

# Razina inaktivnog matriks Gla proteina u bolesnika s akutnim infarktom miokarda

---

**Bilalić, Admira**

**Doctoral thesis / Disertacija**

**2023**

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

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:171:313632>

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

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-06-30**



*Repository / Repozitorij:*

[MEFST Repository](#)



**SVEUČILIŠTE U SPLITU**  
**MEDICINSKI FAKULTET**

**Admira Bilalić, dr. med.**

**RAZINA INAKTIVNOG MATRIX GLA PROTEINA U BOLESNIKA S**  
**AKUTNIM INFARKTOM MIOKARDA**

**DOKTORSKA DISERTACIJA**

**SPLIT, 2023.**

Disertacija je izrađena u Klinici za bolesti srca i krvnih žila Kliničkog bolničkog centra Split

**Voditeljica rada:** prof. dr. sc. Tina Tičinović Kurir, dr. med.

## **Zahvala**

Zahvaljujem svojoj obitelji na podršci i strpljenju.

Zahvaljujem svojoj mentorici prof. dr. sc. Tini Tičinović Kurir na podršci i savjetima u cjelokupnom postupku nastanka ove disertacije.

Zahvaljujem svim kolegama koji su skupa sa mnom sudjelovali u izradi ovog rada.

## SADRŽAJ

1. UVOD .....	1
1.1. Akutni koronarni sindrom .....	2
1.1.1. Definicija.....	2
1.1.2. Epidemiologija.....	2
1.1.3. Podjela infarkta miokarda .....	4
1.2. Patofiziologija koronarne bolesti srca .....	7
1.3. Klinička prezentacija i komplikacije infarkta miokarda.....	11
1.4. Liječenje .....	13
1.5. Procjena rizika smrti i krvarenja u infarktu miokarda.....	16
1.6. Matriks Gla protein u koronarnoj bolesti srca .....	22
2. CILJEVI I HIPOTEZE ISTRAŽIVANJA .....	28
3. ISPITANICI I POSTUPCI .....	31
3.1. Ispitanici .....	32
3.2. Postupci .....	33
3.2.1. Anamneza, klinički pregled, antropometrijska mjerenja .....	33
3.2.2. Uzorkovanje krvi i laboratorijske analize .....	33
3.2.3. Invazivna kardiološka obrada .....	34
3.2.4. Transtorakalna ehokardiografija .....	34
3.3. Statistički postupci.....	35
3.3.1. Izračun veličine uzorka .....	36
4. REZULTATI .....	37
5. RASPRAVA.....	56
6. ZAKLJUČCI .....	62
7. SAŽETAK.....	65
8. SUMMARY .....	68
9. LITERATURA .....	71
10. ŽIVOTOPIS .....	91

## POPIS OZNAKA I KRATICA

ACC - Američka udruga za kardiologiju (engl. *American College of Cardiology*)

ACE - angiotenzin konvertirajući enzim

ACS - akutni koronarni sindrom (engl. *acute coronary syndrome*)

AHA - Američko kardiološko društvo (engl. *American Heart Association*)

ANOVA - analiza varijance (engl. *Analysis of Variance*)

APTV - aktivirano parcijalno tromboplastinsko vrijeme

ATP - adenzin trifosfat

ARB - angiotenzin receptor blokator

BMP 2 - koštani morfogenetski protein 2 (engl. *Bone morphogenetic protein 2*)

CABG - aorto-koronarno premoštenje (engl. *Coronary Artery Bypass Graft*)

CAC - kalcifikacija koronarnih arterija (engl. *Coronary Artery Calcification*)

CAD - koronarna arterijska bolest (engl. *Coronary Artery Disease*)

CLIA - imunokemijska kemiluminiscencija (engl. *Chemiluminescence Immunoassay Assay*)

CMIA - imunokemijska kemiluminiscencija mikročesticama (engl. *Chemiluminescent Microparticle Immunoassay Assay*)

CRP - C reaktivni protein (engl. *C Reactive Protein*)

CRUSADE - bodovna ljestvica za procjenu neželjenih krvarećih događaja u pacijenata s nestabilnom anginom (engl. *Can Rapid Risk Stratification of Unstable Angina Patients Suppress Adverse Outcomes With Early Implementation of the ACC/AHA Guidelines*)

DM - šećerna bolest (lat. *diabetes mellitus*)

Dp-ucMGP - defosforilizirani nekarboksilizirani matrix Gla protein

EKG - elektrokardiogram

ESC - Europsko kardiološko društvo (engl. *European Society of Cardiology*)

GRACE - globalni registar akutnih koronarnih događaja (engl. *Global Registry of Acute Coronary Events*)

hsTn - visoko osjetljivi troponin (engl. *High Sensitive Protein*)

IDIS ISYS - imunodijagnostički sustav (engl. *Immunodiagnostic Systems*)

KOBP - kronična opstruktivna bolest pluća

KV - kardiovaskularni

KVB - kardiovaskularna bolest

LP-A - lipoprotein A

MGP - matrix Gla protein

NYHA - Udruženje kardiologa New Yorka (engl. *New York Heart Association*)

NSTEMI - infarkt miokarda bez ST elevacije (engl. *Non ST Elevation Myocardial Infarction*)

PCI - perkutana koronarna intervencija (engl. *Percutaneous Coronary Intervention*)

PV - protrombinsko vrijeme (engl. *Prothrombin Time*)

RAAS - renin angiotenzin aldosteronski sustav (engl. *Renin Angiotensin Aldosteron System*)

STEMI - infarkt miokarda sa ST elevacijom (engl. *ST Elevation Myocardial Infarction*)

TGF  $\beta$  - transformirajući čimbenik rasta beta (engl. *Transforming Growth Factor Beta*)

VF - ventrikulska fibrilacija (engl. *Ventricular Fibrillation*)

## **1. UVOD**

1



## 1.1. Akutni koronarni sindrom

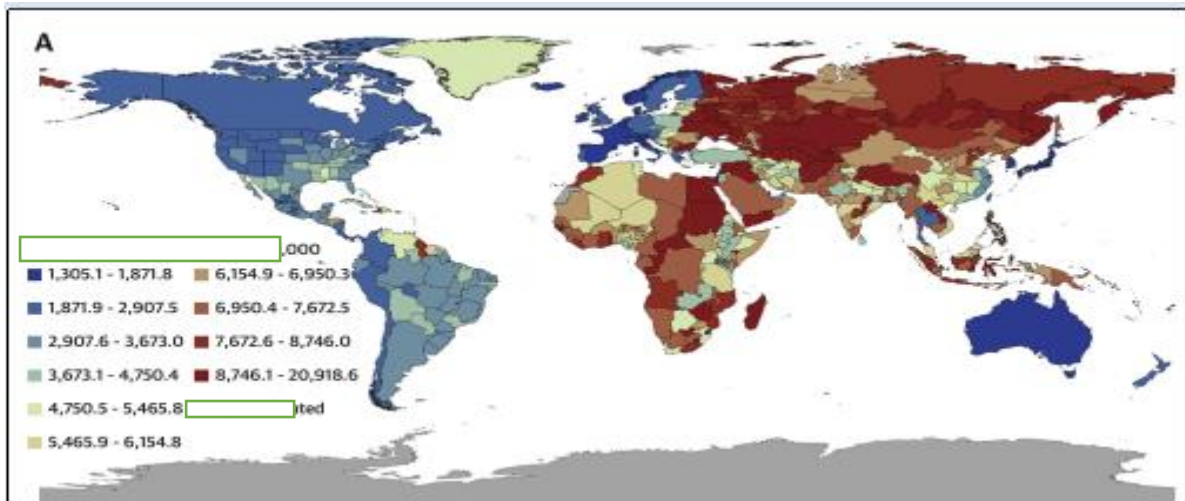
### 1.1.1. Definicija

Akutni koronarni sindrom (engl. *Acute Coronary Syndrome*, ACS) predstavlja spektar kliničkih stanja povezanih sa smanjenim ili zaustavljenim protokom krvi kroz koronarne arterije (1). Prema dogovoru Europskog i Američkog kardiološkog društva iz 2000. godine, ACS se dijeli na tri klinička entiteta - nestabilnu anginu pektoris, infarkt miokarda bez elevacije ST-segmenta (engl. *Non ST-Elevation Myocardial Infraction*, NSTEMI) te infarkt miokarda s elevacijom ST-segmenta (engl. *ST-Elevation Myocardial Infraction*, STEMI) (2). Pod akutni koronarni sindrom sa ST elevacijom (engl. *ST-Segment Elevation Acute Coronary Syndrome*, STE-ACS) svrstava se STEMI, dok se u akutni koronarni sindrom bez ST elevacije (engl. *Non ST-Elevation Acute Coronary Syndrome*, NSTEMI) svrstavaju NSTEMI i nestabilna angina pektoris (2). Osnovni patofiziološki poremećaj u ACS-u jest ateroskleroza koronarnih arterija s posljedičnom okluzijom ili stenozom koronarne arterije. Vodeći je simptom u većine bolesnika s ACS-om novonastala prekordijalna bol, no može se prezentirati različitim poremećajima srčanog ritma, hemodinamskom nestabilnošću do kardiogenog urušaja i srčanog zastoja (3, 4).

### 1.1.2. Epidemiologija

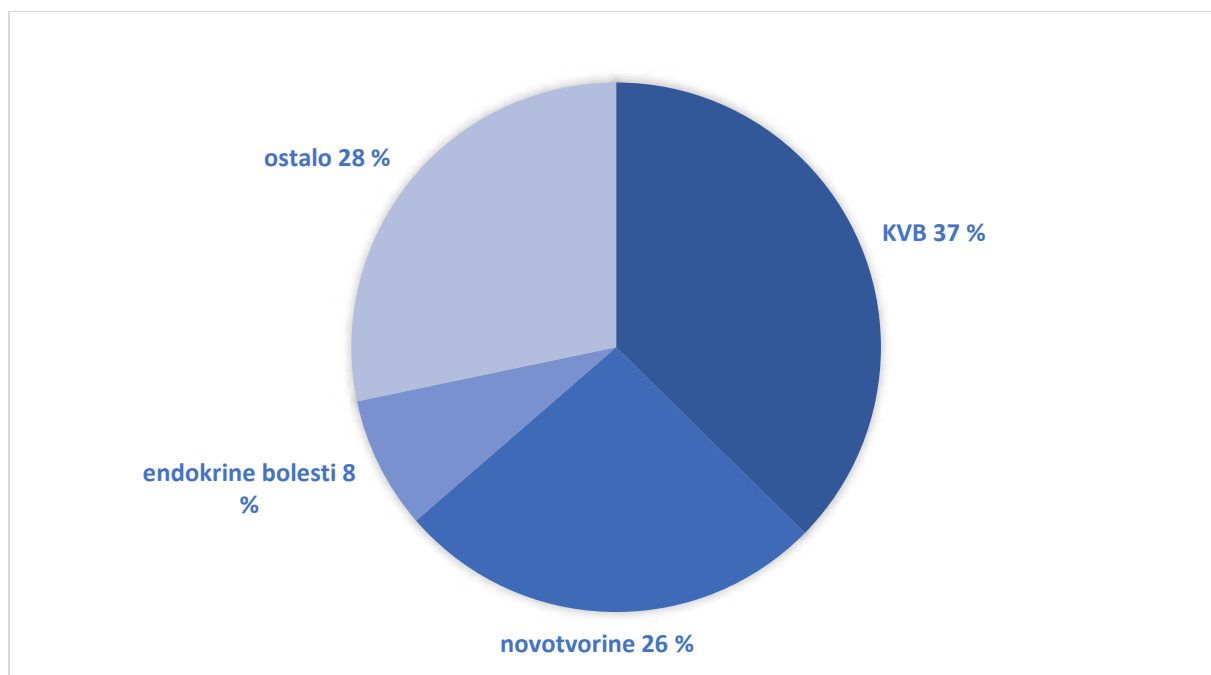
Kardiovaskularne su bolesti (KVB) veliki javnozdravstveni problem i vodeći uzrok smrtnosti u svijetu (**Slika 1**). Prema posljednjim podacima, KVB su odgovorne za 18,6 milijuna smrti godišnje, od čega je 38 % preminulih osoba u dobi do 70-te godine života, a procjenjuje se da će se broj umrlih povećati na 23 milijuna godišnje do 2030. godine (5). Najčešći su uzroci smrtnosti akutni infarkt miokarda i ishemijska bolest srca (5, 6). Prema posljednjim podacima, akutni se infarkt miokarda dijagnosticira u oko sedam milijuna ljudi godišnje, a od toga STEMI u više od tri milijuna ljudi (7). Brojne su epidemiološke studije potvrdile povezanost predisponirajućih čimbenika rizika s razvojem KVB-a. Čimbenici rizika mogu se podijeliti na promjenjive i nepromjenjive. U nepromjenjive čimbenike ubrajaju se dob, spol, pozitivna obiteljska anamneza na KVB te genetska predispozicija. Najznačajniji promjenjivi čimbenici rizika na koje se može utjecati su arterijska hipertenzija, dislipidemija, šećerna bolest, prekomjerna tjelesna težina i pušenje (8, 9). Zahvaljujući poboljšanju u liječenju akutnog infarkta miokarda brojni epidemiološki podaci pokazuju značajno smanjenje mortaliteta od ACS-a (10-13). Smanjenju stope mortaliteta osoba s ACS-om posebice je doprinijela veća

dostupnost revaskularizacije, napredak u antiagregacijskoj i antikoagulacijskoj terapiji te poboljšanja u sekundarnoj prevenciji, posebice veća uporaba statina (7, 14).



**Slika 1.** Incidencija kardiovaskularnih bolesti diljem svijeta (preuzeto i prilagođeno prema Vaduganathan M, Mensah GA, Turco JV, Fuster V, Roth GA. The Global Burden of Cardiovascular Diseases and Risk: A Compass for Future Health. J Am Coll Cardiol. 2022 20; 80(25):2361-71).

Prema posljednjem izvješću, u Republici Hrvatskoj u 2021. godini, 23 184 osobe (36,97 %) umrle su od KVB-a, čineći ga najčešćim uzrokom smrti unatoč tome što je udio smrti relativno pao u odnosu na 2020. godinu kada su kardiovaskularne bolesti uzrokovale 22 817 smrti (40,00 %) (**Slika 2**). Vodeći uzrok kardiovaskularne smrti bila je ishemijska bolest srca (7 893 osobe), potom cerebrovaskularna bolest (5 018 osoba) i akutni infarkt miokarda (3 010 osoba) (15). Unatoč trendu smanjenja smrtnosti od kardiovaskularnih bolesti, u usporedbi s drugim europskim zemljama, Hrvatska još uvijek spada među zemlje koje imaju veće stope smrtnosti od prosjeka Europske Unije (EU). Naime, prosječna stopa smrtnosti za Hrvatsku iznosi 572,8/100.000, a za zemlje EU 367,6/100.000 (16). KVB u Hrvatskoj predstavljaju značajan javnozdravstveni problem, zbog čega je izuzetno važno poduzeti sve preventivne mjere da se rizik razvoja i posljedična smrtnost od KVB-a pokušaju smanjiti, a u tom je smislu i prihvaćanje Europskog plana za kardiovaskularno zdravlje, kojemu je cilj smanjiti broj preuranjenih smrti za jednu trećinu do 2030. godine (16).



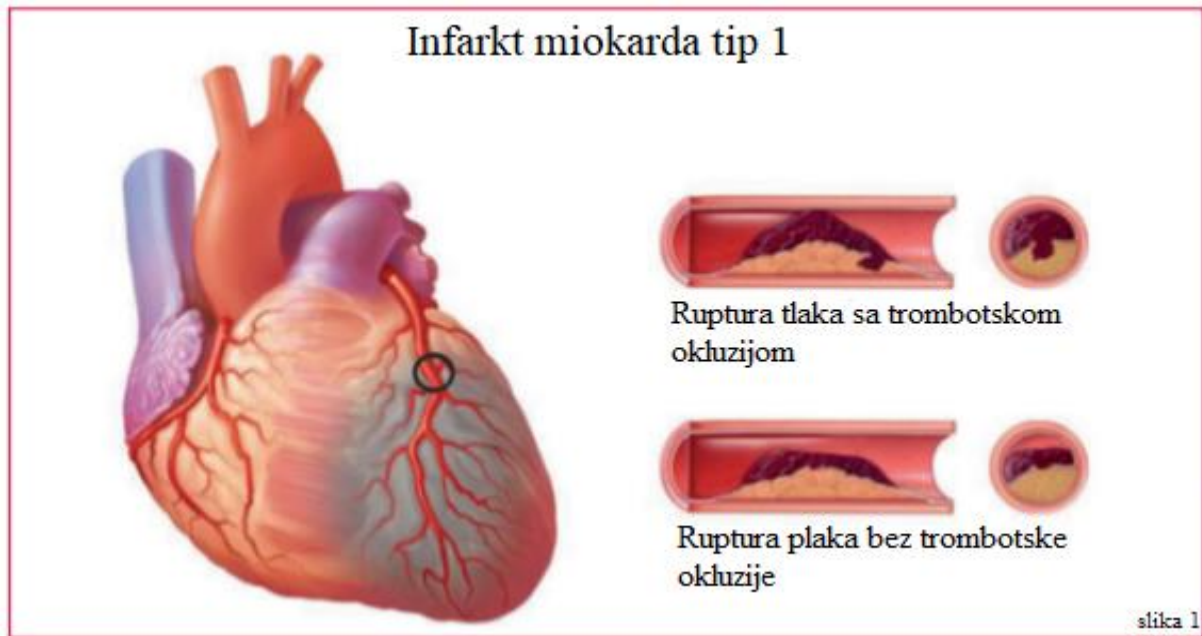
**Slika 2.** Uzroci smrti u Hrvatskoj 2021. godine (originalno izrađeno prema statističkim podacima HZJZ-a iz 2021. god.)

### 1.1.3. Podjela infarkta miokarda

Prvu klasifikaciju infarkta miokarda objavila je Svjetska zdravstvena organizacija 50-ih godina prošlog stoljeća prvenstveno na temelju elektrokardiografskih (EKG) kriterija i služila je u epidemiološke svrhe (1). Uvođenjem osjetljivih, specifičnih srčanih biomarkera, 2000. je godine izrađena nova klasifikacija koja se temelji na kliničkom pristupu, čime je redefiniran pojam IM-a. Ta je klasifikacija infarkta miokarda imala četiri izmjene i dopune, s posljednjom izmjenom objavljenom 2018. godine (1, 17). Prema posljednjoj, četvrtoj, univerzalnoj definiciji infarkt miokarda dijeli se u pet tipova.

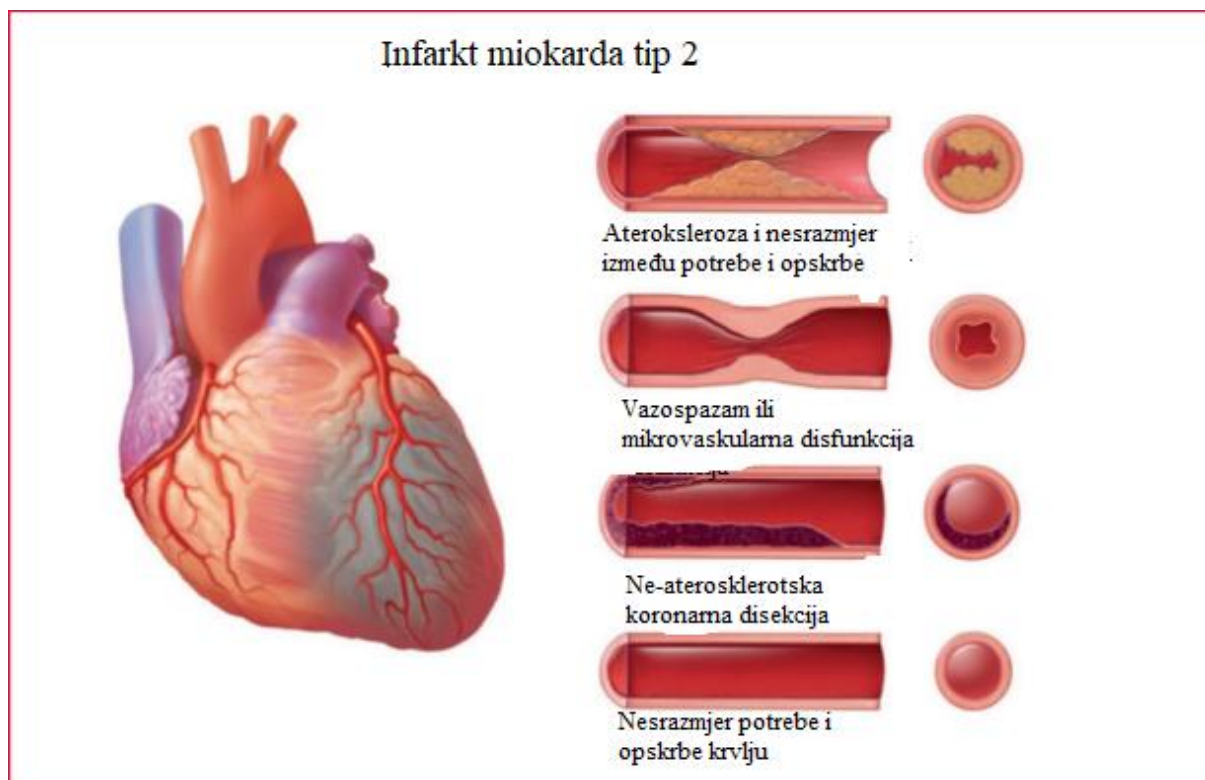
Tip 1 infarkta miokarda nastane uslijed ruptуре ili erozije aterosklerotskog plaka u koronarnoj arteriji (**Slika 3**). Ruptura i/ili erozija plaka s posljedičnim stvaranjem tromba može dovesti do potpune okluzije koronarne arterije i posljedične transmuralne ozljede miokarda, što će se prezentirati STEMI-jem. Nepotpuna okluzija koronarne arterije sa subepikardijalnom ozljedom miokarda prezentirat će se NSTEMI-jem. Kriteriji za postavljanje dijagnoze infarkta

miokarda tipa 1, osim porasta vrijednosti visoko osjetljivog troponina iznad 99. centile referentne vrijednosti, jest prisutnost jednog od sljedećih kriterija, a to su simptomi ishemije miokarda, novonastale ishemijske EKG promjene, razvoj Q zupca, slikovne metode koje potvrđuju gubitak vijabilnog miokarda ili novonastali ispadi kontraktilnosti srčanog mišića te verificiranje koronarnog ugruška angiografijom (17).



**Slika 3.** Patofiziološki mehanizam infarkta miokarda tip 1 (preuzeto i prilagođeno prema Thygesen K, Alpert JS, Jaffe AS, Chaitman BR, Bax JJ, Morrow DA i sur. Fourth Universal Definition of Myocardial Infarction (2018). *Circulation*. 2018; 138(20):618-51)

Tip 2 infarkta miokarda nastaje uslijed nesrazmjera između potrebe i opskrbe (engl. *Demand-Supply Mismatch*, DSM) miokarda krvlju (18, 19) (**Slika 4**). Tip 2 obuhvaća pet patofizioloških poremećaja: 1. Izolirani DSM; 2. DSM nadograđena na koronarnu žilu koja je aterosklerotski izmijenjena; 3. Vazospazam ili poremećaj koronarne mikrocirkulacije; 4. Ne-aterosklerotsku disekciju koronarne arterije; 5. Koronarnu emboliju od embolusa koji ne potječe iz koronarnih krvnih žila. Tip 2 nalazimo u 25 % svih slučajeva IM-a, a u čak 50 % bolesnika ne nalazimo znakove prethodne koronarne bolesti (11). Tip 2 češći je u ženskoj populaciji, a prema većini studija povezan je s lošijom prognozom od tipa 1 (18, 19).



**Slika 4.** Patofiziološki mehanizam infarkta miokarda tip 2. (preuzeto i prilagođeno prema Thygesen K, Alpert JS, Jaffe AS, Chaitman BR, Bax JJ, Morrow DA. i sur. Fourth Universal Definition of Myocardial Infarction (2018). *Circulation*. 2018; 138(20):618-51)

Tip 3 infarkta miokarda prezentira se tipičnom kliničkom slikom ishemije/infarkta miokarda uz novonastale EKG promjene ili malignu aritmiju (ventrikulsku fibrilaciju) kod kojih nastupi smrtni ishod prije no što se uspije uzorkovati krv i odrediti vrijednosti srčanih biomarkera. Dijagnoza ovog tipa infarkta miokarda najčešće se postavlja obdukcijom (18, 19).

Tip 4 infarkta miokarda nastane u bolesnika podvrgnutih perkutanoj koronarnoj intervenciji (engl. *Percutaneous Coronary Intervention* PCI), a dijelimo ga u tri vrste, ovisno o vremenu nastanka komplikacije te o samom patofiziološkom poremećaju koji je uvjetovao nastanak IM tipa 4 nakon PCI (17) : 1. Tip 4a – IM unutar 48 sati od PCI-ja; 2. Tip 4b – IM kao posljedica tromboze unutar endovaskularne proteze; 3. Tip 4c – restenoza unutar endovaskularne proteze ili suženje segmenta dilatiranog balonom.

Tip 5 infarkta miokarda nastane u bolesnika podvrgnutih aortokoronarnom premoštenju (engl. *Coronary Artery Bypass Graft* CABG) (18, 19).

## 1.2. Patofiziologija koronarne bolesti srca

Infarkt miokarda označava nekrozu srčanog mišića kao posljedicu ishemije. U koronarnoj arteriji obično nastaje ruptura ili erozija aterosklerotskog plaka uz razvoj tromba koji onemogućava krvni protok s posljedičnom ishemijom i ozljedom miokarda. U STEMI-ju se radi o transmuralnoj nekrozi za razliku od NSTEMI-ja u kojem su zahvaćeni subendokardijalni dijelovi miokarda. Patofiziološki mehanizmi u nastanku STEMI-ja i NSTEMI-ja su različiti. Najčešći patofiziološki mehanizam koji je uzrok akutnog infarkta miokarda u preko 80 % slučajeva jest aterosklerotski proces koronarne arterije s nastankom tromba unutar lumena (15).

Patogeneza aterosklerotskog oštećenja arterija jest vrlo dobro proučen proces, ali još nisu u potpunosti otkriveni svi mehanizmi (20). Ateroskleroza je dinamičan i dugotrajan proces koji započinje oksidativnim stresom endotelnih stanica, adherencijom monocita, njihovim putovanjem u subendotelni prostor i diferencijacijom u makrofage. Istodobno, u subendotelnom prostoru slobodni radikali kisika oksidiraju LDL (engl. *Low Density Lipoprotein*) i pretvaraju ih u jako aterogene čestice koji potiču razvoj ateroskleroze (21-24). Proces nastanka ateroskleroze posredovan je brojnim citokinima i kemokinima koji potiču izražaj različitih staničnih adhezijskih molekula. Aterosklerotska fibrolipidna nakupina, tj. aterom (franc. *plaque*) sastoji se od jezgre, sastavljene od raspadnutih stanica i kristala kolesterola te vezivnog pokrova od kolagena kojeg luče glatke mišićne stanice pune lipida. Na rubovima jezgre pjenaste su stanice zbog čega na tim mjestima češće nastaje pukotina. Aterosklerotske nakupine sužuju promjer arterija pa dolazi do hipoksije pripadnog tkiva. Zbog smanjene elastičnosti stijenki povećava se krvni tlak i mogućnost da tako promijenjena stijenka pukne i nastane krvarenje u tkivo ili se stvori aneurizma. Tijekom napredovanja aterosklerotskog plaka stanice glatkih mišića proizvode kolagen, elastin, proteoglikane i glukozamine koji doprinose zadebljanju vezivnog pokrova, tzv. kape ateroma. Međutim, medijatori T-stanica mogu narušiti sposobnost stanica da sintetiziraju kolagen i time poprave i održe fibroznu „kapu“ koja prekriva nekrotičnu jezgru. Nadalje, makrofazi pojačano stvaraju enzim iz obitelji matriks metaloproteinaza koji razgrađuje intersticijski kolagen fibrozne „kape“, zbog čega dolazi do slabljenja vlakana kape, što povećava osjetljivost plaka i sklonost rupturi. Stanice glatkih mišića i makrofazi mogu biti podvrgnuti apoptozi te se ostaci mrtvih stanica nakupljaju i stvaraju nekrotičnu, lipidima bogatu jezgru ateroma (25-27). Aterosklerotska nakupina može kalcificirati, egzulcerirati sa stvaranjem tromba i posljedičnog infarkta tkiva. Bitno je naglasiti, za ishod ateroskleroze,

sastav je ateroma važniji od veličine ateroma i promjera sužene krvne žile. Procjenjuje se da oko 95 % aterosklerotskih lezija nikada neće rezultirati trombozom (28-30). Naime, tzv. postojani ateromi, koji su pretežno građeni od veziva, često ne uzrokuju stvaranje tromba. Nasuprot tome, tzv. nepostojani ateromi, koji su pretežno građeni od središnjeg lipidnog dijela i male fibrozne „kape“, manje su otporni na tlak strujanja krvi pa lakše puknu. Kako je lipidni sadržaj središta ateroma izrazito trombogen, na tom mjestu nastane tromb. Smatra se da je glavni uzrok pucanja tromba upalnim stanicama posredovano oslobađanje metaloproteaza iz makrofaga koji razaraju inače oskudno vezivno tkivo ateroma, smrt makrofaga i glatkih mišićnih stanica (31). Patofiziološki mehanizmi progresije aterosklerotskog plaka još uvijek nisu razjašnjeni, ali mnogi su istraživači mišljenja da je osnovni mehanizam međudjelovanje specifičnih molekula i stanica uključeno u apoptozu i poremećaj funkcije stanica makrofaga (32). Smatra se da bi se stabilizacija plaka mogla postići s nekoliko mehanizama - zadebljanjem fibroznog pokrova ateroma, smanjenjem upale u ateromu i smanjenjem veličine jezgre ateroma (33). Važno je napomenuti da se plak može stabilizirati i spriječiti trombozu neovisno o promjeni u veličini plaka i opstrukciji lumena (33).

Libby i suradnici su pokazali da višestruki procesi koji dovode do površne erozije uključuju poremećaje struje krvi, oštećenje bazalne membrane endotela, smrt endotelnih stanica i u konačnici imunološki upalni odgovor (34). Procjenjuje se da je najmanje 50 % ACS-a posljedica rupture aterosklerotskog ateroma; oko 33 % nastane zbog erozije ateroma, a ostatak uzroka ACS-a ima elemente ruptur i erozije ateroma (35-38). Iako je koronarna angiografija najkorisnija i „zlatni“ standard u dijagnozi i liječenju ACS-a, koronarografijom se ne može razlikovati postojani od nepostojanog ateroma koji je povezan s trombogenezom (39, 40). Međutim, posljednjih desetak godina, napredak u intravaskularnoj ultrasonografiji, magnetska rezonancija visoke rezolucije, pozitron emisijska tomografija uz računalnu tomografiju (PET-CT) i moderne intrakoronarne slikovne tehnike pružaju mogućnost razlikovanje vrste aterosklerotskog plaka na prilično jednostavan način (41).

Rjeđi mehanizmi koji su uzrok ishemijske i nekroze miokarda su spazam koronarne arterije i embolizacija (42). Trombotski proces, bilo da se radi o potpunoj okluziji uslijed ruptur vulnerabilnog plaka ili pak samo suženju koronarne arterije, dovodi do smanjenja protoka kroz zahvaćenu koronarnu arteriju. Posljedična ishemija tkiva miokarda dovodi do metaboličkih i ionskih promjena, što u konačnici uzrokuje ishemijsku nekrozu miokarda koja može umanjiti sistoličku funkciju srca (14). Ishemija pokreće niz procesa u stanici koji

započinju unutar nekoliko sekundi od nastupa hipoksije (43). Smanjeno je stvaranje adenozin-trifosfata, što dovodi do poremećaja relaksacije i kontrakcije srčanog mišića. Ireverzibilno stanično oštećenje nastaje ukoliko ishemija traje minimalno dvadeset minuta te ukoliko ne dođe do ponovne uspostave krvotoka unutar šest sati (44). U zahvaćenom miokardu dolazi do apoptoze i nekroze kardiomiocita. Aktivira se upalna kaskada u kojoj fagociti aktiviraju protuupalne procese, koji vode k supresiji citokina i kemokina. Aktivacijom renin-angiotenzin aldosteronskog sustava (engl. *Renin Angiotensin Aldosterone System*, RAAS) te otpuštanjem tumor nekrotizirajućeg čimbenika  $\beta$  (engl. *Tumor Necrosis Factor  $\beta$* , TNF  $\beta$ ) dolazi do pretvaranje fibroblasta u miofibroblaste. Miokard u sisavaca nema mogućnost obnavljanja stanica, stoga svaka ozljeda miokarda cijeli ožiljkom. Promjene uzrokuju nepoželjno remodeliranje klijetki te na području infarkta nastaje fibrozno tkivo, a u okolnom području hipertrofija i dilatacija miokarda (7). Ukoliko dođe do nesrazmjera između opskrbe i potrebe srčanog mišića nastaje ishemija. Ishemija, osim zbog nedovoljnog protoka, može nastati i u stanjima hipoksije organizma u kojem je perfuzija srčanog mišića održana, ali je smanjena količina raspoloživog kisika u krvi, kao primjerice u anemiji, kongenitalnim cijanotičnim srčanim greškama i plućnom srcu (45). U ishemijskom miokardu pokreće se upalni odgovor posredovan upalnim stanicama i brojnim upalnim medijatorima. Pretjeran upalni odgovor u akutnom IM-u povećava ozljedu miokarda, što dovodi do većeg područja nekroze i većeg gubitka funkcije. Unatoč tomu, dosadašnja klinička ispitivanja koja su istraživala učinak protuupalnih strategija u IM-u nisu pokazala učinkovitost, a katkad su imala i štetan učinak. Učinkovita bi terapija idealno inhibirala štetne učinke pretjeranoga upalnog odgovora, a da ne smanjuje učinkovitost mehanizama za oporavak.

U patofiziologiji koronarne bolesti srca veliko značenje ima koronarna arterijska kalcifikacija (engl. *Coronary Artery Calcification*, CAC). CAC predstavlja dobro organiziran biološki proces, koji uključuje neravnotežu između osteohondrogeneze i procesa koji sprječavaju kalcifikaciju krvnih žila s posljedičnim taloženjem minerala u koronarne arterije (46, 47). CAC je visoko zastupljen u bolesnika s koronarnom bolesti srca (engl. *Coronary Artery Disease*, CAD) i udružen je s pojavnošću nepoželjnih kardiovaskularnih događaja (engl. *Major Adverse Cardiovascular Events*, MACE) (48). Dokazana je povezanost između CAC-a i krutosti stijenke krvne žile, koja je posljedica ozljede krvnih žila uzrokovana brojnim kardiovaskularnim čimbenicima rizika. CAC i krutost krvne žile mogu biti pokazatelji rizika kardiovaskularne smrtnosti i moguće da u budućnosti budu u kliničkim smjernicama



upravljanja CAD-om (49, 50). Višestruki mehanizmi posreduju nastanku kalcifikacija krvnih žila. Jedan od najproučavanijih mehanizama jest slabost procesa koji sprječavaju kalcifikaciju, manjak ili potpuni nedostatak inhibitora mineralizacije, kao što je matriks Gla protein (MGP), osteoprotegerin, osteopontin i drugi (47). MGP se pokazao kao moćan inhibitor vaskularne kalcifikacije i novija istraživanja upućuju na višestruke utjecaje MGP-a u razvoju CAD-a (51). Ovisno o mjestu taloženja minerala, tradicionalno se vaskularna kalcifikacija dijeli na dvije grupe (47). Vaskularna kalcifikacija može nastati u intimi ili mediji krvne žile. Kalcifikacije u intimi krvne žile počinju stvaranjem mikrokalcifikacija manjih od 5  $\mu\text{m}$  na mjestu okluzije tromba predstavljajući važan korak u reorganizaciji tromba i ozljedi krvne žile (52). Kalcifikacije intime, odnosno aterosklerotskog plaka predstavljaju rizični čimbenik za rupturu plaka i pojavnost ACS-a (53, 54). Međutim, još uvijek nije razjašnjen učinak kalcifikacija na stabilnost plaka i predikcije KV događaja (55, 56).

Sangiorgi i suradnici, na histopatološkim nalazima, pokazali su poveznicu kalcijevih depozita u koronarnim plakovima s veličinom plaka, a ne sa stupnjem suženja koronarne krvne žile (57). Ova saznanja podupiru važnost kalcifikacija arterija u aterosklerotskoj kardiovaskularnoj bolesti i procjenu kardiovaskularnog rizika uzimajući u obzir kalcifikacije aterosklerotskih plakova (58, 59).

Kalcifikacije medije krvnih žila najčešće su povezane s kroničnim zatajenjem bubrežne funkcije, šećernom bolesti, starijom dobi i osteoporozom (60, 61). Dokazano je da kalcifikacije medije krvožilja povećavaju rizik pojavnosti KV komplikacija čak i u odsutnosti stenozne lumena krvne žile (62-64). Media krvnih žila ima dvije osnovne sastavnice, a to su glatke mišićne stanice i elastinom bogati izvanstanični prostor. Ključni proces u kalcifikaciji medije jest diferencijacija glatkih mišićnih stanica u stanice slične osteoblastima, koja je posredovana brojnim medijatorima koji sudjeluju u remodeliranju kosti (65). Inicijacija gore navedenog procesa nastaje uslijed nedostatka inhibitora kalcifikacije, povećanog oksidacijskog stresa, oštećene signalizacije u glatkim mišićnim stanicama, apoptoze i poremećaja ravnoteže kalcij-fosfor uslijed hormonske neravnoteže (66, 67). Ovi procesi dovode do stvaranja vezikula u glatkim mišićnim stanicama i posljedično kalcijevih depozita (66).

### 1.3. Klinička prezentacija i komplikacije infarkta miokarda

Ishemija miokarda uzrokuje bol koja se klinički manifestira kao angina pektoris. U angini pektoris ishemijska i posljedična bol javljaju se pri naporu te s prekidom opterećenja opskrba krvlju ponovno postaje dostatna i bol prestaje. Reverzibilnost je osnovno obilježje angine pektoris. Ukoliko ishemijska duže traje (npr. zbog kritičnog suženja koronarne arterije ili uslijed rupture nestabilnog plaka s potpunom okluzijom koronarne arterije) nastaju ireverzibilne promjene (68). Zahvaljujući mehanizmu autoregulacije, u mirovanju, unatoč smanjenju poprečne površine koronarne arterije 85-90 % , koronarni protok bude dostatan. Uz suženje veće od navedenog iscrpljena je koronarna rezerva te je protok krvi kroz takve koronarne arterije nedostatan. U fiziološkim uvjetima između koronarnih arterija i dijelova iste koronarne arterije postoje epikardijalne anastomoze, čiji je promjer manji od 40  $\mu\text{m}$  te nemaju bitniju ulogu. Međutim, u stanjima signifikantnih suženja ponekad se povećava protok kroz te epikardijalne anastomoze, što stvara kolateralnu koronarnu mrežu i dodatnu opskrbu ishemijskih područja miokarda, no uglavnom taj dodatni protok kroz kolaterale nije dostatan (45, 68). Srčani mišić energetske potrebe podmiruje aerobnim metabolizmom. Energija se stvara procesima oksidacije masnih kiselina, glukoze, laktata i aminokiselina. U slučaju povećanog napora i povišenih potreba za dodatnom energijom, ona se podmiruje pojačanim iskorištavanjem glukoze. Upravo to se događa u ishemijskom miokardu gdje je glavni energetski izvor upravo iskorištavanje glukoze i prelazak na anaerobni metabolizam. Krajnji produkt anaerobne glikolize jest stvaranje laktata. Anaerobna glikoliza prestaje kada se potroše zalihe ATP-a koje su potrebne za njeno odvijanje. To je trenutak kada nastupa smrt stanice (45, 68). U ishemijskom miokardu potrošnja je ATP-a veća od njegovog stvaranja. Zbog toga se remete svi procesi ovisni o ATP-u, prvenstveno kontrakcija i relaksacija srčanog mišića. Poremećena funkcija srčanog mišića odražava se kao poremećaj sistoličke funkcije, poremećaj dijastoličke funkcije te poremećaji srčanog ritma i provođenja. Poremećaj sistoličke funkcije nastaje zbog regionalnih ispada kontraktilnosti te se manifestira kao hipokinezija, akinezija ili paradoksnost sistoličko gibanje. Prema Frank Starlingovu zakonu, neishemijsko područje miokarda pokušava pojačanom kontraktilnošću kompenzirati ishemijski zahvaćeni dio miokarda koji nije u funkciji. Ukoliko neishemijski dio miokarda nije sposoban kompenzirati ispad funkcije zahvaćenog dijela miokarda, remeti se hemodinamika cijele klijetke i u konačnici dolazi do kardiogenog urušaja (45, 68).

Hemodinamske posljedice infarkta miokarda ovise o postotku zahvaćenog miokarda. Ukoliko je zahvaćeno 10-15 % mase miokarda smanjuje se istisna frakcija lijeve klijetke (engl. *Ejection Fraction Left Ventricular*, EF LV). Zahvaćenost od 15-20 % miokarda vodi k povišenju teledijastoličkog tlaka lijeve klijetke, dok se klinički znakovi srčane dekompenzacije javljaju pri zahvaćenosti 20-40 % mase miokarda, a ukoliko je zahvaćeno više od 40 % mase miokarda, nastupa kardiogeni urušaj. Kardiogeni urušaj pojavljuje se u 5-10 % hospitaliziranih bolesnika sa STEMI-jem, sa smrtnošću oko 34 % (69). Ishemija miokarda, osim što utječe na kontrakciju i relaksaciju srčanog mišića, uzrokuje i poremećaj ionske homeostaze (14). Zbog smanjene količine ATP-a, poremećen je rad Na-K ionskog izmjenjivača, što vodi k povećavanju koncentracije natrija u stanici i kalija izvan stanice. Također, zbog prelaska na anaerobni metabolizam i pojačanog stvaranja laktata, snižava se pH vrijednost. Navedene promjene uzrok su električnoj nestabilnosti srčanog mišića i pojavi poremećaja srčanog ritma. U ranoj fazi prekida cirkulacije, najčešće u roku od 30 minuta od početka ishemije, javljaju se maligni poremećaji ritma, najčešće ventrikulska fibrilacija (5,14). Ista nastaje zbog neujednačenog širenja akcijskog potencijala u akutno ishemijom zahvaćenom srčanom mišiću s povratnim (engl. *reentry*) mehanizmom. Upravo ovo je razlog visokog postotka nagle smrti u infarktu miokarda u ranoj fazi, prije dolaska hitne medicinske pomoći. Nakon što se potpuno zatvori koronarna arterija fibrilacija klijetki nije česta. U ovoj fazi, koja može trajati od 24 do 72 sata od početka infarkta miokarda, javljaju se polimorfni ventrikulski poremećaji ritma (ventrikulska tahikardija i ubrzani idioventrikularni ritam), čiji se nastanak objašnjava pojačanim automatizmom (14). Nakon 72 sata od početka infarkta miokarda mogu se javiti različiti oblici ventrikulske tahiaritmije i fibrilacije, stoga je važno u toj fazi medikamentozno usporiti srčanu frekvenciju i na taj način smanjiti opasnost od pojave aritmije, a i smanjiti potrošnju kisika. Ukoliko je ishemijom zahvaćen provodni sustav srca, u ranoj fazi infarkta nastaju različiti poremećaji provođenja uključujući i kompletni atrio-ventrikularni (AV) blok s idioventrikularnim ritmom ili asistolijom (14). Mehaničke komplikacije infarkta miokarda javljaju se najčešće tijekom prvog tjedna od akutnog infarkta miokarda. Obuhvaćaju rupturu slobodnog zida lijeve klijetke, rupturu interventrikularnog septuma, rupturu papilarnog mišića, formiranje pseudoaneurizme ili prave aneurizme (70). Klinički se manifestiraju slikom kardiogenog šoka ili plućnog edema. Zahvaljujući žurnoj revaskularizaciji i ranoj reperfuziji zahvaćenog miokarda, mehaničke komplikacije javljaju se u manje od 0,1 % slučajeva; međutim, ukoliko se jave, stopa se smrtnosti od mehaničke komplikacije ne mijenja i značajno utječe na ishode bolesnika s akutnim infarktomiokarda (71). Ukoliko se postavi sumnja da

se infarkt miokarda komplicirao nastankom mehaničke komplikacije, važno je odmah uraditi ehokardiografiju. Nakon postavljanja dijagnoze i utvrđivanja uzroka kliničkog pogoršanja bolesnika i nastanka hemodinamske nestabilnosti važno je odmah pokušati hemodinamski stabilizirati bolesnika medikamentoznom i mehaničkom cirkulacijskom potporom do definitivnog operativnog zbrinjavanja ukoliko se procjeni da operativni rizik nije visok (71, 72).

#### 1.4. Liječenje

Cilj je liječenja infarkta miokarda što ranije uspostaviti krvni protok kroz zahvaćenu koronarnu arteriju radi opskrbe miokarda kisikom i uspostave homeostaze tkiva. Ukoliko se reperfuzija miokarda uradi dovoljno rano, može se spriječiti razvoj nekroze i ireverzibilni gubitak funkcije zahvaćenog dijela miokarda. Reperfuzija se miokarda provodi PCI-jem ili fibrinolizom. Primarna PCI je metoda izbora za bolesnike sa STEMI-jem ako se može izvesti u predviđenom vremenskom okviru uz iskusnog liječnika. Rezultati meta-analize koja je uspoređivala primarnu PCI i fibrinolizu pokazala je manji mortalitet primjenom primarne PCI (73). Nadalje, dokazano je da se oko 90 % okludiranih koronarnih arterija uspije otvoriti primarnim PCI-jem za razliku od 60 % primjenom fibrinolize te se postiže najbolji protok u 95 % bolesnika u odnosu na 54 % primjenom fibrinolize (74). Također je manje intrakranijalnih i velikih krvarenja primjenom primarnog PCI-ja. Za indikaciju STEMI-ja preporuča se rana reperfuzijska terapija s primarnim PCI-jem u roku od 90 minuta (do 120 minuta) od prvog medicinskog kontakta u bolesnika sa STEMI-jem kojima su simptomi počeli unutar 12-24 sata (75). U istraživanju DANAMI-3 odgođeni PCI, definiran kao produljeno vrijeme od ulaska u bolnicu do reperfuzije (engl. *door-to-wire time*), predviđao je neželjene kliničke ishode, sukladno ranijim opservacijama temeljenima na intrakoronarnim fiziološkim mjerenjima koja su upućivala na povišen rizik u bolesnika koji dolaze kasnije (67). Potrebne su naglašene i kontinuirane kampanje javnog informiranja kako bi se optimizirali ishodi u visokorizičnih bolesnika sa STEMI-jem, uz nove, dodatne terapijske mogućnosti.

Skupina bolesnika s NSTEMI-jem kod kojih se pristupa žurnoj revaskularizaciji su bolesnici koji su hemodinamski nestabilni, imaju perzistentnu bol, novonastalnu malignu aritmiju, dinamiku u EKG-u ili novonastale EKG promjene u smislu prolazne ST elevacije te bolesnici koji su temeljem bodovne ljestvice GRACE (engl. *Global Registry For Acute Coronary Events*) stratificirani kao bolesnici visokog rizika. GRACE bodovna ljestvica koristi se za procjenu smrtnosti bolesnika s akutnim infarktom miokarda tijekom hospitalizacije, a procjena se vrši dodjeljivanjem bodova na temelju dobi, pulsa, vrijednosti arterijskog tlaka i

kreatinina, Killip klasifikacije, nalaza EKG-a, srčanih markera te kardiorespiracijskog zastoja pri prijemu. Ukoliko se GRACE bodovnom ljestvicom dobije vrijednost  $> 140$ , bolesnici s NSTEMI-jem svrstani su u skupinu visokog rizika i time su u skupini bolesnika za žurnu revaskularizaciju (72, 76). Takve preporuke pokazuju i rezultati provedeni u kohorti od 389 507 bolesnika s NSTEMI-jem, gdje je optimalno liječenje, definirano kao primjena svih dostupnih terapijskih metoda, bilo obrnuto proporcionalno rizičnom statusu, koje je definirano pomoću zbroja na GRACE bodovnoj ljestvici (77). Naime, bolnička smrtnost bila je 25,6 % u bolesnika niskog rizika, 18,6 % u skupini umjerenog rizika te 11,5 % u visokorizičnih bolesnika. Nakon 2,3 godine praćenja, povezanost između primjene sve dostupne terapije preporučene smjernicama i poboljšanih ishoda ostala je značajna samo za visokorizične bolesnike s NSTEMI-jem (77). Stoga je optimalno liječenje za bolesnike s NSTEMI-jem bilo povezano s većim preživljavanjem u skupini s rastućim rizikom prema GRACE bodovnoj ljestvici (77).

Moderno revaskularizacijsko liječenje akutnog infarkta miokarda omogućeno je razvojem antiagregacijske terapije (78). Okosnica antiagregacijske terapije za sve bolesnike s akutnim infarktom miokarda jest acetilsalicilna kiselina, bilo da su bolesnici podvrgnuti intervencijskoj reperfuziji ili farmakološkom liječenju. Nekoliko meta-analiza dokazalo je da primjena antiagregacijskih lijekova u ACS-u smanjuje incidenciju ukupne smrtnosti, ponovljenog infarkta miokarda ili moždanog udara za više od 25 % (79) zbog čega je acetilsalicilna kiselina prva terapijska linija za sve bolesnike s akutnim koronarnim sindromom (80, 81).

Druga su skupina antiagregacijskih lijekova P2Y12 inhibitori. U toj su skupini klopidogrel, tikagrelor i prasugrel. Učinkovitost dodatnog antiagregacijskog lijeka dokazana je prije više od 20 godina CURE studijom koja je pokazala da dodavanje klopidogrela uz aspirin bolesnicima s ACS-om smanjuje velike neželjene štetne događaje za 20 % (82). Dodatne su studije potvrdile da dvojna antiagregacijska terapija značajno smanjuje velike neželjene događaje, ne samo u bolesnika s ACS-om, već i u bolesnika sa stabilnom koronarnom bolešću (83).

Optimalno vrijeme primjene dvojne antiagregacijske terapije u bolesnika sa STEMI-jem istraživano je u Švedskom registru koronarografija i intervencija na koronarnim žilama (84). Bolesnici su podijeljeni u skupinu koja je liječena antagonistima P2Y12 receptora prije i skupinu koja je liječena nakon PCI-ja. Od 44 804 uključenih bolesnika, 58 % je liječeno klopidogrelom, 35 % tikagrelorom i 5 % prasugrelom. Ranije liječenje nije imalo nikakav

učinak na preživljavanje, otvorenost arterije povezane s infarktom, trombozu stenta ili krvarenje. Postojeće smjernice preporučuju ranu primjenu dvojne antiagregacijske terapije što ranije u bolesnika s mogućim STEMI-jem zbog snažnih dokaza koristi, bez izgledne štete (80, 85).

Treća su skupina antiagregacijskih lijekova antagonisti glikoproteina IIb/IIIa. U toj su skupini tirofibrin i eptifibatid (86). Radi se o potentnim intravenskim glikoprotein IIb/IIIa inhibitorima koji značajno smanjuju smrtnost i ponovljeni infarkt miokarda u visoko rizičnih bolesnika podvrgnutih PCI-jem, osobito u ACS-u (87). Pod visoko rizičnim bolesnicima u ovom su kontekstu bolesnici kojima nije postignuta adekvatna inhibicija agregacije trombocita dvojnog antiagregacijskom terapijom aspirinom i P2Y<sub>12</sub> inhibitorima. Takvi bolesnici skloniji su ranijoj „*in stent*“ trombozi i ponovljenom infarktu miokarda te su kandidati za terapiju glikoprotein IIb/IIIa inhibitorima, koji dodatno inhibiraju agregaciju trombocita djelujući na završni zajednički put agregacije trombocita tako što se vežu na površinu trombocita (88, 89).

Antikoagulacijski lijekovi inhibiraju trombin ili faktore koji sudjeluju u stvaranju trombina. Oni uključuju različite lijekove za parenteralnu primjenu, a koriste se u kombinaciji s antiagregacijskim lijekovima u bolesnika s ACS-om koji su liječeni bilo fibrinolitičkom terapijom, bilo PCI ili konzervativnim pristupom. Osnovni cilj antikoagulacijskih lijekova jest uspostaviti i održati otvorenost zahvaćene koronarne žile te spriječiti stvaranje tromba unutar srčanih komora. Odabir lijeka ovisi o ishemijskom i hemoragijskom riziku i odabiru strategije liječenja. U antikoagulacijsku terapiju ubraja se nefrakcionirani ili niskomolekularni heparin, kratkodjelujući direktni inhibitor trombina - bivalirudin ili sintetski inhibitor faktora Xa - fondaparinux (90). Zbog kombinacije antiagregacijske terapije s antikoagulacijskom terapijom, česta su komplikacija jatrogena krvarenja koja značajno pridonose porastu smrtnosti (91). Mehanizam kojim krvarenje povećava smrtnost u akutnom infarktu miokarda nije poznat, ali mogući su mehanizmi ishemijskog miokarda uslijed krvarenja i ukidanje terapije zbog velikih životno ugrožavajućih krvarenja (86). Zbog svega navedenog, terapijski izazov leži u pronalasku optimalne ravnoteže između povećanog rizika krvarenja i sprječavanja nastanka trombotskih komplikacija, kao što je ponovljeni infarkt miokarda ili tromboza stenta (92). Ishod bolesnika s infarktom miokarda ovisi prvenstveno o kliničkom stanju bolesnika, zahvaćenom području miokarda i pravovremenosti terapijske intervencije. Iako je pravovremeno liječenje smanjilo smrtnost i komplikacije infarkta miokarda, i dalje je cilj prvenstveno smanjiti smrtnost tijekom hospitalizacije i razvoj srčanog zatajenja (93).

## 1.5. Procjena rizika smrti i krvarenja u infarktu miokarda

Perkutana koronarna intervencija posljednjih nekoliko desetljeća postala je metoda izbora u liječenju bolesnika s akutnim koronarnim sindromom (76). Preporuke antritombotskog liječenja u bolesnika podvrgnutih PCI-jem značajno su se mijenjale tijekom posljednjih godina (94). Paralelno s preporukama farmakološkog liječenja, u smjernicama se značajna važnost pridaje spoznaji da krvarenje, kao najčešća komplikacija antitrombotskog liječenja, značajno utječe na ishod bolesnika (94). Dvojna antiagregacijska terapija, budući da je temelj liječenja akutnog infarkta miokarda bolesnika podvrgnutih PCI-jem, iako smanjuje ponovljene ishemijske događaje, istovremeno povećava rizik krvarenja (95).

U cilju učinkovitog liječenja bolesnika s akutnim infarktom miokarda potrebna je brza i precizna procjena rizika od nastanka neželjenih ishoda. Razvijene su brojne bodovne ljestvice, čija je svrha procijeniti rizik neželjenih ishoda radi optimiziranja liječenja bolesnika (96-99). Prognoza ovisi, prije svega, o početku liječenja, ali i čimbenicima kao što su dob, raniji koronarni incident, dijabetes, istisna frakcija (EF) lijeve klijetke, a brza metoda procjene prognoze može biti i Killip klasifikacija srčanog popuštanja (100) (**Tablica 1**).

**Tablica 1.** Killip klasifikacija za bolesnike sa STEMI-jem.

<b>Killip klasa</b>	<b>Bolnički mortalitet (%)</b>
I - bez kongestivnog zatajenja srca	6
II - blago kongestivno zatajenje srca	17
III - plućni edem	38
IV - kardiogeni šok	81

Preuzeto i prilagođeno prema Baliga RR, Bahl VK, Alexander T, Mullasari A, Manga P i sur. Management of STEMI in low- and middle-income countries. Glob Heart. 2014; 9(4):469-510.

Smjernice Američkog i Europskog kardiološkog društva preporučuju korištenje bodovnih ljestvica za ranu procjenu ACS-a i rizika krvarenja pri prijemu u bolnicu (76, 101). Smjernice navedenih kardioloških društava u tu svrhu preporučuju GRACE bodovnu ljestvicu (76, 80, 101).

Bodovna ljestvica GRACE izračunava rizik smrtnosti uslijed infarkta miokarda (102). GRACE bodovna ljestvica dobije se temeljem podataka dobivenih iz EKG-a, dobi, srčane frekvencije, vrijednosti arterijskog tlaka i kreatinina (**Tablica 2**). Svakom parametru dodjeljuje

se određeni broj bodova pri čemu se dobiju vrijednosti u rasponu od 2 do 338 bodova na temelju kojih se bolesnici svrstavaju u jednu od triju skupina procijenjenog rizika. Uspoređujući s TIMI bodovnom ljestvicom za nestabilnu anginu/NSTEMI, GRACE je bodovna ljestvica superiorna u procjeni unutar bolničkog i dugotrajnog neželjenog kardiovaskularnog događaja (103). Dodatno, GRACE bodovnom ljestvicom procjenjuje se optimalno vrijeme za invazivnu strategiju liječenja u NSTEMI bolesnika (104); GRACE bodovnom ljestvicom procijenjena strategija liječenja također smanjuje rizik pojavnosti MACE-a (105).

Istraživanje Bradshawa i sur. za procjenu validnosti GRACE bodovne ljestvice u prediktivnom modelu za šestomjesečnu smrtnost, po otpustu iz bolnice za sve bolesnike s ACS-om, pokazalo je da je GRACE bodovna ljestvica dobar alat za procjenu rizika šestomjesečne smrtnosti u bolesnika s ACS-om, čime je prikladno za širu kliničku upotrebu u općoj populaciji (106).

Studija Tanga i suradnika provedena je na 1 143 bolesnika s ACS-om hospitaliziranih u Jedinicu intenzivne koronarne skrbi. Studija je pokazala da GRACE bodovna ljestvica poprilično točno izračunava rizik smrtnosti do četiriju godine od otpusta bolesnika s ACS-om (107).



**Tablica 2.** Grace bodovna ljestvica

<b>Dob (godine)</b>	<b>Bodovi</b>
< 40	0
40-49	18
50-59	36
60-69	55
70-79	73
80 +	91

<b>Srčana frekvencija (otkucaji/min)</b>	<b>Bodovi</b>
< 70	0
70-89	7
90-109	13
110-149	23
150-199	36
> 200	46

<b>Sistolički tlak (mmHg)</b>	<b>Bodovi</b>
< 80	63
80-99	58
100-119	47
120-139	37
140-159	26
160-199	11
> 200	0

<b>Kreatinin (mmol/L)</b>	<b>Bodovi</b>
0-34	2
35-70	5
71-105	8
106-140	11
141-176	14
177-353	23
≥ 354	31

<b>Kliničko stanje</b>	<b>Bodovi</b>
------------------------	---------------

Killip I	0
Killip II	21
Killip III	43
Killip IV	64
ST Devijacija	30
Povišene vrijednosti troponina	15
Srčani zastoj	43

Kategorija rizika	GRACE	
	bodovna ljestvica	Unutar bolnička smrtnost
Nizak	≤ 108	< 1
Srednji	109-140	1-3
Visok	> 140	> 1

Kategorija rizika	GRACE	
	bodovna ljestvica	6-mjesečna smrtnost
Nizak	≤ 88	< 3
Srednji	89-118	3-8
Visok	> 118	> 8

Kratice: GRACE (engl. *Global Registry For Acute Coronary Events*). Preuzeto i prilagođeno prema Collet JP, Thiele H, Barbato E, Barthélémy O, Bauersachs J, Bhatt DL i sur. ESC Guidelines for the management of acute coronary syndromes in patients presenting without persistent ST-segment elevation. Eur Heart J. 2021; 42(14):1289-367.

Osim ishemijskih posljedica koje nastaju u ACS-u, moguće su posljedice poremećaji ritma i krvarenja (108). Budući da su antiagregacijska i antikoagulacijska terapija osnovna terapija u ACS-u, bolesnici s ACS-om imaju povećani rizik krvarenja (109, 110). Veći rizik za krvarenje imaju osobe ženskog spola, osobe starije dobi te bolesnici s kroničnim bubrežnim zatajenjem. Istovremeno, veća vjerojatnost krvarenja pojavljuje se u bolesnika s NSTEMI-jem i sa srčanim zatajenjem (97). U usporedbi s muškarcima, žene imaju povećan rizik krvarenja nakon ACS-a zbog anatomski manjih krvnih žila, veće prevalencije komorbiditeta te različitog farmakološkog odgovora na antitrombotsko liječenje. Povećan rizik krvarenja usko je povezan

s lošim ishodima i zbog toga je nužno procijeniti rizik krvarenja u ACS bolesnika s ciljem prilagodbe načina liječenja te na taj način smanjiti mogući rizik krvarenja i posljedično negativne ishode (111). Bodovna ljestvica CRUSADE (engl. *Can Rapid Risk Stratification of Unstable Angina Patients Suppress Adverse Outcomes With Early Implementation of the ACC/AHA Guidelines*) služi za procjenu rizika krvarenja u pacijenata s ACS-om, a ujedno kao i pomoć u odabiru terapije za smanjenje rizika krvarenja (**Tablica 3**). CRUSADE bodovna ljestvica potvrđena je u istraživanju u približno 90 000 bolesnika koji su liječeni zbog NSTEMI-ja i nestabilne angine (99). Sustav bodovanja sastoji se od osam varijabli, četiri dihotomne (spol, znakovi zatajenja srca, DM i prethodne žilne bolesti) i četiri polukvantitativne (početni hematokrit, klirens kreatinina, otkucaji srca i sistolički krvni tlak). Predisponirajući su čimbenici krvarenja sve dihotomne varijable, kao i nizak hematokrit, klirens kreatinina, sistolički krvni tlak i visok puls. U svojoj izvornoj klasifikaciji, CRUSADE bodovna ljestvica kategorizirala je pacijente u pet skupina rizika - vrlo nizak rizik < 20, nizak rizik 21-30, umjereni rizik 31-40, visok rizik 41-50 i vrlo visok rizik > 50 (112).

Neke studije sugeriraju pozitivnu korelaciju između CRUSADE bodovne ljestvice i rizika krvarenja tijekom hospitalizacije, dok su neki podaci dvojbeni (113-115). Shan Li i suradnici u svrhu istraživanja ispitanike su podijelili u tri skupine rizika prema CRUSADE bodovnoj ljestvici - skupinu vrlo visokog i visokog rizika (> 40), srednjeg rizika (39-31) i skupinu niskog/vrlo niskog rizika (< 30). Rezultati se pokazali dobru prediktivnu vrijednost CRUSADE bodovne ljestvice s pojavnošću velikih krvarenja (116). Bento i suradnici u istraživanju koje je uključilo više od 2 800 ispitanika pokazali su da je stopa krvarenja bila niža od rizika procijenjenog prema CRUSADE bodovnoj ljestvici (112). No, bez obzira na ograničenja, CRUSADE bodovna ljestvica dobar je prediktor velikih krvarenja u bolesnika s ACS-om i kao takav je uvršten i u smjernice Europskog kardiološkog društva kao alat za procjenu rizika krvarenja u bolesnika s ACS-om.

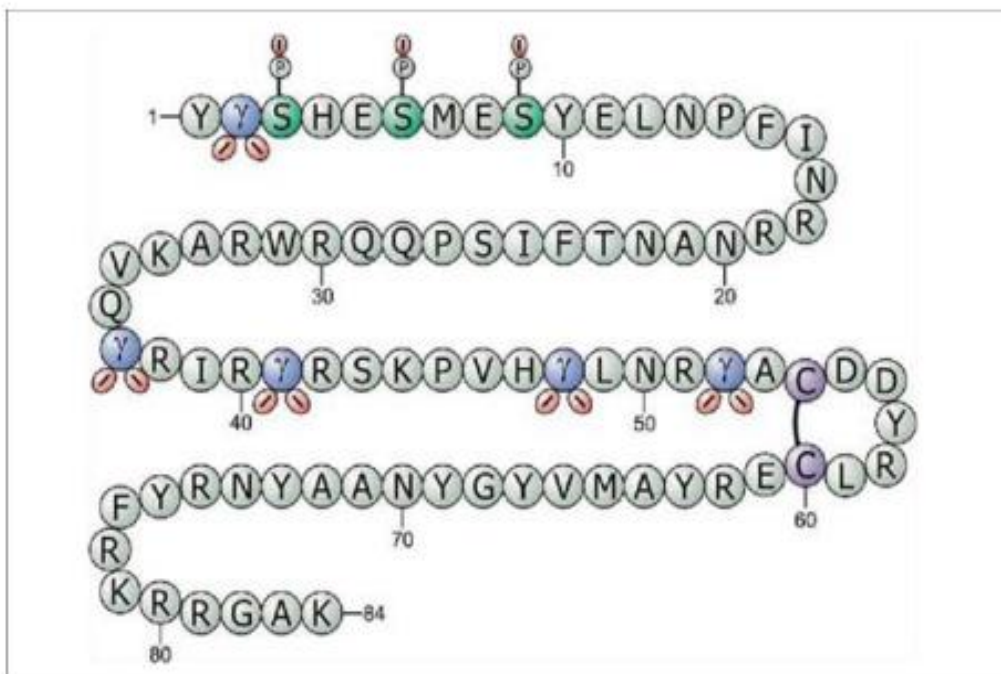
**Tablica 3.** CRUSADE bodovna ljestvica.

<b>Prediktor</b>	<b>Bodovi</b>	<b>Prediktor</b>	<b>Bodovi</b>
Hematokrit, %		Spol	
≤ 31	9	Muško	0
31-33,9	7	Žensko	8
34-36,9	3	Simptomi srčanog popuštanja	
37-39,9	2	Ne	0
≥ 40	0	Da	7
Klirens kreatinina, ml/min		Prethodna vaskularna bolest	
≤ 15	39	Ne	0
>15-30	35	Da	6
>30-60	28	Šećerna bolest	
>60-90	17	Ne	0
>90-120	7	Da	6
>120	0	Sistolički arterijski tlak, mmHg	
Srčana frekvencija, N/min		≤ 90	10
≤ 70	0	91-100	8
71-80	1	101-120	5
81-90	3	121-180	1
91-100	6	181-200	3
101-110	8	≥ 201	5
111-120	10		
≥ 121	11		

CRUSADE (prema engl. Can Rapid Risk Stratification of Unstable Angina Patients Suppress Adverse Outcomes With Early Implementation of the ACC/AHA Guidelines). Preuzeto i prilagođeno prema Collet JP, Thiele H, Barbato E, Barthélémy O, Bauersachs J, Bhatt DL i sur. ESC Guidelines for the management of acute coronary syndromes in patients presenting without persistent ST-segment elevation. Eur Heart J. 2021; 42(14):1289-367.

## 1.6. Matriks Gla protein u koronarnoj bolesti srca

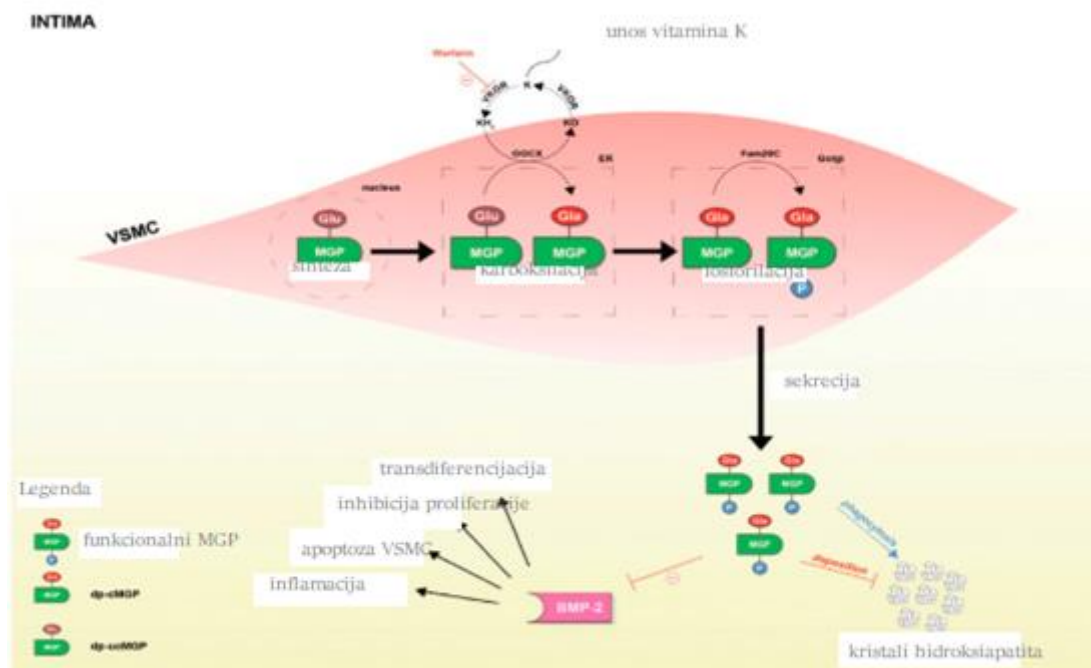
Matriks Gla protein (MGP) je protein izvanstaničnog matriksa ovisan o vitaminu K kojeg prvenstveno stvaraju glatke mišićne stanice krvnih žila i hondrociti, a u manjoj mjeri osteociti i fibroblasti, dok noviji dokazi sugeriraju da je MGP snažno izražen na endotelnim stanicama koje su značajni izvor plazmatskih razina MGP-a (47, 117-119). Prvotno je izoliran iz koštanog matriksa goveda 1983. godine (51), a nekoliko godina poslije otkriven je i u miša, štakora, morskog psa i čovjeka. Sastavljen je od 84 aminokiseline i molekularne mase je 12 kDa, a sadrži pet  $\gamma$ -glutamatnih (Gla) rezidua i jednu disulfidnu vezu (120) (**Slika 5**). Ekspresija je dokazana u srcu, bubrezima, krvnim žilama, kostima i hrskavici (121, 122).



**Slika 5.** Slijed aminokiselina u matrix Gla proteinu (preuzeto i prilagođeno prema Liabeuf S, Bourron O, Olivier B, Vemeer C, Theuwissen E, Magdeleyns E i sur. Vascular calcification in patients with type 2 diabetes: the involvement of matrix Gla protein. Cardiovascular Diabetology. 2014; 13:85)

Smatra se da je MGP jedan od najvažnijih bioloških čimbenika u prevenciji vaskularne kalcifikacije (117, 123-125). Vaskularna je kalcifikacija proces koji započinje u ranom djetinjstvu. Dugo se vremena smatralo da se radi o pasivnom procesu u kojem dolazi do taloženja kalcija i fosfata u stijenke krvnih žila bez terapijskih mogućnosti (22, 126). Kalcijски depoziti uglavnom su smješteni u malim dijelovima kroz sloj intime, ali također se mogu odlagati i u mediji stjenke krvne žile i na taj način povećavaju krutost stjenke s posljedičnom smanjenom popustljivošću iste (127, 128). Posljednje opisani proces poznat je kao Mönckenbergova skleroza medije i obično se nalazi u starijih bolesnika sa šećernom bolešću tip 2 i u bolesnika s kroničnim bubrežnim zatajenjem (127-129). Međutim, noviji dokazi sugeriraju da se ipak radi o aktivnom procesu u kojem se putem kompleksne kaskadne reakcije u konačnici mišićne stanice diferenciraju u osteoblaste (130). Nadalje, poznato je i da u određenim stanjima u kojima dolazi do pojačanog oksidacijskog stresa, kao što su šećerna bolest ili kronično bubrežno zatajenje, dolazi do pojačanog nakupljanja kalcifikata u stjenkama arterija s posljedičnim povišenim kardiovaskularnim morbiditetom i mortalitetom (121). MGP sprječava kalcifikaciju krvnih žila vezanjem kristala hidroksiapatita s visokim afinitetom i onemogućavanjem djelovanja BMP-2 (engl. *Bone Morphogenetic Protein-2*) koji se nalazi u pjenastim stanicama aterosklerotskog plaka (117, 123-125, 127). Tim se procesom sprječava nakupljanje hidroksiapatita u stjenkama krvne žile i potiče makrofage na fagocitozu i apoptozu kompleksa MGP-hidroksiapatit (131). BMP-2 se nalazi u pjenastim stanicama aterosklerotskog plaka te vezanjem na receptor potiče vaskularnu kalcifikaciju transformacijom glatkih mišićnih stanica u stjenkama krvnih žila. Inaktivna se, defosforilizirana i nekarboksilirana forma MGP-a (engl. *Dephospho-Uncarboxylated MGP*, dp-ucMGP) posttranslacijskom modifikacijom aktivira, a proces je ovisan o vitaminu K. MGP mora proći nekoliko posttranslacijskih modifikacija da bi postigao potpunu biološku aktivnost (**Slika 6**). Prvi je proces  $\gamma$ -karboksilacija Gla ostatka i potom fosforilacija serinskog ostatka; procesi ovisni o vitaminu K. Dokazano je da su povišene razine nefunkcionalnog dp-ucMGP-a povezane s brojnim kardiovaskularnim posljedicama, uključujući endotelnu disfunkciju, aterosklozu te povećan kardiovaskularni i ukupni mortalitet (128). Povišene razine dp-ucMGP-a povezane se s povećanim rizikom nastanka aterosklerotskih plakova (125). Također, povećan izražaj MGP-a na koronarnim arterijama povezan je s povećanom kalcifikacijom istih (129). Matrix Gla protein svoj učinak ostvaruje putem nekoliko različitih patofizioloških mehanizama. MGP sprječava nakupljanje kalcija u stjenkama krvnih žila tako što, nakon fagocitoze kompleksa putem makrofaga, Gla rezidua snažno veže kristale hidroksiapatita. Nadalje, na *in vitro* i *in vivo* studijama dokazano

je da MGP direktno inhibira vezanje BMP-2 proteina na njegov receptor i na takav način sprječava učinke hondrogeneze, osteogeneze i diferencijacije osteoblasta u arterijskoj stijenci (132-134). Sukladno tomu, kod nedostatka vitamina K, MGP ostaje u neaktivnoj formi, što dovodi do ubrzanog procesa vaskularne kalcifikacije, dok unos vitamina K djeluje reverzibilno na navedene procese (118). Potpuno neaktivna forma MGP-a, koja nije prošla posttranslacijsku modifikaciju, jest nekarboksilizirani i nefosforilizirani MGP (dp-ucMGP). Za dp-ucMGP formu je dokazano da predstavlja razine cirkulirajućeg vitamina K. Budući se ta potpuno neaktivna forma MGP-a nakuplja u stijenkama krvnih žila, smatra se jednim od čimbenika rizika u nastanku vaskularne kalcifikacije (121, 135). Brojne studije pokazale su povezanost povišenih razina dp-ucMGP-a s povećanom krutošću arterija te je izgledno da u tom procesu ima važnu patofiziološku ulogu (118). Također, istraživanja su pokazala da povišene razine dp-ucMGP-a, uz poremećenu toleranciju glukoze, dislipidemiju i pretilost, jedan je od rizičnih čimbenika koji sudjeluju u nastanku aterosklerotskih plakova (121).



**Slika 6.** Posttranslacijska modifikacija MGP-a i mehanizam kojim MGP sudjeluje u vaskularnoj kalcifikaciji (preuzeto i prilagođeno prema Price PA, Urist MR, Otawara Y. Matrix Gla protein, a new gamma-carboxyglutamic acid-containing protein which is associated with the organic matrix of bone. *Biochem Biophys Res Commun.* (1983) 28; 117:765-71).

Brojne kliničke studije istraživale su ulogu dp-ucMGP-a u aterosklerozi i vaskularnoj kalcifikaciji. Prva studija koja je pokazala ulogu MGP-a u inhibiciji vaskularne kalcifikacije bila je ona koju su proveli Luo i suradnici 1997. godine, a koja je pokazala na mišjem modelu s nedostatkom MGP-a (MGP  $-/-$ ) nastanak spontanijih kalcifikacija na arterijama i hrskavici (136). Nakon toga, nekoliko je studija potvrdilo ove pronalaskе na različitim životinjskim modelima, dok su istraživanja na ljudskom modelu pokazala pojačanu ekspresiju MGP-a u kalcificiranom aterosklerotskom plaku (137-140). Von der Huevel i sur. su pokazali da je nedostatak vitamina K, koji se procjenjivao visokom razinom cirkulirajućeg dp-ucMGP-a, povezan s povišenim rizikom nastanka kardiovaskularne bolesti, neovisno o prisutnosti klasičnih čimbenika rizika i statusu vitamina D (141). Mayer i sur. su pokazali da su plazmatske razine dp-ucMGP-a povezane s ukupnom kardiovaskularnom smrtnošću, s naglaskom da dp-ucMGP predskazuje povišen rizik smrtnosti u osoba niskog kardiovaskularnog rizika (142). Slična zapažanja uočena su u istraživanjima ispitanika sa šećernom bolešću, a rizik procijenjen razinama dp-ucMGP-a bio je također neovisan o drugim čimbenicima rizika (143). S druge strane, Dalmeijer i sur. u svom su istraživanju pokazali da nema povezanosti između razina dp-ucMGP-a i povećanog kardiovaskularnog rizika. U istom smjeru išlo je i randomizirano istraživanje Liua i sur. na flamanskoj populaciji, koje je pokazalo da su više plazmatske razine dp-ucMGP-a povezane s ukupnom (ne-malignom i kardiovaskularnom) smrtnošću, ali također i s nižim koronarnim rizikom, naglašavajući da su nemaligna smrtnost i koronarni događaj uzročno povezani (144). Istraživanje van Gorpa i sur., osim što je pokazalo da razina ucMGP-a značajno korelira s vaskularnom kalcifikacijom, također je pokazalo i da liječenje varfarinom značajno povećava razinu ucMGP-a u aterosklerotskom plaku, uspoređujući s obje ispitivane skupine, i kontrolnom i skupinom s dabigatranom (145). Rattazzi i sur. pokazali su da varfarin može potaknuti kalcificiranu degeneraciju zalistaka, ali niti varfarin niti rivaroksaban ne utječu značajno na progresiju ateroskleroze u apoE  $-/-$  miševa (146). Schurges i sur. proveli su istraživanje o utjecaju liječenja antagonistima vitamina K – varfarinom- na CAC u bolesnika sa sumnjom na postojanje koronarne arterijske bolesti, zbog čega su bili podvrgnuti MSCT koronarografiji. Rezultati su pokazali povezanost i same upotrebe i dužine uzimanja varfarina s kalcifikacijom koronarnih plakova (147). Sukladno ovome, Roijers i sur. dokazali su pozitivnu korelaciju između ekspresije ucMGP-a u aterosklerotskom plaku i kalcifikacije koronarnih arterija, potvrđujući da je mehanizam kojim varfarin uzrokuje ubranu kalcifikaciju plaka sličan mehanizmu vaskularne kalcifikacije u ApoE  $-/-$  mišjem modelu (148). Zwakenberg i sur. u svom su istraživanju analizirali sto uzoraka iz *Athero Express* bio-banke pokušavajući



naći povezanost plazmatskih izoformi MGP-a – dp-ucMGP-a i t-ucMGP-a, s razinama ucMGP-a u plaku budući da je ucMGP u plaku pokazatelj stabilnosti plaka i kardiovaskularnog rizika. Rezultati su pokazali da plazmatski dp-ucMGP i ukupni ucMGP ne odražavaju razinu ucMGP u plaku. Povišene razine plazmatskog dp-ucMGP mogu biti povezane s manjom vjerojatnošću krvarenja u plak sugerirajući tako veću stabilnost plaka. U njihovom istraživanju, ukupni ucMGP nije se pokazao kao mogući pokazatelj stabilnosti plaka, ali povišene plazmatske razine ukupnog ucMGP-a povezane su s nižim kardiovaskularnim rizikom (149). Upravo suprotno pokazali su Schurgers i sur. u svom istraživanju dokazujući da upotreba antagonista vitamina K povećava nestabilnost plaka sprječavajući posttranslacijsku modifikaciju MGP-a (147). Budući da BMP 2 putem signalne mreže regulira upalne procese, diferencijaciju glatkih mišićnih stanica i apoptozu, autori nekoliko studija zaključili su da antagonisti vitamina K možda utječu na fenotip plaka na dubljoj razini mimo jednostavnog ubrzanja vaskularne kalcifikacije (150-154).

Nadalje, podaci sugeriraju da niti nekarboksilizirana niti defosforilizirana forma MGP-a (dpMGP) ne vrši svoju inhibicijsku funkciju na vaskularnu kalcifikaciju (118, 133). Budući da je povišena razina dp-ucMGP-a povezana s određenim kardiovaskularnim komplikacijama i povećanim mortalitetom, važno je razjasniti dinamiku plazmatskih razina dp-ucMGP-a u bolesnika s akutnim koronarnim sindromom (155-157). Također, neki podaci ukazuju na postojanje povezanosti plazmatskih vrijednosti dp-ucMGP-a s povišenim rizikom smrtnosti tijekom hospitalizacije koji je procijenjen GRACE bodovnom ljestvicom u bolesnika koji se prezentiraju kliničkom slikom akutnog infarkta miokarda bez podizanja ST spojnice (76, 80, 158, 159). Utvrđeno je da su njegove razine povišene u kroničnom zatajenju bubrega te se dodatno povećavaju pri liječenju hemodijalizom (160). Također, kliničke su studije prikazale dp-ucMGP kao pokazatelja usporenog metabolizma (161, 162).

Matriks metaloproteinaze-9 (engl. *Matrix Metalloproteinase-9*, MMP-9) potječu od porodice cink-vezujućih proteolitičkih enzima koji su sposobni razgraditi izvanstanični sadržaj i zauzimaju značajno mjesto u upalnom procesu (163). Izražaj MMP-9 značajno je povećan u makrofazima koji su potaknuti oksidiranim LDL česticama te utječu na razgradnju sadržaja u aterosklerotskom plaku i posljedičnoj rupturi i/ili reorganizaciji ateroma (164, 165). Studije koje su proučavale plakove na karotidnim arterijama pokazale su značajno veći izražaj MMP-9 u nestabilnim karotidnim plakovima u odnosu na stabilne fibrozne plakove karotidnih arterija (166-169). Budući da su mnoge studije potvrdile povišene serumske razine MMP-9 u pacijenata

s nestabilnim plakovima, Farroni i suradnici su predložili da serumske vrijednosti MMP-9 mogu upućivati na aktivnost plaka u koronarnoj bolesti srca (170-172). Važno je istaknuti da polimorfizam MMP-9 pridonosi povećanom riziku za CAD (173).

U velikom prospektivnom istraživanju, u koje je uključeno 1 127 bolesnika s CAD-om, potvrđena je udruženost između razine MMP-9 i rizika smrtonosnog KV događaja, a studija Ezhova i suradnika potvrdila je da je razina MMP-9 neovisan prediktor nestabilnosti aterosklerotskog plaka u bolesnika sa stabilnim CAD-om (174). Wang i suradnici su potvrdili da serumske vrijednosti MMP-9 mogu razlikovati bolesnike koji imaju nestabilan plak od bolesnika koji nemaju aterosklerotski plak, čime direktno impliciraju kliničku korisnost MMP-9 (175).

Zaključno, vaskularna kalcifikacija je aktivan, stanicama posredovan proces i dio je složenog patofiziološkog procesa nastanka koronarne bolesti srca (22, 126). Matriks Gla protein jest utvrđen kao važan čimbenik u prevenciji vaskularne kalcifikacije (117, 123-125). Inaktivna forma MGP-a, dp-ucMGP, ne izvršava funkciju inhibicije vaskularne kalcifikacije te je povezana s nepoželjnim kardiovaskularnim događajima. Budući da se STEMI i NSTEMI razlikuju po patofiziološkim mehanizmima, odlučili smo usporediti razinu dp-ucMGP-a između bolesnika sa STEMI-jem i NSTEMI-jem. Nadalje, s obzirom na potvrđenu povezanost dp-ucMGP-a i manjka vitamina K te manjka vitamina K s povećanim rizikom krvarenja, odlučili smo pronaći korelaciju dp-ucMGP-a kao pokazatelja rizika krvarenja u bolesnika s ACS-om.

## **2. CILJEVI I HIPOTEZE ISTRAŽIVANJA**

Glavni cilj istraživanja bio je usporediti plazmatske razine dp-ucMGP-a u bolesnika s NSTEMI-jem u odnosu na skupinu bolesnika sa STEMI-jem.

Sporedni su ciljevi istraživanja sljedeći:

1. Ispitati povezanost plazmatskih razina dp-ucMGP-a s dobi, zatajenjem bubrežne funkcije i anamnezom kardiovaskularnih bolesti u bolesnika s akutnim infarktom miokarda.
2. Ispitati povezanost plazmatskih razina dp-ucMGP-a s rizikom smrtnosti tijekom hospitalizacije procijenjenu GRACE bodovnom ljestvicom u bolesnika s NSTEMI-jem.
3. Ispitati povezanost plazmatskih razina dp-ucMGP-a s rizikom velikih krvarenja procijenjenog CRUSADE bodovnom ljestvicom u bolesnika s akutnim infarktom miokarda.

Hipoteze su ovog istraživanja sljedeće:

1. Plazmatske razine dp-ucMGP-a bit će veće u bolesnika s NSTEMI-jem u odnosu na skupinu bolesnika sa STEMI-jem.
2. Plazmatske razine dp-ucMGP-a pozitivno će korelirati s dobi, vrijednostima kreatinina te s anamnezom kardiovaskularne bolesti u bolesnika s akutnim infarktom miokarda.
3. Plazmatske razine dp-ucMGP-a pozitivno će korelirati s rizikom smrtnosti tijekom hospitalizacije procijenjene GRACE bodovnom ljestvicom u bolesnika s akutnim infarktom miokarda.
4. Plazmatske razine dp-ucMGP-a pozitivno će korelirati s rizikom krvarenja procijenjenog CRUSADE bodovnom ljestvicom u bolesnika s akutnim infarktom miokarda.

### **3. ISPITANICI I POSTUPCI**

Ovo je istraživanje osmišljeno i provedeno u Klinici za bolesti srca i krvnih žila Kliničkog bolničkog centra Split i na Katedri za patofiziologiju Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Splitu. Istraživanje je odobrilo Etičko povjerenstvo Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Splitu i Kliničkog bolničkog centra Split (Klasa: 500-03/18-01/41; Ur.broj: 2181-147-01/06/M.S.-18-2; Split, 12. 06. 2018.) te je provedeno u skladu s etičkim principima Helsinške deklaracije iz 2013. godine. Svi su ispitanici prije uključivanja u istraživanje informirani o postupcima i ciljevima istraživanja te su potpisali informirani pristanak.

### 3.1. Ispitanici

U istraživanje je uključeno 90 ispitanika s dijagnozom akutnog infarkta miokarda koji su liječeni u Jedinici koronarne skrbi Klinike za bolesti srca i krvnih žila Kliničkog bolničkog centra Split. Ispitanici su podijeljeni u dvije skupine s obzirom na dijagnozu infarkta miokarda - 46 ispitanika s dijagnozom STEMI-ja i 44 ispitanika s dijagnozom NSTEMI-ja.

Kriteriji isključenja bili su:

- uznapredovalo srčano zatajenje 3. i 4. stupnja prema klasifikaciji Njujorškog kardiološkog društva (engl. *New York Heart Association*, NYHA);
- aktivna maligna bolest;
- značajna sistemska autoimuna bolest;
- aktivno infektološko zbiljevanje;
- povijest prekomjerne konzumacije alkohola, zloupotrebe droga, narkotika i/ili sedativa;
- značajna psihijatrijska ili neurološka bolest;
- značajno imunokompromitirajuće stanje;
- uznapredovalo bubrežno zatajenje (stupanj 4-5 prema procijenjenoj stopi glomerularne filtracije);
- značajno jetreno zatajenje, hemoragijska dijateza i/ili koagulopatija;
- terapija antagonistima vitamina K te kortikosteroidna terapija u posljednja 3 mjeseca.

Za analizu povezanosti razine plazmatskog dp-ucMGP-a i rizika krvarenja procijenjenog CRUSADE bodovnom ljestvicom, nakon što su primijenjeni dodatni isključni kriteriji, uključeno je 80 ispitanika s akutnim infarktomiokarda od čega 40 ispitanika s dijagnozom STEMI-ja i 40 ispitanika s dijagnozom NSTEMI-ja.

Dodatni su kriteriji isključenja bili:

- fibrilacija ili undulacija atrijska;
- antikoagulacijska terapija (antagonistima vitamina K kao što je varfarin ili novi oralni antikoagulansi), suplementacija vitaminom K unatrag godinu dana, antiagregacijska terapija (izuzev trenutnog liječenja ACS-a);
- kronična terapija ili suplementacija preparatima koji utječu na koštani metabolizam (bifosfonati, kortikosteroidi, ciklosporin);
- anamneza poremećaja i bolesti koji utječu na koštani metabolizam (rikecioze, osteomalacija, osteoporoza, osteopetroza, fibrozna displazija i *osteogenesis imperfecta*).

## 3.2. Postupci

### 3.2.1. Anamneza, klinički pregled, antropometrijska mjerenja

Svim ispitanicima koji su uključeni u istraživanje, u roku od prvih 24 sata od prijema u Jedinicu koronarne skrbi, uzeli su se detaljni anamnestički podaci, klinički pregled i izvršena su antropometrijska mjerenja. Tjelesna visina i masa izmjereni su koristeći visinomjer i kalibriranu vagu (Seca Birmingham, Ujedinjeno Kraljevstvo). Indeks tjelesne mase izračunat je kao tjelesna masa (kg) podijeljena s kvadratom tjelesne visine ( $m^2$ ). Opseg struka mjereno je u srednjoj aksilarnoj liniji, na razini srednje udaljenosti donjeg ruba rebrenog luka te gornjeg ruba bočnog grebena, a opseg bokova na razini najvećeg opsega glutealnih mišića iznad linije koja spaja velike trohantere natkoljениčne kosti, u stojećem uspravnom položaju. Omjer struka i bokova izračunat je dijeljenjem opsega struka s omjerom opsega bokova. Za ta mjerenja korištena je centimetarska vrpca s preciznošću od 0,5 cm.

### 3.2.2. Uzorkovanje krvi i laboratorijske analize

Pri prijemu ispitanika u Jedinicu koronarne skrbi uzeti su uzorci periferne venske krvi iz podlaktične vene. Svi su uzorci krvi analizirani u istom biokemijskom laboratoriju u Zavodu za medicinsko-laboratorijsku dijagnostiku KBC-a Split i od strane istog specijaliste medicinske biokemije poštujući standarde laboratorijske procedure. Biokemičar nije bio upoznat kojoj skupini ispitanik pripada. Za svakog ispitanika određeni su standardni parametri hematologije, biokemije i koagulacije, a jedan uzorak periferne krvi, nakon centrifugiranja, zamrznut je na  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$  s ciljem kasnijeg određivanja neaktivnog matriksa Gla proteina. Razina plazmatskog dp-



ucMGP-a analizirana je CLIA metodom (engl. *Chemiluminescent Immunoassay*) koristeći IDIS-iSYS InaKtif MGP (Immunodiagnostic Systems, Frankfurt, Njemačka) sukladno preporukama proizvođača. Rađena su parna mjerenja na temelju kojih je određena srednja vrijednost. Donja vrijednost za detekciju bila je 200 pmol/L. Koeficijent varijacije *inter-assay* bio je 7,9 % i *intra-assay* 4,5 %. Vrijednosti visoko osjetljivog Troponina T određivane su CMIA metodom (engl. *Chemiluminescent Microparticle Immunoassay*) koristeći ARCHITECT STAT visoko osjetljiv Troponin T test (Abbot Laboratories, Illinois, Sjedinjene Američke Države) sukladno uputama proizvođača. Ostala laboratorijska mjerenja urađena su sukladno standardnim laboratorijskim procedurama.

### 3.2.3. Invazivna kardiološka obrada

Svim je bolesnicima urađena dijagnostička selektivna koronarna angiografija (koronarografija) transradijalnim pristupom. Pretraga je urađena na uređajima *Siemens Axiom Artis* i *General Electric Innova 2001*. Nakon dijagnostičke koronarografije bolesnici su liječeni perkutanom koronarnom intervencijom (PCI), kardiokirurškom revaskularizacijom (CABG) ili konzervativno, ovisno o odluci tima za revaskularizaciju i operatera uz suglasnost bolesnika.

### 3.2.4. Transtorakalna ehokardiografija

U roku od 24 sata od prijema u Jedinicu koronarne skrbi, nakon provedenog PCI-a, učinjena je transtorakalna ehokardiografija. Sva ehokardiografska mjerenja rađena su u mirovanju, u lijevom bočnom položaju. Istisna frakcija lijeve klijetke mjerena je nekoliko puta koristeći dvodimenzionalno mjerenje u dvjema ravninama sukladno modificiranoj Simpsonovoj metodi te je zabilježena prosječna vrijednost. Sva su mjerenja rađena na Vivid 9 ultrazvučnom aparatu (GE Medical systems, Milwaukee, Sjedinjene Američke Države) te su pohranjena/analizirana na EchoPac radnoj stanici (EchoPac PC, version 112; GE Medical Systems, Milwaukee, WI, Sjedinjene Američke Države). Stupanj srčanog popuštanja i oštećene funkcije lijeve klijetke procijenjen je koristeći Killip klasifikaciju. Za svakog ispitanika procijenjena je smrtnost tijekom hospitalizacije koristeći GRACE bodovnu ljestvicu te rizik velikih krvarenja koristeći CRUSADE bodovnu ljestvicu.

Svi podatci ispitanika uneseni su u individualnu test-listu - posebno dizajnirani obrazac, koji sadržava osobne podatke bolesnika i jedinstvenu šifru bolesnika. Fizička kopija obrasca

arhivirana je na čuvanom mjestu, a dobiveni podatci pohranjeni su pod jedinstvenom šifrom bolesnika u računalni program i zaštićeni su lozinkom. Svi potpisani obrasci informiranog pristanka također će se arhivirati i pohraniti na čuvanom mjestu. U svakom trenutku u fazi istraživanja, anonimnost i cjeloviti identitet ispitanika su sačuvani.

### 3.3. Statistički postupci

Za statističku analizu podataka korišten je statistički softver SPSS za Windowse (verzija 6.01, GraphPad, LaJolla, CA, Sjedinjene Američke Države i verzija 26.0 IBM, Armonk, New York, Sjedinjene Američke Države). Kategorički podatci prikazani su kao cijeli brojevi i postotci, dok su numerički prikazani kao aritmetička sredina  $\pm$  standardna devijacija ili medijan i interkvartilni raspon. Normalnost distribucije procijenjena je Kolmogorov-Smirnov testom. Razlike između usporednih skupina (STEMI vs. NSTEMI) procijenjene su t-testom za nezavisne uzorke i Mann-Whitney U testom za numeričke varijable te hi-kvadratom i Fisherovim egzaktnim testom za kategoričke varijable. Za usporedbu razine dp-ucMGP-a i osnovnih antropometrijskih, kliničkih i laboratorijskih parametra korištena je Pearsonova bivarijantna korelacija.

Za procjenu koja je klinička varijabla neovisni prediktor najviše vrijednosti plazmatske razine dp-ucMGP-a ( $> 940$  pmol/L) u cijelom uzorku korištena je univarijantna binarna logistička regresija. Ova analiza procijenila je relevantne kliničke varijable kao što su dob, spol, indeks tjelesne mase, šećerna bolest, arterijska hipertenzija, dislipidemija, akutno bubrežno zatajenje, pozitivna obiteljska anamneza na srčano-žilne bolesti, hospitalizacije vezane za srčano-žilne bolesti, istisna frakcija lijeve klijetke, višežilna koronarna bolest i NSTEMI, kao pojedinačne pokazatelje najviših vrijednosti plazmatskog dp-ucMGP-a. Varijable koje su se pokazale značajnima za univarijantnu regresijsku analizu dodatno su podvrgnute multivarijantnoj regresijskoj analizi. Konačno, za procjenu je li razina dp-ucMGP-a neovisno povezana s oblikom akutnog infarkta miokarda korištena je postupna multivarijantna regresijska analiza uz prilagodbu potencijalno zbunjujućih varijabli kao što su dob, muški spol i šećerna bolest tip II. Za ovu analizu prikazani su omjer vjerojatnosti (OR), 95 % interval pouzdanosti (CI) i *P* vrijednost. Statistička značajnost definirana je kao *P* vrijednost manja od 0,05.

Za usporedbu plazmatskih razina dp-ucMGP-a između triju kategorija ispitanika (visoki/vrlo visoki rizik, umjereni rizik, nizak/vrlo nizak rizik), koji su podijeljeni s obzirom na

njihov rizik krvarenja procijenjen CRUSADE bodovnom ljestvicom, korištena je jednosmjerna ANOVA analiza (analiza varijance) s *post hoc* Bonferronijevom korekcijom. Nadalje, dodatno smo analizirali jesu li plazmatske razine dp-ucMGP-a neovisno povezane s visokim/vrlo visokim rizikom krvarenja tijekom hospitalizacije (definiran CRUSADE bodovnom ljestvicom > 40 bodova); za ovu analizu, primijenjena je multivarijantna logistička regresija prilagođena s obzirom na unaprijed predodređene kovarijable (dob, prisutnost višezilne koronarne bolesti verificirane koronarnom angiografijom i oblik akutnog infarkta miokarda (STEMI vs. NSTEMI)). Kaplan-Meierova krivulja korištena je za usporedbu jednogodišnjeg preživljavanja nakon infarkta miokarda u ovisnosti o plazmatskim razinama dp-ucMGPa.

### 3.3.1. Izračun veličine uzorka

Procjenu veličine uzorka izračunali smo koristeći statistički program *MedCalc* za Windows (*MedCalc Software*, verzija 17.9.4., Ostend, Belgija). Za izračun veličine uzorka u prvom istraživanju korišteni su podaci utvrđeni pilot istraživanjem na 10 ispitanika sa STEMI infarktomiokarda i 10 ispitanika s NSTEMI-jem. Za izračun je korištena vrijednost inaktivnog MGP-a koji je predstavljao glavni ishod istraživanja, a za usporedbu je korišten t-test za nezavisne uzorke. U bolesnika sa STEMI-jem srednja je vrijednost bila  $541,7 \pm 81,8$  pg/ml, a u bolesnika s NSTEMI-jem  $789,8 \pm 72,1$  pg/ml. Uz  $\alpha$  od 0,05,  $\beta$  od 0,15 te snagu istraživanja od 90 %, potrebna veličina uzorka iznosi 43 ispitanika po skupini. U drugom istraživanju, izračun se temeljio na pilot istraživanju 7 ispitanika s niskim ili vrlo niskim CRUSADE zbirom te 7 s visokim ili vrlo visokim CRUSADE zbirom. Razlika serumskih koncentracija inaktivnog MGP-a između navedenih skupina bila je 218,8 pg/ml, uz standardnu devijaciju od 152,6 pg/ml za jednu, odnosno 148,8 pg/ml za drugu skupinu. Uz  $\alpha$  od 0,05 te snagu istraživanja od 90 %, potrebna veličina uzorka iznosi 11 ispitanika po skupini, što je zadovoljavao planirani broj ispitanika u predloženom istraživanju.

## **4. REZULTATI**

U istraživanje je bilo uključeno 90 ispitanika s dijagnozom akutnog infarkta miokarda, 46 ispitanika s dijagnozom STEMI-ja i 44 ispitanika s dijagnozom NSTEMI-ja. Promatrajući osnovne značajke ispitanika, nije bilo značajnih razlika u dobi, spolu, indeksu tjelesne mase, vrijednostima sistoličkog i dijastoličkog arterijskog tlaka te srčane frekvencije između ispitivanih skupina. Osnovne karakteristike ispitanika uključenih u studiju prikazane su u **Tablici 4.**

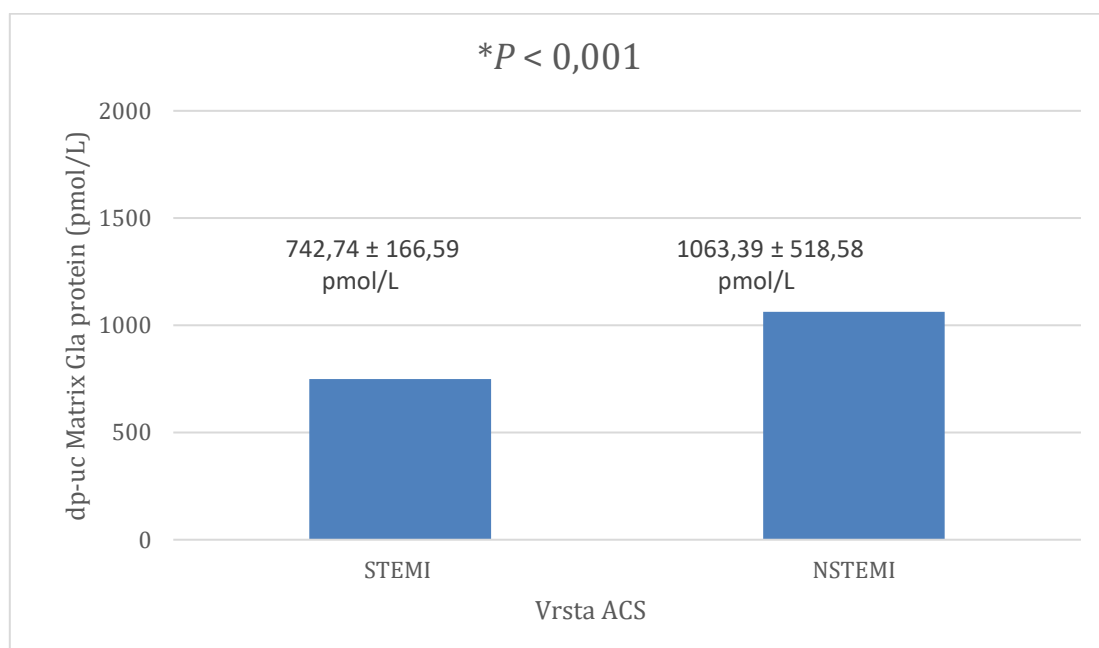
**Tablica 4.** Osnovna obilježja ispitanika.

<b>Varijable</b>	<b>Ukupno (n = 90)</b>	<b>STEMI (n = 46)</b>	<b>NSTEMI (n = 44)</b>	<b>P- vrijednost</b>
Dob, godine	67,2 ± 9,1	66,2 ± 8,8	68,2 ± 9,4	0,308 <sup>1</sup>
Muški spol	71 (78,9 %)	35 (76,1 %)	36 (81,8 %)	0,505 <sup>1</sup>
Indeks tjelesne mase, kg/m <sup>2</sup>	27,08 ± 2,54	27,45 ± 2,71	26,70 ± 2,31	0,158 <sup>3</sup>
Omjer struk-bokovi	1,04 ± 0,68	1,04 ± 0,68	1,04 ± 0,69	0,630 <sup>3</sup>
Sistolički arterijski tlak, mmHg	134,7 ± 21,0	134,3 ± 21,3	135,1 ± 20,9	0,845 <sup>3</sup>
Dijastolički arterijski tlak, mmHg	79,7 ± 12,6	81,2 ± 12,3	78,1 ± 12,9	0,252 <sup>3</sup>
Srčana frekvencija pri prijemu, otk./min.	75,0 ± 16,9	76,7 ± 18,6	73,3 ± 14,9	0,353 <sup>3</sup>
Šećerna bolest	13 (14,4 %)	4 (8,7 %)	9 (20,5 %)	0,140 <sup>2</sup>
Arterijska hipertenzija	51 (56,7 %)	27 (58,7 %)	24 (54,5 %)	0,832 <sup>1</sup>
Pušenje	43 (47,8 %)	24 (52,2 %)	19 (43,2 %)	0,393 <sup>1</sup>
Dislipidemija	14 (15,6 %)	6 (13,0 %)	8 (18,2 %)	0,501 <sup>1</sup>
Atrijska fibrilacija	12 (13,3 %)	8 (17,4 %)	4 (9,1 %)	0,355 <sup>2</sup>
Obiteljska anamneza KVB	17 (18,9 %)	10 (21,7 %)	7 (15,9 %)	0,480 <sup>1</sup>
Povijest PCI-ja ili CABG-a	16 (17,8 %)	4 (8,7 %)	12 (27,3 %)	0,028 <sup>2</sup>
Povijest KV-povezanih hospitalizacija	24 (26,7 %)	5 (10,9 %)	19 (43,2 %)	0,001 <sup>2</sup>
GRACE ljestvica, bodovi	121,4 ± 22,0	121,1 ± 23,1	121,7 ± 23,1	0,906 <sup>3</sup>
Istisna frakcija lijeve klijetke, %	50,7 ± 10,3	51,2 ± 9,7	50,1 ± 11,1	0,652 <sup>3</sup>
Killip klasifikacija *	1,0 (1,0-1,0)	1,0 (1,0-1,0)	1,1 (1,0-1,0)	0,136 <sup>4</sup>
ST segment devijacija u prvom EKG-u	82 (91,1 %)	6 (100 %)	36 (81,8 %)	0,002 <sup>1</sup>
PCI tijekom hospitalizacije	74 (82,2 %)	44 (95,7 %)	30 (68,2 %)	0,001 <sup>1</sup>
Višežilna koronarna bolest	10 (13,3 %)	2 (4,4 %)	8 (26,7 %)	0,012 <sup>2</sup>

Beta-blokator u terapiji	29 (32,2 %)	2 (26,1 %)	17 (38,6 %)	0,203 <sup>1</sup>
ACE inhibitor ili ARB u terapiji	41 (45,6 %)	21 (45,7 %)	20 (45,5 %)	0,985 <sup>1</sup>
Blokator kalcijevih kanala u terapiji	14 (15,6 %)	8 (17,4 %)	6 (13,6 %)	0,623 <sup>1</sup>
Statin u terapiji	18 (20,0 %)	6 (13,0 %)	12 (27,3 %)	0,092 <sup>1</sup>
Diuretik u terapiji	20 (22,2 %)	8 (17,4 %)	12 (27,3 %)	0,260 <sup>1</sup>
Acetilsalicilna kiselina u terapiji	23 (25,6 %)	7 (15,2 %)	16 (36,4 %)	0,021 <sup>1</sup>
P2Y12 inhibitor u terapiji	4 (4,4 %)	1 (2,2 %)	3 (6,8 %)	0,355 <sup>2</sup>
Antikoagulant u terapiji	7 (7,8 %)	4 (8,7 %)	3 (6,8 %)	1,000 <sup>2</sup>
Protrombinsko vrijeme - INR	1,09 ± 0,39	1,07 ± 0,25	1,11 ± 0,50	0,608 <sup>3</sup>
Aktivirano parcijalno tromboplastinsko vrijeme, s	24,13 ± 4,02	23,96 ± 4,21	24,32 ± 3,85	0,672 <sup>3</sup>
C-reaktivni protein, mg/L	6,4 ± 5,0	6,6 ± 5,2	6,2 ± 4,9	0,664 <sup>3</sup>
Visoko-osjetljivi srčani troponin I pri prijemu, ng/L	331,0 ± 293,8	335,2 ± 306,1	326,9 ± 284,8	0,894 <sup>3</sup>
Kalij, mmol/L	4,04 ± 0,40	3,98 ± 0,39	4,10 ± 0,41	0,176 <sup>3</sup>
Urea, mmol/L	7,6 ± 3,2	7,0 ± 2,2	8,2 ± 4,0	0,094 <sup>3</sup>
Kreatinin, μmol/L	0,428	88,0 ± 21,6	102,9 ± 44,3	0,045 <sup>3</sup>

Podaci su prikazani kao srednja vrijednost ± standardna devijacija ili n (%); \* Podatci prikazani kao medijan (interkvartilni raspon); 1 Hi-kvadrat test; 2 Fisherov egzaktni test; 3 t-test za neovisne uzorke; 4 Mann-Whitney U test; SZO: Svjetska zdravstvena organizacija; KOPB: kronična opstruktivna plućna bolest; PCI: perkutana koronarna intervencija; CABG: aorto-koronarno premoštenje, KV: kardiovaskularni; ACE: angiotenzin konvertirajući enzim; ARB: blokator angiotenzinskih receptora; INR: internacionalni normalizirani omjer.

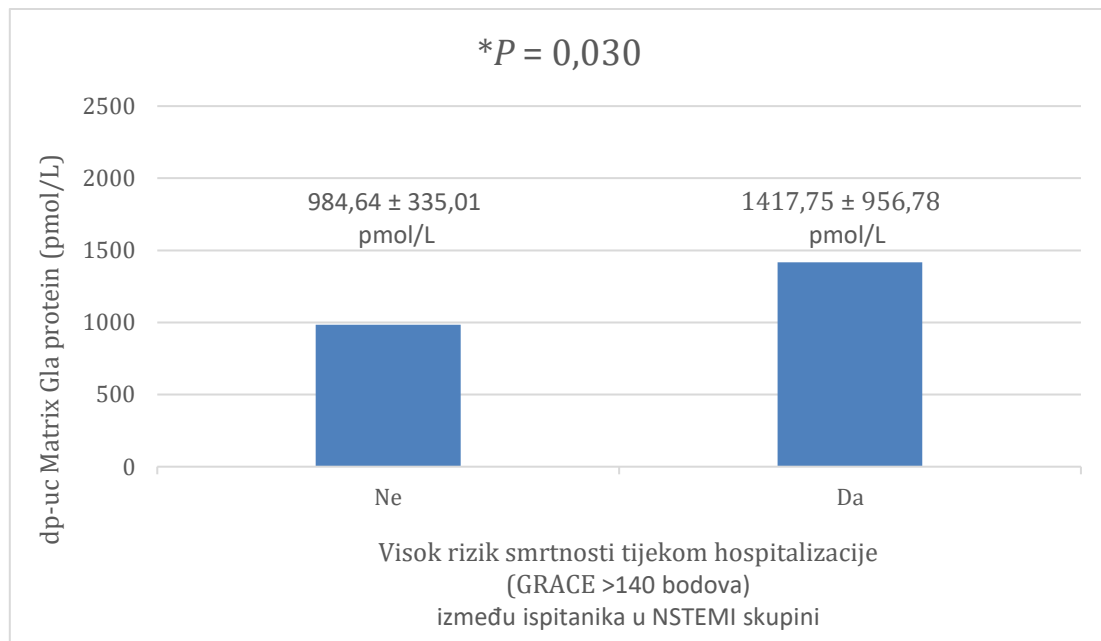
Nadalje, nije bilo statistički značajne razlike u prisustvu šećerne bolesti, arterijske hipertenzije, dislipidemije, pušenja, arterijske fibrilacije i obiteljske anamneze KVB-a. Ispitanici se nisu statistički značajno razlikovali u kroničnoj terapiji, dok je značajno više ispitanika u skupini s NSTEMI-jem imalo acetilsalicilnu kiselinu u terapiji ( $P = 0,021$ ). Ispitanici u NSTEMI skupini, u odnosu na skupinu ispitanika sa STEMI-jem, imali su značajno više hospitalizacija zbog kardiovaskularnih uzroka ( $P = 0,001$ ); značajno više ispitanika imalo je višežilnu koronarnu bolest ( $P = 0,012$ ) i imali su znatno više vrijednosti kreatinina ( $P = 0,045$ ). Skupina ispitanika sa STEMI-jem imala je značajno veće promjene ST segmenta u prvom elektrokardiografskom zapisu ( $P = 0,002$ ) i značajno više PCI-je ( $P = 0,001$ ) u odnosu na skupinu bolesnika s NSTEMI-jem. Razine dp-ucMGP-a bile su značajno više u NSTEMI skupini ispitanika u odnosu na skupinu ispitanika sa STEMI-jem ( $1063,39 \pm 518,58$  vs.  $742,74 \pm 166,59$  pmol/L,  $P < 0,001$ ) (Slika 7).



**Slika 7.** Razine plazmatskog dp-ucMGP-a u podtipovima akutnog koronarnog sindroma (STEMI vs. NSTEMI). Skraćenice: dp-ucMGP: defosforilizirani nekarboksilizirani Matriks Gla protein; STEMI: infarkt miokarda sa ST elevacijom; NSTEMI: infarkt miokarda bez ST elevacije; ACS: akutni koronarni sindrom.



U skupini ispitanika s NSTEMI-jem, ispitanici koji su imali visoki rizik smrtnosti tijekom hospitalizacije (procijenjen GRACE bodovnom ljestvicom > 140 bodova) imali su značajno više plazmatske razine dp-ucMGP-a u odnosu na ispitanike s NSTEMI-jem koji nisu imali visoki rizik smrtnosti tijekom hospitalizacije ( $1417,75 \pm 956,78$  vs.  $984,64 \pm 335,01$  pmol/L,  $P = 0,03$ ) (**Slika 8**).



**Slika 8.** Usporedba razine dp-uc MGP-a između NSTEMI ispitanika s i bez povišenog rizika smrtnosti tijekom hospitalizacije. Skraćenice: dp-uc MGP: defosforilizirani nekarboksilirani Matriks Gla protein; NSTEMI: infarkt miokarda bez ST elevacije; GRACE: Globalni registar akutnih koronarnih događaja.

Analiza univarijantnom Pearsonovom korelacijom pokazala je da plazmatske razine dp-ucMGP-a pozitivno koreliraju s dobi ( $r = 0,259$ ,  $P = 0,014$ ), GRACE bodovnom ljestvicom ( $r = 0,247$ ,  $P = 0,019$ ) i vrijednostima kreatinina u serumu ( $r = 0,428$ ,  $P < 0,001$ ) u objema ispitivanim skupinama (**Tablica 5**).

Podanalizom unutar skupina, u skupini NSTEMI ispitanika, značajna je korelacija uočena (zadržana) između razine dp-uc MGP-a i GRACE bodovne ljestvice ( $r = 0,12$ ,  $P = 0,033$ ), vrijednosti ureje ( $r = 0,341$ ,  $P = 0,024$ ) i vrijednosti kreatinina u serumu ( $r = 0,414$ ,  $P = 0,005$ ), dok je u skupini STEMI ispitanika uočena povezanost vrijednosti dp-ucMGP-a i dobi

( $r = 0,417$ ,  $P = 0,004$ ), parametara hemostaze mjerenih INR-om ( $r = 0,332$ ,  $P = 0,024$ ) i APTV-om ( $r = 0,432$ ,  $P = 0,003$ ). Druge ispitivane varijable, uključujući CRP ( $r = 0,062$ ,  $P = 0,583$ ) nisu pokazale statistički značajnu korelaciju s dp-ucMGP.

**Tablica 5.** Značajna univarijantna Pearsonova korelacija između plazmatskih vrijednosti dp-ucMGP-a i kliničkih i laboratorijskih vrijednosti.

<b>Varijable</b>	<b>r- koeficijent korelacije</b>	<b>P- vrijednost<sup>1</sup></b>
Dob, godine	0,259	0,014
GRACE, bodovi	0,247	0,019
Protrombinsko vrijeme – INR	0,257	0,015
APTV, sek	0,251	0,017
Drugi hsTn I, ng/L	0,236	0,026
Urea, mmol/L	0,369	< 0,001
Kreatinin, $\mu\text{mol/L}$	0,428	< 0,001

<sup>1</sup> Univarijantna Pearsonova analiza. Skraćenice: GRACE: Globalni registar za akutne koronarne događaje; INR: internacionalni normalizirani omjer

**Tablica 6.** Prediktori najviše tercile plazmatskih razina dp-ucMGP-a u svih ispitanika (n = 90), dobivena binarnom logističkom regresijskom analizom.

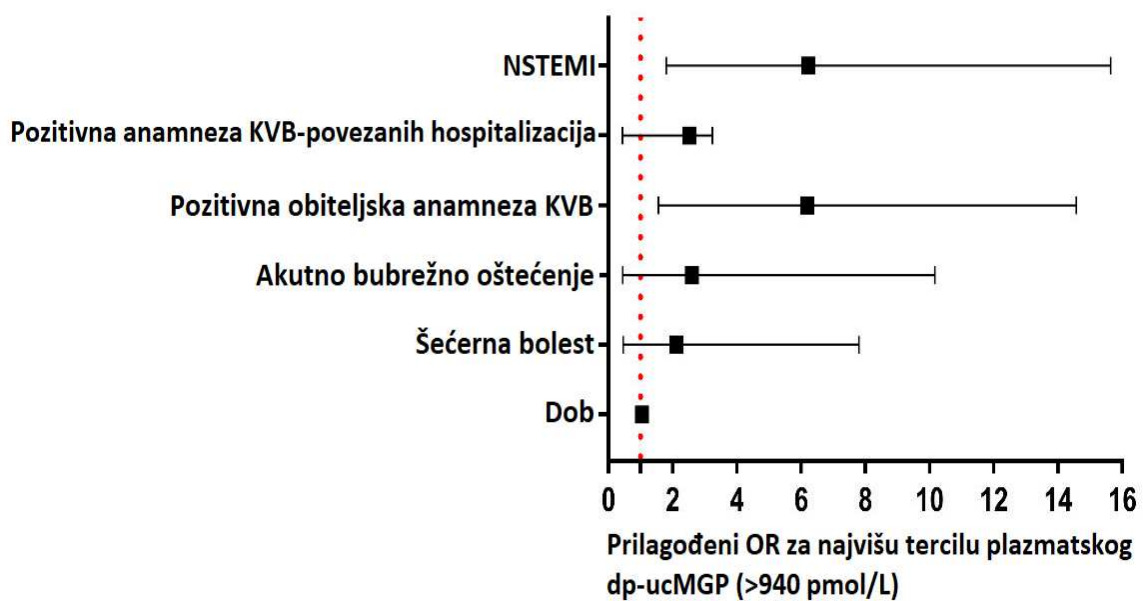
Varijable	Univarijantni model			Multivarijantni model		
	OR	95% CI	P- vrijednost	OR	95% CI	P- vrijednos t
Dob	1,06	1,01-1,12	0,034	1,04	0,98-1,11	0,220
Spol	1,62	0,57-4,59	0,364	-	-	-
BMI	1,09	0,91-1,29	0,346	-	-	-
Šećerna bolest	4,00	1,18-13,57	0,026	2,12	0,46-7,80	0,336
Arterijska hipertenzija	1,87	0,75-4,66	0,178	-	-	-
Dislipidemija	2,30	0,73-7,32	0,157	-	-	-
Akutno bubrežno zatajenje	4,75	1,10-20,57	0,037	2,60	0,45-10,16	0,221
Pozitivna obiteljska anamneza na KVB	3,97	1,27-11,31	0,017	6,19	1,56-14,57	0,010
Pozitivna anamneza KVB povezanih hospitalizacija	3,27	1,17-9,16	0,024	2,53	0,44-3,24	0,849
NSTEMI	4,75	1,81-12,46	0,002	6,23	0,849	0,004
Višežilna bolest	3,06	0,78-11,96	0,107	-	-	-

Kratice: CI – interval pouzdanosti; OR- engl. *odds ratio*; BMI- engl. *Body Mass Indeks*; KVB – kardiovaskularna bolest; NSTEMI- engl. *Non St Elevation Myocardial Infarction*; LVEF – engl. *Left Ventricle Ejection Fraction*; GRACE – engl. *Global Registry Of Acute Coronary Events*

Kako bi se utvrdilo koja je varijabla neovisni prediktor najveće tercile plazmatskih razina dp-ucMGP-a (>960 pmol/L), primijenjena je univarijantna binarna logistička regresija. Ova je analiza pokazala da su dob, šećerna bolest, akutno bubrežno zatajenje, pozitivna obiteljska anamneza na kardiovaskularne bolesti, anamneza hospitalizacija povezanih s kardiovaskularnim bolestima i NSTEMI bili pojedinačni prediktori najviše razine plazmatskih vrijednosti dp-ucMGP-a (**Tablica 6**). Međutim, kada su ove varijable podvrgnute postupnoj multivarijantnoj regresijskoj analizi i prilagođene prema zbunjujućim faktorima, jedini značajni prediktori najviših plazmatskih vrijednosti dp-ucMGP-a bili su NSTEMI (6,19, 95 % CI 1,56-

14,57) i pozitivna obiteljska anamneza na kardiovaskularne bolesti ( 6,23, 95 % CI 1,80 – 15,64) (Slika 9). Nakon prilagodbe zbunjujućih varijabli u modelu postupne multivarijantne logističke regresije, plazmatska razina dp-ucMGP-a kao kontinuirana varijabla bila je značajno povezana s NSTEMI infarktom miokarda (OR 1,004, 95 % CI 1,001 – 1,006) (Tablica 7).

Bolesnici s različitim stupnjem dijastoličke disfunkcije nisu se međusobno razlikovali u plazmatskim razinama dp-ucMGP-a ( $776,6 \pm 177,6$  pmol/L vs.  $950,9 \pm 463,4$  pmol/L vs.  $1025,2 \pm 551,7$  pmol/L vs.  $796,3 \pm 226,1$  pmol/L,  $P = 0,576$ ).



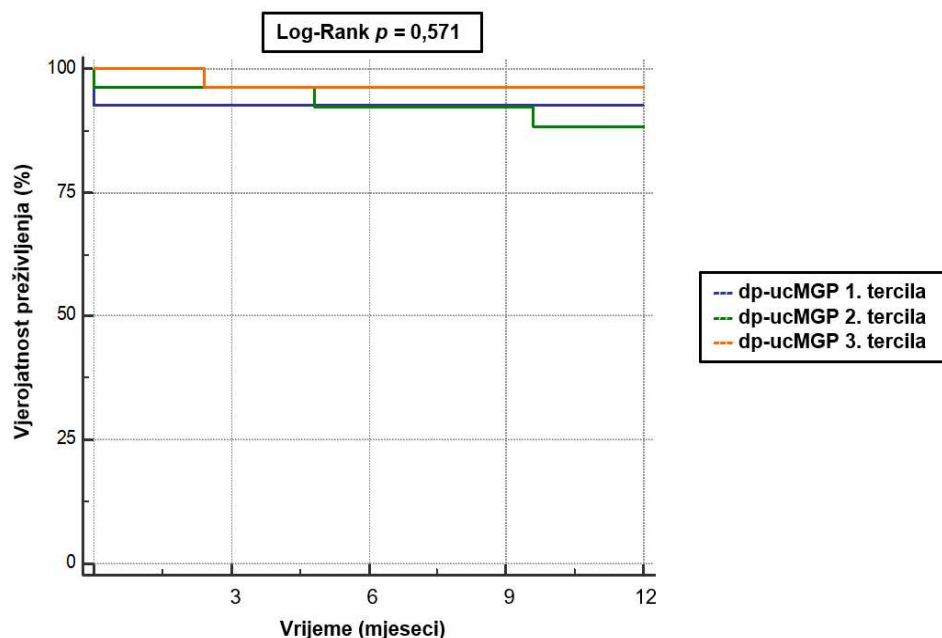
**Slika 9.** Predskazatelji najveće tercile plazmatske razine dp-ucMGP-a (> 940 pmol/L) nakon prilagodbe kovarijabli u postupnom multivarijantnom regresijskom modelu: KVB; kardiovaskularna bolest, OR: omjer vjerovatnosti, NSTEMI: infarkt miokarda bez ST elevacije.

**Tablica 7.** Povezanost plazmatskih razina dp-ucMGP-a s oblikom akutnog infarkta miokarda (NSTEMI) nakon prilagodbe drugih zbunjujućih kovarijabli u modelu postupne multivarijantne logističke regresije.

Varijable	OR	95 % CI	P-vrijednost*
dp-ucMGP, pmol/L	1,004	1,001-1,006	0,003
Dob, godine	1,011	0,940-1,088	0,751
Muški spol	0,453	0,128-1,598	0,218
Šećerna bolest tip II	2,151	0,511-9,056	0,297

\* Multivarijatna logistička regresija. Dp-ucMGP: defosforilizirani-nekarboksilizirani matriks Gla protein

Post-hoc analiza ishoda nakon godinu dana od hospitalizacije pokazala je da nema značajne razlike u smrtnosti između bolesnika s različitim inicijalnim vrijednostima dp-ucMGP-a (Log-Rank  $P = 0,571$ ) (Slika 10).



**Slika 10.** Kaplan-Meierova krivulja preživljavanja nakon infarkta miokarda u ovisnosti o plazmatskim vrijednostima dp-ucMGP-a. Kratice: dp-ucMGP: defosforilizirani-nekarboksilizirani matriks Gla protein.

Za analizu povezanosti razine plazmatskog dp-ucMGP-a i rizika krvarenja procijenjenog CRUSADE bodovnom ljestvicom, nakon što su primijenjeni dodatni isključni kriteriji, uključeno je 80 ispitanika s akutnim infarktom miokarda, od čega 40 ispitanika s dijagnozom STEMI-ja i 40 ispitanika s dijagnozom NSTEMI-ja. Osnovne karakteristike ispitanika prikazane su u **Tablici 8**.

**Tablica 8.** Usporedba osnovnih karakteristika STEMI i NSTEMI ispitanika

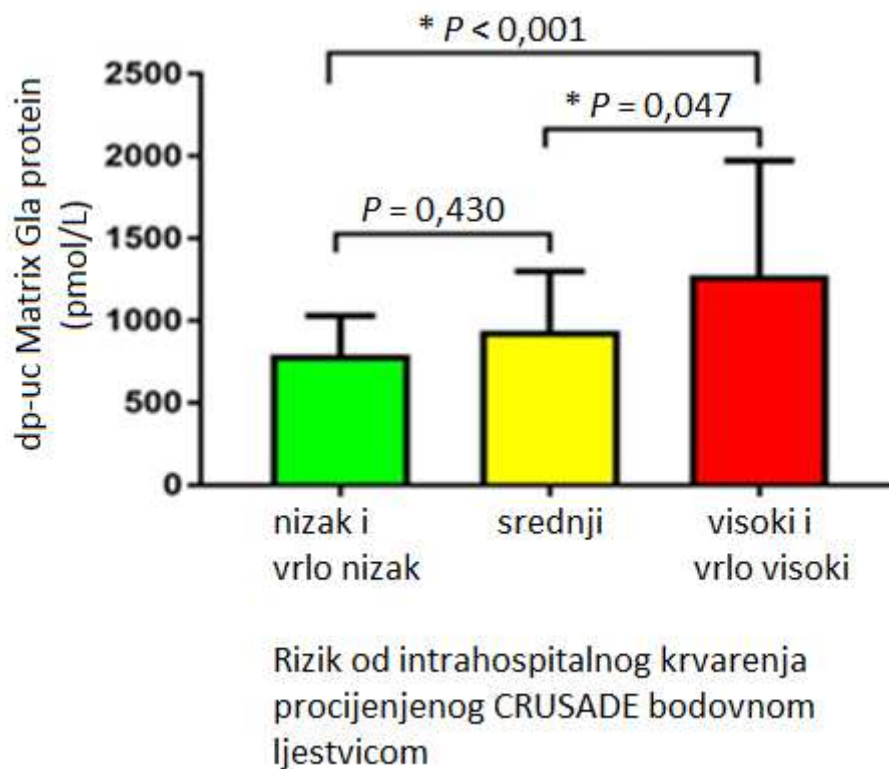
<b>Varijable</b>	<b>Ukupno (n = 80)</b>	<b>STEMI (n = 40)</b>	<b>NSTEMI (n = 40)</b>	<b>P- vrijednost</b>
Dob, godine	69,2 ± 7,5	68,4 ± 7,2	70,0 ± 7,7	0,441 <sup>1</sup>
Muški spol	61 (76 %)	29 (72 %)	32 (80 %)	0,621 <sup>2</sup>
Indeks tjelesne mase, kg/m <sup>2</sup>	27,0 ± 2,5	27,4 ± 2,7	26,7 ± 2,2	0,594 <sup>1</sup>
Srčana frekvencija, otk./min.	75,1 ± 16,8	76,7 ± 18,7	73,5 ± 14,7	0,205 <sup>1</sup>
Sistolički tlak, mmHg	133,9 ± 21,6	132,7 ± 21,7	135,1 ± 21,7	0,699 <sup>1</sup>
Dijastolički tlak, mmHg	78,4 ± 12,5	79,2 ± 11,9	77,6 ± 13,3	0,087 <sup>1</sup>
CRUSADE ljestvica, bodovi	29,9 ± 12,3	27,4 ± 9,9	32,4 ± 14,0	0,011 <sup>1</sup>
GRACE ljestvica,bodovi	125,9 ± 12,8	126,1 ± 20,5	125,8 ± 16,6	0,168 <sup>1</sup>
Istisna frakcija lijeve klijetke, %	50,2 ± 10,3	50,2 ± 9,6	50,4 ± 11,3	0,192 <sup>1</sup>
Procijenjena glomerularna filtracija, mL/min	69,2 ± 19,0	72,5 ± 16,1	65,9 ± 21,2	0,029 <sup>1</sup>
Urea, mmol/L	7,9 ± 3,3	7,3 ± 2,2	8,5 ± 4,1	0,039 <sup>1</sup>
Kreatinin, μmol/L	97,6 ± 36,5	89,8 ± 22,0	105,4 ± 45,7	0,034 <sup>1</sup>
Eritrociti ×10 <sup>12</sup> /L	4,63 ± 0,52	4,63 ± 0,56	4,62 ± 0,48	0,690 <sup>1</sup>
Hematokrit, L/L	0,463 ± 0,05	0,513 ± 0,06	0,413 ± 0,05	0,114 <sup>1</sup>
Leukociti, ×10 <sup>9</sup> /L	10,2 ± 2,9	10,9 ± 2,7	9,6 ± 3,0	0,580 <sup>1</sup>
Trombociti, ×10 <sup>9</sup> /L	233,9 ± 63,1	233,7 ± 59,1	234,1 ± 67,5	0,619 <sup>1</sup>

Glukoza, mmol/L	8,3 ± 3,8	8,2 ± 3,4	8,4 ± 4,3	0,239 <sup>1</sup>
C-reaktivni protein, mg/L	16,5 ± 33,2	18,6 ± 40,8	14,3 ± 23,5	0,317 <sup>3</sup>
hs-cTnT pri prijemu, ng/L	404,7 ± 560,7	446,3 ± 645,7	363,1 ± 464,9	0,073 <sup>3</sup>
Protrombinsko vrijeme- INR	1,10 ± 0,41	1,08 ± 0,27	1,13 ± 0,53	0,585 <sup>1</sup>
Aktivirano parcijalno tromboplastinsko vrijeme, s	24,3 ± 4,2	24,1 ± 4,5	24,4 ± 4,0	0,730 <sup>1</sup>
dp-ucMGP, pmol/L	931,8 ± 446,7	765,1 ± 166,2	1098,6 ± 565,2	0,001 <sup>1</sup>
Višezilna bolest	12 (16,4 %)	2 (5,1 %)	10 (29,4 %)	0,005 <sup>4</sup>
Arterijska hipertenzija	49 (61,3 %)	25 (62,5 %)	24 (60 %)	0,818 <sup>2</sup>
Dijabetes mellitus tip II	13 (16,3 %)	4 (10 %)	9 (22,5 %)	0,130 <sup>4</sup>
Pušenje	35 (43,8 %)	20 (50 %)	15 (37,5 %)	0,260 <sup>2</sup>
Terapija beta-blokatorima	28 (35 %)	12 (30 %)	16 (40 %)	0,348 <sup>2</sup>
ACE inhibitor ili ARB u terapiji	40 (50 %)	20 (50 %)	20 (50 %)	1,000 <sup>2</sup>
Blokatori kalcijevih kanala u terapiji	14 (17,5 %)	8 (20 %)	6 (15 %)	0,556 <sup>2</sup>

1 *t*-test za neovisne uzorke; 2 hi-kvadrat test; 3 Mann-Whitney U; 4 Fisherov egzaktni test; Podaci prikazani kao srednja vrijednost ± standardna devijacija, broj (%) ili kao medijan (IKR). Skraćenice: CRUSADE: Can Rapid Risk Stratification of Unstable Angina Patients Suppress Adverse Outcomes With Early Implementation of the ACC/AHA Guidelines; GRACE: Global Registry of Acute Coronary Events; hs-cTn T: visoko osjetljivi troponin T; INR: internacionalni normalizirajući omjer; dp-ucMGP: defosforilizirani-nekarboksilizirani Matriks Gla protein; ACE: angiotenzin konvertirajući enzim; ARB: blokator angiotenzinskih receptor.



Skupina je ispitanika s NSTEMI-jem imala značajno više razine serumskog kreatinina ( $P = 0,034$ ), rizik velikog krvarenja prema CRUSADE bodovnoj ljestvici ( $P = 0,011$ ), razinu dp-ucMGP ( $P = 0,001$ ) i učestalost višezilne koronarne bolesti ( $P = 0,005$ ) u odnosu na skupinu ispitanika sa STEMI-jem. U skupni ispitanika sa STEMI-jem bila je značajno viša vrijednost procijenjene glomerularne filtracije ( $P = 0,029$ ) u odnosu na skupinu ispitanika s NSTEMI-jem. Kada su ispitanici s akutnim infarktom miokarda podijeljeni u tri skupine s obzirom na rizik velikih krvarenja procijenjen CRUSADE bodovnom ljestvicom te uspoređeni s obzirom na plazmatske razine dp-ucMGP-a nisu uočene značajne razlike između skupina niskog/vrlo niskog rizika i umjerenog rizika (794 vs. 941 pmol/L;  $P = 0,430$ ). Međutim, ispitanici visokog/vrlo visokog rizika velikih krvarenja imali su značajno više vrijednosti plazmatskih razina dp-ucMGP-a uspoređujući s ispitanicima s niskim/vrlo niskim i umjerenim rizikom velikih krvarenja (1277 vs. 794 pmol/L;  $P < 0,001$ , odnosno 1277 vs. 941 pmol/L,  $P = 0,047$ ) (**Slika 11**).



**Slika 11.** Usporedba plazmatskih razina dp-ucMGP-a između triju podgrupa ispitanika s obzirom na rizika za velika krvarenja tijekom hospitalizacije procijenjena CRUSADE bodovnom ljestvicom. Skraćenice: CRUSADE *Can Rapid Risk Stratification of Unstable Angina Patient Suppress Adverse Outcomes With Early Implementation of ACC/AHA Guidelines*

U multivarijantnom logističkom regresijskom modelu prilagođenom za unaprijed određene kovarijable, plazmatske razine dp-ucMGP-a pokazale su se kao neovisan prediktor visoke/vrlo visoke smrtnosti tijekom hospitalizacije dajući OR od 1,004 (95 % CI 1,002- 1,006,  $P = 0,023$ ). Druge ispitivane kovarijable nisu pokazale prediktivnu vrijednost u regresijskom modelu (**Tablica 9**).

**Tablica 9.** Predskazatelji visokog/vrlo visokog rizika krvarenja tijekom hospitalizacije (CRUSADE bodovi > 40) u modelu multivarijantne logističke regresije.

<b>Varijable</b>	<b>Omjer vjerojatnosti</b>	<b>95 % CI</b>	<b>P-vrijednost</b>
Dob, godine	1,023	0,937-1,117	0,610
dp-ucMGP, pmol/L	1,002	1,001-1,004	0,032
Višezilna bolest	2,987	0,628-14,201	0,169
NSTEMI	0,931	0,199-4,351	0,928

Skraćenice: dp-ucMGP: defosforilizirani nekarboksilizirani Matriks Gla protein;.

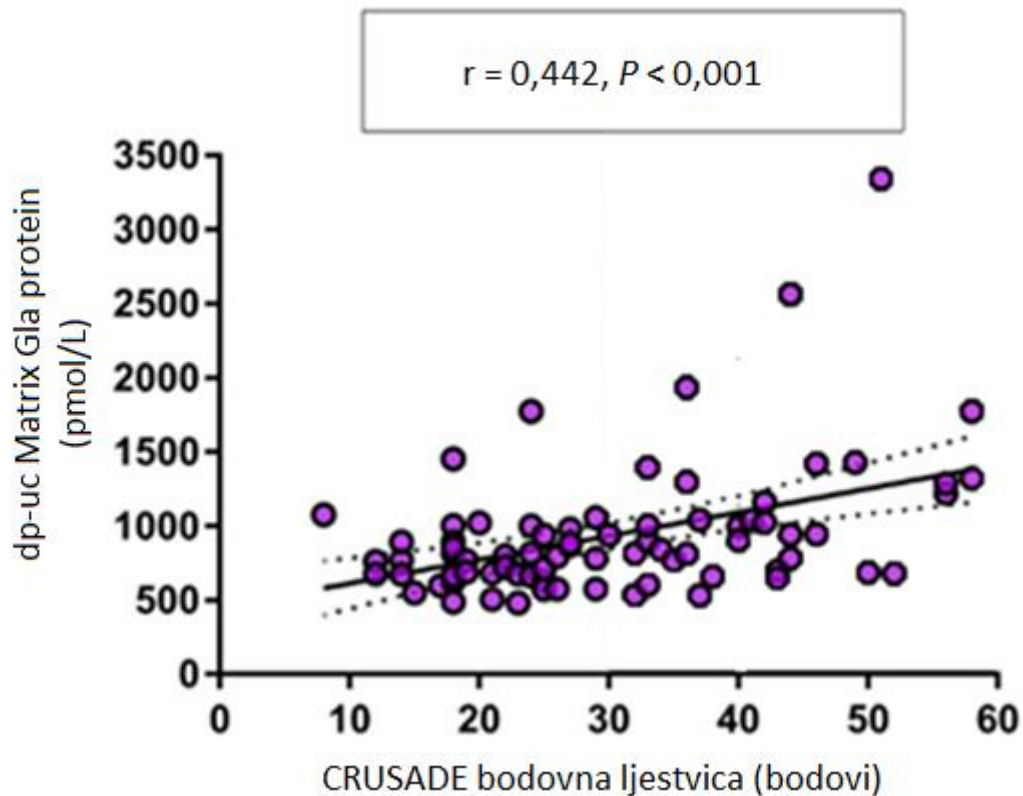
Uspoređujući laboratorijske parametre zgrušavanja i bodovne ljestvice za procjenu rizika velikih krvarenja, uočeno je da su značajno više vrijednosti u najvišoj tercili plazmatskih vrijednosti dp-ucMGP-a za APTV ( $P = 0,012$ ), protrombinsko vrijeme iskazano INR-om ( $P = 0,038$ ) i CRUSADE bodovna ljestvica ( $P < 0,001$ ) u odnosu na vrijednosti u najnižoj razini dp-ucMGP-a. Slično, ispitanici s najvišom tercilom plazmatskih vrijednosti dp-ucMGP-a imali su više oštećenu bubrežnu funkciju ( $P < 0,001$ ) i niže vrijednosti hematokrita ( $P = 0,004$ ) uspoređujući s ispitanicama s najnižom tercilom plazmatskog dp-ucMGP-a (**Tablica 10**).

**Tablica 10.** Razlike u laboratorijskim parametrima koji utječu na vjerojatnost krvarenja i bodovne ljestvice (CRUSADE i GRACE) podijeljeni na najnižu, odnosno najvišu tercilu vrijednosti dp-ucMGP.

<b>Varijable</b>	<b>Najniža tercila dp-ucMGP</b>	<b>Najviša tercila dp-ucMGP</b>	<b>P-vrijednost</b>	<b>P-vrijednost post hoc testa</b>
Dob, godine	66,9 ± 7,1	71,5 ± 7,6	0,077*	n.p.
CRUSADE ljestvica, bodovi	25,5 ± 10,6	37,6 ± 13,4	< 0,001*	< 0,001
GRACE ljestvica, bodovi	123 ± 22	131 ± 16	0,229*	n.p.
eGFR, mL/min	78,0 ± 16,5	56,7 ± 19,0	< 0,001*	< 0,001
Hematokrit, L/L	0,43 (0,41-0,45)	0,39 (0,36-0,45)	0,035**	0,031
Trombociti, ×10 <sup>9</sup> /L	237 ± 64	238 ± 63	0,986*	n.p.
Protrombinsko vrijeme-INR	1,01 ± 0,08	1,25 ± 0,69	0,003*	0,002
aPTT, s	23,4 ± 2,0	26,3 ± 6,2	< 0,001*	< 0,001

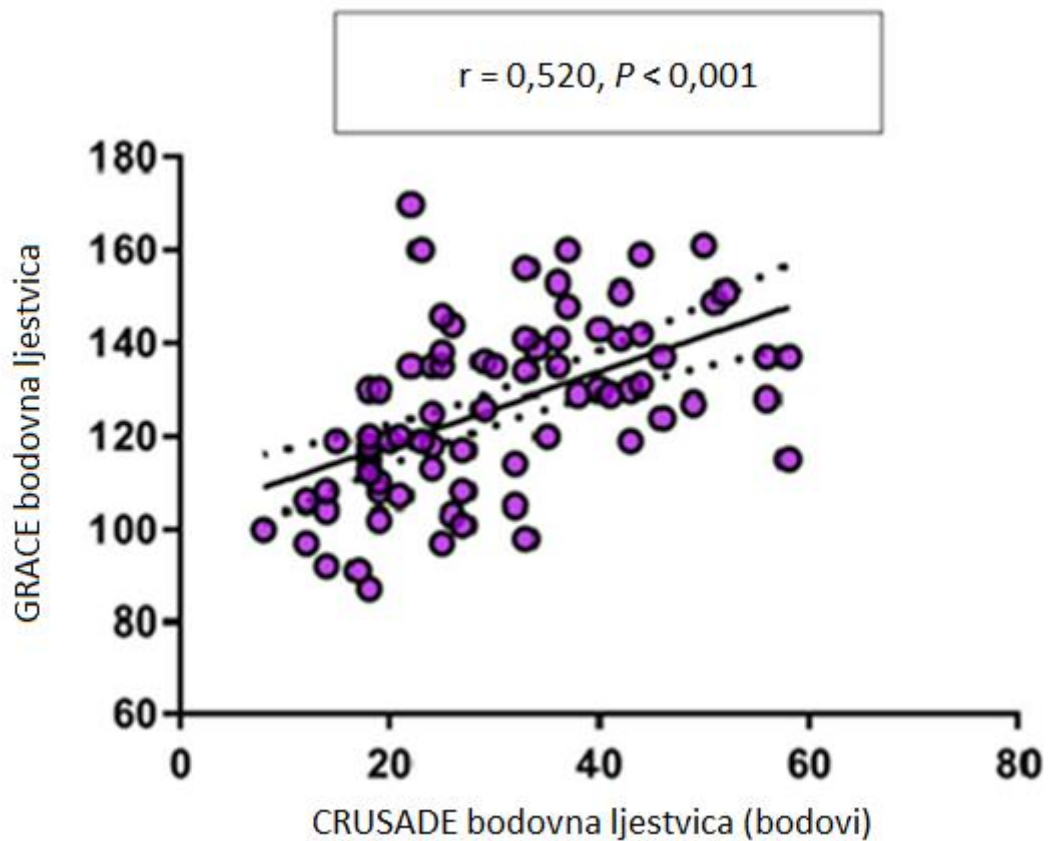
\* jednosmjerna ANOVA s *post hoc* Tukey-Kramer testom \*\*Kruskal-Wallis s *post hoc* Conoverovim testom. Skraćenice CRUSADE: *Can Rapid Risk Stratification of Unstable Angina Patients Suppress Adverse Outcomes With Early Implementation of the ACC/AHA Guidelines*; GRACE: *Global Registry of Acute Coronary Events*; aPTT: Aktivirano parcijalno tromboplastinsko vrijeme; INR: internationalni normalizirani omjer; eGFR: procjenjena glomerularna filtracija; n.p.: nije primjenjivo.

Univarijantnom Pearsonovom korelacijskom analizom uočena je značajna pozitivna korelacija između rizika velikog intrahospitalnog krvarenja procijenjenog CRUSADE bodovnom ljestvicom i vrijednosti plazmatskog dp-ucMGP-a ( $r = 0,442$ ,  $P < 0,001$ ) (**Slika 12**).



**Slika 12.** Univarijantna Pearsonova korelacijska analiza između dp-ucMGP-a i CRUSADE bodovne ljestvice. Skraćenice: dp-ucMGP; defosforilizirani-nekarboksilizirani Matriks Gla proetin; CRUSADE: *Can Rapid Risk Stratification of Unstable Angina Patient Suppress Adverse Outcomes With Early Implementation of the ACC/AHA Guidelines*.

Pronađena je značajna pozitivna korelacija između rizika velikog intrahospitalnog krvarenja procijenjenog CRUSADE bodovnom ljestvicom i rizika intrahospitalne smrtnosti procijenjene GRACE bodovnom ljestvicom ( $r = 0,520, p < 0,001$ ) (**Slika 13**).



**Slika 13.** Univarijantna Pearsonova korelacijska analiza između GRACE i CRUSADE bodovne ljestvice. Skraćenice: GRACE: Globalni registar akutnih koronarnih zbivanja; CRUSADE: *Can Rapid Risk Stratification of Unstable Angina Patient Suppress Adverse Outcomes With Early Implementation of the ACC/AHA Guidelines.*



Ovo istraživanje donijelo je nekoliko važnih rezultata. Jedan je od glavnih rezultata ovog istraživanja da su plazmatske razine dp-ucMGP-a bile značajno više u skupini ispitanika s NSTEMI-jem u odnosu na ispitanike sa STEMI-jem. Nadalje, pronađeno je da su NSTEMI i pozitivna obiteljska anamneza na kardiovaskularne bolesti najznačajniji prediktori najviših plazmatskih vrijednosti dp-ucMGP-a. Također, pronađena je statistički značajna pozitivna korelacija plazmatske vrijednosti dp-ucMGP-a s dobi ispitanika, vrijednostima kreatinina te s rizikom smrtnosti tijekom hospitalizacije procijenjene GRACE bodovnom ljestvicom. Provedeno je istraživanje do sada prva studija koja je uspoređivala plazmatske vrijednosti dp-ucMGP-a u pacijenata sa STEMI-jem i NSTEMI-jem. Dobivene razlike u plazmatskim vrijednostima dp-ucMGP-a moguće je objasniti različitom patofiziologijom aterosklerotskog plaka u bolesnika s NSTEMI-jem i STEMI-jem. Donga i suradnici su pokazali da bolesnici s NSTEMI-jem imaju veću učestalost kalcifikacije pokrovne kape aterosklerotskog plaka i veći postotak površinske kalcifikacije na poprečnom presjeku najužeg lumena krvne žile u odnosu na bolesnike sa STEMI-jem (140). Intravaskularna slikovna dijagnostika također je pokazala više hiperehogenije lezije, a manje hipoehogene i bogate lipidima u NSTEMI pacijenata u odnosu na pacijente sa STEMI-jem (176). Također, bolesnici s NSTEMI-jem imali su izraženije kalcifikacije luka koronarne arterije u sklopu ACS-a u odnosu na ispitanike sa STEMI-jem (176). Budući da su prethodne studije utvrdile povezanost između razina dp-ucMGP-a i proširenosti vaskularne kalcifikacije u različitim patološkim stanjima, ovim je moguće, barem djelomično, objasniti uočene razlike (177-181). Moguće je da više razine cirkulirajućeg dp-ucMGP-a odražavaju više kalcificirane lezije koronarnih arterija i viši ukupni rizik vaskularne kalcifikacije. Dodatno ovom opažanju, uočili smo da je dob značajan univarijantni predskazatelj više razine dp-ucMGP-a; međutim, u multivarijantnom modelu ta se značajnost gubi. Ovo je potencijalno relevantan podatak budući da je dobro utvrđeno da je vaskularna kalcifikacija ovisna o dobi te da se stariji pacijenti prezentiraju više kalcificiranim i izmijenjenim koronarnim arterijama u odnosu na mlađe bolesnike (182). Značajno je naglasiti da su u našem istraživanju NSTEMI ispitanici imali značajno više višežilnu bolest u odnosu na ispitanike sa STEMI-jem. Ovo također u određenoj mjeri objašnjava razliku u koncentraciji dp-ucMGP-a između ispitivanih skupina iako se višežilna koronarna bolest nije pokazala kao značajan predskazatelj povišenih razina dp-ucMGP-a u našem istraživanju. Nadalje, u našem istraživanju pronađeno je da su plazmatske razine dp-ucMGP-a pozitivno korelirale s rizikom smrtnosti tijekom hospitalizacije procijenjene GRACE bodovnom ljestvicom. U skupini ispitanika s NSTEMI-jem pronađene su statistički značajno veće plazmatske vrijednosti dp-



ucMGP-a u ispitanika s visokim rizikom smrtnosti u odnosu na ispitanike s niskim rizikom smrtnosti procijenjene GRACE bodovnom ljestvicom. Ovaj pronalazak ukazuje na moguću ulogu dp-ucMGP-a u procjeni rizika smrtnosti u NSTEMI-ju. Ipak, jednogodišnje praćenje bolesnika nije uspjelo utvrditi takvu razliku, što je vjerojatno posljedica malog broja smrti i činjenice da je u većini smrti uzrok u tom periodu praćenja bio COVID-19. Daljnja istraživanja koje će pouzdanije istražiti ovaj problem morat će uključivati duži period praćenja i/ili kompozitne ishode. Prethodne su studije pokazale oprečne rezultate povezanosti povišenih razina dp-ucMGP-a i loših ishoda kardiovaskularnih bolesti. Točnije, Mayer i suradnici pokazali su da je cirkulirajući dp-ucMGP neovisno povezan s ukupnom i kardiovaskularnom smrtnosti te da je dp-ucMGP naj snažniji predskazatelj smrtnosti u ispitanika s niskim kardiovaskularnim rizikom (142). Dodatne studije pokazale su važnost procjene kardiovaskularnog rizika pomoću vrijednosti dp-ucMGP-a u bolesnika sa šećernom bolešću, koja je neovisna o drugim klasičnim čimbenicima rizika i statusu vitamina D (141, 143). Obrnuto, Dalmeijer i suradnici u prospektivnoj *case-cohort* studiji prikazali su da razine dp-ucMGP-a nisu bile povezane s povišenim kardiovaskularnim rizikom, dok je Mandelianaova randomizirana studija u flamanskoj populaciji pokazala da više razine dp-ucMGP-a ukazuju na povišenu ukupnu, ne-malignu i kardiovaskularnu smrtnost, ali i niži koronarni rizik (144, 183). Prema istraživanju Wanga i suradnika, bodovanje kalcifikacije koronarne arterije poboljšava procjenu kardiovaskularnog rizika i razotkriva određeni udio pojedinaca koji su pod umjereno povišenim rizikom (184). Budući da povišene razine dp-ucMGP-a mogu biti rani odraz vaskularne kalcifikacije, Vassalle i suradnici su raspravljali da bi se plazmatske razine dp-ucMGP-a mogle koristiti za procjenu kardiovaskularnog rizika (185). Usprkos tomu, primjerenost svakog novog biomarkera mora biti procijenjena da bi se prosudila klinička relevantnost i dobio odgovor na ključno pitanje - omogućava li novi biomarker, pored postojećih tradicionalnih biomarkera, dobivanje dodatnih informacija o tome na koju bi se skupinu ispitanika trebao primjenjivati i u kojoj bi se točki vremena trebao određivati. Konačno, pozitivna korelacija između cirkulirajućeg dp-ucMGP-a s vrijednostima ureje i kreatinina, koju smo u ovom istraživanju uočili, u korelaciji je s prethodno provedenim studijama. Schurgers i suradnici pokazali su da plazmatske razine dp-ucMGP-a progresivno rastu s napredovanjem stupnja kroničnog bubrežnog zatajenja. Tome u prilog govori i studija Faina i suradnika koja je potvrdila više razine dp-ucMGP-a u bolesnika na hemodijalizi (184, 186). Nadalje, moguće je da su povišene vrijednosti dp-ucMGP povezane s povišenim vrijednostima lipoproteina A koji je utvrđen kao čimbenik povišenog kardiovaskularnog rizika, ali i biomarker progresije

kalcifikacije koronarne arterije (188). Štoviše, prethodne studije pokazale su pozitivnu korelaciju između LpA i razina dp-ucMGP-a sugerirajući da su povišene razine dp-ucMGP-a povezane s LpA stvaranjem negativne povratne sprege (189, 190). Dodatno, potvrđeno je da je sniženje vrijednosti LpA može značajno doprinijeti smanjenju ostatnog kardiovaskularnog rizika u bolesnika s koronarnom arterijskom bolešću i optimalnim vrijednostima LDL kolesterola (191-193).

U našem istraživanju, kada smo ispitivali povezanost razine dp-ucMGP-a i rizika velikog krvarenja u bolesnika s akutnim infarktom miokarda, pokazalo se nekoliko važnih rezultata.

Pronađena je značajna pozitivna korelacija između vrijednosti plazmatskog dp-ucMGP-a i rizika velikog intrahospitalnog krvarenja procijenjenog CRUSADE bodovnom ljestvicom, što ukazuje na moguću povezanost između cirkulirajućih razina dp-ucMGP-a i rizika velikog krvarenja u pacijenata s akutnim infarktom miokarda. Također, statistički značajno veće plazmatske koncentracije dp-ucMGP-a bile su u ispitanika koji su imali visok i vrlo visok rizik velikih krvarenja procijenjen CRUSADE bodovnom ljestvicom u odnosu na ispitanike s niskim, vrlo niskim i umjerenim rizikom velikih krvarenja. Pronađen je značajno veći rizik velikog krvarenja prema CRUSADE bodovnoj ljestvici u skupini ispitanika s NSTEMI-jem u odnosu na skupinu bolesnika sa STEMI-jem. Iako dosada nije provedena ovako dizajnirana studije, postoji više radova koji podupiru rezultate našeg istraživanja. Cranenburg i suradnici prvi su ustanovili uzročnu povezanost između razina cirkulirajućeg dp-ucMGP-a i statusa vitamina K (194). Autori su utvrdili da plazmatska razina dp-ucMGP-a raste tijekom liječenja antagonistima vitamina K i da tijekom suplementacije vitaminom K razina dp-ucMGP-a drastično pada. Autori te studije također su zaključili da je dp-ucMGP najbolji pojedinačni biomarker nedostatka vitamina K i rizika krvarenja (194). Sličan zaključak potvrđen je istraživanjem Schurgersa i suradnika koji su pokazali da dugotrajna terapija vitaminom K sprječava karboksilaciju faktora zgrušavanja, što je bilo evidentno smanjenjem karboksilacije MGP-a s posljedičnim povećanjem udjela dp-ucMGP-a i time povećanom vaskularnom kalcifikacijom (147). Dalmeijer i suradnici također su pronašli da je nizak status vitamina K i suplementacija sa 7-menakinonom povezan s višim koncentracijama dp-ucMGP-a, ali ne i s povišenim razinama drugih frakcija MGP-a, pri čemu su, kao procjena statusa vitamina K, koristili omjer nekarboksiliziranog i karboksiliziranog osteokalcina (119, 177). Nadalje, pokazano je da visoke razine dp-ucMGP-a mogu biti povezane s lošim ishodima budući da su

cirkulirajuće razine dp-ucMGP-a neovisno povezane s ukupnom i kardiovaskularnom smrtnosti u pacijenata s kroničnom stabilnom vaskularnom bolešću tijekom medijana praćenja ispitanika od 5,6 godina (142). U našem istraživanju, pronađena je statistički značajna pozitivna korelacija plazmatske vrijednosti dp-ucMGP-a s dobi ispitanika i vrijednostima kreatinina, što se podudara sa saznanjima da se razine cirkulirajućeg dp-ucMGP-a povećavaju s godinama i s pogoršanjem bubrežne funkcije u općoj populaciji, a to se djelomično može etiopatogenetski povezati s nedostatkom vitamina K (195, 196). To se podudara i s rezultatima našeg istraživanja jer su statistički značajno veće plazmatske koncentracije dp-ucMGP-a bile u ispitanika koji su imali visok i vrlo visok rizik velikih krvarenja procijenjen CRUSADE bodovnom ljestvicom u odnosu na ispitanike s niskim, vrlo niskim i umjerenim rizikom velikih krvarenja. Također, povišene koncentracije dp-ucMGP-a kao pokazatelj manjka vitamina K može se promatrati kroz laboratorijske parametre koagulacije te je udruženo s produženjem vrijednosti PV-a i u manjoj mjeri vrijednosti APTV-a kao pokazatelja unutrašnjeg i zajedničkog puta koagulacijske kaskade (197). I u našem je istraživanju pronađeno da su ispitanici s najvišom tercilom plazmatske razine dp-ucMGP-a imali značajno lošije parametre hemostaze u odnosu na ispitanike koji su svrstani u najnižu tercilu prema plazmatskim vrijednostima dp-ucMGP-a.

U ovom istraživanju pronađena je značajna pozitivna korelacija između rizika velikog intrahospitalnog krvarenja procijenjenog CRUSADE bodovne ljestvice i rizika smrtnosti procijenjenog GRACE bodovnom ljestvicom. Takva zapažanja vjerojatno potvrđuju da su bolesnici s akutnim infarktom miokarda pod povišenim rizikom od komplikacija ishemijskog događaja kao i od krvarenja budući da dijele zajedničke patofiziološke mehanizme. Procjenjuje se da je jedna trećina bolesnika s ACS-om pod „dvojnim visokim rizikom“, odnosno rizikom ishemijskih događaja i krvarenja (198). Važnost uporaba bodovnih ljestvica za procjene smrtnosti i krvarenja u ACS-u podupire i istraživanja Cordera i suradnika koji su pokazali da udruženo GRACE i CRUSADE bodovanje poboljšava procjenu vjerojatnosti smrtnosti u bolesnika s ACS-om (199). Nadalje, pokazano je da CRUSADE omogućava otkrivanje rizika krvarenja, a posebice u bolesnika s ACS-om kojima je invazivna kardiološka obrada, kao i u našem istraživanju, bila radijalnim pristupom (200).

U našem istraživanju bilo je nekoliko ograničenja. Kao prvo, studija je presječnog dizajna, stoga ne možemo potvrditi kauzalnost rezultatima, već samo potencijalnu povezanost. Umjesto dinamike praćenja serumske vrijednosti dp-ucMGP-a, plazmatske vrijednosti dp-ucMGP-a mjerene su u jednoj vremenskoj točki, što ne dozvoljava istraživanje preciznih

aliteracija i dinamike razine dp-ucMGP-a. Ipak, isto vrijeme uzorkovanja (u vremenu 24 sata po prijemu u Jedinicu koronarne skrbi) provedeno je u svih ispitanika. Iako su veličine uzoraka u ispitivanim skupinama bile dovoljno velike da pokažu statističku značajnost među njima, dodatne studije s većim brojem ispitanika bile bi korisne u smislu doprinosa tumačenju rezultata ovog istraživanja. Budući da naša studija nije uključila ispitanike s teškim oblikom srčanog zatajenja uz akutni infarkt miokarda, dobiveni se rezultati ne mogu prenijeti na čitavu populaciju bolesnika s akutnim infarktom miokarda. Daljnje studije s većim uzorkom uz korištenja različitih mjerenja i procjena kalcifikacija koronarnih žila potrebne su da se potvrde ovi rezultati te da se razjasni precizna povezanost i uloga dp-ucMGP-a u bolesnika s akutnim infarktom miokarda.

## **6. ZAKLJUČCI**

1. Plazmatske koncentracije dp-ucMGP-a bile su značajno veće u skupini bolesnika s NSTEMI-jem u usporedbi sa skupinom ispitanika sa STEMI-jem.
2. Pronađena je statistički značajna pozitivna korelacija između plazmatskih koncentracija dp-ucMGP-a s dobi ispitanika, rizikom smrtnosti procijenjenog GRACE bodovnom ljestvicom i vrijednostima kreatinina u bolesnika s akutnim infarktom miokarda.
3. Pronađeno je da su najznačajniji prediktori najviših plazmatskih vrijednosti dp-ucMGP-a u bolesnika s ACS-om akutni infarkt miokarda bez elevacije ST spojnice (NSTEMI) i pozitivna obiteljska anamneza na kardiovaskularne bolesti.
4. Rizik pojave značajnog krvarenja procijenjenog prema CRUSADE bodovnoj ljestvici veći je u skupini ispitanika s NSTEMI-jem u odnosu na skupinu bolesnika sa STEMI-jem.
5. Pronađena je značajna pozitivna korelacija između rizika pojave značajnog krvarenja procijenjenog CRUSADE bodovnom ljestvicom i vrijednosti plazmatskih razina dp-ucMGP-a u pacijenata sa akutnim infarktom miokarda.

Akutni koronarni sindrom predstavlja spektar kliničkih stanja povezanih sa smanjenim krvnim protokom u koronarnim arterijama i predstavlja vodeći javno-zdravstveni problem i uzrok smrtnosti. Patofiziološki su mehanizmi u nastanku STEMI-ja i NSTEMI-ja različiti, a značajnu ulogu ima vaskularna kalcifikacija. Matriks Gla protein smatra se jednim od važnijih čimbenika u prevenciji vaskularne kalcifikacije. Povišene razine dp-ucMGP-a povezane su s povećanim rizikom nastanka aterosklerotskih plakova, a povećan izražaj MGP-a na koronarnim arterijama s povećanom koronarnom kalcifikacijom. Ovo istraživanje proširilo je postojeća znanja te doprinijelo boljem razumijevanju patofiziologije infarkta miokarda. Također, rezultati su proširili saznanja o ulozi MGP-a u infarktu miokarda, povezanosti s rizikom smrtnosti i rizikom velikih krvarenja u bolesnika s ACS-om. Nadalje, u ovoj disertaciji prvi put dosad istražena je uloga MGP-a u različitim tipovima ACS-a i njegova povezanost s ishodima bolesnika s ACS-om.

Znanstveni je doprinos ove disertacije u tome što nudi integrativni pristup koji sagledava patofiziologiju ACS-a, ulogu MGP-a u bolesnika s infarktomiokarda i na taj način omogućava potencijalnu primjenu tih saznanja u svakodnevnoj kliničkoj praksi uz laboratorijsku obradu u svrhu donošenja optimalnog terapijskog pristupa u bolesniku s ACS-om.

## **7. SAŽETAK**



**Uvod:** U patofiziologiji infarkta miokarda značajnu ulogu ima vaskularna kalcifikacija. Dosadašnje studije ukazuju da je Matriks Gla protein (MGP) jedan od važnijih čimbenika u prevenciji vaskularne kalcifikacije, a povišene razine inaktivnog MGP-a povezane su s povećanim rizikom nastanka aterosklerotskih plakova. Do sada nije istražena razina inaktivnog MGP-a u bolesnika s akutnim infarktom miokarda sa ST elevacijom (STEMI) i infarktom miokarda bez ST elevacije (NSTEMI) te povezanost s rizikom smrtnosti i velikih krvarenja u bolesnika s infarktom miokarda.

**Cilj:** Cilj je ove studije bio usporediti razinu inaktivnog MGP-a u bolesnika s NSTEMI-jem u odnosu na bolesnike sa STEMI-jem te ispitati povezanost razine dp-ucMGP-a s rizikom smrtnosti i rizikom velikih krvarenja tijekom hospitalizacije.

**Metode:** Ukupno 90 ispitanika s dijagnozom akutnog infarkta miokada podijeljeno je u dvije skupine - 46 ispitanika s dijagnozom STEMI-ja i 44 ispitanika s dijagnozom NSTEMI-ja. Ispitanicima su određivane plazmatske vrijednosti dp-ucMGP-a i procijenjen rizik smrtnosti pomoću GRACE bodovne ljestvice. Za određivanje rizika velikih krvarenja uključeno je 80 bolesnika s infarktom miokarda od čega 40 bolesnika sa STEMI-jem i 40 bolesnika s NSTEMI-jem. Ispitivala se povezanost plazmatske razine inaktivnog MGP-a s rizikom krvarenja procijenjenog CRUSADE bodovnom ljestvicom.

**Rezultati:** Plazmatska koncentracija dp-ucMGP-a bila je statistički značajno viša u skupini ispitanika s NSTEMI-jem u usporedbi sa skupinom ispitanika sa STEMI-jem ( $1063,39 \pm 518,58$  vs.  $742,74 \pm 166,59$  pmol/L,  $P < 0,001$ ). U skupini ispitanika s NSTEMI-jem pronađene su statistički značajno veće plazmatske vrijednosti dp-ucMGP-a u ispitanika s visokim rizikom smrtnosti u odnosu na ispitanike s niskim rizikom smrtnosti procijenjene GRACE bodovnom ljestvicom ( $1417,75 \pm 956,78$  vs.  $984,64 \pm 335,01$  pmol/L,  $P = 0,03$ ). Pronađena je statistički značajna pozitivna korelacija plazmatske vrijednosti dp-ucMGP-a s dobi ispitanika ( $r = 0,259$ ,  $P = 0,014$ ), vrijednostima kreatinina ( $r = 0,428$ ,  $P < 0,001$ ) te rizikom smrtnosti tijekom hospitalizacije procijenjene GRACE bodovnom ljestvicom ( $r = 0,247$ ,  $P = 0,019$ ) u svih ispitanika s infarktom miokarda. Utvrđeno je da su najznačajniji prediktori najviših plazmatskih vrijednosti dp-ucMGP-a NSTEMI ( $6,19$ , 95 % CI 1,56-14,57) i pozitivna obiteljska anamneza na kardiovaskularne bolesti ( $6,23$ , 95 % CI 1,80 – 15,64). U skupini ispitanika s NSTEMI-jem utvrđen je značajno veći rizik velikog krvarenja procijenjen CRUSADE bodovnom ljestvicom u odnosu na skupinu bolesnika sa STEMI-jem ( $P = 0,011$ ). Pronađena je značajna pozitivna korelacija između rizika velikog intrahospitalnog krvarenja procijenjenog CRUSADE

bodovnom ljestvicom i vrijednosti plazmatskog dp-ucMGP-a ( $r = 0,442$ ,  $P < 0,001$ ). Statistički značajno veće plazmatske koncentracije dp-ucMGP-a bile su u ispitanika s infarktom miokarda s visokim i vrlo visokim rizikom velikih krvarenja procijenjenog CRUSADE bodovnom ljestvicom u odnosu na ispitanike s niskim, vrlo niskim i umjerenim rizikom velikih krvarenja (1277 vs. 794 pmol/L;  $P < 0,001$ , odnosno 1277 vs. 941 pmol/L,  $P = 0,047$ ). Značajna pozitivna korelacija bila je između rizika velikog intrahospitalnog krvarenja procijenjenog CRUSADE bodovnom ljestvicom i rizika intrahospitalne smrtnosti procijenjene GRACE bodovnom ljestvicom ( $r = 0,520$ ,  $P < 0,001$ ).

**Zaključak:** Ovo je istraživanje pokazalo da su plazmatske razine inaktivnog MGP-a bile značajno više u bolesnika s NSTEMI-jem u odnosu na bolesnike sa STEMI-jem. Razine inaktivnog MGP-a pokazale su pozitivnu korelaciju s rizikom smrtnosti i s rizikom velikih krvarenja u bolesnika s infarktom miokarda. Istraživanje je potvrdilo dokaze o značajnoj ulozi vaskularne kalcifikacije procijenjene mjerenjem plazmatske razine inaktivnog MGP-a u patofiziologiji i riziku smrtnosti i velikih krvarenja u bolesnika s akutnim infarktom miokarda.

## **8. SUMMARY**

**Background:** Vascular calcification has an important role in myocardial infarction pathophysiology. Current studies indicate that Matrix Gla protein is one of the most important factors in vascular calcification inhibition, and that higher levels of inactive MGP are related to a higher risk of atherosclerotic plaques formation. Until now, there have been no studies that investigated the differences in the inactive MGP plasma level in Non ST Elevation Myocardial Infarction (NSTEMI) and ST Elevation Myocardial Infarction (STEMI) patients and the relation of inactive MGP plasma levels with the mortality risk and the risk of major bleeding in patients with myocardial infarction.

**Aim:** The aim of this study was to compare plasma inactive MGP levels between patients with NSTEMI and STEMI. The additional goal was to investigate the relationship of plasma dp-ucMGP with the mortality risk and the risk of major bleeding during hospitalization.

**Methods:** This cross-sectional evaluation study of serum inactive MGP levels was conducted on 90 patients with myocardial infarction - 46 patients with the STEMI diagnosis and 44 with the NSTEMI diagnosis. Plasma dp-ucMGP levels were analyzed and in-hospital mortality risk was assessed by the GRACE score. Furthermore, the evaluation study of the major bleeding risk included 80 patients with myocardial infarction - 40 patients with the STEMI diagnosis and 40 with the NSTEMI diagnosis. The plasma dp-ucMGP levels with the major bleeding risk assessed by CRUSADE score were examined.

**Results:** The dp-ucMGP plasma levels were significantly higher in the NSTEMI patients in comparison to the STEMI patients ( $1063.39 \pm 518.58$  vs.  $742.74 \pm 166.59$  pmol/L,  $P < 0.001$ ). Among the patients with NSTEMI, higher plasma levels of dp-ucMGP were associated with a greater risk of in-hospital mortality assessed by the GRACE score ( $1417.75 \pm 956.78$  vs.  $984.64 \pm 335.01$  pmol/L,  $P = 0.03$ ). Furthermore, there was a significant positive correlation between the plasma dp-ucMGP levels with age ( $r = 0.259$ ,  $P = 0.014$ ), creatinine serum levels ( $r = 0.428$ ,  $P < 0.001$ ), and in-hospital mortality risk assessed by the GRACE score ( $r = 0.247$ ,  $P = 0.019$ ) in the total study population. The significant predictor of the highest tertile of the plasma dp-ucMGP levels were NSTEMI (OR 6.23, 95%, CI 1.80-15.64) and positive family history of cardiovascular diseases (OR 6.19, 95%, CI 1.56-14.57). The NSTEMI patients had a significantly higher major bleeding risk in comparison to the STEMI patients ( $P = 0.011$ ). A significant positive correlation was recorded between the major in-hospital bleeding risk assessed by the CRUSADE score and plasma dp-ucMGP levels ( $r = 0.442$ ,  $P < 0.001$ ). The patients at high/very high risk of major bleeding assessed by the CRUSADE score had

significantly higher dp-ucMGP levels compared to the patients at very low/low and moderate risk of major bleeding (1277 vs. 794 pmol/L;  $P < 0.001$ , respectively 1277 vs. 941 pmol/L,  $P = 0.047$ ). A significant positive correlation was recorded between the major in-hospital bleeding risk assessed by the CRUSADE score and in-hospital mortality risk assessed by the GRACE score ( $r = 0.520$ ,  $P < 0.001$ ).

**Conclusion:** This study demonstrated that dp-ucMGP levels are significantly higher in the NSTEMI patients in comparison to the patients with STEMI. Plasma dp-ucMGP levels positively correlated with the mortality risk and the major bleeding risk in the patients with myocardial infarction. This study suggests that vascular calcification assessed by the plasma dp-ucMGP levels has an important role in pathophysiology, mortality risk and risk of major bleeding in patients with myocardial infarction.

## **9. LITERATURA**

1. Thygesen K, Alpert JS, Jaffe AS, Chaitman BR, Bax JJ, Morrow DA, i sur. Executive Group on behalf of the Joint European Society of Cardiology (ESC)/American College of Cardiology (ACC)/American Heart Association (AHA)/World Heart Federation (WHF) Task Force for the Universal Definition of Myocardial Infarction. Fourth Universal Definition of Myocardial Infarction (2018). *J Am Coll Cardiol*. 2018;72:2231-64.
2. Smith JN, Negrelli JM, Manek MB, Hawes EM, Viera AJ. Diagnosis and management of acute coronary syndrome: an evidence-based update. *J Am Board Fam Med*. 2015;28:283-93.
3. Gach O, El HZ, Lancellotti P. Syndrome coronarien aigu [Acute coronary syndrome]. *Rev Med Liege*. 2018;73:243-50.
4. Sanchis-Gomar F, Perez-Quilis C, Leischik R, Lucia A. Epidemiology of coronary heart disease and acute coronary syndrome. *Ann Transl Med*. 2016;4:256.
5. Tibaut M, Mekis D, Petrovic D. Pathophysiology of Myocardial Infarction and Acute Management Strategies. *Cardiovasc Hematol Agents Med Chem*. 2017;14(3):150-59.
6. Khan MA, Hashim MJ, Mustafa H, Baniyas MY, Al Suwaidi SKBM, AlKatheeri R i sur. Global Epidemiology of Ischemic Heart Disease: Results from the Global Burden of Disease Study. *Cureus*. 2020;12:e9349.
7. Reed GW, Rossi JE, Cannon CP. Acute myocardial infarction. *Lancet*. 2017;389:197-210.
8. Poirier P, Giles TD, Bray GA, Hong Y, Stern JS, Pi-Sunyer FX i sur. American Heart Association; Obesity Committee of the Council on Nutrition, Physical Activity, and Metabolism. Obesity and cardiovascular disease: pathophysiology, evaluation, and effect of weight loss: an update of the 1997 American Heart Association Scientific Statement on Obesity and Heart Disease from the Obesity Committee of the Council on Nutrition, Physical Activity, and Metabolism. *Circulation*. 2006;113:898-918.
9. Yusuf S, Reddy S, Ounpuu S, Anand S. Global burden of cardiovascular diseases: part I: general considerations, the epidemiologic transition, risk factors, and impact of urbanization. *Circulation*. 2001;104:2746-53.
10. Fox KA, Steg PG, Eagle KA, Goodman SG, Anderson FA Jr, Granger CB i sur. GRACE Investigators. Decline in rates of death and heart failure in acute coronary syndromes, 1999-2006. *JAMA*. 2007;297:1892-900.

11. Furman MI, Dauerman HL, Goldberg RJ, Yarzebski J, Lessard D, Gore JM. Twenty-two year (1975 to 1997) trends in the incidence, in-hospital and long-term case fatality rates from initial Q-wave and non-Q-wave myocardial infarction: a multi-hospital, community-wide perspective. *J Am Coll Cardiol.* 2001;37:1571-80.
12. Mandelzweig L, Battler A, Boyko V, Bueno H, Danchin N, Filippatos G i sur. Euro Heart Survey Investigators. The second Euro Heart Survey on acute coronary syndromes: Characteristics, treatment, and outcome of patients with ACS in Europe and the Mediterranean Basin in 2004. *Eur Heart J.* 2006;27:2285-93.
13. Liew R, Sulfi S, Ranjadayalan K, Cooper J, Timmis AD. Declining case fatality rates for acute myocardial infarction in South Asian and white patients in the past 15 years. *Heart.* 2006;92:1030-4.
14. Frangogiannis NG. Pathophysiology of Myocardial Infarction. *Compr Physiol.* 2015;20,5:1841-75.
15. Yusuf S, Reddy S, Ounpuu S, Anand S. Global burden of cardiovascular diseases: Part II: variations in cardiovascular disease by specific ethnic groups and geographic regions and prevention strategies. *Circulation.* 2001;104:2855-64.
16. Hrvatski zavod za javno zdravstvo. Odjel za srčano-žilne bolesti. [Internet]. Zagreb: Hrvatski zavod za javno zdravstvo; 2021 [citirano 21. lipnja 2021.] Dostupno na <https://www.hzjz.hr/sluzba-epidemiologija-prevenција-nezaraznih-bolesti/odjel-zasrcano-zilne-bolesti/>
17. Thygesen K, Alpert JS, Jaffe AS, Chaitman BR, Bax JJ, Morrow DA i sur. ESC Scientific Document Group. Fourth universal definition of myocardial infarction (2018). *Eur Heart J.* 2019;40:237-69.
18. Thygesen K, Alpert JS, White HD. Joint ESC/ACCF/AHA/WHF Task Force for the Redefinition of Myocardial Infarction. Universal definition of myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol.* 2007;50:2173-95.
19. Thygesen K, Alpert JS, Jaffe AS, Simoons ML, Chaitman BR, White HD; ESC Committee for Practice Guidelines (CPG). Third universal definition of myocardial infarction. *Eur Heart J.* 2012;33:2551-67.
20. Simionescu M. Implications of early structural-functional changes in the endothelium for vascular disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2007;27:266-74.
21. Crea F, Libby P. Acute Coronary Syndromes: The Way Forward From Mechanisms to Precision Treatment. *Circulation.* 2017;136:1155-66.



22. Kumrić M, Kurir TT, Borovac JA, Božić J. The Role of Natural Killer (NK) Cells in Acute Coronary Syndrome: A Comprehensive Review. *Biomolecules*. 2020;10:1514.
23. Tabas I, Tall A, Accili D. The impact of macrophage insulin resistance on advanced atherosclerotic plaque progression. *Circ Res*. 2010;106:58-67.
24. Tabas I, Williams KJ, Borén J. Subendothelial lipoprotein retention as the initiating process in atherosclerosis: update and therapeutic implications. *Circulation* 2007;116:1832-44.
25. Libby P, Hansson GK. Inflammation and immunity in diseases of the arterial tree: players and layers. *Circ Res*. 2015;116:307-11.
26. Clarke MC, Talib S, Figg NL, Bennett MR. Vascular smooth muscle cell apoptosis induces interleukin-1-directed inflammation: effects of hyperlipidemia-mediated inhibition of phagocytosis. *Circ Res*. 2010;106:363-72.
27. Libby P, Pasterkamp G. Requiem for the 'vulnerable plaque'. *Eur Heart J*. 2015;36:2984-7.
28. Virmani R, Burke AP, Kolodgie FD, Farb A. Vulnerable plaque: the pathology of unstable coronary lesions. *J Interv Cardiol*. 2002;15(6):439-46.
29. Hafiane A. Vulnerable Plaque, Characteristics, Detection, and Potential Therapies. *J Cardiovasc Dev Dis*. 2019;6:26.
30. Borovac JA, Glavas D, Susilovic Grabovac Z, Supe Domic D, D'Amario D, Bozic J. Catestatin in Acutely Decompensated Heart Failure Patients: Insights from the CATSTAT-HF Study. *J Clin Med*. 2019;8:1132.
31. Stefanadis C, Antoniou CK, Tsiachris D, Pietri P. Coronary Atherosclerotic Vulnerable Plaque: Current Perspectives. *J Am Heart Assoc*. 2017;6:e005543.
32. Henson PM, Bratton DL, Fadok VA. Apoptotic cell removal. *Curr Biol*. 2001;11:R795-805.
33. Ylä-Herttuala S, Bentzon JF, Daemen M, Falk E, Garcia-Garcia HM, Herrmann J i sur. Stabilisation of atherosclerotic plaques. Position paper of the European Society of Cardiology (ESC) Working Group on atherosclerosis and vascular biology. *Thromb Haemost*. 2011;106:1-19.
34. Libby P, Pasterkamp G, Crea F, Jang IK. Reassessing the Mechanisms of Acute Coronary Syndromes. *Circ Res*. 2019;124:150-60.

35. Scalone G, Niccoli G, Refaat H, Vergallo R, Porto I, Leone AM i sur. Not all plaque ruptures are born equal: an optical coherence tomography study. *Eur Heart J Cardiovasc Imaging*. 2017;18:1271-7.
36. Niccoli G, Montone RA, Cataneo L, Cosentino N, Gramegna M, Refaat H i sur. Morphological-biohumoral correlations in acute coronary syndromes: pathogenetic implications. *Int J Cardiol*. 2014;171:463-6.
37. Jia H, Abtahian F, Aguirre AD, Lee S, Chia S, Lowe H i sur. In vivo diagnosis of plaque erosion and calcified nodule in patients with acute coronary syndrome by intravascular optical coherence tomography. *J Am Coll Cardiol*. 2013;62:1748-58.
38. Borovac JA, D'Amario D, Vergallo R, Porto I, Bisignani A, Galli M i sur. Neoatherosclerosis after drug-eluting stent implantation: a novel clinical and therapeutic challenge. *Eur Heart J Cardiovasc Pharmacother*. 2019;5:105-16.
39. W van Lammeren G, L Moll F, Borst GJ, de Kleijn DP, P M de Vries JP, Pasterkamp G. Atherosclerotic plaque biomarkers: beyond the horizon of the vulnerable plaque. *Curr Cardiol Rev*. 2011;7:22-7.
40. Bourantas CV, Garcia-Garcia HM, Farooq V, Maehara A, Xu K, Généreux P i sur. Clinical and angiographic characteristics of patients likely to have vulnerable plaques: analysis from the PROSPECT study. *JACC Cardiovasc Imaging*. 2013;6:1263-72.
41. Han Y, Kwon JH, Park S. Korean single-center experience with femoral access closure using the ExoSeal device. *World J Radiol*. 2018;10:108-15.
42. Burke AP, Virmani R. Pathophysiology of acute myocardial infarction. *Med Clin North Am*. 2007;91:553-72.
43. BARRIE HJ, URBACK PG. The cellular changes in myocardial infarction. *Can Med Assoc J*. 1957;77:100-6.
44. Kimura S, Bassett AL, Cameron JS, Huikuri H, Kozlovskis PL, Myerburg RJ. Cellular electrophysiological changes during ischemia in isolated, coronary-perfused cat ventricle with healed myocardial infarction. *Circulation*. 1988;78:401-6.
45. Jacoby RM, Nesto RW. Acute myocardial infarction in the diabetic patient: pathophysiology, clinical course and prognosis. *J Am Coll Cardiol*. 1992;20:736-44.
46. Lee SJ, Lee IK, Jeon JH. Vascular Calcification-New Insights Into Its Mechanism. *Int J Mol Sci*. 2020;21:2685.
47. Barrett H, O'Keeffe M, Kavanagh E, Walsh M, O'Connor EM. Is Matrix Gla Protein Associated with Vascular Calcification? A Systematic Review. *Nutrients*. 2018;10:415.

48. Criqui MH, Knox JB, Denenberg JO, Forbang NI, McClelland RL, Novotny TE i sur. Coronary Artery Calcium Volume and Density: Potential Interactions and Overall Predictive Value: The Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis. *JACC Cardiovasc Imaging*. 2017;10:845-54.
49. Ciccone MM, Bilianou E, Balbarini A, Gesualdo M, Ghiadoni L, Metra M i sur. Task force on: 'Early markers of atherosclerosis: influence of age and sex'. *J Cardiovasc Med (Hagerstown)*. 2013;14:757-66.
50. Baliotti P, Spannella F, Giulietti F, Rosettani G, Bernardi B, Cocci G i sur. Ten-year changes in ambulatory blood pressure: The prognostic value of ambulatory pulse pressure. *J Clin Hypertens (Greenwich)*. 2018;20:1230-37.
51. Price PA, Urist MR, Otawara Y. Matrix Gla protein, a new gamma-carboxyglutamic acid-containing protein which is associated with the organic matrix of bone. *Biochem Biophys Res Commun*. 1983;117:765-71.
52. Virmani R, Burke AP, Farb A, Kolodgie FD. Pathology of the vulnerable plaque. *J Am Coll Cardiol*. 2006;47:C13-8.
53. Ehara S, Kobayashi Y, Yoshiyama M, Shimada K, Shimada Y, Fukuda D i sur. Spotty calcification typifies the culprit plaque in patients with acute myocardial infarction: an intravascular ultrasound study. *Circulation*. 2004;110:3424-9.
54. Vengrenyuk Y, Carlier S, Xanthos S, Cardoso L, Ganatos P, Virmani R i sur. A hypothesis for vulnerable plaque rupture due to stress-induced debonding around cellular microcalcifications in thin fibrous caps. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2006;103:14678-83.
55. Raggi P, Shaw LJ, Berman DS, Callister TQ. Prognostic value of coronary artery calcium screening in subjects with and without diabetes. *J Am Coll Cardiol*. 2004;43:1663-9.
56. Rennenberg RJ, Kessels AG, Schurgers LJ, van Engelshoven JM, de Leeuw PW, Kroon AA. Vascular calcifications as a marker of increased cardiovascular risk: a meta-analysis. *Vasc Health Risk Manag*. 2009;5:185-97.
57. Sangiorgi G, Rumberger JA, Severson A, Edwards WD, Gregoire J, Fitzpatrick LA i sur. Arterial calcification and not lumen stenosis is highly correlated with atherosclerotic plaque burden in humans: a histologic study of 723 coronary artery segments using nondecalcifying methodology. *J Am Coll Cardiol*. 1998;31:126-33.

58. Golub I, Lakshmanan S, Dahal S, Budoff MJ. Utilizing coronary artery calcium to guide statin use. *Atherosclerosis*. 2021;326:17-24.
59. Soni M, Ambrosino M, Jacoby DS. The Use of Subclinical Atherosclerosis Imaging to Guide Preventive Cardiology Management. *Curr Cardiol Rep*. 2021;23:61.
60. Dube P, DeRiso A, Patel M, Battepati D, Khatib-Shahidi B, Sharma H i sur. Vascular Calcification in Chronic Kidney Disease: Diversity in the Vessel Wall. *Biomedicines*. 2021;9:404.
61. Giachelli CM. Mechanisms of vascular calcification in uremia. *Semin Nephrol*. 2004;24:401-2.
62. Sohns JM, Staab W, Menke J, Bergau L, Dabir D, Schwarz A i sur. Vascular and extravascular findings on magnetic resonance angiography of the thoracic aorta and the origin of the great vessels. *J Magn Reson Imaging*. 2014;40:988-95.
63. Essalihi R, Ouellette V, Dao HH, McKee MD, Moreau P. Phenotypic modulation of vascular smooth muscle cells during medial arterial calcification: a role for endothelin? *J Cardiovasc Pharmacol*. 2004;44 Suppl 1:S147-50.
64. Wang X, Lu C, Chen X, Zhao X, Xia D. A new method to quantify coronary calcification by intravascular ultrasound - the different patterns of calcification of acute myocardial infarction, unstable angina pectoris and stable angina pectoris. *J Invasive Cardiol*. 2008;20:587-90.
65. Ho CY, Shanahan CM. Medial Arterial Calcification: An Overlooked Player in Peripheral Arterial Disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2016;36:1475-82.
66. Schurgers LJ, Akbulut AC, Kaczor DM, Halder M, Koenen RR, Kramann R. Initiation and Propagation of Vascular Calcification Is Regulated by a Concert of Platelet- and Smooth Muscle Cell-Derived Extracellular Vesicles. *Front Cardiovasc Med*. 2018;5:36.
67. De Maria GL, Cuculi F, Patel N, Dawkins S, Fahrni G, Kassimis G i sur. How does coronary stent implantation impact on the status of the microcirculation during primary percutaneous coronary intervention in patients with ST-elevation myocardial infarction? *Eur Heart J*. 2015;36:3165-77.
68. Femia G, French JK, Juergens C, Leung D, Lo S. Right ventricular myocardial infarction: pathophysiology, clinical implications and management. *Rev Cardiovasc Med*. 2021;22:1229-40.

69. Kolte D, Khera S, Aronow WS, Mujib M, Palaniswamy C, Sule S i sur. Trends in incidence, management, and outcomes of cardiogenic shock complicating ST-elevation myocardial infarction in the United States. *J Am Heart Assoc.* 2014;3:e000590.
70. Cercek B, Shah PK. Complicated acute myocardial infarction. Heart failure, shock, mechanical complications. *Cardiol Clin.* 1991;9:569-93.
71. Gong FF, Vaitenas I, Malaisrie SC, Maganti K. Mechanical Complications of Acute Myocardial Infarction: A Review. *JAMA Cardiol.* 2021;6:341-49.
72. Damluji AA, van Diepen S, Katz JN, Menon V, Tamis-Holland JE, Bakitas M i sur. American Heart Association Council on Clinical Cardiology; Council on Arteriosclerosis, Thrombosis and Vascular Biology; Council on Cardiovascular Surgery and Anesthesia; and Council on Cardiovascular and Stroke Nursing. Mechanical Complications of Acute Myocardial Infarction: A Scientific Statement From the American Heart Association. *Circulation.* 2021;144:e16-e35.
73. Huynh T, Perron S, O'Loughlin J, Joseph L, Labrecque M, Tu JV i sur. Comparison of primary percutaneous coronary intervention and fibrinolytic therapy in ST-segment-elevation myocardial infarction: Bayesian hierarchical meta-analyses of randomized controlled trials and observational studies. *Circulation.* 2009;119:3101-9.
74. Stone GW, Grines CL, Cox DA, Garcia E, Tcheng JE, Griffin JJ i sur. Controlled Abciximab and Device Investigation to Lower Late Angioplasty Complications (CADILLAC) Investigators. Comparison of angioplasty with stenting, with or without abciximab, in acute myocardial infarction. *N Engl J Med.* 2002;346:957-66.
75. O'Gara PT, Kushner FG, Ascheim DD, Casey DE Jr, Chung MK, de Lemos JA i sur. 2013 ACCF/AHA guideline for the management of ST-elevation myocardial infarction: a report of the American College of Cardiology Foundation/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines. *J Am Coll Cardiol.* 2013;61:e78-e140.
76. Collet JP, Thiele H, Barbato E, Barthélémy O, Bauersachs J, Bhatt DL i sur. ESC Scientific Document Group. 2020 ESC Guidelines for the management of acute coronary syndromes in patients presenting without persistent ST-segment elevation. *Eur Heart J.* 2021;42:1289-367.
77. Hall M, Bebb OJ, Dondo TB, Yan AT, Goodman SG, Bueno H i sur. Guideline-indicated treatments and diagnostics, GRACE risk score, and survival for non-ST elevation myocardial infarction. *Eur Heart J.* 2018;39:3798-806.
78. White HD, Chew DP. Acute myocardial infarction. *Lancet.* 2008;372:570-84.

79. Antithrombotic Trialists' Collaboration. Collaborative meta-analysis of randomised trials of antiplatelet therapy for prevention of death, myocardial infarction, and stroke in high risk patients. *BMJ*. 2002;324:71-86.
80. Ibanez B, James S, Agewall S, Antunes MJ, Bucciarelli-Ducci C, Bueno H i sur. ESC Scientific Document Group. 2017 ESC Guidelines for the management of acute myocardial infarction in patients presenting with ST-segment elevation: The Task Force for the management of acute myocardial infarction in patients presenting with ST-segment elevation of the European Society of Cardiology (ESC). *Eur Heart J*. 2018;39:119-77.
81. Roffi M, Patrono C. CardioPulse: 'Ten Commandments' of 2015 European Society of Cardiology Guidelines for the management of acute coronary syndromes in patients presenting without persistent ST-segment elevation (NSTEMI-ACS). *Eur Heart J*. 2016;37:208.
82. Yusuf S, Zhao F, Mehta SR, Chrolavicius S, Tognoni G, Fox KK; Clopidogrel in Unstable Angina to Prevent Recurrent Events Trial Investigators. Effects of clopidogrel in addition to aspirin in patients with acute coronary syndromes without ST-segment elevation. *N Engl J Med*. 2001;345:494-502.
83. Leon MB, Baim DS, Popma JJ, Gordon PC, Cutlip DE, Ho KK i sur. A clinical trial comparing three antithrombotic-drug regimens after coronary-artery stenting. Stent Anticoagulation Restenosis Study Investigators. *N Engl J Med*. 1998;339:1665-71.
84. Redfors B, Dworeck C, Haraldsson I, Angerås O, Odenstedt J, Ioanes D i sur. Pretreatment with P2Y12 receptor antagonists in ST-elevation myocardial infarction: a report from the Swedish Coronary Angiography and Angioplasty Registry. *Eur Heart J*. 2019;40:1202-10.
85. Abtan J, Steg PG. Pre-treatment with a P2Y12 antagonist before PCI in STEMI: why should we wait? *Eur Heart J*. 2019;40:1211-13.
86. Eikelboom JW, Mehta SR, Anand SS, Xie C, Fox KA, Yusuf S. Adverse impact of bleeding on prognosis in patients with acute coronary syndromes. *Circulation*. 2006;114:774-82.
87. Hamm CW, Heeschen C, Goldmann B, Vahanian A, Adgey J, Miguel CM i sur. Benefit of abciximab in patients with refractory unstable angina in relation to serum troponin T levels. c7E3 Fab Antiplatelet Therapy in Unstable Refractory Angina (CAPTURE) Study Investigators. *N Engl J Med*. 1999;340:1623-9.

88. Platelet Receptor Inhibition in Ischemic Syndrome Management in Patients Limited by Unstable Signs and Symptoms (PRISM-PLUS) Study Investigators. Inhibition of the platelet glycoprotein IIb/IIIa receptor with tirofiban in unstable angina and non-Q-wave myocardial infarction. *N Engl J Med.* 1998;338:1488-97.
89. Platelet Glycoprotein IIb/IIIa in Unstable Angina: Receptor Suppression Using Integrilin Therapy (PURSUIT) Trial Investigators. Inhibition of platelet glycoprotein IIb/IIIa with eptifibatide in patients with acute coronary syndromes. *N Engl J Med.* 1998;339:436-43.
90. Bavishi C, Abbott JD. Anticoagulation in ST-Elevation Myocardial Infarction. *Interv Cardiol Clin.* 2021;10:307-16.
91. van Gameren M, Lemmert ME, Wilschut JM, Daemen J, De Jaegere PPT, Zijlstra F i sur. An update on the use of anticoagulant therapy in ST-segment elevation myocardial infarction. *Expert Opin Pharmacother.* 2018;19:1441-50.
92. Bangalore S, Toklu B, Kotwal A, Volodarskiy A, Sharma S, Kirtane AJ i sur. Anticoagulant therapy during primary percutaneous coronary intervention for acute myocardial infarction: a meta-analysis of randomized trials in the era of stents and P2Y12 inhibitors. *BMJ.* 2014;349:g6419.
93. Hess PL, Wojdyla DM, Al-Khatib SM, Lokhnygina Y, Wallentin L, Armstrong PW i sur. Sudden Cardiac Death After Non-ST-Segment Elevation Acute Coronary Syndrome. *JAMA Cardiol.* 2016;1:73-9.
94. Angiolillo DJ, Galli M, Collet JP, Kastrati A, O'Donoghue ML. Antiplatelet therapy after percutaneous coronary intervention. *EuroIntervention.* 2022;17:e1371-e96.
95. Gragnano F, Moscarella E, Calabrò P, Cesaro A, Pafundi PC, Ielasi A i sur. START-ANTIPLATELET Collaborators. Clopidogrel versus ticagrelor in high-bleeding risk patients presenting with acute coronary syndromes: insights from the multicenter START-ANTIPLATELET registry. *Intern Emerg Med.* 2021;16:379-87.
96. Antman EM, Cohen M, Bernink PJ, McCabe CH, Horacek T, Papuchis G i sur. The TIMI risk score for unstable angina/non-ST elevation MI: A method for prognostication and therapeutic decision making. *JAMA.* 2000;284:835-42.
97. Granger CB, Goldberg RJ, Dabbous O, Pieper KS, Eagle KA, Cannon CP i sur. Global Registry of Acute Coronary Events Investigators. Predictors of hospital mortality in the global registry of acute coronary events. *Arch Intern Med.* 2003;163:2345-53.

98. Aylward PE, Wilcox RG, Horgan JH, White HD, Granger CB, Califf RM i sur. Relation of increased arterial blood pressure to mortality and stroke in the context of contemporary thrombolytic therapy for acute myocardial infarction. A randomized trial. GUSTO-I Investigators. *Ann Intern Med.* 1996;125:891-900.
99. Boersma E, Pieper KS, Steyerberg EW, Wilcox RG, Chang WC, Lee KL i sur. Predictors of outcome in patients with acute coronary syndromes without persistent ST-segment elevation. Results from an international trial of 9461 patients. The PURSUIT Investigators. *Circulation.* 2000;101:2557-67.
100. Killip T 3rd, Kimball JT. Treatment of myocardial infarction in a coronary care unit. A two year experience with 250 patients. *Am J Cardiol.* 1967;20:457-64.
101. Otsuka A, Kabashima K. Mast cells and basophils in cutaneous immune responses. *Allergy.* 2015;70:131-40.
102. de Araújo Gonçalves P, Ferreira J, Aguiar C, Seabra-Gomes R. TIMI, PURSUIT, and GRACE risk scores: sustained prognostic value and interaction with revascularization in NSTEMI-ACS. *Eur Heart J.* 2005;26:865-72.
103. D'Ascenzo F, Biondi-Zoccai G, Moretti C, Bollati M, Omedè P, Sciuto F i sur. TIMI, GRACE and alternative risk scores in Acute Coronary Syndromes: a meta-analysis of 40 derivation studies on 216,552 patients and of 42 validation studies on 31,625 patients. *Contemp Clin Trials.* 2012;33:507-14.
104. Mehta SR, Granger CB, Boden WE, Steg PG, Bassand JP, Faxon DP i sur. TIMACS Investigators. Early versus delayed invasive intervention in acute coronary syndromes. *N Engl J Med.* 2009;360:2165-75.
105. Antoniou S, Colicchia M, Guttman OP, Rathod KS, Wright P, Fhadil S i sur. Risk scoring to guide antiplatelet therapy post-percutaneous coronary intervention for acute coronary syndrome results in improved clinical outcomes. *Eur Heart J Qual Care Clin Outcomes.* 2018;4:283-9.
106. Bradshaw PJ, Ko DT, Newman AM, Donovan LR, Tu JV. Validity of the GRACE (Global Registry of Acute Coronary Events) acute coronary syndrome prediction model for six month post-discharge death in an independent data set. *Heart.* 2006;92:905-9.
107. Tang EW, Wong CK, Herbison P. Global Registry of Acute Coronary Events (GRACE) hospital discharge risk score accurately predicts long-term mortality post acute coronary syndrome. *Am Heart J.* 2007;153:29-35.



108. El-Menyar A, Zubaid M, Shehab A, Bulbanat B, Albustani N, Alenezi F i sur. Prevalence and impact of cardiovascular risk factors among patients presenting with acute coronary syndrome in the middle East. *Clin Cardiol.* 2011;34:51-8.
109. Hamm CW, Mollmann H, Bassand JP, Van de Werf F. Acute coronary syndrome. In *The ESC Textbook of Cardiovascular Medicine*, 2nd ed.; Oxford University Press: Oxford , UK, 2009.
110. Amsterdam EA, Wenger NK, Brindis RG, Casey DE Jr, Ganiats TG, Holmes DR Jr i sur. 2014 AHA/ACC Guideline for the Management of Patients with Non-ST-Elevation Acute Coronary Syndromes: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines. *J Am Coll Cardiol.* 2014;64:e139-e228.
111. Potsis TZ, Katsouras C, Goudevenos JA. Avoiding and managing bleeding complications in patients with non-ST-segment elevation acute coronary syndromes. *Angiology.* 2009;60:148-58.
112. Bento D, Marques N, Azevedo P, Guedes J, Bispo J, Silva D i sur. CRUSADE: Is it still a good score to predict bleeding in acute coronary syndrome? *Rev Port Cardiol (Engl Ed).* 2018;37:889-97.
113. Al-Daydamony MM, Farag EM. CRUSADE bleeding score as a predictor of bleeding events in patients with acute coronary syndrome in Zagazig University Hospital. *Indian Heart J.* 2016;68:632-8.
114. Jinatongthai P, Khaisombut N, Likittanasombat K, Chaiyakunapruk N, Watcharathanakij S, Nathisuwan S. Use of the CRUSADE bleeding risk score in the prediction of major bleeding for patients with acute coronary syndrome receiving enoxaparin in Thailand. *Heart Lung Circ.* 2014;23:1051-8.
115. Amador P, Santos JF, Gonçalves S, Seixo F, Soares L. Comparison of ischemic and bleeding risk scores in non-ST elevation acute coronary syndromes. *Acute Card Care.* 2011;13:68-75.
116. Mimoso J. The CRUSADE score and bleeding in acute coronary syndrome. *Rev Port Cardiol (Engl Ed).* 2018;37:899-900.
117. Speer MY, Yang HY, Brabb T, Leaf E, Look A, Lin WL i sur. Smooth muscle cells give rise to osteochondrogenic precursors and chondrocytes in calcifying arteries. *Circ Res.* 2009;104:733-41.

118. Schurgers LJ, Spronk HM, Skepper JN, Hackeng TM, Shanahan CM, Vermeer C i sur. Post-translational modifications regulate matrix Gla protein function: importance for inhibition of vascular smooth muscle cell calcification. *J Thromb Haemost.* 2007;5:2503-11.
119. Dalmeijer GW, van der Schouw YT, Magdeleyns E, Ahmed N, Vermeer C, Beulens JW. The effect of menaquinone-7 supplementation on circulating species of matrix Gla protein. *Atherosclerosis.* 2012;225:397-402.
120. Hackeng TM, Rosing J, Spronk HM, Vermeer C. Total chemical synthesis of human matrix Gla protein. *Protein Sci.* 2001;10:864-70.
121. Roumeliotis S, Dounousi E, Eleftheriadis T, Liakopoulos V. Association of the Inactive Circulating Matrix Gla Protein with Vitamin K Intake, Calcification, Mortality, and Cardiovascular Disease: A Review. *Int J Mol Sci.* 2019;20:628.
122. Luo G, Ducy P, McKee MD, Pinero GJ, Loyer E, Behringer RR i sur. Spontaneous calcification of arteries and cartilage in mice lacking matrix GLA protein. *Nature.* 1997;386:78-81.
123. Bobryshev YV. Transdifferentiation of smooth muscle cells into chondrocytes in atherosclerotic arteries in situ: implications for diffuse intimal calcification. *J Pathol.* 2005;205:641-50.
124. Yao Y, Jumabay M, Ly A, Radparvar M, Cubberly MR, Boström KI. A role for the endothelium in vascular calcification. *Circ Res.* 2013;113:495-504.
125. Price PA, Otsuka AA, Poser JW, Kristaponis J, Raman N. Characterization of a gamma-carboxyglutamic acid-containing protein from bone. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1976;73:1447-51.
126. Taylor AJ, Burke AP, O'Malley PG, Farb A, Malcom GT, Smialek J, Virmani R. A comparison of the Framingham risk index, coronary artery calcification, and culprit plaque morphology in sudden cardiac death. *Circulation.* 2000;101:1243-8.
127. Shanahan CM, Cary NR, Salisbury JR, Proudfoot D, Weissberg PL, Edmonds ME. Medial localization of mineralization-regulating proteins in association with Mönckeberg's sclerosis: evidence for smooth muscle cell-mediated vascular calcification. *Circulation.* 1999;100:2168-76.
128. Zettervall SL, Marshall AP, Fleser P, Guzman RJ. Association of arterial calcification with chronic limb ischemia in patients with peripheral artery disease. *J Vasc Surg.* 2018;67:507-13.

129. Moe SM, O'Neill KD, Duan D, Ahmed S, Chen NX, Leapman SB, Fineberg N, Kopecky K. Medial artery calcification in ESRD patients is associated with deposition of bone matrix proteins. *Kidney Int.* 2002;61:638-47.
130. Demer LL, Tintut Y. Vascular calcification: pathobiology of a multifaceted disease. *Circulation.* 2008;117:2938-48.
131. Karsli-Ceppioglu S, Yazar S, Keskin Y, Karaca M, Luleci NE, Yurdun T. Association of Genetic Polymorphisms in the *Matrix Gla Protein (MGP)* Gene with Coronary Artery Disease and Serum MGP Levels. *Balkan J Med Genet.* 2019;22:43-50.
132. Shanahan CM. Mechanisms of vascular calcification in renal disease. *Clin Nephrol.* 2005;63:146-57.
133. Schurgers LJ, Teunissen KJ, Knapen MH, Kwaijtaal M, van Diest R, Appels A i sur. Novel conformation-specific antibodies against matrix gamma-carboxyglutamic acid (Gla) protein: undercarboxylated matrix Gla protein as marker for vascular calcification. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2005;25:1629-33.
134. Zebboudj AF, Imura M, Boström K. Matrix GLA protein, a regulatory protein for bone morphogenetic protein-2. *J Biol Chem.* 2002;277:4388-94.
135. Liabeuf S, Bourron O, Olivier B, Vemeer C, Theuwissen E, Magdeleyns E, Aubert CE i sur. Vascular calcification in patients with type 2 diabetes: the involvement of matrix Gla protein. *Cardiovasc Diabetol.* 2014;13:85.
136. El-Maadawy S, Kaartinen MT, Schinke T, Murshed M, Karsenty G, McKee MD. Cartilage formation and calcification in arteries of mice lacking matrix Gla protein. *Connect Tissue Res.* 2003;44 Suppl 1:272-8.
137. Khavandgar Z, Roman H, Li J, Lee S, Vali H, Brinckmann J, Davis EC, Murshed M. Elastin haploinsufficiency impedes the progression of arterial calcification in MGP-deficient mice. *J Bone Miner Res.* 2014;29:327-37.
138. Shanahan CM, Cary NR, Metcalfe JC, Weissberg PL. High expression of genes for calcification-regulating proteins in human atherosclerotic plaques. *J Clin Invest.* 1994;93:2393-402.
139. Dhore CR, Cleutjens JP, Lutgens E, Cleutjens KB, Geusens PP, Kitslaar PJ i sur. Differential expression of bone matrix regulatory proteins in human atherosclerotic plaques. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2001;21:1998-2003.

140. Braam LA, Dissel P, Gijsbers BL, Spronk HM, Hamulyák K, Soute BA i sur. Assay for human matrix gla protein in serum: potential applications in the cardiovascular field. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2000;20:1257-61.
141. van den Heuvel EG, van Schoor NM, Lips P, Magdeleyns EJ, Deeg DJ, Vermeer C i sur. Circulating uncarboxylated matrix Gla protein, a marker of vitamin K status, as a risk factor of cardiovascular disease. *Maturitas.* 2014;77:137-41.
142. Mayer O Jr, Seidlerová J, Bruthans J, Filipovský J, Timoracká K, Vaněk J i sur. Desphospho-uncarboxylated matrix Gla-protein is associated with mortality risk in patients with chronic stable vascular disease. *Atherosclerosis.* 2014;235:162-8.
143. Dalmeijer GW, van der Schouw YT, Magdeleyns EJ, Vermeer C, Verschuren WM, Boer JM i sur. Matrix Gla protein species and risk of cardiovascular events in type 2 diabetic patients. *Diabetes Care.* 2013;36:3766-71.
144. Liu YP, Gu YM, Thijs L, Knapen MH, Salvi E, Citterio L i sur. Inactive matrix Gla protein is causally related to adverse health outcomes: a Mendelian randomization study in a Flemish population. *Hypertension.* 2015;65:463-70.
145. van Gorp RH, Dijkgraaf I, Bröker V, Bauwens M, Leenders P, Jennen D i sur. Off-target effects of oral anticoagulants - vascular effects of vitamin K antagonist and non-vitamin K antagonist oral anticoagulant dabigatran etexilate. *J Thromb Haemost.* 2021;19:1348-63.
146. Rattazzi M, Faggini E, Bertacco E, Nardin C, Pagliani L, Plebani M, Cinetto F, Guidolin D, Puato M, Pauletto P. Warfarin, but not rivaroxaban, promotes the calcification of the aortic valve in ApoE<sup>-/-</sup> mice. *Cardiovasc Ther.* 2018;36:e12438.
147. Schurgers LJ, Joosen IA, Laufer EM, Chatrou ML, Herfs M, Winkens MH i sur. Vitamin K-antagonists accelerate atherosclerotic calcification and induce a vulnerable plaque phenotype. *PLoS One.*;7:e43229.
148. Debernardi N, Roijers RB, Krams R, de Crom R, Mutsaers PH, van der Vusse GJ. Microcalcifications in atherosclerotic lesion of apolipoprotein E-deficient mouse. *Int J Exp Pathol.* 2010;91:485-94.
149. Zwakenberg SR, van der Schouw YT, Vermeer C, Pasterkamp G, den Ruijter HM, Beulens JWJ. Matrix Gla Protein, Plaque Stability, and Cardiovascular Events in Patients with Severe Atherosclerotic Disease. *Cardiology.* 2018;141:32-6.
150. Csiszar A, Smith KE, Koller A, Kaley G, Edwards JG, Ungvari Z. Regulation of bone morphogenetic protein-2 expression in endothelial cells: role of nuclear factor-kappaB

- activation by tumor necrosis factor-alpha, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, and high intravascular pressure. *Circulation*. 2005;111:2364-72.
151. Tota-Maharaj R, Joshi PH, Budoff MJ, Whelton S, Zeb I, Rumberger J i sur. Usefulness of regional distribution of coronary artery calcium to improve the prediction of all-cause mortality. *Am J Cardiol*. 2015;115:1229-34.
  152. Kizu A, Jono S. [Mechanism of vascular calcification]. *Clin Calcium*. 2004;14:92-6.
  153. Gröger D. Biosynthesis of the peptide portion of cycloI-type ergot alkaloids. *Planta Med*. 1975;28:37-51.
  154. Tabas I. Macrophage death and defective inflammation resolution in atherosclerosis. *Nat Rev Immunol*. 2010;10:36-46.
  155. Theuwissen E, Smit E, Vermeer C. The role of vitamin K in soft-tissue calcification. *Adv Nutr*. 2012;3:166-73.
  156. Mayer O Jr, Seidlerová J, Wohlfahrt P, Filipovský J, Vaněk J, Cífková R i sur. Desphospho-uncarboxylated matrix Gla protein is associated with increased aortic stiffness in a general population. *J Hum Hypertens*. 2016;30:418-23.
  157. Vilovic M, Dogas Z, Ticinovic Kurir T, Borovac JA, Supe-Domic D, Vilovic T i sur. Bone metabolism parameters and inactive matrix Gla protein in patients with obstructive sleep apnea. *Sleep*. 2020;43:zsz243.
  158. Lee KL, Woodlief LH, Topol EJ, Weaver WD, Betriu A, Col J i sur. Predictors of 30-day mortality in the era of reperfusion for acute myocardial infarction. Results from an international trial of 41,021 patients. GUSTO-I Investigators. *Circulation*. 1995;91:1659-68.
  159. Gale CP, Manda SO, Weston CF, Birkhead JS, Batin PD, Hall AS. Evaluation of risk scores for risk stratification of acute coronary syndromes in the Myocardial Infarction National Audit Project (MINAP) database. *Heart*. 2009;95:221-7.
  160. Miyata KN, Nast CC, Dai T, Dukkipati R, LaPage JA, Troost JP i sur. Renal matrix Gla protein expression increases progressively with CKD and predicts renal outcome. *Exp Mol Pathol*. 2018;105:120-9.
  161. Cauley JA, Blackwell TL, Redline S, Ensrud KE, Ancoli-Israel S, Fink HA i sur. Osteoporotic Fractures in Men Study. Hypoxia during sleep and the risk of falls and fractures in older men: the Osteoporotic Fractures in Men Sleep Study. *J Am Geriatr Soc*. 2014;62:1853-9.

162. Feskanich D, Hankinson SE, Schernhammer ES. Nightshift work and fracture risk: the Nurses' Health Study. *Osteoporos Int.* 2009;20:537-42.
163. Johnson JL. Matrix metalloproteinases: influence on smooth muscle cells and atherosclerotic plaque stability. *Expert Rev Cardiovasc Ther.* 2007;5:265-82.
164. Xu XP, Meisel SR, Ong JM, Kaul S, Cercek B, Rajavashisth TB i sur. Oxidized low-density lipoprotein regulates matrix metalloproteinase-9 and its tissue inhibitor in human monocyte-derived macrophages. *Circulation.* 1999;99:993-8.
165. Kalela A, Koivu TA, Sisto T, Kanervisto J, Höyhty M, Sillanaukee P i sur. Serum matrix metalloproteinase-9 concentration in angiographically assessed coronary artery disease. *Scand J Clin Lab Invest.* 2002;62:337-42.
166. Guo ZY, Zhang B, Yan YH, Gao SS, Liu JJ, Xu L i sur. Specific matrix metalloproteinases and calcification factors are associated with the vulnerability of human carotid plaque. *Exp Ther Med.* 2018;16:2071-9.
167. Langley SR, Willeit K, Didangelos A, Matic LP, Skroblin P, Barallobre-Barreiro J i sur. Extracellular matrix proteomics identifies molecular signature of symptomatic carotid plaques. *J Clin Invest.* 2017;127:1546-60.
168. Sukhova GK, Schönbeck U, Rabkin E, Schoen FJ, Poole AR, Billingham RC i sur. Evidence for increased collagenolysis by interstitial collagenases-1 and -3 in vulnerable human atheromatous plaques. *Circulation.* 1999;99:2503-9.
169. Sluijter JP, Pulskens WP, Schoneveld AH, Velema E, Strijder CF, Moll F i sur. Matrix metalloproteinase 2 is associated with stable and matrix metalloproteinases 8 and 9 with vulnerable carotid atherosclerotic lesions: a study in human endarterectomy specimen pointing to a role for different extracellular matrix metalloproteinase inducer glycosylation forms. *Stroke.* 2006;37:235-9.
170. Kai H, Ikeda H, Yasukawa H, Kai M, Seki Y, Kuwahara F i sur. Peripheral blood levels of matrix metalloproteinases-2 and -9 are elevated in patients with acute coronary syndromes. *J Am Coll Cardiol.* 1998;32:368-72.
171. Fukuda D, Shimada K, Tanaka A, Kusuyama T, Yamashita H, Ehara S i sur. Comparison of levels of serum matrix metalloproteinase-9 in patients with acute myocardial infarction versus unstable angina pectoris versus stable angina pectoris. *Am J Cardiol.* 2006;97:175-80.

172. Ferroni P, Basili S, Martini F, Cardarello CM, Ceci F, Di Franco M i sur. Serum metalloproteinase 9 levels in patients with coronary artery disease: a novel marker of inflammation. *J Investig Med*. 2003;51:295-300.
173. Hassanzadeh-Makoui R, Razi B, Aslani S, Imani D, Tabae SS. The association between Matrix Metallo-proteinases-9 (MMP-9) gene family polymorphisms and risk of Coronary Artery Disease (CAD): a systematic review and meta-analysis. *BMC Cardiovasc Disord*. 2020;20:232.
174. Blankenberg S, Rupprecht HJ, Poirier O, Bickel C, Smieja M, Hafner G i sur. AtheroGene Investigators. Plasma concentrations and genetic variation of matrix metalloproteinase 9 and prognosis of patients with cardiovascular disease. *Circulation*. 2003;107:1579-85.
175. Wang LX, Lü SZ, Zhang WJ, Song XT, Chen H, Zhang LJ. Comparison of high sensitivity C-reactive protein and matrix metalloproteinase 9 in patients with unstable angina between with and without significant coronary artery plaques. *Chin Med J (Engl)*. 2011;124:1657-61.
176. Hong YJ, Jeong MH, Choi YH, Ma EH, Ko JS, Lee MG i sur. Differences in intravascular ultrasound findings in culprit lesions in infarct-related arteries between ST segment elevation myocardial infarction and non-ST segment elevation myocardial infarction. *J Cardiol*. 2010;56:15-22.
177. Dalmeijer GW, van der Schouw YT, Magdeleyns EJ, Vermeer C, Elias SG, Velthuis BK i sur. Circulating species of matrix Gla protein and the risk of vascular calcification in healthy women. *Int J Cardiol*. 2013;168:e168-70.
178. Boxma PY, van den Berg E, Geleijnse JM, Laverman GD, Schurgers LJ, Vermeer C i sur. Vitamin k intake and plasma desphospho-uncarboxylated matrix Gla-protein levels in kidney transplant recipients. *PLoS One*. 2012;7:e47991.
179. Bjørklund G, Svanberg E, Dadar M, Card DJ, Chirumbolo S, Harrington DJ i sur. The Role of Matrix Gla Protein (MGP) in Vascular Calcification. *Curr Med Chem*. 2020;27:1647-60.
180. Ueland T, Dahl CP, Gullestad L, Aakhus S, Broch K, Skårdal R i sur. Circulating levels of non-phosphorylated undercarboxylated matrix Gla protein are associated with disease severity in patients with chronic heart failure. *Clin Sci (Lond)*. 2011;121:119-27.

181. Schurgers LJ, Cranenburg EC, Vermeer C. Matrix Gla-protein: the calcification inhibitor in need of vitamin K. *Thromb Haemost.* 2008;100:593-603.
182. Leopold JA. Vascular calcification: an age-old problem of old age. *Circulation.* 2013;127:2380-2.
183. Dalmeijer GW, van der Schouw YT, Magdeleyns EJ, Vermeer C, Verschuren WM, Boer JM i sur. Circulating desphospho-uncarboxylated matrix  $\gamma$ -carboxyglutamate protein and the risk of coronary heart disease and stroke. *J Thromb Haemost.* 2014;12:1028-34.
184. Wang TJ. Assessing the role of circulating, genetic, and imaging biomarkers in cardiovascular risk prediction. *Circulation.* 2011;123:551-65.
185. Vassalle C, Iervasi G. New insights for matrix Gla protein, vascular calcification and cardiovascular risk and outcome. *Atherosclerosis.* 2014;235:236-8.
186. Fain ME, Kapuku GK, Paulson WD, Williams CF, Raed A, Dong Y i sur. Inactive Matrix Gla Protein, Arterial Stiffness, and Endothelial Function in African American Hemodialysis Patients. *Am J Hypertens.* 2018;31:735-41.
187. Schurgers LJ, Barreto DV, Barreto FC, Liabeuf S, Renard C, Magdeleyns EJ i sur. The circulating inactive form of matrix gla protein is a surrogate marker for vascular calcification in chronic kidney disease: a preliminary report. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2010;5:568-75.
188. Ong KL, McClelland RL, Allison MA, Cushman M, Garg PK, Tsai MY i sur. Lipoprotein (a) and coronary artery calcification: prospective study assessing interactions with other risk factors. *Metabolism.* 2021;116:154706.
189. Antonopoulos S, Mylonopoulou M, Angelidi AM, Kousoulis AA, Tentolouris N. Association of matrix  $\gamma$ -carboxyglutamic acid protein levels with insulin resistance and Lp(a) in diabetes: A cross-sectional study. *Diabetes Res Clin Pract.* 2017;130:252-7.
190. Tintut Y, Hsu JJ, Demer LL. Lipoproteins in Cardiovascular Calcification: Potential Targets and Challenges. *Front Cardiovasc Med.* 2018;5:172.
191. Cesaro A, Schiavo A, Moscarella E, Coletta S, Conte M, Gragnano F i sur. Lipoprotein(a): a genetic marker for cardiovascular disease and target for emerging therapies. *J Cardiovasc Med (Hagerstown).* 2021;22:151-61.
192. Schlieper G, Westenfeld R, Krüger T, Cranenburg EC, Magdeleyns EJ, Brandenburg VM i sur. Circulating nonphosphorylated carboxylated matrix gla protein predicts survival in ESRD. *J Am Soc Nephrol.* 2011;22:387-95.



193. Wernio E, Magorzewicz S, Jagielak D. Comparison of calcification inhibitor matrix gla protein level in elderly patients with severe aortic stenosis and healthy volunteers. *Clin Nutr. ESPEN* 2020;40:538-9.
194. Cranenburg EC, Koos R, Schurgers LJ, Magdeleyns EJ, Schoonbrood TH, Landewé RB i sur. Characterisation and potential diagnostic value of circulating matrix Gla protein (MGP) species. *Thromb Haemost.* 2010;104:811-22.
195. Wei FF, Trenson S, Verhamme P, Vermeer C, Staessen JA. Vitamin K-Dependent Matrix Gla Protein as Multifaceted Protector of Vascular and Tissue Integrity. *Hypertension.* 2019;73:1160-9.
196. van Rein N, le Cessie S, van Vliet IP, Reitsma PH, van der Meer FJ, Lijfering WM i sur. Increased risk of major bleeding after a minor bleed during treatment with vitamin K antagonists is determined by fixed common risk factors. *J Thromb Haemost.* 2016;14:948-52.
197. Kamal AH, Tefferi A, Pruthi RK. How to interpret and pursue an abnormal prothrombin time, activated partial thromboplastin time, and bleeding time in adults. *Mayo Clin Proc.* 2007;82:864-73.
198. Mohamed MO, Kinnaird T, Anderson R, Rashid M, Martin GP, Freeman P i sur. Combinations of bleeding and ischemic risk and their association with clinical outcomes in acute coronary syndrome. *Int J Cardiol.* 2019;290:7-14.
199. Cordero A, Rodriguez-Manero M, García-Acuña JM, López-Palop R, Cid B, Carrillo P i sur. Additive value of the CRUSADE score to the GRACE score for mortality risk prediction in patients with acute coronary syndromes. *Int J Cardiol.* 2017;245:1-5.
200. Wang TKM, Mehta OH, Liao YB, Wang MTM, Stewart R, White H. Meta-Analysis of Bleeding Scores Performance for Acute Coronary Syndrome. *Heart Lung Circ.* 2020;29:1749-57.

## **10. ŽIVOTOPIS**

**Mjesto i datum rođenja:** Teočak, BiH, 22. 09. 1977.

**Radno iskustvo:**

- 2002. - 2003. godine KBC Split – liječnički pripravnički staž
- 2003. - 2011. godine Dom zdravlja Splitsko-dalmatinske, Šibensko-kninske i Dubrovačko-neretvanske županije - liječnik opće i obiteljske medicine
- 2011. - 2016. godine Opća i veteranska bolnica „Hrvatski ponos“ Knin – specijalizacije iz interne medicine
- 2017. godine Opća i veteranska bolnica „Hrvatski ponos“ Knin – specijalist interne medicine
- 2017. godine KBC Split – Zavod za intenzivnu medicinu Klinike za unutarnje bolesti – specijalist interne medicine
- 2019. godine KBC Split – Klinika za bolesti srca i krvnih žila – specijalist interne medicine, subspecijalizant kardiologije
- 2021. godine KBC Split – Klinika za bolesti srca i krvnih žila – Jedinica intenzivne koronarne skrbi – specijalist interne medicine – subspecijalist kardiologije

**Obrazovanje:**

- 1996. - 2002. godine Medicinski fakultet u Splitu Sveučilišta u Zagrebu
- 2003. godine državni ispit Ministarstva zdravstva
- 2017. godine specijalistički ispit iz interne medicine
- 2019. subspecijalizacija iz kardiologije
- 2021. godine subspecijalistički ispit iz uže specijalizacije iz kardiologije
- 2019. upisan Znanstveni doktorski poslijediplomski studij „Klinička medicina utemeljena na dokazima – Medicinski fakultet Sveučilišta u Splitu 1. godina
- 2016. završen program usko specifične izobrazbe Poslijediplomski tečaj I kategorije „Ultrazvuk u kliničkoj praksi – ultrasonografska dijagnostika abdomena“ na Medicinskom fakultetu Sveučilišta u Splitu

**Ostale edukacije:**

- 2021., 2022. i 2023. godine – European Society of Cardiology - Certificate for continuing medical education (HACCME)
- 2020. godine – European Society of Hypertension Cardio Course, Slovenija
- 2019. godine – Croatian Cardiac Society Cro ECHO
- 2015. godine Thrombosis management in practice Split
- 2014. i 2015. godine Interactive electrocardiography course Split