

UNIVERZA V LJUBLJANI  
FAKULTETA ZA FARMACIJO

VLADKA ZAGORŠEK (ZRNA)

**KLINIČNI POMEN DOLOČANJA KONCENTRACIJE PROSTE MAŠČOBNE  
KISLINE VEZOČEGA PROTEINA KOT ZGODNJEGA OZNAČEVALCA  
SRČNEGA INFARKTA**

DIPLOMSKA NALOGA  
UNIVERZITETNI ŠTUDIJ FARMACIJE

Ljubljana, 2013

Univerza v *Ljubljani*  
Fakulteta *za farmacijo*



VLADKA ZAGORŠEK (ZRNA)

**KLINIČNI POMEN DOLOČANJA KONCENTRACIJE PROSTE MAŠČOBNE  
KISLINE VEZOČEGA PROTEINA KOT ZGODNJEGA OZNAČEVALCA  
SRČNEGA INFARKTA**

**THE CLINICAL SIGNIFICANCE OF DETERMINING THE CONCENTRATION  
OF FREE FATTY ACID BINDING PROTEIN AS AN EARLY MARKER OF  
ACUTE MYOCARDIAL INFARCTION**

DIPLOMSKA NALOGA

UNIVERZITETNI ŠTUDIJ FARMACIJE

Ljubljana, 2013

Diplomsko nalogo sem opravljala na Inštitutu za klinično kemijo in biokemijo Univerzitetnega kliničnega centra Ljubljana pod mentorstvom prof. dr. Joška Osredkarja, mag. farm., spec. med. biok.

### ***Zahvala***

Za pomoč in usmeritev pri pisanju diplomske naloge se zahvaljujem mentorju prof. dr. Jošku Osredkarju, mag. farm., spec. med. biok.

Hvala vama draga starša, ker sta mi omogočila študij in vso podporo ter razumevanje tekom študija.

Hvala tudi tebi Tomaž za tvojo potrpežljivost, spodbudo in pripravljenost se prilagajati mojim študijskim obveznostim.

Najlepša hvala vsem, ki ste mi pomagali priti do cilja.

### ***Izjava***

Izjavljam, da sem diplomsko nalogo samostojno izdelala pod mentorstvom prof. dr. Joška Osredkarja, mag. farm., spec. med. biok.

Vladka Zagoršek

Ljubljana, september 2013

Predsednik diplomske komisije:izr. prof. dr. Iztok Grabnar, mag. farm.

Član diplomske komisije: doc. dr. Jožko Cesar, mag. farm.

---

**VSEBINA (KAZALO)**

I.	UVOD.....	1
1	SRČNO-ŽILNE BOLEZNI.....	1
1.1	VZROKI IN DEJAVNIKI TVEGANJA ZA SRČNO-ŽILNE BOLEZNI.....	2
1.2.	ZNAKI SRČNO-ŽILNIH BOLEZNI.....	2
2	ATEROSKLEROZA.....	3
2.1	KONCEPT ATEROGENEZE.....	4
3	ISHEMIČNA BOLEZEN SRCA IN AKUTNI KORONARNI SINDROM.....	6
4	DIAGNOSTIKA AKUTNEGA SRČNEGA INFARKTA.....	8
4.1	BIOKEMIČNI KAZALCI PRI DIAGNOSTIKI AMI.....	9
4.1.1	MIOGLOBIN.....	10
4.1.2	TROPONIN.....	10
4.1.3	PROSTE MAŠČOBNE KISLINE VEZOČI PROTEIN (H-FABP FREE FATTY ACID BINDING PROTEIN).....	12
II.	NAMEN DELA.....	17
III.	MATERIALI IN METODE.....	18
5	SRČNI TROPONIN I.....	18
5.1	PRINCIP METODE.....	18
5.2	POSTOPEK TESTA.....	20
5.3	REAGENTI, KALIBRATORJI, KONTROLE.....	20
5.4	KALIBRACIJA.....	20
5.5	PODAJANJE REZULTATOV.....	21
5.6	ZAGOTAVLJANJE KAKOVOSTI.....	21
6	H-FABP.....	21
6.1	PRINCIP METODE.....	21

---

6.2	OCENA METODE	22
6.3	IZVEDBA TESTA NA ANALIZATORJU OLYMPUS AU400	22
7	STATISTIČNE METODE	23
IV.	REZULTATI	25
8	OPIS SKUPINE PACIENTOV	25
9	STATISTIČNA ANALIZA PODATKOV	29
9.1	Test normalne porazdeljenosti koncentracije H-FABP in troponina I v skupini z AMI	29
9.2	Test normalne porazdeljenosti koncentracije H-FABP in troponina I v skupini brez AMI	31
9.3	Statistično značilne razlike v vrednosti H-FABP med skupino z AMI in skupino brez AMI	32
9.4	Statistično značilne razlike v vrednosti troponina I med skupino z AMI in skupino brez AMI	33
9.5	Korelacija med H-FABP in troponinom I na podlagi skupine z AMI	34
10	DIAGNOSTIČNA OBČUTLJIVOST IN SPECIFIČNOST	38
V.	RAZPRAVA	42
VI.	SKLEP	46
VII.	LITERATURA	47
VIII.	PRILOGE	52

---

**SEZNAM PREGLEDNIC**

<b>Preglednica I:</b> Tradicionalni dejavniki tveganja (4).....	2
<b>Preglednica II:</b> Dejavniki tveganja za aterosklerozo .....	4
<b>Preglednica III:</b> Dejavniki poškodbe žilnega endotelija (10).....	4
<b>Preglednica IV:</b> Lastnosti idealnega srčnega biokemičnega označevalca (2) .....	9
<b>Preglednica V:</b> Primerjava H-FABP z drugimi biomarkerji. Prirejeno po (41).....	14
<b>Preglednica VI:</b> Shematski prikaz diagnostične občutljivosti .....	38
<b>Preglednica VII:</b> Shematski prikaz diagnostične specifičnosti .....	39
<b>Preglednica VIII:</b> Občutljivost in specifičnost testa troponin I pri diagnostiki AMI.....	39
<b>Preglednica IX:</b> Občutljivost in specifičnost testa H-FABP pri diagnostiki AMI.....	40
<b>Preglednica X:</b> Občutljivost in specifičnost testa kombinacija troponin I in H-FABP pri diagnostiki AMI.....	40
<b>Preglednica XI:</b> Število bolnikov z AMI glede na različne vrednosti troponina I in H-FABP .....	41

---

**SEZNAM SLIK**

<b>Slika 1:</b> Pet najpogostejših vzrokov smrti po spolu umrlih, Slovenija, 2008 (vir: IVZ RS, SURS).....	1
<b>Slika 2:</b> Stopnje nastanka aterosklerotične lehe vse od puhličastih celic do komplicirane lezije (5).....	3
<b>Slika 3:</b> Nestabilen aterosklerotičen koronarni plak in nastanek kritične ali popolne trombotične zapore koronarne arterije (5).....	7
<b>Slika 4:</b> Delitev akutnega koronarnega sindroma na podlagi 12-kanalnega elektrokardiograma (5).....	7
<b>Slika 5:</b> Spremembe EKG pri različnih oblikah akutnega koronarnega sindroma (Prirejeno po 2).....	8
<b>Slika 6:</b> Troponinski kompleks in njegova naloga pri kontrakciji mišic .....	11
<b>Slika 7:</b> Funkcija H-FABP (38) .....	12
<b>Slika 8:</b> Kinetika sproščanja H-FABP v primerjavi z ostalimi biokemičnimi označevalci (41) .....	13
<b>Slika 9:</b> Občutljivost za diagnozo AMI za H-FABP, TnT ali kombinacijo obeh biomarkerjev (42).....	15
<b>Slika 10:</b> Troponin in H-FABP:optimalna strategija biomarkerjev za zgodnjo diagnozo AMI (43).....	15
<b>Slika 11:</b> H-FABP pri reinfarktu (41).....	16
<b>Slika 12:</b> Opis analizatorja Advia Centaur XP (45).....	18
<b>Slika 13:</b> Kemiluminiscenčna detekcija troponina I pri metodi ADVIA Centaur TnI-Ultra (46) .....	19

**SEZNAM DIAGRAMOV**

<b>Diagram 1:</b> Grafična ponazoritev spolne strukture bolnikov glede na pripadnost skupinama.....	27
<b>Diagram 2:</b> Histogram normalne porazdelitve spremenljivke H-FABP na podlagi podatkov skupine z AMI .....	35
<b>Diagram 3:</b> Histogram normalne porazdelitve spremenljivke troponin I na podlagi podatkov skupine z AMI .....	36
<b>Diagram 4:</b> Grafična ponazoritev povezanosti troponina I in H-FABP na podlagi podatkov skupine z AMI .....	37



---

**SEZNAM TABEL**

<b>Tabela 1:</b> Kontingenčna tabela bolnikov po spolu glede na pripadnost skupinama.....	26
<b>Tabela 2:</b> Opisne statistike starostne strukture bolnikov glede na pripadnost skupinama .	27
<b>Tabela 3:</b> Deskriptivne statistike pri spremenljivki H-FABP in troponin I (skupina z AMI) .....	29
<b>Tabela 4:</b> Test normalne porazdeljenosti spremenljivk H-FABP in troponin I (skupina z AMI) .....	30
<b>Tabela 5:</b> Deskriptivne statistike pri spremenljivki H-FABP in troponin I (skupina brez AMI .....	31
<b>Tabela 6:</b> Test normalne porazdeljenosti koncentracij H-FABP in troponin I na podlagi podatkov skupine brez AMI .....	31
<b>Tabela 7:</b> Opisne statistike pri H-FABP glede na skupino z AMI in skupino brez AMI...	32
<b>Tabela 8:</b> Rangi pri spremenljivki H- FABP glede na skupino z AMI in skupino brez AMI .....	32
<b>Tabela 9:</b> Testne statistike pri spremenljivki H- FABP glede na skupino z AMI in skupino brez AMI .....	33
<b>Tabela 10:</b> Opisne statistike pri troponinu I glede na skupino z AMI in skupino brez AMI .....	33
<b>Tabela 11:</b> Rangi pri spremenljivki troponin glede na skupino z AMI in skupino brez AMI .....	34
<b>Tabela 12:</b> Testne statistike pri spremenljivki troponin I glede na skupino z AMI in skupino brez AMI.....	34
<b>Tabela 13:</b> Korelacije - skupina z AMI .....	36

---

**SEZNAM OKRAJŠAV**

AKS	Akutni koronarni sindrom
AMI	Akutni srčni infarkt
ATP	Adenozin tri-fosfat
CK	Kreatin kinaza
CK-MB	Kreatin kinaza srčni izoencim
CRP	C-reaktivni protein
cTnI	Srčna izoforma troponina I
EKG	Elektrokardiogram
ESC/ACC	Joint European Society of Cardiology and American College of Cardiology
H-FABP	Proste maščobne kisline vezoči protein (Heart-type fatty acid binding protein)
ICAM-1	Znotrajcelične adhezijske molekule 1 (Intercellular Adhesion Molecule 1)
IVZ RS	Inštitut za varovanje zdravja Republike Slovenije
KOPB	Kronična obstruktivna pljučna bolezen
LDL	Lipoprotein nizke gostote (Low-density lipoprotein)
M-CSF	Makrofagno kolonijo-stimulirajoči dejavnik
MCP-1	Monocitni kemoatraktantni protein 1 (Monocyte chemoattractant protein 1)
NAP	Nestabilna angina pectoris
NO	Dušikov oksid
Non-Q MI	Srčni infarkt brez zobcev Q
NSTEMI	Srčni infarkt brez dviga spojnice ST
PCI	Perkutana koronarna intervencija
Q-AMI	Akutni srčni infarkt z zobci Q
STEMI	Srčni infarkt z dvigom spojnice ST
SURS	Statistični urad Republike Slovenije
SŽB	Srčno-žilne bolezni
VCAM-1	Žilnocelične adhezijske molekule 1 (Vascular cell adhesion molecule 1)
WHO	Svetovna zdravstvena organizacija (World Health Organization)

**POVZETEK**

Akutni srčni infarkt (AMI) je v svetu vodilni vzrok obolevnosti in smrtnosti ter velja za bolezen z visoko stopnjo napačne diagnoze. Zato je zgodnja in hitra diagnoza AMI izredno pomembna. Diagnoza AMI temelji na kliničnih znakih, spremembah EKG in biomarkerjih. Troponin I velja za visoko srčno specifični biomarker z najvišjo občutljivostjo in specifičnostjo ter predstavlja, kot kazalec srčnomišične nekroze, zlati standard pri diagnostiki AMI. Glavna pomanjkljivost troponina I je njegova razmeroma nizka občutljivost v zgodnjem obdobju srčnega infarkta. Proste maščobne kisline vezoči protein (H-FABP) se je izkazal kot uporabni zgodnji označevalec AMI in označevalec ponovnega infarkta. V Kliničnem centru Ljubljana so spremljali bolnike pri katerih so merili koncentraciji troponina I in H-FABP. Bolnikom je bila določena na podlagi EKG, anamneze in kliničnih znakov končna diagnoza. Glede na končno diagnozo smo bolnike razdelili v skupino z AMI (bolniki z končno diagnozo AMI) in skupino ostalih bolnikov (bolniki z ostalimi končnimi diagnozami). V nadaljevanju smo ugotovili, da med skupino bolnikov z AMI in skupino bolnikov z ostalimi končnimi diagnozami obstaja statistično značilna razlika v vrednostih koncentracije troponina I in H-FABP ter da so vrednosti koncentracij troponina I in H-FABP pri bolnikih z AMI višje. S pomočjo Spearmanovega koeficienta korelacije smo preverili ali ob povišanju troponina I pride tudi do povišanja H-FABP pri bolnikih z AMI, vendar na podlagi naših rezultatov nismo uspeli dokazati statistično značilne povezanosti. Računali smo tudi občutljivost in specifičnost testa H-FABP pri diagnostiki AMI ter ju primerjali z občutljivostjo in specifičnostjo testa troponin I. Občutljivost (75%) in specifičnost (68,6%) testa H-FABP je nižja kot občutljivost (87,5%) in specifičnost (88,6%) testa troponin I. Na podlagi naših rezultatov ne moremo trditi, da test za H-FABP ustreza za dovolj varno zgodnjo diagnozo AMI ter diagnozo ponovnega infarkta, se je pa izkazal kot uporaben označevalec v kombinaciji s troponinom I. Občutljivost testa za troponin I merjen v kombinaciji s H-FABP se poveša, medtem ko se specifičnost testa za troponin I merjen v kombinaciji z H-FABP zniža.

**ABSTRACT**

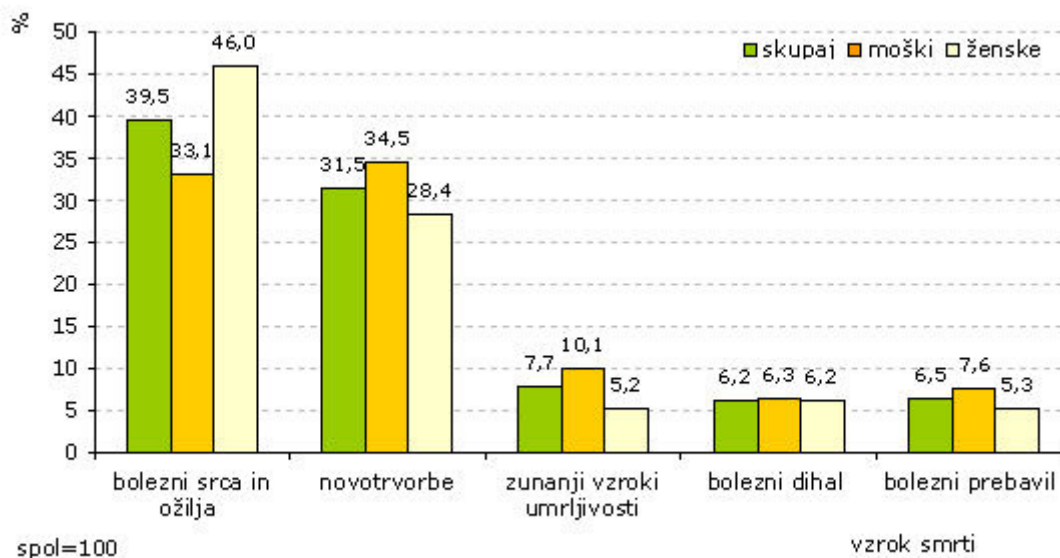
Acute myocardial infarction (AMI) is a leading cause of morbidity and mortality worldwide. AMI is also a disease with a high rate of misdiagnosis. Therefore, the early and quick diagnosis of AMI is extremely important. AMI diagnosis is based on clinical signs, ECG changes and biochemical markers. Troponin I is a high cardiac-specific biomarker with the highest sensitivity and specificity, and as an indicator of myocardial necrosis, represents the gold standard in the diagnosis of AMI. The main disadvantage of troponin I is its relatively low sensitivity in the first hours after the AMI. Heart fatty acid binding protein (H-FABP) has been proved to be useful as an early marker of AMI and as a biomarker for reinfarction in the days following an initial AMI. In this thesis were following patients and measuring their blood troponin I and H-FABP. Patients final diagnosis was determined on the basis of ECG, medical history and clinical signs. Depending on the final diagnosis the patients were divided into group AMI (patients with a final diagnosis of AMI) and group without AMI (patients with other final diagnoses). We found a statistically significant difference in the levels of troponin I and H-FABP between group with AMI and group with other final diagnosis, and that the values of troponin I and H-FABP in patients with AMI are higher. Using Spearman's correlation coefficient we checked that with the increase of troponin I there is also an increase of H-FABP in patients with AMI, but on the basis of our results we were unable to demonstrate a statistically significant relationship.

We also counted the sensitivity and specificity of the test H-FABP in diagnosing AMI and compared it to the sensitivity and specificity of the test troponin I. The sensitivity (75%) and specificity (68.6%) of H-FABP assay is lower than the sensitivity (87.5%) and specificity (88.6%) of the test troponin I. Based on our results can not be claimed that the test for H-FABP corresponds to enough safe and early diagnosis of AMI and diagnosis of reinfarction, but has been proven to be a useful marker in combination with troponin I. Sensitivity of the test for troponin I measured in combination with H-FABP is increased, while the specificity of the test for troponin I measured in combination with H-FABP is reduced.

# I. UVOD

## 1 SRČNO-ŽILNE BOLEZNI

Po definicijo WHO so bolezni srca in ožilja ime za skupino motenj srca in ožilja, ki vključuje visok krvni tlak, koronarno srčno bolezen, cerebrovaskularno bolezen, srčno popuščanje, kardiomiopatije, bolezni perifernega ožilja, revmatične in prirojene bolezni srca. Po podatkih WHO letno umre največ ljudi zaradi SŽB in so številka ena smrti po vsem svetu. V letu 2008 je 17,3 milijona ljudi umrlo zaradi SŽB. Ocenjujejo, da jih je 7,3 milijona umrlo zaradi bolezni srca in žilja in 6,2 milijona zaradi možganske kapi. Do leta 2030 lahko pričakujemo 23,6 milijona smrti ljudi, predvsem zaradi bolezni srca in možganske kapi (1). Napete socialne in ekonomske spremembe, pogoji in način življenja sodobnega človeka pospešujejo SŽB, ki jih imenujemo tudi bolezni civilizacije. Najpogostejši vzrok smrti v Sloveniji (**Slika 1**) so bolezni srca in ožilja, zato ima preventiva teh bolezni vedno večji socialno-medicinski pomen (2,3).



**Slika 1:** Pet najpogostejših vzrokov smrti po spolu umrlih, Slovenija, 2008 (vir: IVZ RS, SURS)

Med SŽB smo danes vse bolj soočeni z epidemično rastjo treh vodilnih bolezni, kot so povečan arterijski krvni tlak, ateroskleroza in koronarna srčna bolezen kot »ubijalec številka ena« (2).

## 1.1 VZROKI IN DEJAVNIKI TVEGANJA ZA SRČNO-ŽILNE BOLEZNI

Poznamo dve vrsti dejavnikov tveganja, ki vplivata na pojav srčno-žilnih obolenj. Tradicionalni dejavniki tveganja so navedeni v **Preglednici I**. Poročilo objavljeno v Journal American Coll Cardiol kaže, da približno 50% bolnikov s koronarno arterijsko boleznijo nima nobenega tradicionalnega dejavnika tveganja. Z namenom zgodnejšega odkrivanja srčno-žilnih obolenj se je v zadnjem času oblikovala vrsta novejših dejavnikov tveganja kot so fibrinogen, fibrinolitična aktivnost, lipoprotein a, homocistein, sindrom X, nizka raven C- reaktivnega proteina (4).

**Preglednica I:** Tradicionalni dejavniki tveganja (4)

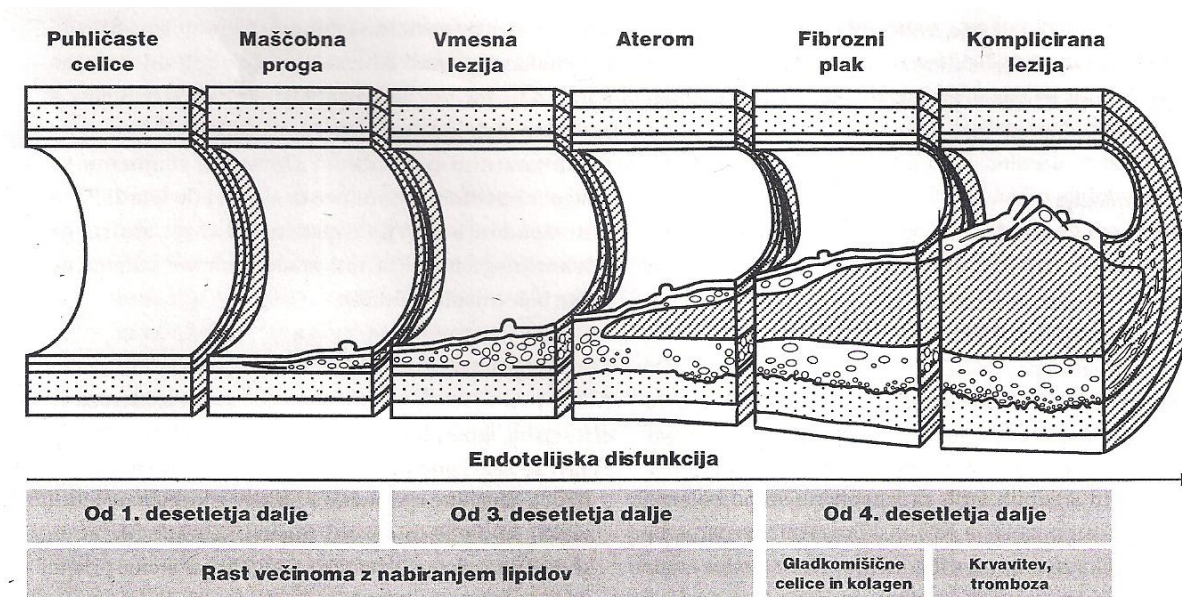
Spol	Debelost
Starost	Premalo gibanja
Rasa	Sladkorna bolezen
Genske motnje	Stres
Kajenje	Pitje alkohola
Povišan krvni pritisk	Hipotireoidizem
Povišana raven maščob (holesterol LDL)	Zvečane koncentracije železa
	Oralna kontracepcijska sredstva

## 1.2. ZNAKI SRČNO-ŽILNIH BOLEZNI

Med najbolj značilne znake SŽB štejemo prsno bolečino, dispnejo (težka sapa), palpitacije, omotico in sinkopo, šepanje v presledkih, edeme, kašelj, poliurijo, nikturijo, cianozo, utrujenost in zmanjšano telesno zmogljivost (2). Pri postavitvi diagnoze in opredelitvi srčne bolezni pri večini bolnikov zadostuje že anamneza, EKG, telesni pregled, rentgenogram prsnih organov in ultrazvočna preiskava srca. Dodatne preiskave, kot so biokemične, histološke, radioizotopne in različne rentgenološke preiskave, je potrebno opraviti pri manjšem številu bolnikov s srčno-žilnimi boleznimi (5).

## 2 ATEROSKLEROZA

Aterogeneza je proces, ki vodi do nastanka aterosklerotičnih lezij in se prične že zelo zgodaj (otročvo, mladost) (Slika 2), klinično postane zaznaven v kasnejših življenjskih obdobjih (6,7).



**Slika 2:** Stopnje nastanka aterosklerotične lehe vse od puhličastih celic do komplicirane lezije (5)

Pojav aterosklerotičnih lezij je značilen za velike in srednje velike elastične in mišične arterije, kjer prihaja do večjih hemodinamskih obremenitev. Pri tem pride do povečanega izločanja adhezijskih molekul in aktivacije vnetnih procesov endotelni celic, kar deluje proaterogeno. Zgodnje aterosklerotične lezije se pojavijo predvsem na žilnih razcepiščih (8,9). Dejavniki tveganja za aterosklerozo so navedeni v **Preglednici II**.

**Preglednica II: Dejavniki tveganja za aterosklerozo**

<i>DEJAVNIKI TVEGANJA POGOJENI Z DEDNOSTJO ALI BIOLOŠKIMI VPLIVI</i>	<i>DEJAVNIKI TVEGANJA, KI SO POSLEDICA NAČINA ŽIVLJENJA IN DRUŽBENIH VPLIVOV</i>	<i>DEJAVNIKI TVEGANJA, KI IZHAJAJO IZ BOLEZENSKIH STANJ</i>
SPOL	KAJENJE	DISLIPIDEMIJA
STAROST	NEZDRAVO PREHRANJEVANJE	ZVIŠAN KRVNI TLAK
DRUŽINSKA PODVRŽENOST	POVEČAN INDEKS TELESNE MASE	SLADKORNA BOLEZEN
	TELESNA NEAKTIVNOST	OKUŽBA

**2.1 KONCEPT ATEROGENEZE**

Poškodba žilnega endotelija pomeni pričetek aterosklerotičnega procesa, kar vodi do povečane prepustnosti in kopičenja različnih sestavin krvi v intimi. Dejavniki, ki lahko poškodujejo žilni endotelij so navedeni v **Preglednici III** (10).

**Preglednica III: Dejavniki poškodbe žilnega endotelija (10)**

<i>FIZIKALNI DEJAVNIKI</i>	<i>KEMIČNI DEJAVNIKI</i>	<i>PRESNOVNI DEJAVNIKI</i>	<i>BIOLOŠKI DEJAVNIKI</i>
POVIŠAN KRVNI TLAK	OGLJIKOV MONOKSID	HOLESTEROL	BAKTERIJE
TURBOLENTNI TOK KRVI	NIKOTIN	HOMOCISTIN	VIRUSI
			KOMPLEKSI ANTIGEN- PROTITELO

V primeru zvišanja koncentracije določenih snovi v krvi, te v večjem obsegu prehajajo skozi endotelijske celice in se kopičijo v subendotelijski plasti ter v samih endotelijskih celicah. Endotelne celice namreč vzdržujejo ravnotežje med vazodilatacijo (izločanje NO, prostaciklina, bradikinina) in vazokonstrikcijo (izločanje endotelina, angiotenzina II), inhibicijo in stimulacijo proliferacije gladkomišičnih celic ter trombozo in fibrinolizo (11). V procesu aterogeneze je izločanje navedenih snovi zmanjšano (12). Na nastanek in razvoj aterosklerotičnih lezij pomembno vpliva tudi vnetje, saj obstaja povezava med stopnjo



razvoja ateroskleroze in prisotnostjo limfocitov v žilni steni. Na vnetno dogajanje v aterosklerotični lehi kaže tudi prisotnost granulacijskih središč, ki običajno obdajajo lipidne vložke (13).

### **Koncept aterogeneze**

Zaradi endotelijske disfunkcije pride do zmanjšane sinteze NO, kar povzroči vstopanje delcev LDL iz krvi v intimo med stiki endotelijskih celic. V intimi poteče oksidativna modifikacija delcev LDL, kar povzroči sproščanje posrednikov, ki spodbudijo izražanje adhezijskih molekul VCAM-1 in ICAM-1 na površini endotelnih celic. Preko adhezijskih molekul se monociti in limfociti pritrdijo na endotelijske celice in zaradi kemokinov, ki se sprostijo pod vplivom oksidativnega stresa in vnetnih posrednikov iz endotelijskih celic, vstopajo v intimo (14,15,16).

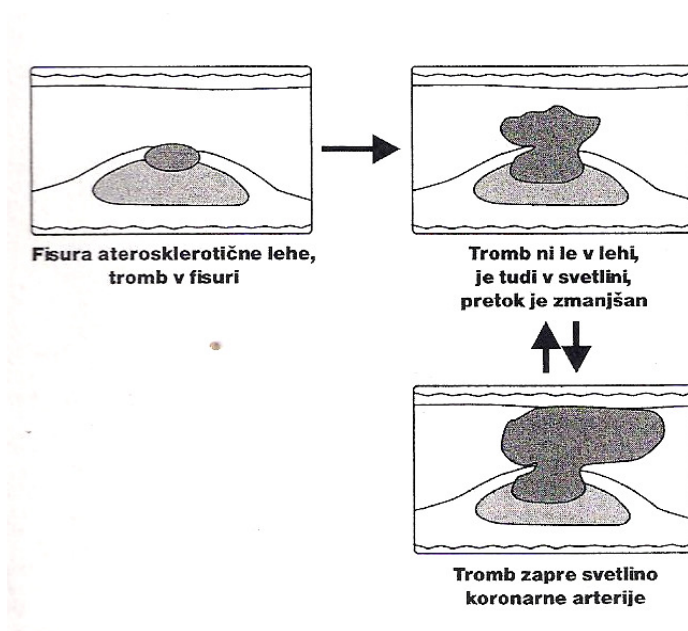
Makrofagno kolonijo-stimulirajoči dejavnik (M-CSF) je citokin oz. rastni dejavnik, ki nastane v vnetno spremenjeni intimi in spodbudi monocite v intimi k diferenciaciji v makrofage. Makrofagi preko posebnih receptorskih sistemov pospešeno sprejemajo oksidirane delce LDL. Holesterol, ki je eden od stranskih produktov razgradnje oksidiranih delcev LDL, se kopiči v citosolu makrofagov v obliki kapljic, makrofagi se spremenijo v t.i. penaste celice. Aktivirani makrofag izloča velike količine vnetnih citokinov, proteaz in citotoksičnih kisikovih in dušikovih radikalov (9). Penaste celice kasneje v procesu aterogeneze odmrejo in se kopičijo v intimi, kar vodi do nastanka maščobne lehe. Zaradi odziva na rastne dejavnike in citokine, ki se izločajo iz makrofagov, gladkomišične celice iz medije prehajajo v intimo, kjer izločajo proteine zunajceličnega matriksa kolagen in elastin. Maščobna leha se tako preoblikuje v aterosklerotično leho (plak, aterom), ki se veča in preoblikuje s procesom fibroze v fibrozne plake v katere se odlaga tudi kalcij (15). Ločimo stabilne in nestabilne aterosklerotične lehe. Nestabilne aterosklerotične lehe so zlasti nevarne za akutne zaplete, saj aktivirani limfociti izločajo proteolitične encime, ki razgradijo vezivno ogrodje lehe in povzročijo njihovo neodpornost na hemodinamski stres (17). Klinično se lahko ateroskleroza kaže kronično ali z akutnimi kliničnimi dogodki. Za kronične klinične manifestacije so značilni stabilni sindromi kot so angina pectoris, ki se izrazi, ko aterosklerotična leha preseže kapaciteto kompenzatornega preoblikovanja arterijske stene. Možno je tudi, da se popolna zapora arterije ne izrazi, kar si razlagamo s

kolateralnim obtokom. Posledica nenadne zapore arterije je miokardni infarkt zaradi tromboze na mestu nestabilnih aterosklerotičnih leh (14,17).

### **3 ISHEMIČNA BOLEZEN SRCA IN AKUTNI KORONARNI SINDROM**

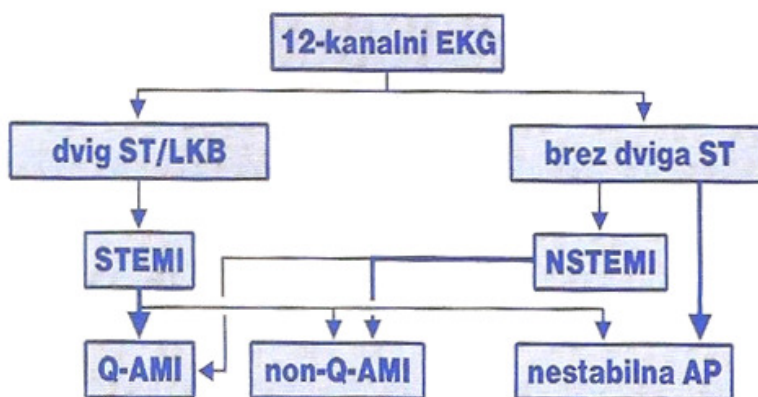
Izraba kisika iz krvi je v srčni mišici je velika (70%), in v glavnem nespremenljiva, zato je ponudba kisika v srčni mišici odvisna od koronarnega pretoka. Pri zdravih se koronarni pretok lahko poveča petkrat na račun velike koronarne rezerve normalnega srca. Pri koronarni aterosklerozi je koronarna rezerva zmanjšana, zaradi hemodinamično pomembne zožitve žilnega premera za več kot 50%. V tem primeru pretok zadošča med mirovanjem, pri obremenitvah pa zaradi nezadostnega pretoka pride do ishemije določenega dela srčne mišice. Koronarna rezerva se izčrpa, ko zožitev preseže 90%, posledica je ishemija že med mirovanjem.

Ishemična srčna bolezen je bolezen z epizodami miokardne ishemije in se kaže v treh pojavnih oblikah: kronična stabilna angina pectoris, akutni koronarni sindrom in posebna oblika ishemične srčne bolezni. Ishemična srčna bolezen se kaže z značilnimi simptomi kot je stenokardija, neznačilnimi simptomi ali pa je klinično nema (5). V večini primerov je AKS posledica nestabilnega aterosklerotičnega plaka in tromboze arterije kot prikazuje **Slika 3** (18,19,20).

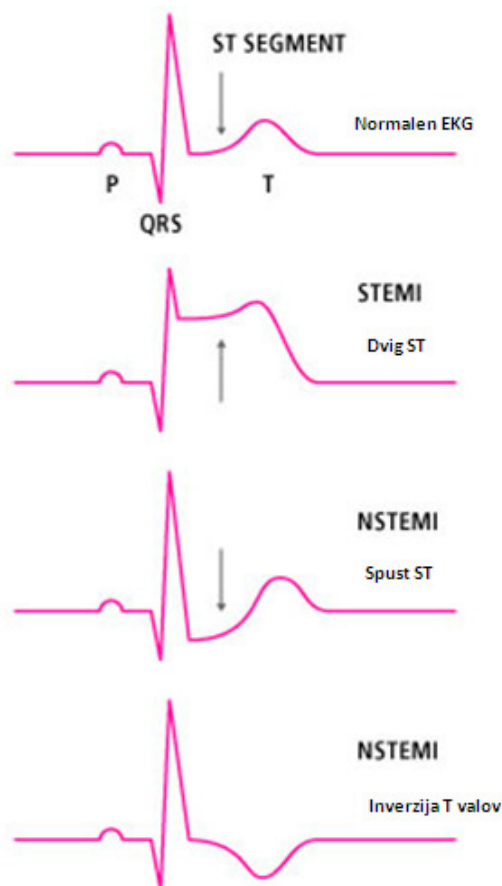


**Slika 3:** Nestabilen aterosklerotičen koronarni plak in nastanek kritične ali popolne trombotične zapore koronarne arterije (5)

Glede na čas trajanja ishemije ločimo različne oblike AKS. Ko ishemija traja dalj časa (30, 60 min in več), pride do nekroze in govorimo o akutnem miokardnem infarktu, če pa do nekroze ne pride, pa govorimo o nestabilni angini pectoris. Med AKS štejemo tudi nenadno ishemično srčno smrt, ki se kaže kot nenaden zastoj srca (2,21,22). Ishemija povzroči tudi značilne spremembe v EKG, zato na podlagi 12-kanalnega EKG razdelimo bolnike z AKS kot kaže **Slika 4**. Značilne spremembe v EKG za različne oblike AKS kaže **Slika 5**.



**Slika 4:** Delitev akutnega koronarnega sindroma na podlagi 12-kanalnega elektrokardiograma (5)



**Slika 5:** Spremembe EKG pri različnih oblikah akutnega koronarnega sindroma  
(Prirejeno po 2)

#### 4 DIAGNOSTIKA AKUTNEGA SRČNEGA INFARKTA

Prepričljivi rezultati zgodnje ponovne prekrvitve bodisi z zdravili, ki preprečujejo strjevanje krvi ali z operativnim posegom na venčnih žilah (primarna angioplastika, PCI) potrjujejo pomembnost hitrega diagnosticiranja AMI (2). Zgodnja in hitra diagnostika AMI je izrednega pomena tudi zaradi prihranka časa in denarja za zdravljenje pacientov (23). Definicija in diagnoza AMI je temeljila na kriterijih WHO, pri katerih je moral pacient izpolnjevati vsaj dva od treh kriterijev:

- Značilna srčna bolečina
- Spremembe EKG
- Povišanje srčnih markerjev v vzrocu krvi (še posebej CK oz njegovega izoencima CK-MB) (24).

Čeprav je EKG pomembno orodje za vodenje zdravljenja, je slab diagnostični test za AMI, saj približno polovica AMI bolnikov izkazuje normalen ali neznačilen EKG (25,26,27). Četrtnina bolnikov z AMI pa ima netipično bolečino (2). Kasneje je delovna skupina (task force ESC/ACC) predlagala troponin, kot srčni marker pri diagnosticiranju srčno-žilnih bolezni. Delovna skupina ESC/ACC je AMI opredelila kot povišanje troponina nad 99 percentil koncentracije troponina zdrave referenčne populacije. Po smernicah ESC/ACC je za opredelitev diagnoze AMI potreben porast označevalcev srčne nekroze in vsaj še eden od kriterijev: simptomi ishemije, spremembe v EKG, ki kažejo na ishemijo, pojavljanje zobca Q in dokazan nov srčnomišični izpad (28).

#### 4.1 BIOKEMIČNI KAZALCI PRI DIAGNOSTIKI AMI

Biokemični kazalci igrajo ključno vlogo v izboljšanju diagnostične točnosti bolezni kot tudi pri stratificiranju tveganja in prognozi. Srčni biokemični kazalci so definirani kot biološki analiti, ki se sprostijo v kri v zaznavnih količinah tekom poteka srčno-žilnih bolezni ali takoj po srčni poškodbi (27). Odtegnitev kisika zaradi dolgotrajnejše ishemije vodi do kaskade v metabolizmu srčnega tkiva, ki se začne z anaerobno glikolizo, inhibicijo od ATP-odvisnega transporta v celični membrani, premikom elektrolitov, celičnim edemom in konča z izgubo integritete celične membrane. Zaradi povišane glikolize koncentracija laktata zniža znotrajcelični pH, kar vodi do sproščanja in aktivacije lizosomalnih proteolitičnih encimov. Ti encimi povzročijo razpad znotrajceličnih struktur in strukturno vezanih proteinov. Sprostitev in pojav biomolekul v krvi je rezultat teh metaboličnih sprememb zaradi ishemije (29). Poznamo več srčnih biokemičnih označevalcev z različnimi lastnostmi, ki so opisani v nadaljevanju. Lastnosti idealnega srčnega biokemičnega označevalca so navedene v **Preglednici IV**.

##### **Preglednica IV:** Lastnosti idealnega srčnega biokemičnega označevalca (2)

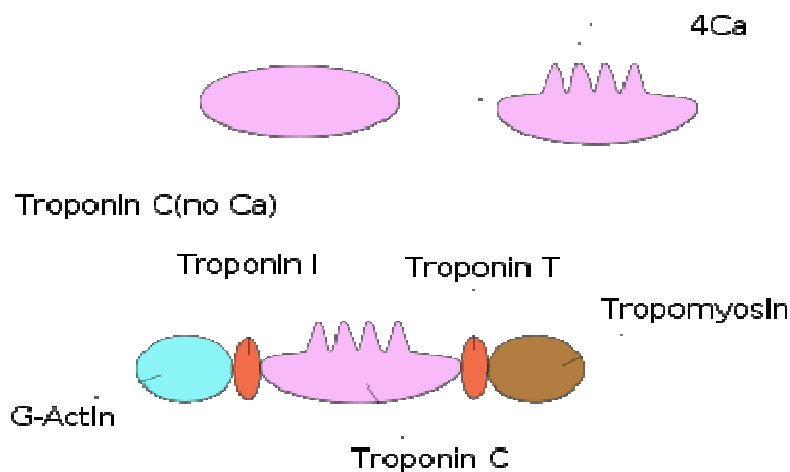
Visoka specifičnost glede na njegov vir v srčni mišici.	Pri zdravih v krvi ni dokazljiv ali dokazljiv v zelo nizkih koncentracijah.
Raven v serumu je sorazmerna stopnji okvare miokarda.	Hitra odstranitev iz seruma z retikuloendotelijskim sistemom skozi ledvica ali jetra- možnost ugotavljanja ponovnih infarktov.
Hitra, popolnoma avtomatizirana metoda določanja brez navzkrižnih reakcij.	

#### 4.1.1 MIOGLOBIN

Mioglobin je hemski protein, ki se nahaja v srčnih in skeletnih mišičnih celicah. Njegova relativno nizka molekulska masa in citoplazemska lokacija mu omogočata hitro sprostitve v cirkulacijo (31). V krvi se pojavi hitro po začetku simptomov (v 1h), povišane vrednosti v krvi zaznamo v 2-3h po nastopu simptomov. Vrednosti dosežejo vrh v 6-12h po začetku simptomov in se normalizirajo v naslednjih 24h. V času 4 do 8 h po začetku simptomov izboljša njegovo pozitivno napovedno vrednost troponin I, kar pa ni možno v zgodnjih urah po začetku simptomov (2). Aminokislinsko zaporedje v srčni in skeletni mišici je enako, zato je klinična specifičnost ogrožena v primeru poškodbe skeletne mišice. Povišane koncentracije v plazmi najdemo tudi v primeru ledvične insuficience, ko je zmanjšan njegov ledvični očistek in pri alkoholikih (32,33). Visoka negativna napovedna vrednost serumskega mioglobina za izključitev zgodnjega infarkta, je spodbudila njegovo uporabo z bolj specifičnim kazalcem (CK-MB in srčni troponini). Uporaba dveh kazalcev je izboljšala diagnozo AMI (34). Izjemno kratka biološka razpolovna doba (10-20 minut) omejuje uporabo mioglobina za odkrivanje NAP (manjše poškodbe miokarda ali mikro infarkti) (36).

#### 4.1.2 TROPONIN

Troponinski kompleks je sestavljen iz podenot TnC, TnT in TnI, njegova naloga je uravnavanje kontrakcije progastih in srčnih mišic. Kompleks regulira s kalcijem modulirano interakcijo med aktinom in miozinom na tankih filamentih kot kaže **Slika 6** (30).



**Slika 6:** Troponinski kompleks in njegova naloga pri kontrakciji mišic

TnC obstaja v dveh izoformah, hitri in počasni. Hitro izoformo najdemo samo v skeletnih mišicah, počasna izoforma se nahaja v skeletni in srčni mišici. TnT se nahaja v hitrih in počasnih skeletnih mišicah kot tudi v srčni. Pri TnI so odkrili tri izoforme, srčna izoforma TnI (cTnI) ima dodatno zaporedje 30 aminokislin na N-terminalnem delu, kar dela cTnI absolutno specifično za srčno mišico (36). TnC je enak v srčni in skeletnih mišicah, zato ga ne moremo uporabljati le kot kazalec nekroze srčne mišice (2). TnT in TnI obstajata kot specifični skeletni in srčni podenoti z različnim aminokislinskim zaporedjem in imunološko reaktivnostjo, zato uporabljamo za srce specifična protitelesa za TnT in TnI (30). Srčna enaka oblika troponina T je prisotna tudi v skeletnih mišicah v plodu (fetalno obdobje) (2). cTn se pojavita v krvi že po 3-4h akutne epizode in postaneta povišana 4-14 dni, vrh koncentracij pa je v tesni povezavi z velikostjo infarkta. Kinetika sproščanja troponina je povezana z porazdelitvijo v srčnih celicah. 94-97% troponina je vezanega na miofibrile in samo 3% cTnI in 6% cTnT je prostega v citoplazmi. Ko pride do poškodbe srca se citosolni troponin hitro sprosti v kri. Sledi sproščanje vezanega troponina, ki se kaže v drugem vrhu in ostaja povišan nekaj dni (29).

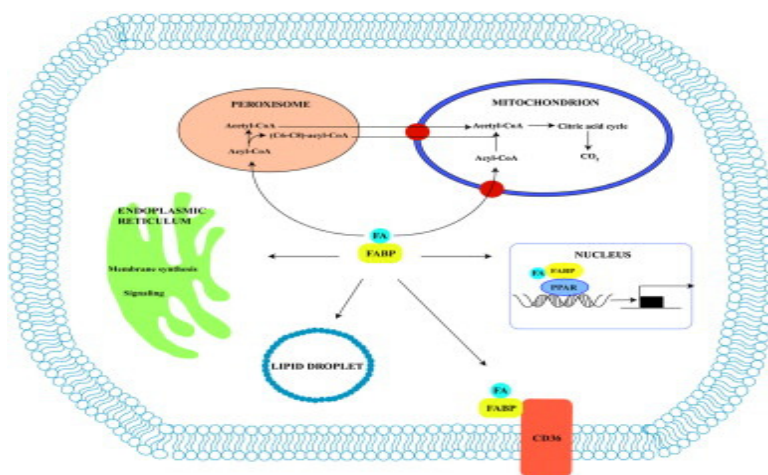
Številne študije kažejo na prednosti troponina s katerimi izpodriva CK-MB kot zlati standard za srčne poškodbe. Razlogi so sledeči :

- Troponini so visoko kardiospecifični, še posebej TnI (100%), ki ni povišan tako kot cTnT pri kronični ledvični bolezni, travmah in boleznih skeletnih mišic ( 29,35).

- Dolgotrajno povišanje služi kot dober marker za bolnike, ki so sprejeti v bolnišnico nekaj dni po infarktu.
- Višja občutljivost za manjše stopnje miokardne poškodbe zaradi kardiospecifičnosti in zelo nizke koncentracije v serumu zdravih posameznikov.
- V skladu z U.S. National Academy of Clinical Biochemistry (NACB) and Joint European Society of Cardiology and American College of Cardiology (ESC/ACC) smernicami je cTn najbolj občutljiv in specifičen biokemični marker.
- Odličen napovedni kazalec pri bolnikih z nestabilno angino pectoris in zelo uporaben parameter za stratificiranje tveganja pri pacientih z AKS. Napovedna vrednost troponinov je boljša kot samo z CK-MB (29).
- Enkratne meritve v serumu cTnT v času, ki ustreza počasni kontinuirani sprostitvi po AMI (~ 72 ur po pojavu dogodkov), se lahko uporablja kot priročno in stroškovno učinkovito neinvazivno oceno velikosti infarkta; CK-MB zahteva ponavljajoče se vzorčenje (34).

#### 4.1.3 PROSTE MAŠČOBNE KISLINE VEZOČI PROTEIN (H-FABP FREE FATTY ACID BINDING PROTEIN)

FABP veže intracelularne MK, kar poveča njihovo topnost in jim pomaga pri transportu v različne predelke celice, med drugim sodeluje pri transportu MK od celične membrane do mitohondrijev kjer teče oksidacija kot prikazuje **Slika 7** (37).

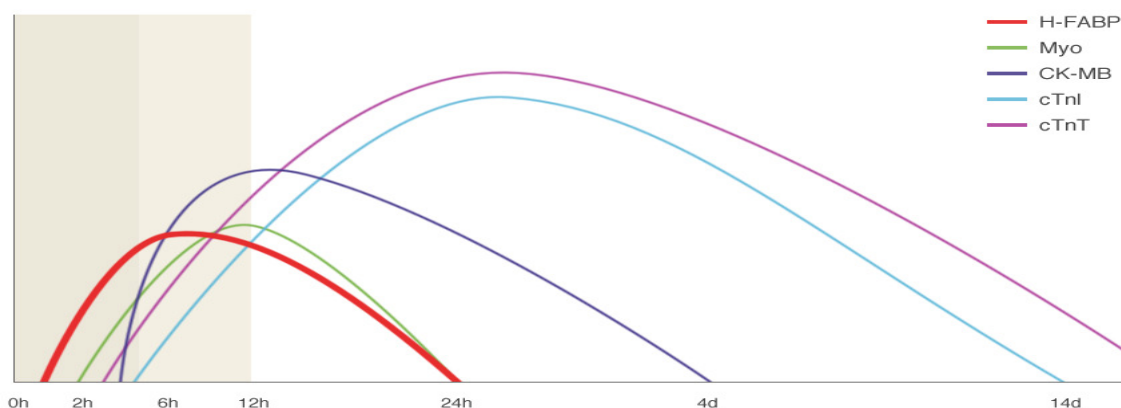


**Slika 7:** Funkcija H-FABP (38)

FABP so relativno majhni intracelularni proteini (15 kDa), ki se v glavnem tvorijo v tkivih z aktivnim metabolizmom maščobnih kislin kot so srce, ledvica in črevesje. Do sedaj so



odkrili 9 tipov FABP od katerih vsak tip izkazuje značilno porazdelitev v tkivih in intracelularno razpolovno dobo 2-3 dni. H-FABP izoforma se ne tvori le v kardiomiocitih, ampak v manjšem obsegu tudi v skeletnih mišicah, distalnih tubulih, specifičnih delih možganov, mlečnih žlezah in placenti (38). H-FABP se v skeletnih mišicah nahaja v 10-krat nižjih količinah kot v srčni mišici, količine v ledvicah, jetrih in tankem črevesju so še nižje (39). Kombinacija nizke molekulske mase in citoplazemske lokacije mu omogoča, da se sprosti hitro po AMI (**Slika 8**) in se je izkazal kot uporabni zgodnji označevalec nekroze srčne mišice.



**Slika 8:** Kinetika sproščanja H-FABP v primerjavi z ostalimi biokemičnimi označevalci (41)

Čeprav ima H-FABP podobno kinetiko sproščanja kot mioglobin (hitra sprostitvev in očistek), je približno 15-20 krat bolj specifičen, zato je veliko bolj učinkovit kot biomarker za zgodnje odkrivanje AMI in oceno velikosti AMI. Poleg tega je normalna serumska/plazemska vrednost H-FABP veliko nižja kot pri mioglobinu, kar zmanjšuje možnost lažno pozitivnih rezultatov. Pelters in ostali so preučili nekaj študij, ki so preiskovale možnost H-FABP kot zgodnjega markerja za poškodbo miokarda. V vsaki študiji je površina pod ROC krivuljo bistveno večja za H-FABP kot mioglobin, kar kaže na odlično uspešnost H-FABP za detekcijo srčne poškodbe pri AKS v 6h po pojavu simptomov (37). Višja specifičnost H-FABP je verjetno povezana z dejstvom, da je vsebnost H-FABP v srčnem tkivu višja kot vsebnost mioglobina (38). H-FABP zaznamo že 30 min po ishemični epizodi (**Preglednica V**), vrednost H-FABP hitreje poraste do kliničnih mejnih vrednosti kot pri mioglobinu (39,40). Za razlikovanje med srčno mišico (razmerje 2-10) in skeletno mišico (razmerje 20-70) se uporablja razmerje mioglobin/H-

FABP. Pri pacientih z AMI je razmerje mioglobin/H-FABP  $\approx 5$  v celotnem obdobju povečanih plazemskih koncentracij (38).

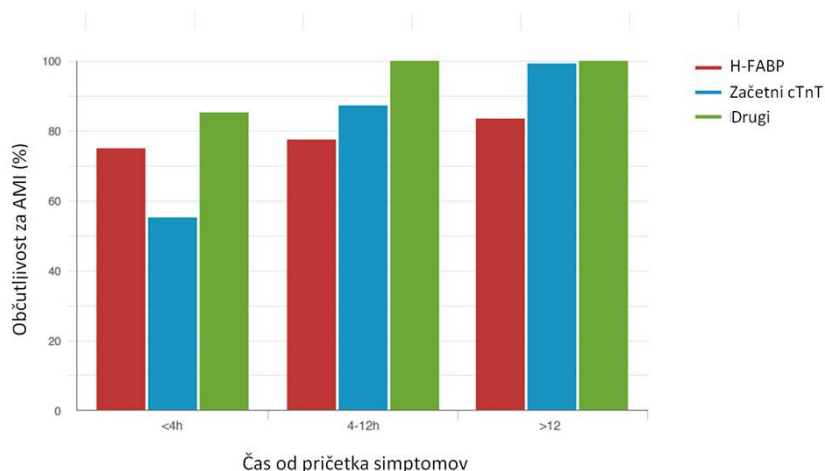
**Preglednica V:** Primerjava H-FABP z drugimi biomarkerji. Prirejeno po (41)

Biomarker	Molekulska masa (kDa)	Začetni dvig v krvi	Čas do najvišje koncentracije	Čas do vrnitve na normalno koncentracijo	Značilnost
H-FABP	15kDa	30 min	6-12 h	24 h	Zgodnji porast Visoka specifičnost
Myoglobin	17kDa	1-3 h	5-8 h	16-24 h	Zgodnji porast Nizka specifičnost
Troponin I (TnI)	22kDa	3-6 h	14-18 h	5-10 dni	Pozni porast Visoka specifičnost
Troponin T (TnT)	33kDa	3-6 h	10-48 h	10-15 dni	Pozni porast Visoka specifičnost
CK-MB	86kDa	3-8 h	9-24 h	48-72 h	Pozni porast Visoka specifičnost

Na klinično uporabnost H-FABP lahko vpliva neučinkovitost ledvic, vendar podatki iz študij kažejo, da se individualno ocenjena stopnja očistka, lahko uporablja za oceno velikost infarkta (38). Velja za zelo stabilen protein in-vitro, saj so raziskave pokazale, da serumski/plazemski vzorci vzdržijo do 8 ciklov zamrzovanja/taljenja brez izgube imunološke reaktivnosti. Velja za zelo učinkovit biomarker pri diagnozi in zdravljenju bolnikov s sumom na AKS, še posebej, če se uporablja v kombinaciji s troponinom (TnT in TnI) (41). V številnih študijah so raziskovali H-FABP kot diagnostično orodje za zgodnjo diagnostiko miokardnega infarkta/AKS. Rezultati teh študij so sledeči:

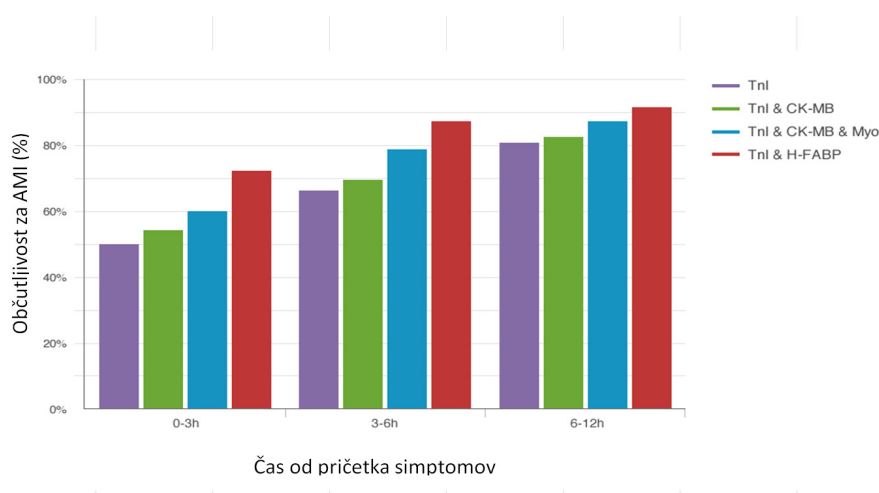
- Ocena H-FABP za odkrivanje AMI v prvih 4 urah po nastopu simptomov je boljša kot ocena TnT in je uporaben kot dodatni biomarker pri bolnikih z akutno bolečino

v prsih (**Slika 9**). Poleg tega so tudi ugotovili, da kombinacija H-FABP in TnT nudi najboljšo diagnostično občutljivost v vseh časovnih točkah (42).



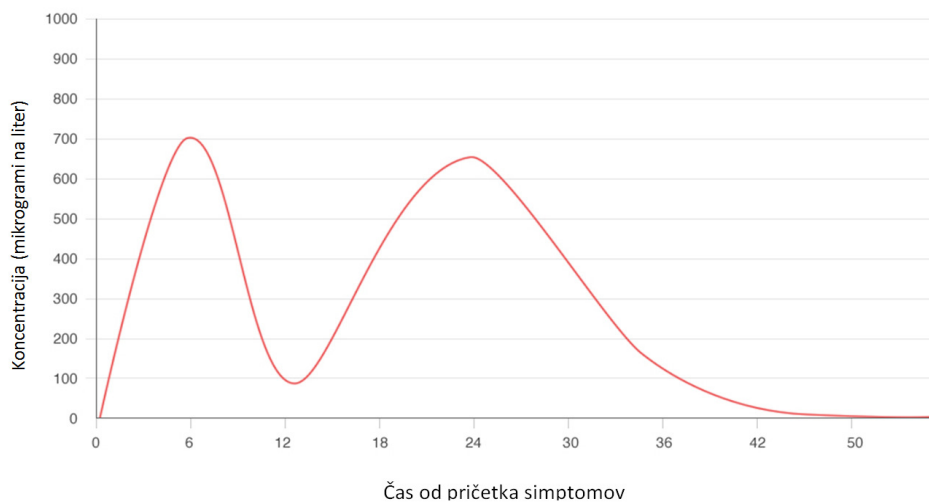
**Slika 9:** Občutljivost za diagnozo AMI za H-FABP, TnT ali kombinacijo obeh biomarkerjev (42)

- Kombinacija TnI in H-FABP za diagnozo AMI je boljša kot strategija samo troponina ali troponina v kombinaciji z CK-MB in /ali mioglobina (**Slika 10**). Kombinacija TnI in H-FABP omogoča zelo visoko negativno napovedno vrednost (NPV) 98% za izključitev AMI v samo 3-6 ur po začetku bolečine v prsnem košu (43).



**Slika 10:** Troponin in H-FABP: optimalna strategija biomarkerjev za zgodnjo diagnozo AMI (43)

- Povišani H-FABP je pomemben napovednik smrti/AMI do enega leta in zagotavlja dodatno prognostično informacijo neodvisno od troponina T, EKG in kliničnega pregleda (42).
- Povišan H-FABP napoveduje umrljivost po AKS, omogoča identifikacijo bolnikov z visokim tveganjem v celotnem območju koncentracij TnI. Negativen rezultat testa TnI in H-FABP je povezan z 0% smrtnostjo v 6 mesecih (44).
- H-FABP se zniža na izhodiščno koncentracijo v 24h, kar mu omogoča uporabo pri bolnikih s sumom na ponovni infarkt, namesto CK-MB (**Slika 11**) (42).



**Slika 11:** *H-FABP pri reinfarktu (41)*

## II. NAMEN DELA

Zgodnja in hitra diagnoza AMI je ključnega pomena ne samo zaradi reševanja življenj, ampak tudi zaradi prihranka časa in stroškov pri zdravljenju pacienta. Diagnoza AMI temelji na kliničnih znakih, spremembah EKG in meritvah troponina. Čeprav je EKG pomembno orodje za vodenje zdravljenja, je slab diagnostični test za AMI, saj približno polovica AMI bolnikov izkazuje normalen ali neznačilen EKG. Četrtnina bolnikov z AMI pa ima netipično bolečino. Glavna pomanjkljivost troponina I je razmeroma nizka občutljivost v zgodnjem obdobju srčnega infarkta, drugače pa velja za visoko kardiospecifičen marker in ostaja povišan najdlje časa.

V diplomski nalogi želimo ugotoviti kakšen je pomen določanja H-FABP kot zgodnjega označevalca srčnega infarkta in označevalca ponovnega infarkta. Bolnike bomo razdelili na dve skupini glede na končno diagnozo (bolniki z AMI in bolniki z ostalimi diagnozami). Dokazali bomo, da se vrednosti troponina I in H-FABP pri bolnikih z AMI in pri bolnikih z ostalimi končnimi diagnozami statistično razlikujejo. Želimo tudi ugotoviti kakšna je povezanost med H-FABP in troponinom I v skupini bolnikov z AMI. Izračunali bomo občutljivost in specifičnost H-FABP in jo primerjali z občutljivostjo in specifičnostjo troponina I. Prav tako bomo izračunali občutljivost in specifičnost pod pogojem, da je pozitiven test za troponin I in H-FABP hkrati.

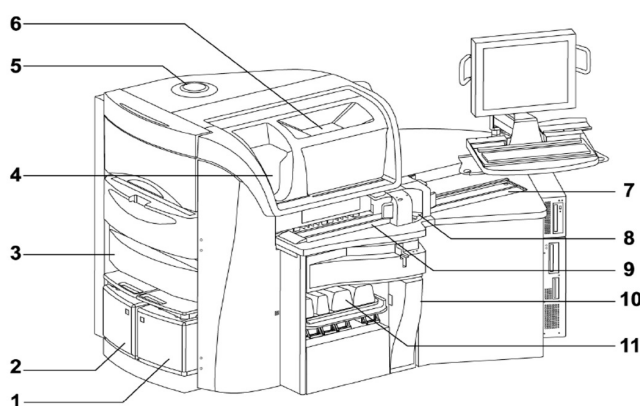
### III. MATERIALI IN METODE

#### 5 SRČNI TROPONIN I

Kvantitativne meritve srčne izo oblike troponina I (cTnI) v serumu, heparinizirani ali EDTA plazmi so v Kliničnem centru Ljubljana opravili s pomočjo ADVIA Centaur XP sistema proizvajalca Siemens. Srčni troponin I (cTnI) merimo z namenom ugotovitve dogodka akutnega miokardnega infarkta in pri bolnikih z drugimi poškodbami srčne mišice brez elevacije ST spojnice kot so akutni koronarni sindrom, miokarditis ali pri povečanem tveganju poškodbe srčne mišice pri urgentnih posegih kot so revaskularizacija in srčne operacije. Specifičnost cTnI omogoča točnost postavitve dogodka AMI pred poškodbo skeletne mišičnine. cTnI je edina izo oblika troponina, ki je prisotna v miokardu in ni izražena v skeletni mišičnini skozi nobeno fazo človeškega razvoja.

##### 5.1 PRINCIP METODE

Advia Centaur XP sistem je popolnoma avtomatiziran imunokemijski analizator (**Slika 12**), ki uporablja načelo neposrednega merjenja kemiluminiscence. Po specifični reakciji protitelo-antigen in odstranjevanju nevezanih komponent, se indikatorska molekula akridinijev ester oksidira z vodikovim peroksidom in proizvaja svetlobo z največjo emisijo svetlobe v prvi sekundi. Jakost svetlobe je sorazmerna ali obratno sorazmerna s koncentracijo analita v vzorcu.

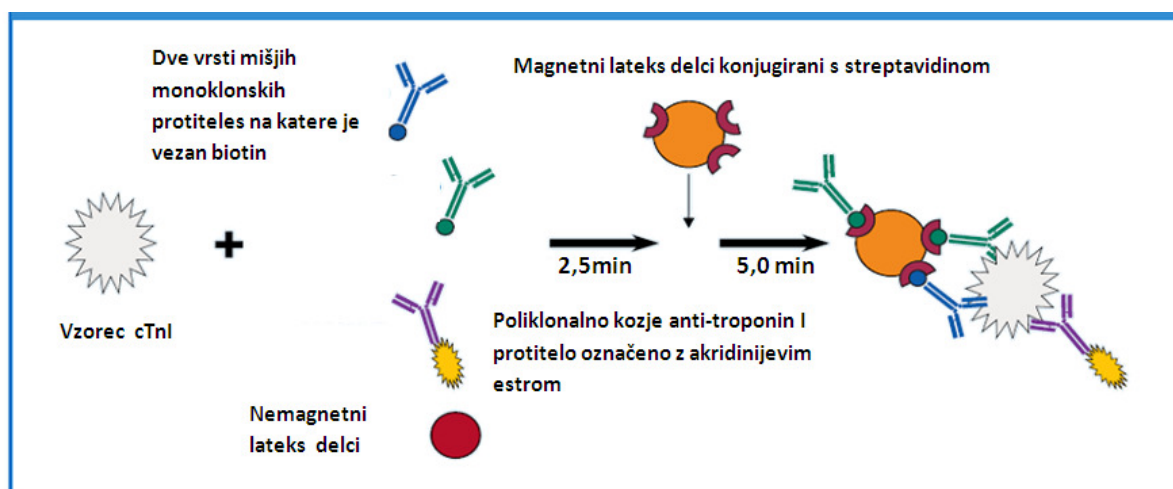


**Slika 12:** Opis analizatorja Advia Centaur XP (45)

1. Destilirana voda
2. Tekoči odpad

3. Hladilnik za primarne reagente
4. Nosilec nastavka za pipetiranje vzorca
5. Pokazatelj statusa
6. Rezerovar Kivet
7. Izhod vzorcev
8. Vhod nujnih vzorcev
9. Vhod vzorcev
10. Raztopina za izpiranje
11. Raztopine paketa

ADVIA Centaur® TnI-Ultra metoda je trojna »sendvič« imunokemijska metoda, ki uporablja direktno kemiluminiscenčno tehnologijo (**Slika 13**).



**Slika 13:** Kemiluminiscenčna detekcija troponina I pri metodi ADVIA Centaur TnI-Ultra (46)

TnI-Ultra test je sestavljen iz treh reagentov: Binary Lite reagenta, trdne faze in pomožnih reagentov. Pomožni reagenti so vključeni z namenom, da zmanjšajo nespecifično vezavo. Binary Lite reagent vsebuje poliklonalna kozja anti-troponin I protitelesa, ki so označena z akridinijevim estrom, dve vrsti mišjih monoklonalnih protiteles na katerih je vezan biotin, stabilizatorje in konzervanse. Trdno fazo reagenta predstavljajo magnetni delci iz lateksa, ki so konjugirani s streptavidinom. Cel reagent je shranjen v plastičnih integralih ali ReadyPack (pripravljenih paketih). Protitelesa iz Binary Lite reagenta vežejo troponin I v vzorcu. Biotin, ki je prevlečen z imunskimi kompleksi se veže na magnetne delce označene s streptavidinom.

## 5.2 POSTOPEK TESTA

Sistem avtomatizirano izvrši spodaj navedene korake:

- pipetira 100 µl vzorca v kiveto
- pipetira 100 µl Binary Lite Reagenta plus in 50 µl pomožnega reagent, sledi inkubacija za 2.75 minut pri 37°C
- pipetiranje 150 µl trde faze reagenta, sledi inkubacija za 5.0 minut pri 37°C
- separacija, aspiracija in izpiranje kivete z reagentom Wash 1.
- pipetiranje 300 µl vsakega posebej Acid Reagenta in Base Reagenta v kiveto kar sproži začetno kemiluminiscentno reakcijo.
- detekcija svetlobnega signala in poročanje rezultatov.

Pri reakciji nastane signal, ki ga sistem meri v obliki relativnih svetlobnih enot (RLU).

Med RLU in količino troponina I v vzorcu obstaja neposredna vezava.

## 5.3 REAGENTI, KALIBRATORJI, KONTROLE

Advia Centaur XP

Reagent, pribor

Proizvajalec : Siemens

-Advia Centaur TnIUltra primarni reagent

- ADVIA Centaur® TnI kalibrator

-Multi diluent 11

-Kisli/Bazični (Acid/Base) reagent

-Wash1(izpiralna tekočina)

-Kivete

-Nastavki

## 5.4 KALIBRACIJA

Kalibriramo najmanj v časovnem obdobju, ki ga priporoča proizvajalec (28 dni), ob vsaki menjavi reagenta z novo LOT oz serijsko številko in po potrebi glede na stabilnost kontrol. Vsak paket reagentov vsebuje kartico z umeritveno krivuljo sistema («Master calibration curve»), ki vsebuje koncentracijo analita in RLU za vsako kalibracijsko točko za to serijo reagenta. Podatke na kartici lahko vnesemo s črtno kodo ali s tipkovnico. Vsak paket



kalibratorjev, razen dveh kalibratorjev nizke in visoke koncentracije, vsebuje etikete s črtno kodo in kartico («Calibrator Assigned Value Card») z informacijami o kalibratorju (lot, rok uporabe, koncentracija analita). The ADVIA Centaur® TnI kalibrator je za in vitro diagnostično uporabo pri kalibraciji TnI-Ultra testa na ADVIA Centaur® sistemu.

## 5.5 PODAJANJE REZULTATOV

Linearno območje: Centaur sistem: 0,006 – 50 mg/L,

Razmejitvena vrednost:

serum: 0,1 mg/L

Zgoraj navedeni podatki so povzeti po specifikaciji proizvajalca.

## 5.6 ZAGOTAVLJANJE KAKOVOSTI

Zagotavljanje kakovosti se vrši s kontrolami proizvajalca, notranjimi in zunanjimi kontrolami.

# 6 H-FABP

## 6.1 PRINCIP METODE

H-FABP so v Kliničnem centru Ljubljana določali z RANDOX Laboratories H-FABP imunoturbidimetričnim testom (H-FABP IT test), ki je namenjen za uporabo pri bolnikih, ki imajo sum na AKS. Test se izvaja v bolnišničnih laboratorijih na vzorcih krvi, ki je bila odvzeta bolnikom sprejetim na urgentni oddelek, v kombinaciji s testom troponina. Je prvi test za popolno kvantifikacijo količine H-FABP v krvi in se lahko uporablja na različnih standardnih opre mah, ki je že na razpolago v bolnišničnem laboratoriju. Rezultat testa dobimo v 14 minutah. Test vsebuje delce lateksa, ki so prevlečeni s protitelesi proti H-FABP (mišja monoklonalna anti-H-FABP protitelesa proizvajalca Randox). Anti-H-FABP protitelesa se vežejo na H-FABP, ki je prisoten v vzorcu, kar ustvari motnost vzorca. Svetloba, ki prehaja skozi vzorec izgubi na jakosti. Turbidimetrija temelji na merjenju zmanjšanja intenzivnosti začetnega sevanja. Količina analita se določi glede na primerjavo s kalibratorjem znane koncentracije. Na podlagi teh meritev izmerimo koncentracijo H-FABP (47,48).

## 6.2 OCENA METODE

- Zelo občutljiva <2,5 ng /ml
- Linearnost do 120,0 ng /ml
- Odlična natančnost:
  - znotraj testa <3% CV
  - med testi <5% CV

Zgoraj navedeni podatki so povzeti po specifikaciji proizvajalca.

## 6.3 IZVEDBA TESTA NA ANALIZATORJU OLYMPUS AU400

Test smo izvajali na analizatorju Olympus AU 400 z reagenti proizvajalca Randox. Za izvedbo testa moramo slediti navodilom proizvajalca analizatorja. Vzorci in reagent so odmerjeni avtomatsko. Navodila so sestavljena iz naslednjih točk:

1. Vklon aparata.
2. Izvajanje kalibracije reagentov.
3. Analiza kontrolnih vzorcev.
4. Delo z vzorci.
5. Pregled rezultatov analiz.

- REAGENTI, KALIBRATORJI, KONTROLE

- 10% cleaning OE 66039
- HCl( 1M=83ml 37% HCl/L)
- hipoklorit (0,5%=40ml 13% HClO<sub>4</sub>)
- destilirana voda
- tekočina serum high 66316, serum low 66317, urine high 66315, urine low 66315

## 7 STATISTIČNE METODE

Pri preučevanju kliničnega pomena določanja koncentracije H-FABP kot označevalca srčnega infarkta smo z zgoraj opisanima metodama pridobili podatke o proučevanih spremenljivkah. Naš vzorec je zajel 244 bolnikov. Vzorec smo razdelili na dve skupini (skupina z AMI, skupina brez AMI). Vse teste smo opravili pri stopnji značilnosti 0,05. Interval zaupanja, ki ga določata njegova spodnja in njegova zgornja meja, je interval v katerem se z dano gotovostjo (v našem primeru 95%) nahaja ocenjevani parameter. To pomeni, da se z verjetnostjo tveganja  $\alpha$  (5%) parameter nahaja v tem intervalu. Statistično analizo podatkov smo izvedli v programu SPSS (Statistical Package for the Social Sciences) in pri tem uporabili spodaj našete statistične metode:

### ➤ KOEFICIENT ASIMETRIJE IN SPLOŠČENOSTI

V programu SPSS smo uporabili funkcijo EXPLORE in pridobili informacijo o koeficientu asimetrije in sploščenosti, s katero smo preverili normalnost porazdelitve na osnovi deskriptivnih statistik.

### ➤ KOLMOGOROV-SMIRNOV TEST

S Kolmogorov-Smirnovim testom smo ugotavljali statistično značilnost razlik med porazdelitvijo vrednosti koncentracije H-FABP oz. troponina I in normalno porazdelitvijo. Testirali smo ničelno hipotezo  $H_0$ , ki pravi, da se spremenljivka H-FABP oz. troponin I porazdeljuje normalno.

### ➤ MANN-WHITNEY TEST

Pri preverjanju ali obstajajo statistično značilne razlike med skupinama (skupina z AMI, skupina brez AMI) pri spremenljivki H-FABP oz. troponin I smo uporabili Mann-Whitney u-test neodvisnih spremenljivk, ki se uporablja, ko spremenljivke niso normalno porazdeljene. Testirali smo ničelno hipotezo  $H_0$ , ki pravi, da je povprečna koncentracija H-FABP oz. troponina I v obeh skupinah enaka.

### ➤ SPEARMANOV KOEFICIENT KORELACIJE

Pri preverjanju korelacije med troponinom I in H-FABP smo uporabili koeficient korelacije katerega uporabljamo kadar preučujemo povezanost med dvema intervalnima ali

razmernostnima spremenljivkama. Kadar ena spremenljivka ni normalno porazdeljena, prikažemo Spearmanov koeficient korelacije. Pri statističnem sklepanju nas je zanimalo ali sta v populaciji spremenljivki troponin I in H-FABP monotono povezani. Ničelna hipoteza  $H_0$  pravi, da povezave ni, alternativna hipoteza  $H_A$  pa pravi, da sta spremenljivki monotono povezani.

## IV. REZULTATI

### 8 OPIS SKUPINE PACIENTOV

V Kliničnem centru Ljubljana so v obdobju štirih mesecev (december 2012-marec 2013) spremljali bolnike pri katerih so merili troponin I in H-FABP. Meritve so izvedli na Kliničnem inštitutu za klinično kemijo in biokemijo Kliničnega centra v Ljubljani. Na podlagi anamneze, EKG in troponinov je bila bolnikom določena končna diagnoza. Oba parametra sta bila izmerjena iz istega vzorca krvi, s tem da je bil vzorec za troponin I svež, za H-FABP pa zamrznjen do analize. Glede na končno diagnozo smo bolnike razdelili v dve skupini:

- prva skupina: bolniki z AMI
- druga skupina: bolniki brez AMI (bolniki z ostalimi končnimi diagnozami).

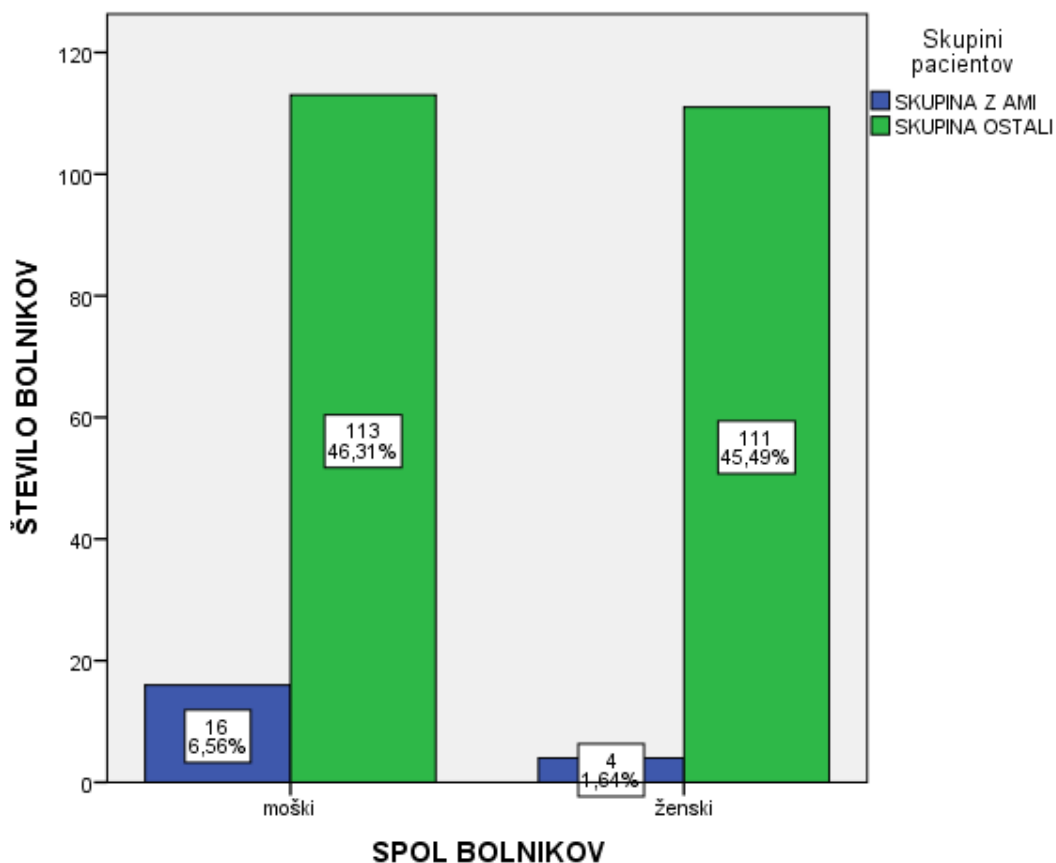
V skupini bolnikov brez AMI so bile končne diagnoze zelo raznolike. Izstopalo je nekaj diagnoz, ki so se pojavile pri več bolnikih. Te končne diagnoze so:

- bolečina v prsnem košu
- bolečina v prsih
- nestabilna AP
- srčni zastoj
- atrijska fibrilacija
- srčno popuščanje
- kolaps
- anemija
- vrtoglavica
- pljučna embolija
- sepsa
- pljučni edem
- ortostatska hipotenzija
- kardiogeni šok
- miokarditis

- okužba dihal
- okužba sečil
- slabo počutje in utrujenost.

**Tabela 1:** Kontingenčna tabela bolnikov po spolu glede na pripadnost skupinama

		Skupina pacientov		Skupno	
		SKUPINA Z AMI	SKUPINA BREZ AMI		
Moški/ ženska	Moški	Prešteti	16	113	129
		% od skupno	6,6%	46,3%	52,9%
	Ženski	Prešteti	4	111	115
		% od skupno	1,6%	45,5%	47,1%
Total		Prešteti	20	224	244
		% od skupno	8,2%	91,8%	100,0%



**Diagram 1:** Grafična ponazoritev spolne strukture bolnikov glede na pripadnost skupinama

Tabela 1 in Diagram 1 prikazujeta, da je tako pri moških, kot tudi pri ženskah močno prevladovala skupina bolnikov brez AMI. Od tega je bilo bolnic pripadajočih skupini z AMI 4, medtem ko je bilo bolnikov pripadajočih skupini z AMI 16. Moških bolnikov pripadajočih skupini brez AMI je bilo 113, medtem ko je bilo bolnic pripadajočih skupini brez AMI 111.

**Tabela 2:** Opisne statistike starostne strukture bolnikov glede na pripadnost skupinama

Skupina pacientov	Povprečna starost	Število bolnikov	Standardna deviacija	Minimum	Maksimum
<b>SKUPINA Z AMI</b>	70,55	20	16,26	32	93
<b>SKUPINA BREZ AMI</b>	68,15	224	17,00	18	102
Skupno	68,35	244	16,92	18	102

Tabela 2 prikazuje, da je bila povprečna starost skupine bolnikov z AMI 70,6 let in da je bilo takšnih bolnikov 20. Najnižja starost bolnika z AMI je bila 32 let, medtem ko je bila najvišja starost 93 let. Povprečna starost skupine bolnikov brez AMI je bila nekoliko nižja in je znašala 68,2 let. Najnižja starost bolnika skupine brez AMI je bila 18 let in najvišja starost 102 leti.



## 9 STATISTIČNA ANALIZA PODATKOV

V nadaljevanju bomo predstavili rezultate statistične analize podatkov. Vse teste smo opravili pri stopnji značilnosti 0,05. To pomeni, da se z verjetnostjo tveganja  $\alpha$  (5%) parameter nahaja v tem intervalu.

### 9.1 Test normalne porazdeljenosti koncentracije H-FABP in troponina I v skupini z AMI

Najprej smo se lotili preverjanja normalne porazdeljenosti koncentracije H-FABP in troponina I v skupini z AMI. Iz Tabele 3 razberemo vrednosti asimetrije (ang. Skewness) in sploščenosti (ang. Kurtosis).

**Tabela 3:** Deskriptivne statistike pri spremenljivki H-FABP in troponin I (skupina z AMI)

		Vrednost	Std. napaka
H-FABP	KOEFICIENT ASIMETRIČNOSTI	<b>1,740</b>	,564
	KOEFICIENT SPLOŠČENOSTI	<b>2,252</b>	1,091
Troponin I	KOEFICIENT ASIMETRIČNOSTI	<b>1,065</b>	,564
	KOEFICIENT SPLOŠČENOSTI	<b>-,623</b>	1,091

Koeficient asimetričnosti in koeficient sploščenosti kažeta, kako so preučevane enote porazdeljene glede na vrednost spremenljivke. Kadar je koeficient asimetrije pozitiven in večji od 1, je spremenljivka asimetrična v desno in obratno. Negativen koeficient sploščenosti pomeni bolj sploščeno porazdelitev spremenljivke in pozitiven koeficient pomeni koničasto porazdelitev. Spremenljivka je porazdeljena normalno, ko sta oba koeficienta -1 in +1. V našem primeru vrednosti asimetrije in sploščenosti presegajo vrednost nič, tako da za vrednost koncentracij H-FABP in troponin I pri skupini z AMI ne moremo reči, da sta normalno porazdeljeni.

Osnovno informacijo o porazdeljenosti smo dobili na podlagi deskriptivnih statistik, vendar je smiselno predpostavko tudi statistično testirati. Test normalne porazdeljenosti

imenujemo Kolmogorov-Smirnov test normalne porazdeljenosti. Testiramo ničelno hipotezo  $H_0$ , ki pravi, da se spremenljivka porazdeljuje normalno.

**Tabela 4:** Test normalne porazdeljenosti spremenljivk H-FABP in troponin I (skupina z AMI)

	Signifikanca
H-FABP	,004
Troponin I	,000

Iz Tabele 4 je razvidno, da je stopnja značilnosti pri Kolmogorov-Smirnovem testu normalnosti porazdelitve za troponin I 0,000 in 0,004 za H-FABP in je nižja kot 0,05 v obeh primerih. Ker je statistična značilnost pod 0,05 pomeni, da H-FABP in troponin I v skupini z AMI nista normalno porazdeljena. Ničelno hipotezo smo zavrnil.

## 9.2 Test normalne porazdeljenosti koncentracije H-FABP in troponina I v skupini brez AMI

**Tabela 5:** Deskriptivne statistike pri spremenljivki H-FABP in troponin I (skupina brez AMI)

		Vrednost	Std. napaka
<b>H-FABP</b>	KOEFICIENT ASIMETRIČNOSTI	<b>5,164</b>	,205
	KOEFICIENT SPLOŠČENOSTI	<b>30,638</b>	,407
<b>Troponin I</b>	KOEFICIENT ASIMETRIČNOSTI	<b>8,847</b>	,205
	KOEFICIENT SPLOŠČENOSTI	<b>90,779</b>	,407

V našem primeru vrednosti asimetrije in sploščenosti presegajo vrednost nič, tako da za koncentraciji H-FABP in troponin I pri skupini brez AMI prav tako ne moremo reči, da sta normalno porazdeljeni. Izvedli smo tudi Kolmogorov-Smirnov test normalne porazdeljenosti.

**Tabela 6:** Test normalne porazdeljenosti koncentracij H-FABP in troponin I na podlagi podatkov skupine brez AMI

	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>
	Signifikanca
<b>H-FABP</b>	,000
<b>Troponin I</b>	,000

V obeh primerih je vrednost signifikance pri Kolmogorov-Smirnovem testu normalnosti porazdelitve manj kot 0,05 kar pomeni, da se koncentraciji H-FABP in troponin I v skupini brez AMI ne porazdeljujeta normalno.

### 9.3 Statistično značilne razlike v vrednosti H-FABP med skupino z AMI in skupino brez AMI

Pri preverjanju ali obstajajo statistično značilne razlike med skupinama pri spremenljivki H- FABP smo uporabili Mann-Whitney u-test neodvisnih spremenljivk, ki se uporablja, ko spremenljivke niso normalno porazdeljene. Testirali smo ničelno hipotezo, ki pravi, da je povprečna koncentracija H-FABP v obeh skupinah enaka.

Pri analizi smo uporabili spremenljivki:

- H-FABP
- diagnoza bolnikov.

**Tabela 7:** Opisne statistike pri H-FABP glede na skupino z AMI in skupino brez AMI

	N	Srednja vrednost	Std. odklon	Min	Max
H-FABP	177	13,5951	23,24175	2,05	144,64
Skupina pacientov	244	1,9180	,27488	1,00	2,00

Iz tabele 7 opisnih statistik je razvidno, da je bila povprečna vrednost H-FABP 13,59 in da je bilo število vseh pacientov, pri katerih smo merili vrednost H-FABP 177.

**Tabela 8:** Rangi pri spremenljivki H- FABP glede na skupino z AMI in skupino brez AMI

Skupina pacientov	N	Srednji rang	Vsota rangov
Skupina z AMI	16	118,22	1891,50
H- FABP Skupina brez AMI	148	78,64	11638,50
Skupno	164		

Tabela z rangi nam prikazuje, katera skupina ima višje vrednosti H- FABP. To je skupina z AMI, ki ima višjo vrednost aritmetične sredine ranga.

**Tabela 9:** Testne statistike pri spremenljivki H- FABP glede na skupino z AMI in skupino brez AMI

Testna statistika	
	H-FABP
Mann-Whitney U	612,500
Wilcoxon W	11638,500
Z	-3,167
<b>Asymp. Sig. (2-tailed)</b>	<b>,002</b>

Na podlagi podatkov iz tabele lahko sklepamo, da obstajajo statistično značilne razlike med skupino z AMI in skupino brez AMI v povprečni vrednosti H- FABP, saj stopnja značilnosti znaša 0,002 ( $p < 0,05$ ).

#### 9.4 Statistično značilne razlike v vrednosti troponina I med skupino z AMI in skupino brez AMI

Ker tudi spremenljivka troponin I ni normalno porazdeljena smo se pri preverjanju ali obstajajo statistično značilne razlike med skupinama posluževali Mann-Whitney u-testa neodvisnih spremenljivk, ki se uporablja ko spremenljivke niso normalno porazdeljene.

Pri analizi smo uporabili spremenljivki:

- Troponin I
- diagnoza bolnikov.

**Tabela 10:** Opisne statistike pri troponinu I glede na skupino z AMI in skupino brez AMI

Deskriptivna statistika					
	N	Srednja vrednost	Std. odklon	Min	Max
Troponin I	169	,40302	1,569130	,006	10,526
Skupina pacientov	244	1,9180	,27488	1,00	2,00

Iz tabele 10 opisnih statistik izhaja, da je bila povprečna vrednost troponina I 0,40 in da je bilo število vseh pacientov, pri katerih smo merili vrednost troponina I 169.

**Tabela 11:** Rangji pri spremenljivki troponin glede na skupino z AMI in skupino brez AMI

Rangi				
	Skupina pacientov	N	Srednji rang	Vsota rangov
Troponin I	Skupina z AMI	17	144,59	2458,00
	Skupina brez AMI	140	71,04	9945,00
	Skupno	157		

Tabela z rangji nam prikazuje katera skupina ima višje vrednosti troponina I. Iz raziskave izhaja, da ima skupina z AMI višjo vrednost aritmetične sredine ranga kot skupina ostali.

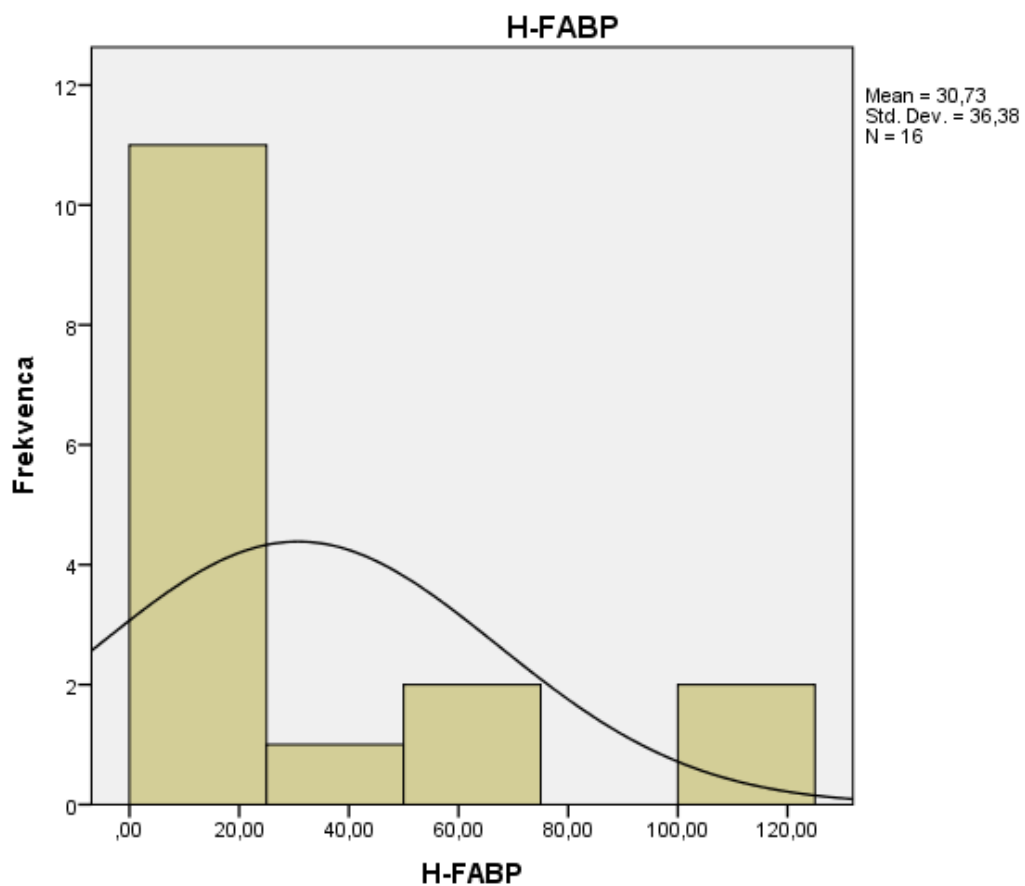
**Tabela 12:** Testne statistike pri spremenljivki troponin I glede na skupino z AMI in skupino brez AMI

Testna statistika	
	Troponin I
Mann-Whitney U	75,000
Wilcoxon W	9945,000
Z	-6,482
<b>Asymp. Sig. (2-tailed)</b>	<b>,000</b>

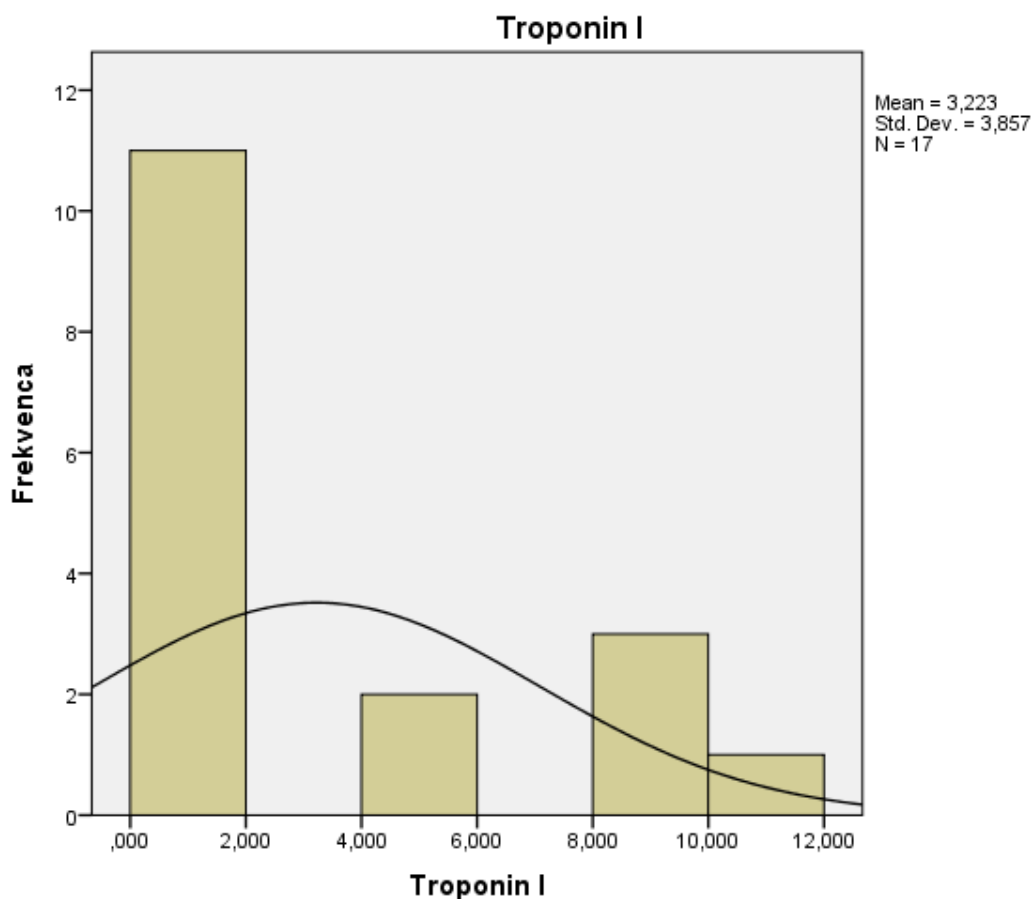
Tabela 12 nam prikazuje, da obstajajo statistično značilne razlike med skupino z AMI in skupino brez AMI v povprečnih vrednosti troponina I, saj vrednost signifikance znaša 0,000 ( $p < 0,05$ ).

### 9.5 Korelacija med H-FABP in troponinom I na podlagi skupine z AMI

Kot smo že zgoraj ugotovili se H-FABP in troponin I v skupini z AMI ne porazdelujeta normalno. Temu primerno smo za ugotavljanje korelacij uporabili Spearmanov koeficient korelacije.



**Diagram 2:** *Histogram normalne porazdelitve spremenljivke H-FABP na podlagi podatkov skupine z AMI*



**Diagram 3:** Histogram normalne porazdelitve spremenljivke troponin I na podlagi podatkov skupine z AMI

Tudi iz obeh diagramov je razvidno, da se koncentraciji H-FABP in troponin I v skupini z AMI ne porazdelujeta normalno.

Sledi tabela s izračunom Spearmanovega koeficienta korelacij na podlagi podatkov skupine z AMI.

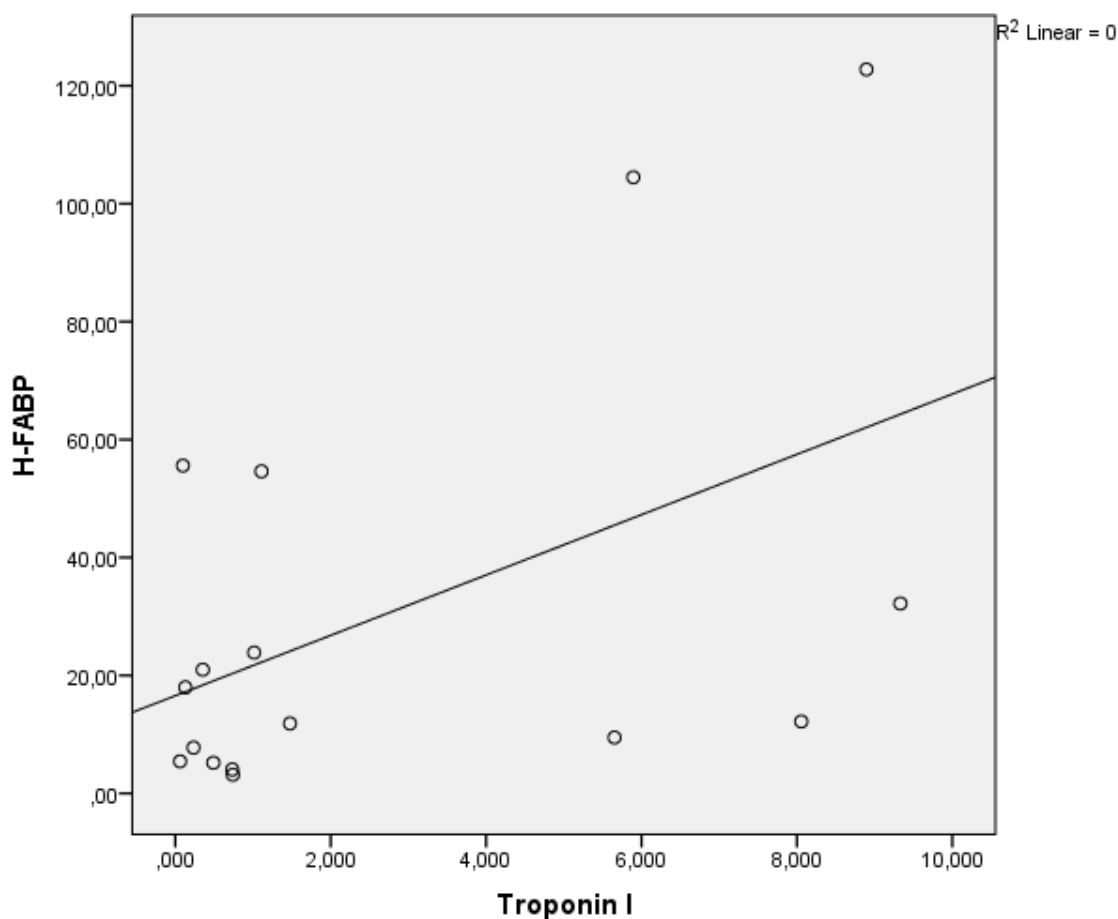
**Tabela 13:** Korelacije - skupina z AMI

		H-FABP	Troponin I
H-FABP	Koeficient korelacije		<b>,382</b>
	<b>Sig. (2-tailed)</b>		<b>,144</b>
	N	16	16
Troponin I	Correlation Coefficient	<b>,382</b>	
	<b>Sig. (2-tailed)</b>	<b>,144</b>	
	N	16	16



Izračun Spearmanovega koeficienta korelacije nam prikazuje, da korelacijski koeficient znaša 0,382 kar pomeni, da med spremenljivkama obstaja srednje močna pozitivna povezanost. Vrednost signifikance znaša 0,144 ( $p > 0,05$ ) kar pomeni, da med H-FABP in troponinom I ne obstaja statistično značilna povezanost.

Nato smo povezanost spremenljivk prikazali še grafično. Razsevni grafikon nam prikazuje, da je med spremenljivkama mogoče opaziti od leve proti desni monotoni trend rasti, kar pomeni, da med spremenljivkama obstaja pozitivna povezanost, ki pa ni statistično značilna.



**Diagram 4:** Grafična ponazoritev povezanosti troponina I in H-FABP na podlagi podatkov skupine z AMI

## 10 DIAGNOSTIČNA OBČUTLJIVOST IN SPECIFIČNOST

Pri razporejanju bolnikov v skupine za računanje diagnostične občutljivost in specifičnosti smo si pomagali s programom Excel. Kot vir podatkov smo vzeli vse bolnike, ki so imeli izmerjen H-FABP in troponin I ter določeno končno diagnozo. Na podlagi razmejitenih vrednosti smo paciente razdelili v skupine pravilno pozitivni (PP), lažno pozitivni (LP), lažno negativni (LN) in pravilno negativen (PN) izid.

Diagnostična občutljivost je verjetnost pozitivnega izida testa pri bolnikih z AMI. Predstavlja delež oseb z AMI pri katerih je test pozitiven.

$$\text{OBČUTLJIVOST} = \text{PP}/(\text{PP}+\text{LN})$$

**Preglednica VI:** Shematski prikaz diagnostične občutljivosti

		TEST	
		Pozitiven (T+)	Negativen (T-)
BOLEZEN	Prisotna (B+)	<b>PP</b> Pravilno pozitiven izid	<b>LN</b> Lažno negativen izid
	Odsotna (B-)	<b>LP</b> Lažno pozitiven izid	<b>PN</b> Pravilno negativen izid

Pozitiven izid testa pri osebah pri katerih je bolezen prisotna.

Osebe pri katerih je bolezen prisotna.

Diagnostična specifičnost je verjetnost negativnega izida testa pri osebah, ki nimajo AMI. Predstavlja delež oseb brez AMI pri katerih je test negativen.

$$\text{SPECIFIČNOST} = \text{PN}/(\text{PN}+\text{LP})$$

**Preglednica VII:** Shematski prikaz diagnostične specifičnosti

		TEST	
		Pozitiven (T+)	Negativen (T-)
BOLEZEN	Prisotna (B+)	<b>PP</b> Pravilno pozitiven izid	<b>LN</b> Lažno negativen izid
	Odsotna (B-)	<b>LP</b> Lažno pozitiven izid	<b>PN</b> Pravilno negativen izid

Najprej smo izračunali občutljivost in specifičnost za troponin I. Za razmejitveno vrednost smo vzeli 0,1 µg/l.

**Preglednica VIII:** Občutljivost in specifičnost testa troponin I pri diagnostiki AMI

		TEST (Troponin I)	
		Pozitiven (T+)	Negativen (T-)
BOLEZEN	Prisotna (B+)	14	2
	Odsotna (B-)	16	124
<b>OBČUTLJIVOST</b> = $\text{PP}/(\text{PP}+\text{LN}) = 14/(14+2) = 0,875 \times 100 = \mathbf{87,5\%}$			
<b>SPECIFIČNOST</b> = $\text{PN}/(\text{PN}+\text{LP}) = 124/(124+16) = 0,886 \times 100 = \mathbf{88,6\%}$			

Za računanje občutljivosti in specifičnosti za H-FABP smo vzeli razmejitveno vrednost 7  $\mu\text{g/l}$ .

**Preglednica IX:** *Občutljivost in specifičnost testa H-FABP pri diagnostiki AMI*

	TEST (H-FABP)		
		Pozitiven (T+)	Negativen (T-)
BOLEZEN	Prisotna (B+)	12	4
	Odsotna (B-)	44	96
<b>OBČUTLJIVOST</b> = $PP/(PP+LN) = 12/(12+4) = 0,75 \times 100 = 75\%$			
<b>SPECIFIČNOST</b> = $PN/(PN+LP) = 96/(96+44) = 0,686 \times 100 = 68,6\%$			

Specifičnost in občutljivost smo računali tudi v kombinaciji troponin I in H-FABP. Kot pozitiven test smo smatrali vrednosti za troponin I nad 0,1  $\mu\text{g/l}$  in vrednosti H-FABP nad 7  $\mu\text{g/l}$  in obratno za negativen izid testa.

**Preglednica X:** *Občutljivost in specifičnost testa kombinacija troponin I in H-FABP pri diagnostiki AMI*

	TEST (Troponin I in H-FABP)		
		Pozitiven (T+)	Negativen (T-)
BOLEZEN	Prisotna (B+)	11	1
	Odsotna (B-)	13	93
<b>OBČUTLJIVOST</b> = $PP/(PP+LN) = 11/12 = 0,917 \times 100 = 91,7\%$			
<b>SPECIFIČNOST</b> = $PN/(PN+LP) = 93/(93+13) = 0,877 \times 100 = 87,7\%$			

**Preglednica XI: Število bolnikov z AMI glede na različne vrednosti troponina I in H-FABP**

	<b>H-FABP &gt; 7 µg/l in TnI &lt; 0,1 µg/l</b>	<b>H-FABP &lt; 7 µg/l in TnI &gt; 0,1 µg/l</b>	<b>H-FABP &lt; 7 µg/l in TnI &lt; 0,1 µg/l</b>
<b>Število pacientov z AMI</b>	1	3	1

Preglednica XIII nam prikazuje število bolnikov z AMI glede na različne vrednosti troponina I in H-FABP. V naši raziskavi je bil le en bolnik, ki je imel test za H-FABP pozitiven in test za troponin I negativen, trije bolniki, ki so imeli test za H-FABP negativen in test za troponin I pozitiven. Le pri enem bolniku z AMI pa je bil test za H-FABP in troponin I negativen.

## V. RAZPRAVA

S statistično obdelavo podatkov smo ugotovili naslednje značilnosti. Povprečna vrednost H-FABP v skupini z AMI je bila  $30,7 \pm 36,4$   $\mu\text{g/L}$ , najnižja izmerjena vrednost  $3,2$   $\mu\text{g/L}$  in najvišja izmerjena vrednost  $122,8$   $\mu\text{g/L}$ . Povprečna vrednost troponina I v skupini z AMI je bila  $2,8 \pm 3,5$   $\mu\text{g/L}$ , najnižja izmerjena vrednost  $0,06$   $\mu\text{g/L}$  in najvišja izmerjena vrednost  $9,3$   $\mu\text{g/L}$ . Vrednosti v skupini brez AMI tako za H-FABP kot za troponin I so bile nižje. Povprečna vrednost H-FABP v skupini brez AMI je bila  $10,3 \pm 17,9$   $\mu\text{g/L}$ , najnižja izmerjena vrednost  $2,1$   $\mu\text{g/L}$  in najvišja izmerjena vrednost  $144,6$   $\mu\text{g/L}$ . Povprečna vrednost troponina I v skupini ostali je bila  $0,06 \pm 0,2$   $\mu\text{g/L}$ , najnižja izmerjena vrednost  $0,006$   $\mu\text{g/L}$  in najvišja izmerjena vrednost  $2,1$   $\mu\text{g/L}$ .

Najprej smo pogledali kako se porazdeljujeta spremenljivki H-FABP in troponin I v skupini z AMI in skupini brez AMI. Na podlagi deskriptivne statistike in statističnega testiranja s Kolmogorov-Smirnovim testom smo ugotovili, da nobena od spremenljivk H-FABP in troponin I ni normalno porazdeljena ne v skupini z AMI in ne v skupini brez AMI, saj je  $p$  v vseh primerih manj kot  $0,05$ . Na podlagi tega smo se odločili, da bomo predpostavko o statistično značilni razliki med skupino z AMI in skupino brez AMI testirali z Mann-Whitney u-testom neodvisnih spremenljivk.

Za spremenljivko H-FABP smo ugotovili, da obstaja statistično značilna razlika med skupino z AMI in skupino brez AMI, saj je vrednost statistične značilnosti  $0,002$  ( $p < 0,05$ ). Na podlagi tega lahko sklepamo, da imajo bolniki z AMI statistično značilno višje vrednosti H-FABP in bolniki brez AMI statistično značilno nižje vrednosti H-FABP. Ker obstaja statistično značilna razlika v povprečnih vrednostih H-FABP pri bolnikih z AMI in bolnikih brez AMI, lahko trdimo, da test za H-FABP loči med bolniki z AMI in bolniki brez AMI, ter tako pripomore k diagnostiki AMI.

Za spremenljivko troponin I smo ugotovili, da obstaja statistično značilna razlika med skupino z AMI in skupino brez AMI v povprečnih vrednostih troponina I, saj vrednost signifikance znaša  $0,000$  ( $p < 0,05$ ). Tako lahko za celotno populacijo rečemo, da imajo bolniki z AMI statistično značilno višje vrednosti troponina I in bolniki brez AMI statistično značilno nižje vrednosti troponina I.

Za ugotavljanje korelacije med troponinom I in H-FABP na podlagi podatkov skupine z AMI smo se posluževali Spearmanovega koeficienta korelacije. Ugotovili smo, da obstaja med troponinom I in H-FABP pri bolnikih z AMI srednje močna pozitivna povezanost (koeficient korelacije znaša 0,382). To pomeni, da pri bolnikih z AMI ob povišanju troponina I pride tudi do povišanja H-FABP, vendar statistično značilne povezanosti nismo uspeli dokazati ( $p > 0,05$ ), kar pomeni, da tega ne moremo trditi za celotno populacijo.

Pri interpretaciji statističnih analiz je potrebno upoštevati vse, kar bi lahko potencialno vplivalo nanje. Pri naši raziskavi je potrebno upoštevati neenakomernost diagnostičnih skupin. Skupina z AMI je v primerjavi s skupino brez AMI bistveno manjša. Prav tako je potrebno poudariti, da je naš vzorec bolnikov z AMI premajhen, da bi z gotovostjo potrdili rezultate raziskave. Potrebne bi bile nadaljnje raziskave, ki bi pripomogle k optimalni uporabi H-FABP v klinični praksi. Predvsem bi bilo dobro izvesti raziskavo na številnejši skupini bolnikov z AMI.

Pri računanju diagnostične občutljivosti in specifičnosti za troponin I smo za razmejitveno vrednost vzeli vrednost 0,1  $\mu\text{g/L}$ . Za to vrednost smo se odločili na podlagi specifikacije proizvajalca aparature na kateri smo merili troponin I. Pri računanju diagnostične občutljivosti in specifičnosti za H-FABP pa je predlog proizvajalca (RANDOX Laboratories), da se za razmejitveno vrednost vzame 7  $\mu\text{g/L}$ . Na podlagi teh dveh razmejitvenih vrednosti smo računali tudi diagnostično občutljivost in specifičnost v kombinaciji troponin I in H-FABP.

Občutljivost pri troponinu I je bila 87,5% in specifičnost 88,6%, kar je v skladu s pričakovanji, saj troponini veljajo za najbolj specifičen in občutljiv biomarker pri diagnostiki AMI. Tako občutljivost kot specifičnost sta bili pri troponinu I višji kot pri H-FABP, kar pomeni, da bo pri testu za troponin I določenih manj oseb z AMI, ki imajo negativen test in določenih manj bolnikov brez AMI, ki imajo pozitiven test. Občutljivost in specifičnost pri H-FABP sta bili 75% in 68,6%, kar pomeni, da na podlagi naših rezultatov ne moremo trditi, da test za H-FABP ustreza za dovolj varno in zgodnjo diagnozo AMI. Pri kombinaciji troponin I in H-FABP je bila občutljivost 91,7% in specifičnost 87,7%.

Naše rezultate smo primerjali s štirimi študijami, ki so primerjale specifičnost in občutljivost troponina I in H-FABP ter njuno kombinacijo. Potrebno je omeniti, da so študije zajele različno število bolnikov (80-1128). Rezultati teh študij so bili sledeči:

- za troponin I občutljivost 67-89% in specifičnost 89-97%
  - za H-FABP občutljivost 62-87% in specifičnost 84-89%
  - za kombinacijo troponin I in H-FABP občutljivost 80-96% in specifičnost 82-87%
- (49).

Glede na študije so naši rezultati občutljivosti in specifičnosti pri troponinu I primerljivi z rezultati študij. Pri tem je potrebno navesti, da so bile v študijah za merjenje troponina I uporabljene različne metode in razmejitvene vrednosti za troponin I in H-FABP, pri čemer sta v dveh študijah enaki razmejitveni vrednosti za oba parametra kot v naši raziskavi.

Občutljivost pri H-FABP izračunana na podlagi bolnikov sodelujočih v naši raziskavi je primerljiva z rezultati študij, pri čemer je specifičnost nižja in odstopa od rezultatov študij. Prav tako je tu potrebno navesti, da so bile v študijah za merjenje H-FABP uporabljene različne metode in razmejitvene vrednosti.

Pri kombinaciji troponina I in H-FABP sta občutljivost in specifičnost tudi primerljivi z rezultati študij. Iz naših rezultatov je moč opaziti, da se je občutljivost troponina I v kombinaciji z H-FABP nekoliko povežala iz 87,5% na 91,7%. Specifičnost troponina I pa se je nekoliko znižala iz 88,6% na 87,7%. Povišanje občutljivosti pri troponinu I merjen v kombinaciji z H-FABP in znižanje specifičnosti pri troponinu I merjen v kombinaciji z H-FABP navajajo tudi vse študije. Možen razlog za znižanje specifičnosti pri troponinu I v kombinaciji z H-FABP je dejstvo, da lahko pride do povišanja H-FABP ne samo pri AMI, ampak tudi pri drugih stanjih. Vir H-FABP so lahko tudi bolezni skeletnih mišic, možganov, mod, jajčnikov in ledvic (49). Povišane vrednosti najdemo pri pljučnem embolizmu, kroničnem srčnem popuščanju, cerebrovaskularnih boleznih (46). Pri pregledu skupine brez AMI s povišanimi vrednostmi H-FABP nad 7  $\mu\text{g/L}$  so tudi bolniki s srčnim popuščanjem, pljučno embolijo, pljučnim edemom katerega vzrok je lahko levostransko srčno popuščanje, intracerebralno krvavitvijo, ledvično odpovedjo, okužbo sečil in KOPB katere posledica je lahko srčno popuščanje. Naštete diagnoze se ponovijo pri več bolnikih in vplivajo na nižjo specifičnost testa za H-FABP.



Pri naši raziskavi nimamo natančnih podatkov kdaj je bila bolnikom s sumom na infarkt odvzeta kri. Potrebno je upoštevati, da imata troponin I in H-FABP zelo različen vzorec sproščanja po AMI (Slika 9). Možno je, da je bila kri v kakšnem primeru odvzeta v času, ko je koncentracija H-FABP že narasla, koncentracija troponina I pa še ne. Ali pa je bila kri pri kakšnem bolniku odvzeta v času, ko se je koncentracija H-FABP že začela nižati do normalne, koncentracija troponina I pa je bila še povišana. Klinični pomen koncentracije H-FABP bi bilo dobro preučiti v raziskavi, v kateri bi bolnike s prsno bolečino razdelili glede na čas trajanja prsne bolečine ter izračunali specifičnost in občutljivost H-FABP ter troponina I v zgodnjem in poznem obdobju po AMI. Tako bi primerjali občutljivost in specifičnost H-FABP in troponina I v zgodnjem (poznem) obdobju po AMI.

## VI. SKLEP

Na podlagi raziskave v kateri smo ugotavljali klinični pomen določanja koncentracije H-FABP kot zgodnjega označevalca srčnega infarkta lahko zaključimo naslednje:

- Bolniki z AMI imajo statistično značilno višje vrednosti H-FABP in troponina I kot bolniki z ostalimi končnimi diagnozami.
- Na podlagi naših rezultatov nismo uspeli dokazati statistično značilne povezanosti, da pri bolnikih z AMI ob povišanju troponina I poraste tudi H-FABP.
- Občutljivost in specifičnost testa za H-FABP pri diagnostiki akutnega miokardnega infarkta sta nižji kot občutljivost in specifičnost testa za troponin I.
- Občutljivost testa za H-FABP pri diagnostiki akutnega miokardnega infarkta je 75% in specifičnost 68,6%. Na podlagi naših rezultatov ne moremo trditi, da test za H-FABP ustreza za dovolj varno zgodnjo diagnozo AMI ter diagnozo reinfarkta.
- Občutljivost testa za troponin I merjen v kombinaciji s H-FABP se poveša, medtem ko se specifičnost testa za troponin I merjen v kombinaciji z H-FABP zniža.

---

## VII. LITERATURA

- 1 Cardiovascular disease. Dostopno na [http://www.who.int/cardiovascular\\_diseases/about\\_cvd/en/index.html](http://www.who.int/cardiovascular_diseases/about_cvd/en/index.html) (februar 2013)
- 2 Kapš Peter., Kapš Rafael., Kapš Peter. ml., Ostojić-Kapš Silva. Bolezni srca in žilja. Grafika Tomi, Novo mesto 2009: 396
- 3 Preventiva srčno-žilnih bolezni. Dostopno na [http://www.cindi-slovenija.net/index.php?option=com\\_content&task=blogcategory&id=31&Itemid=60](http://www.cindi-slovenija.net/index.php?option=com_content&task=blogcategory&id=31&Itemid=60) (marec 2013)
- 4 Osredkar Joško. Izbrana poglavja iz klinične kemije : učno gradivo za študente farmacije. Fakulteta za Farmacijo. 2008: 47-64
- 5 Kocijančič Andreja, Mrevlje Franc, Štajer Dušan. Interna medicina, tretja izdaja, založba Littera Picta d.o.o., Ljubljana 2005: 54-290
- 6 Kharbanda r, Mcallister RJ. The atherosclerosis time-line and the role of endothelium. *Curr Med Chem-Immun Endcor& Metab Agents* 2005; 5: 47-52
- 7 National institutes of health. Dostopno na: [http://www.nhlbi.nih.gov/health/dci/Diseases/Atherosclerosis/Atherosclerosis\\_WhatIs](http://www.nhlbi.nih.gov/health/dci/Diseases/Atherosclerosis/Atherosclerosis_WhatIs). (februar 2013)
- 8 Ross R. Atherosclerosis- an inflammatory disease. *The New England Journal of Medicine* 1999; 340: 115-26
- 9 Hansson G. Inflammation, atherosclerosis and coronary artery disease. *New England Journal of Medicine* 2005; 352: 1685-95
- 10 Johnson JL. Matrix metalloproteinases: influence on smooth muscle cells and atherosclerotic plaque stability. *Expert Rev Cardiovasc Ther* 2007; 5 (2): 265-82
- 11 Mahamoudi M, Curzen N, Gallagher PJ. Atherogenesis: the role of inflammaion and infection. *Histopathology* 2007; 50: 535-546.

- 
- 12 Jain MK, Ridker PM. Anti-inflammatory effects of statins: clinical evidence and basic mechanisms. *Nature Reviews/ Drug Discovery* 2005; 4 (12): 977-87
- 13 Viles-Gonzales JF, Fuster V, Badimon JJ. Links between inflammation and thrombogenicity in atherosclerosis. *Curr Mol Med* 2006; 6(5): 489-99
- 14 Različni avtorji. Temelji patološke fiziologije. Medicinska fakulteta v Ljubljani. Inštitut za patološko fiziologijo 2009: 175-184
- 15 Shishehbor MH, Bhatt DL. Inflammation and atherosclerosis. *Current Atherosclerosis Reports* 2004; 6: 131-9
- 16 Winther MPJ, Hofker MH. Scavenging new insights into atherogenesis. *The Journal of Clinical Investigation* 2000; 105(8): 1039-41
- 17 Libby P, Masanori A. Stabilization of atherosclerotic plaques: New mechanisms and clinical targets. *Nature Medicine* 2002; 8 (11): 1257-62
- 18 Davies MJ, Thomas AC. Plaque fissuring: the cause of acute myocardial infarction, sudden ischemic death and crescendo angina. *Br Heart J* 1985; 53: 363-73.
- 19 Fuster V. Mechanisms leading to myocardial infarction: insights from studies of vascular biology. Lewis A. Conner Memorial Lecture. *Circulation* 1994; 90: 2126-46.
- 20 Falk E, Shah PK, Fuster V. Coronary plaque disruption. *Circulation* 1995; 92: 657-71.
- 21 Antman EM, Braunwald E. Hypertensive and atherosclerotic cardiovascular disease. In: Braunwald E ed. *Heart disease*. Philadelphia: W. B. Saunders Company, 2001: 995-1421.
- 22 Alpert JS, Thygesen K. The Joint European Society of Cardiology/American College of Cardiology Committee. Myocardial infarction redefined. - A consensus document of the Joint European Society of Cardiology/American College of Cardiology Committee for the Redefinition of Myocardial Infarction. *Eur*
- 23 Drenck N-E. Point of care testing in critical care medicine: the clinician's view. *Clin Chim Acta* 2001; 307:3-7

- 
- 24 Bernard R, Corday E, Eliasch H, et al. Nomenclature and criteria for diagnosis of ischemic heart disease. Report of the Joint International Society and Federation of Cardiology/World Health Organization task force on standardization of clinical nomenclature, *Circulation* 1979;59:607-9.
- 25 Yusuf S, Pearson M, Sterry H, et al. The entry ECG in the early diagnosis and prognostic stratification of patients with suspected acute myocardial infarction. *Eur Heart J* 1984;5:690-6.
- 26 Mizuno K, Satomura K, Miyamoto A, et al. Angioscopic evaluation of coronary-artery thrombi in acute coronary syndromes. *N Engl J Med* 1992;326:287-91.
- 27 Lee TH, Weisberg MC, Brand DA, Rouan GW, Goldman L. Candidates for thrombolysis among emergency room patients with acute chest pain: potential true and false positive rates. *Ann Intern Med* 1989;110:957-62.
- 28 Kontos MC, Fritz LM, Andersen FP, et al. Impact of the troponin standard on the prevalence of acute myocardial infarction. *Am Heart J* 2003; 146:446-52.
- 29 P.K. Nigam. Biochemical markers of myocardial injury. *Indian Journal of Clinical Biochemistry*, 2007; 22 (1) 10-17
- 30 M. Kemp, J. Donovan, H.Higham, J. Hooper. Biochemical markers of myocardial injury. *British Journal of Anaesthesia* 2004; 93(1): 63-73
- 31 Kagen L, Scheidt S, Roberts L, Porter A, Pau H. Myoglobinaemia following infarction. *Am J Med* 1975; 58:177-82
- 32 Azzazy HME, Christensons RH. Cardiac markers of acute coronary syndromes: is there a case point-of-care testing? *Clin Biochem* 2002; 35: 13-27
- 33 Gilkeson G, Srone MJ, Waterman M, Ting R, Gomez-Sanchez CE, Hull A, Willerson JT. Detection of myoglobin by radioimmunoassay in human sera: Its usefulness and limitations as an emergency room screening test for acute myocardial infarction. *Am Heart j* 1978; 95:70-75

34 Pantighini M. Biochemical markers in acute coronary syndromes. *LabMedica International* 2003;20(6): 6-7

35 Bodor GS, Porterfield D, Voss E. et al. Cardiac troponin T composition in normal and regenerating human skeletal muscle (Abstract) *Clin Chem* 1995; 41: s148.

36 [http://www.tulipgroup.com/Common\\_New/Tech\\_Pubs\\_PDF/Cardiac.pdf](http://www.tulipgroup.com/Common_New/Tech_Pubs_PDF/Cardiac.pdf) (april 2013)

37 Ankana Kakoti and Pranab Goswami, Heart type fatty acid binding protein: structure, function and biosensing applications for early detection of myocardial infarction., *Biosensors and Bioelectronics*, Dostopno na: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bios.2012.12.057> (april 2013)

38 Hassan M.E. Azzazy, Maurice M.A.L. Pelters, Robert H. Christenson. Unbound Free Fatty Acids and Heart-Type Fatty Acid-Binding Protein: Diagnostic Assays and Clinical Applications. *Clinical Chemistry* 52:191-29 (2006)

39 McMahon CG, Lamont JV, Curtin E, McConnell RI, Crockard M, Kurth MJ, Crean P, Fitzgerald SP. *Am J Emerg Med.* 2012 Feb;30(2):267-74

40 Kilcullen N, Viswanathan K, Das R, Morrell C, Farrin A, Barth JH, Hall AS; EMMACE-2 Investigators. Heart-type fatty acid-binding protein predicts long-term mortality after acute coronary syndrome and identifies high-risk patients across the range of troponin values. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2007;50(21):2061-7.

41 What is H-FABP. Dostopno na: <http://www.h-fabp.com/what-is-h-fabp/> (april 2013)

42 McCann CJ, Glover BM, Menown IB, Moore MJ, McEneny J, Owens CG, Smith B, Sharpe PC, Young IS, Adgey JA. Novel biomarkers in early diagnosis of acute myocardial infarction compared with cardiac troponin T. *Eur. Heart J.* 2008;29(23):2843-50.

43 McMahon CG, Lamont JV, Curtin E, McConnell RI, Crockard M, Kurth MJ, Crean P, Fitzgerald SP. *Am J Emerg Med.* 2012 Feb;30(2):267-74

44 Kilcullen N, Viswanathan K, Das R, Morrell C, Farrin A, Barth JH, Hall AS; EMMACE-2 Investigators. Heart-type fatty acid-binding protein predicts long-term

---

mortality after acute coronary syndrome and identifies high-risk patients across the range of troponin values. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2007;50(21):2061-7.

45 M. Vučić Lovrenčić. Imunokemijski analizator Advia centaur-XP, Priročnik za rad. Klinička bolnica Merkur Zavod za kliničku kemiju i laboratorijsku medicinu. (maj 2013)

46 Lauren Foohey MT, Stacey Neighbor MT, Tania Bauchmelter MT. Troponin Clinical Applications. Bayer HealthCare LLC, Diagnostic Division.

47 Immunoturbidimetry Versus Nephelometry. Dostopno na: <http://www.randox.com/brochures/PDF%20Brochure/LT137.pdf> (april 2013)

48 H-FABP immunoturbimetric assay with troponin testi. Dostopno na: <http://www.hsc.nih.gov/topics/h-fabp-immunoturbimetric-assay-with-troponin-testi/> (maj 2013)

49 Giuseppe Lippi, Camilla Mattiuzzi, Gianfranco Cervellin. Critical review and meta-analysis on the combination of heart-type fatty acid binding protein (H-FABP) and troponin for early diagnosis of acute myocardial infarction. *Clinical Biochemistry* 2013; 46: 26-30

## VIII. PRILOGE

Spol	Leto rojstva	Končna diagnoza	H-FABP	Troponin I
m	1905	Bolečina v PK	3,41	<0,006
m	1936		4,55	0,008
m	1957	KOPB	4,43	<0,006
ž	1920	srčno popuščanje	14,9	0,039
m	1928	NSTEMI, anemija	7,75	0,234
m	1946	bolečina v PK, srčno popuščanje		
ž	1951	AH		
ž	1941	Bolečine v trebuhu	4,02	<0,006
ž	1941	PAF	3,87	0,012
ž	1934	PAF	10,51	<0,006
m	1953	STEMI sprednje stene (subakutni)	11,85	1,475
m	1973	PSUT	4,36	0,014
m	1931	Oslabelost, sistemska amiloidoza	12,06	0,016
ž	1975	Pljučnica, zastropitev z Metadonom		
m	1959	STEMI	23,88	1,014
ž	1936	St. po kolapsa	5,66	<0,006
m	1942	bolečina v PK, neopredeljena, bolečina v zlički	3,98	<0,006
ž	1936	STEMI	55,6	0,097
ž	1953	bolečina v prsih (AH)	4,55	<0,006
m	1929	NSTEMI	???	10,526
m	1934	bolečina v prsih, neopredeljena		
ž	1928	NSTEMI		
m	1948		57,7	<0,006
m	1957	nestabilna AP	4,24	<0,006
ž	1927	srčno popuščanje		
ž	1923	AF		
m	1931	KLB		
m	1928	AEKOPB	7,83	<0,006
m	1960	Bolečina v PK, AH	4,93	0,011
m	1939	krvavitev iz GIT		
ž	1936	nestabilna AP	3,87	<0,006
ž	1995	srčni zastoj	144,64	0,34
m	1949	NSTEMI	4,05	0,733
m	1956	NSTEMI	12,19	8,056
m	1944	NSTEMI	54,62	1,109
m	1939	bolečina v prsih, neopredeljena, St. Po MI pred 10 dnevi	10,68	0,115
m	1932	Ishemija D sp. okončine	130,3	ni izmerjeno
ž	1984	kolaps		
ž	1952	Bolečina v PK, odvisna od dihanja	4,39	0,006
ž	1925	bolečina v prsih, neopredeljena	5,82	0,007



ž	1956	bolečina v PK, neopredeljena	3,64	<0,006
m	1931	anemija		
ž	1938	vrtoglavica	4,59	<0,006
ž	1930	srčno popuščanje		
ž	1937	Dispnoe, pljučna embolija	4,43	0,021
ž	1919	Dispnoe, pljučna embolija	7,99	0,014
m	1924	sepsa	2,08	0,281
m	1963	STEMI spodnje stene	17,98	0,129
ž	1939	srčno popuščanje		
m	1940	srčno popuščanje	19,91	0,052
ž	1942	AF s tahik.odg.prek	2,05	0,011
m	1929	okužba, neopredeljena		
ž	1943	Kolaps, anemija	3,75	0,008
ž	1925	Hipotenzija, ileus	12,44	0,043
m	1954	AF za elektrokonverzijo	3,6	<0,006
ž	1975	bolečina v PK, neopredeljena	3,19	<0,006
m	1926	NSTEMI	32,2	9,332
ž	1930	SVT	8,39	0,025
m	1942	bolečina v prsih, neopredeljena	3,83	<0,006
ž	1944	Bruhanje, zastrupitev	5,7	<0,006
ž	1975	bolečina v PK, muskuloskeletna		
m	1941	bolečina v PK, neopredeljena		
ž	1960	GERB	5,78	<0,006
m	1941	bolečina v prsih, neopredeljena		
m	1951	PSUT	4,51	<0,006
ž	1937	bolečina v PK	4,21	0,009
ž	1947	PAF	4,21	<0,006
m	1948	AF		
m	1970	Kolaps	5,2	<0,006
m	1934	pljučni edem	7,11	0,086
m	1941	NSTEMI		
m	1955	STEMI spodnje stene	5,43	0,061
m	1956	idiopatična trombocitopenična purpura	4,55	<0,006
ž	1911	srčno popuščanje		
m	1949	nestabilna AP, AP z nizkim pragom (že znana koronarna bolezen)	5,43	0,059
m	1934	ortostatska hipotenzija		
ž	1930	Dispnoe, srčno popuščanje	5,47	0,246
ž	1954	hipoglikemija		
ž	1925	Hemohezija	17,21	0,015
m	1949	poslabšanje KOPB		
ž	1934	srčno popuščanje	8,55	0,098
ž	1933	Kolaps, AO stenoza	75,64	0,027
ž	1933	dispneja		

m	1943	Epileptični napad, hiponatremija	58,88	0,009
m	1941	Pljučnica, Dispnoe	5,97	0,045
ž	1957	Neurejena art. hipertenzija	4,28	<0,006
ž	1940		4,62	<0,006
m	1931	bolečina v prsih, neopredeljena	6,48	0,013
m	1928	Kolaps	8,83	0,025
m	1932	Pljučnica		
m	1934	anemija		
m	1948	okužba neopredeljena	22,92	0,095
m	1943	nestabilna AP	5,85	<0,006
m	1936	Oslablost, huda anemija	19,08	0,292
ž	1937	bolečina v prsih, neopredeljena	6,28	<0,006
ž	1927	navzea in bruhanje	9,65	0,028
ž	1929	kardiogeni šok		
ž	1938	bolečina v prsih, neopredeljena		
ž	1932	okužba dihal	11,01	0,013
m	1932	karcinom pljuč z zasevki	5,54	0,035
m	1972	PE	3,6	<0,006
m	1957	Dispnoe, pljučna embolija	7,39	2,128
ž	1955	AP z nizkim pragom (že znana koronarna bolezen)	4,36	<0,006
ž	1926	Vrtoglavica, AU z bradikardnim odgovorom		
m	1941		5,85	0,01
ž	1926	intracerebralna krvavitev	15,08	0,24
ž	1929	Dispnoe, anemija	10,8	0,027
ž	1937		4,7	<0,006
m	1956	Kolaps	4,89	<0,006
ž	1930	bolečina v prsih, neopredeljena		
ž	1935	diseminirani plazmocitom	7,39	ni izmerjeno
ž	1943	bolečina v prsih, neopredeljena		
m	1950	NSTEMI		
ž	1936	kolaps	6,68	<0,006
ž	1979	bolečina v prsih, neopredeljena		
ž	1930	aortna stenoza	5,7	0,035
m	1960	Dispnoe, desnostransko srčno popuščenje	16,5	<0,006
m	1984	bolečina v PK	2,67	<0,006
m	1940	Bolečine v trebuhu	3,87	0,008
ž	1923	PAF	11,51	0,091
ž	1937	Dispnoe		
ž	1965	bolečina v PK, neopredeljena		
ž	1948	Bolečina v PK, AH		
ž	1976	bolečine v trebuhu		
ž	1977	slabo počutje in utrujenost	3,87	<0,006
m	1951	PAF		

m	1938	bolečina v PK, neopredeljena	31,52	0,009
m	1959	st. po reanimaciji	110,26	0,197
ž	1933	AH		
ž	1933	bolečine v trebuhu		
ž	1951	melena		
m	1981	bolečina v prsih, neopredeljena		
ž	1935	SVT	7,11	0,078
m	1961	Bolečina v trebuhu	5,04	ni izmerjeno
ž	1932	akutni abdomen	10,64	0,104
ž	1982	kolaps		
ž	1932		4,21	<0,006
m	1969	hipertenzivna kriza	5,16	<0,006
ž	1938	AF s tahikardnim odgovorom	5,31	<0,006
m	1954	Perikardni izliv	5,47	0,008
m	1961	PAF	3,68	0,017
ž	1928	bolečina v prsih, neopredeljena		
m	1982	miokarditis		
m	1972	okužba sečil		
m	1945	PAF	3,53	<0,006
ž	1905	srčno popuščanje		
ž	1989	PAU	3,41	<0,006
m	1945	karcinom kolona		
ž	1943	AF		
m	1923	srčno popuščanje	10,1	0,064
m	1944	NAP	3,79	0,013
m	1977	bolečina v prsih, neopredeljena	2,75	<0,006
m	1952	kolaps	5,89	0,022
ž	1938	Akutni endokarditis		
m	1938	Bolečina v PK, holangitis	3,9	0,011
m	1943	hiperamonemija		
m	1923	NSTEMI, demenca	122,78	8,894
m	1970	PSVT	5,97	0,261
m	1993	kolaps	4,81	0,019
m	1981	NSTEMI	3,15	0,74
m	1936	Perikardni izliv	6,28	<0,006
m	1953	Dispnoe, PAU	9,65	0,049
m	1952	NAP	3,12	<0,006
m	1941	PAF	5,16	0,09
m	1953	bolečina v prsih, neopredeljena		
m	1937	srčno popuščanje	6,17	0,017
ž	1930	Dispnoe, srčno popuščanje	5,85	0,026
m	1937	Dispnoe, pljučnica	4,81	<0,006
m	1963	bolečina v prsih, neopredeljena	4,24	0,014
ž	1981	gastritis	3,6	<0,006

m	1932		6,44	0,011
m	1957	nestabilna AP	4,24	<0,006
m	1964	bolečina v PK, reflux	5,04	<0,006
ž	1935	bolečina v PK, Sy AP	5,24	<0,006
ž	1927	holedoholitiza	6,6	0,092
m	1951	Bolečine v trebuhu		
ž	1941	AF		
m	1927	Nizkopražna AP		
m	1937	prostatitis		
ž	1937	bolečina v vratu in L roki	2,89	0,007
ž	1929	srčno popuščanje	14,21	0,016
m	1985	Bolečina v PK, kolaps	3,38	<0,006
m	1947	bolečina v PK, osteomuskularna	3,94	<0,006
m	1933	PAU	5,62	0,022
m	1945	AP z nizkim pragom	5,47	0,015
m	1940	Dispnoe, znana koronarna bolezen		
ž	1935	akutna ledvična odpoved	48,69	0,225
ž	1930	AF		
m	1937	bolečina v prsih, neopredeljena		
m	1964	Kolaps, epi	8,31	premalo vzorca za troponin
m	1962		4,24	<0,006
ž	1934	kolaps	7,43	0,253
ž	1946	Bolečina v prsih ob visokem RR	4,55	<0,006
m	1929	Dispnoe, AO stenoza	4,85	0,036
m	1954	Dispnoe, anemija	38,38	ni izmerjeno
m	1935	STEMI	5,2	0,489
ž	1923	pljučnica		
ž	1938	Dispnoe, srčno popuščanje	5,74	0,017
ž	1953	bolečina v prsih, verjetno AP	3,83	<0,006
ž	1923	NSTEMI	9,48	5,652
m	1933	okužba sečil	56,46	ni izmerjeno
m	1955		3,71	<0,006
m	1921	Kolaps, ortostatska hipotenzija	5,97	<0,006
m	1975	Miokarditis, neopredeljena KMP	12,19	0,159
ž	1944	Kolaps ob SVES (znana koronarna bolezen)	5,12	<0,006
ž	1922	Kolaps (AV blok III.st.)	5,24	0,028
ž	1940	Sepsa	85,28	premalo
ž	1928		4,24	0,038
ž	1931	Bolečina v PK, PAU	5,54	0,016
m	1950	bolečine v rami		
ž	1961	troponinski leak	12,23	0,105
m	1926		4,74	ni izmerjeno
m	1926	KOPB	8,19	0,012

ž	1923	Zmedenost, zlom Th12	10,14	<0,006
ž	1931	srčno popuščanje		
ž	1936	PAF	4,13	0,011
ž	1931	Anemija, stabilna AP	7,31	0,011
ž	1967	bolečina v prsih, neopredeljena	2,16	<0,006
ž	1944	bolečina v prsih, neopredeljena		
ž	1984	neurejena SB	3,34	<0,006
ž	1951	bolečina v prsih, neopredeljena	3,79	0,007
ž	1942	kolaps		
m	1920	kolaps		
m	1929	Dispnoe, srčno popuščanje		
m	1977	Hepatopatija	3,64	ni izmerjeno
ž	1920	NSTEMI	104,48	5,895
m	1931	okužba spodnjih dihal	52,68	0,622
m	1929	srčno popuščanje		
m	1932	vrtočlavičica	4,97	<0,006
m	1950	NSTEMI	20,98	0,353
m	1969	bolečina v prsih	3,9	<0,006
ž	1939	srčno popuščanje	58,38	0,359
m	1934	srčno popuščanje		
m	1948	bolečine v trebuhu		
m	1948	anemija	8,63	<0,006
ž	1973	bolečina v prsih, neopredeljena		
ž	1942	anemija		
m	1944	Kolaps	5,16	<0,006
m	1914	srčno popuščanje		
ž	1949	PE		
m	1972	neopredeljen LKB	2,67	<0,006
m	1966	PSVT	5,7	0,009
m	1948	Bolečine v trebuhu	4,21	<0,006
m	1949	kolaps		
ž	1930	Dispnoe, KOPB	5,7	0,023
m	1928		12,19	0,441
ž	1925		27,76	4,53
ž	1921	PAF	8,07	0,041
m	1929	NAP		
m	1936	Dispnoe, srčno popuščanj	17,66	0,047
m	1944	bolečina v prsih		
ž	1933	Bolečina v PK, Ao stenoza	5,24	0,063
ž	1958	bolečina v prsih, neopredeljena		
m	1934	PAF	5,62	0,059
ž	1962	Kolaps, vazovagalna sinkopa	3,83	<0,006