

UNIVERZA V LJUBLJANI
FAKULTETA ZA FARMACIJO

BLAŽ MARČIČ

**PRIMERJAVA DVEH KEMILUMINISCENČNIH METOD ZA DOLOČANJE
TROPONINA I PRI SRČNO-ŽILNIH OBOLENJIH**

DIPLOMSKA NALOGA

VISOKOŠOLSKI STROKOVNI PROGRAM LABORATORIJSKE BIOMEDICINE

Ljubljana, 2011

Univerza v Ljubljani
Fakulteta *za farmacijo*



BLAŽ MARČIČ

**PRIMERJAVA DVEH KEMILUMINISCENČNIH METOD ZA DOLOČANJE
TROPONINA I PRI SRČNO-ŽILNIH OBOLENJIH**

**COMPARISON OF TWO CHEMILUMINESCENT METHODS FOR
DETERMINATION OF TROPONIN I IN CARDIOVASCULAR DISEASES**

Ljubljana, 2011

Diplomsko nalogo sem opravljal v Kliničnem centru v Ljubljani, na Kliničnem inštitutu za kemijo in biokemijo, pod mentorstvom prof. dr. Joška Osredkarja, mag. farm.

Najlepše se zahvaljujem prof. dr. Jošku Osredkarju, mag. farm. za mentorstvo, čas ter usmerjanje in svetovanje pri pisanju diplomske naloge.

Zahvaljujem se tudi vsem prijateljem in sorodnikom, ki so mi stali ob strani pri pisanju diplomske naloge. Posebna zahvala gre mojima staršema, ki sta verjela vame, me spodbujala in bila potrpežljiva ob dolgotrajnem nastajanju te diplomske naloge.

IZJAVA

Izjavljam, da sem diplomsko delo samostojno izdelal pod vodstvom mentorja prof. dr. Joška Osredkarja, mag. farm.

Podpis:

Ljubljana, 2011

Predsednica diplomske komisije: prof. dr. Marija Sollner Dolenc

Član diplomske komisije: doc. dr. Iztok Grabnar

KAZALO VSEBINE

1.		U
VOD		1
1.1		K
RVNA OBTOČILA		1
1.1.1		S
RCE		1
1.1.2		K
RVNE ŽILE IN PREHRANA SRCA		7
1.2		S
SRČNO-ŽILNA OBOLENJA		8
1.2.1		P
OGOSTOST SRČNO-ŽILNIH OBOLENJ		8
1.2.2		R
AZVRSTITEV SRČNO-ŽILNIH OBOLENJ		9
1.2.3		A
TEROSKLEROZA		10
1.2.4		I
SHEMIČNA BOLEZEN SRCA		12
ANGINA PEKTORIS		12
AKUTNI MIOKARDNI INFARKT		13
1.3	LABORATORIJSKA DIAGNOSTIKA PRI OBRAVNAVI	
BOLNIKOV S PRSNO BOLEČINO		14
1.3.1		E
LEKTROKARDIOGRAM		15
1.3.2		B
IOKEMIČNI MARKERJI NEKROZE SRČNE MIŠICE		17
KREATIN KINAZA IN MB IZOENCIM KREATIN KINAZE		18
MIOGLOBIN		19
TROPONIN		19
METODE DOLOČANJA TROPONINA I		22
2.		N
AMEN DELA		25

3.	M
ETODE DELA	26
3.1	O
PIS PREISKOVALNE SKUPINE	26
3.2	M
ETODE DELA	26
3.3	V
REDNOTENJE REZULTATOV	28
4.	R
EZULTATI	30
5.	R
AZPRAVA	41
6.	S
KLEP	44
7.	L
ITERATURA.....	45

KAZALO SLIK, GRAFOV IN TABEL

<u>Slika 1</u> : Zgradba sarkomere: A) v stanju relaksacije, B) v stanju kontrakcije	4
<u>Slika 2</u> : Zgradba aktinskega filameta	5
<u>Slika 3</u> : Zgradba: A) miozinskega filameta, B) molekule miozina.....	6
<u>Slika 4</u> : Proces mišičnega krčenja	7
<u>Slika 5</u> : Proces ateroskleroze	10
<u>Slika 6</u> : Shematski prikaz normalnega EKG	15
<u>Slika 7</u> : Primerjeva EKG v primeru STEMI in NSTEMI	16
<u>Graf 1</u> : Primerjava petih najpogostejših vzrokov smrti v Sloveniji za leto 2008	8
<u>Graf 2</u> : Primerjava sprememb koncentracije posameznih srčnih markerjev po nastopu AMI v odvisnosti od časa.....	20
<u>Graf 3</u> : Linearna regresija metod DiaSorin Liaison in Bayer ADVIA Centaur Ultra (n = 1425).....	30

<u>Graf 4:</u> Linearna regresija metod DiaSorin Liaison in Bayer ADVIA Centaur Ultra (n = 506).....	31
<u>Graf 5:</u> Prikaz ujemanja med metodama ADVIA Centaur Ultra in DiaSorin Liaison (Bland-Altmanov diagram) (n = 506)	32
<u>Graf 6:</u> Prikaz ujemanja med metodama v koncentracijskem območju 0 - 0,02 ng/ml (Bland-Altmanov diagram) (n = 172)	33
<u>Graf 7:</u> Prikaz ujemanja med metodama v koncentracijskem območju 0,02 - 0,1 ng/ml (Bland-Altmanov diagram) (n = 197)	33
<u>Graf 8:</u> Prikaz ujemanja med metodama v koncentracijskem območju od 0,1 ng/ml naprej (Bland-Altmanov diagram) (n = 137)	34
<u>Graf 9:</u> Primerjava rezultatov z uporabo mejnih vrednosti za AMI.....	35
<u>Graf 10:</u> Linearna regresija v območju, kjer metodi dajeta nasprotujoče si rezultate (n = 86).....	36
<u>Tabela 1:</u> Primerjava imunokemijskih testov za določanje cTnI v serumu ali plazmi	23
<u>Tabela 2:</u> Primerjava tehničnih specifikacij DiaSorin Liaison [®] Troponin I in Bayer ADVIA Centaur [®] TnI-Ultra [™]	27
<u>Tabela 3:</u> Rezultati in diagnoze 86 bolnikov, pri katerih sta metodi dali nasprotujoče si rezultate	36
<u>Tabela 4:</u> Občutljivost, specifičnost in točnost <i>DiaSorin Liaison[®] Troponin I</i>	39
<u>Tabela 5:</u> Občutljivost, specifičnost in točnost <i>Bayer ADVIA Centaur[®] TnI-Ultra[™]</i>	40

POVZETEK

Srčno-žilna obolenja so v Sloveniji, kot tudi drugod po svetu, najpogostejši vzrok umrljivosti in obolevanosti. Srčno-žilne bolezni so najpogostejše posledica sprememb v koronarnih arterijah, predvsem zaradi ateroskleroze. To so ishemične bolezni srca, med katerimi je najpogostejši vzrok smrti akutni miokardni infarkt (AMI). Obolevanje zaradi AMI iz leta v leto narašča, zato je za preprečevanje dodatnih zapletov, ki sledijo nastanku AMI, potrebna takojšnja obravnava bolnika in s tem hitra ter natančna diagnostika.

V preteklosti sta bila glavna biokemična markerja nekroze srčne mišice kreatin kinaza in za srčno mišico bolj specifičen izoencim kreatin kinaze (CK-MB). Leta 2000 pa je delovna skupina *Evropskega kardiološkega združenja* in *Ameriškega inštituta za kardiologijo* (ESC/ACC task force) predlagala uporabo srčnega troponina (cTnI in cTnT) kot preferenčnega biokemičnega markerja za diagnozo ishemične bolezni srca. Določanje cTn danes predstavlja najbolj specifičen in občutljiv diagnostični test za odkrivanje okvar srčne mišice.

V sklopu raziskave smo z dvema različnima kemiluminiscenčnima metodama (DiaSorin Liaison® Troponin I in Bayer ADVIA Centaur® TnI-Ultra™) v Kliničnem centru v Ljubljani, na Kliničnem inštitutu za kemijo in biokemijo, 1425 bolnikom določili koncentracijo cTnI v krvi. Za statistično vrednotenje rezultatov smo preiskovano populacijo skrčili na 506 bolnikov, ki so bili pregledani na Internistični prvi pomoči. Pri analizi vzorcev smo ugotovili nasprotujoče si rezultate v 86 primerih, od katerih jih je bilo 18 diagnosticiranih za eno od oblik akutnega koronarnega dogodka (STEMI, NSTEMI, angina pectoris). Pridobljene podatke smo statistično obdelali in uporabili za oceno klinične zanesljivosti posamezne metode, pri čemer smo ugotovili, da je metoda DiaSorin Liaison® Troponin I bolj specifična, medtem ko je diagnostična občutljivost metode Bayer ADVIA Centaur® TnI-Ultra™ večja.

ABSTRACT

Cardiovascular diseases are the number one cause of death in Slovenia as well as globally. The most common cardiovascular diseases are caused by blockages in coronary arteries, mainly occurring in the process of atherosclerosis, called coronary heart diseases, of which acute myocardial infarction (AMI) is the most dangerous form. Suffering from AMI is increasing yearly. In order to prevent further complications following onset of AMI, quick and accurate diagnostics is necessary.

In the past creatin kinase and creatin kinase isoenzyme (CK-MB) were the main biochemical markers of myocardial infarction. However in the year 2000 *European Society of Cardiology* and *American College of Cardiology Task Force* recommended cardiac troponin (cTnI and cTnT) as the biochemical marker of choice for diagnosis of myocardial infarction.

In this study we measured cTnI concentration in 1425 patients with two different chemiluminiscent assays (DiaSorin Liaison® Troponin I and Bayer ADVIA Centaur® TnI-Ultra™). The analysis took place in Clinical Centre Ljubljana, Clinical Institute of

Chemistry and Biochemistry. For statistical evaluation we used 506 patients who were examined in The Department of First Aid for Internal Medicine. Among these patients we found 86 cases, in which the two methods gave opposite results. Out of those 86 cases, 18 were diagnosed with either STEMI, NSTEMI or angina pectoris. We used these findings to evaluate the specificity and sensitivity for both methods and came to the following conclusion: DiaSorin Liaison[®] Troponin I has higher specificity, while Bayer ADVIA Centaur[®] TnI-Ultra[™] is more sensitive.

SEZNAM OKRAJŠAV

WHO	Svetovna zdravstvena organizacija (ang. World Health Organisation)
IBS	ishemična bolezen srca
AMI	akutni miokardni infarkt
ESC	Evropsko kardiološko združenje (ang. European Society of Cardiology)
ACC	Ameriški inštitut za kardiologijo (ang. American College of Cardiology)
CK-BB	izoencim kreatin kinaze možganskega tipa
CK-MM	izoencim kreatin kinaze mišičnega tipa
CK-MB	izoencim kreatin kinaze mišično-možganskega tipa
TnC	troponin C

(c)TnT	(srčni) troponin T
(c)TnI	(srčni) troponin I
EKG	elektrokardiogram
AKS	akutni koronarni sindrom
AMI	akutni miokardni infarkt
STEMI	miokardni infarkt z elevacijo segmenta ST (ang. ST Elevation Myocardial Infarction)
NSTEMI	miokardni infarkt brez elevacije segmenta ST (ang. Non-ST Elevation Myocardial Infarction)
IPP	Internistična prva pomoč

1. UVOD

1.1 KRVNA OBTOČILA - *systema cardiovasculare*

Krvna obtočila sestavljajo srce - *cor*, krvne žile - *vasa sanguinea* in kri - *sanguis*, ki tvori 8 - 11 % telesne teže ter sestoji iz plazme in krvnih celic.

1.1.1 SRCE

ZUNANJA STRUKTURA SRCA

Srce ima obliko stožca in leži v osrčniku - *pericardium* tik za prsnico ter zavzema spodnji del sprednjega medpljučja. Njegova os poteka poševno, in sicer od baze - *basis cordis*, ki leži desno zgoraj in zadaj, proti konici - *apex cordis*, ki leži levo spodaj in spredaj. Srce odraslega človeka meri od baze do konice približno 12 cm, največji prečni premer pa znaša 8 do 9 cm. Teža srca pri moških znaša 280 - 340 g, pri ženskah pa 230 - 280 g.

Srce ima štiri votline: desni in levi preddvor - *atrium* ter desni in levi prekat - *ventriculus*. Preddvora sta od prekatov ločena s koronarnim žlebom - *sulcus coronarius*, od katerega proti srčni konici spredaj in zadaj potekata plitka žlebova - *sulcus interventrikularis*, ki nakazujeta del srčne pregrade med desnim in levim prekatom. V žlebovih med maščevjem potekajo veje koronarnih arterij. V desni preddvor se izlivata zgornja in spodnja vena kava, v levi preddvor pa se izlivajo štiri pljučne vene. Iz desnega prekata poteka navzgor pljučno deblo - *truncus pulmonalis*, iz levega prekata pa poteka navgor ascendentna aorta - *aorta ascendens*.

Srce ima tri ploskve: sternokostalno, diafragmalno in posteriorno. Sternokostalno ploskev sestavljata desni preddvor in desni prekat ter ozek rob levega prekata. Diafragmalna ploskev leži na vezivnem delu trebušne prepone, gradita pa jo večinoma levi prekat in v manjši meri desni prekat. Posteriorno ploskev gradi večinoma levi preddvor ter manjši del desnega preddvora (1, 2).

NOTRANJA STRUKTURA SRCA

Med preddvoroma in prekatoma sta odprtini - *ostium atrioventriculare*, ki ju zapirata zaklopki - *valva atrioventricularis*. Zaklopki preprečujeta retrogradni tok krvi iz prekata v preddvor. Vsaka zaklopka je zgrajena iz loputk. Desna ima tri loputke - trikuspidalna zaklopka, leva ima dve loputki - bikuspidalna zaklopka. Vsako odprtino obkroža vezivni obroček, ki je del srčnega skeleta.

Srčni pretin delimo na dva dela: *septum interatriale* in *septum interventiculare*, ki ločita preddvora in prekata. Žilni zaklopki, ki imata po tri žepke, ločita desni prekat od pljučnega debela (pulmonalna zaklopka) in levi prekat od ascendentne aorte (aortna zaklopka).

V desni preddvor se vliva kri iz zgornje in spodnje vene kave, koronarnega sinusa in ven mikarda. Iz desnega preddvora teče kri v desni prekat prek trikuspidalne zaklopke. Trikuspidalna zaklopka leži v mediani ravnini, za spodnjim delom prsnice. Baza loputk je pritrjena na vezivni obroč srčnega skeleta, medtem ko so prosti robovi povezani s papilarnimi mišicami prekatov s tankimi vezivnimi nitmi. Votlina desnega prekata se navzgor zoži in prehaja v pljučno deblo - *truncus pulmonalis*. Za levim robom prsnice, v višini tretjega rebra, se nahaja pulmonalna zaklopka. Stena desnega prekata je debelejša od stene preddvora, vendar tanjša od stene levega prekata.

Levi preddvor leži za desnim preddvorom in je del baze srca. Vanj se izlivata zgornji in spodnji pljučni veni. Levi preddvor je povezan z levim prekatom prek mitralne zaklopke. Mitralna zaklopka leži v mediani ravnini, v višini četrtega rebrnega hrustanca. Prosti robovi lističev so pritrjeni prek vezivnih niti na papilarne mišice, baza lističev pa je pritrjena na srčni skelet. Votlina levega prekata se zgoraj zoži in prehaja v *vestibulum aorte*, kjer leži aortna zaklopka. Stena levega prekata je gosto prepletena z mišičnimi trabekulami, ima dve papilarni mišici in je navadno trikrat debelejša od stene desnega prekata (1, 2).

OSRČNIK - *pericardium*

Osrčnik je zgrajen iz zunanje fibrozne plasti in notranje serozne membrane, ki se ob velikih žilah na srčni bazi zaviha na površino srca kot epikardij.

Fibrozna plast osrčnika - *pericardium fibrosum* je zgrajena iz veziva in elastičnih vlaken ter prehaja na velike žile, ki vstopajo oziroma izstopajo iz srčne baze. Osrčnik je spodaj priraščen na vezivni del trebušne prepone. Lateralno ga pokriva mediastinalna plevra. Zadaj je z rahlim vezivom vezan na organe zadnjega medpljučja, požiralnik in aorto descendens, spredaj pa z zadnjo stranjo prsnice.

Serozna membrana osrčnika - *pericardium serosum* se deli na dva lista, in sicer notranji parietalni list, ki se tesno spaja s fibroznim delom osrčnika ter zunanji visceralni list, ki se tesno prilega srčni mišici in ga imenujemo epikardij. Med obema listoma serozne membrane je perikardialna votlina - *cavum pericardii*, ki vsebuje bistro, rumenkasto serozno tekočino (1, 2).

ZGRADBA SRČNE STENE

Endokardij - *endocardium*

Endokardij je tanka gladka membrana, ki prekriva vso notranjost srca in je nadaljevanje notranje plasti velikih žil. Duplikature endokardija oblikujejo lističi in žepki zaklopk. Zgrajen je iz enoslojne plasti ploščatih celic, pod katerimi je plast vezivnega tkiva z redkimi elastičnimi in gladkimi mišičnimi vlakni. Vezivo veže endokardij na miokardij in v njem potekajo krvne žile ter živci.

Epikardij - *epicardium*

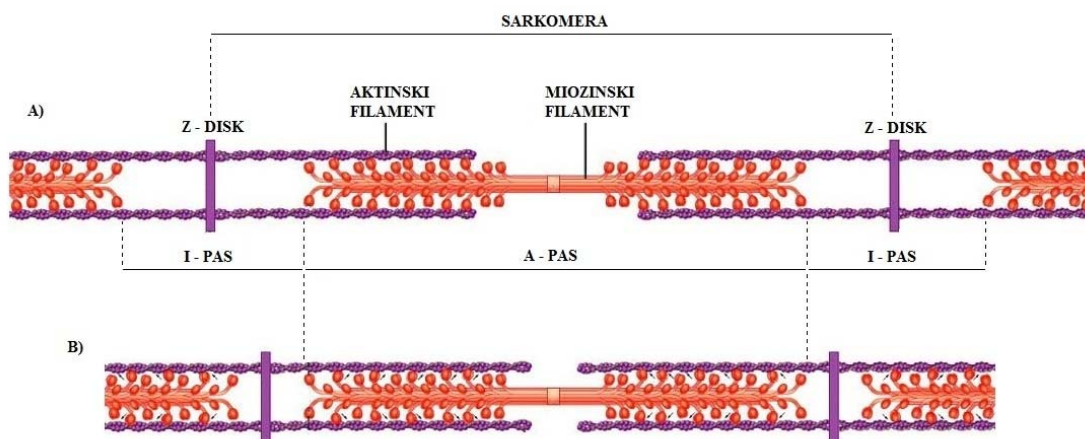
Epikardij je zunanja serozna plast srčne stene, zgrajena iz plasti veziva pokrite z mezotelijem. Pod epikardijem je več ali manj maščevja, zlasti ob žilah.

Miokardij - myocardium

Mišičje preddvorov in prekatov je priraščeno na srčni skelet. Mišična vlakna preddvorov ločimo na povrhnja, ki so skupna obema preddvoroma ter globoka, ki ovijajo vsak preddvor posebej. Tudi prekata ovijajo skupni povrhnji mišični snopi, ki potekajo spiralno ter globoki mišični snopi, ki ovijajo vsak prekat posebej in potekajo krožno (1, 2).

Miokard ali srčna mišica sestoji iz srčnih mišičnih celic oziroma vlaken, ki v dolžino merijo 30 - 60 μm , njihov premer pa je 10 - 15 μm . Posamezna mišična vlakna vsebujejo številne miofibrile, ki potekajo vzdolž vlakna in sestojijo iz periodično se ponavljajočih struktur, imenovanih sarkomere. Preostanek citoplazme, ki se nahaja med miofibrilami, vsebuje ostale celične strukture: centralno ležeče jedro, številne mitohondrije in znotrajcelične membranske sisteme.

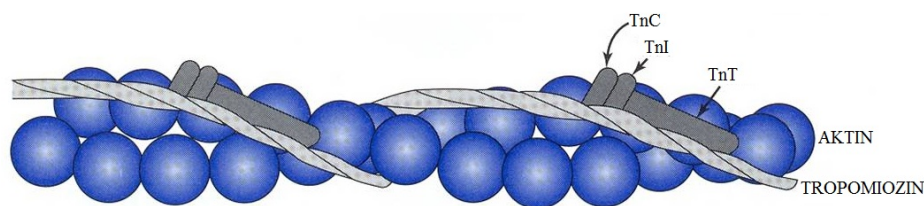
Sarkomera je strukturna in funkcionalna enota mišičnega krčenja. V dolžino meri 1,6 - 2,2 μm , omejujeta pa jo tako imenovana Z diska. Na sredini sarkomere je temen A pas, ki ima konstantno dolžino 1,5 μm , obdajata pa ga dva svetla I pasova, katerih dolžina se s krčenjem in raztezanjem spreminja (slika 1). Ti pasovi dajejo mišičnim vlaknom progast videz.



Slika 1: Zgradba sarkomere: A) v stanju relaksacije, B) v stanju kontrakcije

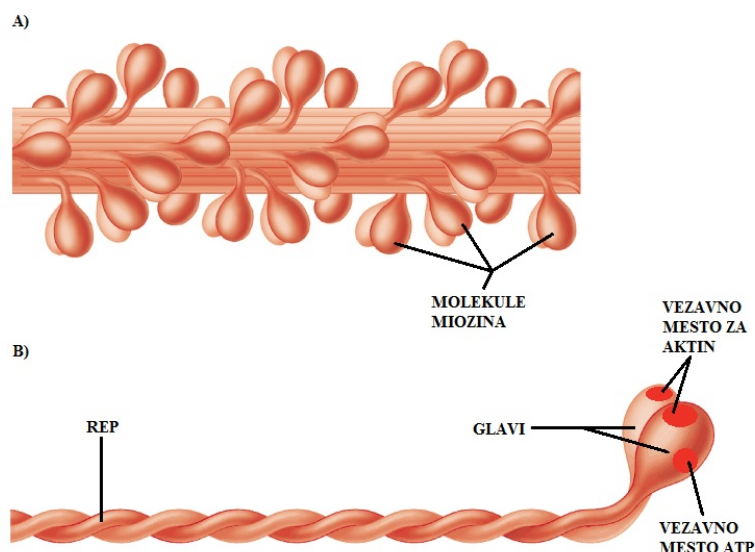
Sarkomera sestoji iz tankih aktinskih in debelih miozinskih filamentov, katerih dolžina se med mišičnim krčenjem ne spreminja. Miozinski filament merijo v dolžino 1,5 - 1,6 μm in se nahajajo le znotraj A pasu, medtem ko aktinski filament, katerih dolžina je 1 μm , potujejo od Z diska preko I pasu v A pas. To pomeni, da prihaja do prekrivanja aktinskih in miozinskih filamentov le znotraj A pasu, medtem ko se v I pasu nahajajo samo aktinski filament (slika 1) (3).

Aktin je kontraktilni protein z molekulsko maso 47,000. Aktinski filament so zgrajeni iz dveh verig molekul aktina in imajo obliko dvojne vijačnice. Verigi molekul aktina sta obdani z dvema regulatornima proteinoma: tropomiozinom in troponinom. Troponin je sestavljen iz treh podenot: troponina T (TnT), troponina I (TnI) in troponina C (TnC). Zgradbo aktinskih filamentov prikazuje slika 2 (3).



Slika 2: Zgradba aktinskega filamenta

Gradnik miozinskih filamentov je miozin, to je kontraktilni protein z molekulsko maso 500,000. Molekula miozina je sestavljena iz dvoverižnega repa in dvodelne glave, katere značilnost je ATPazna aktivnost. Miozinski filament so zgrajeni tako, da so nepremični repi miozinskih molekul položeni eden ob drugem v urejen snop, medtem ko prečni glave štrlijo navzven in ob interakciji z aktinom tvorijo prečne mostičke, ki imajo poglavito vlogo pri mišičnem krčenju. Zgradbo miozinskih filamentov prikazuje slika 3 (3).

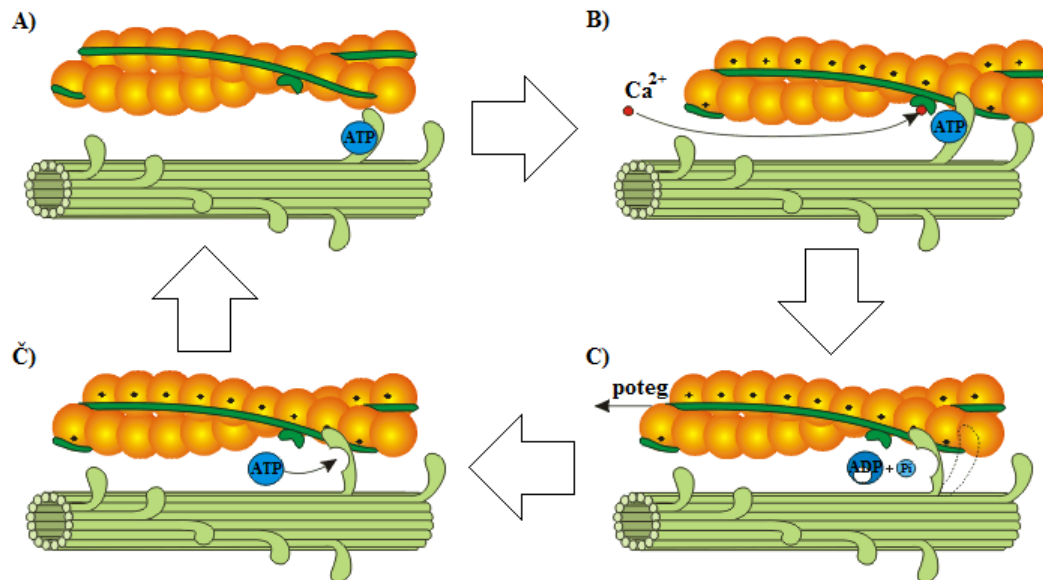


Slika 3: Zgradba: A) miozinskega filamenta, B) molekule miozina

KRČENJE SRČNE MIŠICE

V relaksirani mišici so aktivna mesta na aktinu prekrita z molekulami tropomiozina, kar preprečuje vezavo miozina na aktin. Ob stimulaciji se v citoplazmi mišičnih celic poveča koncentracija kalcijevih ionov (Ca^{2+}), ki se vežejo na TnC v troponinskem kompleksu in s tem povzročijo konformacijske spremembe v molekuli troponina. Posledica vezave Ca^{2+} na TnC je zrahljanje vezi med TnI in aktinom. Rezultat je ločitev TnT od aktina in s tem odmaknitev tropomiozina, kar sprosti aktivna mesta na aktinu za interakcijo z miozinom. Sledi vezava miozinskih glav, ki predstavljajo prečne mostičke miozinskega filamenta, na aktin. Vezavi miozinskih glav na aktin sledi hidroliza kemijskih vezi v molekuli ATP oziroma razcep ATP v ADP in P. To pomeni sprostitvev energije kemijskih vezi, ki se porabi za premik prečnega mostička in s tem poteg aktinskega filamenta proti sredini sarkomere. Ob vezavi molekul ATP na prosta vezavna mesta na prečnih mostičkih se le-ti ločijo od molekul aktina in se vrnejo v začetno stanje. Proces krčenja se ob zadostni koncentraciji Ca^{2+} ciklično ponavlja (slika 4). Ko koncentracija Ca^{2+} pade pod kritično mejo, kompleks troponin - tropomiozin

ponovno prekrije aktivna mesta na aktinu ter s tem prepreči interakcijo med miozinskimi in aktinskimi filamenti (3).



Slika 4: Proces mišičnega krčenja: A) prečni mostiček čaka na prosto vezavno mesto, B) sproščanje in vezava Ca^{2+} , C) vezava prečnega mostička, razcep ATP in krčenje mišice, D) ponovna vezava ATP in sprostitev miozinske glave v prvotno stanje

1.1.2 KRVNE ŽILE IN PREHRANA SRCA

Srce prehranjujeta dve venčni arteriji, to sta *a. coronaria dextra* in *a. coronaria sinistra*, ki izvirata iz ascendentne aorte tik nad aortno zaklopko in potekata pod epikardijem.

Desna koronarna arterija izhaja iz desnega sinusa aorte in prehranjuje desni prekat, desni preddvor ter večji del prevodnega sistema srca.

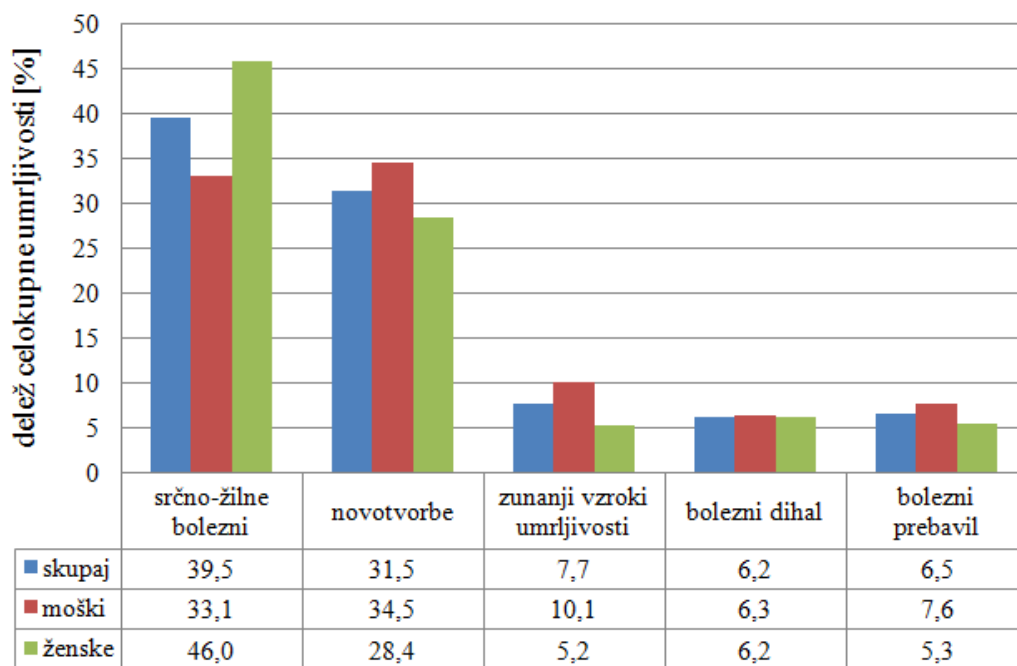
Leva koronarna arterija izhaja iz levega sinusa aorte in prehranjuje večji del levega prekata in levi preddvor (1, 2).

1.2 SRČNO-ŽILNA OBOLENJA

1.2.1 POGOSTOST SRČNO-ŽILNIH OBOLENJ

Srčno-žilna obolenja so najpogostejši vzrok smrti na svetu. Po ocenah Svetovne zdravstvene organizacije (WHO) je leta 2008 zaradi srčno-žilnih bolezni umrlo 17,3 milijona ljudi, kar predstavlja 30 % vseh smrti, od tega 7,3 milijona zaradi ishemične bolezni srca in 6,2 milijona zaradi možganske kapi (graf 1). Umrljivost zaradi srčno-žilnih bolezni iz leta v leto narašča. Tako je bilo leta 2002 zaradi srčno-žilnih bolezni 16,7 milijona smrtnih primerov, po napovedih WHO pa se bo do leta 2030 število smrti povzpelo na 23,6 milijona (4, 5).

V Sloveniji srčno-žilna obolenja predstavljajo 39,5 % celokupne umrljivosti, in sicer 33,1 % vseh smrti med moškimi ter 46,0 % vseh smrti med ženskami (graf 2). V letu 2007 je bilo v slovenskih bolnišnicah zaradi bolezni približno 270.000 hospitalizacij, največ prav zaradi srčno-žilnih bolezni (14,6 % bolnikov) (6, 7).



Gr

af 1: Primerjava petih najpogostejših vzrokov smrti v Sloveniji za leto 2008 (6)

1.2.2 RAZVRSTITEV SRČNO-ŽILNIH OBOLENJ

Med srčno-žilne bolezni uvrščamo disfunkcije srca in krvnih žil. Te bolezni so:

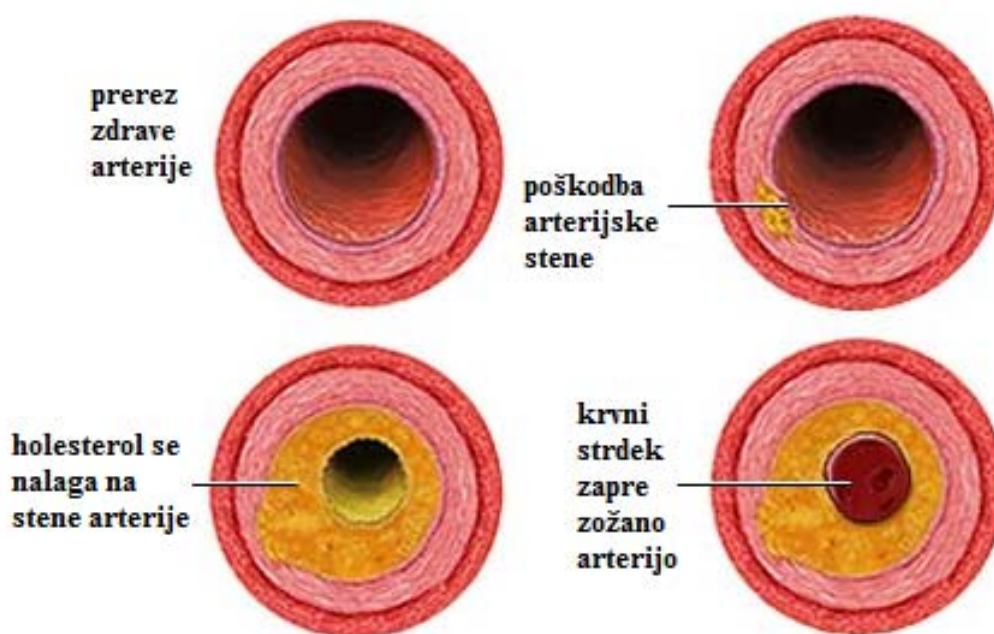
- ishemična bolezen srca (bolezen krvnih žil, ki oskrbujejo srčno mišico)
- cerebrovaskularna bolezen (bolezen krvnih žil, ki oskrbujejo možgane - posledica sta možganski infarkt ali krvavitev)
- hipertenzivna srčna obolenja (povišan krvni tlak)
- revmatična srčna obolenja (okvara srčne mišice in srčnih zaklopk zaradi revmatične vročice, ki jo povzroča streptokokna bakterija)
- globoka venska tromboza in pljučna embolija (krvni strdki v globokih venah, običajno v nogah, se odtrgajo in zaidejo v krvni obrok ter zamašijo pljučno arterijo)
- ostala srčna obolenja (kongenitalna srčna obolenja, bolezni srčnih zaklopk, kardiomiopatije, kongestivna srčna napaka, srčni tumorji itd.)

Bolezni srca, ki niso povezane s spremembami v krvnih žilah, delimo na prirojene srčne hibe in pridobljene srčne bolezni. Prirojene srčne napake so redke, saj predstavljajo le 1,5 % vseh srčnih bolezni. Pogostejše so pridobljene srčne bolezni, ki prizadenejo vse srčne dele in strukture, pri čemer je leva stran srca bolj ogrožena kot desna. Med pridobljene bolezni srca spadajo:

- bolezni osrčnika
- bolezni srčnih zaklopk in endokardija
- bolezni srčne mišice ali kardiomiopatije (8)

1.2.3 ATEROSKLEROZA

Ateroskleroza je degenerativni bolezenski proces, ki v prvi vrsti prizadene arterijsko intimo, to je notranjo plast arterijske stene. Aterosklerotična lezija se začne s poškodbo arterijskega endotelija, kar pomeni spremembo njegove prepustnosti. Posledica povečane prepustnosti endotelijskih celic je kopičenje različnih sestavin, predvsem lipidov, v intimo in s tem postopno oženje arterijske svetine. Dodatne zaplete pri procesu ateroskleroze predstavljajo krvni strdki, ki nastanejo na površini ateroskleroznih oblog (slika 5).



Slika 5: Proces ateroskleroze

Dejavniki lahko poškodujejo endotelij na različne načine, zato jih delimo na fizikalne (povišan krvni tlak, turbulentni tok krvi), kemične (ogljikov monoksid), metabolne (holesterol, homocistin) in biološke (bakterije, virusi, kompleksi antigen-protitelo, trombociti in levkociti). Ob poškodbi endotelija se poveča prepustnost endotelijskih celic, posledica česar je porušenje ravnovesja med celičnim in zunajceličnim prostorom ter sprememba osnovnih celičnih funkcij. Zaradi okvare endotelijskih celic se zmanjša

sinteza prostaglandinov, ki so močan zaviralec agregacije trombocitov. Posledično se z okvaro endotelija zmanjša tudi izločanje snovi z vazodilatacijskim učinkom (prostaciklin, dušikov dioksid), kar pomeni prevlado učinkov snovi z vazokonstriksijskim delovanjem (tromboksan, endotelini) (9).

Najpomembnejši dejavnik tveganja za nastanek ateroskleroze je hiperholesterolemija oziroma povečana količina LDL in VLDL v krvi. Kopičenje holesterola v gladkih mišičnih celicah steče, če je arterijski endotelij poškodovan, če je koncentracija LDL v krvi dovolj velika in če se sprošča trombocitni rastni faktor, ki spodbuja proliferacijo gladkih mišičnih celic in privzem LDL s pinocitozo. Kemotaktično vzburjeni monociti se spreminjajo v makrofage, ti pa izločajo makrofagni rastni faktor, ki prav tako spodbuja proliferacijo gladkih mišičnih celic v arterijski steni. Makrofagi fagocitirajo s holesterolom bogate, oksidirane lipoproteine (LDL, VLDL) in se spreminjajo v penaste celice. Te ob razpadu sproščajo toksične snovi, zlasti perokside iz oksidiranih lipidov. Nastajajo lipidne pege, to so primarne lezije, ki so ob prekinitvi nadaljnjega vstopanja LDL v žilno steno, prevladi mehanizma odplavljanja holesterola in pravilni obnovi endotelija še reverzibilne. Velike količine holesterola v intimi spodbujajo tvorbo kolagena, elastina in mukopolisaharidov, ki se nalagajo v celicah. Lipidne pege se tako spremenijo v fibrolipidni aterom ali aterosklerotično leho, kar predstavlja ireverzibilno lezijo. Posledica je postopno oženje arterijske svetline in s tem oviranje pretoka krvi. Do dodatnih zapletov lahko pride, če se aterosklerotična leha vname, odkruši ali počí, pri čemer se kašasta vsebina ateroma izlije v kri, v žilni steni pa ostane različno velika in globoka razjeda. Pri razsežnejši žilni poškodbi se razgali subendotelijsko tkivo, bogato s kolagenom, aktivirajo se trombociti in sproži se strjevalni mehanizem. Nastali krvni strdek večinoma vsaj delno zapolni žilno razpoko, lahko pa raste v žilno svetlino in dodatno ovira pretok krvi. Če je krvni strdek dovolj velik, da popolnoma zapre svetlino arterije, pride do akutnih zapletov, kot sta miokardni infarkt ali možganska kap (8, 9).

1.2.4 ISHEMIČNA BOLEZEN SRCA

Ishemična bolezen srca (IBS), imenovana tudi koronarna srčna bolezen, je okvara srčne mišice, ki nastopi zaradi neravnovesja med porabo in ponudbo kisika kot posledica sprememb ožilja, ki oskrbuje srčno mišico. Najpogostejši vzrok za nastanek IBS je oženje svetline koronarnih arterij zaradi ateroskleroze. Med IBS sodijo naslednja stanja in bolezni:

- angina pectoris, vključno z nemo ishemijo
- akutni miokardni infarkt
- nenadna srčna smrt
- popuščanje srčne mišice (z izpolnjenimi pogoji za IBS)
- srčne aritmije, ki so posledica IBS

Skupno ime za nestabilno obliko angine pectoris, akutni miokardni infarkt in nenadno srčno smrt je akutni koronarni sindrom (AKS) (9).

ANGINA PEKTORIS

Angina pectoris je klinična pojavna oblika ishemije srčne mišice, ki se kaže v obliki hude in nenadne bolečine v prsih zaradi pomanjkanja kisika v srčni mišici. Glede na vzrok nastanka jo delimo v obremenitveno, spontano in kombinirano. Prva se pojavlja pri telesnih in duševnih obremenitvah, medtem ko se spontana angina pectoris pojavlja med mirovanjem. Neredko se pri istem bolniku pojavljata tako obremenitvena kot spontana oblika. V takih primerih govorimo o kombinirani angini pectoris.

Glede na klinični potek, način zdravljenja in prognozo je danes uveljavljena enostavna razdelitev na stabilno in nestabilno angino pectoris. Pri stabilni angini pectoris se klinično stanje v daljšem časovnem obdobju ne spreminja in bolnik dobiva napade ponavadi pri enakih stopnjah obremenitve. Nestabilna angina pectoris pa je urgentno klinično stanje, pri katerem se nenadoma začnejo pojavljati pogostejši, močnejši in daljši napadi, tako pri obremenitvah kot med mirovanjem.

Za angino pectoris je značilna bolečina za prsnico v predelu srca, boleč predel pa je velik kot dlan. Od tod se širi v levo ali obe zgornji okončini, vrat, spodnjo čeljust, včasih pa tudi v zatilje in med pleča. Bolečina je kratkotrajna, saj traja 2 - 5 minut, redkeje neprekinjeno do 15 minut in le izjemoma do pol ure. Tako dolgi napadi že vzbujajo sum, da gre za miokardni infarkt (8, 9).

AKUTNI MIOKARDNI INFARKT

Akutni miokardni infarkt (AMI) je osrednja bolezen v skupini IBS. Patoanatomsko je AMI nekroza srčne mišice, ki nastane zaradi pomanjkanja kisika v njej. Običajno je pomanjkanje kisika posledica prekinitve pretoka krvi skozi koronarno arterijo zaradi ateroskleroze. Nekroze v srcu pa lahko nastanejo tudi brez zapore koronarne arterije, če srčna potreba po kisiku za dalj časa presega možnosti dovajanja kisika, na primer pri dolgotrajnih hipertoničnih ali bolnikih z aortno stenozo. Lokalizacija AMI je odvisna od mesta zapore koronarnih žil in nam pove, kateri del srčne mišice je zajel infarkt.

Klinična slika AMI se pri posameznikih močno razlikuje. Po epidemioloških podatkih je vsaki peti infarkt nem. To pomeni, da bolnika ne prizadene, da se ne pojavi z bolečino, odkrijejo ga slučajno z rutinskim elektrokardiogramom. Popolno nasprotje nememu infarktu predstavlja nenadna smrt v dobri uri po nastopu akutne bolečine. Med tema dvema skrajnostima, to je nenadno smrtjo ter boleznijo brez težav in posledic, ima večina AMI bogat spekter kliničnih pojavov.

Bolečina je za diagnozo AMI daleč najpomembnejši klinični simptom. Bolečina je topa, tiščoča, včasih pekoča ali rezka, nikoli pa ni zbadajoča. Praviloma se pojavlja za prsnico in se simetrično širi na obe strani prsnega koša. Včasih se širi v vrat, čeljust, uho in levo roko do mezinca. Pri spodnjestenskem infarktu bolečina pogostokrat izžareva v zgornji del trebuha, zlasti v žličko. Bolečina se največkrat začne med mirovanjem in se z dihanjem ali spremembo položaja telesa ne spreminja. Trajanje bolečine je prek 30 minut, včasih tudi več ur. Pomirjujočih dejavnikov pri infarktni bolečini praktično ni. Ne koristi počitek, tudi učinek tablete nitroglicerola, ki pomaga bolnikom z angino pectoris, je zanemarljiv ali pa ga sploh ni (8, 9).

1.3 LABORATORIJSKA DIAGNOSTIKA PRI OBRAVNAVI BOLNIKOV S PRSNO BOLEČINO

Prsna bolečina je eden izmed najpogostejših simptomov, zaradi katerih bolniki poiščejo zdravniško pomoč. Pri bolnikih z bolečino v prsih je potrebna hitra diagnostika in triaža, tako zaradi skrajševanja časa od postavitve diagnoze do prejetja ustrezne terapije kot zniževanja števila nepotrebnih hospitalizacij. Diagnostika nekroze srčne mišice temelji na uporabi anamnestičnih podatkov, elektrokardiograma (EKG) in biokemičnih markerjev nekroze srčne mišice. Anamnestični podatki so pogosto neznačilni, saj je bolečina pri 25 % bolnikov s kasneje diagnosticiranim AMI nespecifična. Tudi značilne EKG spremembe so prisotne le pri 50 % bolnikov z AMI. Tako ima določanje biokemičnih markerjev nekroze srčne mišice zelo pomembno vlogo pri dokazovanju diagnoze AMI in oceni bolnikov z ostalimi oblikami AKS (11).

V preteklosti je za diagnozo AMI veljala definicija WHO, ki je zahtevala, da morata biti za diagnozo izpolnjena vsaj dva od sledečih kriterijev:

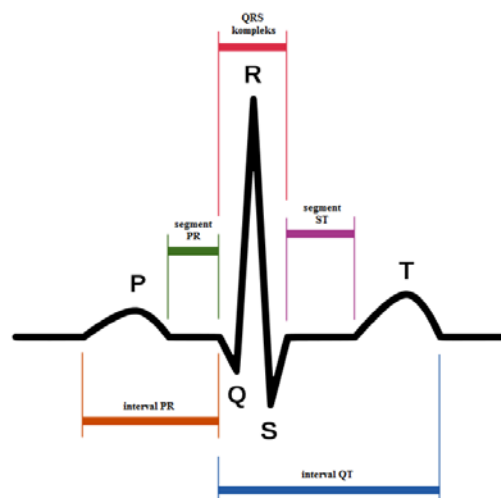
- tipični simptomi ishemije srčne mišice
- tipične spremembe v EKG
- povišanje aktivnosti srčnih encimov, zlasti CK-MB

Z odkritjem novih, bolj specifičnih ter za odkrivanje srčne nekroze primernejših biomarkerjev, sta leta 1999 Evropsko kardiološko združenje (ESC) in Ameriški inštitut za kardiologijo (ACC) sklicala konferenco, namenjeno posodobitvi definicije AMI iz kliničnega, patološkega, biokemičnega, elektrokardiografskega in epidemiološkega vidika (objavljeno leta 2000 v *European Heart Journal* in *Journal of the American College of Cardiology*). Po smernicah ESC/ACC za definicijo AMI je za diagnozo miokardnega infarkta potreben porast ali padec koncentracije srčnih biomarkerjev (preferenčno troponina) nad zgornjo mejo referenčnega intervala zdrave populacije, ki je pri 99. centilu, skupaj z vsaj enim od sledečih kriterijev (12):

- simptomi ishemije
- spremembe v EKG, ki nakazujejo novonastalo ishemijo (nove spremembe segmenta ST in vala T ali novonastali levokračni bloki)
- pojav patoloških Q zobcev v EKG
- dokaz novonastale nekroze srčne mišice z ultrazvočnimi preiskavami (ehokardiogram, magnetna resonanca, računalniška tomografija z X-žarki)

1.3.1 ELEKTROKARDIOGRAM

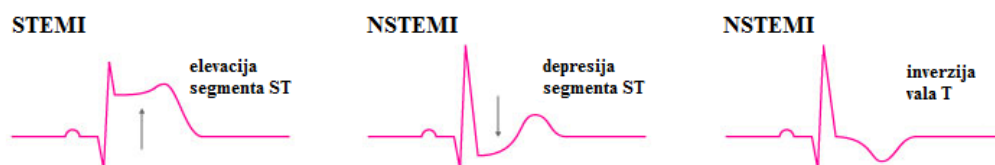
EKG je grafični zapis električnih napetosti srčne mišice. Srce je edinstvena mišica v organizmu, ki ima lastnosti tvorbe impulzov in ritmičnega krčenja. Električni impulzi nastajajo v prevodnem sistemu srca, draženje mišičnih vlaken pa vodi do njihovega krčenja. Tvorba in prevajanje električnih impulzov povzroča šibke električne napetosti, ki se širijo po vsem telesu in jih lahko registriramo z elektrokardiografom, ki je z elektrodami povezan z različnimi točkami na telesni površini. EKG snemamo pri hitrosti papirja 25 mm/s ali 50 mm/s. Sestavljajo ga valovi (zobci), intervali in segmenti. Posamezne zobce in valove označujemo z latinskimi črkami P, Q, R, S, T. Val P nastane zaradi depolarizacije atrijev, kompleks zobcev QRS zaradi depolarizacije ventriklov, val T pa zaradi repolarizacije ventriklov. Pregled posameznih EKG valov, intervalov in segmentov prikazuje slika 6 (9).



Slika 6: Shematski prikaz normalnega EKG

Ishemija srčne mišice se na EKG pokaže s prehodnimi in reverzibilnimi spremembami segmenta ST in vala T, pri čemer razlikujemo transmuralno in netransmuralno ishemijo. Znak transmuralne ishemije je depresija segmenta ST, katere oblika je lahko horizontalna, descendentna ali počasi ascendentna. Ishemija srčne mišice se kaže tudi s spremembami vala T, ki ima spremenjeno obliko, amplitudo in smer. Normalni val T je asimetričen, ascendentni krak je položen, descendentni strm, vrh pa zaobljen. Val T kot posledica ishemije pa je simetričen, ozek, vrh je ostrejši. Znak transmuralne ishemije je elevacija segmenta ST. Po klasičnem konceptu elektrofiziologije obsega transmuralni miokardni infarkt tri skoraj koncentrična območja: območje nekroze, območje lezije in periferno območje ishemije. Območje ishemije se kaže s spremembami valov T, lezijsko območje pa s spremembo segmenta ST. Znak nekroze so patološki zobci Q (9).

Samo z upoštevanjem EKG praviloma ni možna dokončna diagnoza AMI, zato ga moramo vedno vrednotiti skupaj z drugimi kliničnimi in laboratorijskimi podatki. Pri bolnikih s prsno bolečino in elevacijo segmenta ST (STEMI - miokardni infarkt z elevacijo segmenta ST) ali prisotnimi patološkimi Q zobci v EKG je možnost miokardnega infarkta zelo verjetna. V takšnih primerih je s trombolitično terapijo potrebno začeti takoj, na rezultate troponinskih in drugih biomarkerskih testov ni priporočljivo čakati. Pri bolnikih s prsno bolečino, vendar brez elevacije segmenta ST (NSTEMI - miokardni infarkt brez elevacije segmenta ST) in patoloških Q zobcev v EKG, pa je za potrditev diagnoze AMI in začetek reperfuzijske terapije potrebno dokazati porast biokemičnih markerjev srčne nekroze (slika 7).



Slika 7: Primerjeva EKG v primeru STEMI in NSTEMI

1.3.2 BIOKEMIČNI MARKERJI NEKROZE SRČNE MIŠICE

Celica miokarda vsebuje številne encime, ki zaradi poškodbe prestopijo celično membrano in prodirajo v kri. Kmalu po poškodbi lahko v krvi ugotovimo povečano aktivnost encimov, ki se sicer nahajajo v srčni mišici. Danes se kot biokemični markerji nekroze srčne mišice uporabljajo kreatin kinaza oziroma njen za srce bolj specifičen izoencim CK-MB, mioglobin ter srčni troponini. V preteklosti sta bila skupaj s kreatin kinazo v uporabi še aspartat aminotrasferaza in laktat dehidrogenaza, vendar se je njuna uporaba zaradi nizke specifičnosti in omejene občutljivosti opustila.

Lastnosti idealnega biomarkerja za odkrivanje okvar srčne mišice (13):

- visoka specifičnost za srčno mišico (njegova koncentracija v srčni mišici je visoka, v ostalih tkivih ni prisoten)
- pri zdravih v krvi ni dokazljiv ali vsaj v zelo nizkih koncentracijah
- ob okvari srčne mišice se v cirkulacijo hitro sprošča
- njegova koncentracija v krvi ostane povišana še več dni po okvari srčne mišice, kar omogoča njegovo detekcijo pri bolnikih, ki po začetnih simptomih niso takoj poiskali pomoči pri zdravniku
- v primeru AMI bi moral biomarker omogočati spremljanje reperfuzijske terapije
- metoda njegovega določanja je hitra, popolnoma avtomatizirana in brez možnih navzkrižnih reakcij

Biokemičnega markerja, ki bi ustrezal vsem zgoraj naštetim kriterijem, še danes ne poznamo. Zato je pri izbiri laboratorijskih testov za diagnosticiranje nekroze srčne mišice pri bolnikih s prsno bolečino potrebno upoštevati več faktorjev. Pomembni faktorji so čas, ki je potekel od pojava prvih simptomov, verjetnost poškodbe skeletne mišice, hitrost metode za določanje biomarkerja v serumu, specifičnost in občutljivost metode itd.

KREATIN KINAZA IN IZOENCIM KREATIN KINAZE (CK-MB)

Kreatin kinaza (CK) je citoplazemski in mitohondrijski encim z molekulsko maso 86 kDa. Prisoten je v srčni mišici, skeletnih mišicah in možganih, v manjših količinah pa ga najdemo še v nekaterih drugih tkivih. CK je dimer z dvema podenotama, podenoto B (možganski tip) in podenoto M (mišični tip), in tvori tri različne izoencime: CK-BB, CK-MM in CK-MB. Srčna mišica vsebuje 40 % CK-MB in 60 % CK-MM, medtem ko je v skeletnih mišicah 97 % CK-MM, 2 - 3 % CK-MB in sledi CK-BB. CK-BB je možganskega izvora in se v krvi pojavlja v primeru možganskih poškodb.

CK-MB ima zaradi relativno visoke specifičnosti za srčno mišico pomembno vlogo pri diagnosticiranju AMI. Njegova aktivnost v serumu začne naraščati v 3 - 5 urah po začetku infarkta. Vrh doseže v 16 - 20 urah, vrednosti pa se normalizirajo v 2 - 3 dneh (Graf 2). Slabost CK-MB je v tem, da ni popolnoma specifičen za srčno mišico, saj se v kri sprošča tudi ob hujših poškodbah skeletnih mišic. Prav tako je problematična relativno zgodnja normalizacija serumske aktivnosti CK-MB glede na čas pojava prvih simptomov, kar onemogoča poznejše ugotavljanje infarktov. Določanje CK-MB je uporabno tudi pri diagnosticiranju ponovnih infarktov in za prognozo pri bolnikih z nestabilno angino pectoris.

V preteklosti so koncentracijo CK-MB določali z elektroforezo in imunoinhibicijsko metodo. Danes je v uporabi imunološko določanje CK-MB z monoklonskimi protitelesi, pri čemer se meri masna koncentracija CK-MB, izražena v ng/ml. Diagnostična občutljivost masnega testa CK-MB je 50 % v 3 urah in 80 % v 6 urah po pojavu prvih simptomov. CK-MB izoformi MB₁ in MB₂ prav tako veljata za občutljiva zgodnja biomarkerja srčne nekroze. MB₂ je tkivna izoforma, MB₁ pa je kemično modificirana izoforma, ki nastane po sprostitvi CK-MB v cirkulacijo. V serumu zdravih ljudi je razmerje MB₂/MB₁ približno 1, referenčno območje tega razmerja pa je 1,5. Vse vrednosti nad 1,5 kažejo na miokardni infarkt. Ta metoda je zelo nepraktična, saj je dolgotrajna, za njeno izvedbo pa je potrebno ogromno tehničnega znanja (13).

MIOGLOBIN

Mioglobin je citoplazemski hemski protein, ki veže kisik. Prisoten je v celicah srčne mišice in celicah skeletnih mišic. Mioglobin je z molekulsko maso 18 kDa najmanjši med proteinskimi markerji srčne nekroze.

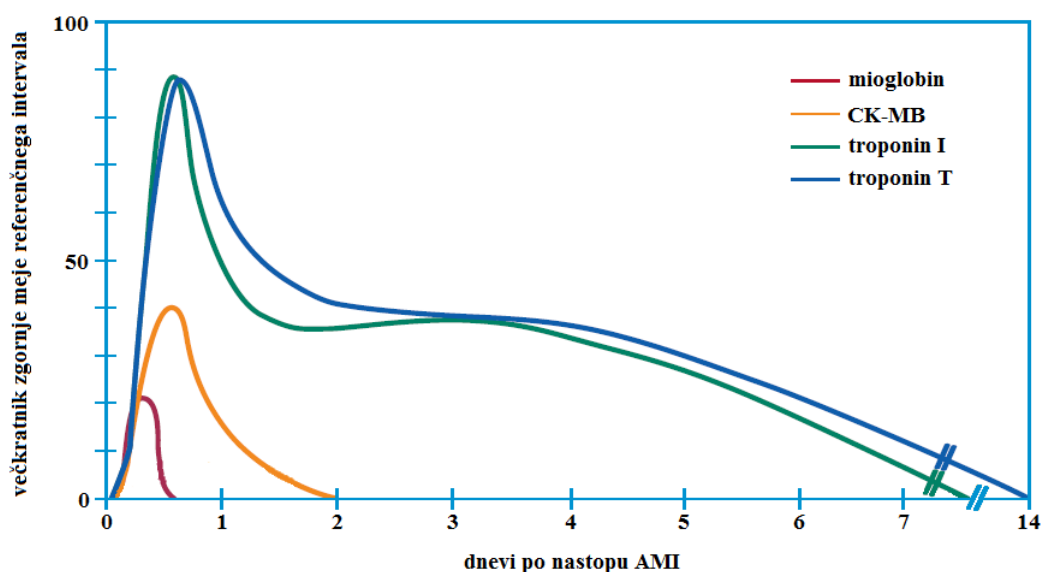
Mioglobin se zaradi svoje majhnosti ob mišičnih poškodbah hitro sprošča v cirkulacijo. Kot marker ni specifičen za okvaro srčne mišice, saj se v kri sprošča tudi ob poškodbah skeletnih mišic. Možna vzroka za povišano aktivnost mioglobina v serumu sta tudi ledvična odpoved in alkohol. Njegova prednost v primerjavi z ostalimi srčnimi markerji je višja občutljivost v prvih urah po nastopu infarkta. Povišane vrednosti zasledimo že v 2 - 3 urah po začetku simptomov. Vrednosti dosežejo vrh v 6 - 12 urah, normalizirajo pa se že po 24 urah, saj se zaradi svoje majhnosti mioglobin hitro izloči prek ledvic (Graf 2). Če je mioglobin 8 ur po začetku simptomov še v območju referenčnih vrednosti, potem lahko AMI izključimo. Povišane koncentracije mioglobina v krvi so tako zgođen indikator miokardnega infarkta. Ker pa mioglobin ni tkivno specifičen, je njegova uporaba pri ugotavljanju srčne nekroze omejena. Ob povišanih vrednostih mioglobina v serumu je zato potrebna potrditev diagnoze z bolj specifičnimi markerji, kot je na primer troponin (13).

TROPONIN

Troponin je regulatorni protein aktinskih filamentov v srčni in skeletni mišici. Sestavljen je iz treh podenot: troponina I (TnI), troponina T (TnT) in troponina C (TnC), ki imajo pomembno vlogo pri uravnavanju mišičnega krčenja. Kot biokemična markerja srčne nekroze se uporabljata TnI in TnT.

Skeletnomišični TnI in TnT se strukturno razlikujejo od srčnomišičnih cTnI in cTnT. Srčnomišični troponini (cTn) imajo namreč drugačno aminokislinsko zaporedje od troponinov, ki jih najdemo v skeletnih mišicah. Ta razlika pomeni, da sta cTnI in cTnT bolj specifična za diagnozo srčne okvare. Približno 94 - 97 % cTn je v srčni mišici vezanega v miofibrilah, le 3 % cTnI in 6 % cTnT je prostega v citoplazmi. V primeru

miokardnega infarkta se v cirkulacijo najprej sprostijo citosolni cTn, kar opazimo kot povišano koncentracijo cTn v serumu v 3 - 5 urah po nastopu infarkta. Temu sledi sproščanje v miofibrilah vezanega cTn, ki v serumu ostane povišan več dni (cTnI 4 - 10 dni, cTnT 5 - 14 dni) (graf 2) (13, 15).



Graf 2: Primerjava sprememb koncentracije posameznih srčnih markerjev po nastopu AMI v odvisnosti od časa

Uporabnost cTnI pri ugotavljanju akutnega koronarnega dogodka:

- potrditev diagnoze STEMI ob predhodnem upoštevanju sprememb v EKG
- opredelitev NSTEMI in nestabilne angine pectoris
- spremljanje učinkovitosti reperfuzijske terapije
- prognostična vrednost

Srčni troponini se lahko v krvni obtok sproščajo tudi v odsotnosti ishemične bolezni srca, zato je za diagnozo miokardnega infarkta potrebno koncentracijo cTn vedno vrednoti skupaj s simptomi in/ali ugotovitvami v EKG. Bolezenska stanja, ki ustrezajo temu kriteriju (14, 15):

- akutna revmatična vročica
- pri kritično bolnih ljudeh, predvsem diabetikih
- tahikardije in bradikardije
- hipertrofična kardiomiopatija
- stresna kardiomiopatija
- spazmi koronarne arterije
- akutne nevrološke bolezni, vključno z možgansko kapjo
- neposredna poškodba srca (kirurški poseg na srcu, biopsija srčne mišice, kardioverzija, ablacija, zapiranje septalnega defekta itd.)
- pljučni embolizmi
- ledvično popuščanje
- aortna disekcija
- bolezni aortne zaklopke
- infiltrativne bolezni srca (amiloidoza, hemokromatoza, sakoidoza itd.)
- vnetne bolezni srca (miokarditis, perikarditis itd.)
- hipertenzija, hipotenzija
- kardiotsična zdravila in snovi (adriamicin, strup kač itd.)
- opekline, predvsem ob več kot 25 % prizadetosti površine srca
- ekstremni telesni napor
- transplantacijska vaskulopatija
- sepsa

METODE ZA DOLOČANJE TROPONINA I

TnI določamo z imunokemijskimi metodami, ki temeljijo na reakciji med antigeni (Ag) in protitelesi (Pt) ter nastanku kompleksa Ag-Pt, ki ga lahko detektiramo na različne načine. Danes so za določanje TnI na tržišču na voljo različni testi številnih proizvajalcev. Variabilnost pri uporabi različnih kliničnih testov za določanje TnI je velika, saj so razlike pri rezultatih tudi do več kot desetkratne. V plazmi so namreč prisotne različne oblike TnI (prosti TnI ter kompleksi T/I/C, I/T, I/C), ki so včasih še dodatno kemijsko spremenjene ali celo delno proteolitično razgrajene (15).

Po mednarodnih priporočilih mora biti v vsakem laboratoriju določeno referenčno območje za zdravo populacijo, izključitvena vrednost za okvaro srčne mišice je 99. centil koncentracije troponina pri zdravi populaciji. Pri tej koncentraciji mora imeti metoda koeficient variacije $CV \leq 10 \%$, meja detekcije pa naj bi bila vsaj petkrat nižja od izključitvene vrednosti za miokardni infarkt (AMI-cut-off). Če te zahteve niso dosežene, je verjetnost, da so dobljeni rezultati napačni in zavajajoči, večja. Vzrok za lažno pozitivne rezultate troponina so lahko prisotnost heterofilnih protiteles, revmatoidnega faktorja, nastanek in prisotnost fibrina v samem analiznem postopku, mikodelci, izbira antikoagulantov ter napake pri delovanju analizatorja. Nekateri testi, ki so danes na tržišču, so predstavljeni v tabeli 1 (14, 15, 16).

Tabela 1: Primerjava imunokemijskih testov za določanje cTnI v serumu ali plazmi
(nadaljevanje na naslednji strani)

METODA	Abbott Architect	Ortho-Clinical Vitro Eci	Innotrac Aio	Biomerieux Vidaz	MKI Pathfast
PRIMARNA PROTITELESA MATRIKS	dve vrsti monoklonskih Pt paramagnetni delci	biotinilirana monoklonska Pt mikrotitrna ploščica	biotinilirana monoklonska Pt mikrotitrna ploščica	monoklonska Pt posodica s trdo fazo	monoklonska Pt paramagnetni delci
SEKUNDARNA PROTITELESA OZNAKA	monoklonska Pt akridinijev derivat	monoklonska Pt hrenova peroksidaza	monoklonska Pt europij	monoklonska Pt alkalna fosfataza	monoklonska Pt alkalna fosfataza
SEPARACIJA	magnetno polje	mikrotitrna ploščica prevlečena s streptavidinom	mikrotitrna ploščica prevlečena s streptavidinom	posodica s trdo fazo	magnetno polje
SUBSTRATI	baza/kislina + kemiluminiscenčni reagent	kislina + derivat luminola	europij	4-MUP	baza/kislina + kemiluminiscenčni reagent
DETEKCIJA	kemiluminiscenca	kemiluminiscenca	fluorescenca (čas)	fluorescenca (450 nm)	kemiluminiscenca

**Primerjava dveh kemiluminiscenčnih metod
za določanje troponina I pri srčno-žilnih obolenjih**

Blaž Marčič
Laboratorijska biomedicina

METODA	Siemens Stratus CS	Tosoh AIA	Siemens Dimention RxL	Beckman Coulter Access	Simens Immulite 2500	Abbott AxSYM
PRIMARNA PROTITELESA MATRIKS	monoklonska Pt papir iz steklenih vlaknen	monoklonska Pt magnetni delci	monoklonska Pt delci kromijevega dioksida	monoklonska Pt paramagnetni delci	monoklonska Pt magnetni delci	dve vrsti monoklonskih Pt lateksni mikrodelci
SEKUNDARNA PROTITELESA OZNAKA	monoklonska Pt alkalna fosfataza	monoklonska Pt alkalna fosfataza	monoklonska Pt alkalna fosfataza	monoklonska Pt alkalna fosfataza	kozja poliklonska Pt alkalna fosfataza	biotinilirana monoklonsa Pt + ALP-poliklonska anti-biotin Pt
SEPARACIJA	papir iz steklenih vlaknen	magnetno polje	magnetno polje	magnetno polje	magnetno polje	steklena vlakna
SUBSTRATI	4-metil-umbeliferil fosfat (4-MUP)	4-MUP	FADP + oksidaza + hrenova peroksidaza + substrati za H ₂ O ₂ reakcijo	Lumi-Phos 530	baza/kislina + kemiluminiscenčni reagent	4-MUP
DETEKCIJA	fluorescenca	fluorescenca	spektrofotometrija (510 nm)	kemiluminiscenca	kemiluminiscenca	kemiluminiscenca

2. NAMEN DELA

Namen diplomske naloge je primerjati dve različni metodi za določanje srčnega markerja troponina I v serumu. Obe metodi slonita na principu kemiluminiscence. Med seboj smo primerjali rezultate, ki smo jih dobili pri skupini bolnikov, ki se zdravijo v kardiološki ambulanti v Kliničnem centru v Ljubljani. Meritve smo izvajali na dveh različnih aparaturah: DiaSorin Liaison[®] Troponin I in Bayer ADVIA Centaur[®] TnI-Ultra[™].

Pridobljene rezultate smo statistično ovrednotili in primerjali diagnostično specifičnost in občutljivost ter točnost posamezne metode, kar smo uporabili pri podaji priporočila glede tega, katera metoda je uporabnejša.

3. METODE DELA

3.1 PREISKOVANCI

V primerjavo je bilo skupaj vključenih 1425 preiskovancev starih med 1 in 99 let. Od tega jih je bilo 785 ženskega spola, 640 pa moškega spola. Pri nadaljni analizi smo se osredotočili na bolnike, ki so bili pregledani na Internistični prvi pomoči (IPP), saj so ti bolniki boljše sledljivi in je podatke o njihovem zdravstvenem stanju lažje pridobiti. Takšnih bolnikov je bilo 506, od tega 326 žensk in 180 moških. Na IPP pridobljene rezultate smo statistično ovrednotili in primerjali diagnostično specifičnost, občutljivost in točnost posamezne metode.

3.2 ANALITSKE METODE

Serume bolnikov smo analizirali z dvema različnima metoda: DiaSorin Liaison[®] Troponin I in Bayer ADVIA Centaur[®] TnI-Ultra[™]. Obe metodi slonita na principu kemiluminiscence, pri kateri gre za oksidacijo organskih molekul. Pri njej merimo emisijo fotonov, ki se sprostijo pri kemiluminiscenčni reakciji. Analizator izmeri svetlobni signal kot relativne luniniscenčne enote (RLU - ang. **R**elative **L**uminiscence **U**nit), ki so sorazmerne s koncentracijo cTnI v vzorcu (14).

DiaSorin Liaison[®] Troponin I je avtomatizirana "sendvič" kemiluminiscenčna imunokemijska metoda.

Princip metode: cTnI v vzorcu reagira z mišjimi monoklonskimi protitelesi (usmerjena proti aminokislinam 80 - 110), ki obdajajo magnetne delce (trda faza), in kozjimi poliklonskimi protitelesi (usmerjena proti aminokislinam 27 - 39), ki so označena z izoluminolom. Neoznačeno primarno protitelo (Pt) tvori s cTnI (Ag) v vzorcu kompleks Ag-Pt. Na ta kompleks se veže z izoluminolom označeno sekundarno protitelo (Pt*) in tako dobimo kompleks Pt-Ag-Pt*. Pribitek sekundarnih protiteles se

odstrani s spiranjem. Koncentracija cTnI v vzorcu je sorazmerana z intenziteto kemiluminiscence, ki jo izmerimo na analizatorju (14).

Bayer ADVIA Centaur® TnI-Ultra™ je avtomatizirana tristranska "sendvič" kemiluminiscenčna imunokemijska metoda.

Princip metode: cTnI v vzorcu reagira z dvema vrstama biotiniliranih monoklonskih protiteles (usmerjena proti aminokislinam 41 - 49 in 87 - 91) in kozjimi poliklonskimi protitelesi (usmerjena proti aminokislinam 27 - 40), ki so označena z akrdinijevim estrom. Biotin iz nastalega imunskega kompleksa se veže na magnetne lateksne delce, ki so konjugirani s streptavidinom. Po spiranju in odstranitvi nevezanih komponent (protitelesa, lateksni delci, streptavidin) kislinski in bazni reagenti sprožijo kemiluminiscenčno reakcijo. Koncentracija cTnI je sorazmerna intenziteti kemiluminiscence, ki jo izmerimo na analizatorju (14, 18).

Tabela 2: Primerjava tehničnih specifikacij **DiaSorin Liaison® Troponin I** in **Bayer ADVIA Centaur® TnI-Ultra™**

	DiaSorin Liaison® Troponin I	Bayer ADVIA Centaur® TnI-Ultra™
VZOREC	serum, plazma (EDTA)	serum, plazma (EDTA, Li-heparin)
VOLUMEN VZORCA	100 µl	100µl
MERILNO OBMOČJE	0,005 - 100 ng/ml	0 - 50 ng/ml
LIMITA DETEKCIJE	< 0,006 ng/ml	< 0,006 ng/ml
KONCENTRACIJA PRI 10 % CV	0,05 ng/ml	0,03 ng/ml
99. CENTIL	0,01 ng/ml	0,04 ng/ml
AMI-cut-off	0,06 ng/ml	0,78 ng/ml, območje tveganja je nad 0,10 ng/ml

3.3 VREDNOTENJE REZULTATOV

Koncentracijo cTnI smo bolnikom merili z dvema različima metodama (DiaSorin Liaison[®] Troponin I in Bayer ADVIA Centaur[®] TnI-Ultra[™]). Da bi ugotovili povezanost med podatki, smo izračunali korelacijski koeficient.

$$r = \frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})}{\sqrt{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2} \sqrt{\sum_{i=1}^n (y_i - \bar{y})^2}}$$

Enačba korelacijskega koeficienta:

Za prikaz ujemanja rezultatov, dobljenih z obema metoda, smo uporabili še Bland-Altmanov diagram. Za prikaz Bland-Altmanovega diagrama smo izračunali aritmetične sredine pozameznih rezultatov, dobljenih z obema metodama, razlike med posameznimi rezultati in standardno deviacijo teh razlik. Iz povprečja razlik in standardne deviacije smo izračunali območje ujemanja med metodama (19).

$$s = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n - 1}}$$

Enačba za izračun standardne deviacije:

Enačba za izračun limit, ki omejujejo območje ujemanja: $\bar{d} \pm 2s$

IZRAČUN KLINIČNE ZANESLJIVOSTI

Za izračun občutljivosti, specifičnosti in točnosti metode smo bolnike razdelili na:

- bolnike, ki so imeli resnično pozitivne rezultate
- bolnike, ki so imeli lažno pozitivne rezultate
- bolnike, ki so imeli resnično negativne rezultate
- bolnike, ki so imeli lažno negativne rezultate

Za boljši pregled smo naredili tabelo z resnično pozitivnimi in negativnimi ter lažno pozitivnimi in negativnimi rezultati. Občutljivost, specifičnost in točnost smo izračunali po spodaj navedenih enačbah (20).

	POZITIVNI	NEGATIVNI	VSI
POZITIVNI	resnično pozitivni (RP)	lažno pozitivni (LP)	RP + LP
NEGATIVNI	lažno negativni (LN)	resnično negativni (RN)	LN + RN
VSI	RP + LN	LP + RN	RP + LP + RN + LN

Enačba za občutljivost:

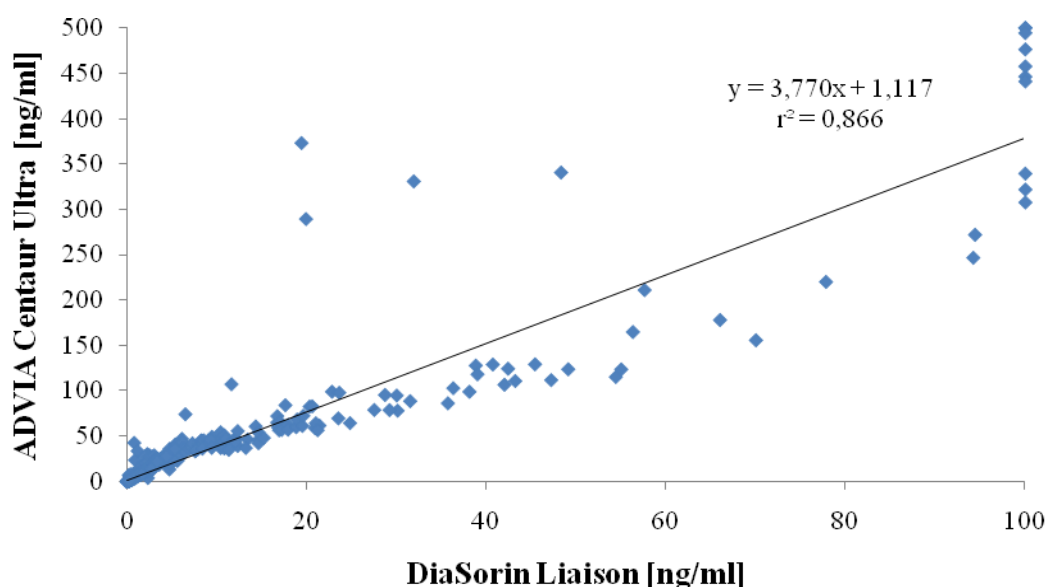
Enačba za specifičnost:

$$\text{Enačba za točnost: } \frac{\text{RP} + \text{RN}}{\text{RP} + \text{LP} + \text{RN} + \text{LN}}$$

4. REZULTATI

Koncentracijo cTnI smo z dvema različima metodama (DiaSorin Liaison® Troponin I in Bayer ADVIA Centaur® TnI-Ultra™) izmerili skupno 1425 bolnikom. Za izračune korelacijskih koeficientov in izdelavo grafov smo uporabili program Microsoft Excel.

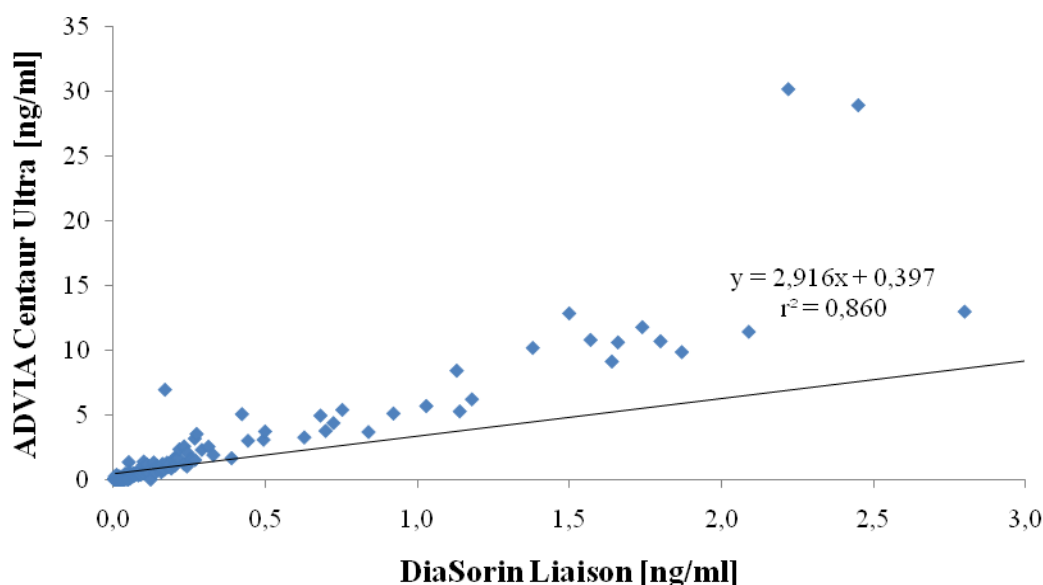
Izračunan korelacijski koeficient ($r = 0,931$; $p = 0,0001$) nakazuje na močno korelacijo med podatki. Meje korelacijskega koeficienta so namreč med -1 in 1 (kadar ima vrednost 1, je povezanost med spremenljivkama popolna), vrednost $p < 0,05$ pa nakazuje na statistično značilno povezanost med rezultati. Naredili smo še graf linerane regresije, kjer smo na os x nanašali vrednosti, dobljene z DiaSorin Liaison, na os y pa vrednosti, dobljene z Bayer ADVIA Centaur Ultra (graf 3).



raf 3: Linearna regresija metod DiaSorin Liaison in Bayer ADVIA Centaur Ultra (n = 1425)

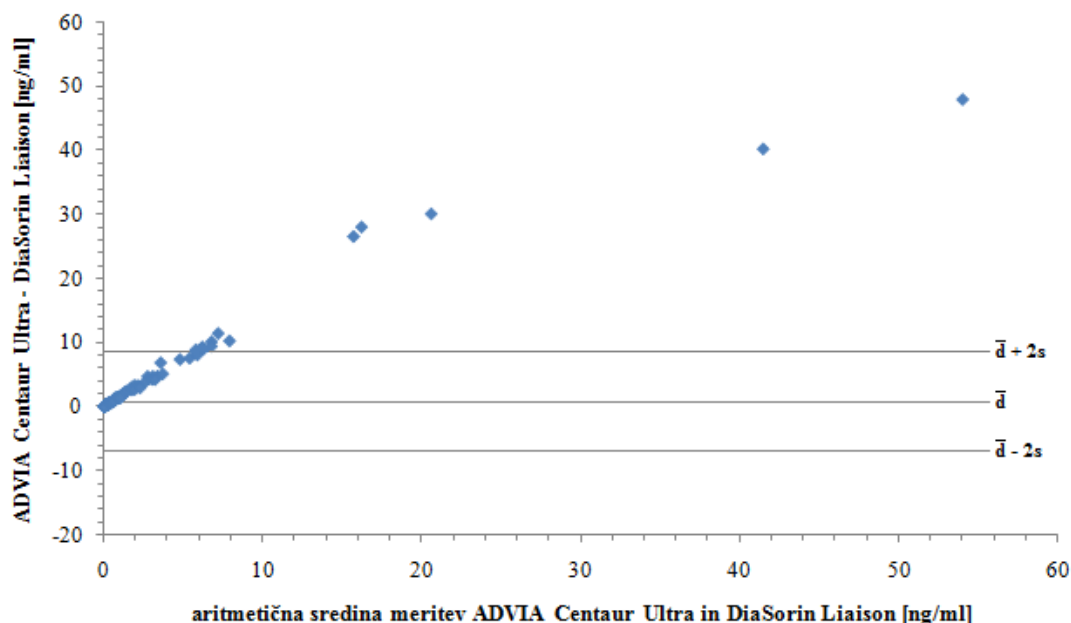
Pri nadaljni analizi smo se osredotočili na bolnike, ki so bili pregledani na IPP. Takšnih bolnikov je bilo 506. Meritve, ki smo jih dobili pri analizi bolnikov iz IPP, so združene v *PRILOGI*.

Najprej smo izračunali korelacijo. Izračunan korelacijski koeficient ($r = 0,928$; $p = 0,0001$) kaže na dobro korelacijo med podatki. Prav tako smo naredili graf linerane regresije, kjer smo na os x nanašali vrednosti, dobljene z DiaSorin Liaison, na os y pa vrednosti, dobljene z Bayer ADVIA Centaur Ultra (graf 4).



G
raf 4: Lienarna regresija metod DiaSorin Liaison in Bayer ADVIA Centaur Ultra (n = 506) * v izračun regresijske premice je vključenih več podatkov, kot jih je vidnih na grafu (rezultati, ki so izven polja: 504, 505, 506 - glej PRILOGO)

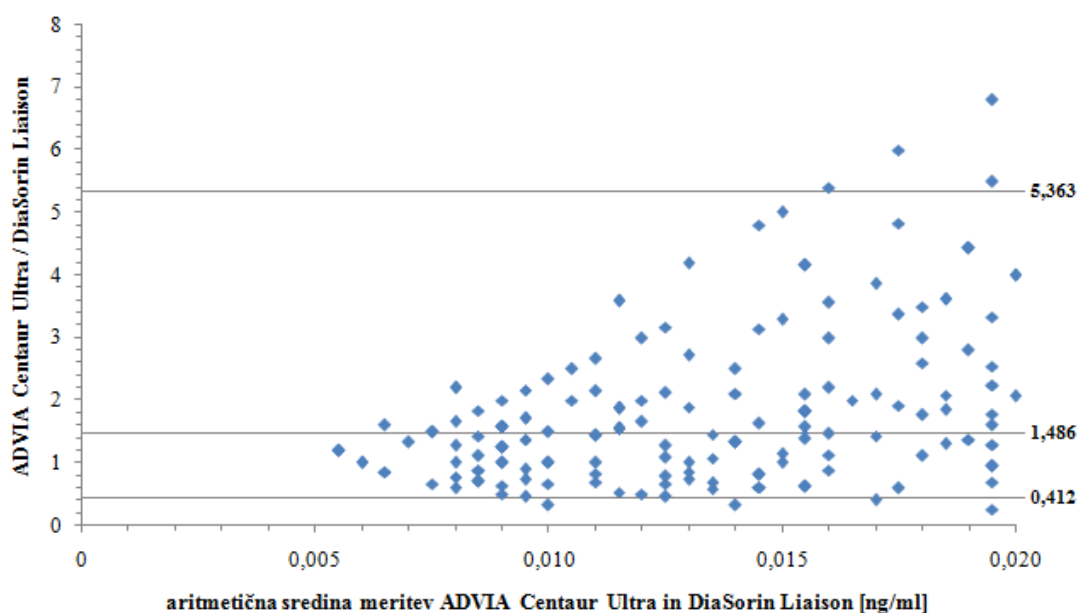
Nato smo naredili še Bland-Altmanov diagram, ker nas je zanimalo dejansko ujemanje rezultatov oziroma možna odstopanja med rezultati, česar iz korelacijskega koeficienta in grafa linearne regresije ne moremo natančno razbrati. Aritmetične sredine posameznih rezultatov, dobljenih z obema metodama smo nanašali na os x, razlike med temi rezultati pa na os y. Iz povprečja razlik ($\bar{d} = 0,807$ ng/ml) in standardne deviacije razlik med rezultati ($s = 3,781$ ng/ml) smo dobili limite, s katerimi smo omejili območje ujemanja med metodama. Izračunano območje ujemanja med metodama je med $\bar{d} + 2s = 8,369$ ng/ml in $\bar{d} - 2s = - 6,755$ ng/ml (graf 5).



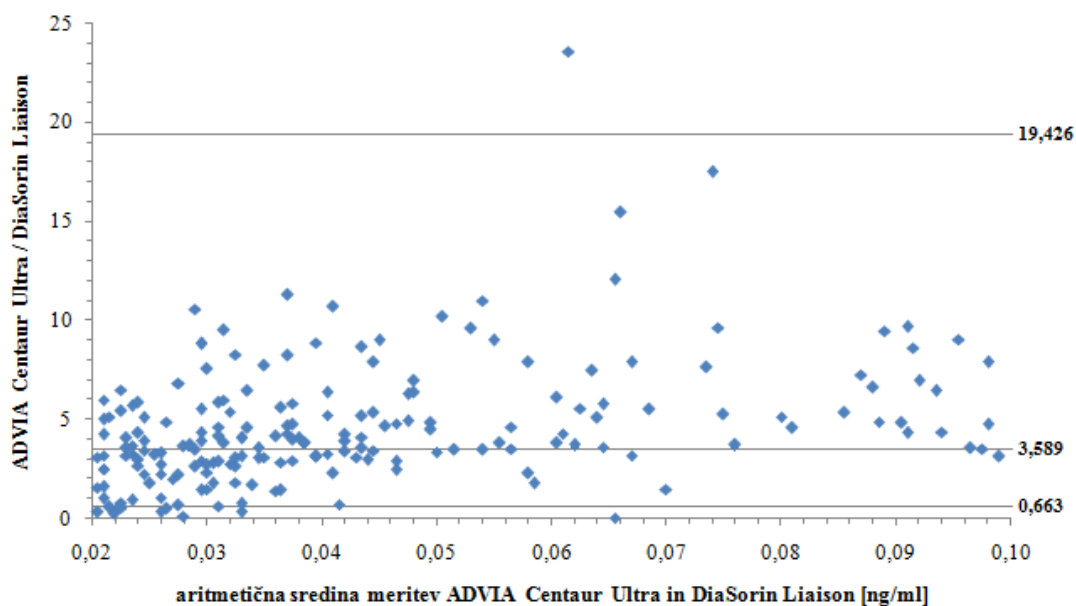
Graf 5: Prikaz ujemanja med metodama ADVIA Centaur Ultra in DiaSorin Liaison (Bland-Altmanov diagram) (n = 506)

Iz grafa 5 lahko razberemo, da so v območju nizkih koncentracij podatki zelo zgoščeni in med njimi ni večjih odstopanj, medtem ko je pri višjih koncentracijah razpršenost podatkov večja. Prav tako pri višjih koncentracijah nekateri rezultati zelo odstopajo od srednje vrednosti. Napaka je torej proporcionalna koncentraciji.

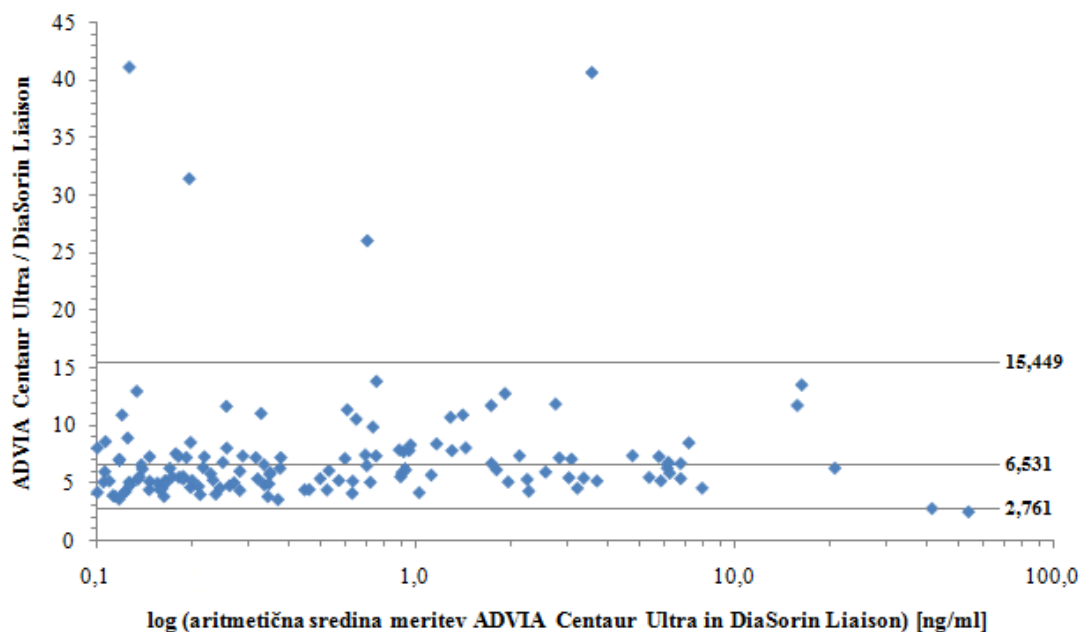
Rezulate smo razdelili na 3 koncentracijska območja in jih predstavili s pomočjo Bland-Altmanovih diagramov: območje 0 - 0,02 ng/ml (graf 6), območje 0,02 - 0,1 ng/ml (graf 7) in območje od 0,1 ng/ml naprej (graf 8). Na os y smo nanašali razmerja med rezultati (ADVIA Centaur Ultra / DiaSorin Liaison), na os x pa aritmetične sredine posameznih rezultatov. Iz povprečja razmerij in standardne deviacije razmerij med rezultati smo izračunali limite ujemanja.



Graf 6: Prikaz ujemanja med metodama v koncentracijskem območju 0 - 0,02 ng/ml (Bland-Altmanov diagram) (n = 172)



Graf 7: Prikaz ujemanja med metodama v koncentracijskem območju 0,02 - 0,1 ng/ml (Bland-Altmanov diagram) (n = 197)

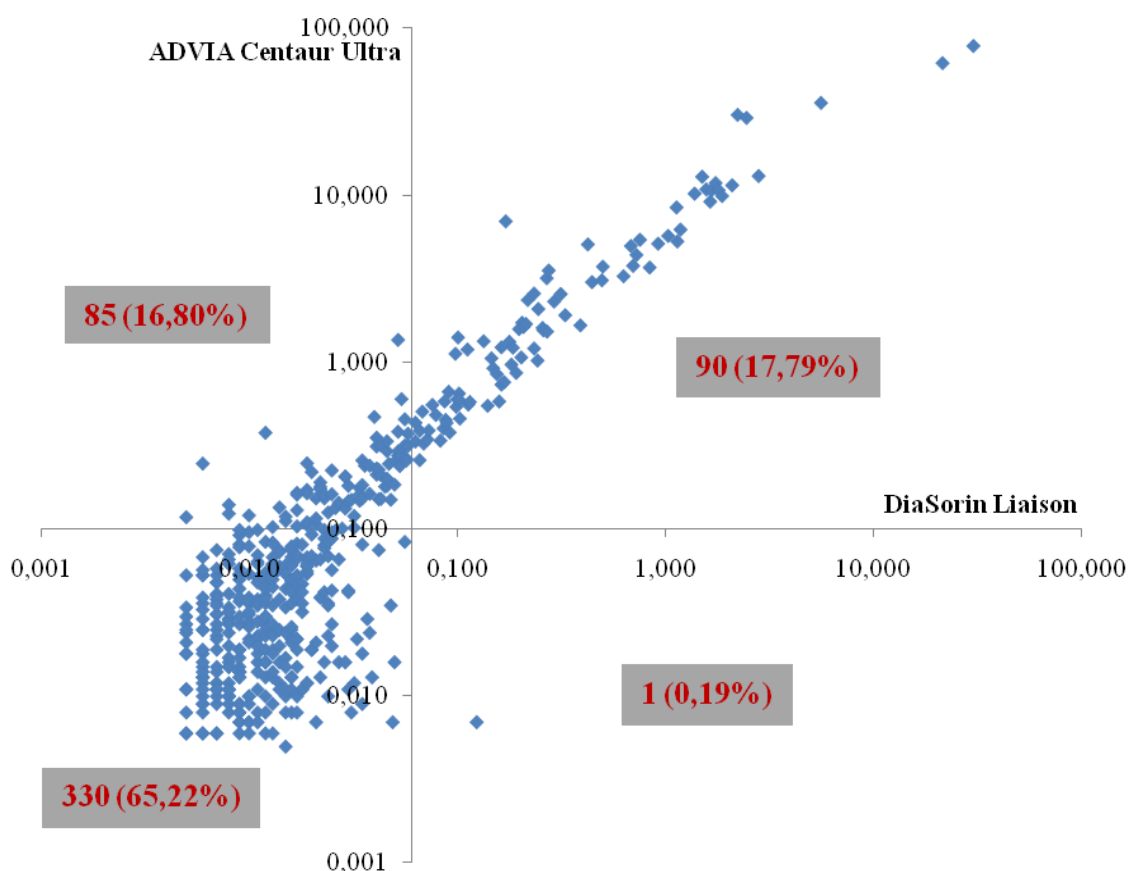


Graf 8: Prikaz ujemanja med metodama v koncentracijskem območju od 0,1 ng/ml naprej (Bland-Altmanov diagram) (n = 137)

Za dodatno primerjavo rezultatov smo naredili graf, ki smo ga razdelili na štiri kvadrante, saj nas je zanimala primerjava rezultatov glede na pozitivne in negativne vrednosti. Pri obeh metodah smo označili mejno vrednost za AMI, in sicer 0,06 ng/ml za DiaSorin Liaison (os x) ter 0,10 ng/ml za Bayer ADVIA Centaur Ultra (os y) (graf 6).

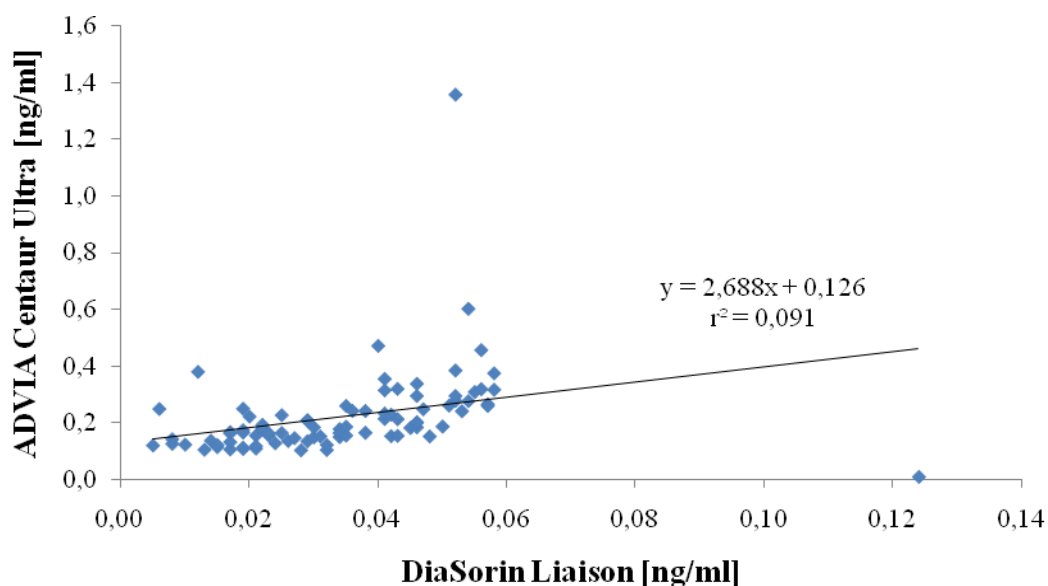
Dobili smo štiri kvadrante:

- v zgornjem desnem kvadrantu so rezultati, ki so pozitivni z obema metodama
- v spodnjem desnem kvadrantu so rezultati, ki so pozitivni z DiaSorin Liaison in negativni z Bayer ADVIA Centaur Ultra
- v spodnjem levem kvadrantu so rezultati, ki so negativni z obema metodama
- v zgornjem levem kvadrantu so rezultati, ki so negativni z DiaSorin Liaison in pozitivni z Bayer ADVIA Centaur Ultra



Graf 9: Primerjava rezultatov z uporabo mejnih vrednosti za AMI (0,06 pri DiaSorin Liaison in 0,10 pri ADVIA Centaur Ultra)

Iz grafa 9 lahko razberemo, da je od skupno 506 bolnikov po metodi DiaSorin Liaison pozitivnih bolnikov 91 (17,98 %), negativnih pa 415 (82,02 %). Po metodi Bayer ADVIA Centaur je pozitivnih bolnikov 175 (34,59 %), negativnih pa 331 (65, 41 %). Seštevek kvadrantov spodaj desno in zgoraj levo pa kaže, da sta metodi dali nasprotujoče si rezultate v 86 primerih. Korelacija ($r = 0,302$; $p = 0,004$) je v območju, kjer metodi dajeta nasprotujoče si rezultate, pričakovano slaba. Linearna regresija je predstavljena na grafu 10.



raf 10: Linearna regresija v območju, kjer metodi dajeta nasprotujoče si rezultate (n = 86) G

86 bolnikom, pri katerih sta metodi dali nasprotujoče si rezultate, je bila na podlagi anamneze, simptomov, EKG in koncentracije cTnI določena končna diagnoza. Rezultati, dobljeni s posamezno metodo, in pripadajoče diagnoze so prikazane v tabeli 3.

Tabela 3: Rezultati in diagnoze 86 bolnikov, pri katerih sta metodi **DiaSorin Liaison[®] Troponin I** in **Bayer ADVIA Centaur[®] TnI-Ultra[™]** dali nasprotujoče si rezultate

Vzorec	Diagnoza	DiaSorin Liaison [®] Troponin I	Bayer ADVIA Centaur [®] TnI-Ultra [™]
1	srčno popuščanje	0,005	0,118
2	sepsa	0,006	0,247
3*	angina pectoris	0,008	0,140
4	srčno popuščanje	0,008	0,124
5	srčno popuščanje	0,010	0,121
6	karcinom	0,012	0,378
7	bolnik poslan domov	0,013	0,103
8	bolnik poslan domov	0,014	0,135
9	bolnik poslan domov	0,015	0,112
10	bolnik poslan domov	0,015	0,119

11	pankreatitis	0,017	0,165
12	srčno popuščanje	0,017	0,104
13	srčno popuščanje	0,017	0,161
14*	STEMI	0,017	0,130
15	hiperaldosteronizem	0,019	0,106
16	sepsa	0,019	0,172
17	karcinom	0,019	0,164
18	srčno popuščanje	0,019	0,248
19	bolnik poslan domov	0,019	0,110
20	bolnik poslan domov	0,020	0,220
21	srčno popuščanje	0,021	0,107
22	bolnik poslan domov	0,021	0,153
23	srčno popuščanje, pljučnica	0,021	0,116
24	bolnik poslan domov	0,022	0,179
25	bolnik poslan domov	0,022	0,191
26	bolnik poslan domov	0,022	0,174
27*	NSTEMI	0,023	0,153
28	pljučni edem	0,023	0,161
29	diabetes	0,024	0,126
30	pljučni edem	0,025	0,225
31	bolnik poslan domov	0,025	0,162
32	pankreatitis	0,026	0,134
33	bolnik poslan domov	0,027	0,144
34	bolnik poslan domov	0,028	0,101
35	srčno popuščanje	0,029	0,207
36	dehidracija	0,029	0,133
37	dehidracija	0,029	0,206
38	sinkopa	0,030	0,147
39	sinkopa	0,030	0,182
40*	angina pectoris	0,031	0,150
41*	NSTEMI	0,032	0,102
42	srčno popuščanje	0,032	0,120
43	bolnik poslan domov	0,034	0,148
44	hiperkaliemija	0,034	0,176
45	hipotenzija	0,034	0,162
46	sepsa	0,035	0,153
47	bolnik poslan domov	0,035	0,184
48	srčno popuščanje	0,035	0,258
49	diabetes	0,036	0,240

50	aortna stenoza	0,038	0,163
51	možganska krvavitev	0,038	0,240
52*	NSTEMI	0,040	0,470
53*	NSTEMI	0,041	0,353
54	anemija	0,041	0,212
55	arterijska fibrilacija	0,041	0,231
56*	NSTEMI	0,041	0,313
57*	angina pectoris	0,042	0,227
58	pljučna embolija	0,042	0,151
59*	NSTEMI	0,043	0,318
60	bolnik poslan domov	0,043	0,211
61	hipertenzija	0,043	0,152
62*	STEMI	0,045	0,180
63*	NSTEMI	0,046	0,182
64	srčno popuščanje	0,046	0,293
65	srčno popuščanje	0,046	0,199
66	karcinom	0,046	0,336
67*	STEMI	0,046	0,200
68*	STEMI	0,047	0,246
69	sepsa	0,048	0,150
70	pljučnica	0,050	0,185
71	bolnik poslan domov	0,051	0,259
72	srčno popuščanje	0,052	0,276
73	bolnik poslan domov	0,052	0,383
74*	NSTEMI	0,052	1,358
75*	NSTEMI	0,052	0,293
76	arterijska fibrilacija	0,053	0,239
77*	NSTEMI	0,054	0,601
78*	NSTEMI	0,054	0,275
79	anemija	0,055	0,307
80	anemija	0,056	0,455
81	diabetes	0,056	0,317
82	srčno popuščanje	0,057	0,264
83	pljučnica	0,057	0,258
84	srčno popuščanje	0,058	0,373
85	sepsa	0,058	0,315
86	bolnik poslan domov	0,124	0,007

* bolniki z IBS rezultati, ki so pravilni glede na postavljeno diagnozo (bolezenska stanja, pri katerih je cTnI lahko povišan, vključno z IBS)

IZRAČUN KLINIČNE ZANESLJIVOSTI

Iz zgornje tabele je razvidno, da je bila pri bolnikih, katerim smo z metodama izmerili nasprotujoče si rezultate, postavljena diagnoza ene od oblik IBS v 18 primerih. V vseh 18 primerih smo pravilno povišanje koncentracije cTnI izmerili z metodo ADVIA Centaur Ultra, medtem ko je metoda DiaSorin Liaison dala lažno negativen rezultat. Za bolnike, kjer sta obe metodi dali pozitiven rezultat (takšnih je bilo 90 od skupno 506 bolnikov), smo predpostavili diagnozo IBS, medtem ko smo ostalih 330 bolnikov, pri katerih sta obe metodi dali negativen rezultat, obravnavali kot zdrave oziroma brez IBS. V 18 primerih so bili bolniki po opravljeni anamnezi, upoštevanju simptomov in EKG poslani domov. V teh primerih je najverjetneje šlo za tako imenovan troponinski "leak", ki smo ga v 17 primerih zaznali le z metodo ADVIA Centaur Ultra in v 1 primeru le z metodo DiaSorin Liaison. Možen vzrok za lažno pozitivne rezultate pri teh bolnikih pa lahko pripišemo tudi možnim interferencam, kot so heparin, nekatere droge, heterofilna protitelesa itd. Na podlagi teh podatkov smo v spodnjih tabelah opredelili resnično/lažno pozitivne in resnično/lažno negativne rezultate ter izračunali diagnostično občutljivost, specifičnost in točnost posamezne metode.

Tabela 4: Občutljivost, specifičnost in točnost *DiaSorin Liaison[®] Troponin I*

	POZITIVNI	NEGATIVNI	VSI
POZITIVNI	90	1	91
NEGATIVNI	18	397	415
VSI	108	398	506

OBČUTLJIVOST: **83,33 %**

SPECIFIČNOST: **99,75 %**

TOČNOST: **96,24 %**

Tabela 5: Občutljivost, specifičnost in točnost *Bayer ADVIA Centaur® TnI-Ultra™*

	POZITIVNI	NEGATIVNI	VSI
POZITIVNI	108	67	175
NEGATIVNI	0	331	331
VSI	108	398	506

OBČUTLJIVOST: **100 %**

SPECIFIČNOST: **83,17 %**

TOČNOST: **86,76 %**

5. RAZPRAVA

Srčni troponini (cTnI in cTnT) danes veljajo za najbolj specifične biokemične markerje nekroze srčne mišice. Po smernicah ESC/ACC je za diagnozo miokardnega infarkta potrebno dokazati porast ali padec koncentracije cTn nad zgornjo mejo referenčnega intervala, ki je pri 99. centilu. Ker pa je koncentracija cTn lahko povišana tudi v odsotnosti sprememb v koronarnih arterijah, je za diagnozo akutnega koronarnega dogodka potrebno koncentracijo cTn vedno interpretirati skupaj s simptomi in/ali spremembami v EKG.

DiaSorin Liaison[®] Troponin I in Bayer ADVIA Centaur[®] TnI-Ultra[™] sta kemiluminiscenčni "sendvič" metodi za določanje cTnI. Razlikujeta se v samem principu in uporabi reagentov za detekcijo cTnI v serumu ali plazmi. DiaSorin Liaison[®] Troponin I je dvostranska metoda, saj uporablja eno vrsto primarnih monoklonskih protiteles, usmerjenih proti aminokislinam 80 - 100, in z izoluminolom označena sekundarna poliklonska protitelesa, ki so usmerjena proti aminokislinam 27 - 39. Nastali kompleks detektiramo z merjenjem kemiluminiscence. Bayer ADVIA Centaur[®] TnI-Ultra[™] pa je tristranska metoda, saj uporablja dve vrsti primarnih monoklonskih protiteles, ki so usmerjena proti različnim epitopom (aminokislina 41 - 49 in 87 - 91) ter z akridinijevim estrom označena sekundarna poliklonska protitelesa, ki so usmerjena proti aminokislinam 27 - 40. Tehnika, ki jo uporablja Bayer ADVIA Centaur[®] TnI-Ultra[™], pomeni nižjo limitno detekcije cTnI, saj se z uporabo dveh primarnih oziroma lovilnih protiteles poveča učinkovitost lovljenja cTnI v vzorcu.

V analizo je bilo vključenih 506 bolnikov, ki so bili pregledani na IPP. Rezultate, ki smo jih dobili z metodama DiaSorin Liaison[®] Troponin I in Bayer ADVIA Centaur[®] TnI-Ultra[™], smo statistično ovrednotili ter jih predstavili v obliki grafov. Graf 4 prikazuje statistično značilno povezanost med rezultati na celotnem območju ($n = 506$). Izračunan korelacijski koeficient ($r = 0,931$; $p = 0,0001$) pomeni, da je korelacija med rezultati dobra. Graf 5 prikazuje zgoščenost rezultatov in manjša odstopanja med rezultati v območju nizkih koncentracij, medtem ko so v območju višjih koncentracij rezultati bolj razpršeni in med njimi prihaja do večjih odstopanj. Iste podatke smo

logaritmirali in predstavili na grafu 6. Graf smo razdelili na štiri kvadrante s pomočjo mejnih vrednosti za AMI pri posamezni metodi, in sicer 0,06 ng/ml pri DiaSorin Liaison (os x) ter 0,10 ng/ml pri Bayer ADVIA Centaur Ultra (os y). Tako smo dobili število pozitivnih in negativnih rezultatov za posamezno metodo. Zanimala sta nas predvsem spodnji desni in zgornji levi kvadrant, saj so v tem območju zbrani rezultati, ki so pozitivni z eno in negativni z drugo metodo. Takšnih rezultatov je bilo 86 (85 rezultatov negativnih z DiaSorin Liaison in pozitivnih z ADVIA Centaur Ultra ter 1 rezultat pozitiven z DiaSorin Liaison in negativen z ADVIA Centaur Ultra).

Pri nadaljni analizi smo se osredotočili na 86 bolnikov, pri katerih sta metodi dali nasprotujoče si rezultate. Najprej smo izračunali korelacijo med rezultati v tem območju. Graf 7 prikazuje statistično značilno povezanost med rezultati, izračunan korelacijski koeficient ($r = 0,302$; $p = 0,004$) nam pove, da je korelacija rezultatov v tem območju slaba. Po anamnezi, upoštevanju simptomov in ugotovitvah v EKG so bile za teh 86 bolnikov postavljene končne diagnoze, predstavljene v tabeli 3. Na podlagi diagnoz smo ugotovili, da je bil akutni koronarni dogodek (STEMI, NSTEMI, angina pectoris) vzrok porasta koncentracije cTnI nad mejno vrednost v 18 primerih. Pozitivne in negativne rezultate smo za posamezno metodo razdelili v štiri skupine: resnično pozitivne/negativne in lažno pozitivne/negativne. Na podlagi tega smo ovrednotili klinično zanesljivost posamezne metode in ugotovili, da ima DiaSorin Liaison večjo specifičnost za cTnI (99,75 %) v primerjavi z ADVIA Centaur Ultra (83,17 %), medtem ko je ADVIA Centaur Ultra občutljivejša za cTnI (100 %) v primerjavi z DiaSorin Liaison (83,33 %). Prav tako je točnost DiaSorin Liaison (96,24 %) boljša od točnosti ADVIA Centaur Ultra (86,76 %). Iz teh podatkov bi lahko sklepali, da je DiaSorin Liaison primernejša metoda za določanje cTnI, vendar ne smemo spregledati, da bi zaradi slabše občutljivosti z DiaSorin Liaison spregledali kar 18 bolnikov, ki imajo eno od oblik ishemičnih srčno-žilnih bolezni. Ti bolniki, predvsem to velja za tiste brez značilnih sprememb v EKG (NSTEMI, angina pectoris), bi bili najverjetneje poslani domov, s čimer bi bilo zaradi neizvajanja reperfuzijske terapije dodatno ogroženo njihovo življenje.

Pri interpretaciji naših izračunov se je potrebno zavedati, da smo za vrednotenje klinične zanesljivosti posamezne metode uporabili zelo majhno populacijo bolnikov ($n = 86$). Prav tako smo za izračun resnično/lažno pozitivnih in resnično/lažno negativnih rezultatov uporabili le tiste rezultate, ki so bili nasprotujoči z obema metodama. Za natančnejšo oceno občutljivosti, specifičnosti in točnosti posamezne metode bi bilo potrebno izvesti širšo in temeljitejšo analizo z več bolniki in postavljenimi končnimi diagnozami za vse bolnike, vključene v raziskavo.

6. SKLEP

Namen diplomske naloge je bil primerjati dve različni imunokemijski kemiluminiscenčni metodi, s katerima smo določali koncentracijo cTnI. Metodi smo primerjali, da bi ugotovili, katera metoda je bolj občutljiva, specifična in točna ter s tem primernejša za določanje koncentracije cTnI v serumu ali plazmi.

Na podlagi rezultatov lahko sklepamo:

- izračunan korelacijski koeficient $r = 0,931$ za celotno populacijo ($n = 1428$) nam prikazuje, da dajeta metodi visoko primerljive rezultate ($p < 0,05$ nam pove, da je korelacija med rezultati statistično značilna)
- glede na rezultate je DiaSorin Liaison[®] Troponin I bolj specifična, medtem ko je Bayer ADVIA Centaur[®] TnI-Ultra[™] bolj občutljiva metoda

Treba je poudariti, da rezultati, dobljeni pri naši analizi, ne kažejo popolnoma pravilne slike o klinični zanesljivosti posamezne metode. Za pravilnejšo primerjalno oceno bi bila potrebna obsežnejša analiza, ki bi obravnavala večje število bolnikov. Vseeno pa lahko iz naših ugotovitev, sklepamo, da sta obe metodi dobri za določanje cTnI. Idealno bi seveda bilo, če bi imela metoda 100 % občutljivost in 100 % specifičnost za cTnI. Določanje cTnI kombiniramo z določanjem ostalih srčnih biomarkerjev, dobljene rezultate pa vedno vrednotimo skupaj z drugimi tehnikami za dokaz pojava AMI (anamneza, simptomi, EKG) in tako povečamo verjetnost postavitve pravilne diagnoze.

7. LITERATURA

- (1) Dahmane R: Anatomija, Visoka šola za zdravstvo, Ljubljana 1996: 92 - 97
- (2) Kobe V, Dekleva A, Lenart F, Širca A, Velepich M: Anatomija, Skripta za študente medicine 3. del, Obtočila, Endokrine žleze, Medicinska fakulteta, Ljubljana 1995: 36 - 40
- (3) Braunwald E., Isselbacher K.J., Petersdorf R.G., Wilson J.D., Martin J.B., Fauci A.S.: Harrison's principles of internal medicine Vol. 2, 11th Ed., New York 1987: 896 - 899
- (4) World Health Organization: http://www.who.int/cardiovascular_diseases/en (dostopal 4.10.2011)
- (5) Mackay J., Mensah G.A., Mendis S., Greenlund K.: The atlas of heart disease and stroke, World Health Organisation, Ženeva 2004
- (6) Statistični urad Republike Slovenije: http://www.stat.si/novica_prikazi.aspx?ID=3040 (dostopal 26.6.2011)
- (7) Statistični urad Republike Slovenije: http://www.stat.si/novica_prikazi.aspx?id=2260 (dostopal 26.6.2011)
- (8) Jerše M.: Srčni infarkt, Centralni zavod za napredek gospodinjstva, Ljubljana 1987: 27 - 28, 43 - 62
- (9) Kocijančič A., Mrevlje F.: Interna medicina, EWO, DZS, Ljubljana 1998: 46 - 55, 153 - 186
- (10) Osredkar J.: Kardiovaskularna obolenja - laboratorijska diagnostika, Farmacevtski vestnik 2002; 53: 325 - 329
- (11) Benko D., Tretnjak M., Slemenik-Pušnik C., Kacil-Ličen E.: Naše izkušnje s srčnim troponinom I pri obravnavi bolnikov s prsno bolečino, Zdravniški vestnik 2000; 69: 307 - 309
- (12) Thygesen C., Alpert J.S.: Universal definition of myocardial infarction, ESC/ACC/AHA/WHF 2007 - dostopno na: <http://www.escardio.org/guidelines-surveys/esc-guidelines/GuidelinesDocuments/guidelines-universal-MI-FT.pdf>
- (13) Nigam P.K.: Biochemical markers of myocardial injury, Indian journal of clinical biochemistry 2007; 22: 10 - 17

- (14) Tate J.R., Panteghini M.: Measurement of cardiac troponins revisited, *Biochimica clinica* vol. 32 2008; 6: 535 - 544
- (15) Kržišnik Zorman S., Lenart K.: Uporaba in vrednotenje nekaterih laboratorijskih preiskav - Troponin, Medicinska fakulteta, Katedra za interno medicino, Univerza v Ljubljani, gradivo s 50. Tavčarjevih dni, Portorož 8.11.2008: 155 - 158
- (16) Tate J.R.: Troponin revisited 2008: assay performance - dostopno na: <http://www.reference-global.com/doi/pdfplusdirect/10.1515/CCLM.2008.292>)
- (17) Bunc M., Mlinšek G.: Metode določanja troponina, *Slovenska kardiologija* 2004; 1: 28 - 31
- (18) Payne R.C: Antibody selection criteria for cardiac troponin I assays, Bayer HealthCare, New York 2008; 1 - 3
- (19) Bland M.J., Altman D.G.: Statistical methods for assessing agreement between two methods of clinical measurement
- (20) Zhu W., Zeng N., Wang N.: Sensitivity, Specificity, Accuracy, Associated confidence interval and ROC analysis with practical SAS® implementations, NESUG 2010 - dostopno na: <http://www.nesug.org/Proceedings/nesug10/hl/hl07.pdf>

PRILOGA: Rezultati meritev koncentracije cTnI DiaSorin Liaison® Troponin I in Bayer ADVIA Centaur® TnI-Ultra™ pri bolnikih, ki so bili pregledani na IPP

Vzorec	Starost	Spol	DiaSorin Liaison® Troponin I	Bayer ADVIA Centaur® TnI-Ultra™
1	42	Ž	0,005	0,027
2	85	M	0,005	0,021
3	63	Ž	0,005	0,006
4	82	Ž	0,005	0,011
5	89	Ž	0,005	0,008
6	64	Ž	0,005	0,030
7	61	Ž	0,005	0,011
8	74	Ž	0,005	0,024
9	46	Ž	0,005	0,025
10	61	Ž	0,005	0,018
11	76	Ž	0,005	0,018
12	51	Ž	0,005	0,034
13	87	M	0,005	0,006
14	83	Ž	0,005	0,118
15	95	Ž	0,005	0,053
16	80	M	0,006	0,013
17	28	M	0,006	0,009
18	75	Ž	0,006	0,018
19	69	Ž	0,006	0,006
20	61	Ž	0,006	0,025
21	79	M	0,006	0,019
22	66	Ž	0,006	0,006
23	86	M	0,006	0,012
24	62	Ž	0,006	0,029
25	76	Ž	0,006	0,068
26	79	M	0,006	0,010
27	62	Ž	0,006	0,009
28	82	Ž	0,006	0,013
29	84	Ž	0,006	0,036
30	79	Ž	0,006	0,033
31	67	M	0,006	0,025
32	70	M	0,006	0,039

**Primerjava dveh kemiluminiscenčnih metod
za določanje troponina I pri srčno-žilnih obolenjih**

Blaž Marčič
Laboratorijska biomedicina

33	82	Ž	0,006	0,015
34	81	M	0,006	0,014
35	72	Ž	0,006	0,016
36	46	Ž	0,006	0,011
37	79	M	0,006	0,053
38	49	Ž	0,006	0,053
39	60	Ž	0,006	0,008
40	81	Ž	0,006	0,057
41	91	Ž	0,006	0,247
42	65	Ž	0,007	0,031
43	86	Ž	0,007	0,011
44	47	Ž	0,007	0,006
45	50	Ž	0,007	0,048
46	79	Ž	0,007	0,023
47	86	Ž	0,007	0,009
48	66	Ž	0,007	0,031
49	83	M	0,007	0,006
50	68	Ž	0,007	0,022
51	84	M	0,007	0,025
52	83	M	0,007	0,036
53	81	Ž	0,007	0,010
54	53	Ž	0,007	0,012
55	72	M	0,007	0,048
56	86	Ž	0,007	0,012
57	52	M	0,007	0,014
58	80	Ž	0,007	0,027
59	36	M	0,007	0,019
60	84	Ž	0,007	0,041
61	75	Ž	0,007	0,040
62	54	Ž	0,007	0,053
63	78	M	0,007	0,038
64	71	M	0,007	0,035
65	64	M	0,007	0,075
66	76	M	0,007	0,011
67	37	M	0,007	0,011
68	65	Ž	0,007	0,058
69	57	M	0,007	0,015

**Primerjava dveh kemiluminiscenčnih metod
za določanje troponina I pri srčno-žilnih obolenjih**

Blaž Marčič
Laboratorijska biomedicina

70	66	Ž	0,008	0,010
71	78	Ž	0,008	0,020
72	47	Ž	0,008	0,010
73	58	Ž	0,008	0,011
74	26	Ž	0,008	0,008
75	53	Ž	0,008	0,015
76	56	Ž	0,008	0,016
77	76	Ž	0,008	0,062
78	96	Ž	0,008	0,029
79	78	M	0,008	0,017
80	61	Ž	0,008	0,029
81	86	Ž	0,008	0,012
82	61	M	0,008	0,140
83	70	Ž	0,008	0,015
84	83	M	0,008	0,010
85	80	M	0,008	0,011
86	57	M	0,008	0,071
87	88	Ž	0,008	0,034
88	71	Ž	0,008	0,041
89	54	Ž	0,008	0,024
90	69	Ž	0,008	0,028
91	81	M	0,008	0,011
92	74	Ž	0,008	0,066
93	71	Ž	0,008	0,015
94	81	M	0,008	0,027
95	73	Ž	0,008	0,124
96	73	M	0,008	0,009
97	81	Ž	0,008	0,032
98	89	M	0,008	0,032
99	53	Ž	0,009	0,019
100	67	M	0,009	0,015
101	56	M	0,009	0,014
102	68	M	0,009	0,027
103	54	Ž	0,009	0,009
104	83	Ž	0,009	0,008
105	41	Ž	0,009	0,008
106	48	M	0,009	0,017

**Primerjava dveh kemiluminiscenčnih metod
za določanje troponina I pri srčno-žilnih obolenjih**

Blaž Marčič
Laboratorijska biomedicina

107	61	M	0,009	0,013
108	79	Ž	0,009	0,009
109	19	Ž	0,009	0,007
110	47	M	0,009	0,014
111	68	Ž	0,009	0,006
112	83	Ž	0,009	0,044
113	85	Ž	0,009	0,019
114	76	M	0,009	0,007
115	70	M	0,009	0,030
116	56	Ž	0,009	0,014
117	57	M	0,009	0,058
118	82	Ž	0,009	0,092
119	57	Ž	0,009	0,037
120	87	Ž	0,009	0,050
121	45	Ž	0,009	0,014
122	73	Ž	0,009	0,054
123	78	Ž	0,009	0,039
124	79	Ž	0,009	0,013
125	91	Ž	0,009	0,081
126	81	M	0,009	0,053
127	69	M	0,009	0,099
128	72	Ž	0,009	0,078
129	73	Ž	0,010	0,010
130	70	Ž	0,010	0,007
131	76	Ž	0,010	0,039
132	80	M	0,010	0,010
133	79	Ž	0,010	0,054
134	85	Ž	0,010	0,006
135	57	M	0,010	0,036
136	54	M	0,010	0,022
137	81	Ž	0,010	0,009
138	79	M	0,010	0,007
139	82	Ž	0,010	0,037
140	31	Ž	0,010	0,031
141	77	M	0,010	0,021
142	86	Ž	0,010	0,028
143	75	Ž	0,010	0,079

**Primerjava dveh kemiluminiscenčnih metod
za določanje troponina I pri srčno-žilnih obolenjih**

Blaž Marčič
Laboratorijska biomedicina

144	49	Ž	0,010	0,096
145	73	Ž	0,010	0,121
146	87	Ž	0,010	0,026
147	84	M	0,010	0,032
148	70	M	0,011	0,064
149	68	Ž	0,011	0,020
150	30	Ž	0,011	0,011
151	78	Ž	0,011	0,016
152	80	Ž	0,011	0,018
153	85	Ž	0,011	0,023
154	58	M	0,011	0,070
155	58	M	0,011	0,014
156	74	M	0,011	0,062
157	81	Ž	0,011	0,020
158	76	Ž	0,011	0,035
159	36	Ž	0,011	0,008
160	82	Ž	0,011	0,051
161	78	M	0,011	0,022
162	33	Ž	0,011	0,007
163	85	Ž	0,011	0,020
164	81	M	0,011	0,048
165	64	Ž	0,011	0,038
166	79	Ž	0,011	0,036
167	81	M	0,011	0,099
168	81	Ž	0,011	0,020
169	77	M	0,011	0,028
170	80	M	0,012	0,027
171	89	Ž	0,012	0,016
172	71	Ž	0,012	0,027
173	43	M	0,012	0,010
174	28	Ž	0,012	0,016
175	93	M	0,012	0,030
176	69	Ž	0,012	0,040
177	74	Ž	0,012	0,030
178	40	M	0,012	0,008
179	70	Ž	0,012	0,036
180	86	M	0,012	0,025

**Primerjava dveh kemiluminiscenčnih metod
za določanje troponina I pri srčno-žilnih obolenjih**

Blaž Marčič
Laboratorijska biomedicina

181	70	Ž	0,012	0,030
182	70	M	0,012	0,023
183	83	Ž	0,012	0,039
184	76	Ž	0,012	0,047
185	76	M	0,012	0,050
186	79	Ž	0,012	0,013
187	83	Ž	0,012	0,016
188	66	Ž	0,012	0,044
189	86	M	0,012	0,019
190	73	M	0,012	0,045
191	77	M	0,012	0,084
192	72	Ž	0,012	0,378
193	58	Ž	0,012	0,006
194	64	M	0,012	0,055
195	81	Ž	0,013	0,045
196	78	M	0,013	0,024
197	57	M	0,013	0,050
198	80	M	0,013	0,083
199	79	Ž	0,013	0,009
200	58	M	0,013	0,013
201	80	Ž	0,013	0,019
202	84	Ž	0,013	0,061
203	85	M	0,013	0,006
204	78	Ž	0,013	0,103
205	92	Ž	0,013	0,018
206	81	M	0,013	0,053
207	93	Ž	0,013	0,068
208	79	M	0,013	0,027
209	74	M	0,013	0,062
210	71	M	0,013	0,082
211	69	Ž	0,013	0,023
212	83	Ž	0,013	0,014
213	94	Ž	0,013	0,053
214	82	M	0,013	0,035
215	86	Ž	0,014	0,012
216	37	Ž	0,014	0,025
217	53	M	0,014	0,038

**Primerjava dveh kemiluminiscenčnih metod
za določanje troponina I pri srčno-žilnih obolenjih**

Blaž Marčič
Laboratorijska biomedicina

218	77	Ž	0,014	0,020
219	75	Ž	0,014	0,011
220	64	Ž	0,014	0,075
221	88	Ž	0,014	0,060
222	57	Ž	0,014	0,073
223	53	Ž	0,014	0,016
224	81	M	0,014	0,135
225	77	M	0,014	0,058
226	75	Ž	0,015	0,034
227	76	Ž	0,015	0,010
228	62	Ž	0,015	0,017
229	76	M	0,015	0,024
230	78	Ž	0,015	0,005
231	88	Ž	0,015	0,011
232	57	M	0,015	0,008
233	88	Ž	0,015	0,061
234	69	Ž	0,015	0,112
235	63	M	0,015	0,044
236	78	Ž	0,015	0,015
237	75	M	0,015	0,060
238	87	Ž	0,015	0,054
239	53	M	0,015	0,119
240	92	Ž	0,016	0,061
241	76	M	0,016	0,046
242	84	Ž	0,016	0,061
243	82	Ž	0,016	0,044
244	56	M	0,016	0,008
245	64	Ž	0,016	0,013
246	82	M	0,016	0,045
247	85	M	0,016	0,042
248	58	M	0,016	0,011
249	87	Ž	0,016	0,049
250	88	M	0,016	0,075
251	67	M	0,016	0,025
252	82	M	0,016	0,022
253	60	Ž	0,016	0,068
254	45	M	0,016	0,036

**Primerjava dveh kemiluminiscenčnih metod
za določanje troponina I pri srčno-žilnih obolenjih**

Blaž Marčič
Laboratorijska biomedicina

255	78	Ž	0,016	0,079
256	78	Ž	0,016	0,013
257	73	Ž	0,016	0,077
258	67	M	0,016	0,022
259	74	Ž	0,016	0,050
260	66	Ž	0,016	0,021
261	84	M	0,016	0,026
262	87	Ž	0,017	0,053
263	64	Ž	0,017	0,165
264	83	Ž	0,017	0,052
265	79	M	0,017	0,015
266	66	Ž	0,017	0,019
267	79	Ž	0,017	0,010
268	67	Ž	0,017	0,047
269	62	M	0,017	0,104
270	87	Ž	0,017	0,067
271	75	M	0,017	0,022
272	70	M	0,017	0,070
273	77	Ž	0,017	0,161
274	82	Ž	0,017	0,082
275	78	Ž	0,017	0,038
276	86	Ž	0,017	0,022
277	82	M	0,017	0,008
278	66	Ž	0,017	0,130
279	76	M	0,018	0,047
280	88	Ž	0,018	0,032
281	67	Ž	0,018	0,036
282	76	Ž	0,018	0,042
283	78	M	0,018	0,081
284	91	M	0,018	0,011
285	19	Ž	0,018	0,011
286	73	M	0,018	0,011
287	84	Ž	0,019	0,054
288	83	Ž	0,019	0,012
289	74	M	0,019	0,065
290	83	Ž	0,019	0,056
291	75	Ž	0,019	0,060

**Primerjava dveh kemiluminiscenčnih metod
za določanje troponina I pri srčno-žilnih obolenjih**

Blaž Marčič
Laboratorijska biomedicina

292	58	M	0,019	0,060
293	64	M	0,019	0,106
294	95	M	0,019	0,172
295	84	M	0,019	0,164
296	88	M	0,019	0,062
297	84	Ž	0,019	0,248
298	74	Ž	0,019	0,110
299	52	Ž	0,019	0,012
300	75	Ž	0,019	0,068
301	98	Ž	0,020	0,019
302	74	M	0,020	0,069
303	69	M	0,020	0,093
304	64	Ž	0,020	0,220
305	58	Ž	0,020	0,019
306	94	Ž	0,021	0,107
307	74	Ž	0,021	0,153
308	71	Ž	0,021	0,021
309	84	M	0,021	0,116
310	75	Ž	0,021	0,065
311	77	M	0,021	0,007
312	86	Ž	0,022	0,039
313	78	Ž	0,022	0,013
314	75	M	0,022	0,066
315	84	Ž	0,022	0,179
316	76	Ž	0,022	0,191
317	80	Ž	0,022	0,174
318	40	Ž	0,023	0,042
319	77	M	0,023	0,088
320	56	Ž	0,023	0,153
321	71	Ž	0,023	0,080
322	88	M	0,023	0,161
323	76	Ž	0,023	0,099
324	85	M	0,023	0,077
325	67	M	0,023	0,016
326	82	M	0,024	0,084
327	74	M	0,024	0,069
328	78	M	0,024	0,023

**Primerjava dveh kemiluminiscenčnih metod
za določanje troponina I pri srčno-žilnih obolenjih**

Blaž Marčič
Laboratorijska biomedicina

329	53	Ž	0,024	0,036
330	86	M	0,024	0,035
331	64	Ž	0,024	0,126
332	50	Ž	0,024	0,010
333	81	M	0,025	0,088
334	72	Ž	0,025	0,020
335	75	M	0,025	0,225
336	47	Ž	0,025	0,027
337	54	Ž	0,025	0,057
338	57	M	0,025	0,096
339	80	Ž	0,025	0,043
340	78	M	0,025	0,162
341	64	M	0,026	0,134
342	66	Ž	0,026	0,098
343	43	Ž	0,027	0,016
344	81	M	0,027	0,144
345	53	Ž	0,027	0,066
346	96	Ž	0,028	0,101
347	74	Ž	0,029	0,016
348	79	Ž	0,029	0,207
349	87	Ž	0,029	0,133
350	87	M	0,029	0,206
351	76	M	0,030	0,147
352	70	Ž	0,030	0,011
353	76	M	0,030	0,042
354	83	Ž	0,030	0,043
355	90	Ž	0,030	0,182
356	67	Ž	0,031	0,150
357	19	M	0,031	0,008
358	71	M	0,032	0,102
359	82	Ž	0,032	0,012
360	75	Ž	0,032	0,120
361	73	M	0,033	0,022
362	45	Ž	0,034	0,148
363	79	Ž	0,034	0,176
364	87	M	0,034	0,162
365	65	M	0,035	0,153

**Primerjava dveh kemiluminiscenčnih metod
za določanje troponina I pri srčno-žilnih obolenjih**

Blaž Marčič
Laboratorijska biomedicina

366	80	Ž	0,035	0,081
367	68	Ž	0,035	0,009
368	69	Ž	0,035	0,184
369	75	Ž	0,035	0,018
370	70	M	0,035	0,258
371	78	M	0,036	0,240
372	73	M	0,037	0,029
373	82	Ž	0,038	0,163
374	90	Ž	0,038	0,240
375	73	M	0,038	0,024
376	77	Ž	0,039	0,013
377	60	M	0,040	0,470
378	65	M	0,041	0,353
379	77	Ž	0,041	0,212
380	67	Ž	0,041	0,231
381	75	Ž	0,041	0,313
382	89	Ž	0,042	0,075
383	65	Ž	0,042	0,227
384	64	Ž	0,042	0,151
385	56	Ž	0,043	0,318
386	76	Ž	0,043	0,211
387	88	Ž	0,043	0,152
388	67	M	0,045	0,180
389	88	M	0,046	0,182
390	86	Ž	0,046	0,293
391	92	Ž	0,046	0,199
392	49	Ž	0,046	0,336
393	76	Ž	0,046	0,200
394	53	M	0,047	0,246
395	79	Ž	0,048	0,035
396	56	M	0,048	0,150
397	73	M	0,049	0,007
398	49	Ž	0,050	0,016
399	76	Ž	0,050	0,185
400	76	Ž	0,051	0,259
401	84	Ž	0,052	0,276
402	74	M	0,052	0,383

**Primerjava dveh kemiluminiscenčnih metod
za določanje troponina I pri srčno-žilnih obolenjih**

Blaž Marčič
Laboratorijska biomedicina

403	80	Ž	0,052	1,358
404	79	M	0,052	0,293
405	75	Ž	0,053	0,239
406	75	Ž	0,054	0,601
407	73	M	0,054	0,275
408	89	Ž	0,055	0,307
409	77	Ž	0,056	0,084
410	71	Ž	0,056	0,455
411	78	M	0,056	0,317
412	76	Ž	0,057	0,264
413	75	Ž	0,057	0,258
414	84	Ž	0,058	0,373
415	84	Ž	0,058	0,315
416	81	Ž	0,063	0,335
417	66	Ž	0,063	0,434
418	71	M	0,066	0,259
419	79	Ž	0,066	0,389
420	79	Ž	0,068	0,506
421	86	M	0,069	0,325
422	75	Ž	0,072	0,345
423	71	M	0,073	0,390
424	74	Ž	0,076	0,555
425	65	Ž	0,079	0,483
426	47	M	0,083	0,339
427	83	Ž	0,086	0,401
428	75	Ž	0,087	0,582
429	96	Ž	0,088	0,451
430	88	Ž	0,089	0,433
431	82	Ž	0,091	0,664
432	81	Ž	0,092	0,380
433	86	Ž	0,098	1,122
434	56	M	0,099	0,540
435	75	Ž	0,100	0,600
436	69	Ž	0,101	1,405
437	84	Ž	0,102	0,649
438	97	Ž	0,102	0,596
439	70	M	0,103	0,459

**Primerjava dveh kemiluminiscenčnih metod
za določanje troponina I pri srčno-žilnih obolenjih**

Blaž Marčič
Laboratorijska biomedicina

440	76	M	0,112	1,190
441	86	Ž	0,113	0,558
442	75	Ž	0,115	0,578
443	62	M	0,124	0,007
444	65	M	0,134	1,334
445	67	Ž	0,140	0,548
446	88	Ž	0,146	1,054
447	66	Ž	0,149	0,919
448	65	Ž	0,155	0,848
449	73	Ž	0,159	0,581
450	56	Ž	0,163	1,227
451	78	Ž	0,163	0,734
452	73	M	0,168	0,759
453	80	Ž	0,171	6,961
454	85	Ž	0,178	1,324
455	62	Ž	0,182	0,966
456	67	M	0,185	1,221
457	84	M	0,192	0,862
458	67	M	0,198	1,578
459	90	Ž	0,203	1,067
460	81	Ž	0,205	1,721
461	88	Ž	0,208	1,625
462	69	Ž	0,214	1,693
463	84	Ž	0,218	2,353
464	75	Ž	0,234	2,574
465	71	Ž	0,234	1,207
466	86	Ž	0,243	1,022
467	69	Ž	0,245	2,080
468	47	M	0,257	1,602
469	75	Ž	0,259	1,552
470	69	Ž	0,269	3,178
471	86	Ž	0,270	1,524
472	77	M	0,275	3,534
473	86	M	0,292	2,306
474	73	M	0,314	2,557
475	48	Ž	0,330	1,908
476	88	M	0,390	1,660

**Primerjava dveh kemiluminiscenčnih metod
za določanje troponina I pri srčno-žilnih obolenjih**

Blaž Marčič
Laboratorijska biomedicina

477	87	Ž	0,424	5,066
478	84	Ž	0,444	3,012
479	75	Ž	0,495	3,089
480	67	Ž	0,500	3,729
481	76	M	0,629	3,268
482	88	Ž	0,682	4,956
483	65	Ž	0,699	3,773
484	83	Ž	0,725	4,382
485	69	M	0,754	5,401
486	72	Ž	0,840	3,684
487	58	M	0,922	5,119
488	72	Ž	1,030	5,694
489	75	Ž	1,130	8,432
490	61	Ž	1,140	5,281
491	79	Ž	1,180	6,215
492	77	Ž	1,380	10,192
493	62	M	1,500	12,864
494	82	Ž	1,570	10,811
495	55	Ž	1,640	9,141
496	84	Ž	1,660	10,621
497	77	Ž	1,740	11,798
498	57	Ž	1,800	10,708
499	84	Ž	1,870	9,870
500	30	M	2,090	11,441
501	80	M	2,220	30,209
502	76	M	2,450	28,963
503	84	Ž	2,800	12,999
504	86	Ž	5,580	35,623
505	46	Ž	21,400	61,591
506	49	M	30,100	78,004