

Pentraxin 3 a interleukin 18 v průběhu akutního infarktu myokardu

Lucie Horáková¹, Radek Pudil¹, Ctirad Andráš², Jan Vojáček¹

¹I. interní kardiologická klinika, FN a LF HK, UK v Praze

²Ústav klinické imunologie a alergologie, FN a LF HK, UK v Praze

Cíl: Procesu aterosklerózy je věnována stále velká pozornost, protože její progresse a následná ruptura aterosklerotických plátů je zodpovědná za vznik akutního infarktu myokardu se všemi jeho důsledky. Jsou popisovány stále nové a nové markery mající vztah k rozvoji aterosklerózy a naším cílem je posoudit dynamiku vybraných markerů v průběhu akutního infarktu myokardu a jejich prediktivní význam ke vzniku poinfarktové systolické dysfunkce levé komory srdeční.

Metodika: Celkem bylo zařazeno 29 pacientů s akutním infarktem myokardu, vybranými markery byly interleukin 18 (IL-18), pentraxin 3 (PTX3), které byly porovnány s high senzitivním troponinem T (hsTnT) a glykogenfosforylázou BB (GPBB). Odběry byly prováděny v den přijetí, za 24 hodin a čtvrtý nebo pátý den hospitalizace. Sledované parametry byly měřeny ze séra metodou ELISA.

Výsledky a závěr: Markery vykazovaly velmi časný vzestup koncentrací a svého maxima dosáhly již za 24 hodin (IL-18 maximum 657 pg/ml, medián 311 pg/ml, PTX3 maximum 12,2 µg/ml, medián 3,36 µg/ml). Oba parametry můžeme tedy považovat za časně markery progresse aterosklerózy a vzniku nestabilního aterosklerotického plátu. Vztah těchto markerů k rozsahu postižení myokardu a ke vzniku poinfarktové systolické dysfunkce levé komory (EF ≤ 40 %) ale prokázána nebyla.

Klíčová slova: aterosklerotický plát, akutní infarkt myokardu, pentraxin 3, interleukin 18.

Pentraxin 3 and interleukin 18 in the course of acute myocardial infarction

Aim: The rupture of atherosclerotic plaques is responsible for acute myocardial infarction with all its consequences. We have studied the changes in concentrations of new two markers (PTX3, IL18) in the patients with myocardial infarction and their relation to myocardial dysfunction.

Material and methods: This study includes 29 patients with acute myocardial infarction and we have investigated these markers: pentraxin 3 (PTX3), interleukin 18 (IL-18), high sensitive troponin (hsTnT) and glycogenphosphorylase BB (GPBB). Samples were taken on the day of admission, after 24 hours and on the fourth or fifth day of hospitalization. Monitored parameters were analysed through Elisa method.

Results: Markers showed very early increase in concentration and reached its peak as early as 24 hours (IL-18 maximum 657 pg/ml, median 311 pg/ml, PTX3 maximum 12.2 µg/ml, median 3.36 µg/ml). Both parameters can therefore be considered as early markers of progression of atherosclerosis and the formation of unstable atherosclerotic plaque. But we didn't show the relationship of these markers to the extent of myocardial damage and the development of post-infarction left ventricular systolic dysfunction.

Key words: atherosclerotic plaque, acute myocardial infarction, pentraxin 3, interleukin 18.

Interv Akut Kardiolog 2015; 14(1): 10–13

Ateroskleróza je charakterizována jako chronické, postupně progredující zánětlivé postižení stěny cév, pro kterou je typické hromadění lipidů, zmnožení fibrózní tkáně a infiltrace zánětlivými buňkami (1). Jde o dynamický proces, který je výsledkem vzájemných interakcí mezi endogenními a exogenními faktory a buňkami imunitního systému (2).

Dlouhodobé působení rizikových faktorů vede nejprve ke vzniku endoteliální dysfunkce a teprve poté dochází ke vzniku aterosklerotických plátů. K aktivaci tohoto procesu dochází vlivem buněk přirozené imunity, které prostřednictvím povrchových receptorů rozpoznávají nebezpečné vzory a následně pak vedou ke tvorbě řady prozánětlivých mediátorů (2). Samotný průběh ateroskleró-

zy se dělí do několika stadií: iniciace, stadium stabilních aterosklerotických plátů, progresse, destabilizace plátů vlivem jejich erozí nebo rupturami a poslední stadium je stadium komplikací projevující se okluzí postižené cévy (3). Snahou řady vědeckých prací je blíže poznat a pochopit jednotlivé děje, ke kterým v průběhu aterosklerózy dochází, a definovat tak jednotlivé markery, které se v tomto procesu uplatňují, ve snaze možného cíleného léčebného zásahu na jednotlivých úrovních aterosklerózy. Námi byl v této studii ve vztahu k probíhajícímu infarktu myokardu hodnocen pentraxin 3 (PTX3) a interleukin 18 (IL-18).

Pentraxin 3 (PTX3) je řazen mezi časně proteiny akutní fáze, které jsou charakterizované cyklickou multimerickou strukturou a na rozdíl

od C-reaktivního proteinu patří do rodiny long pentraxinů. PTX3 je uvolňován v aterosklerotickém plátu ze specifických granul řadou buněk, jako jsou buňky hladké svaloviny, makrofágy, fibroblasty nebo endoteliální buňky (4) a na aktivaci těchto buněk se uplatňuje řada cytokinů (např. IL-1β, tumor necrosis factor alfa – TNFα nebo toll like receptory – TLR) nebo oxidovaný low density lipoprotein (LDL). Na druhou stranu PTX3 reguluje výsledné postižení cévní stěny aktivací řady dalších buněk (P-selektin, systém komplementu, agregaci trombocytů nebo vazbu na fibrinogen, aj.) (5). Bylo zjištěno, že akutní postižení cévy vede ke zvýšené expresi PTX3 a u pacientů s akutním infarktem myokardu (AIM) je v séru dosaženo maximální hladiny již za 6–8 hodin od vzniku obtíží (6).

Tabulka 1. Přehled jednotlivých naměřených koncentrací parametru hsTnT a GPBB.

hsTnT (ug/l)	minimum	maximum	medián	25. percentil	75. percentil
0 hsTnT	0,007	3,94	0,09	0,03	0,34
1 hsTnT	0,39	8,04	2,7	1,19	3,83
2 hsTnT	0,03	6,38	1,93	0,8	2,86
GPBB(μg/l)	minimum	maximum	medián	25. percentil	75. percentil
0 GPBB	3,91	230	33,3	18,77	50,94
1 GPBB	3,91	230	14,81	10	27,2
2 GPBB	4,58	42,98	13,42	8,53	21,48

Interleukin 18 (IL-18) patří mezi pleiotropní cytokiny, které výrazně modulují zánětlivou odpověď a které hrají v procesu aterosklerózy významnou roli. mRNA IL-18 byla prokázána jak ve stabilních, tak ve vulnerabilních plátech (7). IL-18 se podílí na diferenciaci T-lymfocytů a také na tvorbě interferonu gama (INF-γ). Mnohými autory je právě indukce tvorby INF-γ považována za hlavní mechanismus, kterým je ovlivněn proces aterosklerózy a vznik nestabilních plátů (dochází ke zvýšené expresi adhezních molekul na buňkách endotelu a k potlačení syntézy kolagenu v buňkách hladké svaloviny, oproti tomu zvířecí studie s jedinci deficientními pro receptor INF-γ vykazovaly mnohem menší ložiska aterosklerózy) (8, 9). V případě kardiochirurgických operací byly vyšší hladiny IL-18 spojeny s vyšším rizikem pooperačních komplikací (10), v případě implantace koronárních stentů jsou výsledky nejednoznačné – podle některých autorů jsou vyšší koncentrace IL-18 prediktorem restenózy (11), podle jiných autorů nelze u pacientů po provedené implantaci stentu pouze na základě hladin IL-18 predikovat jejich prognózu (12, 13).

Materiál a metoda

Do studie bylo zařazeno celkem 29 pacientů (25 (86,3 %) mužů a 4 (13,7 %) ženy, průměrného věku 64,55 let) s akutním infarktem myokardu s elevacemi ST úseků nebo s přítomným blokem levého Tawarova raménka na EKG záznamu. Nikdo v této studii nezemřel. Všichni zařazení pacienti splňovali vstupní kritéria studie a podepsali informovaný souhlas se studií, která byla schválena etickou komisí.

Od všech sledovaných pacientů byla odebrána periferní žilní krev, která byla získána v pravidelných intervalech: první odběr byl proveden v den přijetí (ještě před koronární intervencí, odběr 0), druhý odběr za 24 hodin od přijetí (odběr 1) a poslední vzorek krve byl získán čtvrtý nebo pátý den hospitalizace (odběr 2). Krevní vzorky byly následně centrifugovány při 3 500 otáčkách/minuta a sérum bylo poté uchováno při teplotě -70 °C k pozdějším analýzám. Ke kontrole

výsledků byla také odebrána žilní krev od skupiny zdravých dobrovolníků (odběr K).

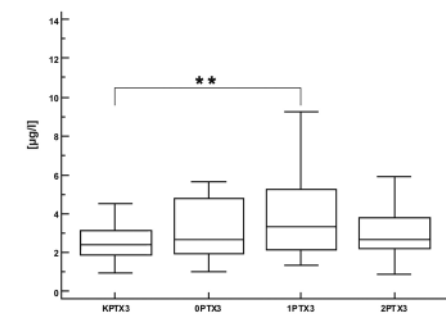
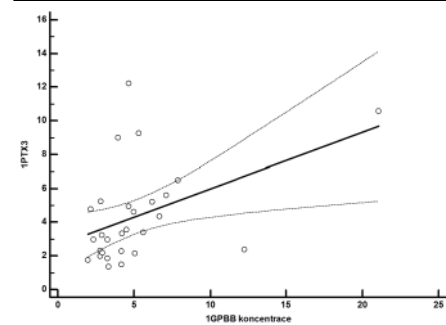
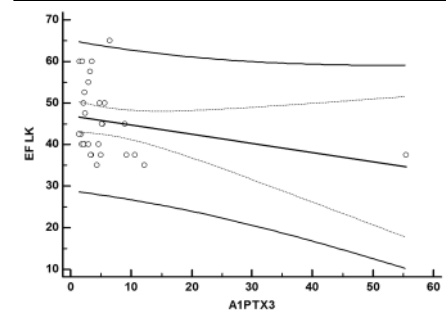
Námi sledované parametry (PTX3 a IL-18) byly po rozmrazení krevních vzorků měřeny na Elisa kitech ELISA metodou, kdy každý set obsahuje již od výrobce přesně definovaný postup zpracování odebraných vzorků. PTX3 má výrobcem stanovený detekční limit 0,116 μg/l (Quantikine, R&D Systems, USA), u IL-18 byla nejvyšší hodnota měřená u zdravých dobrovolníků 257,8 pg/ml (Medical & Biological Laboratories, Japonsko).

Jednotlivá naměřená data byla od každého markeru vyjádřena jako maximální a minimální hodnota, medián, 25. a 75. percentil. K statistickému zpracování byl použit počítačový program MedCalc (Medcalc Software, Belgium): Studentův nepárový t-test, k vzájemnému porovnání krevních vzorků a vzorků s kontrolní skupinou byl použit Wilcoxonův a Mann-Whitney U-test, k porovnání získaných výsledků u sledovaných parametrů s hodnotami hsTnT, GPBB a s poklesem systolické funkce levé komory (LK) byla využita metoda regresní analýzy. Statisticky významné jsou všechny hodnoty s $p < 0,05$.

Výsledky

U všech pacientů, kteří byli zařazeni do studie, byly měřeny PTX3 a IL-18, které byly porovnávány s hodnotami v kontrolní skupině a se standardními markery nekrózy, jako je vysoce senzitivní troponin (hsTnT) a, dosud méně užívaný, GPBB. U obou sledovaných markerů byl zároveň hledán možný vztah k určení rozsahu poškození myokardu, tj. asociace k ejekční frakci levé komory srdeční (hodnocena byla klasickým ultrazvukovým vyšetřením srdce 2.–4. den hospitalizace). V tabulce 1 jsou uvedeny námi naměřené koncentrace hsTnT a GPBB v průběhu jednotlivých měření.

Hodnoty PTX3 se po dobu měření v porovnání s kontrolní skupinou jen mírně zvyšovaly a svého maxima dosáhly v průběhu druhého odběru (max 12,21, medián 3,36, viz tabulka 2). Za čtyři až pět dnů od přijetí (odběr 2) se hodnoty opět blížily prakticky vstupním koncentracím.

Graf 1. Přehled koncentrací PTX3 v jednotlivých měřeních, jejich porovnání s určením statistické významnosti ($p < 0,05$)**Graf 2.** Asociace PTX3 s GPBB při odběru 1 stanovená metodou regresní analýzy (rovnice $y = 2,6155 + 0,3359 x$, $p < 0,05$)**Graf 3.** Asociace PTX3 se systolickou funkcí LK metodou regresní analýzy (rovnice $y = 46,9602 + -0,2226 x$, $p = 0,18$)

Při porovnání kontrolní skupiny s jednotlivými odběry a jednotlivých odběrů navzájem byly zjištěny statisticky významné rozdíly pouze mezi kontrolní skupinou a odběrem 1 ($p < 0,05$, graf 1).

V případě markeru PTX3 nebyla metodou regresní analýzy prokázána těsná vazba s parametrem hsTnT (vzájemná porovnání byla statisticky nevýznamná). Pokud jsme ale porovnávali koncentrace PTX3 s GPBB v jednotlivých měřeních, pak byla zjištěna asociace těchto markerů při odběru 1 (rovnice regresní analýzy $y = 2,6155 + 0,3359 x$, $p < 0,05$, graf 2). Při hodnocení vztahu PTX3 k systolické funkci LK námi nebyly nalezeny žádné statisticky významné vztahy (rovnice regresní analýzy $y = 46,9602 + -0,2226 x$, $p = 0,18$, graf 3).

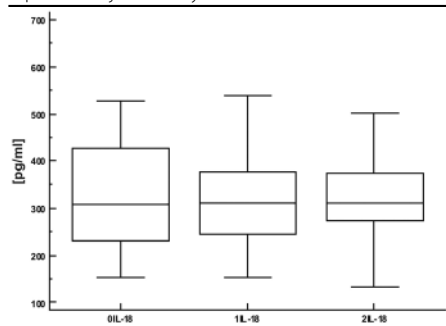
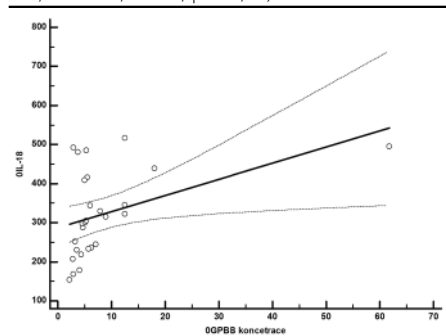
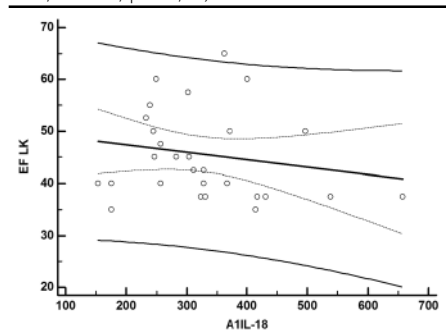
Koncentrace IL-18 byly již při prvním odběru u pacientů s AIM dvojnásobné v porovnání s kontrolou (528,14 pg/ml vs. 257,8 pg/ml) a nejvyšší

Tabulka 2. Přehled jednotlivých naměřených koncentrací parametru PTX3

PTX3(μg/ml)	minimum	maximum	medián	25. percentil	75. percentil
0 PTX3	1,01	11,86	2,69	2,04	4,98
1 PTX3	1,36	12,21	3,36	2,28	5,25
2 PTX3	0,85	10,38	2,69	2,29	3,89

Tabulka 3. Přehled jednotlivých naměřených koncentrací parametru IL-18

IL-18 (pg/ml)	minimum	maximum	medián	25. percentil	75. percentil
0 IL-18	153,8	528,4	309,25	234,48	420,95
1 IL-18	153,8	657,1	311,6	249,4	371,6
2 IL-18	132,4	615,8	311,6	278,1	374,1

Graf 4. Přehledné zobrazení koncentrací IL-18 v průběhu jednotlivých měření**Graf 5.** Asociace IL-18 s GPBB při odběru 0 stanovena metodou regresní analýzy (rovnice $y = 287,5917 + 4,1201 x$, $p < 0,05$)**Graf 6.** Asociace IL-18 se systolickou dysfunkcí LK metodou regresní analýzy (rovnice $y = 50,2438 + -0,01424 x$, $p = 0,34$)

hodnoty byly naměřeny opět při druhém měření (657,1 pg/ml, tabulka 3). V následujícím posledním odběru se koncentrace mírně snižovaly (graf 4).

U IL-18 námi nebyla zjištěna, stejně jako u PTX3, žádná asociace k hšTnT (všechna srovnání byla statisticky nevýznamná, $p > 0,05$). Při porovnávání

hodnot IL-18 k GPBB jsme prokázali jejich nejtěsnější vazbu při prvním odběru (odběr 0), která vykazovala statistickou významnost (rovnice regresní analýzy $y = 287,5917 + 4,1201 x$, $p < 0,05$, graf 5). V případě systolické dysfunkce LK již statisticky významná asociace s hodnotami IL-18 prokázána nebyla v žádném měření (rovnice regresní analýzy $y = 50,2438 + -0,01424 x$, $p = 0,34$, graf 6).

Diskuze a závěr

PTX3 je do oběhu uvolňován z buněk, které jsou součástí aterosklerotických plátů a stejně jako Peri, Salio (6, 7) nebo jiní autoři, tak i naše práce prokázala, že k vzestupu PTX3 dochází v průběhu AIM velmi časně a maximálních hodnot je dosaženo již za 24 hodin od prvního měření (graf 1). Po dosažení peaku hodnoty PTX3 v dalším odběru opět klesají a za 4 až 5 dnů se naměřené koncentrace prakticky blíží vstupním hodnotám.

Peri ve své studii pozoroval, že vzestup PTX3 u pacientů s AIM je časnější než vzestup známého C-reaktivního proteinu a že k vyššímu vyplenění PTX3 dochází také jeho uvolňováním z poškozených, nekrotických myocytů. Předpokládá tak, že by PTX3 mohl být prediktorem ireverzibilního poškození kardiomyocytů (6). Jiné práce prokázaly vzestup hladin PTX3 po implantaci stentů do koronárních cév (14). Ve studii Brugger-Andersena bylo zjištěno, že naměřené vyšší hladiny PTX3 predikují u pacientů vyšší mortalitu (4) a Latini a jeho kolektiv prokázali, že pacienti s výrazně vyšší hladinou PTX3 měli v následujících třech měsících až 3× vyšší mortalitu (15).

Dále byl v naší práci hodnocen možný vztah změn v hladinách koncentrací PTX3 v jednotlivých měřeních ke koncentracím standardního markeru nekrózy hšTnT a dosud méně často používaného markeru nekrózy GPBB. V případě hšTnT nebyla prokázána žádná souvislost, u parametru GPBB byla zjištěna statisticky významná a těsná vazba k PTX3 v odběru provedeném za 24 hodin. Svou dynamikou má tedy PTX3 blíže k markeru GPBB. Nebylo prokázáno, že by hladiny PTX3 korelovaly s poinfarktovou systolickou dysfunkcí LK.

Stejně jako PTX3, tak i IL-18 zasahuje do procesu aterosklerózy a dle řady studií je zvýšeně uvolňován z nestabilních plátů (8, 9). Ve zvýšené míře se tak objevuje právě u pacientů s akutním koronárním syndromem. V porovnání s kontrolní skupinou dochází již při prvním odběru k významnému vzestupu hladin IL-18 (maximální koncentrace v kontrolní skupině 259 pg/ml a maximální koncentrace naměřená při prvním odběru 528 pg/ml). V dalších měřeních zůstávají hodnoty IL-18 téměř stacionární.

Svou dynamikou se IL-18 přibližuje k markeru GPBB, jehož hladiny byly měřeny ve stejných časových intervalech. Nejtěsnější vazba, při které bylo dosaženo statistické významnosti ($p < 0,05$), byla prokázána v průběhu prvního měření. V případě dynamiky hšTnT a IL-18 nebyla prokázána prakticky žádná souvislost. Také při hledání možné asociace parametru IL-18 k možnosti predikovat systolickou dysfunkci LK nebyl zjištěn žádný statisticky významný korelát.

Youssef ve své práci prokázal, že jsou vyšší hladiny IL-18 (nad 560 pg/ml) spojeny s až 33× vyšší mortalitou (16). Také jiné práce potvrdily, že naměřené hladiny IL-18 jsou v destabilizovaných plátech až 3× vyšší (7). Jiní autoři považují IL-18 za prediktivní marker vzniku akutního koronárního syndromu (8).

Tato studie zahrnovala pouze malý počet pacientů, přesto jí bylo potvrzeno, že jsou oba markery, jak IL-18, tak PTX3, zvýšeně uvolňovány do oběhu u pacientů s akutním koronárním syndromem. Můžeme tedy jejich zvýšené hladiny považovat za rizikové faktory progresu aterosklerózy a markery nestabilního aterosklerotického plátu. Ve vztahu k dynamice markerů nekrózy myokardu byla prokázána asociace pouze k GPBB. Touto prací nebylo prokázáno, že by některý z těchto markerů měl význam v predikci poinfarktové systolické dysfunkce LK nebo mortality.

Tato práce vznikla za podpory výzkumného projektu Prvouk P37/03.

Literatura

- Šulc P. Ateroskleróza a její patogenetické mechanismy. Kardiologické fórum, 2006; 4(3).
- Krejsek, J. Ateroskleróza – důsledek dlouhodobé poškozuující zánětlivé reakce. Sanquis, 49/2007: 20.
- Matusik, P. Do we know enough about the immune pathogenesis of acute coronary syndromes to improve clinical practice? Thrombosis and atherosclerosis, 2012; 108: 3.
- Brugger-Andersen T, et al. The long pentraxin 3 (PTX3): a novel prognostic inflammatory marker for mortality in acute chest pain. Thromb Haemost, 2009; 102: 555–563.
- Maugeri M, et al. Early and transient release of leukocyte pentraxin 3 during acute myocardial infarction. The Journal of immunology, 2011; 187: 970–979.
- Peri G, et al. PTX3, a prototypical long pentraxin is an early indicator of acute myocardial infarction in humans. Circulation, 2000; 102: 636–641.

7. Salio M, et al. Cardioprotective function of the long pentraxin PTX3 in acute myocardial infarction. *Circulation*, 2008; 117: 1055–1064.
8. Mallat Z, et al. Expression of Interleukin-18 in human atherosclerotic plaques and relation to plaque instability. *Circulation*, 2001; 104: 1598–1603.
9. Blankenberg S, et al. Interleukin-18 and the risk of coronary heart disease in European men. *Circulation*, 2003; 108: 2453–2459.
10. Yamaoka-Tojo M, et al. C-reactive protein-induced production of interleukin-18 in human endothelial cells: a mechanism of orchestrating cytokine cascade in acute coronary syndrome. *Heart Vessels*, 2003; 18: 183–187.
11. Thompson SR, et al. Free interleukin (IL) -18 levels, and the impact of IL18 and IL18BP genetic variation, in CHD patients and healthy men. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2007; 27: 2743–2749.
12. Hartford M, et al. Interleukin-18 as a predictor of future events in patients with acute coronary syndromes. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2010; 30: 2039–2046.
13. Gao Y, et al. Interleukin-18 levels on admission are associated with mid-term adverse clinical events in patients with ST-segment elevation acute myocardial infarction undergoing percutaneous coronary intervention. *Int Heart. J.*, 2010; 51: 75–81.
14. Kotooka N, et al. Pentraxin 3 is a novel marker for stent-induced inflammation and neointimal thickening. *Atherosclerosis*, 2008; 197(1): 368–374.
15. Latini R, et al. Prognostic significance of the long pentraxin PTX3 in acute myocardial infarction. *Circulation*, 2004; 110: 2349–2354.
16. Youssef AA, et al. Level and value of interleukin-18 in patients with acute myocardial infarction undergoing primary coronary angioplasty. *Circ J*, 2007; 71: 703–708.

Článek přijat redakcí: 22. 4. 2014
Článek přijat k publikaci: 25. 9. 2014

prof. MUDr. Radek Pudil, Ph.D.

I. interní kardiologická klinika
Fakultní nemocnice v Hradci Králové
Sokolská 581, 500 05 Hradec Králové
radek.pudil@fnhk.cz
