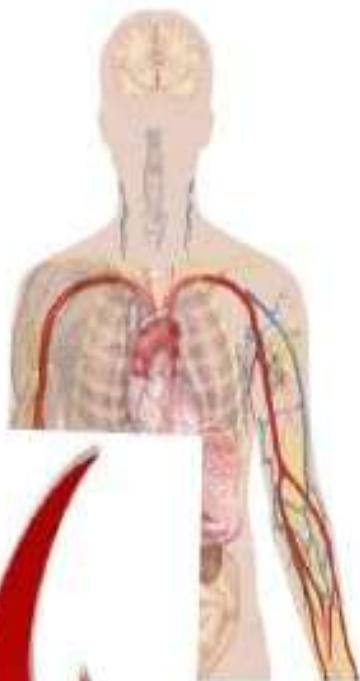


### MARKERS OF INFLAMMATORY PROCESSES

- IL 6
- Fas (Apo 1)
- TNF- $\alpha$
- CRP
- Pentraxin-3
- Myeloperoxidase

### MARKERS OF NEUROHORMONAL ACTIVATION

- Norepinephrine
- RAAS
- Endothelin-1
- Copeptin
- Matrix metalloproteinase



Increased Ventricular Wall Stretch





# Savremeni testovi

- Na IKVB DEDINJE kontinuirano se prate novine u medicinskoj biohemiji, imunologiji, kardiologiji i dr. medicinskim disciplinama usko prepletenim sa hirurgijom
- Uvode se novi testovi biomarkera





One World, One Home, One Heart.

# Savremeni trend

- Kako kardiovaskularne bolesti i dalje predstavljaju glavni uzrok morbiditeta i mortaliteta u razvijenim zemljama, upravo je na tom polju evaluacija novih biomarkera najopsežnija
- Određivanje koncentracije kopeptina dalo je značajan doprinos u dijagnostici i prognozi različitih oboljenja, uključujući i kardiovaskularne bolesti, kao što su srčana slabost, infarkt miokarda i moždani udar

# Multimarkerski pristup stratifikaciji rizika kod akutnih koronarnih sindroma

- Postoji nekoliko faktora koji kombinuju primenu više srčanih biomarkera za predviđanje rizika u AKS.
- patofiziologija i klinička prezentacija AKS je heterogena te terapijski pristup sagledavnja problema kroz jedan ili dva markera nije optimalan.
- različiti markeri jasno reflektuju različite komponente patofiziologije AKS pa ako se zajedno koriste daju nezavisne prognostičke informacije.



One World, One Home, One Heart.

- Danas se sve više akutni koronarni sindrom sagledava kroz prizmu multimarkerskog pristupa radi što bolje stratifikacije rizika, a samim tim i bolje dijagnoze, lečenja i prognoze.
- Troponin, CRP i BNP, svaki ponaosob obezbeđuje jedinstvenu prognostičku informaciju u bolesnika sa AKS. Multimarkerska strategija omogućava da se bolesnici grupišu sa još većom sigurnošću i prognostičkom širinom nego sagledano na osnovu svakog ponaosob.

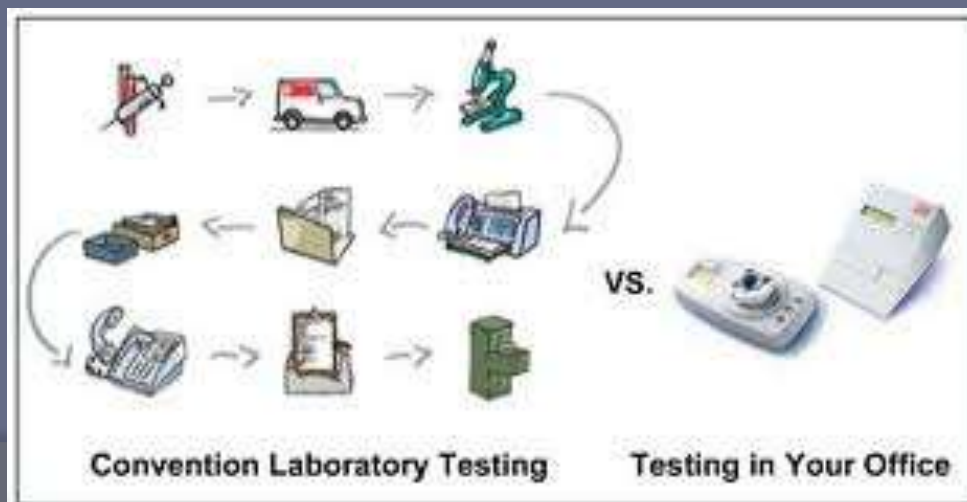
- Šest do trinaest puta puta je veći rizik za kardiovaskularni mortalitet ako su sva tri markera povišena u odnosu na stanje kada su sve vrednosti normalne





# Point of care

- Biohemijski markeri koji se koriste u dijagnostici AIM određuju se u biohemijskoj laboratoriji.
- Vreme za hitno određivanje potrebnih markera je do 60 minuta
- potreba za brzim određivanjem ovih markera, automatski analizatori pored pacijenta (eng. POC=point-of-care)





One World, One Home, One Heart.













# preanalitički faktori

- priprema pacijenta (ishrana, stres, položaj tela, fizički napor, cirkadijalni ritam, trudnoća, farmakološki aktivne supstance, lekovi i dr.)
- način uzimanja uzoraka krvi,
- pravilno obeležavanje uzoraka,
- obrada uzorka nakon vađenja krvi.

# BD Diagnostics - Preanalytical Systems

## Redosled uzorkovanja BD Vacutainer® epruveta pri vađenju krvi i uputstvo za pravilno mešanje (inverzije)

Sve BD Vacutainer® epruvete zahtevaju mešanje inverzijom neposredno nakon vađenja krvi. Uzorke krvi treba uzimati ovim redosledom:

Boja koda	Vrsta epruvete	Parametri	Broj inverzija prilikom mešanja
plava ljubičasta	 Hemokultura	Prvo aerobne, pa zatim anaerobne	8-10 puta
svetlo plava	 Natrijum citrat	Za određivanje parametara koagulacije u plazmi	3-4 puta
crna	 ESR	Za određivanje sedimentacije eritrocita	8-10 puta
crvena	 Serum	Za određivanje parametara iz seruma u biohemiji	5-6 puta
zlatna	 SST™ II Advance	Za određivanje parametara iz seruma u biohemiji - sa gel separatorom	5-6 puta
narandžasta	 RST	Za određivanje parametara iz seruma u biohemiji - sa Trombinom i gel separatorom	5-6 puta
zeleno	 Heparin	Za određivanje parametara iz plazme u biohemiji	8-10 puta
svetlo zelena	 PST™ II	Za određivanje parametara iz plazme u biohemiji - sa gel separatorom	8-10 puta
svetlo ljubičasta	 EDTA	Za određivanje parametara iz pune krvi u hematologiji	8-10 puta
roze	 Cross Match	Crossmatch epruvete za određivanje parametara u krvi kod pacijenata u transfuziji	8-10 puta
siva	 NaF/NaEDTA	Za određivanje glukoze u krvi	8-10 puta
teget	 Elementi u tragovima	Za određivanje elemenata u tragovima, toksikoloških i nutritivnih parametara	8-10 puta

Nedovoljno mešanje može dovesti do netačnih rezultata, te potrebe za ponovnim uzorkovanjem kod REF (CLSI H3-A6)





