

NOVÉ BIOMARKERY V AKUTNÍ KARDIOLOGII

Jiří Kettner

Klinika kardiologie, Institut klinické a experimentální medicíny, Praha

Ateroskleróza je podle současné představy dynamickým procesem, na jehož počátku je endoteliální dysfunkce se vznikem plátu a jeho kritickým vyvrcholením je ruptura vulnerabilního plátu s následnou trombózou, odpovídající za akutní ischemickou příhodu. I přes současné pokroky v léčbě akutních koronárních syndromů (AKS) dochází u části nemocných k remodelaci a dysfunkci levé komory (LK) a tato skupina nemocných má významně horší prognózu. Identifikace nemocného s vulnerabilním plátem či pláty v koronárních tepnách před erozí či rupturou a časná identifikace remodelace a dysfunkce LK je tak velkým cílem současné kardiologie.

Cílem tohoto přehledu je shrnout současné znalosti a základní charakteristiky některých nových biomarkerů v akutní kardiologii, které mají potenciál kandidátů klinického použití pro rizikovou stratifikaci nemocných s AKS, časnou detekci rozvoje dysfunkce LK a možnou monitoraci léčby.

Klíčová slova: srdeční biomarkery, vulnerabilní plát, akutní koronární syndrom, remodelace LK, srdeční selhání.

NOVEL BIOMARKERS IN ACUTE CARDIOLOGY

Atherosclerosis is currently regarded as a dynamic process originating from endothelial dysfunction to plaque initiation, plaque progression, and finally to the development of plaque. Rupture or erosion of vulnerable plaques with subsequent thrombus formation is responsible for the development of acute ischemic event. Despite a substantial advances in the treatment of acute coronary syndromes (ACS) over the past several years, the subset of patients developing LV remodeling and dysfunction with high risk for mortality or development of heart failure. The identification of high-risk patients with vulnerable plaques in coronary arteries before an acute event and patients with evolving myocardial dysfunction, remains a major challenge.

It is aim of this overview to summarize current knowledge on several novel biomarkers and their potential for risk stratification of patients with ACS, early detection of myocardial dysfunction and possible monitoring of therapy in the future.

Key words: cardiac biomarkers, vulnerable plaque, acute coronary syndrome, LV remodeling, heart dysfunction.

Interv Akut Kardiolog 2008; 7(5): 193–199

Ateroskleróza je podle současné představy dynamickým procesem, na jehož počátku je endoteliální dysfunkce se vznikem plátu a jeho kritickým vyvrcholením je ruptura vulnerabilního plátu s následnou trombózou, odpovídající za akutní ischemickou příhodu.

Tento komplexní proces zahrnuje interakci buněk endoteliálních, zánětlivých i buněk vlastních cévních stěn a vede k přeměně lipidového plátu v plát vulnerabilní. Jako vulnerabilní plát označujeme aterosklerotický plát s charakteristickými histologickými změnami a biologickým chováním, které způsobují náchylnost k jeho erozi či ruptuře. Takový plát má tenký kryt (thin fibrous cap) a obsahuje velké množství aktivovaných buněk zánětu, které produkují řadu cytokinů a proteolytických enzymů. Výsledná interakce s aterosklerotickým plátem je pak odpovědná za jeho destabilizaci. Druhou významnou podmínkou konečné klinické příhody je trombogenita krve.

Současné hodnocení nemocného s podezřením na akutní koronární syndrom (AKS) je založeno na přítomnosti symptomů podezřelých z této příhody, EKG a markerů nekrózy.

Identifikace nemocného s vulnerabilním plátem či pláty v koronárních tepnách před erozí či rupturou je stále předmětem intenzivního výzkumu. Cílem této subklinické identifikace fáze instability aterosklerotického plátu je potenciální možnost zabránit vzniku akutních ischemických příhod často náhlých a fatálních. Definice rizikové skupiny umožní selektivnější použití náročnějších instrumentálních vyšetřovacích metod k zobrazení rozsahu poškození koronárních tepen a intenzivnější kontrolu a léčebnou intervenci s možnou eliminací následných příhod. Přes značné pokroky v léčbě akutního infarktu myokardu (AIM) s významně lepším přežíváním je riziko časného úmrtí po AIM stále vysoké. Nejvíce ohroženou skupinou jsou nemocní s dysfunkcí levé komory (LK). Určení časného

rizika remodelace LK po prodělaném infarktu myokardu může významně přispět k určení strategie následné léčby a kontrol.

Je tedy nasnadě klinická potřeba ukazatelů – biomarkerů, které jsou schopny odhalit s vysokou citlivostí přítomnost biologicky aktivního (vulnerabilního) plátu, v reálném čase monitorovat jeho progresi a určit budoucí progresi poškození myokardu. Navíc detailnější poznání klíčových hráčů progresu nemoci do klinické příhody umožní výzkum případných inhibitorů těchto zásadních cest.

V posledních letech byla odhalena celá řada nových markerů jednotlivých popsáních fází, tj. fáze zánětlivé, fáze destabilizace plátu, ischemie a nekrózy myokardu a remodelace LK (obrázek 1).

Od identifikace jednotlivého markeru k jeho rutinnímu používání v klinické a laboratorní praxi však vede dlouhá cesta – od preklinické a výzkumné fáze s identifikací biomarkeru a možnosti ho vyšetřovat přes řadu fází s určením referenčních limitů, intraindividuální variability, spolehlivosti a reprodukovatelnosti testů až po rozsáhlé klinické studie s posouzením jeho efektivity v potenciálním algoritmu daných klinických fenotypů. Ideální vlastnosti biomarkeru ukazuje tabulka 1.

V následujícím přehledu uvedu pouze kardiomarkery, které do současné doby demonstrovaly určitou naději vstoupit do klinické praxe a/nebo jsou zcela nové a jejich uvedení má informativní charakter.

Tabulka 1. Vlastnosti ideálního biomarkeru

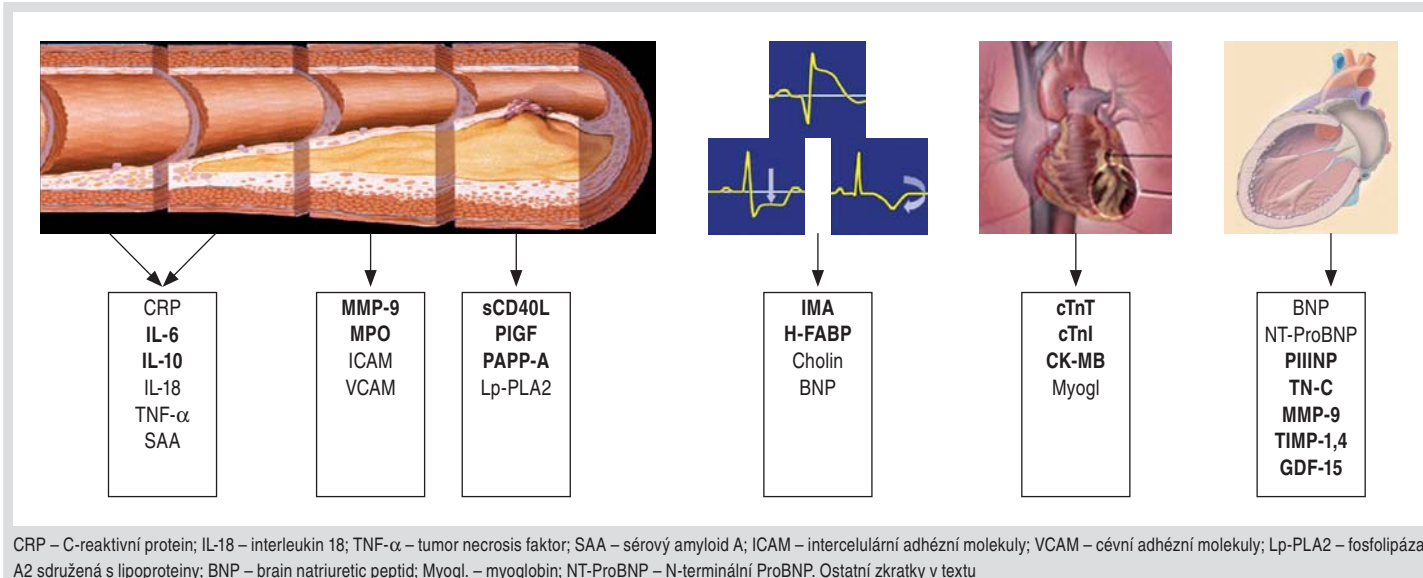
- přesný a výstižný
- opakovaně reprodukovatelný za standardních podmínek
- snadno interpretovatelný v klinice
- vysoká senzitivita a specifita

MUDr. Jiří Kettner, CSc., FESC

Klinika kardiologie, IKEM, Vídeňská 1958/9, 140 21 Praha 4
e-mail: jiri.kettner@ikem.cz

Článek přijat redakcí: 1. 10. 2008
Článek přijat po přepracování: 23. 10. 2008
Článek přijat k publikaci: 4. 11. 2008

Obrázek 1. Biochemický profil nemocných s koronární aterosklerózou od počátečních zánětlivých fází přes rupturu plátu, ischemii a nekrózu myokardu k dysfunkci myokardu a remodelaci LK. Tučně vyznačené biomarkery jsou uvedené v tomto přehledu



Kardiomarkery zánětlivé fáze aterosklerózy

Zánět je jeden z klíčových hráčů v procesu, na jehož konci je destabilizace a ruptura aterosklerotického plátu. V této složité interakci dějů hrají hlavní roli makrofágy vzniklé z monocytů a T lymfocytů. Ty produkují celou řadu cytokinů, které se vyznačují jak prozánětlivou, tak i protizánětlivou aktivitou. Právě porušení rovnovážného stavu těchto cytokinů je rozhodující pro vývoj plátu a exacerbaci onemocnění. V experimentu bylo prokázáno, že rovnováha mezi interleukinem 6 jako prozánětlivým cytokinem a interleukinem 10 jako protizánětlivým cytokinem může hrát zásadní roli (v přítomnosti hypercholesterolémie) v aterogenezi vlivem na lipidovou homeostázu, formování plátu a jeho morfologii⁽¹⁾.

Hlavní cílem řady studií těchto markerů je otázka, zda jsou schopny identifikovat vulnerabilního pacienta a předpovědět riziko možné ischemické příhody. Zásadní pro klinické použití je pak tyto výsledky reprodukovat ve velkých populačních studiích.

Interleukin – 6 (IL-6)

IL-6 je cytokin produkovaný a uvolňovaný zejména z makrofágů a aktivovaných monocytů uvnitř ateromu a z aktivovaných endoteliálních buněk. Indukuje syntézu C-reaktivního proteinu (CRP) a dalších reaktantů akutní fáze zánětu v játrech. Interleukinem-6 navozená syntéza CRP může být snížena aplikací statinu a toto je pravděpodobně mechanismus protizánětlivých vlastností statinu⁽²⁾. V experimentálních pracích se prokázala přímá role IL-6 v procesu progresu a destabilizace aterosklerotického plátu^(3, 4). V klinických studiích byly zvýšené hladiny cirkulujícího IL-6 spojeny se zvýšeným rizikem infarktu myokardu u zdravých mužů⁽⁵⁾ a zvýšeným rizikem pozdních kardiovaskulárních příhod u nemocných po operaci srdce pro koronární nemoc⁽⁶⁾. Ve studii Fast Revascularization during InStability in Coronary disease (FRISC II) byly zvýšené hodnoty IL-6 nezávisle spojeny se zvýšenou mortalitou při sledování 6 a 12 měsíců. Navíc bylo prokázáno, že nemocní se zvýšenou hladinou IL-6 mají významně větší prospěch z intervenční léčby akutní koronární příhody a léčby nízkomolekulárním heparinem⁽⁷⁾. To opět potvrzuje závěr, že zvýšené hladiny IL-6 identifikují vysoce rizikového nemocného.

Interleukin – 10 (IL-10)

IL-10 je pleiotropní cytokin, který je produkován různými buňkami imunitního systému (aktivované monocyty/makrofágy a lymfocyty). Inhibuje matrix metalo-

proteinázy, produkci dalších cytokinů a snižuje efekt tkáňového faktoru. To z něj činí cytokin s významným ateroprotektivním potenciálem^(4, 8). V klinických studiích byly nalezeny nízké hladiny IL-10 u nemocných s nestabilní anginou pectoris⁽⁹⁾. V další studii byl prokázán příznivější osud nemocných s akutními koronárními syndromy (AKS) a zvýšenou hladinou IL-10 během 6měsíčního sledování a tato předpověď byla nezávislá na hodnotách troponinu i CRP⁽¹⁰⁾. Snížené hladiny IL-10 mohou být tedy nejen markerem nestability plátu s hrozcí klinickou manifestací jako AKS, ale ukazovat i na nepříznivou dlouhodobou prognózu.

Kardiomarkery destabilizace aterosklerotického plátu

Fáze destabilizace plátu představuje konečné pochody v aterosklerotickém plátu před jeho erozí a rupturou. Proto jsou markery těchto dějů předmětem zvýšeného zájmu. Dominantní úlohu zde hrají aktivované buňky zánětu, především makrofágy, s produkcí řady proteolytických enzymů, které vedou k digesti matrix plátu a ztenčení jeho bariéry vůči krevním elementům, fibrózního krytu.

Solubilní CD40 ligand (sCD40L)

Systém CD40-CD40 ligand se nachází v membránách různých typů buněk jako jsou zejména aktivované krevní destičky, cévní endoteliální buňky, monocyty a makrofágy. Proteázami je CD40L částečně uvolňován z povrchu buněk do krevního oběhu bez ztráty biologické aktivity jako solubilní CD40L a může být detekován v krevním séru i plazmě. Hlavním zdrojem cirkulující sCD40L jsou aktivované trombocyty. Interakce sCD40L s receptory CD40, které se nacházejí na monocytech, makrofázích i buňkách cévní stěny, vede k uvolnění zánětlivých cytokinů, expresi adhezních molekul, aktivaci matrixmetaloproteináz a uvolnění tkáňového faktoru. CD40L se také váže k hlavnímu destičkovému integrinu –receptoru GP IIb/IIIa – což podporuje další aktivaci destiček a stabilizaci trombu. Zvýšená hladina cirkulujícího sCD40L tedy odráží aktivitu trombocytů, prohlubuje zánětlivou reakci, má protrombogenní účinek, inhibuje endoteliální regeneraci a vede k destabilizaci plátu⁽¹¹⁾. V klinických studiích byly zaznamenány zvýšené hodnoty sCD40L u nemocných s AKS⁽¹²⁾ a po perkutánní koronární intervenci (PCI)⁽¹³⁾. Ve studii CAPTURE (studie hodnotila efekt léčby inhibitoru GPIIb/IIIa abciximabu u nemocných s refrakterní anginou pectoris a PCI) měli nemocní se zvýšenými koncentracemi sCD40L (> 5 µg/l) prospěch z léčby abciximabem oproti placebu a to i v případě negativních hodnot troponinu. Naproti tomu nemocní s nízkými koncentracemi sCD40L žádný prospěch z této léčby

neměli⁽¹⁴⁾. Tato předběžná data ukazují na možnou klinickou užitečnost tohoto biomarkeru při rizikové stratifikaci a výběru vhodné léčby u nemocných s AKS⁽¹¹⁾. Nicméně je nutné mít na paměti, že zvýšené koncentrace sCD40L byly popsány i u nemocných např. s autoimunními chorobami a zánětlivými chorobami střeva.

Pregnancy-associated plasma protein A (PAPP-A)

Pregnancy-associated plasma protein A je metaloproteináza (glykoprotein s vysokou molekulární hmotností), která byla původně identifikována v plazmě těhotných žen a je používána pro skríníng Downova syndromu. V současné době byly nalezeny zvýšené koncentrace PAPP-A u nemocných se stabilní koronární nemocí a komplexnějším koronárním postižením⁽¹⁵⁾ a u nemocných s AKS⁽¹⁶⁾. Vedle „těhotenského“ PAPP-A, který je heterotetramerickým komplexem 2 podjednotek, je PAPP-A přítomen také jako homodimerická aktivní forma v lidských fibroblastech a uvolňován během disrupce aterosklerotického plátu pravděpodobně i z aktivovaných makrofágů a buněk cévní stěny⁽¹⁷⁾. Role PAPP-A v patofyziologickém procesu progresu a destabilizace aterosklerotického plátu není zatím přesně objasněna. Předpokládá se, že jako proteáza degraduje extracelulární matrix a tudíž podporuje destabilizaci plátu s jeho možnou následnou erozí a rupturou. Tuto teorii podporují nálezy vyšších koncentrací cirkulujícího PAPP-A u nemocných s AKS ve srovnání s nemocnými se stabilní formou koronární nemoci. Stejní autoři demonstrovali přítomnost PAPP-A v prasklých plátech nemocných z autopsických vzorků nemocných, kteří zemřeli náhlou srdeční smrtí a naopak ve stabilních plátech jeho přítomnost nedetekovali⁽¹⁷⁾. Dvě klinické studie shodně ukázaly, že PAPP-A má silnou a nezávislou předpovědní hodnotu kardiovaskulárních příhod u nemocných s AKS. Obě studie shodně demonstrovaly, že PAPP-A dovede identifikovat rizikové nemocné, kteří mají negativní troponin^(16, 18). To by znamenalo jeho schopnost rozpoznat vulnerabilního nemocného před vznikem atherotrombotické příhody. Nicméně ve studii Heeschena a kol.⁽¹⁶⁾ byla pro troponin negativního nemocného zvolena prahová hodnota troponinu T < 0,1 µg/l, což je z dnešního pohledu vysoká hodnota, neboť v současné době je považována jakákoliv hodnota troponinu T nad 0,01 µg/l, respektive jakákoliv diagnostikovatelná hodnota za abnormální⁽¹⁹⁾. Podobně je obtížné srovnávání studií, používající různé soupravy pro stanovení troponinu I s různými prahovými hodnotami. Zůstává však skutečností, že PAPP-A se jeví jako nadějný biomarker pro rizikovou stratifikaci nemocných s koronární nemocí. Pokud má však aspirovat na relevantní klinický parametr, bude nutné toto ověřit ve velkých studiích.

Myeloperoxidáza (MPO)

Myeloperoxidáza je hemoprotein, který se nachází v azurofilních granulech polymorfonukleárních neutrofilů, monocytů a makrofágů. Z nich je MPO uvolňována v místě zánětlivého procesu. Aktivita MPO může být měřena v krvi i tkáních a je možné i stanovení obsahu MPO v neutrofilech jako index degranulace. Právě zvýšené množství MPO v makrofázích bylo popsáno v erodovaných či prasklých plátech u nemocných s AKS, zatímco v lipidových prouzcích MPO nebyla detekována nebo jen v minimálním množství⁽²⁰⁾. V experimentálních pracích bylo prokázáno, že MPO konvertuje LDL cholesterol do aterogenní oxidované formy, vede k tvorbě dysfunkčního HDL cholesterolu, spotřebovává endoteliální kyslíčník dusný, podporuje leukocytární transmigraci a tvorbu pěnových buněk, aktivuje metaloproteinázy a tkáňový faktor a podílí se na apoptóze endoteliálních buněk^(21, 22). To jsou všechno pochody, které podporují endoteliální dysfunkci, růst a destabilizaci plátu a jeho následnou rupturu. Není divu, že tyto cesty zprostředkované MPO představují atraktivní cíle pro vývoj prognostických biomarkerů a terapeutických intervencí k prevenci aterosklerotických kardiovaskulárních chorob. Subanalýza populace ze studie CAPTURE ukázala, že nemocní s AKS a zvýšenými hodnotami MPO měli vyšší výskyt následných kardiovaskulárních

příhod⁽²³⁾. Podobně Brennanová a kol. ukázali, že vysoká úvodní hodnota MPO je rizikovým faktorem pro časný i pozdní výskyt infarktu myokardu u nemocných, přicházejících na akutní příjem s bolestmi na hrudníku a to i u těch s negativním troponinem T⁽²⁴⁾. Použitý práh pro troponin T však byla opět hodnota menší než 0,1 µg/l.

Analýza nemocných ze studie TACTICS-TIMI 18 (studie hodnotila efekt inhibitoru GP IIb/IIIa tirofibanu u nemocných s AKS bez ST elevací, kteří byli poté randomizováni k časně invazivní nebo konzervativní léčbě) ukázala, že vstupní koncentrace MPO u nemocných s AKS bez elevací ST, kteří byli léčeni tirofibanem, jsou spojeny s krátkodobým rizikem recidivy koronární příhody a to nezávisle na klinických rizikových faktorech, troponinu, sCD40L, hsCRP i BNP⁽²⁵⁾. Tyto výsledky dále posilují pokračující výzkum k určení role MPO v klinickém hodnocení a léčbě nemocných s AKS.

Placentární růstový faktor (Placental growth factor – PIGF)

Placentární růstový faktor jako jeden ze skupiny cévních endoteliálních růstových faktorů (VGEF) byl poprvé zjištěn v placentě a podle toho nazván. PIGF stimuluje proliferaci cévních svalových buněk, podporuje migraci makrofágů do aterosklerotických plátů, uvolňování tumor nekrotického faktoru – α (TNF- α) i monocytárního chemotaktického proteinu 1 (MCP-1) z makrofágů a stimuluje patologickou angiogenezi⁽²⁶⁾. Inhibice PIGF receptoru na zvířecím modelu vedla k potlačení růstu a vulnerability plátu cestou inhibice infiltrace zánětlivými buňkami⁽²⁷⁾. Tyto preklinické studie tedy ukázaly, že PIGF má předpoklady dokumentovat nestabilitu aterosklerotického plátu. Jeho velkou výhodou je stabilita v cirkulaci a tudíž je vhodný pro stanovení v séru či plazmě. Ve studii CAPTURE (rameno s placebem) i v prospektivní kohortě nemocných se suspektním AKS hodnoty PIGF nad 27 ng/l představovaly významné riziko pro časný i pozdní úmrtí a nefatální infarkt myokardu nezávisle na hodnotách troponinu T, sCD40L a CRP. I u nemocných bez zvýšených hodnot troponinu T nebo sCD40L znamenala tato hodnota vyšší riziko následných příhod. Nemocní s troponinem T < 0,01 µg/l, hodnotou sCD40L $\leq$ 5 µg/l a hodnotou PIGF $\leq$ 27 ng/l měli velmi nízké riziko uvedených příhod⁽²⁸⁾. Počáteční základní i klinické zkušenosti dávají tomuto biomarkeru naději na klinické uplatnění a to nejen z pohledu rizikové stratifikace, ale i terapeutických možností.

Kardiomarkery ischemie myokardu

V současné době nemáme klinicky spolehlivý sérový marker ischemie myokardu a přitom bychom ho v denní klinické praxi tolik potřebovali. Právě absence spolehlivého markeru ischemie, ať už myokardu či mozku, je trvajícím problémem současné akutní medicíny. Odhalit umírající buňku před jejím zánikem (nekrózou) je zatím nesplněným snem. Další důležitou skutečností je fakt, že nemocný s akutní bolestí na hrudníku, nediagnostickým EKG a negativním troponinem není synonymem zdravého člověka, i když v praxi není tato úvaha tak vzácná. Stejně tak vidíme řadu nemocných s pozitivním troponinem a nevýznamnými změnami na koronárních tepnách a chybí nám marker pro přesnější stratifikaci této populace.

Ischemií modifikovaný albumin (IMA)

Poznatky, že ischemie myokardu snižuje vazebnou kapacitu kobaltu k albuminu vedla k vývoji testu ACB (albumin cobal binding). Metaanalýza více jak 1800 nemocných ukázala, že kombinace nediagnostického EKG, negativního troponinu a negativního testu ACB má vysokou negativní předpovědní hodnotu pro vyloučení AKS u nemocného s bolestmi na hrudníku⁽²⁹⁾. Z těchto důvodů byl tento ACB test schválen americkou FDA (Food and Drug Administration) pro použití v klinické praxi. Nicméně aplikace IMA jako markeru ischemie myokardu má v klinických podmínkách četné limity. V roce 2006 byla publikována

prospektivní studie, ve které plazmatické hladiny IMA neukázaly rozdíly u nemocných s angiograficky prokázanou koronární nemocí a pozitivním či negativním zátěžovým testem⁽³⁰⁾. Problematická zůstává interpretace pozitivního testu ACB, neboť zvýšené hodnoty byly nalezeny po elektrické kardioverzi, u nemocných s mozkovou příhodou, renální nedostatečností, jaterním onemocněním a u některých nádorů⁽¹¹⁾. Ve skupině maratonských běžců nebyly nalezeny zvýšené hladiny IMA bezprostředně po běhu, což ukazuje, že ischemie skeletálních svalů během zátěže neovlivňuje jeho koncentrace. Ovšem po 24–48 hodinách od ukončení běhu došlo k výraznému zvýšení hodnot IMA, což je vysvětlováno námahou navozenou latentní gastrointestinální ischemií⁽³¹⁾. Všechny uvedené skutečnosti svědčí pro nízkou kardiospecifitu IMA a to může komplikovat použití testu v klinické praxi. Nevýhodou je také skutečnost, že současný ACB test stanovuje produkci IMA kolorimetrickou metodou a tedy nepřímou. Tento argument může být odstraněn při použití imunologické metody s předpokládanou lepší specificitou.

Růstový diferenciační faktor 15

(Growth Differentiation Factor-15; GDF-15)

Jde o cytokin ze skupiny růstových diferenciačních faktorů beta (TGF-beta), který je uvolňován z kardiomyocytů během ischemie a reperfuze. Analýza krevních vzorků nemocných s AKS bez ST elevací ukázala, že hodnota GDF-15 > 1800 ng/l identifikuje značně rizikovou skupinu s roční mortalitou 14 %, zatímco skupina nemocných s hodnotou GDF-15 < 1200 ng/l měla roční mortalitu pouze 1,5 %. Tato robustní prognostická informace byla nezávislá na standardních klinických rizikových ukazatelích⁽³²⁾. Stejní autoři analyzovali krevní vzorky z databáze studie FRISC II (konzervativní versus invazivní léčba nemocných s AKS bez ST elevací) a potvrdili, že jednorázová hodnota koncentrace GDF-15 při přijetí poskytuje nezávislou prognostickou informaci o riziku úmrtí a reinfarktu během dvouletého sledování. Zároveň prokázali, že nemocní s normální hodnotou GDF-15 (< 1200 ng/l) nemají prospěch z rutinního invazivního přístupu a to ani při současně pozitivním troponinu či depresích ST úseku, zatímco u nemocných se vstupní pozitivní hodnotou GDF-15 (> 1200 ng/l resp. > 1800 ng/l) vedl invazivní přístup k významnému snížení úmrtí a výskytu reinfarktu⁽³³⁾. Prakticky ke shodným závěrům dospěli i autoři, kteří sledovali osud nemocných po IM s elevacemi ST⁽³⁴⁾. V heterogenní, neselektované populaci nemocných vyšetřovaných pro náhlou bolest na hrudníku byl GDF-15 také potvrzen jako významný nezávislý (EKG, troponin) předpovědní faktor rizika úmrtí a reinfarktu při 6měsíčním sledování⁽³⁵⁾.

Povzbuzující z těchto pozorování je fakt, že jednorázová vstupní hodnota přináší poměrně silnou předpovědní hodnotu bez nutnosti sériových vzorků a označuje za rizikové i nemocné s negativním i pozitivním troponinem. Jakýkoliv entuziasmus je však předčasný a tyto závěry bude nutné ověřit v prospektivních randomizovaných studiích, které tento biomarker jistě čekají.

SCUBE 1

[signal peptide-CUB (complement C1r/C1s, Uegf, and Bmp1)
-EGF (epidermal growth factor)-like domain-containing protein 1]

Scube 1 patří do skupiny nově objevených proteinů, které jsou uloženy v alfa granulích neaktivních trombocytů. Po aktivaci krevních destiček trombinem dochází k jejich přesunu na povrch destiček a jako proteolytické fragmenty jsou uvolňovány do cirkulace⁽³⁶⁾. Patří tedy mezi signální proteiny interakce aktivovaných destiček a endoteliálních buněk, které tak mohou indikovat aktivaci krevních destiček při akutní trombotické příhodě a tím nepřímou akutní ischemii. V letošním roce byla publikována první studie, která hodnotila plazmatické koncentrace SCUBE 1 u zdravých dobrovolníků, nemocných s chronickou koronární aterosklerózou, AKS a akutní ischemickou cévní mozkovou příhodou. Zatímco u prvních dvou skupin

nebyly hodnoty SCUBE1 detekovatelné, u dalších dvou akutních onemocnění byly významně zvýšené (medián 205 ng/ml resp. 95,1 ng/ml). Detekovatelné hodnoty byly v plazmě již za 6 hodin od prvních příznaků a přetrvávaly v plazmě až 84 hodin. Autoři uzavírají, že SCUBE 1 je novým potencionálním biomarkerem aktivace destiček u akutních trombotických příhod⁽³⁷⁾.

Kardiomarkery nekrózy myokardu

Pro úplnost pouze doplňuji, že podle zcela nové redefinice akutního infarktu myokardu jsou **srdeční troponiny (cTnI; cTnT)** doporučenými biomarkery nekrózy myokardu a jejich detekce vzestupu a/nebo poklesu s alespoň jednou hodnotou nad 99. percentil referenčního souboru tvoří právě tuto definici společně s průkazem ischemie myokardu⁽³⁸⁾.

Faktem zůstává, že pozitivita troponinu neříká nic o příčině nekrózy myokardu. Existuje celá řada stavů kardiálních i nekardiálních, kdy nacházíme zvýšené koncentrace troponinů a nejde o AKS (tabulka 2). Je dobře, že to takto explicitně doporučení uvádějí, neboť často je v praxi aplikována metoda – pozitivní troponin = AKS = akutní koronarografie – bez ohledu na průkaz ischemie. Na druhou stranu je nutné říci, že nemocní s pozitivním troponinem patří mezi osoby se zvýšeným kardiovaskulárním rizikem a většina jich má strukturální srdeční onemocnění nebo renální selhání. Ve většině případů nacházíme jen mírnou elevaci troponinu, která je odrazem těchto chronických onemocnění⁽³⁹⁾. V případě podezření na reinfarkt (klinické symptomy, EKG) je doporučeno odebrat troponin ihned a poté druhý vzorek za 3–6 hodin. V případě ≥ 20% zvýšení ve druhém vzorku je diagnóza reinfarktu potvrzena⁽³⁸⁾. Pouze v případě nedostupnosti srdečních troponinů představuje náhradní alternativu stanovení MB izoenzymu kreatinkinázy – CK-MB. Standardem je stanovení hmotnostní koncentrace (CK-MB mass); stanovení koncentrace katalytické aktivity CK-MB se již nedoporučuje, protože nedosahuje diagnostické senzitivity CK MB mass⁽⁴⁰⁾. Srdeční troponiny nemají jen suverénní diagnostickou hodnotu, ale i významnou hodnotu prognostickou^(41, 42).

Srdeční izoforma vazebného proteinu pro mastné kyseliny

(Heart-Fatty acid binding protein – H-FABP)

Jde o cytoplasmatický protein s nízkou relativní molekulární hmotností, který se uvolňuje při infarktu myokardu velmi rychle. Zvýšené koncentrace mohou být detekovatelné již za 30 minut, významně zvýšené koncentrace jsou detekovatelné do 3 hodin od symptomů a obvykle se vrací k normě během 12–24 hodin. Právě časnější detekce markeru než dojde k uvolnění troponinu by byla pro klinické potřeby atraktivní, zejména u nemocných s nediagnostickým EKG např. při bloku levého Tawarova raménka nebo u nemocných s implantovaným

Tabulka 2. Zvýšené koncentrace troponinu u jiných kardiálních (A) i nekardiálních (B) stavů

A	B
• srdeční kontuze (včetně kardioverze, srdeční ablace, endomyokardiální biopsie, operace srdce, katetrizační uzávěr DSS) • akutní i chronické srdeční selhání • disekce aorty • aortální chlopenní vady • hypertrofická kardiomyopatie • zánětlivá onemocnění – myokarditis, perikarditis, endokarditis • Tako-Tsubo syndrom • hypertenzní krize • tachyarytmie, bradyarytmie, srdeční blokáda • plicní embolie, závažná plicní hypertenze • poškození srdce při rabdomyolýze	• infiltrativní onemocnění; př. sarkoidóza, amyloidóza, hemochromatóza, sklerodermie • selhání ledvin • kriticky nemocní zejména s respiračním selháním nebo diabetem • sepse • akutní neurologická onemocnění včetně mozkové cévní příhody, subarachnoidální krvácení • popáleniny s poškozením více než 30 % tělesného povrchu • toxiny nebo toxické působení léků – př. adriamycin, 5-fluorouracil, herceptin • hypotyreóza

kardiostimulátorem, kterých rychle přibývá. Klinická cennost okamžité vstupní diagnostické hodnoty spolehlivého markeru je pro další rozhodování nad nemocným s bolestmi na hrudníku na akutním příjmu neodiskutovatelná, zejména při výše uvedených limitacích EKG či malých zkušenostích vyšetřujícího s jeho interpretací.

V prospektivní studii 415 nemocných, přijatých s bolestmi na hrudníku ischemického charakteru byly hodnoceny následující biomarkery: cTnT, H-FABP, glykogen-fosforyláza-BB (GP-BB), NT-pro-brain natriuretický peptid (NT-proBNP), D-dimer, vysoce senzitivní C-reaktivní protein (hsCRP), myeloperoxidáza (MPO), matrixmetaloproteináza-9 (MMP-9), pregnancy associated plasma protein-A (PAPP-A) a solubilní CD40 liganda (sCD40L) odebrané ihned po přijetí. Cílem studie bylo zhodnotit tyto vstupní hodnoty nových biomarkerů v časně diagnostice AIM v porovnání s troponinem T. Výsledky demonstrovaly, že ze všech vyšetřovaných biomarkerů právě H-FABP ukázal nejvyšší senzitivitu pro diagnózu AIM v prvních 4 hodinách od vzniku příznaků a významně překonával i cTnT. Autoři uzavírají, že může být užitečným biomarkerem v časném hodnocení nemocných se suspektním AKS, ale upozorňují na nízkou specifitu⁽⁴³⁾.

Kardiomarkery remodelace LK

Remodelace LK hraje významnou roli v progresi srdečního selhání. Extracelulární matrix poskytuje skeleton pro kardiomyocyty a určuje jejich velikost a tvar. Za fyziologické situace existuje rovnováha mezi matrix metaloproteinázami (proteolytické enzymy, které degradují fibrokolagen) a tkáňovými inhibitory metaloproteináz. Porušení této rovnováhy ve prospěch matrix metaloproteináz vede k dilataci LK a její remodelaci. Právě remodelace po prodělaném IM i u nemocných s kardiomyopatií je odpovědná za srdeční selhání a vznik závažných, život ohrožujících arytmí a tím významně ovlivňuje morbiditu a mortalitu. Časná identifikace markerů této maladaptace by znamenala identifikaci rizikových skupin a významnou informaci pro strategii následující léčby. Zároveň by markery tohoto procesu mohly být potencionálními cíli léčby⁽⁴⁴⁾.

V současné klinické praxi nám poskytují informaci o zvýšeném napětí kardiomyocytů natriuretické peptidy. Poněvadž o natriuretických peptidech existuje rozsáhlé písemnictví v naší i zahraniční literatuře, odkazují na ní.

Já se zmíním pouze o některých nových biomarkerech, které mají za sebou experimentální výsledky a nejméně 2 klinické studie. V klinické praxi nejsou používány, ale možná se s nimi v budoucnu setkáme.

Matrixmetaloproteinázy (MMPs)

a jejich tkáňové inhibitory (TIMPs)

Jak již bylo napsáno, rovnováha mezi MMPs a TIMPs hraje významnou roli v procesu remodelace. MMPs jsou enzymy, které odbourávají extracelulární matrix. Mnoho bioaktivních molekul jako cytokiny/chemokiny, bioaktivní peptidy a neurohormony, které významným způsobem operují v patofyziologii srdečního selhání, se pravděpodobně podílejí na indukci MMPs⁽⁴⁵⁾.

Studie u nemocných po IM prokázala oproti osobám bez průkazu kardiovaskulárního onemocnění časně významné zvýšení MMP-9 a MMP-8 a významný pokles TIMP-4. Přetrvávající zvýšení hladin MMP-9 a snížení TIMP-4 bylo spojeno u nemocných po IM s trojnásobným zvětšením konečného diastolického objemu LK po 3 měsících sledování. Autoři uzavírají, že právě vztah MMP/TIMP přináší u nemocných po IM významnou diagnostickou i prognostickou informaci⁽⁴⁶⁾. V další studii u nemocných po IM byly vstupní vyšší hodnoty MMP-9 spojeny s horší funkcí LK, ale přetrvávající zvýšení v následujících dnech znamenaly menší stupeň remodelace⁽⁴⁷⁾. Stejní autoři publikovali v letošním roce studii, ve které prokázali u 404 nemocných s AIM, že plazmatické koncentrace MMP-9 a zejména TIMP-1 jsou významně spojeny s vývojem a rozsahem remodelace LK u osob po IM. Autoři uzavírají, že TIMP-1 je významným prognostickým ukazatelem pro následné srdeční selhání i úmrtí srovnatelné s N-terminálním proBNP (NTproBNP) a oba markery mají aditivní prognostickou hodnotu⁽⁴⁸⁾.

Do současné doby bylo identifikováno nejméně 20 matrix metaloproteináz a několik jejich tkáňových inhibitorů. Který z nich bude nejprospěšnější a nejvhodnější pro rutinní sledování zatím není zcela jasné. Výše citované výsledky jsou pouze naznačením. Nicméně mohou být v budoucnosti zajímavé i pro možné terapeutické cíle či sledování efektu léčby remodelace LK.

Prokolagen propeptid (PIIINP)

Amino-terminální propeptid kolagenu III. typu je uvolňován do séra během přeměny prokolagenu III do kolagenu III. Ve zvířecích experimentech znamenalo časně zvýšení PIIINP převahu syntézy kolagenu nad kolagenolytickou aktivitou⁽⁴⁹⁾. V klinické studii znamenaly zvýšené hodnoty tohoto propeptidu 4.

den po IM přetrvávající závažnou dysfunkci LK s dilatací jako projev neúspěšné reperfuze infarktové tepny⁽⁵⁰⁾. U nemocných se závažným srdečním selháním ze studie RALES (Randomized ALdactone Evaluation Study) bylo ukázáno, že užívání spironolaktonu vedlo k poklesu hodnot PIINP a k příznivému ovlivnění přežívání pouze u těch nemocných, jejichž výchozí hodnota prokolagenu byla nad jeho medián. To by ukazovalo, že hlavním efektem spironolaktonu u nemocných se závažným srdečním selháním je omezení syntézy extracelulární matrix⁽⁵¹⁾.

Tenascin C (TN-C)

Tenascin C je glykoprotein extracelulární matrix, který je přítomen v srdci během embryonálního vývoje, ale u dospělých není detekovatelný. K jeho uvolňování pak dochází znovu při patologických stavech jako je AIM nebo akutní myokarditida a je odrazem invaze zánětlivých buněk a tkáňového poškození. V experimentálním modelu AIM byly přetrvávající zvýšené hodnoty TN-C významně spojeny s remodelací myokardu⁽⁵²⁾.

V klinické studii u nemocných s AIM byly nalezeny významně zvýšené hodnoty TN-C oproti zdravým osobám či nemocným po prodělaném IM. Vrcholové hodnoty 5. den po IM pak vysoce signifikantně oddělily skupinu s následnou remodelací LK a bez ní a znamenaly významně horší dlouhodobou prognózu⁽⁵³⁾. Navíc sérové hodnoty TN-C byly významně vyšší ve skupině nemocných s nálezem transmuralního late enhancementu oproti nemocným pouze s endokardiálním či negativním nálezem při 64-MDCT vyšetření nemocných po úspěšné primární PCI⁽⁵⁴⁾. U respondérů na srdeční resynchronizační léčbu (CRT) byl nalezen významný pokles sérových hladin TN-C, zatímco u nonrespondérů nikoliv⁽⁵⁵⁾.

Logickým přístupem ke zpřesnění diagnózy, určení závažnosti průběhu onemocnění, zvýšení předpovědní hodnoty následného rizika a kontrola efektivity léčby, je multimarkerová analýza. Markery různých fází a úrovní patofyziologického vývoje aterosklerotického plátu a zátěže myokardu mohou pravděpodobně

identifikovat s větší přesností i ohroženého a dosud asymptomatického pacienta. V současné době se hledají vhodné kombinace, které by tuto přesnost významně zvýšily. Výše uvedené studie toto dokumentují. Nicméně ještě nějakou dobu potrvá, než bude rutinně k dispozici rychle dostupný multimarkerový vstupní panel s vysoce spolehlivou kombinací. Neméně důležitá bude však i správná interpretace s následnou racionální diagnostickou rozvahou a terapeutickou reakcí a to platí i pro zatím v současné době klinicky aplikované biomarkery jako jsou troponiny, natriuretické peptidy a CRP.

Závěr

Hlubší poznání patofyziologie AKS vedlo v posledních letech ke značným pokrokům v léčbě AIM s významně lepším přežíváním. Laboratorní metody jsou dnes velmi důležitou součástí procesu, který vede k rychlé a přesné diagnostice, stratifikaci nemocného s určením budoucího rizika, aplikaci odpovídající nejúčinnější léčebné strategie a kontrole efektivity zavedené terapie. Navíc poznání řady markerů odhaluje často velmi složité děje vývoje nemoci a toto může být významným zdrojem budoucích léčebných zásahů.

Tento přehled nabízí jen některé z biomarkerů v akutní kardiologii, které mají potenciál kandidátů klinického použití pro rizikovou stratifikaci nemocných s AKS, časnou detekci rozvoje dysfunkce LK a možnou monitoraci léčby. Pro řadu těchto markerů dosud chybí standardizované metody jejich stanovení, údaje o rozhodovacích hodnotách, doporučení pro časování odběrů a zejména velké klinické studie s kriticky zhodnocenými závěry o jednoznačném přínosu pro klinickou praxi ke stávajícím prověřeným postupům.

*Práce byla podpořena institucionálními finančními prostředky
Výzkumného záměru IKEM – reg. č. MZO 00023001.*

Literatura

- Schieffer B, Sell T, Hilfiker A, et al. Impact of Interleukin-6 on Plaque Development and Morphology in Experimental Atherosclerosis. *Circulation* 2004; 110: 3493–3500.
- Arnaud C, Burger F, Steffens S, et al. Statins reduce interleukin-6-induced C-reactive protein in human hepatocytes: new evidence for direct antiinflammatory effects of statins. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2005; 25: 1231–1236.
- Xing Z, Gaudin J, Cox G, et al. IL-6 is an antiinflammatory cytokine required for controlling local or systemic acute inflammatory responses. *J Clin Invest* 1998; 101: 311–320.
- Kleemann R, Zedelaar S, Kooistra T. Cytokines and atherosclerosis: a comprehensive review of studies in mice. *Cardiovasc Res* 2008; 79: 360–376.
- Ridker PM, Rifai N, Stampfer MJ, et al. Plasma concentration of interleukin-6 and the risk of future myocardial infarction among apparently healthy men. *Circulation* 2000; 101: 1767–1772.
- Hedman A, Larsson PT, Alam M, et al. CRP, IL-6 and endothelin-1 levels in patients undergoing coronary artery bypass grafting. Do preoperative inflammatory parameters predict early graft occlusion and late cardiovascular events? *Int J Cardiol* 2007; 120: 108–114.
- Lindmark E, Diderholm E, Wallentin L, Siegbahn A. Relationship between interleukin 6 and mortality in patients with unstable coronary artery disease. *JAMA* 2001; 286: 2107–2113.
- Mallat Z, Besnard S, Duriez M, et al. Protective role of interleukin-10 in atherosclerosis. *Circ Res* 1999; 85: e17–e24.
- Smith DA, Irving SD, Sheldon J, et al. Serum Levels of the Antiinflammatory Cytokine Interleukin-10 Are Decreased in Patients With Unstable Angina. *Circulation* 2001; 104: 746–749.
- Heeschen C, Dimmeler S, Hamm CW, et al. Serum level of the anti-inflammatory cytokine interleukin-10 is an important prognostic determinant in patients with acute coronary syndromes. *Circulation* 2003; 107: 2109–2114.
- 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: 810–824.
- Garlichs CD, Eskafi S, Raaz D, et al. Patients with acute coronary syndromes express enhanced CD40 ligand/CD154 on platelets. *Heart* 2001; 86: 649–655.
- Cipollone F, Ferri C, Desideri G, et al. Preprocedural level of soluble CD40L is predictive of enhanced inflammatory response and restenosis after coronary angioplasty. *Circulation* 2003; 108: 2776–2782.
- Heeschen C, Dimmeler S, Hamm CW, et al. Soluble CD40 ligand in acute coronary syndromes. *N Engl J Med* 2003; 348: 1104–1111.
- Cosin-Sales J, Kaski JC, Christiansen M, et al. Relationship among pregnancy associated plasma protein-A levels, clinical characteristics, and coronary artery disease extent in patients with chronic stable angina pectoris. *Eur Heart J* 2005; 26: 2093–2098.

- Heeschen C, Dimmeler S, Hamm CW, et al. Pregnancy-Associated Plasma Protein-A Levels in Patients With Acute Coronary Syndromes. *J Am Coll Cardiol* 2005; 45: 229–237.
- Bayes-Genis A, Conover CA, Overgaard MT, et al. Pregnancy-associated plasma protein A as a marker of acute coronary syndromes. *N Engl J Med* 2001; 345: 1022–1029.
- Lund J, Qin QP, Ilva T, 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.
- Jaffe AS, Babuin L, Apple FS. Biomarkers in acute cardiac disease: the present and the future. *J Am Coll Cardiol* 2006; 48: 1–11.
- Sugiyama S, Okada Y, Sukhova GK, Virmani R, Heinecke JW, Libby P. Macrophage myeloperoxidase regulation by granulocyte macrophage colony-stimulating factor in human atherosclerosis and implications in acute coronary syndromes. *Am J Pathol* 2001; 158: 879–891.
- Podrez EA, Schmitt D, Hoff HF, Hazen SL. Myeloperoxidase-generated reactive nitrogen species convert LDL into an atherogenic form in vitro. *J Clin Invest* 1999; 103: 1547–1560.
- Nicholls SJ, Hazen SL. Myeloperoxidase and cardiovascular disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2005; 25: 1102–1111.
- Baldus S, Heeschen C, Meinertz T, et al. CWCAPTURE Investigators. Myeloperoxidase serum levels predict risk in patients with acute coronary syndromes. *Circulation* 2003; 108: 1440–1445.
- Brennan ML, Penn MS, Van Lente F, et al. Prognostic value of myeloperoxidase in patients with chest pain. *N Engl J Med* 2003; 349: 1595–1604.
- Morrow DA, Sabatine MS, Brennan ML, et al. Concurrent evaluation of novel cardiac biomarkers in acute coronary syndrome: myeloperoxidase and soluble CD40 ligand and the risk of recurrent ischaemic events in TACTICS-TIMI 18. *Eur Heart J* 2008; 29: 1096–1102.
- Autiero M, Lutun A, Tjwa M, et al. Placental growth factor and its receptor, vascular endothelial growth factor receptor-1: novel targets for stimulation of ischemic tissue revascularization and inhibition of angiogenic and inflammatory disorders. *J Thromb Haemost* 2003; 1: 1356–1370.
- Lutun A, Tjwa M, Moon L, et al. Revascularization of ischemic tissues by PIGF treatment, and inhibition of tumor angiogenesis, arthritis and atherosclerosis by anti Flt1. *Nat Med* 2002; 8: 831–840.
- Heeschen C, Dimmeler S, Fichtlscherer S, et al. Prognostic value of placental growth factor in patients with acute chest pain. *JAMA* 2004; 291: 435–441.
- Peacock F, Morris DL, Anwaruddin S, et al. Meta-analysis of ischemia-modified albumin to rule out acute coronary syndromes in the emergency department. *Am Heart J* 2006; 152: 253–262.
- Sbarouni E, Georgiadou P, Theodorakis GN, et al. Ischemia-Modified Albumin in Relation to Exercise Stress Testing. *J Am Coll Cardiol* 2006; 48: 2482–2484.

31. Apple FS, Quist HE, Otto AP, Mathews WE, Murakami MM. Release characteristics of cardiac biomarkers and ischemia—modified albumin as measured by the albumin cobalt-binding test after a marathon race. *Clin Chem* 2002; 48: 1097–1100.
32. Wollert KC, Kempf T, Peter T, et al. Prognostic value of growth-differentiation factor-15 in patients with non-ST-segment elevation acute coronary syndrome. *Circulation* 2007; 115: 962–971.
33. Wollert KC, Kempf T, Lagerqvist B, et al. Growth-differentiation factor-15 for risk stratification and selection of an invasive treatment strategy in non-ST-elevation acute coronary syndrome. *Circulation* 2007; 116: 1540–1548.
34. Kempf T, Björklund E, Olofsson S, et al. Growth-differentiation factor-15 improves risk stratification in ST-segment elevation myocardial infarction. *Eur Heart J* 2007; 28: 2858–2865.
35. Eggers KM, Kempf T, Allhoff T et al. Growth-differentiation factor-15 for early risk stratification in patients with acute chest pain. *Eur. Heart J* 2008; doi: 10.1093/eurheartj/ehn339. Advance Access published online on July 29, 2008.
36. Tu CF, Su YH, Huang YN, et al. Localization and characterization of a novel protein SCUBE1 in human platelets. *Cardiovasc Res* 2006; 71: 486–495.
37. Dai D-F, Thajeb P, Tu C-F, et al. Plasma concentration of SCUBE1, a novel platelet protein, is elevated in patients with acute coronary syndrome and ischemic stroke. *J Am Coll Cardiol* 2008; 51: 2173–2180.
38. Thygesen K, Alpert JS, White HD, et al. Universal definition of myocardial infarction. Expert consensus document. *Eur Heart J* 2007; 28: 2525–2538.
39. Jaffe AS. Chasing troponin: how low can you go if you can see the rise? *J Am Coll Cardiol* 2006; 48: 1763–1764.
40. Frídecký B, Engliš M, Franecková J, et al. Doporučení České společnosti klinické biochemie ke stanovení biochemických markerů poškození myokardu. *Klin. Biochem. Metab.* 16(37), 2008, No. 1, p. 50–55.
41. Heesch C, Hamm CW, Goldmann B, Deu A, Langenbrink L, WhiteHD, for the PRISM Study Investigators. Troponin concentrations for stratification of patients with acute coronary syndromes in relation to therapeutic efficacy of tirofiban: Platelet Receptor Inhibition in Ischemic Syndrome Management. *Lancet* 1999; 354: 1757–1762.
42. Morrow DA, Antman EM, Tanasijevic M, et al. Cardiac troponin I for stratification of early outcomes and the efficacy of enoxaparin in unstable angina: a TIMI-11B substudy. *J Am Coll Cardiol* 2000; 36: 1812–1817.
43. McCann CJ, Glover BM, Menown IBA, et al. Novel biomarkers in early diagnosis of acute myocardial infarction compared with cardiac troponin T. *Eur. Heart J.* 2008; 0: ehn363v1-8. Epub ahead of print.
44. Braunwald E. Biomarkers in heart failure. *N Engl J Med* 2008; 358: 2148–2159.
45. Deschamps AM, Spinale FG. Pathways of matrix metalloproteinase induction in heart failure: bioactive molecules and transcriptional regulation. *Cardiovasc Res* 2006; 69: 666–676.
46. Webb CS, Bonnema DD, Ahmed SH, et al. Specific temporal profile of matrix metalloproteinase release occurs in patients after myocardial infarction: relation to left ventricular remodeling. *Circulation* 2006; 114: 1020–1027.
47. Kelly D, Cockerill G, Ng LL, et al. Plasma matrix metalloproteinase-9 and left ventricular remodelling after acute myocardial infarction in man: a prospective cohort study. *Eur Heart J* 2007; 28: 711–718.
48. Kelly D, Khan SQ, Thompson M, et al. Plasma tissue inhibitor of metalloproteinase-1 and matrix metalloproteinase-9: novel indicators of left ventricular remodelling and prognosis after acute myocardial infarction. *Eur Heart J* 2008; 29: 2116–2124.
49. Cleutjens JPM, Verluyten MJA, Smits JFM, et al. Collagen remodeling after myocardial infarction in the rat heart. *Am J Pathol.* 1995; 147: 325–338.
50. Poulsen SH, Host NB, Jensen SE, et al. Relationship between serum amino-terminal propeptide of type III procollagen and changes of left ventricular function after acute myocardial infarction. *Circulation.* 2000; 101: 1527–1532.
51. Zannad F, Alla F, Dousset B, et al. Limitation of excessive extracellular matrix turnover may contribute to survival benefit of spironolactone therapy in patients with congestive heart failure: insights from the Randomized Aldactone Evaluation Study (RALES). *Rales Investigators. Circulation* 2000; 102: 2700–2706. [Erratum, *Circulation* 2001; 103: 476].
52. Imanaka-Yoshida K, Hiroe M, Nishikawa T, et al. Tenascin-C modulates adhesion of cardiomyocytes to extracellular matrix during tissue remodeling after myocardial infarction. *Lab Invest* 2001; 81: 1015–1024.
53. Sato A, Aonuma K, Imanaka-Yoshida K, et al. Serum tenascin-C might be a novel predictor of left ventricular remodeling and prognosis after acute myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol* 2006; 47: 2319–2325.
54. Sato A, Seo Y, Kawano S, et al. A novel biomarker, Tenascin C, for predicting left ventricular remodeling in acute myocardial infarction. *J Card Fail.* 2008; 14: S137.
55. Hessel MHM, Bleeker GB, Bax JJ, et al. Reverse ventricular remodelling after cardiac resynchronisation therapy is associated with a reduction in serum tenascin-C and plasma matrix metalloproteinase-9 levels. *Eur J Heart Fail* 2007; 9: 1058–1063.