

KARDIOMARKERY NA PRAHU TŘETÍHO TISÍCILETÍ

Radek Pudil¹, Miloš Tichý^{2, 3}, Jan Vojáček¹

¹1. interní klinika LF UK a FN, Hradec Králové

²Ústav klinické biochemie a diagnostiky LF UK a FN, Hradec Králové

³Univerzita obrany Brno, Fakulta vojenského zdravotnictví, Hradec Králové

Cílem sdělení je poskytnout přehled základních charakteristik některých biomarkerů, které mají potenciál klinického užití v diagnostice a stratifikaci rizika pacientů s akutními koronárními syndromy a se srdečním selháním. Jsou to markery myokardiální ischemie a nekrózy (troponin T a I, kreatinkináza, novější ischemií modifikovaný albumin, mastné kyseliny vázící protein A, cholin, enzym glykogenfosforylázy BB, pregnancy associated protein, placentární růstový faktor, solubilní CD40 ligand) a markery myokardiální funkce (natriuretické peptidy). Autoři podávají základní přehled o těchto parametrech doplněný jejich možným využitím v klinické praxi či v oblasti výzkumu.

Klíčová slova: biomarkery, nekróza myokardu, ischemie myokardu, troponin, kreatinkináza, cholin, ischemií modifikovaný albumin, mastné kyseliny vázící protein, pregnancy associated protein A, sCD40L, placentární růstový faktor, natriuretické peptidy, glykogenfosforyláza BB.

CARDIAC MARKERS AT THE BEGINNING OF THE THIRD MILLENIUM

The purpose of this review is to provide an overview of essential clinical characteristics of several biomarkers that may have a potential clinical utility in diagnosing process and risk stratification in patients with acute coronary syndromes and heart failure. These biomarkers belong to those, which can detect myocardial ischemia and necrosis (troponin T and I, creatinkinase, ischemia-modified albumin, fatty acids binding protein, choline, glycogen phosphorylase isoenzyme BB, placental growth hormone, pregnancy-associated protein A, soluble CD40 ligand) and markers of myocardial function (natriuretic peptides).

Authors reveal essential summary of these parameters enriched with the possible use of these parameters in clinical practice and research. **Key words:** biomarkers, myocardial necrosis, myocardial ischemia, troponin, creatinkinase, ischemia-modified albumin, fatty acids binding protein, choline, glycogen phosphorylase isoenzyme BB, placental growth hormone, pregnancy-associated protein A, sCD40L, natriuretic peptides.

Interv Akut Kardiolog 2007;6:20–23

Od r. 1954, kdy Karmen et al. poprvé popsali uvolnění aspartát aminotransferázy (AST) z poškozených kardiomyocytů v průběhu akutního infarktu myokardu, se podstatně rozšířilo spektrum kardiomarkerů, tedy molekul (parametrů), jejichž stanovení přispívá ke zpřesnění v procesu diagnostiky onemocnění myokardu^(1, 2, 3). Velké pokroky v terapii řady onemocnění kardiovaskulárního systému jsou provázány i vývojem v oblasti biomarkerů pro detekci ischemie a rizikové stratifikaci pacientů s akutními koronárními syndromy. Současná biochemie nabízí stanovení řady parametrů, které mají vztah k průběhu patologických dějů od zánětlivých změn cévních stěn (stanovení prozánětlivých cytokinů-IL6, TNFalfa), přes markery destabilizace koronárního plátu (myeloperoxidázy, adhezní molekuly), markery ruptury sklerotického plátu (sCD40L, PIGF, PAPP-A) až po markery ischemie (stanovení ischemií modifikovaného albuminu, hladiny volných mastných kyselin či cholinu) a nekrózy (srdeční troponiny, kreatinkináza a myoglobin).

Zatímco tato skupina parametrů ukazuje na patologické poškození struktury myokardu, t. č. je v klinické praxi používána pouze jedna skupina molekul, které odrážejí funkci myokardu (natriuretické peptidy).

1. Markery strukturálního poškození myokardu

Markery myokardiální nekrózy mají pevné místo v diagnostice akutního infarktu myokardu i v éře léčby přímou koronární intervencí. ESC/ACC redefinice akutního infarktu myokardu vychází z průkazu^(3, 4):

1. Typického vzestupu a následného pozvolného poklesu (troponinu T,I) nebo vzestupu a následného rychlého poklesu (CK-MB) biochemických markerů nekrózy myokardu spolu s výskytem alespoň 1 z následujících znaků: klinické symptomy ischemie, vývoj patologických kmitů Q alespoň ve dvou svodech, nové elevace ST ve 2 či více svodech nebo deprese ST nebo abnormální vlny T, intervence na postižené tepně.
2. Patologicko-anatomického nálezu akutního infarktu myokardu.
Je však třeba připomenout, že i přes obrovský pokrok, který současná biochemie přinesla, je konečná diagnóza infarktu myokardu především klinická.

1.1 Markery nekrózy myokardu

Srdeční troponiny

Troponiny jsou nejužívanějšími markery poškození myokardiální nekrózy. V současnosti to jsou především troponin T a I, jejichž kardiální formy se vyskytují pouze v myokardu. Stanovení obou troponinů je v klinické praxi běžně dostupné nejen pro diagnostiku, ale také pro stratifikaci rizika pacientů. Analýza souborných dat o obou troponinech udává, že k jejich vzestupu dochází 4–6 hodin po vzniku nekrózy, vrcholu dosahuje za 12–48 hodin a přetrvává zvýšena až 2 týdny. Určité problémy v minulosti přinesla 1. generace pro stanovení troponinu T⁽⁵⁾. Tato využívala protilátky s významnou zkříženou reaktivitou se skeletálními formami troponinu T. Tato nevýhoda byla později eliminována vyvinutím

assaye, která využívá dvě cTnT specifické protilátky. Později se opět ukázalo, že i tento způsob může být zatížen chybou u stavů s reexpresí cTnT v průběhu například u Duchennovy muskulární dystrofie, polymyositidy a uremické nefropatie. Tyto nedostatky byly z velké míry potlačeny vyvinutím assaye vyšší generace. Při volbě typu assaye pro stanovení typu troponinů (T či I) je vhodné vzít v úvahu i některá další data. Jsou to centrální umístění epitopu vůči detekčním protilátkám, konzistentní zajištění standardizace mezi jednotlivými assayemi vzhledem k jedinému výrobcí, které svědčí ve prospěch využití stanovení troponinu T. V této souvislosti je možné připomenout výsledky studií vyhodnocujících 99. percentil referenčních limitů mezi různými soupravami pro stanovení troponinu I. Zde byla nalezena 13násobná difference mezi nejnižší a nejvyšší hodnotou cTnI měřenou na 99. percentilu referenčního limitu⁽⁶⁾. Tyto rozdíly pak mohou hrát významnou roli v rozhodovacím procesu u některých specifických stavů, mezi které patří vyhodnocení změn hladiny troponinů u nemocných s významnými poruchami funkce ledvin.

Proto je pro praxi důležitá znalost způsobů **eliminace troponinů**, a to buňkami retikuloendotelového systému. Ačkoliv nebyl prokázán vztah mezi hladinou kreatininu a troponinů, přesto se setkáváme se zvýšením jejich hladiny u pacientů s renálním selháváním. Podle dosavadních literárních sdělení je zvýšená hladina troponinů u pacientů se selháním ledvin prognosticky nepříznivým ukazatelem. Mechanismem podílejícím se na jejich zvýšené hladině a vyšší kardiovaskulární úmrtnosti těchto pacientů jsou pravděpodobně mj. recidivující mikroinfarkty či akcelerovaná apoptóza kardiomyocytů. Toto má klinické důsledky: troponiny jsou častěji zvýšeny u pacientů s renální insuficiencí a navíc zvýšení troponinů je silným prediktorem kardiovaskulární mortality u pacientů s konečnými stadii ledvinového selhání.

Praktickou poznámkou je fakt, že pro dg. nekrózy myokardu je nutný průkaz dynamických změn v čase (zvyšování a pokles jejich hladiny).

V této souvislosti je nutné připomenutí rozhodovacích limitů pro použití troponinů. Podle doporučení ESC/AHA je rozhodovací limit pro infarkt myokardu stanoven pouze pro troponin T jako hodnota tzv. cut-off a je 0,01–0,03 ng/ml (odpovídá 99. percentilu zdravých osob s CV ≤ 10 %). Národní akademie klinické biochemie USA (NACB) a Mezinárodní federace klinické biochemie a laboratorní medicíny (IFCC) navrhuje používání dvou rozhodovacích limitů: pro průkaz tzv. „minor myocardial damage“ 0,03 ng/ml, pro průkaz infarktu myokardu vyšší limit 0,1 ng/ml^(3, 4, 5).

Stanovení hladiny obou troponinů má silný prognostický význam a lze jej využít pro stratifikaci rizika pacientů s onemocněními kardiovaskulárního systému^(6, 7, 8). Již analýza prvních velkých studií prokázala, že pacienti s diagnózou nestabilní anginy pectoris (podle dřívějších kritérií) a pozitivitou troponinů mají několikanásobně vyšší mortalitu v porovnání s ostatními, u kterých hladina Tn nebyla zvýšena. Z těchto důvodů se objevuje termín minimal myocardial injury. S rozvojem poznatků o změnách hladiny troponinů a histopatologickými studiemi bylo zjištěno, že akutní infarkt myokardu je provázen vždy rozsáhlejší nekrózou myokardu se zvýšením hladiny troponinu, avšak ne každé zvýšení hladiny troponinu lze považovat za srdeční infarkt. Zvýšená hladina troponinů totiž provází i další stavy: revaskularizaci myokardu (AKB/PCI), ale i neischemická poškození myokardu jako jsou myokarditidy, poranění hrudi s kontuzí myokardu, plicní embolizaci, elektrickou kardioverzi, rejekci štěpu při srdeční transplantaci, sepsi, hypovolemický šok, popáleniny, perinatální asfyxie, subarachnoidální krvácení, konečná stadia selhání ledvin, vysokodávkovou chemoterapii. I zde se ukazuje, že stanovení troponinů má velký prognostický význam.

Kreatinkináza, její MB frakce a isoformy

Metoda radioimunoanalýzy ke stanovení CK-MB byla vyvinuta již v 70. letech, v klinické praxi pak v 80. letech představovalo stanovení kreatinkinázy, resp. MB

frakce (CK, CK-MB) zlatý standard pro diagnostiku a odhad velikosti akutního infarktu myokardu. Tento vývoj představovaly metodiky stanovující nejprve aktivitu kreatinkinázy, resp. CK-MB, její skutečnou koncentraci bylo možno stanovit později jako tzv. CK-MB mass koncem 80. a v klinické praxi pak v 90. letech.

Z dnešního pohledu má však stanovení kreatinkinázy nízkou specifitu (výskyt CK-myokard, kosterní sval, mozek, GIT, plíce, ledviny, slezina, erytrocyty). Z pohledu dnešních možností je využití CK-MB doporučeno až na druhém místě, a to v případě, že není možné stanovení troponinů. Pro diagnostiku AIM je nutné nejméně dvojnásobné zvýšení aktivity CK. V nepřítomnosti poškození kosterního svalu je MB frakce CK vysoce specifická pro poškození myokardu. Pozitivní je podíl CK-MB na celkovém zvýšení CK nad 5 %. CK-MB mass je nejvhodnějším markerem reinfarktu a je to akceptovatelný marker AIM pro laboratoře neschopné stanovit troponiny. Soupravy na stanovení CK-MB mass využívají monoklonální protilátku specifickou pro MB dimer (aktivní a neaktivní izoenzymy). Soupravy kombinují vysokou senzitivitu s vysokou specificitou a s krátkým časem odezvy (TAT do 15 min.). CK-MB mass není zcela kardiospecifická, může být zvýšena při poškození kosterního svalstva, při myopatiích, kardioverzi, hypotyreóze, po vytrvalostním běhu. Stanovení izoform CKMB (CKMB₁ a CKMB₂) kombinovalo časnou citlivost myoglobinu (pozit. za 1–2 hod. po AIM) se srdeční specificitou CKMB. Jako pozitivní diagnostické kritérium se používala hodnota indexu CK-MB₂/MB₁ vyšší než 1,5.

1.2 Markery ischemie myokardu

Ischemií modifikovaný albumin (IMA, albumin-cobalt-binding test, ACB test)

Stanovení vazebné kapacity albuminu pro kobalt (albumin cobalt binding, ischemia modified albumin) je založeno na skutečnosti, že N-terminální konec albuminu snižuje svou afinitu pro kobalt v průběhu ischemie⁽⁹⁾. Přesný mechanismus produkce IMA během koronární ischemie není znám, ale lokalizace modifikace v sekvenci lidského albuminu může být v úseku N-Asp-A1a-His-Lys a je uvažováno o relaci k produkci volných radikálů, redukcí tenze kyslíku, vlivu acidózy apod. K přechodnému zvýšení IMA dochází v průběhu ischemie myokardu, a to i v nepřítomnosti nekrózy. Např. zvýšená hodnota IMA po kardioverzi indikuje transienční myokardiální ischemii. Data o pozitivitě IMA z nekoronárních příčin jsou omezená a uvádí se jaterní onemocnění, konečné fáze selhávání ledvin, některé nádory, ischemie mozku, maratónský běh, těžké infekce aj.⁽¹⁰⁾

Možné užití se předpokládá u nemocných s bolestí na hrudi s nespecifickými změnami elektrokardiogramu a negativitou ostatních markerů nekrózy myokardu. To vedlo FDA ke schválení ACB testu pro klinické použití.

Volné mastné kyseliny (FFAs)

Většina sérových volných mastných kyselin (FFAs) je vázána na albumin, pouze malé množství nenavázaných mastných kyselin (FFAu) je přítomno v solubilní formě. Mechanismus zvýšení koncentrace FFAu po ischemii není jasný, předpokládá se, že se na něm podílí zvýšení katecholaminů v krvi, ischemií aktivovaná lipolýza tukové tkáně, hydrolyza lipidů v myokardu, metabolické změny v myokardu a změny energetického substrátu v myokardu^(11, 12, 13).

Zvýšení hladiny FFAu je časným ukazatelem ischemie myokardu (za 30 min. 14x vyšší hladina), avšak zvýšení FFAu bylo pozorováno i u sepse, po použití kokainu či po kontuzi hrudi. Předběžné studie svědčí pro to, že FFAu umožňuje časnou detekci srdeční ischemie, ale jsou zapotřebí další studie u nemocných AKS.

1.3 Nové molekuly

Cholin

Cholin a fosfatidová kyselina jsou hlavním produktem štěpení fosfolipidové membrány účinkem fosfolipázy D (PLD). Aktivace PLD je považována za jeden z klíčových faktorů destabilizace koronárního plátu. Předpokládá se, že roli

zde mohou hrát stimulační makrofágů, oxidovaný LDL, změny aktivity matrix-metaloproteináz, aktivace destiček kolagenem či trombinem, podpora vazby fibrinogenu na receptor IIb/IIIa glykoproteinu. Prozatím je stanovení cholinu laboratorně značně obtížné (HPLC-hmotová spektrometrie, HR protonová MR spektrometrie) a je nutný vývoj setu použitelného v podmínkách POCT i centrální laboratoři.

Dosavadní studie ukázaly, že stanovení cholinu u nemocných se stenokardiemi významně koreluje s výskytem náhlé smrti⁽¹⁵⁾.

Glykogenfosforyláza BB (GPBB)

V lidských tkáních jsou přítomny tři izoenzymy glykogenfosforylázy (GP): GPLL (jaterní), GPMM (svalový) a GPBB (mozek, myokard). GPBB není výlučně obsažen v mozku a v myokardu, ale v malém množství je také v leukocytech, slezině, ledvinách, močovém měchýři, testés, v zažívacím traktu a v aortě. GP je glykolytický enzym, který hraje základní roli v regulaci metabolismu cukru. Katalyzuje první krok glykogenolýzy. GPBB je vázána s glykogenem v makromolekulární komplex, který je strukturálně vázán na sarkoplazmatické retikulum. V průběhu ischemie (tkáňové hypoxie) je glykogen odštěpen a GPBB konvertuje na volnou rozpustnou (cytoplazmatickou) formu, která může po vzestupu permeability buněčné membrány přejít do cirkulace^(16, 17).

Dosavadní pozorování prokazují, že GPBB je velmi citlivý marker myokardiální nekrózy a ischemie se vzestupem hodnot po AIM za 2–4 hod. po začátku bolesti, vrcholu dosahuje za 6–20 hod. a k normě se navrácí za 1–2 dny. Předběžná klinická pozorování jsou nadějná, ale doposud chybí kvalitní komerční soupravy.

Pregnancy-associated plasma protein A (PAPP-A)

Pregnancy-associated plasma protein A je glykoprotein (200 kDa) syntetizovaný syncytiotrofoblastem v průběhu těhotenství a je používán pro screening Downova syndromu. V těhotenství cirkuluje jako heterotetramerický komplex sestávající ze dvou PAPP-A podjednotek. PAPP-A je přítomen i v lidských fibroblastech a při ruptuře nestabilního aterosklerotického plátu je uvolňován do cirkulace fibroblasty^(18, 19). Korelace mezi PAPP-A a troponinem I a CK MB-mass je špatná, což ukazuje, že zvýšení PAPP-A neindikuje nekrózu myokardu. Současná pozorování ukázala, že zvýšený PAPP-A je nezávislým prediktorem výskytu ischemie myokardu a může pomoci při indikaci koronárních intervencí⁽²⁰⁾. Dalším popsaným využitím je stratifikace rizika pacientů s non-STEMI.

Placentární růstový faktor (PIGF)

PIGF patří do rodiny proteinů odvozených od destiček s funkcí chemoatraktantu pro monocyty. PIGF se ukazuje jako biomarker ruptury aterosklerotického plátu, ischemie a trombózy.

PIGF má totiž významnou roli v regulaci růstu a funkce cévního endotelu. Podle zatím nečetných sdělení se plazmatický PIGF ukazuje jako nezávislý ukazatel nepříznivého vývoje u nemocných s akutními koronárními syndromy⁽²¹⁾. Stanovení sety založenými na metodě ELISA trvá asi 4,5 hod.

Solubilní CD40 ligand (sCD40L)

CD40 je transmembránový protein, který se vyskytuje v aktivovaných trombocytech, buňkách hladkého svalstva, makrofázích apod.^(22, 23, 24). Zvýšení koncentrace sCD40L bylo zjištěno u zánětlivých onemocnění (autoimunní choroby, sclerosis multiplex aj.) jako i u hypercholesterolémie a diabetu. Zvýšené hodnoty sCD40L byly zjištěny u akutních koronárních syndromů. Solubilní ligand (sCD40L) je uvolňován do cirkulace je detekovatelný v séru i v plazmě. Komplex CD40L/sCD40L-CD40 receptor moduluje imunitní procesy, degradaci matrix a podporuje tvorbu trombů v průběhu AKS⁽²⁴⁾. Stanovení koncentrace sCD40L

může pomoci odhalit pacienty se zvýšeným rizikem trombózy a může být užitečným a použitelným indikátorem nestability aterosklerotického plátu u AKS ve spojení s markery srdeční ischemie. Studie CAPTURE identifikovala mezi cTnT negativní skupinou nemocných skupinu s vyššími hladinami sCD40L a tato nemocní měli 3,4x vyšší mortalitu.

CRP/hsCRP

Role zánětu v patogenezi aterosklerózy byla doložena již před více než 100 lety Virchowem. Mezi současnými markery zánětu, které lze běžně stanovit a které mohou mít velký prognostický význam pro nemocné s akutními koronárními syndromy patří C-reaktivní protein (CRP), resp. stanovení hsCRP (high sensitivity C-reactive protein) umožňující s vysokou přesností stanovit jeho velmi nízké koncentrace. Za řadu studií, které potvrzují prognostický význam stanovení hsCRP/CRP, lze jmenovat práci P. Ridkera⁽²⁵⁾. Studie souboru 27 939 zdravých žen prokázala význam hsCRP jako silného nezávislého rizikového faktoru pro vznik onemocnění kardiovaskulárního systému (při hsCRP v hladinách < 0,5 mg/l, 0,5 až 1,0 mg/l, 1,0 až 2,0 mg/l, 2,0 až 3,0 mg/l, 3,0 až 4,0 mg/l, 4,0 až 5,0 mg/l, 5,0 až 10,0 mg/l, 10,0 až 20,0 mg/l a dále nad 20 mg/l relativní riziko kardiovaskulární příhody 1,0, 1,6, 1,6, 1,7, 1,9, 2,2, 2,3, 2,8, resp. 3,1). Významnou roli stanovení hsCRP potvrdila analýza dat dalších studií^(26, 27, 28).

2. Markery poškození funkce myokardu – natriuretické peptidy (NP)

Jsou přirozenými antagonisty systému renin-angiotenzin-aldosteron a sympatického nervového systému. Ve vztahu k srdečnímu selhání se vyznačují především schopností indukovat vazodilataci, stimulovat diurézu a natriurézu, inhibovat systém renin-angiotenzin-aldosteron. Mají také antimitogenní efekt, kdy inhibují proliferaci hladkého svalstva cév (CNP). Hlavním stimulem pro zvýšenou tvorbu a uvolňování NP do cirkulace je tlakové přetížení myocytů.

Pro klinickou praxi má největší význam negativní prediktivní hodnota^(29, 30). Má vysokou specifitu a senzitivitu, je proto zařazena do diagnostického algoritmu pro diagnostiku srdečního selhání v doporučeních České kardiologické společnosti i Evropské kardiologické společnosti.

Při interpretaci naměřených hladin NP je třeba brát v úvahu i ostatní stavy, provázené zvýšením jejich hladiny: diastolická a/nebo systolická dysfunkce levé komory srdeční, ischemická choroba srdeční, cor pulmonale provázené plicní hypertenzí či plicní embolizací, hypertrofie stěny levé komory srdeční, přetížení oběhu při cirhóze jater či chronickém selhání ledvin, preeklampsie, kardiotoxická při terapii antracykliny.

Užitím hladiny NT-proBNP v diferenciální diagnostice dušnosti se zabýval J. Januzzi et al.⁽³⁴⁾ ve studii ICON (soubor 1 256 pacientů přijatých s příznaky dušnosti na Emergency department. Z nich 720 (tj. 57,3 %) mělo srdeční selhání, medián 5 669 vs. 177 pg/ml, $p < 0,001$ cut-off hladiny).

Vzhledem k závislosti hladiny NT-proBNP na věku a pohlaví, existuje poměrně široká tzv. šedá zóna, která neumožňuje jednoznačně vyloučit či prokázat přítomnost srdečních selhání, proto byla provedena metaanalýza dat studie ICON, FINN-KVA a dalších. Byly navrženy tzv. cut-off hladiny pro dg. srdeční selhání: pod 50 let 450 pg/ml, ve věku 50–75 let 900 pg/ml, ve věku nad 75 let 1 800 pg/ml (92% senzitivita a 84% specifita). Jako univerzální cut-off pro vyloučení diagnózy srdečního selhání byla navržena hladina 300 pg/ml (98% negativní prediktivní hodnota)^(33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43).

Závěr

Terapie řady onemocnění kardiovaskulárního systému zaznamenala v posledních letech velký pokrok, který si vyžádal změnu mnohých diagnostických

postupů. Pro klinickou praxi je kladen velký důraz nejenom na včasnou diagnostiku onemocnění, ale také na stratifikaci rizika či monitoraci průběhu léčby jednotlivých pacientů. Výše uvedený orientační přehled ukazuje na některé nové poznatky o starých biomarkerech poškození myokardu a přináší poznatky

o nových molekulách, které by mohly mít význam nejenom pro výzkum, ale také pro klinickou praxi.

*Podpořeno výzkumným záměrem MSM 0021620817,
MZO 00179906 a grantem IGA MZČR NR/8131–3.*

Literatura

- Apple F, Wu A, Mair J, et al. Future biomarkers for detection of ischemia and risk stratification in acute coronary syndromes. *Clin Chem* 2005;51:810–825.
- Dolci A, Panteghini M. The exciting story of cardiac biomarkers: From retrospective detection to gold standard for acute myocardial infarction and more. *Clin Chim Acta* 2006;369:179–187.
- Antman E, Bassand JP, Klein W, Ohman M, Lopez Sendon JL, Rydén L, Simoons M, Tendera M. Myocardial infarction redefined—a consensus document of The Joint European Society of Cardiology/American College of Cardiology committee for the redefinition of myocardial infarction. The Joint European Society of Cardiology/ American College of Cardiology Committee. *JACC* 2000;36:959–969.
- Bertrand ME, Simoons ML, Fox KAA, Wallentin LC, Hamm CW, McFadden E, et al. Management of acute coronary syndromes in patients presenting without persistent ST-segment elevation. The Task Force on the Management of Acute Coronary Syndromes of the European Society of Cardiology. *Eur Heart J* 2002;23:1809–1840.
- Van de Werf F, Ardissino D, Betriu A, Cokkino DV, Falk E, Fox KAA, et al. Management of acute myocardial infarction inpatients presenting with ST-segment elevation The Task Force on the Management of Acute Myocardial Infarction of the European Society of Cardiology. *Eur Heart J* 2003;24:28–66.
- Panteghini M, Gerhardt W, Apple FS, Dati F, Ravkilde J, Wu AH. Quality specifications for cardiac troponin assays. *Clin Chem Lab Med* 2001;39:175–179.
- Friedecký B. Troponiny – hlavní biochemické ukazatele poškození myokardu. Konfrontace mezinárodních doporučení s reálnými možnostmi klinických laboratorí. *Cor Vasa* 2002;44:422–425.
- Engliš M. Super (ultra, high) senzitivní metody stanovení srdečních troponinů. *Labor actuell* 2006;3:22–23.
- Aslan D, Apple FS. Ischemia modified albumin: clinical and analytical update. *Lab Med* 2004;35:1–5.
- Bhagavan NV, Lai EM, Rios PA, Yang J, Ortega-Lopez AM, Shinoda H, et al. Evaluation of human serum albumin cobalt binding assay for the assessment of myocardial ischemia and myocardial infarction. *Clin Chem* 2003;49:581–585.
- Kleinfeld AM, Kleinfeld KJ, Adams JE. Serum levels of unbound free fatty acids reveal high sensitivity for early detection of acute myocardial infarction in patient samples from the TIMI II trial. *J Am Coll Cardiol* 2002;39:312A.
- Kurien VA, Oliver MF. Serum-free fatty acids after acute myocardial infarction and cerebral vascular occlusion. *Lancet* 1966;288:122–127.
- Kleinfeld AM, Prothro D, Brown D, Davis RC, Richierie GV, DeMaria A. Increases in serum unbound free fatty acid concentrations following coronary angioplasty. *Am J Cardiol* 1996;78:1350–1354.
- Jouven X, Charles MA, Desnos M, Ducimetre P. Circulating Nonesterified Fatty Acid Level as a Predictive Risk Factor for Sudden Death in the Population. *Circulation* 2001;104: 756–761.
- Danne O, Möckel M, Lueders C, Mügge C, Zschunke GA, Lufft H, et al. Prognostic implications of elevated whole blood choline levels in acute coronary syndromes. *Am J Cardiol* 2003;91:1060–1067.
- Gomez-Munoz A, Martens JS, Steinbrecher UP. Stimulation of phospholipase D activity by oxidized LDL in mouse peritoneal macrophages. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000;20:135–143.
- Williger BT, Ho WT, Exton JH. Phospholipase D mediates matrix metalloproteinase-9 secretion in phorbol ester stimulated human fibrosarcoma cells. *J Biol Chem* 1999;274:735–738.
- Khosravi J, Diamandi A, Krishna RG, Bodani U, Mistry J, Khaja N. Pregnancy associated plasma protein-A: ultrasensitive immunoassay and determination in coronary heart disease. *Clin Biochem* 2002;35:531–538.
- Lund J, Qin QP, Ilva T, Pettersson K, Voipio-Pulkki LM, Porela P, et al. Circulating pregnancy-associated plasma protein A predicts outcome in patients with acute coronary syndrome but no troponin I elevation. *Circulation* 2003;108:1924–1926.
- Heesch C, Fichtlscherer S, Hamm CW. Pregnancy-associated plasma protein-A (PAPP-A) plasma level independently predict outcome in troponin negative patients with acute coronary syndrome. *Circulation* 2003;108 (Suppl IV):470.
- Heesch C, Dimmeler S, Fichtlscherer S, Hamm CW, Berger J, Simoons ML, et al. Prognostic value of placental growth factor in patients with acute chest pain. *JAMA* 2004;291:435–441.
- Aukrust P, Müller F, Ueland T, Berget T, Aaser E, Brunsvig A, et al. Enhanced levels of soluble and membrane-bound CD40 ligand in patients with unstable angina. *Circulation* 1999;100:614–620.
- Cipollone F, Ferri C, Desideri G, Paloscia L, Materazzo G, Mascellanti M, et al. Preprocedural level of soluble CD40L is predictive of enhanced inflammatory response and restenosis after coronary angioplasty. *Circulation* 2003;108:2776–2782.
- Schönbeck U, Varo N, Libby P, Buring J, Ridker PM. Soluble CD40L and cardiovascular risk in women. *Circulation* 2001;104:2266–2268.
- Heesch C, Dimmeler S, Hamm CW, van den Brand MJ, Boersma E, et al. CAPTURE Study Investigators. Soluble CD40 ligand in acute coronary syndromes. *N Engl J Med* 2003;348:1104–1111.
- Ridker PM, Cook N. Clinical Usefulness of Very High and Very Low Levels of C-Reactive Protein Across the Full Range of Framingham Risk Scores. *Circulation*, Apr 2004;109:1955–1959.
- Koenig W, Sund M, Frohlich M, et al. Refinement of the association of serum C-reactive protein concentration and coronary heart disease risk by correction for within-subject variation over time: the MONICA Augsburg studies, 1984 and 1987. *Am J Epidemiol*. 2003;158:357–364.
- Morrow DA, de Lemos JA, Sabatine M, Wiviott S, Blazing MA, Shui A, Rifai N, Califf RM, Braunwald E. Clinical Relevance of C-Reactive Protein During Follow-Up of Patients With Acute Coronary Syndromes in the Aggrastat-to-Zocor Trial. *Circulation*, Jul 2006;114:281–288.
- Okazaki S, Yokoyama T, Miyauchi K, Shimada K, Kurata T, Sato H, Daida H. Early Statin Treatment in Patients With Acute Coronary Syndrome: Demonstration of the Beneficial Effect on Atherosclerotic Lesions by Serial Volumetric Intravascular Ultrasound Analysis During Half a Year After Coronary Event: The ESTABLISH Study. *Circulation*, Aug 2004;110:1061–1068.
- Apple FS, Panteghini M, Ravkilde J, Mair J, Wu AHB, Tate J, et al. Quality specifications for B-type natriuretic peptide assays. *Clin Chem* 2005;51:486–493.
- Denus S, Pharand C, Williamson D. Brain Natriuretic Peptide in the Management of Heart Failure. *Chest* 2004;125:652–668.
- Tjeerdsma G, de Boer RA, Boomsma F, van den Berg MP, Pinto YM, van Veldhuisen DJ. Rapid bedside measurement of brain natriuretic peptide in patients with chronic heart failure. *Int J Cardiol*. 2002;86:143–149.
- Januzzi JL, Camargo CA, Anwaruddin S, Baggish AL, Chen AA, Krauser DG, et al. The N-terminal Pro-BNP investigation of dyspnea in the emergency department (PRIDE) study. *Am J Cardiol* 2005;95:948–954.
- Cappellin E, Gatti R, Spinella P, De Palo CB, Woloszczuk W, Maragno I, De Palo EF. Plasma atrial natriuretic peptide (ANP) fragments proANP (1–30) and proANP (31–67) measurements in chronic heart failure: a useful index for heart transplantation? *Clin Chim Acta*. 2001;310:49–52.
- Gardner RS, Ozalp F, Murday AJ, Robb SD, McDonagh TA. N-terminal pro-brain natriuretic peptide. A new gold standard in predicting mortality in patients with advanced heart failure. *Eur Heart J*. 2003;24:1735–1743.
- Bettencourt P, Frieos F, Azevedo A, Dias P, Pimenta J, Rocha-Goncalves F, Ferreira A. Prognostic information provided by serial measurements of brain natriuretic peptide in heart failure. *Int J Cardiol*. 2004;93:45–48.
- Latini R, Masson S, Anand I, Salio M, Hester A, Judd D, Barlera S, Maggioni AP, Tognoni G, Cohn JN; For the Val-HeFT Investigators. The comparative prognostic value of plasma neurohormones at baseline in patients with heart failure enrolled in Val-HeFT. *Eur Heart J*. 2004;25:292–299.
- Daly C, Fox K, Henein M. Natriuretic peptides in the diagnosis of heart disease—first amongst equals? *Int J Cardiol*. 2002;84:107–113.
- Hall C. Essential biochemistry and pathophysiology of NT-pro BNP. *Eur J Heart Failure* 2004;6:257–260.
- Clerico A, Emdin M. Diagnostic and prognostic relevance of measurement of cardiac natriuretic peptides: A review. *Clin Chem* 2005;50:33–50.
- Pudil R, Tichý M, Blaha V, Praus R, Vojacek J. NT-proBNP correlates not only with ejection fraction, but also with inferior vena cava diameter in patients with acute heart failure. *Clin Chim Acta*, In press.
- Tichý M, Gregor J. Přehled biochemických markerů poškození myokardu. *Klin Biochem Metab* 2002;10 (BCB 31), no.3:176–179.
- Tichý M, Friedecký B, Palíčka V, Horáček J, Jebavý L, Pudil R. Současné názory na stanovení a klinické využití kardiomarkerů. *Klin Biochem Metab* 2005; 13(34): 98–102.