

## STRATEGIJA IFCC STANDARDIZACIJE I PRIMENE SRČANIH MARKERA U AKUTNOM KORONARNOM SINDROMU

Svetlana Ignjatović

Institut za medicinsku biohemiju, Klinički centar Srbije i Farmaceutski fakultet Univerziteta u Beogradu, Beograd, Srbija i Crna Gora

*Kratak sadržaj:* Mada su srčani troponini već korišćeni u dijagnozi akutnog infarkta miokarda (AIM), Komitet za standardizaciju markera srčanog oštećenja (*Committee on Standardization of Markers of Cardiac Damage, C-SMCD*) Međunarodne federacije kliničke hemije i laboratorijske medicine (*International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine, IFCC*) u svojim preporukama 1999. godine u enzimski dijagnostički kriterijum za AIM uključuje i srčane-specifične proteine. Evropsko udruženje za kardiologiju (*European Society of Cardiology*) i Američki koledž za kardiologiju (*American College of Cardiology*) je 2000. godine objavio konsenzus dokument prema kome je najbolji biohemijski pokazatelj za detekciju srčane nekroze »koncentracija srčanog troponina viša od granične vrednosti (definiše se kao 99-ta percentilna vrednost referentne kontrolne grupe) bar jedanput u toku prvih 24 sata posle početka kliničkog događaja«. Korišćenje kreatin kinaze MB (CK-MB) određene kao masena koncentracija još se uvek smatra alternativno prihvatljivim samo ukoliko ne postoji mogućnost određivanja troponina. Izbor najpodesnije strategije primene novih markera predstavlja veoma važno pitanje i danas se preporučuju dve strategije. Prva strategija se zasniva na korišćenju dva markera: marker koji brzo raste kao što je mioglobin i marker za čiji rast je neophodno duže vreme, a koji je specifičniji, kao što je to srčani troponin. Primenom druge strategije određuje se samo koncentracija troponina. Jedan od najvažnijih problema pri primeni srčanih specifičnih troponina je pravilno definisanje granica odlučivanja. IFCC C-SMCD preporučuje da se u kliničkoj praksi troponin određuje tako da ukupna nepreciznost, izražena kao koeficijent varijacije (Kv) bude niži od 10% na AIM nivou odlučivanja od 99-te percentilne vrednosti, a da proizvođači koji ne mogu da zadovolje ove zahteve kao »cut-off« vrednost preporučuje najnižu vrednost pri kojoj se postiže Kv od 10%. Veoma je važno da metode kojima se određuju ovi klinički važni biomarkeri budu visoko pouzdane i standardizovane. Međutim, postoje problemi vezani za standardizaciju, nepreciznost određivanja, kao i za postojanje interferencija i preanalitičkih varijacija. Srčani troponini danas se sa pravom smatraju srčano najspeficičnijim biohemijskim markerima oštećenja miokarda i najboljim pokazateljima u dijagnozi, proceni rizika i praćenju terapije u akutnom koronarnom sindromu.

*Ključne reči:* srčani troponini, standardizacija, akutni koronarni sindrom

### Uvod

Akutno ishemično oboljenje srca u prethodnih trideset godina je uglavnom posmatrano kao binarni fenomen u smislu da je prisutan akutni infarkt miokarda (AIM) ili da postoji odsustvo AIM. Prema preporukama Svetske zdravstvene organizacije (1) za postavljanje dijagnoze AIM bilo je neophodno prisustvo bar dva od tri dobro poznata dijagnostička kriterijuma: istorija akutnog, jakog i produženog bola u grudima; značajne promene na elektrokardiogramu (EKG); i ne-

dvosmisleno povišenje aktivnosti tradicionalnih enzima u serumu. Bol u grudima je nepouzdan pokazatelj s obzirom da pri prijemu nije prisutan kod 33% bolesnika sa AIM. EKG i dalje ostaje važan pri postavljanju rane dijagnoze akutne ishemijske kod otprilike 60% bolesnika kod kojih dolazi do promena u ST-segmentu posle nekoliko sekundi od ishemijskog insulta. Međutim, kod preostalih 40% bolesnika na osnovu EKG-a ne može da se postavi dijagnoza AIM tako da se ovaj dijagnostički kriterijum odlikuje niskom osetljivošću. Takođe, dobro je poznata nedovoljna dijagnostička specifičnost i osetljivost tradicionalnih enzimskih markera. Zbog dijagnostičkih ograničenja vezanih za EKG i određivanje klasičnih enzima, 2% do 8% bolesnika sa AIM se nenamerno pošalje kući posle prijema na urgentna odeljenja, a što dovodi do povećanja morbiditeta i mortaliteta pacijenata sa akutnim koronarnim sindromom (2).

*Adresa autora*

Svetlana Ignjatović

Institut za medicinsku biohemiju, Klinički centar Srbije

i Farmaceutski fakultet Univerziteta u Beogradu,

Višegradska 26, 11129 Beograd, Srbija i Crna Gora

e-mail: tana@eunet.yu

### Novi dijagnostički standard

Uzimajući u obzir sve nedostatke tradicionalnih kriterijuma za dijagnozu AIM i izvrsne zaključke nekoliko kliničkih ispitivanja koja su koristila visoko osetljive i specifične markere oštećenja srčanog mišića koji nisu sami po sebi enzimi, kao što su srčani troponini (3-5), Komitet za standardizaciju markera srčanog oštećenja (*Committee on Standardization of Markers of Cardiac Damage, C-SMCD*) Međunarodne federacije kliničke hemije i laboratorijske medicine (*International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine, IFCC*) u svojim preporukama 1999. godine u enzimski dijagnostički kriterijum za AIM uključuje i srčane-specifične proteine (6-8). Međutim, C-SMCD je smatrao da oficijelno redefinisane biohemijских kriterijuma za dijagnozu AIM treba da urade kardiolozi. Evropsko udruženje za kardiologiju (*European Society of Cardiology*) i Američki koledž za kardiologiju (*American College of Cardiology*) je 2000. godine objavio konsenzus dokument (9) prema kome se za detekciju srčane nekroze koriste biomarkeri. Posebno je u dokumentu uzeto u obzir da je najbolji biohemijски pokazatelj za detekciju srčane nekroze »koncentracija srčanog troponina viša od granične vrednosti bar jedanput u toku prvih 24 sata posle početka kliničkog događaja«. Korišćenje kreatin kinaze MB (CK-MB) određene kao masena koncentracija još se uvek smatra alternativno prihvatljivim samo ukoliko ne postoji mogućnost određivanja troponina. Prema redefinisanim kriterijumu, bolesnici sa akutnim koronarnim sindromom (AKS) kod kojih su prisutni ishemijski simptomi se visoko prediktivno klasifikuju kao AIM bolesnici na osnovu povišene koncentracije troponina u krvi.

Srčani troponini danas se sa pravom smatraju srčano najspecifičnijim biohemijским markerima oštećenja miokarda. Posebno su identifikovani srčani troponin I (cTnI) i srčani troponin T (cTnT). Specifičnu sekvencu aminokiselina ovih proteina kodiraju geni koji se razlikuju od onih koji kodiraju izoforme skeletnih mišića. Troponini se pojavljuju u serumu relativno rano od početka AIM (4-10 sati), postižu maksimum 12-48 sati i ostaju povišeni 4-10 dana. U velikom stepenu su oba troponina vezana za miofibrile (94% i 97%), dok se relativno mala količina nalazi slobodna u citoplazmi (oko 3% cTnI i 6% cTnT). Odmah po oštećenju srčanih ćelija oslobađaju se citoplazmatični »pool«, posle čega se sporo i kontinuirano oslobađaju proteini vezani za miofibrile. Treba napomenuti da srčani troponini reflektuju oštećenje miokarda ali ne mogu da ukažu na mehanizam njegovog oštećenja. Iz ovih razloga, povišena vrednost srčanih troponina bez kliničkog dokaza o prisustvu ishemijskog oboljenja srca ukazuje na potrebu hitnog traženja situacija kod kojih u različitim stepenu može da bude prisutno oštećenje miokarda kao što su: akutna reumatska groznica, amiloidoza, trauma srca, kardiotsičnost usled terapije karcinoma, hronična bubrežna oboljenja, miokarditis, plućna embolija, sepsa i druga stanja.

Na ova stanja treba posebno obratiti pažnju s obzirom da su ona česta u kliničkoj praksi, kao i da postoji značajna korelacija vrednosti troponina sa težinom oboljenja (10).

### Zadaci IFCC komiteta za standardizaciju markera srčanog oštećenja

Oblast biohemijских markera srčanog oštećenja je u stalnoj dinamici što uključuje stalno pojavljivanje novih, odnosno već poznati markeri dobijaju novu primenu. U ovakvoj situaciji, neophodno je da se formiraju ujednačeni i pažljivo i detaljno razrađeni vodiči sa kojima su saglasna međunarodna udruženja, čijim se sprovođenjem obezbeđuje optimalno korišćenje raspoloživih testova. Glavni zadaci IFCC komiteta za standardizaciju markera srčanog oštećenja su koordinacija različitih aktivnosti nacionalnih grupa, priprema internacionalnih dokumenata i preporuka, kao i standardizacija određivanja biohemijских srčanih markera (8).

### Preporučene biohemijske strategije

Izbor najpodesnije strategije primene novih markera, kao i preporučena frekvencija uzimanja uzoraka kod pacijenata sa bolom u grudima, a bez EKG dokaza akutnog infarkta miokarda pri prijemu predstavlja veoma važno pitanje. Preporučuju se dve strategije.

Prva strategija se zasniva na korišćenju dva markera: marker koji brzo raste kao što je mioglobin i marker za čiji rast je neophodno duže vreme, a koji je specifičniji kao što je to srčani troponin. Primena ove strategije omogućava detekciju AIM kod bolesnika koji stižu rano, odnosno kasno od početka simptoma na prijemu odeljenje. Mioglobin je danas trenutno najefikasniji rani marker i može da se detektuje u krvi već posle 2-3 sata, a maksimalna koncentracija se postiže veoma brzo od početka simptoma (između 6-og i 12-og sata). Normalna koncentracija mioglobina se po-stiže u naredna 24 sata po-što se bubrežima brzo uklanja iz seruma (11, 12). Određivanjem mioglobina veoma rano može da se isključi dijagnoza AIM kod bolesnika sa bolom u grudima. Negativna prediktivna vrednost ovog markera za rano odbacivanje postojanja infarkta iznosi 100% i to 4 sata posle prijema bolesnika u bolnicu.

Danas za određivanje mioglobina postoji veliki broj automatizovanih metoda koje se zasnivaju na imunoodređivanju (13, 14). Treba napomenuti da mioglobin nije specifičan za miokard i da kod bolesnika oštećenjem bubrega, mišića ili u slučaju trauma postoji povišena koncentracija u odsustvu AIM. Iz ovih razloga nastavljaju se istraživanja za alternativnim »ranim« markerima AIM (15-19).

Primenom strategije »dva markera« omogućava se rana dijagnoza AIM čime se poboljšava protok bolesnika kroz prijemu odeljenje jer oni mogu brže da se

otpuste, a ujedno je omogućena lakša identifikacija bolesnika kod kojih treba da se primene agresivnije intervencije.

Primenom druge strategije određuje se samo koncentracija troponina i konačna potvrda ili odbacivanje dijagnoze AIM zahteva duže vreme. U poređenju sa prvom strategijom, ova strategija je pogodna za one bolnice kod kojih nije neophodno da se »trijaža« bolesnika izvrši u prvih nekoliko sati od prijema i nije potrebno određivati rane markere. Preporuka je da se troponin određuje posle 6-og i 12-og sata po prijemu bolesnika. Ova strategija je efikasna i ekonomična jer smanjuje troškove vezane za zbrinjavanje bolesnika a ne pravi kompromise sa njegovim ishodom.

### Protokol uzimanja uzoraka

Ukoliko se primenjuje strategija »dva markera« IFCC C-SMCD preporučuje da se uzorci krvi uzimaju pri prijemu, kao i 4, 8 i 12 sati od prijema bolesnika (Tabela 1).

Tabela 1. Preporučena dijagnostička strategija i frekvencija uzimanja uzoraka za detekciju akutnog oštećenja miokarda uz korišćenje biohemijskih markera (10)

Marker	Frekvencija uzimanja uzoraka			
	prijem	+ 4 sata	+ 8 sati	+ 12 sati ili naredno jutro
»rani«	X	X	(X)	
troponin	X	X	X	X

Na ovaj način se povezuje visoka prediktivnost za odbacivanje AIM u toku 4 sata po prijemu u bolnicu sa dijagnostičkim mogućnostima jednog pozitivnog rezultata za troponin koji povlači postavljanje dijagnoze nekroze miokarda bez neophodnosti kompletiranja redosleda uzimanja uzoraka u svakoj tački preporučene vremena uzimanja. Jedino ostaje sporno označavanje »nultog« vremena u protokolu, početak bola u grudima ili vreme dolaženja u bolnicu. Kod bolesnika sa velikim infarktima postoji tendencija da ne postoji velika razlika između ova dva vremena ali takođe i ne postoji dvoumljenje o njihovom prijemu u bolnicu. Kod bolesnika koji nemaju promene na EKG-u, a verovatno postoji malo oštećenje miokarda, i početak simptoma je u skladu sa »rastegljivo-bleđunjavom« ishemijskom miokarda. Nije neuobičajeno da ovi bolesnici imaju višestruke epizode bola u grudima koje traju satima i danima pre dolaska u bolnicu. Kod 15% ovih bolesnika postoji nepravilna procena vezana za »nulto« vreme. Preporuka je da se u redovnoj rutinskoj kliničkoj praksi uspostavi relativan odnos i prema vremenu početka simptoma, kao i vremenu dolaska u bolnicu s obzirom da se kombinacijom »ranog« i »kasnog« markera u svakom slučaju pokriva vreme infarkta (10).

### Izbor granica odlučivanja pri primeni troponina

Jedan od najvažnijih problema pri primeni srčanih specifičnih troponina je pravilno definisanje granica odlučivanja. Osnovno pitanje koje se postavlja je: »Koliko nekroze je potrebno za postavljanje dijagnoze AIM?«. Prema najčistijem fiziološkom značenju, odgovor je da bilo koja nekroza koju je moguće detektovati predstavlja AIM. Iz ovoga proizilazi da su čak i mala povećanja specifičnih markera oštećenja miokarda, kao što su srčani troponini indikacija značajnog oštećenja, kao i da je povišena koncentracija markera u korelaciji sa rizikom, a što je u skladu sa konceptom kontinuiranog oštećenja u AKS-u. Postoji jasan dokaz o tome da je bilo koja koncentracija srčanog troponina koja može da se detektuje udružena sa povećanim rizikom nastanka novih nepovoljnih srčanih događaja. Iz danas raspoloživih podataka je poznato da ne postoji granica ispod koje je povećanje troponina bezopasno, kao i da nije udruženo sa negativnim implikacijama za prognozu. FRISC studijom (*Fragmin During Instability in Coronary Artery Disease*) iz 1996. godine je pokazano da postoji kontinuiran odnos između koncentracije cTnT i rizika kliničkih događaja (20). Nedavna FRISC-II studija (21) je potvrdila da se optimalna procena rizika kod bolesnika sa AKS postiže sa »cut-off« koncentracijom oko detekcionog limita određivanja cTnT (0,03 µg/L) ume-sto više »cut-off« koncentracije koju preporučuje proizvođač (0,10 µg/L). Slični rezultati su dobijeni i za cTnI u TIMI-IIIIB (*Thrombolysis in Myocardial Infarction*) ispitivanju (22), što je nedavno potvrđeno u TIMI-IIB substudiji (5).

Na osnovu svih ovih podataka, kao što je već navedeno, konsenzus dokument (9) definiše nekrozu miokarda kao povećanje vrednosti srčanog troponina iznad gornje granice normalne zdrave populacije i to iznad 99-te percentilne vrednosti distribucije. U dokumentu je posebno naglašeno da se primenom novog dijagnostičkog kriterijuma bolesnici jednostavno ne svrstavaju kao »infarkt miokarda«, već pre kao bolesnici sa oboljenjem koronarnih arterija kod kojih stepen nekroze miokarda treba jasno da se definiše kao mikroskopski, mali, srednji ili veliki i ako je moguće da se uporedi sa tekućom levom ventrikularnom funkcijom. Međutim, tačno razdvajanje između »manjeg« oštećenja miokarda i analitičkog »šuma« zahteva da se metode za određivanje troponina odlikuju visokom preciznošću pri niskim koncentracijama. IFCC C-SMCD preporučuje da se u kliničkoj praksi troponin određuje tako da ukupna nepreciznost, izražena kao koeficijent varijacije (Kv) bude niža od 10% na AIM nivou odlučivanja (10). Ovo predstavlja veliki zahtev za proizvođače testova za određivanje troponina s obzirom da oni treba da zadovolje neophodnu preciznost kako bi se održala primena preporučenog »cut-off«-a od 99-e percentilne vrednosti referentne populacije. Podaci iz prakse pokazuju da veliki broj komercijalno dostupnih testova za određivanje tropon-

ina ne mogu da postignu Kv od 10% za 99-u percentilnu vrednost. Iz ovih razloga, pri odlučivanju o izboru komercijalnog testa kojim će se određivati troponin treba se rukovoditi gore navedenim zahtevima o jasno određenoj 99-oj percentilnoj vrednosti, kao i da Kv za tu vrednost bude niži od 10% (23-25). Sa praktične tačke gledišta i u kontekstu kliničke prakse preporučuje se da proizvođači koji ne mogu da zadovolje ove zahteve kao »cut-off« vrednost preporučuju najnižu vrednost pri kojoj se postiže Kv od 10%; međutim, ovo utiče na ukupnu kliničku osetljivost određivanja.

### Specifičnost imunoodređivanja markera

Srčani proteini se određuju različitim metodama koje se zasnivaju na imunoodređivanju a koje koriste antitela koja su usmerena ka različitim epitopima na odgovarajućim antigenima. Ovo ima za posledicu da se dobijaju različiti rezultati primenom različitih sistema i generacija testova. Na primer, rezultati za cTnI određen različitim analitičkim metodama iz istog uzorka mogu da se razlikuju između sebe i za 60 puta (26). Antitela u različitim metodama se vezuju za različite epitope pa se i mere različiti delovi cTnI. cTnI se oslobađa prevashodno kao binarni kompleks sa troponinom C (IC kompleks), mada je prisutan u krvi i u slobodnoj formi. Takođe, cTnI se oslobađa u oksidovanom i redukovanom obliku. Na aminoterminalnom delu sadrži dve serinske grupe koje mogu da se fosforilišu što menja strukturu i konformaciju molekule koja dovodi do interakcije nekih antitela sa antigenom. Amino i karboksiterminalni delovi molekule su osetljivi na proteolizu i ova razgradnja zavisi od stepena tkivne ishemije. Antitela koja se koriste u pouzdanim komercijalnim testovima prevashodno treba da prepoznaju epitope na koje ne utiče stvaranje IC kompleksa, fosforilacija i druge *in vivo* modifikacije, i da se koristi stabilan deo cTnI molekule. Jedan deo lažno pozitivnih rezultata se dobija zbog interferencije antigen-antitelo reakcije u različitim »sendvič« imunoodređivanjima koja potiče od reumatoidnog faktora i humanih anti-mišijih antitela (»heterofilna« antitela) (27).

### Standardizacija određivanja biohemijских srčanih markera

Programi standardizacije laboratorijskih metoda za određivanje srčanih markera imaju za cilj postizanje bolje komparabilnosti rezultata i uključuju pripremu primarnih referentnih materijala, kao i sekundarnih »matriks« referentnih materijala. Sekundarni »matriks« referentni materijal može direktno da se koristi u svim raspoloživim imunoodređivanjima i predstavlja »pool« seruma pacijenata obogaćen odgovarajućim antigenom/antigenima koji mogu da budu prečišćeni proteini ili »pool« seruma pacijenata koji sadrži odgovarajući antigen/antigene u povišenoj koncentraciji (8, 27).

S obzirom da za cTnI ne postoji »konsenzus« standard svaki proizvođač u pripremi svoga standarda

koristi različite postupke prečišćavanja i vrstu kalibracionog antigena (prečišćen slobodan cTnI ili cTnI u kompleksu sa troponinom C i T) što vodi neslaganju između testova (28). Takođe, neslaganje između metoda će biti manje ukoliko se za kalibraciju koristi standard koji predstavlja prirodnu formu antigena. Oblici cTnI koji se sreću u kalibratorima mogu da budu: prirodna slobodna forma, rekombinativna slobodna forma, rekombinativni binarni ili ternarni kompleks, *in vitro* dobijeni ternarni kompleks i prirodni ITC kompleks prečišćen iz humanog srčanog tkiva. Najmanje odstupanje između metoda se postiže ako se za kalibraciju koristi prirodni ternarni ITC kompleks (29). Glavna korist od standardizacije je mogućnost dobijanja unificiranih referentnih intervala i granica odlučivanja.

Mada se za određivanje cTnT koristi komercijalni test reagens samo od jednog proizvođača postoje slični problemi vezani za standardizaciju. Koncentracija cTnT koja je služila za identifikaciju oštećenja miokarda je od početne vrednosti od 0,50 µg/L smanjena na vrednost od 0,06 µg/L koja je korišćena u FRISC studiji (20). Sa svakom novom generacijom testova (sada je u upotrebi četvrta generacija testova) za određivanje cTnT, menjale su se i gornje granice referentnog intervala s obzirom da je povećavana analitička osetljivost. Međutim poboljšanja su dovela i do dijagnostičke konfuzije (27).

Problemi vezani za standardizaciju postoje i kod metoda za određivanje mioglobina s obzirom da nema prihvaćenog referentnog materijala i referentne metode. Trenutni naponi od strane IFCC C-SMCD su usmereni na odabir sekundarnog referentnog materijala koji će omogućiti harmonizaciju rezultata za različite metode određivanja mioglobina (8). Preporučena vrednost za ukupnu nepreciznost na granici odlučivanja za AIM za određivanje mioglobina treba da bude niža od 6% (6).

### Preanalitičke varijacije

Na određivanje srčanih markera utiče vreme i temperatura čuvanja, kao i upotreba različitih antikoagulanasa. *In vitro* stabilnost cTnI zavisi od primenjene metode i najbolja stabilnost se postiže u metodama koje koriste monoklonska antitela koja prepoznaju centralni deo molekule cTnI (30).

IFCC C-SMCD preporučuje plazmu umesto seruma s obzirom da se time eliminiše dodatno vreme potrebno za koagulaciju, a što utiče na smanjenje ukupnog preanalitičkog vremena (6). Međutim, saopštene su razlike u koncentraciji srčanih markera između seruma i plazme pri korišćenju različitih analitičkih sistema (23, 31-32).

### **Dodatna primena srčanih biohemijskih markera**

Povećanjem broja novih postupaka lečenja bolesnika sa AKS, procena rizika dobija centralnu ulogu u početnoj evaluaciji ovih bolesnika. Najvažniji cilj u ovakvom pristupu je odlučivanje o primeni agresivnije antitrombotičke i intervencione terapije kod bolesnika sa većim rizikom. U poslednje dve decenije prilaz u proceni rizika se proširio i na evaluaciju rezidualne ishemije, kao i na levu ventrikularnu disfunkciju posle infarkta miokarda. Međutim, procena rizika danas uključuje i procenu rizika nastanka novih srčanih događanja koji mogu da se predvide na osnovu kliničkog stanja pri prijemu na urgentno odeljenje (33). Ovakav prilaz je doveo i do promena u nomenklaturi AKS od Q-talas/neQ talas infarkt miokarda (MI) do ST-povećanje MI (STEMI) naspram ne-STEMI. Ova promena je bila neophodna zbog potrebe primene hitne reper-

fuzione terapije kod STEMI bolesnika (34). Prema tome, procena rizika predstavlja osnovu u početnoj evaluaciji bolesnika sa AKS pošto će i tretman biti različit u zavisnosti od njihovog rizika. Jedna od prvih studija u kojoj je primena nove terapije kod bolesnika sa nestabilnom anginom (UA) ili ne-ST povećanjem MI (UA/NSTEMI) zavisila od procene njihovog rizika je bila studija Lindahl-a i saradnika (20). Korist koju su imali bolesnici kod kojih je primenjen niskomolekulski heparin u poređenju sa placebo grupom je bila samo u grupi bolesnika kod kojih je bila povišena koncentracija troponina. Ova studija je uslovlila niz novih studija koje su ukazale na korisnost primene nove terapije kao što su enoksiparin naspram nefrakcionisanog heparina (5), IIb/IIIa inhibitori naspram placebo (35-38), rana invazivna naspram konzervativne strategije (39-41) kod bolesnika sa povišenim troponinom. Kod troponin negativnih bolesnika nije bilo razlike u primenjenoj terapiji.

## STRATEGY OF IFCC STANDARDIZATION AND USE OF CARDIAC MARKERS IN ACUTE CORONARY SYNDROMES

*Svetlana Ignjatović*

*Institute of Medical Biochemistry, Clinical Center of Serbia and School of Pharmacy, University of Belgrade, Belgrade, Serbia&Montenegro*

*Summary:* Although the use of troponin to diagnose acute myocardial infarction (AMI) has been previously proposed, the Committee on Standardization of Markers of Cardiac Damage (C-SMCD) of the International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (IFCC) made a recommendation in 1999 to expand on the enzyme diagnostic criteria for AMI to include cardiac-specific proteins. In September 2000, a joint committee of the European Society of Cardiology and the American College of Cardiology (ESC/ACC) published a new definition of AMI that for first time officially included troponin. According to these criteria, as the best biochemical indicator for detecting myocardial necrosis is »a concentration of cardiac troponin exceeding the decision limit (defined as the 99<sup>th</sup> percentile of a reference control group) on at least one occasion during the first 24 hours after the onset of clinical event«. The use of creatine kinase MB (CK-MB), measured by mass assays, is still considered as an acceptable alternative only if cardiac troponin assays are not available. It is very important to standardize the clinical use of troponin in diagnosis and management of acute coronary syndromes and to clearly define decision thresholds. Two strategies have competed as the most appropriate for the use of new markers. The first relies on the use of a combination of two markers – a rapid rising marker, such as myoglobin, and a marker that takes longer to rise but is more specific, such as cardiac troponin – to enable detection of AMI in patients who present early and late after symptom onset. In the second strategy, only measurement of cardiac troponin is suggested. One of the most important problems in the practical use of the cardiac-specific troponin is the right definition of decision limits. As diagnostic cut-off for clinical use, the IFCC C-SMCD recommends for troponin assays a total imprecision, expressed as coefficient of variation (CV), of <10% at the 99<sup>th</sup> percentile of a reference control group. For troponin assays that cannot presently meet the 10% CV at the 99<sup>th</sup> percentile value, a predetermined higher concentration that meets this imprecision goal should be used as cut-off for AMI until the goal of a 10% CV can be achieved at the 99<sup>th</sup> percentile. It is very important that clinically relevant biomarker, such as cardiac troponin, on which critical decisions will rest, can be measured with highly reliable and standardized methods. There are problems in assay standardization, imprecision, interference, and of pre-analytical variability. Cardiac troponin is currently the most sensitive and specific biochemical marker of myocardial damage and is the best marker for diagnosis, risk stratification, and guidance of therapy in acute coronary syndromes.

*Key words:* cardiac troponin, standardization, acute coronary syndromes

## Literatura

1. 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.
2. Storrow AB, Gibler WB. Chest pain centers: diagnosis of acute coronary syndromes. *Ann Emerg Med* 2000; 35: 449-61.
3. Morrow DA, Rifai N, Antman EA, Weiner DL, McCabe CH, Cannon CP, Braunwald E. C-Reactive protein is a potent predictor of mortality independently of and in combination with troponin T in acute coronary syndromes: a TIMI 11A substudy. *J Am Coll Cardiol* 1998; 31: 1460-5.
4. Lindahl B, Toss H, Siegbahn A, Venge P, Wallentin L. Markers of myocardial damage and inflammation in relation to long-term mortality in unstable coronary artery disease. *N Engl J Med* 2000; 343: 1139-47.
5. Morrow DA, Antman EA, Tanasijevic M, Rifai N, de Lemos JA, McCabe CH, Cannon CP, Braunwald E. Cardiac troponin I for stratification of early outcomes and the efficacy of Enoxaparin in unstable angina: A TIMI-11B substudy. *J Am Coll Cardiol* 2000; 36: 1812-7.
6. Panteghini M, Apple FS, Christenson RH, Dati F, Mair J, Wu AH. Use of biochemical markers in acute coronary syndromes. IFCC Scientific Division, Committee on Standardization of Markers of Cardiac Damage. *Clin Chem Lab Med* 1999; 37: 687-93.
7. Panteghini M, Apple FS, Christenson RH, Dati F, Mair J, Wu AH. Proposals from IFCC committee on standardization of markers of cardiac damage (C-SMCD): recommendations on use of biochemical markers of cardiac damage in acute coronary syndromes. *Scan J Clin Lab Invest* 1999; 59: 103-12.
8. Dati F, Panteghini M, Apple FS, Christenson RH, Mair J, Wu AH. Proposals from IFCC committee on standardization of markers of cardiac damage (C-SMCD): strategies and concepts on standardization of cardiac marker assays. *Scan J Clin Lab Invest* 1999; 59: 113-23.
9. 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. *J Am Coll Cardiol* 2000; 36: 959-69.
10. Panteghini M. Recommendations on use of biochemical markers in acute coronary syndrome: IFCC proposals. *eJIFC* 2003; 13/2.
11. De Winter RJ, Koster RW, Sturk A, Sanders GT. Value of myoglobin, troponin T, and CK-MB mass in ruling out an acute myocardial infarction in the emergency room. *Circulation* 1995; 92: 3401-7.
12. Montague C, Kircher T. Myoglobin in the early evaluation of acute chest pain. *Am J Clin Pathol* 1995; 104: 472-6.
13. Panteghini M, Altinier S, Dolci A, Pagani F, Pergolini P, Vernocchi A, et al. Multicenter evaluation of five methods for myoglobin determination. *Clin Chem* 1998; 44: Suppl: A121.
14. McCord J, Nowak RM, McCullough PA, Foreback C, Borzak S, Tokarski G, et al. Ninety-minute exclusion of acute myocardial infarction by use of quantitative point-of-care testing of myoglobin and troponin I. *Circulation* 2001; 104:1483-8.
15. Puleo PR, Meyer D, Wathen C, Tawa C, Wheeler S, Hamburg RJ, et al. Use of a rapid assay of subforms of creatine kinase MB to diagnose or rule out acute myocardial infarction. *N Engl J Med* 1994; 331: 561-6.
16. Rabitzsch G, Mair J, Lechleitner P, Noll F, Hofmann U, Krause EG, et al. Immunoenzymometric assay of human glycogen phosphorylase isoenzyme BB in diagnosis of ischemic myocardial injury. *Clin Chem* 1995; 41: 966-78.
17. Glatz JFC, van der Vusse GJ, Simoons ML, Kragten JA, van Dieijen-Visser MP, Hermens WT. Fatty acid-binding protein and the early detection of acute myocardial infarction. *Clin Chim Acta* 1998; 272: 87-92.
18. Apple FS, Quist HE, Otto AP, Mathews WE, Murakami MM. Release characteristics of cardiac biomarkers and ischemia-modified albumin as measured by the albumin cobalt-binding test after a marathon race. *Clin Chem* 2002;48: 1097-100.
19. Bhagavan NV, Lai EM, Rios PA, Yang J, Ortega-Lopez AM, Shinoda H, et al. Evaluation of human serum albumin cobalt binding assay for the assessment of myocardial ischemia and myocardial infarction. *Clin Chem* 2003; 49: 581-5.
20. Lindahl B, Venge P, Wallentin L, for the FRISC Study Subgroup. Relation between troponin T and the risk of subsequent cardiac events in unstable coronary artery disease. *Circulation* 1996; 93: 1651-7.
21. Lindahl B, Diderholm E, Lagerquist B, Venge P, Wallentin L, FRISC II investigators. Mechanism behind the prognostic value of troponin T in unstable coronary artery disease: a FRISC II Substudy. *J Am Coll Cardiol* 2001; 38: 979-86.
22. The TIMI IIIB Investigators. Effects of tissue plasminogen activator and a comparison of early invasive and conservative strategies in unstable angina and non-Q-wave myocardial infarction: results of the TIMI IIIB trial (Thrombolysis in Myocardial Ischemia). *Circulation* 1994; 89: 1545-56.
23. Uetwiller-Geiger D, Wu A, Apple F, Jevans A, Venge P, Olson M, Dart C, Woodrum D, Roberts S, Chan S. Multicenter evaluation of an automated assay for Troponin I. *Clin Chem* 2002; 48: 869-76.
24. Clerico A. The increasing impact of laboratory medicine on clinical cardiology. *Clin Chem Lab Med* 2003; 41: 871-83.

25. Apple F, Quist H, Doyle P, Otto A, Murakami M. Plasma 99th percentile reference limits for cardiac troponin and creatine kinase MB mass for use with European society of Cardiology/American College of Cardiology consensus recommendations. *Clin Chem* 2003; 49: 1331-6.
26. Tate JR, Heathcote D, Rayfield J, et al. The lack of standardization of cardiac troponin I assay systems. *Clin Chim Acta* 1999; 284: 141-9.
27. Panteghini M. Recent approaches in standardization of cardiac markers. *Clin Chim Acta* 2001; 311: 19-25.
28. Apple FS. Clinical and analytical standardization of human cardiac troponin I. *Clin Chem* 1999; 45: 18-20.
29. Katrukha A, Bereznikova A, Pettersson K. New approach to standardization of human cardiac troponin I (cTnI). *Scand J Clin Lab Invest* 1999; 59(suppl. 230): 124-7.
30. Katrukha A, Bereznikova A, Filatov V, et al. Degradation of cardiac troponin I: implication for reliable immunodetection. *Clin Chem* 1998; 44: 2433-40.
31. Gerhardt W, Nordin G, Herbert A-K, Linaker Burzell B, Isaksson A, Gustavsson E, Haglund S, Muller-Bardorff M, Katus H. Troponin T and I Assays Show Decreased concentrations in heparin plasma compared with serum: lower recoveries in early than in late phases of myocardial injury. *Clin Chem* 2000; 46: 817-21.
32. Panteghini M, Gerhardt W, Apple F, Dati F, Ravkilde J, Wu A. Quality specifications for cardiac troponin assays. *Clin Chem Lab Med* 2001; 39: 174-8.
33. Cannon CP. Evidence-based risk stratification to target therapies in acute coronary syndromes. *Circulation* 2002; 106: 1588-91.
34. Braunwald E, Antman EM, Beasley JW, Califf RM, Cheitlin MD, Hochman JS, Kereiakes D, Kupersmith J, Levin TN, Pepine CJ, Schaeffer JW, Smith EE, Steward DE, Theroux P. ACC/AHA guideline update for the management of patients with unstable angina and non-ST segment elevation myocardial infarction: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines (Committee on the Management of Unstable Angina). *Circulation* 2002; 106: 1893-900.
35. Hamm CW, Heesch C, Goldmann B, et al. Benefit of abciximab in patients with refractory unstable angina in relation to serum troponin T levels. *N Engl J Med* 1999; 340: 1623-9.
36. Heesch C, Hamm CW, Goldmann B, et al. Troponin concentrations for stratification of patients with acute coronary syndromes in relation to therapeutic efficacy of tirofiban. *Lancet* 1999; 354: 1757-62.
37. Newby LK, Ohman EM, Christenson RH, et al. Benefit of glycoprotein IIb/IIIa inhibition in patients with acute coronary syndromes and troponin T-positive status: the paragon-B troponin T substudy. *Circulation* 2001; 103: 2891-6.
38. Januzzi JL, Chai CU, Sabatine MS, et al. Elevation in serum troponin I predicts the benefit of tirofiban. *J Thromb Thrombolysis* 2001; 11: 211-5.
39. Morrow DA, Cannon CP, Rifai N, et al. Ability of minor elevations of troponin I and T to predict benefit from an early invasive strategy in patients with unstable angina and non-ST elevation myocardial infarction: results from a randomized trial. *JAMA* 2001; 286: 2405-12.
40. Cannon CP, Weintraub WS, Demopoulos LA, et al. Comparison of early invasive and conservative strategies in patients with unstable coronary syndromes treated with the glycoprotein IIb/IIIa inhibitor tirofiban. *N Engl J Med* 2001; 344: 1879-87.
41. Diderholm E, Andren B, Frostfeldt G, et al. The prognostic and therapeutic implications of increased troponin T levels and ST depression in unstable coronary artery disease: the FRISC II invasive troponin T electrocardiogram substudy. *Am Heart J* 2002; 143: 760-7.

*Rad primljen: 15. 09. 2003.*

*Prihvaćen za štampu: 05. 11. 2003.*