

**Univerzita Karlova v Praze**  
**2. lékařská fakulta**

Studijní program: Preventivní medicína



Autor: MUDr. Petr Hájek

Využití komplexu PAPP-A/proMBP v časně diagnostice a prevenci různých typů ischemické choroby srdeční a zdokonalení léčebně preventivní péče o rizikové pacienty a jejich rodiny.

*The use of PAPP-A/proMBP complex in early diagnosis and prevention of coronary artery disease and in the improvement of therapeutic and preventive care of patients and their families in risk.*

Disertační práce

Vedoucí závěrečné práce/Školitel: Doc. MUDr. Milan Macek sr., CSc.

Praha, 2012

**Prohlášení:**

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracoval samostatně a že jsem řádně uvedl a citoval všechny použité prameny a literaturu. Současně prohlašuji, že práce nebyla využita k získání jiného nebo stejného titulu.

Souhlasím s trvalým uložením elektronické verze mé práce v databázi systému meziuniverzitního projektu Theses.cz za účelem soustavné kontroly podobnosti kvalifikačních prací.

V Praze, 28. 11. 2012

MUDr. Petr Hájek

Podpis

Identifikační záznam:

HÁJEK, Petr. *Využití komplexu PAPP-A/proMBP v časně diagnostice a prevenci různých typů ischemické choroby srdeční a zdokonalení léčebně preventivní péče o rizikové pacienty a jejich rodiny. [The use of PAPP-A/proMBP complex in early diagnosis and prevention of coronary artery disease and in the improvement of therapeutic and preventive care of patients and their families in risk].* Praha, 2012. 86 s. Disertační práce (Ph.D.).  
Univerzita Karlova v Praze, 2. lékařská fakulta, Kardiologická klinika. Vedoucí závěrečné práce/Školitel Doc. MUDr. Milan Macek sr., CSc.

Poděkování panu doc. MUDr. Milanu Mackovi Sr., CSc., paní Evě Hansvenclové,  
paní Mgr. Marii Hladíkové, panu prof. MUDr. Milanu Mackovi Jr., DrSc.,  
panu prof. MUDr. Josefu Veselkovi, CSc. a mé rodině za inspiraci, podporu a spolupráci.

## OBSAH

<b>1.</b>	<b>ÚVOD .....</b>	<b>1</b>
1.1.	S pomocí testu ke správné diagnóze nebo správnou diagnózou prověřit spolehlivost testu? .....	1
1.2.	Význam diagnostických testů v akutní kardiologii .....	4
1.3.	<b>Plazmatický protein A spojený s těhotenstvím.....</b>	<b>6</b>
1.3.1.	Patofyziologie PAPP-A.....	6
1.3.2.	PAPP-A jako marker akutního koronárního syndromu.....	9
1.3.3.	PAPP-A jako marker aterosklerózy.....	10
1.3.4.	PAPP-A jako marker prognózy.....	11
1.3.5.	PAPP-A u renálních onemocnění.....	12
1.3.6.	Vztah PAPP-A a dalších markerů .....	12
1.3.7.	Patofyziologický význam zvýšení PAPP-A u akutního koronárního syndromu .....	14
<b>2.</b>	<b>HYPOTÉZA A CÍLE PRÁCE .....</b>	<b>15</b>
<b>3.</b>	<b>SOUBOR PACIENTŮ A METODIKA .....</b>	<b>16</b>
3.1.	Soubor pacientů k ověření systému Kryptor.....	17
3.2.	Soubor pacientů pro určení vlivu katetrizační intervence, periprocedurálních komplikací a konkomitantního podání heparinu na hladinu PAPP-A .....	18
3.3.	Soubor pacientů pro určení nezávislého příspěvku PAPP-A ke stanovení správné diagnózy AKS .....	20
3.4.	Laboratorní analýza .....	23
3.5.	Katetrizace.....	25
3.6.	Statistická analýza .....	25
<b>4.</b>	<b>VÝSLEDKY .....</b>	<b>27</b>
4.1.	<b>Výsledky práce o spolehlivosti metody Kryptor pro stanovení PAPP-A u různých forem ICHS ..27</b>	
4.1.1.	PAPP-A kontrolního souboru.....	27
4.1.2.	PAPP-A pacientů se stabilní ischemickou chorobou srdeční .....	28
4.1.3.	PAPP-A u nemocných s akutním koronárním syndromem.....	29
4.1.4.	Porovnání PAPP-A a troponinu I u pacientů s akutním infarktem myokardu.....	29
4.2.	<b>Výsledky práce o vlivu katetrizační intervence, periprocedurálních komplikací a konkomitantního podání heparinu na hladinu PAPP-A .....</b>	<b>31</b>
4.2.1.	Hladiny PAPP-A u pacientů bez akutního koronárního syndromu před podáním heparinu .....	32
4.2.2.	Vliv heparinu na hladinu PAPP-A u pacientů s AKS-STE před a po PCI .....	32
4.2.3.	Vliv heparinu na hladinu PAPP-A u pacientů bez akutního koronárního syndromu .....	37
4.2.4.	Nemocní s AKS-STE bez normalizace PAPP-A během úvodních 24 hodin po PCI .....	38
4.3.	<b>Výsledky práce o určení nezávislého příspěvku PAPP-A ke stanovení správné diagnózy AKS.....</b>	<b>39</b>
4.3.1.	Kontrolní soubor .....	39
4.3.2.	Akutní koronární syndrom .....	40
4.3.3.	Senzitivita, specifická, pozitivní prediktivní hodnota a negativní prediktivní hodnota PAPP-A pro diagnózu AKS .....	42
4.3.4.	ROC analýza .....	43
4.3.5.	Univariantská a multivariantská analýza diagnostické spolehlivosti PAPP-A .....	46

<b>5.</b>	<b>ZÁVĚRY A DISKUZE .....</b>	<b>48</b>
5.1.	Možnosti systému Kryptor při měření PAPP-A .....	48
5.2.	Vliv katetrizační intervence, periprocedurálních komplikací a konkomitantní farmakoterapie na hladinu PAPP-A .....	50
5.3.	Diskuse k práci zaměřené na určení nezávislého příspěvku PAPP-A ke stanovení správné diagnózy AKS .....	53
<b>6.</b>	<b>NEJDŮLEŽITĚJŠÍ ZÁVĚRY NAŠEHO VÝZKUMU.....</b>	<b>58</b>
<b>7.</b>	<b>SOUHRN .....</b>	<b>59</b>
<b>8.</b>	<b>SUMMARY .....</b>	<b>61</b>
<b>9.</b>	<b>POUŽITÁ LITERATURA .....</b>	<b>63</b>
<b>10.</b>	<b>PŘÍLOHY – PŘEHLED PUBLIKACÍ .....</b>	<b>76</b>
10.1.	Články v zahraničních (impaktovaných) časopisech vztahující se k tématu práce .....	76
10.2.	Články v domácích časopisech vztahující se k tématu práce .....	77
10.3.	Abstrakta ze zahraničních kongresů vztahující se k tématu práce .....	77
10.4.	Přednášky na zahraničních kongresech vztahující se k tématu práce .....	78
10.5.	Abstrakta z domácích kongresů vztahující se k tématu práce.....	79
10.6.	Články v zahraničních (impaktovaných) časopisech nevztahující se k tématu práce .....	80
10.7.	Články v domácích časopisech nevztahující se k tématu práce .....	81
10.8.	Přednášky na zahraničních kongresech nevztahující se k tématu práce .....	81
10.9.	Přednášky na domácích kongresech nevztahující se k tématu práce .....	81
10.10.	Spoluautorství .....	82

## 1. Úvod

Hlavním úkolem klinické epidemiologie je zajištění kvalitních informací a jejich správná interpretace. Věrohodné informace hrají klíčovou úlohu v rozhodovacím procesu každého lékaře. Na začátku tohoto procesu je určení diagnózy. K určení správné diagnózy slouží řada klinických a laboratorních testů či přístrojových vyšetření.

### 1.1. S pomocí testu ke správné diagnóze nebo správnou diagnózou prověřit spolehlivost testu?

Zavádění nové diagnostické metody do praxe a hodnocení jejího významu pro klinické užití naráží na řadu metodologických úskalí. Diagnostický proces začíná u obtíží pacienta či objektivních příznaků onemocnění. Pokračuje logickým sledem diagnostických kroků od anamnézy přes fyzikální vyšetření k náročnějším laboratorním testům a diagnostickým vyšetřením. Výsledky každého testu jsou hodnoceny z hlediska pravděpodobnosti přítomnosti nemoci a následně se buď zahajuje léčba nebo se doplní další, zpravidla náročnější, invazivnější a dražší vyšetření. Stanovení diagnózy je tedy stupňovitý proces kombinující určitý počet diagnostických testů zvyšujících pravděpodobnost správného rozhodnutí. Různé testy však mohou přinášet různou míru stejné informace, neboť se vztahují k identickému onemocnění. Pro klinickou praxi je důležité rozlišit, které testy jsou přebytečné a které naopak přinášejí pravdivou, nezávislou, prediktivní hodnotu k určení nebo vyloučení přítomnosti nemoci.

V odborné literatuře se můžeme setkat se dvěma přístupy hodnocení nového testu (Moons KG et al., 2004). První přístup, pro klinickou praxi méně výhodný, můžeme označit jako „zkoumání testu“. Jde o univariantský přístup, který hodnotí test pomocí senzitivity, specificity, likelihood ratio (LR) a plochy pod ROC křivkou. Výsledkem je určení pravděpodobnosti získání pozitivního výsledku testu, je-li nemoc přítomna (senzitivita) či negativního výsledku testu, je-li nemoc nepřítomna (specificita). Z klinického hlediska je však výhodnější určení pravděpodobnosti přítomnosti či absence nemoci spíše než pravděpodobnosti pozitivního či negativního výsledku testu. Navíc je takový výzkum zaměřen pouze na samotný test a nezohledňuje již známé výsledky anamnézy, fyzikálního vyšetření a dalších testů.

Další příčinou nevýhodnosti takového přístupu je fakt, že senzitivita, specificita, LR a plocha pod ROC křivkou bývají považovány za vlastnosti či charakteristiky testu. Hodnoty senzitivity a specificity však mohou kolísat nejen mezi jednotlivými populacemi pacientů, ale i uvnitř studovaného souboru mezi jednotlivými podskupinami tohoto souboru. Je tomu tak proto, že údaje získané z anamnézy, fyzikálního vyšetření a z dalších dříve provedených testů se v různé míře vztahují ke stejnému onemocnění. Například imobilita, pohlaví či užívání orálních kontraceptiv jsou ve vztahu k rozvoji hluboké žilní trombózy. Naopak, přítomnost hluboké žilní trombózy určuje přítomnost klinických obtíží pacienta a klinických příznaků. Rutinně užívaný test na koncentraci d-dimeru bude mít jinou senzitivitu/specificitu pro pacienty s četnými rizikovými faktory pro rozvoj hluboké žilní trombózy a s plně rozvinutou symptomatologií než u nízkorizikových, oligosymptomatických pacientů. Proto lze říci, že neexistuje jediná hodnota senzitivity/specificity, LR či plochy pod ROC křivkou pro daný test, která by byla platná pro všechny pacienty ve studovaném souboru.



Nejvýznamnější limitací „zkoumání testu“ je výběr studovaného souboru a metoda výzkumu. Do výzkumu jsou často retrospektivně vybráni jedinci, u nichž byla nemoc prokázána nebo vyloučena jinou, obvykle užívanou metodou. Studovaný soubor je tak předem rozdělen na jedince s přítomností a absencí nemoci. Tento přístup s sebou nese riziko selekčního bias. Studovaný soubor by měl být naopak vytvářen ve shodě s klinickou indikací vyšetření v běžné praxi, to znamená na základě podezření z přítomnosti daného onemocnění nikoliv na základě již známé přítomnosti či absence nemoci.

Druhým přístupem, z klinického pohledu správnějším, je zkoumání diagnostického příspěvku nového testu k informacím již dříve získaným v obvyklém sledu typickém pro klinickou praxi (od anamnézy přes fyzikální vyšetření, ekg, atd.). Tyto iniciální informace již samy o sobě mohou vést s jistou mírou pravděpodobnosti k diagnóze. Správně zvolený test by měl k této pravděpodobnosti přidat další hodnotu. Při hodnocení nového testu by měla být dokumentována všechna standardně provedená vyšetření i to, jak přispívají ke stanovení diagnózy. Statistickou analýzou by následně měla být porovnána pravděpodobnost správné diagnózy s novým testem a bez něho event. pomocí multivariantní logistické regrese modelována nejvýhodnější kombinace testů. Taková multivariantní analýza posuzuje vzájemné závislosti mezi jednotlivými testy a určuje, který test významně a nezávisle přispívá ke stanovení správné diagnózy a který nikoliv.

Nejméně ve dvou případech je však i univariantní „zkoumání testu“ oprávněné. Jde jednak o screeningová vyšetření preklinických stádií nemocí, kdy jiná informace než výsledek testu nebývá obvykle k dispozici, a dále v iniciální fázi zavádění zcela nového testu. V takové situaci je ospravedlnitelné použití studie případů a kontrol. Pokud by test dobře neodlišil přítomnost a absenci nemoci v takovém jasně rozlišeném souboru, jistě nelze očekávat větší

úspěšnost testu při použití v homogennější skupině se suspektním onemocněním. Pokud by však test prokázal ve studii případů a kontrol svou úspěšnost, musí následovat druhá fáze hodnotící příspěvek tohoto testu k informacím získaným z anamnézy, fyzikálního vyšetření a dalších testů, jak již bylo uvedeno výše.

## **1.2. Význam diagnostických testů v akutní kardiologii**

Rychlý průkaz či vyloučení diagnózy akutního koronárního (AKS) syndromu jsou klíčové pro optimální načasování dílčích terapeutických kroků, neboť rychlost intervence přímo ovlivňuje prognózu pacienta (Mehta RS et al., 2009; Boersma E. et al., 1996; McNamara RL et al., 2006; Nallamothu B. et al., 2007). Nemocní s podezřením na akutní koronární syndrom tvoří významnou část pacientů akutních ambulancí a náklady na provedení diagnostických procedur (biochemické testy, elektrokardiografické vyšetření, echokardiografie, zátěžové testy, koronární angiografie či computerová tomografie) či náklady na případnou hospitalizaci tvoří nemalou položku v rozpočtech zdravotnických zařízení.

Ve snaze o časný průkaz změn souvisejících s destabilizací aterosklerotického plátu, rozvojem ischemie či následné nekrózy jsou trvale vyvíjeny a klinicky testovány nové biochemické markery. V nedávné době představené metody testování „point of care“ (POC) (Christenson RH, Azzazy HM, 2009) umožňují biochemické testování u lůžka pacienta a tedy předsunout první diagnostické kroky mimo zdravotnické zařízení s laboratorním zázemím.

V souladu s výše uvedenou úvahou o problematice zavádění nových diagnostických testů byly podmínky pro zkoumání diagnostického významu markerů AKS formulovány takto (Dekker MS et al., 2010):

- 1) Výběr souboru - testovanou skupinou by měl být soubor pacientů s podezřením na AKS nikoliv ti, u nichž byla tato diagnóza již stanovena.
- 2) Definice cíle výzkumu - cílem výzkumu je určit možnosti nového markeru prokázat nebo vyloučit přítomnost nemoci. Výsledky výzkumu se proto vztahují k stávajícímu referenčnímu ukazateli neboli tzv. zlatému standardu. Tím jsou v případě AKS mezinárodní či národní standardy kardiologických společností.
- 3) Charakteristika přínosu nového markeru k určení správné diagnózy - prvním krokem k určení klinické využitelnosti nového markeru je určení pravděpodobnosti přítomnosti/absence nemoci při pozitivitě/negativitě diagnostického testu, to znamená určení pozitivní/negativní prediktivní hodnoty v univariantní analýze. Senzitivita (tj. pravděpodobnost pozitivivity testu při přítomném onemocnění) a specificita (tj. pravděpodobnost negativivity testu při absenci onemocnění) jsou veličiny k prediktivním hodnotám úzce vázané, avšak z klinického pohledu méně významné. Dalším krokem je stanovení přínosu testovaného markeru k určení správné diagnózy při zahrnutí běžně dostupných ukazatelů jakými jsou věk, pohlaví, anamnéza, klinická symptomatologie, fyzikální vyšetření či ekg v multivariantní analýze.

### 1.3. Plazmatický protein A spojený s těhotenstvím

Jedním z nových a v diagnostice akutního koronárního syndromu potenciálně využitelných markerů je plazmatický protein A spojený s těhotenstvím (pregnancy-associated plasma protein – A, PAPP-A). Do kardiologické literatury byl uveden v roce 2001 (Bayes-Genis A. et al., 2001) jako nadějný marker akutního koronárního syndromu. PAPP-A je metaloproteináza ovlivňující biologickou dostupnost inzulinu podobnému růstovému faktoru (insulin-like growth factor – IGF). Metaloproteinázy jsou dlouhodobě zkoumány z hlediska jejich možného podílu na destabilizaci aterosklerotického plátu a tím i na rozvoji akutních i chronických forem ischemické choroby srdeční (ICHS).

#### 1.3.1. Patofyziologie PAPP-A

PAPP-A byl poprvé izolován z plazmy těhotných v roce 1974 jako jeden ze čtyř proteinů placentárního původu (Lin TM et al., 1974). Je užíván v prenatalním screeningu Downova syndromu (Wald NJ et al., 1999). Začátkem devadesátých let minulého století se v literatuře objevily zprávy o proteázové aktivitě proti vazebnému proteinu -4 prorůstového faktoru IGF (Conover CA et al., 1993). Lawrence et al. v roce 1999 identifikovali tuto proteázu jako PAPP-A. Expres PAPP-A byla posléze prokázána u fibroblastů, osteoblastů, buněk hladkého cévního svalstva, ovariálních buněk a buněk trofoblastu (Lawrence JB et al., 1999; Conover CA et al., 1999; Bayes-Genis A. et al., 2001).

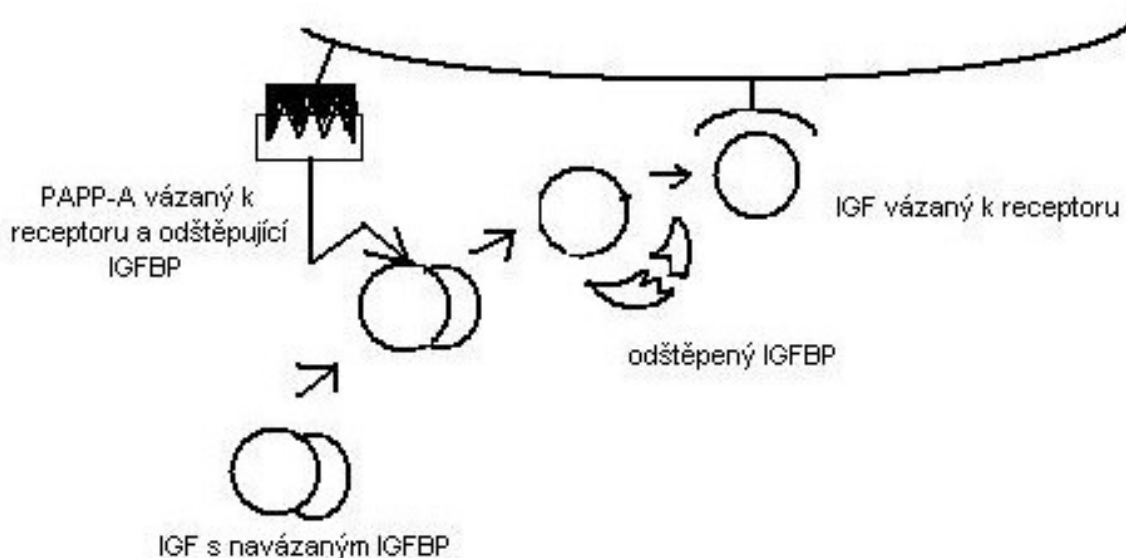
Lidský gen pro PAPP-A je lokalizován na chromozomu 9q33.1 (Silahtaroglu AN et al., 1993). Sekvence aminokyselin PAPP-A vykazuje pozoruhodný konzervatismus, což

svědčí pro zásadní funkční význam PAPP-A mezi savčími druhy. Sekvence aminokyselin lidských a myších či lidských a krysích vykazují 91% shodu (Søe R. et al., 2002).

PAPP-A patří mezi metzincinové metaloproteinázy. Je tvořen pěti doménami. Kromě dvou koncových a jedné střední, dosud neurčené, obsahuje dvě funkčně významné domény. Jednou z nich je proteolytická doména, zodpovědná za schopnost PAPP-A štěpit vazebný protein-4 IGF (IGFBP-4) (Boldt HB et al., 2004), druhou doménou je CCP doména (complement control protein), která zajišťuje funkčně významnou vazbu PAPP-A k buněčnému povrchu (Laursen LS et al., 2002). IGFBP váže IGF s vysokou afinitou a tak zabraňuje interakci IGF s receptorem buňky. PAPP-A odštěpuje IGFBP-4, tím uvolňuje IGF a umožňuje jeho dostupnost buňce (Lawrence JB et al., 1999) – viz obrázek níže. Tato reakce je závislá na přítomnosti IGF (Lawrence JB et al., 1999). Ukázalo se, že PAPP-A je schopen odštěpit také IGF vazebné proteiny 2 a 5 (Monget P. et al., 2003; Rivera GM, Fortune JE, 2003). Enzymaticky aktivní PAPP-A je složen ze dvou identických podjednotek vytvářejících homodimér (~ 400kDa) (Boldt HB et al., 2004).

Exprese genu PAPP-A in vitro je v buňkách hladkého svalstva cév stimulována prozánětlivými cytokiny, zejména tumor necrosis factor (TNF)- $\alpha$  a interleukin (IL)1- $\beta$  a 6 (Conover CA et al., 2006). Tyto cytokiny jsou součástí tkáňové reparační odpovědi na poranění a jsou spojovány s progresí aterosklerotického plátu.

Interakce PAPP-A vs. IGF v blízkosti buněčné stěny (upraveno podle Laursen LS et al., 2002)



In vivo byla zvýšená exprese PAPP-A poprvé popsána u prasečích koronárních arterií po koronární angioplastice s maximem 7-28 dní po intervenci, což naznačuje souvislost s procesem neointimální proliferace odpovídajícím za vznik restenozy (Bayes-Genis A. et al., 2001). Dalším projevem účasti PAPP-A na akutní reparační tkáňové odpovědi při poranění byl průkaz indukce exprese PAPP-A při hojení kožních ran (Chen BK et al., 2003). PAPP-A hraje roli patrně i v chronické fázi reparačních procesů, jak vyplývá z práce prokazující jeho přítomnost v erodovaných a prasklých aterosklerotických plátech lidských arterií (Bayes-Genis A. et al., 2001; Sangiorgi G. et al., 2006).

PAPP-A je v těhotenském séru disulfidickými můstky (2:2) vázán s proeosinofilním major basic proteinem (proMBP) (~500kDa) (Oxvig C. et al., 1993). ProMBP slouží jako fyziologický inhibitor PAPP-A a za měřitelnou aktivitu PAPP-A pravděpodobně odpovídá menší subpopulace jen částečně inhibovaného PAPP-A v komplexu s proMBP v poměru 2:1 (Overgaard MT et al., 2000). Qin et al. (Qin Q-P et al., 2005) porovnávali PAPP-A

u gravidních a u nemocných s akutním koronárním syndromem. Zjistili, že obě molekuly se liší svou velikostí, tedy že PAPP-A u gravidních a nemocných s AKS se liší, a že PAPP-A u AKS není patrně v komplexu s proMBP.

### **1.3.2. PAPP-A jako marker akutního koronárního syndromu**

Bayes-Genis A. et al. prezentovali v roce 2001 (Bayes-Genis A. et al., 2001) první práci zabývající se PAPP-A jako potenciálním markerem akutního koronárního syndromu. V nekrotických vzorcích zemřelých v důsledku náhlé smrti ze srdečních příčin prokázali přítomnost PAPP-A v erodovaných či prasklých plátech identifikovaných jako „culprit“ léze na rozdíl od minimální exprese či absence PAPP-A v plátech stabilních. Dále zjistili významně vyšší hodnoty nemocných s akutním koronárním syndromem na rozdíl od stabilních nemocných a kontrolního souboru.

V dalších letech následovaly práce potvrzující význam PAPP-A v časně diagnostice akutního koronárního syndromu. Lund J. et al. (Lund J. et al., 2006) popsali u nemocných s akutním infarktem myokardu s ST elevacemi (STEMI) časný vrchol hladiny PAPP-A v prvních dvanácti hodinách od vzniku příhody. V roce 2008 publikoval Iversen et al. (Iversen KK et al., 2008) své výsledky poukazující na to, že PAPP-A je v prvních šesti hodinách od vzniku STEMI citlivějším markerem než CK-MB či troponin T. Stejní autoři prezentovali o rok později PAPP-A jako marker ischemie u pacientů s vysoce i nízce rizikovým AKS bez ST elevací. Ve své práci předložili hypotézu, že příčinou elevace PAPP-A v cirkulaci je jeho uvolnění z vulnerabilního plátu (Iversen KK et al., 2009).

Ne všichni autoři se však shodovali v uznání efektivity PAPP-A jako časného markeru akutního koronárního syndromu. Dominguez-Rodriguez et al. (Dominguez-Rodriguez A. et al., 2005) hodnotili koncentrace PAPP-A u nemocných v časné fázi akutního infarktu myokardu 6,3±2,8h od vzniku obtíží. Na souboru 160 nemocných neprokázali rozdíl mezi kontrolní skupinou a nemocnými s akutním infarktem myokardu.

### **1.3.3. PAPP-A jako marker aterosklerózy**

Cosin-Sales J. et al. (Cosin-Sales J. et al., 2004) prokázali u nemocných se stabilní anginou pectoris vyšší hodnoty PAPP-A a vyšší poměr PAPP-A: proMBP u nemocných s vyšším výskytem komplexních lézí a posléze i závislost PAPP-A na rozsahu aterosklerotického postižení (Cosin-Sales J. et al., 2005). Byla popsána asociace zvýšené hladiny PAPP-A a vzniku restenózy po PCI (Li XP et al., 2008).

Zvýšené hladiny PAPP-A byly pozorovány i u pacientů bez projevů koronární nemoci, avšak s přítomnými riziky pro její rozvoj či s jinými projevy aterosklerózy. Tak byly zjištěny vyšší hladiny PAPP-A u hypercholesterolemie (Stulc T. et al., 2003), u diabetiků (Aso Y. et al., 2004) či nemocných s ischemickou chorobou dolních končetin (Mueller T. et al., 2006). Dále byl popsán vztah hladiny PAPP-A a echogenicity aterosklerotických plátů na karotidách (Beaudeau JL et al., 2003).

Hladiny PAPP-A u osob bez známek srdečního onemocnění jsou nízké. To naznačovalo jeho potenciálně vysokou specificitu pro kardiální nemoci (Iversen KK et al., 2008).



### 1.3.4. PAPP-A jako marker prognózy

Lund J. et al. (Lund J. et al., 2003) hodnotili soubor 136 troponin negativních pacientů se vstupní diagnózou podezření na akutní koronární syndrom. Hladina PAPP-A  $> 2,9$  mIU/l byla nezávislým prognostickým ukazatelem rizika vzniku závažných kardiovaskulárních příhod (úmrť, akutní infarkt myokardu, revaskularizace). Heeschen C. et al. (Heeschen C. et al., 2005) prokázal na selektovaném, angiograficky verifikovaném souboru 547 pacientů s akutním koronárním syndromem bez elevací ST segmentu významně častější výskyt kombinovaného ukazatele (úmrť, akutní infarkt myokardu, revaskularizace) během šestiměsíčního sledování u jedinců se vstupním PAPP-A  $> 12,6$  mIU/l ( $p=0,012$ ). Také v neselektovaném souboru (644 pacientů se suspektním akutním koronárním syndromem) byl u nemocných s PAPP-A  $> 12,6$  mIU/l významně vyšší výskyt úmrť/akutní infarkt myokardu již během 30-ti denního sledování. Laterza OF et al. (Laterza OF et al., 2004) porovnávali prognostickou spolehlivost PAPP-A s troponinem T. Zjistili, že PAPP-A je stejně senzitivní, ale méně specifický než troponin T v predikci výskytu úmrť/akutní infarkt myokardu/revaskularizace během 30-ti denního sledování. Iversen KK et al. (Iversen KK et al., 2009) prokázali významnou korelaci mezi výskytem úmrť a reinfarktu během tříletého sledování jak u vysoce rizikových pacientů s akutním infarktem myokardu bez elevací ST segmentu, tak i s akutním infarktem myokardu s elevací ST segmentu. Naopak práce Brüggera-Andersena T. et al. (Brügger-Andersen T. et al., 2008) nezjistila prognostický přínos PAPP-A oproti tradičním markerům.

Měření PAPP-A u pacientů s chronickou stabilní anginou pectoris mělo nezávislou prognostickou hodnotu pro výskyt úmrť a akutního koronárního syndromu během téměř pětiletého sledování (Elesber AA et al., 2006). Také u pacientů s ischemickou chorobou

dolních končetin byla vazba hladiny PAPP-A a prognózy zjištěna, avšak slabá, a proto autoři užití PAPP-A v běžné klinické praxi nedoporučují (Mueller T. et al., 2010).

### **1.3.5. PAPP-A u renálních onemocnění**

V roce 2003 bylo poprvé popsáno zvýšení PAPP-A u pacientů v konečné fázi renálního onemocnění léčených hemodialýzou (Kalousová M. et al., 2003). Hladina PAPP-A u nedialyzovaných pacientů koreluje pozitivně s poklesem renálních funkcí (Fialová L. et al., 2004), snižuje se po renální transplantaci, avšak i po transplantaci zůstává hladina PAPP-A vyšší než u nemocných s chronickým renálním onemocněním se stejnou mírou glomerulární filtrace (Kalousová M. et al., 2007). PAPP byl popsán jako nezávislý prediktor krátkodobé (Etter C. et al., 2010) i dlouhodobé (Kalousová M. et al., 2012) mortality u dialyzovaných pacientů.

### **1.3.6. Vztah PAPP-A a dalších markerů**

C- reaktivní protein (CRP) – důkazy o vztahu PAPP-A a CRP nejsou jednoznačné. Již Bayes-Genis A. et al. (Bayes-Genis A. et al., 2001) ve své původní práci prokázali korelaci hladin PAPP-A a CRP u pacientů s akutním koronárním syndromem a tyto výsledky potvrdili Heeschen C. et al. (Heeschen C. et al., 2005) na souboru 547 pacientů s akutním koronárním syndromem, kdy zejména nemocní s negativním troponinem vykazovali dobrou korelaci PAPP-A a CRP. Naopak Qin Q-P et al. (Qin Q-P et al., 2002) u akutního infarktu myokardu pacientů a Lund J. et al. (Lund J. et al., 2003) u nemocných troponin negativních vztah

PAPP-A a CRP na menších souborech neprokázali. U pacientů se stabilní anginou pectoris dosud vztah PAPP-A a CRP prokázán nebyl (Cosin-Sales J. et al., 2005).

Troponin – také asociace PAPP-A a troponinu není vyřešena. Bayes-Genis A. et al. (Bayes-Genis A. et al., 2001) i Heeschen C. et al. (Heeschen C. et al., 2005) neprokázali korelaci koncentrací PAPP-A a troponinu I. Naproti tomu Qin Q-P et al. (Qin Q-P et al., 2002) zjistili statisticky významnou korelaci PAPP-A s troponinem T, k podobnému výsledku dospěl i Khosravi J. et al. (Khosravi J. et al., 2002).

Byla studována také asociace hladin PAPP-A a dalších markerů. Bayes-Genis A. et al. (Bayes-Genis A. et al., 2001) popsali významný vztah hladin PAPP-A a IGF-I. Heeschen C. et al. (Heeschen C. et al., 2005) nezjistili žádnou korelaci hladin PAPP-A a markeru protizánětlivé aktivity - interleukinu-10 (IL-10) či PAPP-A a markeru ischemie - vascular endothelial growth factor (VEGF), avšak určili slabou asociaci hladin PAPP-A a markeru destičkové aktivace ligandu (sCD-40L). Troponin T negativní jedinci se zvýšením PAPP-A měli horší prognózu než s nízkým PAPP-A a nejhorší prognózu měli nemocní se zvýšením obou markerů. Dále prokázali významnou interakci mezi prediktivní hodnotou PAPP-A a IL-10. Nemocní s hladinou IL-10  $> 3,5$  a PAPP-A  $> 12,6$  mIU/l byli během sledování „chráněni“ před kardiovaskulárními příhodami na rozdíl od jedinců s IL-10  $< 3,5$  ( $p < 0,001$ ). Na základě multivariační analýzy byly v této práci PAPP-A, sCD-40L, IL-10 a VEGF určeny jako nezávislé prediktory úmrtí/akutního infarktu myokardu. Nemocní s negativními PAPP-A, cTnT a sCD-40 byli ve velmi nízkém riziku (3% akutní infarktu myokardu/revaskularizace, 0% úmrtí).

### 1.3.7. Patofyziologický význam zvýšení PAPP-A u akutního koronárního syndromu

Dosud nevyřešenou otázkou také je skutečný patofyziologický podklad a význam zvýšení PAPP-A u akutního koronárního syndromu. V těhotenství jsou hladiny PAPP-A mnohonásobně vyšší, bez průvodního zvýšení výskytu koronárních příhod. Naopak pokles PAPP-A je známkou poruchy intrauterinního růstu plodu a rizika předčasného porodu (Krantz D. et al., 2004). Vzestup PAPP-A provází fyziologický proces hojení ran (Chen BK et al., 2003).

Vzhledem k tomu, že PAPP-A patří mezi metaloproteinázy, předpokládá se jeho destabilizující proteolytické působení na povrch aterosklerotického plátu (Heeschen C. et al., 2005) a zvýšení PAPP-A v cirkulaci je důsledkem jeho uvolnění z plátu (Iversen KK et al., 2009). Jedinou prokázanou biologickou funkcí PAPP-A je regulace dostupnosti IGF pro buňku odštěpením vazebného proteinu IGFBP. Degradace extracelulární matrix, způsobená PAPP-A, dosud prokázána nebyla (Conti E. et al., 2005), některé práce ani neprokazují přítomnost PAPP-A v plátu (Rossen M. et al., 2007).

Podobně protichůdné jsou výsledky prací o významu IGF v procesu vzniku a progresu aterosklerózy. IGF podporuje aterogenní procesy stimulací chemotaxe makrofágů, vychytávání LDL, uvolnění prozánětlivých cytokinů, migrace endoteliálních buněk či neointimální proliferace (Bayes-Genis A. et al., 2000). Experimentálně byl zjištěn vliv deficitu syntézy PAPP-A u myši na významné prodloužení jejich života (Conover CA et al., 2007). Jiní autoři naopak poukazují na potenciální vaskuloprotektivní účinky IGF (Conti E. et al., 2004).

## 2. Hypotéza a cíle práce

Fakt, že máme k dispozici stanovení metaloproteinázy na komerčně užívaném, dostupném a v prenatální diagnostice ověřeném přístroji, nás stimuloval k vytvoření souboru pacientů ke zkoumání významu tohoto markeru v časně diagnostice AKS. Vycházeli jsme z předpokladu, že děje, na jejichž průběhu se podílí PAPP-A, provázejí destabilizaci aterosklerotického plátu a tedy období před vznikem infarktu myokardu. Pokud by se naše předpoklady potvrdily, měli bychom k dispozici časný marker AKS, jehož stanovení by urychlilo volbu správného terapeutického postupu nebo naopak diagnózu AKS spolehlivě vyloučilo.

Nejdříve bylo nutné určit, zda přístroj užívaný v prenatální diagnostice, kde koncentrace PAPP-A dosahují o několik řádů vyšších koncentrací, lze využít i u nemocných s různými projevy ICHS, zejména u pacientů s AKS. Dalším úkolem bylo posoudit, zda konkomitantní medikace, průběh koronární intervence či periprocedurální komplikace ovlivňují hladiny PAPP-A. Posledním úkolem, který jsme si stanovili, bylo zhodnotit, zda vůbec a do jaké míry přináší PAPP-A novou informaci k poznatkům obvykle dostupným u každého pacienta s podezřením na AKS (anamnéza, fyzikální vyšetření, ekg a hladina troponinu).

V bodech lze shrnout cíle našeho výzkumu takto:

- 1) Ověřit systém Kryptor pro stanovení PAPP-A u různých forem ICHS.
- 2) Studovat vliv katetrizační intervence, periprocedurálních komplikací a konkomitantní farmakoterapie na hladinu PAPP-A.
- 3) Určit nezávislý příspěvek PAPP-A ke stanovení správné diagnózy AKS.

### 3. Soubor pacientů a metodika

Etická komise FN Motol schválila provádění výzkumu a všichni pacienti podepsali informovaný souhlas před provedením koronární angiografie.

Do studie byli zařazeni konsektivní pacienti přijatí k invazivnímu srdečnímu vyšetření. Vyřazovacími kritérii byly pokročilé ledvinové, jaterní nebo srdeční selhání, těhotenství, známé zánětlivé a/nebo nádorové onemocnění a anamnéza většího chirurgického výkonu nebo traumatu v posledním měsíci před přijetím.

Diagnóza při přijetí - Akutní koronární syndrom s elevacemi ST (AKS-STE) byl definován jako protrahovaná bolest na hrudi (delší než 20 minut) a elevace ST na EKG ( $>1\text{mm}$  v končetinových svodech I, II, III, AVL a AVF nebo  $>2\text{mm}$  ve dvou a více sousedících hrudních svodech V1-6). Akutní koronární syndrom bez elevací ST (AKS-NSTE) byl definován jako protrahovaná bolest na hrudi s ischemickými změnami na EKG (ST deprese  $>1\text{mm}$  a/nebo negativita vlny T  $>1\text{mm}$  ve dvou sousedících svodech). Pokud nebyly zjištěny typické změny na EKG či pozitivita troponinu při sériových odběrech, byla diagnóza AKS stanovena na základě nálezu významné stenózy věnčité tepny ( $\geq 50\%$  redukce průměru tepny) s komplexní morfologií.

Konečná diagnóza - akutní infarkt myokardu s elevacemi ST (STEMI) byl definován jako protrahovaná bolest na hrudi (delší než 20 minut), ST elevace na EKG ( $> 1\text{ mm}$  v končetinových svodech I, II, III, AVL a AVF nebo  $> 2\text{ mm}$  ve dvou a více sousedících hrudních svodech V1-6) a zvýšenou hladinu troponinu I nad referenční úroveň pro diagnózu infarkt myokardu. Akutní infarkt myokardu bez elevací ST (NSTEMI) byl definován jako

protrahovaná bolest na hrudi s ischemickými změnami na EKG (ST deprese > 1 mm a/nebo negativity vlny T > 1 mm ve dvou sousedících svodech) a zvýšenou hladinou troponinu I. Nestabilní angina pectoris (NAP) byla definována jako protrahovaná bolest na hrudi s ischemickými změnami na EKG (ST deprese >1 mm a/nebo negativity vlny T > 1 mm ve dvou sousedících svodech) nebo bez nich, s normální hladinou troponinu I (TnI) a s nálezem významné stenózy věnčité tepny ( $\geq 50\%$  redukce průměru tepny) s komplexní morfologií.

Nemocní se stabilní ischemickou chorobou srdeční (ICHS) měli námahovou anginu pectoris a/nebo pozitivní zátěžový test a angiograficky prokázanou významnou koronární aterosklerózu (alespoň jedna věnčitá tepna s redukcí průměru tepny  $\geq 50\%$ ) bez epizody klidové bolesti na hrudi v období jednoho týdne před koronární angiografií.

### **3.1. Soubor pacientů k ověření systému Kryptor**

Komerčně dostupný systém Kryptor™ (Brahms, Německá spolková republika) se rutinně užívá v prenatalní diagnostice, kde však koncentrace PAPP-A dosahují o několik řádů vyšších hodnot. K ověření možnosti stanovit PAPP-A u nemocných s aterosklerózou jsme vytvořili v letech 2001 - 2002 soubor 232 pacientů s různými formami ischemické choroby srdeční a 51 kontrol. Ve skupině s AKS byl PAPP-A vyšetřen u 122 pacientů [66 pacientů se STEMI (průměrný věk $\pm$ SD byl 62 $\pm$ 10 let), 35 pacientů s NSTEMI (67 $\pm$ 10) a 21 pacientů s NAP (66 $\pm$ 12)]. Získané výsledky byly porovnány s 51 pacientem (59 $\pm$ 9 let) s podezřením na ICHS, avšak s normální koronární angiografií nebo jen s minimálními okrajovými nerovnostmi na koronárním angiogramu, a se 110 pacienty se stabilní ICHS (64 $\pm$ 9 let). Průměrný čas $\pm$ SD od poslední ischemické epizody do odběru byl u STEMI 4 $\pm$ 3,3

hodiny (1-12 hodin), u NSTEMI  $9,1 \pm 2,1$  hodin (1-24 hodin) a u NAP  $15,5 \pm 9,5$  hodin (3-24 hodin). Věk, pohlaví, výška, váha, krevní tlak, kardiovaskulární rizikové faktory (arteriální hypertenze, diabetes mellitus, kouření, anamnéza ICHS, hyperlipoproteinémie) a farmakoterapie jsou uvedeny v tabulce 1.

### **3.2. Soubor pacientů pro určení vlivu katetrizační intervence, periprocedurálních komplikací a konkomitantního podání heparinu na hladinu PAPP-A**

Klinická data byla získána od třiceti náhodně vybraných pacientů s AKS-STE přijatých na naši kliniku v období mezi 18. lednem a 9. srpnem 2007. Práce byla založena na exaktním určení doby vzniku bolestí na hrudi, podání heparinu během transportu, před či v průběhu PCI, délky PCI a odběrů PAPP-A před, bezprostředně po PCI a za 1, 2, 4, 6, 12, 24 a 48 hodin po PCI.

Nefrakcionovaný heparin (UFH) byl podán během transportu do nemocnice u 29/30 pacientů (96,7 %). Vzhledem k neuspokojivé hladině antikoagulační léčby byl podán u 22/30 pacientů heparin ve druhé dávce (AKS-STE+aUFH), u 8/30 nebylo nutno dodatečný heparin před intervencí nebo během intervence podávat (AKS-STE+UFH). Účinnost antikoagulační léčby byla monitorována pomocí ACT (Activated Clotting Time). Frakcionovaný heparin byl podán po vytažení zavaděče 12/30 pacientům (40%). Medián času od vzniku obtíží do prvního odběru byl 192 minut (75 – 525 minut).



Tabulka 1. Klinická charakteristika studovaného souboru

		Kontrolní soubor (N = 51)	sICHs (N = 110)	NAP (N = 21)	NSTEMI (N = 35)	STEMI (N = 66)
<b>Průměrný věk (roky; rozsah)</b>	<b>Muži</b>	55 (38-68)	63 (42-87)	65 (42-82)	65 (45-82)	59 (41-82)
	<b>Ženy</b>	61 (44-76)	65 (48-77)	68 (46-82)	69 (49-86)	70 (48-83)
<b>Pohlaví – n (%)</b>	<b>Muži</b>	17 (33,3)	81(73,6)	13(61,9)	24(68,6)	51(77,3)
	<b>Ženy</b>	34(66,7)	29(26,4)	8(39,1)	11(31,4)	15(22,7)
<b>Rizikové faktory - n (%)</b>	<b>Arteriální hypertenze</b>	25 (49)	69 (62,7)	17 (81) *‡	23 (65,7)	24 (38,1) †
	<b>Nikotinismus</b>	15 (29,4)	28 (25,5)	2 (9,5) ‡	14 (40)	35 (54,7)*
	<b>Hyperlipoproteinemie</b>	23 (45,1)	72 (65,5) *§	7 (33,3)	10 (28,6)	12 (18,8)*
	<b>Diabetes mellitus</b>	9 (17,6)	35 (31,8)	8 (38,1)	14 (40)*	8 (12,5) †
<b>Terapie – n (%)</b>	<b>Kys. Acetylosalicylová</b>	34 (68)	92 (84,4)*§	13 (65)‡	15 (46,9)†	14 (21,5)*
	<b>Betablokátory</b>	24 (48)	81 (74,3)*§	9 (45)‡	14 (43,8)†	12 (18,5)*
	<b>ACE inhibitory</b>	22 (44)	59 (54,1)§	8 (40)‡	8 (25)	10 (15,4)*
	<b>Nitráty</b>	22 (44)	66 (60,6)*§	9 (45)‡	9 (28,1)	9 (13,8)*
	<b>Statiny</b>	10 (20)	49 (45)*§	5 (25)	3 (9,4)	6 (9,2)
	<b>Ca- blokátory</b>	12 (24)	18 (16,5)	3 (15)	4 (12,5)	6 (9,2)
<b>Závěr koronární angiografie – n (%)</b>	<b>Nemoc jedné tepny</b>	0	40 (36,7)	6 (28,6)	8 (28,6)	26 (40,6)
	<b>Nemoc dvou tepen</b>	0	25 (22,9)	5 (23,8)	4 (14,3)	21 (32,6)
	<b>Nemoc tří tepen</b>	0	44 (40,4)	10 (47,6)	16 (57,1)	17 (26,6)

Legenda:

\* p<0,05 – srovnání s kontrolním souborem; † p< 0,05 - srovnání NSTEMI versus STEMI; ‡ p<0,05 - srovnání NAP versus STEMI; || p<0,05 – srovnání sICHs versus NSTEMI; § p<0,05 – srovnání sICHs versus STEMI; **sICHs** – stabilní ischemická choroba srdeční; **NAP** – nestabilní angína pectoris; **STEMI** – akutní infarkt myokardu s elevací ST; **NSTEMI** – akutní infarkt myokardu bez elevací ST.

K určení vztahu UFH a PCI či koronární angiografie byly stanoveny tři kontrolní skupiny (tabulka 2a a 2b):

- a) 10 pacientů s chronickou ICHS, jimž byla provedena plánovaná PCI, (ElektivníPCI+UFH);
- b) 12 pacientů, kterým byla provedena koronární angiografie a současně podán UFH (radiální přístup či intrakoronární ultrazvuk; ANG+UFH);
- c) 5 pacientů bez angiografických známek aterosklerózy, kterým byla provedena koronární angiografie femorálním přístupem bez podání heparinu (ANG-UFH).

Odběry PAPP-A v kontrolních skupinách byly prováděny ve stejných časových intervalech jako ve skupině AKS-STE, avšak pouze během prvních 24 hodin.

Křivky popisující časový průběh koncentrací PAPP-A byly odvozeny z mediánů, délky výkonu a z časových intervalů od konce provedené procedury. K přesnému určení normálních koncentrací PAPP-A byly použity vzorky pacientů bez angiografických známek koronární aterosklerózy z naší předešlé práce.

### **3.3. Soubor pacientů pro určení nezávislého příspěvku PAPP-A ke stanovení správné diagnózy AKS**

Od února 2010 do června 2011 bylo na Kardiologické klinice FN Motol vyšetřeno 826 pacientů s bolestmi na hrudi a s podezřením na akutní koronární syndrom. Z těchto pacientů bylo do studijního souboru zařazeno 67 nemocných, neboť jim odběr krve byl proveden před podáním heparinu. Odběr krve byl proveden na Oddělení urgentního příjmu FN Motol, v akutní ambulanci Kardiologické kliniky nebo v akutní ambulanci nemocnice

Kladno, odkud byli nemocní transportováni k akutní koronární angiografii do FN Motol.

Medián času od vzniku obtíží do odběru krve byl 6 hodin (v rozmezí 0,25 – 83 hodin).

Tabulka 2a. Charakteristika souboru k práci o vlivu katetrizační intervence, periprocedurálních komplikací a konkomitantního podání heparinu na hladinu PAPP-A.

		AKS- STE+UFH (N=8)	AKS- STE+aUFH (N=22)	Elektivní PCI+UFH (N=10)	ANG+UFH (N=12)	ANG-UFH (N=5)	p
<b>Věk</b>	<b>Průměr ± SD</b>	71,5 ± 11,8	56,3 ± 12,3	64,7 ± 2,4	64,7 ± 8,3	53,7 ± 6,2	*
	<b>Rozsah</b>	45,6-85,5	34,1-77,6	61,6-69,5	54,9-84,7	42,8-61,0	
<b>Pohlaví n (%)</b>	<b>Muži</b>	3 (37,5)	17 (77,3)	7 (70)	6 (50)	2 (40)	ns
	<b>Ženy</b>	5 (62,5)	5 (22,7)	3 (30)	6 (50)	3 (60)	ns
<b>Rizikové faktory n (%)</b>	<b>Art.hypertenze</b>	3 (37,5)	10 (45,5)	10 (100)	11 (92)	1 (20)	*
	<b>Kouření</b>	2 (25)	16 (72,7)	2 (20)	1 (8)	1 (20)	*
	<b>Hyperlipo- proteinemie</b>	1 (12,5)	9 (40,9)	8 (80)	9 (75)	5 (100)	*
	<b>Diabetes mellitus</b>	1 (12,5)	4 (18,2)	4 (40)	2 (17)	1 (20)	ns
	<b>- dieta</b>	1 (12,5)	2 (9,1)	1 (10)	1 (8)	1 (20)	ns
	<b>- PAD</b>	0 (0)	2 (9,1)	2 (20)	1 (8)	0 (0)	ns
	<b>- inzulin</b>	0 (0)	0 (0)	1 (10)	0 (0)	0 (0)	ns
	<b>BMI průměr±SD</b>	26,9 ± 2,9	29,8 ± 4,9	28,3 ± 3,6	26,5 ± 3,8	27,0 ± 3,8	ns
	<b>Anamnéza IM</b>	0 (0)	1 (4,5)	1 (10)	0 (0)	0 (0)	ns
	<b>Anamnéza CMP</b>	3 (37,5)	1 (4,5)	0 (0)	1 (8)	0 (0)	ns
<b>Anamnéza revaskularizace</b>	1 (12,5)	1 (4,5)	5 (50)	5 (42)	0 (0)	*	
<b>Léčba n (%)</b>	<b>Kys.acetylosalic</b>	2 (25)	2 (9,1)	8 (80)	5(42)	1 (20)	*
	<b>Betablokátory</b>	3 (37,5)	2 (9,1)	6 (60)	7 (58)	2 (40)	*
	<b>ACE inhibitory</b>	1 (12,5)	6 (27,3)	9 (90)	8 (67)	0 (0)	*
	<b>Nitráty</b>	0 (0)	0 (0)	3 (30)	3 (25)	1 (20)	*
	<b>Statiny</b>	0 (0)	1 (4,5)	7 (70)	7 (58)	3 (60)	*
	<b>Ca blokátory</b>	0 (0)	1 (4,5)	1 (10)	1 (8)	0 (0)	ns
	<b>Clopidogrel</b>	0 (0)	9 (40,9)	4 (40)	3 (25)	0 (0)	ns
<b>Ejekční frakce LK (%)</b>	43,9	48,1	50,8	55,6	66,3	*	

Legenda:

**AKS-STE+aUFH** – skupina s nutností podání heparinu ve druhé dávce vzhledem k neuspokojivé antikoagulační hladině před intervencí;

**AKS-STE+UFH** – skupina bez nutnosti dodatečné dávky heparinu před intervencí nebo během intervence;

**ElektivníPCI+UFH** – skupina s chronickou ICHS, heparin podán před plánovanou PCI;

**ANG+UFH** - skupina pacientů, kterým byla provedena koronární angiografie a současně podán UFH (radiální přístup či intrakoronární ultrazvuk);

**ANG-UFH** - koronární angiografie femorálním přístupem bez podání heparinu u pacientů bez angiografických známek aterosklerózy; \* - p<0,05; ns - non significant.

Tabulka 2b. Charakteristika souboru k práci o vlivu katetrizační intervence, periprocedurálních komplikací a konkomitantního podání heparinu na hladinu PAPP-A (pokračování)

	AKS- STE+UFH (N=8)	AKS- STE+aUFH (N=22)	Elektivní PCI+UFH (N=10)	ANG+UFH (N=12)	ANG-UFH (N=5)	p
<b>Průměrný počet tepen se zúžením &gt; 50%</b>	1,6	1,6	1,1	0,0	0,0	ns
<b>Intervenovaná tepna:</b>						
<b>RIA (%)</b>	5 (62,5)	10 (45,5)	4 (40)	0	0	
<b>RCx (%)</b>	0	3 (13,6)	2 (20)	0	0	
<b>ACD (%)</b>	3 (27,5)	9 (40,9)	4 (40)	0	0	
<b>PAPP-A před PCI/angio (mIU/l)</b>	<b>Průměr±SD</b> 65,3 ± 26,3	<b>Průměr±SD</b> 30,2 ± 22,7	<b>Průměr±SD</b> 7,8 ± 2,5	<b>Průměr±SD</b> 8,5 ± 2,3	<b>Průměr±SD</b> 8,1 ± 1,6	
	<b>Medián</b> 59,3	<b>Medián</b> 19,0	<b>Medián</b> 7,6 <sup>x</sup>	<b>Medián</b> 8,3 <sup>x</sup>	<b>Medián</b> 8,2 <sup>x</sup>	
	<b>Rozsah</b> 34,3-123,1	<b>Rozsah</b> 6,8-85,2	<b>Rozsah</b> 4,0-12,4	<b>Rozsah</b> 4,9-14,2	<b>Rozsah</b> 5,6-10	
<b>Heparin před hospitalizací (IU)</b>	<b>N pacientů (%)</b> 8 (100)	<b>N pacientů (%)</b> 21 (95,4)	<b>N pacientů (%)</b> 0 (0)	<b>N pacientů (%)</b> 0 (0)	<b>N pacientů (%)</b> 0 (0)	
	<b>Průměr±SD</b> 7125 ± 2315	<b>Průměr±SD</b> 6405 ± 2505	<b>Průměr±SD</b> 0 ± 0	<b>Průměr±SD</b> 0 ± 0	<b>Průměr±SD</b> 0 ± 0	
	<b>Medián</b> 6000	<b>Medián</b> 5000	<b>Medián</b> 0	<b>Medián</b> 0	<b>Medián</b> 0	
	<b>Rozsah</b> 5000-10000	<b>Rozsah</b> 5000-10000	<b>Rozsah</b> 0-0	<b>Rozsah</b> 0-0	<b>Rozsah</b> 0-0	
<b>Heparin na začátku PCI (IU)</b>	<b>N pacientů (%)</b> 0 (0)	<b>N pacientů (%)</b> 22 (100)	<b>N pacientů (%)</b> 10 (100)	<b>N pacientů (%)</b> 12 (100)	<b>N pacientů (%)</b> 0 (0)	
	<b>Průměr±SD</b> 0 ± 0	<b>Průměr±SD</b> 7273 ± 2562	<b>Průměr±SD</b> 9100 ± 1114	<b>Průměr±SD</b> 6167 ± 1760	<b>Průměr±SD</b> 0 ± 0	
	<b>Medián</b> 0	<b>Medián</b> 6000	<b>Medián</b> 10000	<b>Medián</b> 6000	<b>Medián</b> 0	
	<b>Rozsah</b> 0-0	<b>Rozsah</b> 3000-10000	<b>Rozsah</b> 7500-10000	<b>Rozsah</b> 3000-10000	<b>Rozsah</b> 0-0	

Legenda:

**AKS-STE+aUFH** – skupina s nutností podání heparinu ve druhé dávce vzhledem k neuspokojivé antikoagulační hladině před intervencí;

**AKS-STE+UFH** – skupina bez nutnosti dodatečné dávky heparinu před intervencí nebo během intervence;

**ElektivníPCI+UFH** – skupina s chronickou ICHS, heparin podán před plánovanou PCI;

**ANG+UFH** - skupina pacientů, kterým byla provedena koronární angiografie a současně podán UFH (radiální přístup či intrakoronární ultrazvuk);

**ANG-UFH** - koronární angiografie femorálním přístupem bez podání heparinu u pacientů bez angiografických známek aterosklerózy;

ns - non significant; x – hodnoty PAPP-A nebyly ovlivněny podáním heparinu.

Po vstupním vyšetření (anamnéza, fyzikální vyšetření, EKG, odběry krve) a stanovení pracovní diagnózy všichni nemocní podstoupili koronární angiografii a dle výsledku byla indikována revaskularizace (38 PCI vs. 7 CABG). Konečná diagnóza byla určena na základě výsledků klinického, laboratorního a invazivního vyšetření.

Charakteristika studovaného souboru je uvedena v tabulce 3. Skupina, kde byl akutní koronární syndrom určen jako příčina bolestí na hrudi, byla složena z 18 pacientů s elevacemi ST (AKS-STE) na vstupním EKG a z 27 pacientů bez elevací ST (AKS-NSTE). Všichni nemocní s iniciálními elevacemi ST měli posléze zvýšenou hladinu troponinu I, a proto jejich konečnou diagnózou byl akutní infarkt myokardu s elevacemi ST (STEMI). Mezi nemocnými bez elevací ST bylo shledáno troponin pozitivních 11, jejich konečnou diagnózou byl akutní infarkt myokardu bez elevací ST, 16 pacientů zůstalo troponin negativních, jejich konečnou diagnózou pak byla nestabilní angina pectoris. Diagnóza AKS byla vyloučena, pokud v sériových náběrech nebyla prokázána pozitivita troponinu a při koronární angiografii nebyly zjištěny známky signifikantní komplexní léze.

Nemocní, přijati pro bolest na hrudi, u nichž však nebyl AKS prokázán, byli zařazeni do kontrolní skupiny. Tento soubor byl složen z 11 troponin negativních pacientů bez angiografických známek koronární aterosklerózy a z 11 troponin negativních pacientů s anamnézou koronární nemoci, avšak bez průkazu signifikantní či komplexní léze na koronárním angiogramu.

### **3.4. Laboratorní analýza**

Krevní vzorky byly odebrány venepunkcí při přijetí pacienta nebo během koronární angiografie. V práci zaměřené na nezávislý příspěvek PAPP-A k diagnóze AKS byl kladen důraz na absenci podání heparinu před odběrem. Všechny vzorky byly analyzovány laborantem, který neznal pracovní ani konečnou diagnózu.

Tabulka 3. Charakteristika souboru pro určení nezávislého příspěvku PAPP-A ke stanovení správné diagnózy AKS

		AKS (N=45) (AKS-STE n=18, AKS-NSTE- n=27)	Non-AKS (N=22)	p
<b>Věk</b>	<b>Průměr ± SD</b>	64,9 ± 12,6	61,3 ± 12,1	ns
	<b>Rozsah</b>	34,9-87,2	38,1-80,2	
<b>Pohlaví - n (%)</b>	<b>Muž</b>	32 (71,1)	8 (36,4)	*
	<b>Žena</b>	13 (28,9)	14 (63,7)	*
<b>BMI průměr ± SD</b>		27,6 ± 3,2	32,3 ± 6,2	*
<b>Anamnéza - n (%)</b>	<b>Arteriální hypertenze</b>	26 (57,8)	14 (63,4)	ns
	<b>Kouření</b>	19 (42,2)	4 (18,2)	ns
	<b>Hyperlipoproteinémie</b>	12 (26,7)	7 (31,8)	ns
	<b>Diabetes mellitus</b>	5 (11,1)	8 (36,4)	*
	- dieta	2 (4,4)	1 (4,6)	ns
	- PAD	1 (2,2)	5 (22,7)	*
	- inzulín	2 (4,4)	2 (9,1)	ns
	<b>Infarkt myokardu</b>	12 (26,7)	3 (13,6)	ns
<b>Laboratorní výsledky</b>	<b>Hs-CRP (mg/l)</b>	8,1 ± 19,4	2,6 ± 3,0	ns
	<b>Celkový cholesterol (mmol/l; mg/dl)</b>	5,0 ± 1,0; 193,3 ± 38,7	5,1 ± 1,0; 197,2 ± 38,7	ns
	<b>HDL-cholesterol (mmol/l; mg/dl)</b>	1,2 ± 0,6; 46,4 ± 23,2	1,1 ± 0,4; 42,5 ± 15,5	ns
	<b>LDL-cholesterol (mmol/l; mg/dl)</b>	3,0 ± 1,1; 116,0 ± 42,5	3,0 ± 0,8; 116,0 ± 30,9	ns
	<b>Kreatinin (μmol/l)</b>	83,7 ± 26,1	75,2 ± 21,7	ns
<b>Medikace - n (%)</b>	<b>Aspirin</b>	16 (35,6)	9 (40,9)	ns
	<b>Betablokátory</b>	13 (28,9)	9 (40,9)	ns
	<b>ACE inhibitory/Sartany</b>	16 (35,6)	13 (59,1)	ns
	<b>Statiny</b>	12 (26,7)	7 (31,8)	ns
	<b>Blokátory kalciových kanálů</b>	8 (17,8)	7 (31,8)	ns
	<b>Clopidogrel/Ticlopidin</b>	3 (6,7)	1 (4,6)	ns
	<b>Interval od vzniku bolestí do odběru - hodin</b>	6,0 (0,75-82,75)	6,5 (0,25-20,0)	ns
	<b>Normální EKG - n (%)</b>	12 (26,7)	12 (54,6)	*
	<b>Ejekční frakce levé komory srdeční (%) průměr ± SD</b>	50,2 ± 9,5	60,5 ± 7,8	*
	<b>Nemoc jedné/dvou/tří tepen - n (%)</b>	20/9/16 (44/20/36)	0/0/0 (0/0/0)	
	<b>Intervenovaná léze</b>			
	RIA - n (%)	29 (64,4)	0 (0,0)	
	RCx - n (%)	14 (31,1)	0 (0,0)	
	ACD - n (%)	14 (31,1)	0 (0,0)	
	LMCA - n (%)	2 (4,4)	0 (0,0)	
<b>PCI/CABG - n (%)</b>		38/7 (84,4/15,6)	0/0	
<b>PAPP-A při přijetí (mIU/l)</b>	<b>Průměr ± SD</b>	9,01 ± 2,9	7,13 ± 1,7	*
	<b>Medián</b>	8,6	7,3	
	<b>Rozsah</b>	4,4-20,1	4,15-11,2	
<b>Troponin I při přijetí (μg/ml)</b>	<b>Průměr ± SD</b>	3,7 ± 9,7	0,02 ± 0,02	*
	<b>Medián</b>	0,08	0,01	
	<b>Rozsah</b>	0,01-50,0	0,01-0,1	

Legenda:

N – počet studovaných pacientů; n - počet studovaných pacientů v podskupinách;

AKS – skupina pacientů s akutním koronárním syndromem; AKS-STE – podskupina akutní koronární syndrom s elevacemi ST; AKS-NSTE – podskupina akutní koronární syndrom bez elevací ST; non-AKS – skupina nemocných bez potvrzeného AKS;

PAPP-A – plazmatický protein A spojený s těhotenstvím; TnI – troponin I;

\* - p<0,05; ns - non significant.

Analýza PAPP-A byla provedena systémem Kryptor™ (Brahms, Germany) založeném na principu časově rozlišené zesílené fluorescence, který měří celkový PAPP-A, volný PAPP-A či v komplexu s pro-formou hlavního bazického proteinu eozinofilů (major basic protein – MBP). Variační koeficient testu byl 7,5%.

Troponin I byl vyšetřen kitem Immulite Turbo Troponin I (DPC, USA) s nejnižší měřitelnou koncentrací 0,5 µg/l a od r. 2007 systémem ARCHITECT STAT Troponin-I (Abbott, USA), jehož hranice pro určení diagnózy infarkt myokardu byla 0,3 µg/l.

### **3.5. Katetrizace**

Angiografie byla provedena u všech pacientů k určení přítomnosti a rozsahu koronární aterosklerózy. Významná koronární ateroskleróza byla definována jako přítomnost jedné nebo více stenóz s nejméně 50% redukcí průměru epikardiální tepny. Komplexní morfologie léze byla definována jako: (1) nepravidelný tvar léze nebo vroubkované okraje; (2) převislé nebo ostré ohraničení léze kolmé ke stěně tepny; (3) ulcerace; (4) přítomnost defektů náplně odpovídající intrakoronárnímu trombu (Ambrose JA et al., 1985).

### **3.6. Statistická analýza**

Kontinuální proměnné byly vyjádřeny jako průměr±SD, medián, minimum/maximum, diskrétní proměnné jako počet a procenta. Vzhledem k non-gaussovskému rozložení PAPP-A byly užity neparametrické testy. Kruskal-Wallisův test byl použit k porovnání mezi skupinami. Při zamítnutí nulové hypotézy byly dvojice skupin porovnávány Mann-Whitney

testem. Bonferroniho korekce statistické významnosti byla použita v případech vícečetného srovnání mezi skupinami. Chí kvadrát nebo Fischerův test byly použity k porovnání výskytu rizikových faktorů mezi skupinami. Spearmannova korelace byla užita ke zhodnocení vztahu PAPP-A a věk, PAPP-A a TnI, PAPP-A a ACT. McNemarův test byl použit k porovnání frekvence zvýšených hodnot TnI a PAPP-A.

Receiver operating characteristic (ROC) křivky (Swets JA, 1988) byly použity k hodnocení diagnostické přesnosti PAPP-A u pacientů s AKS pomocí plochy pod ROC křivkou (AUC).  $AUC > 0,9$  charakterizuje nejvyšší diagnostickou přesnost, 0,65-0,69 určuje dobrou diagnostickou spolehlivost, 0,5-0,65 svědčí pro nízkou diagnostickou přesnost testu. Porovnání AUC bylo provedeno pomocí překryvu intervalu spolehlivosti a pomocí metody DeLonga ER (DeLong ER et al., 1988). Z ROC analýzy byla dále odvozena hladina PAPP-A s nejvyšší senzitivitou a specificitou (BSS) pro diagnózu AKS. Percentily byly určeny metodou váženého průměru. Post-hoc párové srovnání rychlosti normalizace PAPP-A v jednotlivých skupinách bylo provedeno pomocí metody pro nevyvážené skupiny uvedené v Statistische Verfahren für Psychologen (Lose H. et al., 1982).

V práci zaměřené na diagnostickou spolehlivost PAPP-A u AKS bez podání heparinu bylo zhodnoceno univariantsní odds ratio positivity PAPP-A pro diagnózu AKS. Ke zhodnocení závislosti rizikových faktorů aterosklerózy a positivity PAPP-A byla provedena binární logistická regrese se závislými veličinami AKS-Kontroly. Příspěvek PAPP-A positivity ke všem ostatním rizikovým faktorům byl testován Likelihood ratio testem.

Ke statistickému zpracování byly užity SPSS software pro Windows (Release 17.0., 19.0) a Medcalc 11.6.1.0.



## 4. Výsledky

### 4.1. Výsledky práce o spolehlivosti metody Kryptor pro stanovení PAPP-A u různých forem ICHS

Klinická charakteristika souboru a vzájemné srovnání mezi skupinami je uvedeno v tabulce 1.

#### 4.1.1. PAPP-A kontrolního souboru

Hladina koncentrací PAPP-A u kontrolního souboru je uvedena v tabulce 4.

Tabulka 4. Koncentrace PAPP-A u kontrolního souboru a různých typů ICHS

		Kontrolní soubor (N=51)	sICHS (N = 110)	NAP (N=21)	NSTEMI (N=35)	STEMI (N=66)
PAPP-A (mIU/l)	<b>Průměr±SD</b>	7,28±3,57	7,91±3,61	19,73±19,78	21,13±24,71	30,3±30,11
	<b>Medián</b>	7,5	8,1	11,4	14,3	17,75
	<b>Rozsah</b>	0-14,2	0-16,4	0-68,3	0-123	0-146,8
	<b>P1</b>		0,14	0,004	<0,0005	<0,0005
	<b>P2</b>			0,011*	<0,0005	<0,0005
	<b>P3</b>				0,5	0,045*
	<b>P4</b>					0,08

Legenda:

**P1** – srovnání sICHS, NAP, NSTEMI, STEMI vs. kontrolní soubor;

**P2** – srovnání NAP, NSTEMI, STEMI vs. sICHS;

**P3** – srovnání NSTEMI, STEMI vs. NAP;

**P4** – srovnání STEMI vs. NSTEMI;

\* na základě Bonferroniho korekce byla při srovnání deseti skupin určena hladina významnosti  $\alpha < 0,005$ ;

**sICHS** – stabilní ischemická choroba srdeční; **NAP** – nestabilní angina pectoris, **STEMI** – akutní infarkt myokardu s elevacemi ST; **NSTEMI** – akutní infarkt myokardu bez elevací ST.

Neprokázali jsme závislost PAPP-A na pohlaví ( $p=0,11$ ) ani na věku ( $p=0,5$ ). Nejnižší měřitelná koncentrace PAPP-A byla 3,4 mIU/l. Neměřitelná hladina PAPP-A byla zjištěna u 5/51 pacientů (9,8%). Hladiny 75.-95. percentilu jsou uvedeny v tabulce 5.

Tabulka 5. Percentilové rozložení PAPP-A u kontrolního souboru a různých typů ICHS. Senzitivita PAPP-A pro diagnózu akutního koronárního syndromu.

		75.percentil	senzitivita	90.percentil	senzitivita	95.percentil	senzitivita
PAPP-A (mIU/l)	<b>Kontrolní soubor</b>	9.6		12.32		13.84	
	<b>sICHS</b>	10		12.3		13.6	
	<b>NAP</b>	27.4	0.57	60.38	0.43	67.86	0.38
	<b>NSTEMI</b>	20.75	0.71	45.15	0.62	102.37	0.59
	<b>STEMI</b>	45.05	0.77	61.95	0.72	102.4	0.66

Legenda:

**sICHS** – stabilní ischemická choroba srdeční; **NAP** – nestabilní angina pectoris; **NSTEMI** – akutní infarkt myokardu bez elevací ST; **STEMI** – akutní infarkt myokardu s elevacemi ST.

U jednoho pacienta z kontrolního souboru (1/51) byla zjištěna koncentrace PAPP-A 38,5 mIU/l. Šlo o nemocnou po hysterektomii z onkologické indikace, která měla současně zvýšenou hladinu hs-CRP. U 9/51 kontrolních pacientů byla zjištěna hladina PAPP-A v rozmezí 10-14 mIU/l. U pěti z nich byly zjištěny anamnéza recentní bronchopneumonie, gastrointestinálního krvácení, ulcerózní kolitidy a exacerbace chronické obstrukční plicní nemoci.

#### 4.1.2. PAPP-A pacientů se stabilní ischemickou chorobou srdeční

Průměrná hodnota PAPP-A ( $7,91 \pm 3,61$  mIU/l) se nelišila od koncentrace kontrolního souboru ( $p=0,14$ ) – tabulka 4. Neprokázali jsme závislost na pohlaví ( $p=0,35$ ) či věku ( $p=0,98$ ). Hladina PAPP-A byla vyšší u mužů, pouze pokud byla skupina nemocných se stabilní ICHS sloučena s kontrolním souborem ( $8,19 \pm 3,42$  vs.  $6,96 \pm 3,76$  mIU/l;  $p=0,034$ ). Neměřitelnou koncentraci PAPP-A jsme našli u 11/110 pacientů (10%). Nejistili jsme

významný rozdíl v hladině PAPP-A mezi pacienty s postižením jedné, dvou nebo tří věnčitých tepen ( $p=0,9$ ).

#### **4.1.3. PAPP-A u nemocných s akutním koronárním syndromem**

Koncentrace PAPP-A u NAP, NSTEMI, STEMI byly významně zvýšeny v porovnání s kontrolním souborem – tabulka 4. Koncentrace PAPP-A u NSTEMI a STEMI byly významně vyšší než u nemocných s ICHS. Neprokázali jsme významný rozdíl mezi koncentracemi PAPP-A u NAP, NSTEMI a STEMI. U 4/122 (3,3%) AKS pacientů jsme zjistili neměřitelné hladiny PAPP-A. Neprokázali jsme rozdíl v počtu postižených tepen při porovnání skupin s koronární aterosklerózou.

ROC analýza ukázala dobrou diagnostickou spolehlivost PAPP-A pro odlišení AKS od kontrolního souboru (tabulka 6). Koncentrace PAPP-A s nejvyšší senzitivitou a specificitou pro diagnózu AKS se pohybovala v rozmezí 10,65-14,75 mIU/l).

#### **4.1.4. Porovnání PAPP-A a troponinu I u pacientů s akutním infarktem myokardu**

Průměrná koncentrace TnI u pacientů se STEMI byla  $6,58 \pm 18,2$   $\mu\text{g/l}$  v době odběru PAPP-A, maximální koncentrace TnI byla  $146 \pm 163$   $\mu\text{g/l}$ . Průměrná koncentrace TnI u pacientů s NSTEMI byla  $5,8 \pm 8,9$   $\mu\text{g/l}$  v době odběru PAPP-A, maximální koncentrace TnI byla  $27,9 \pm 35,4$   $\mu\text{g/l}$ . Neprokázali jsme korelaci mezi hladinami PAPP-A a TnI ani u STEMI pacientů ( $r=0,038$ ;  $p=0,79$ ) ani u všech pacientů s akutním infarktem myokardu ( $r=0,07$ ;  $p=0,47$  pro první odběr TnI,  $r=0,1$ ;  $p=0,26$  pro maximální hladinu TnI).

Analýza pozitivit TnI (> 0,5 µg/l) a PAPP-A (> 75., 90. a 95. percentil) ukázala významně častější pozitivitu prvního odběru PAPP-A než TnI (tabulka 7). Koncentrace PAPP-A z prvního odběru byla časněji zvýšena u 20/34 (58,8%) troponin negativních STEMI pacientů. Neprokázali jsme významnou prevalenci pozitivit PAPP-A či TnI u pacientů s NSTEMI.

Tabulka 6. ROC křivky PAPP-A pro diagnostiku akutního koronárního syndromu

	AUC	Std. Error	95% CI	BSS (mIU/l)
<b>STEMI (cTnI+, cTnI0) vs. C</b>	0.865	0.034	0.798-0.932	12.05
<b>STEMI (cTnI+, cTnI0) vs. C+sICHS</b>	0.849	0.034	0.782-0.816	12.05
<b>STEMI (cTnI+) vs. C</b>	0.919	0.036	0.849-0.989	12.30
<b>STEMI (cTnI0) vs. C</b>	0.812	0.052	0.711-0.914	14.75
<b>NSTEMI (cTnI+, cTnI0) vs. C</b>	0.803	0.054	0.696-0.909	14.25
<b>NSTEMI (cTnI+) vs. C</b>	0.828	0.063	0.704-0.952	12.35
<b>NSTEMI (cTnI0) vs. C</b>	0.755	0.092	0.574-0.936	14.25
<b>STEMI+NSTEMI (cTnI+, cTnI0) vs. C</b>	0.843	0.031	0.782-0.805	14.25
<b>STEMI+NSTEMI (cTnI+, cTnI0) vs. NAP</b>	0.613	0.071	0.474-0.752	12.75
<b>NAP vs. C</b>	0.718	0.072	0.577-0.860	10.65
<b>NAP+STEMI+NSTEMI vs. C</b>	0.821	0.031	0.760-0.883	14.25
<b>STEMI (cTnI+, cTnI0) vs. sICHS</b>	0.841	0.036	0.771-0.912	12.00
<b>NSTEMI (cTnI+, cTnI0) vs. sICHS</b>	0.775	0.056	0.664-0.885	13.5
<b>NAP vs. sICHS</b>	0.675	0.076	0.525-0.825	11.15

Legenda:

AUC – plocha pod ROC křivkou (area under the curve); BSS – hladina PAPP-A s nejvyšší senzitivitou a specificitou (BSS) pro diagnózu AKS; cTnI+ – Troponin I >0,5µg/l; cTnI0 – Troponin I <0,5µg/l; C – kontrolní soubor pacientů s normální koronární angiografií nebo jen s minimálními okrajovými nerovnostmi na koronárním angiogramu; sICHS – stabilní ischemická choroba srdeční; C+sICHS – kontrolní soubor pacientů sloučený s pacienty s stabilní ICHS; NAP – nestabilní angina pectoris; STEMI – akutní infarkt myokardu s elevacemi ST; NSTEMI – akutní infarkt myokardu bez ST elevací.

Tabulka 7. Porovnání Troponinu I a PAPP-A u pacientů s akutním infarktem myokardu s elevacemi ST

	PAPP-A (mIU/l)					
	>75. percentil (>9,6 mIU/l)		>90. percentil (>12,3 mIU/l)		>95. percentil (>13,84 mIU/l)	
	<75.percentil	>75.percentil	<90.percentil	>90.percentil	<95.percentil	>95.percentil
<b>Troponin I Negativita (&lt;0,5 µg/l)</b>	11 (17,46%)	23 (36,51%)	14 (22,22%)	20 (31,75%)	14 (22,22%)	20 (31,75%)
<b>Troponin I Positivita (&gt;0,5 µg/l)</b>	4 (6,35%)	25 (39,68%)	4 (6,35%)	25 (39,68%)	8 (12,70%)	21 (33,33%)
<b>p</b>	0,0003		0,002		0,036	

Legenda:

% – z celkového počtu 63 pacientů;

p – porovnání PAPP-A nebo TnI pozitivních pacientů.

#### 4.2. Výsledky práce o vlivu katetrizační intervence, periprocedurálních komplikací a konkomitantního podání heparinu na hladinu PAPP-A

Nemocným léčeným přímou PCI byla úspěšně zprůchodněna infarktová tepna v 29/30 případech (96,6%). Medián délky trvání intervence byl 35 minut (10-85 minut). Koronární stent byl do infarktové tepny uložen v 29/30 případech (průměrně 1,27 stentu na pacienta). Nebyl použit žádný lékový stent. Žádný průtok infarktovou tepnou (TIMI 0/1) byl na začátku výkonu zjištěn u 22 pacientů (73,3%). Léčba inhibitory receptoru IIb/IIIa byla použita u pěti pacientů (16,7%). Dva pacienti byli defibrilováni pro komorovou fibrilaci před přijetím, jeden během intervence. V jednom případě byl pozorován vznik „no-reflow“ fenoménu, u dvou pacientů distální embolizace nebo okluze boční větve. Jeden AKS-STE pacient zemřel 45. den po infarktu v důsledku plicní embolizace.

#### **4.2.1. Hladiny PAPP-A u pacientů bez akutního koronárního syndromu před podáním heparinu**

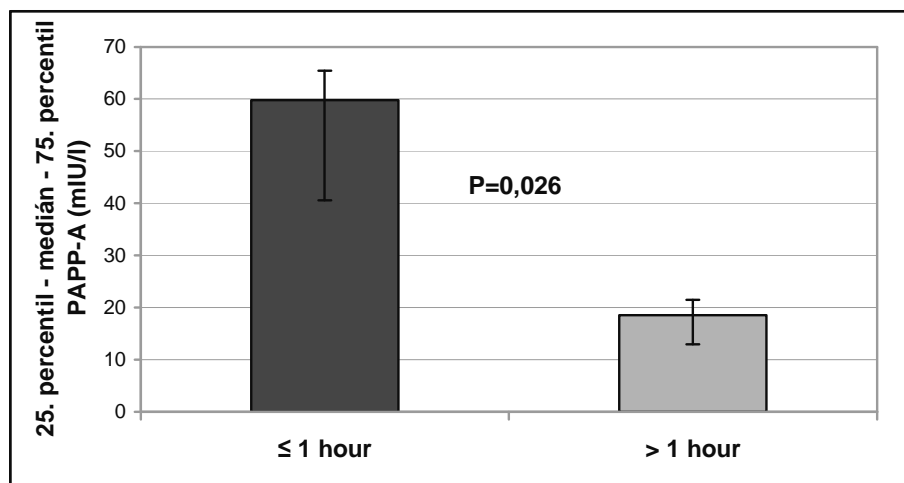
Mediány hladin PAPP-A kontrolního souboru pacientů bez angiografických známek koronární aterosklerózy pozorované v naší současné práci (40 pacientů) a kontrolního souboru z let 2001-2007 (96 pacientů) byly 6,8 mIU/l (mezikvartilový rozsah – IQR=5,6-7,9 mIU/l) a 6,5 mIU/l, bez statistického rozdílu mezi skupinami ( $p=0,39$ ). 95. percentil hladin PAPP-A obou souborů byl 9,3 a 9,7 mIU/l. Na základě těchto výsledků byla určena mezní hodnota PAPP-A 10,0 mIU/l. Mediány hladin PAPP-A ve skupině s plánovanou PCI před podáním heparinu (7,6 mIU/l; IQR=5,8-9,6 mIU/l) a ve skupině s plánovanou koronární angiografií radiálním přístupem/intrakoronární ultrazvuk byly pod úroveň 95. percentilu (tabulka 2a a 2b).

#### **4.2.2. Vliv heparinu na hladinu PAPP-A u pacientů s AKS-STE před a po PCI**

Zvýšené hladiny PAPP-A před přímou PCI byly u heparinizovaných pacientů nalezeny u 28/29 pacientů (tabulka 2b). Medián doby od podání heparinu do přijetí/doby odběru byl 90 minut (15-220 minut). U jednoho heparinizovaného pacienta (BMI=27; 5000 IU) byla hladina PAPP-A při přijetí menší než 10 mIU/l. U jednoho pacienta, kterému nebyl heparin podán, byl zjištěn PAPP-A větší než 10 mIU/l za 120 minut od vzniku bolesti na hrudi.

Na obrázku 1 je znázorněn inverzní vztah doby od podání heparinu a zvýšení hladiny PAPP-A při přijetí. Obrázek dále ukazuje, že clearance hladin PAPP-A před přijetím byla nejvyšší během první hodiny po podání heparinu (40 mIU/l/hod). Během druhé hodiny došlo k poklesu clearance PAPP-A na 10 mIU/l/hod.

Obrázek 1. Vliv délky intervalu od prvního podání heparinu do přijetí na hladinu PAPP-A u pacientů s AKS-STE



Legenda:

≤ 1 hour – PAPP-A pacientů přijatých do 1 hodiny po podání heparinu;

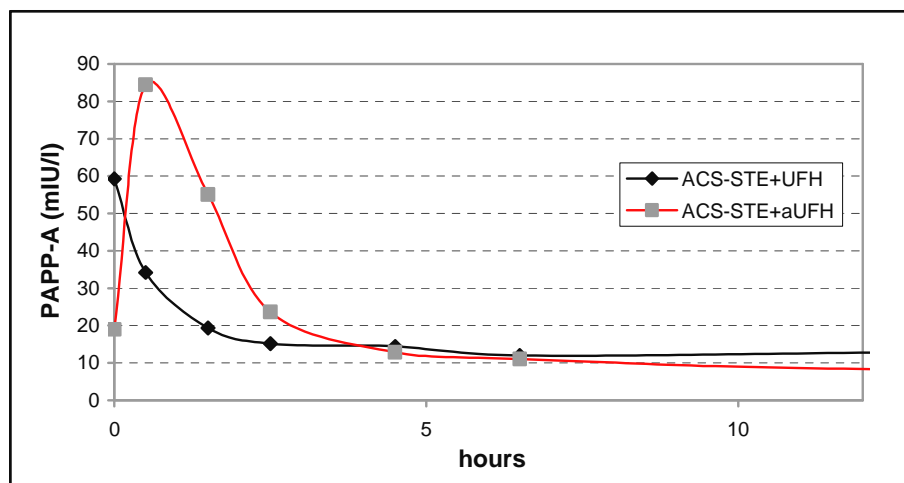
> 1 hour – PAPP-A pacientů přijatých za více než 1 hodinu po podání heparinu.

Hladiny PAPP-A při přijetí AKS-STE pacientů, kterým byl vzhledem k neuspokojivé hladině ACT dodatečně aplikován heparin před intervencí nebo během intervence, byly významně nižší než hladiny PAPP-A u pacientů s uspokojivou mírou antikoagulační léčby při přijetí [medián 19,0 (IQR 14,7-30,0) mIU/l vs. 59,3 (IQR 34,9-66,5) mIU/l;  $p=0,002$ ; obrázek 2 a tabulka 2b].

Rychlý a významný vzestup hladiny PAPP-A po dodatečném podání heparinu u AKS-STE pacientů byl následován rychlým poklesem během 4 hodin a pozvolnou normalizací pod 10 mIU/l do 12. hodiny od prvního odběru (obrázek 2).

Obrázek 3 ukazuje významnou závislost hladiny PAPP-A na ACT ( $r=0,78$ ;  $p=0,0001$ ). Tato závislost potvrzuje vliv podání heparinu na hladinu PAPP-A, neboť hodnota ACT je indikátorem míry antikoagulační léčby heparinem.

Obrázek 2. Vývoj hladin PAPP-A u pacientů s AKS-STE s dodatečným podání heparinu a bez něho

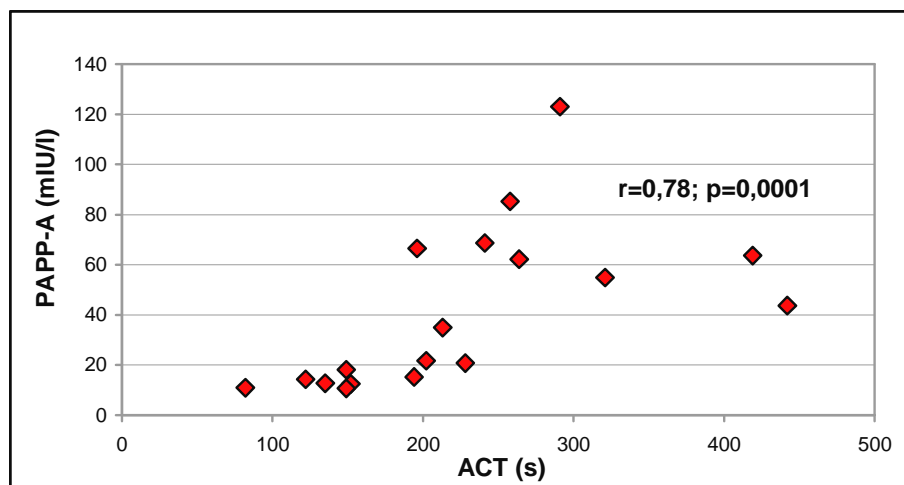


Legenda:

**ACS-STE+aUFH** - vzhledem k neuspokojivé hladině antikoagulační léčby byl u 22/30 pacientů podán heparin ve druhé dávce;

**ACS-STE+UFH** – u 8/30 pacientů nebylo nutno dodatečný heparin před intervencí nebo během intervence podávat.

Obrázek 3. Závislost PAPP-A na míře antikoagulační léčby



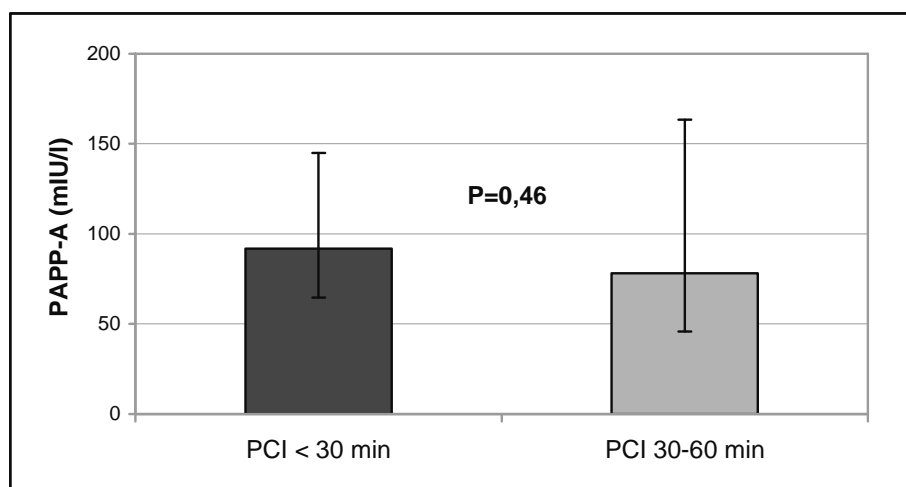
Legenda:

**ACT** – activated clotting time.



Délka PCI odrážející technickou náročnost výkonu či přítomnost periprocedurálních komplikací neovlivnila hladinu PAPP-A. Hladiny PAPP-A u PCI trvajících méně/více než 30 minut byly 91,7 vs. 77,9 mIU/l ( $p=0,63$ ) - obrázek 4.

Obrázek 4. Vztah délky PCI a hladiny PAPP-A



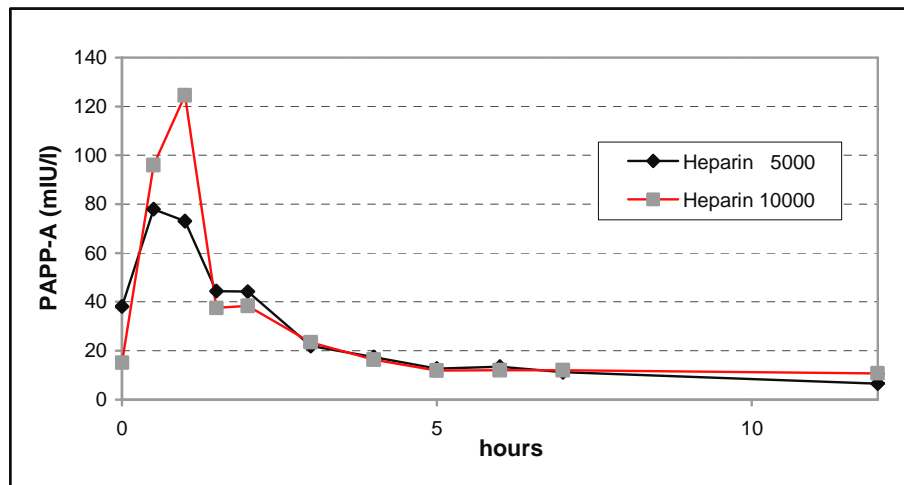
Legenda:

**PCI < 30 min / PCI 30-60 min** – PAPP-A pacientů s délkou PCI do 30minut / 30-60 minut.

Zvýšení hladin PAPP-A bylo závislé na dávce podaného heparinu (obrázky 3 a 5).

Nemocní s nižším ACT měli nižší hladinu PAPP-A před výkonem, dodatečná aplikace vyšší dávky heparinu 10.000 IU vedla jednak k vyšší maximální hladině PAPP-A než dávka 5.000 IU a také k vyšší hladině PAPP-A na konci intervence. Také aplikace nízkomolekulárního heparinu u části pacientů po PCI vedla ke zvýšení PAPP-A ve srovnání se skupinou, které nebyl nízkomolekulární heparin podán [11,7 (IQR 10,1-17,1) mIU/l vs. 9,1 (IQR 7,6-11,1) mIU/l;  $p=0,005$ ] - obrázek 5.

Obrázek 5. Vliv dávky heparinu na hladinu PAPP-A u pacientů s AKS-STE

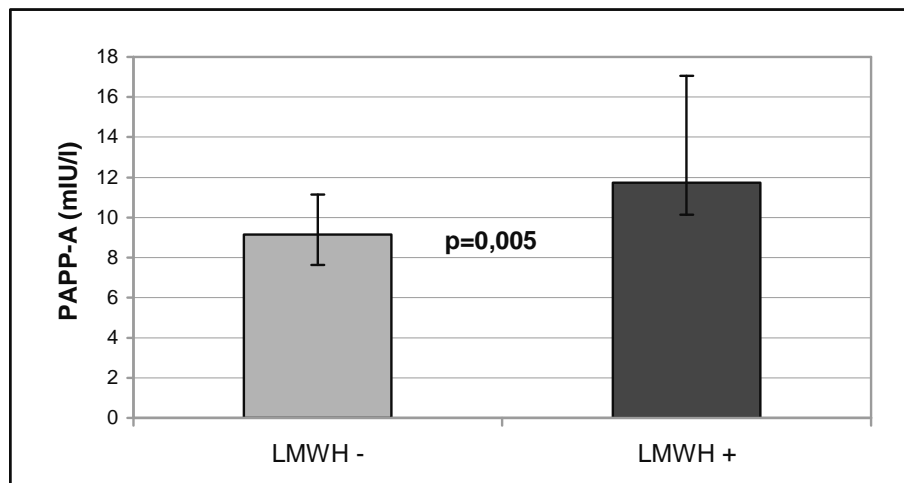


Legenda:

**Heparin 5000** – PAPP-A pacientů, kteří dostali dávku 5000 mIU heparinu před PCI;

**Heparin 10000** – PAPP-A pacientů, kteří dostali dávku 10000 mIU heparinu před PCI.

Obrázek 6. Vliv nízkomolekulárního heparinu na hladinu PAPP-A



Legenda:

**LMWH -** – tj. nízkomolekulární heparin nepodán;

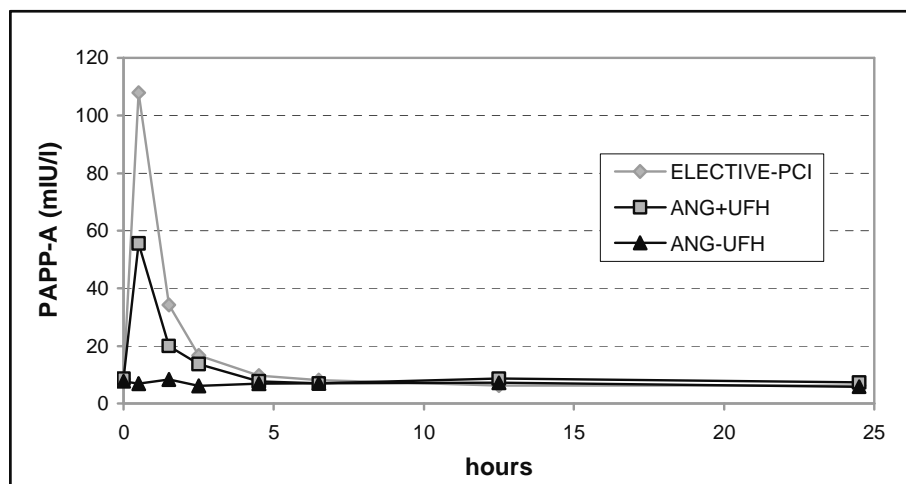
**LMWH +** – tj. nízkomolekulární heparin podán během pobytu na koronární jednotce.

#### 4.2.3. Vliv heparinu na hladinu PAPP-A u pacientů bez akutního koronárního syndromu

Aplikace heparinu u pacientů před plánovanou PCI nebo koronární angiografií vedla k významnému vzestupu hladin PAPP-A podobně jako ve skupině nemocných s AKS.

Maximální hladina PAPP-A byla prokázána 20 minut po začátku výkonu. Hladina PAPP-A u nemocných, jimž nebyl podán heparin, zůstala během sledování nezměněna pod mezní úrovní (10,0 mIU/l) – obrázek 7 a obrázek 8.

Obrázek 7. Vývoj hladin PAPP-A u pacientů bez AKS-STE



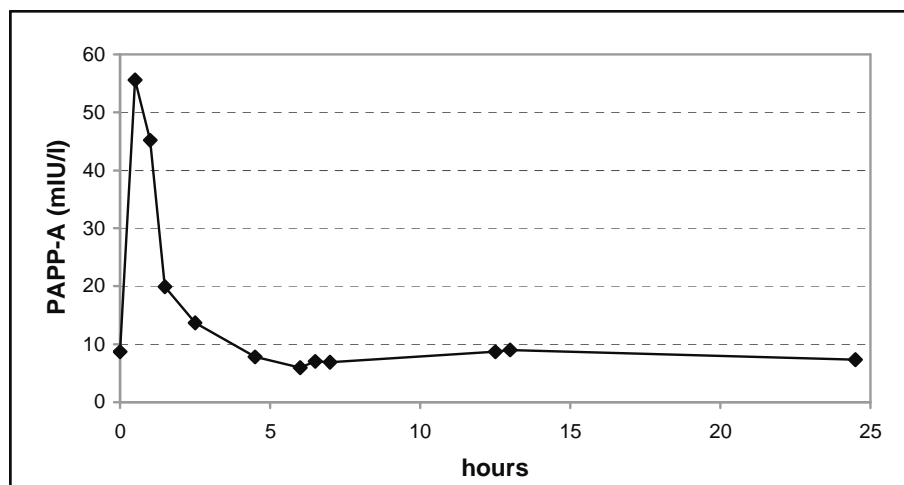
Legenda:

**ELECTIVE-PCI** - vývoj hladin PAPP-A pacientů se stabilní ischemickou chorobou srdeční, u nichž byl během plánované PCI podán heparin ve standardní dávce;

**ANG+UFH** - koronární angiografie s podáním nefrakcionovaného heparinu;

**ANG-UFH** - koronární angiografie bez podání nefrakcionovaného heparinu.

Obrázek 8. – Vývoj hladin PAPP-A v závislosti na podání heparinu u pacientů bez angiografických známek koronární aterosklerózy



Dynamika změn hladin PAPP-A u pacientů s plánovanou PCI a s koronární angiografií s průvodní aplikací heparinu byla obdobná změnám hladin PAPP-A pacientů s AKS-STE a s dodatečnou aplikací heparinu. Na druhé straně normalizace hladin PAPP-A byla v obou skupinách rychlejší než u pacientů s AKS-STE (tabulka 8). Medián intervalu do normalizace hladin PAPP-A byl 12 hodin ve skupině AKS-STE (nemocní, jimž byl po vytažení zavaděče aplikován nízkomolekulární heparin, byli z tohoto srovnání eliminováni), zatímco u heparinizovaných pacientů s elektivní PCI či koronární angiografií byl čas normalizace 4,3 a 5,5 hodin ( $p < 0,05$ ).

#### 4.2.4. Nemocní s AKS-STE bez normalizace PAPP-A během úvodních 24 hodin po PCI

U 7/30 pacientů s AKS-STE přetrvávaly hladiny PAPP-A vyšší než 10,0 mIU/l déle než 24 hodin. U 2/7 pacientů byl zjištěn velký hematom v oblasti vpichu. U jednoho pacienta

byla nalezena významná difúzní nemoc všech věnčitých tepen, jednomu se nepodařilo otevřít infarktovou tepnu. U 3/7 pacientů probíhala hospitalizace bez komplikací.

Tabulka 8. Porovnání doby normalizace PAPP-A mezi skupinami, u nichž byl podán heparin

	n/N	TR (hodin)	Statistické srovnání		
ACS-STE+UFH + ACS-STE+aUFH	24/30	12 (4-48)	x	x	
Elektivní PCI+UFH	9*/10	4,3 (2-12)	x		x
ANG+UFH	10*/12	5,4 (4-6,3)		x	x
<b>p</b>			<0,05	<0,05	ns

Legenda:

**N** – celkový počet pacientů ve skupině; **n** – počet pacientů s poklesem PAPP-A pod 10 mIU/l;

**TR** – čas k poklesu PAPP-A k hodnotám < 10 mIU/l; \* - pacienti s kompletními odběry během 24 hodin;

**ACS-STE+UFH** - skupina pacientů s ACS-STE, u nichž nebylo nutno dodatečný heparin před intervencí nebo během intervence podávat;

**ACS-STE+aUFH** - skupina pacientů s ACS-STE s dodatečným podáním heparinu ve druhé dávce;

**Elektivní PCI+UFH** – skupina pacientů se stabilní ischemickou chorobou srdeční, u nichž byla provedena plánovaná PCI;

**ANG+UFH** – skupina pacientů s koronární angiografií s podáním nefrakcionovaného heparinu;

**x** – porovnávané skupiny; **ns** – non significant.

### 4.3. Výsledky práce o určení nezávislého příspěvku PAPP-A ke stanovení správné diagnózy AKS

#### 4.3.1. Kontrolní soubor

Charakteristika studovaného souboru je uvedena v tabulce 3. Mediány hladin PAPP-A pacientů s normálním nebo téměř normálním angiogramem se nelišily od hladin pacientů se známou koronární nemocí (7,7 vs. 7,1 mIU/l; p=0,9). Proto byly tyto obě skupiny bez prokázání AKS sloučeny do kontrolní skupiny (non-AKS) – tabulka 9.

Tabulka 9. Hladiny PAPP-A a TnI u kontrolního souboru

	Dg	Průměr	SD	Medián	Min	Max	n	p
<b>PAPP-A</b>	<b>Normal skg</b>	7,04	1,53	7,71	4,15	8,83	11	0,9
	<b>sICHS</b>	7,23	1,93	7,06	4,40	11,2	11	
<b>TnI</b>	<b>Normal skg</b>	0,020	0,03	0,01	0,01	0,1	9	0,8
	<b>sICHS</b>	0,013	0,01	0,01	0,01	0,02	11	

Legenda:

**normal skg** - nemocní přijati pro bolest na hrudi, troponin negativní, bez angiografických známek koronární aterosklerózy;

**sICHS** - nemocní přijati pro bolest na hrudi, troponin negativní, s anamnézou ischemické choroby srdeční, avšak bez průkazu signifikantní či komplexní léze na recentním koronárním angiogramu;

**PAPP-A** – plazmatický protein A spojený s těhotenstvím; **TnI** – troponin I.

#### 4.3.2. Akutní koronární syndrom

Mediány hladin PAPP-A a TnI u pacientů s prokázaným AKS (tabulka 10) byly významně vyšší než ve skupině non-AKS (PAPP-A 8,6 vs. 7,3 mIU/l,  $p=0,006$ ; TnI 0,08 vs. 0,01  $\mu\text{g/l}$ ;  $p<0,0001$ ). Podobně mediány hladin PAPP-A ve skupinách STEMI a AKS-NSTE byly významně vyšší než ve skupině non-AKS (8,27 vs. 7,3 mIU/l;  $p=0,05$  a 9,3 vs. 7,3 mIU/l;  $p=0,007$ ) - tabulka 10 a 11.

Porovnání jednotlivých podskupin AKS s kontrolním souborem a porovnání podskupin AKS mezi sebou jsou uvedena v tabulce 11. Nenalezli jsme žádný rozdíl v hladinách PAPP-A mezi jednotlivými podskupinami AKS (STEMI vs. NSTEMI vs. NAP). Nenalezli jsme významný rozdíl uvnitř skupiny AKS mezi pacienty s nemocí jedné, dvou nebo tří tepen, ačkoli nejvyšší hladina PAPP-A byla zjištěna u pacientů s nemocí tří tepen a nejnižší u pacientů s nemocí jedné tepny (9,5 vs. 8,6 vs. 8,1 mIU/l;  $p=0,6-0,1$ ).

Tabulka 10. Hladiny PAPP-A a TnI u pacientů s AKS

	Dg	Průměr	SD	Medián	Min	Max	n	p
<b>PAPP-A</b>	<b>STEMI</b>	8,39	1,91	<b>8,27</b>	5,27	11,79	18	0,04
	<b>NSTEMI</b>	9,79	4,18	<b>8,47</b>	5,83	20,1	11	
	<b>NAP</b>	9,18	2,82	<b>9,78</b>	4,4	13,34	16	
	<b>AKS-NSTE</b>	9,43	3,38	<b>9,31</b>	4,4	20,1	27	
	<b>AKS</b>	9,01	2,9	<b>8,56</b>	4,4	20,1	45	
<b>TnI</b>	<b>STEMI</b>	5,786	9,66	<b>0,99</b>	0,01	36,42	18	<0,0001
	<b>NSTEMI</b>	5,413	14,81	<b>1,32</b>	0,03	50	11	
	<b>NAP</b>	0,066	0,18	<b>0,01</b>	0,01	0,75	16	
	<b>AKS-NSTE</b>	2,24	9,57	<b>0,03</b>	0,01	50	27	
	<b>AKS</b>	3,66	9,66	<b>0,08</b>	0,01	50	45	

Legenda:

**n** - počet studovaných pacientů v podskupinách; **STEMI** – závěrečná diagnóza: akutní infarkt myokardu s elevacemi ST; **NSTEMI** – závěrečná diagnóza: akutní infarkt myokardu bez elevací ST; **NAP** – závěrečná diagnóza: nestabilní angína pectoris; **AKS-NSTE** – vstupní diagnóza: akutní koronární syndrom bez elevací ST; **AKS** – vstupní diagnóza: akutní koronární syndrom; **PAPP-A** – plazmatický protein A spojený s těhotenstvím; **TnI** – troponin I; **p** – porovnání shody všech skupin ( $p < 0,05$  shoda skupin zamítnuta).

Tabulka 11. Porovnání hladin PAPP-A a TnI jednotlivých podskupin AKS s kontrolním souborem a mezi sebou

Porovnávané skupiny	PAPP-A	TnI
	p	p
<b>non-AKS vs. STEMI</b>	0,05	<0,01
<b>non-AKS vs. NSTEMI</b>	0,06	<0,01
<b>non-AKS vs. NAP</b>	0,01	0,08
<b>non-AKS vs. AKS</b>	<0,01	<0,01
<b>non-AKS vs. AKS-NSTE</b>	<0,01	<0,01
<b>STEMI vs. NSTEMI</b>	0,5	0,91
<b>STEMI vs. NAP</b>	0,3	<0,01
<b>NSTEMI vs. NAP</b>	1,0	<0,01

Legenda:

**non-AKS** – kontrolní soubor; **STEMI** – akutní infarkt myokardu s elevacemi ST; **NSTEMI** – akutní infarkt myokardu bez elevací ST; **NAP** – nestabilní angína pectoris; **AKS** – akutní koronární syndrom (STEMI+NSTEMI+NAP); **AKS-NSTE** – akutní koronární syndrom bez elevací ST (NSTEMI+NAP); **PAPP-A** – plazmatický protein A spojený s těhotenstvím; **TnI** – troponin I; **p** – statistická významnost.

### 4.3.3. Senzitivita, specificita, pozitivní prediktivní hodnota a negativní prediktivní hodnota PAPP-A pro diagnózu AKS

Na základě ROC analýzy jsme stanovili hladinu PAPP-A s nejlepší senzitivitou a specificitou (BSS – best senzitivity/specificity) pro diagnózu AKS 9,1 mIU/l. Hodnoty senzitivity, specificity, pozitivní prediktivní hodnoty a negativní prediktivní hodnoty pro BSS=9,1 mIU/l jsou uvedeny v tabulce 12. Vysoká pozitivní prediktivní hodnota vyšetření PAPP-A u pacientů s AKS (95,7%) svědčí pro vysokou pravděpodobnost přítomnosti onemocnění při pozitivě testu (zvýšení PAPP-A nad 9,1 mIU/l), nižší negativní prediktivní hodnota (47,7%) testu neumožňuje vyloučit diagnózu AKS při nezvýšených hodnotách PAPP-A.

Tabulka 12. Senzitivita, specificita, pozitivní prediktivní hodnota a negativní prediktivní hodnota PAPP-A pro diagnózu AKS

	PAPP-A BSS (mIU/l)	Senzitivita	Specificita	Pozitivní prediktivní hodnota	Negativní prediktivní hodnota
<b>AKS všichni pacienti</b>	9,11	0,489	0,955	0,957	0,477
<b>AKS jen pacienti s odběrem do 6ti hodin od vzniku bolesti</b>	9,14	0,455	1,00	1,00	0,400
<b>AKS-NSTE všichni pacienti</b>	9,11	0,556	0,955	0,938	0,636

Legenda:

**AKS** – akutní koronární syndrom; **AKS-NSTE** – akutní koronární syndrom bez elevací ST;

**PAPP-A** – plazmatický protein A spojený s těhotenstvím; **TnI** – troponin I;

**BSS** - hladina PAPP-A s nejlepší senzitivitou a specificitou (BSS – best senzitivity/specificity) pro diagnózu AKS.

Kombinací výsledků vyšetření PAPP-A a TnI došlo ke zvýšení senzitivity i negativní prediktivní hodnoty (tabulka 13).



Tabulka 13. Senzitivita, specificita, pozitivní prediktivní hodnota a negativní prediktivní hodnota kombinace PAPP-A a TnI pro diagnózu AKS

	Senzitivita	Specificita	Pozitivní prediktivní hodnota	Negativní prediktivní hodnota
<b>AKS všichni</b>	0.67	0.95	0.97	0.56
<b>AKS do 6ti hodin od vzniku bolesti</b>	0.55	1.00	1.00	0.41
<b>AKS-NSTE všichni</b>	0,67	0,95	0,95	0,68

Legenda:

**AKS** – akutní koronární syndrom; **AKS-NSTE** – akutní koronární syndrom bez elevací ST.

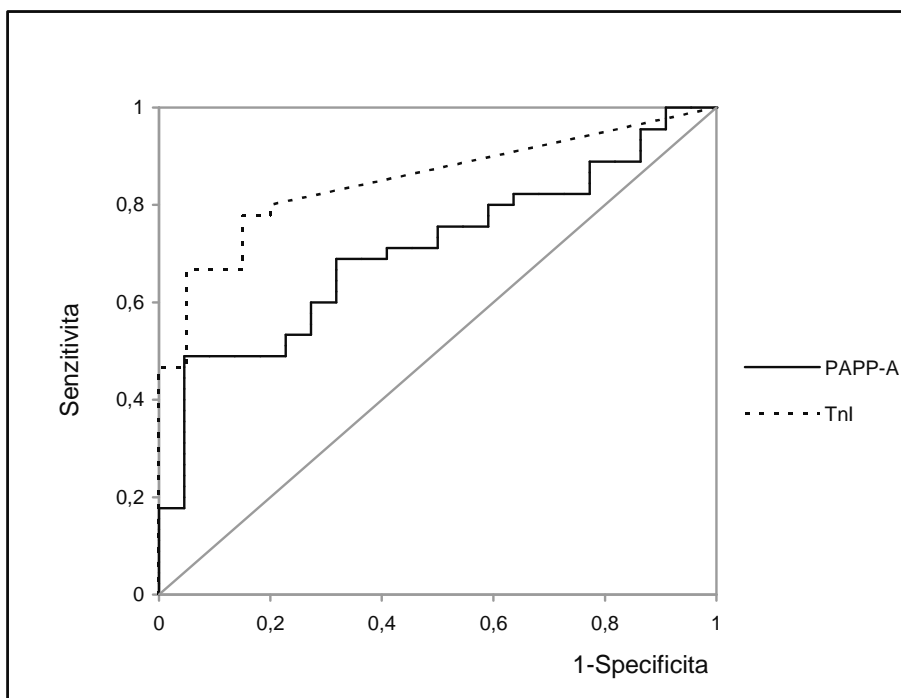
#### 4.3.4. ROC analýza

Diagnosticke spolehlivost PAPP-A pro stanovení AKS jsme dále posuzovali pomocí ROC analýzy stanovením velikosti plochy pod ROC křivkou (AUC – area under the curve) a jejím porovnáním s AUC pro TnI. Kromě hodnocení všech pacientů jsme zkoumali také význam stanovení PAPP-A v časovém intervalu do 6 hodin od vzniku obtíží a u nemocných s AKS bez elevací ST. Důvodem pro tuto analýzu byl fakt, že u těchto dvou skupin nemusí být přítomna pozitivita TnI, protože se jedná o marker nekrózy myokardu, a naopak, na základě teoretických předpokladů o úloze PAPP-A v destabilizaci aterosklerotického plátu, mohl být již tento marker elevován bez rozvoje myokardiální nekrózy.

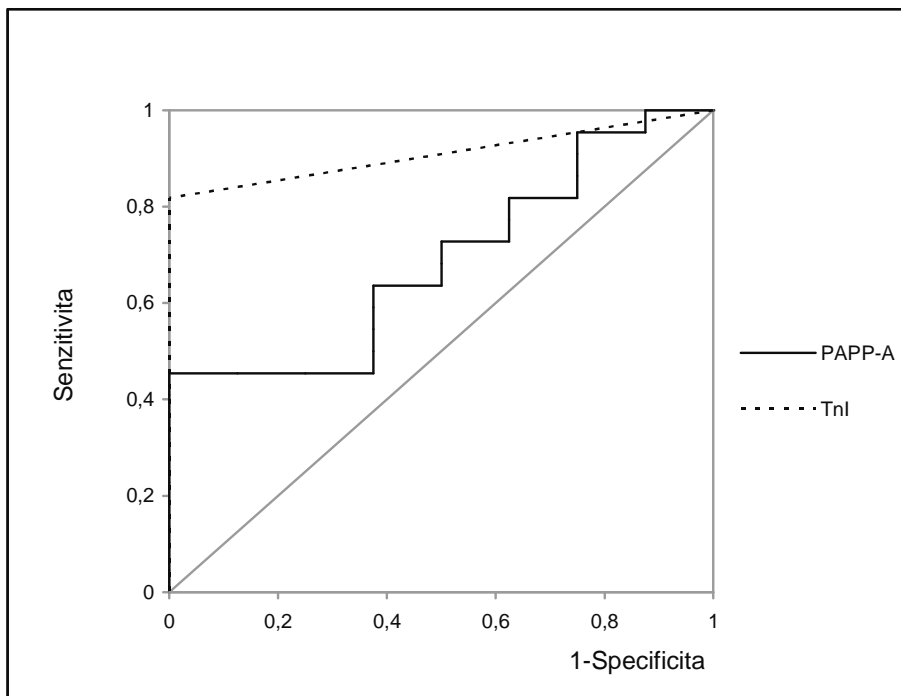
Plocha pod ROC křivkou pro TnI u pacientů s AKS byla větší než pro PAPP-A. Tento rozdíl byl na hranici statistické významnosti ( $p=0,054$ ; obrázek 9, tabulka 14). Také plocha pod ROC křivkou pro pacienty s AKS, u nichž byl proveden odběr do 6ti hodin od vzniku bolesti na hrudi, byla větší pro TnI (obrázek 10, tabulka 14). Plochy pod ROC křivkou

pro pacienty s AKS-NSTE se významně nelišily (obrázek 11, tabulka 14). Neprokázali jsme tedy vyšší diagnostickou spolehlivost PAPP-A v diagnostice AKS, a to ani u nemocných v časně fázi rozvoje AKS. Pouze u pacientů s AKS-NSTE byla diagnostická spolehlivost PAPP-A srovnatelná s TnI.

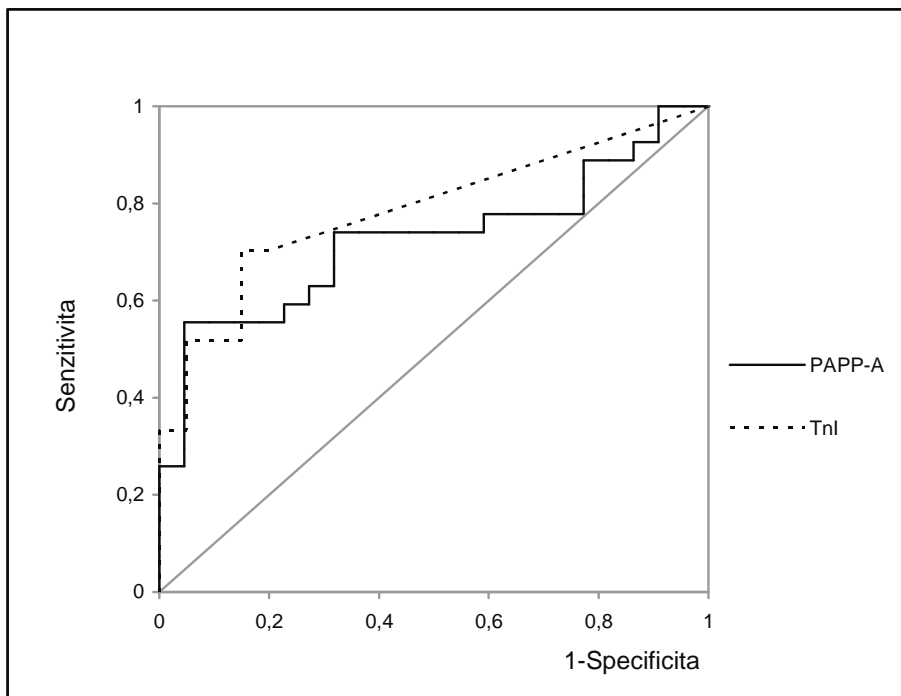
Obrázek 9. ROC křivky diagnostické spolehlivosti PAPP-A a TnI u všech pacientů s AKS



Obrázek 10. ROC křivky diagnostické spolehlivosti PAPP-A a TnI u pacientů s AKS, u nichž byl proveden odběr do 6ti hodin od vzniku obtíží



Obrázek 11. ROC křivky diagnostické spolehlivosti PAPP-A a TnI u pacientů AKS-NSTE



Tabulka 14. Porovnání ploch pod ROC křivkou (AUC) PAPP-A vs. TnI (AKS všichni, AKS do 6-ti hodin od vzniku bolesti, AKS bez STEMI)

						AUC PAPP-A vs. TnI
		AUC	SE	95% CI	p	p
<b>AKS všichni</b>	PAPP-A	0,708	0,0639	0,584-0,813	<b>0,0011</b>	0,0546
	TnI	0,849	0,0435	0,738-0,926	<b>&lt;0,0001</b>	
<b>AKS do 6 hodin od vzniku bolesti</b>	PAPP-A	0,687	0,105	0,493-0,843	0,0732	0,0833
	TnI	0,909	0,0421	0,743-0,984	<b>&lt;0,0001</b>	
<b>AKS-NSTE všichni</b>	PAPP-A	0,726	0,0744	0,579-0,843	<b>0,0024</b>	0,4757
	TnI	0,785	0,0602	0,641-0,891	<b>&lt;0,0001</b>	

Legenda:

**AKS** – akutní koronární syndrom; **AKS-NSTE** – akutní koronární syndrom bez elevací ST;  
**AUC** – plocha pod ROC křivkou; **SE** – standard error; **CI** – konfidenční interval.

#### 4.3.5. Univariální a multivariální analýza diagnostické spolehlivosti PAPP-A

Na základě univariální analýzy jsme prokázali, že analýza příjmové hladiny PAPP-A významně přispívá ke stanovení diagnózy akutního koronárního syndromu jak pro celý soubor pacientů (OR 20,1; 95.CI 2,5-162,3; p=0,005), tak i po vyřazení pacientů s ST elevacemi na vstupním EKG (OR 26,3; 95.CI 3,1-224,2; p=0,003). Po zhodnocení vlivu dalších proměnných (pohlaví, věk, rodinná anamnéza, diabetes mellitus, arteriální hypertenze, nikotinismus, hyperlipoproteinémie) jsme pozorovali dokonce ještě silnější asociaci mezi hladinou PAPP-A a konečnou diagnózou AKS (OR 41,8; 95.CI 2,64-662,6; p=0,08) – tabulka 15.

Tabulka 15. Multivariantní analýza PAPP-A pro diagnózu AKS

	p	Exp(B)	95% CI pro EXP(B)	
			Dolní	Horní
<b>Pohlaví muž</b>	<b>0,002</b>	30,28	3,35	273,59
<b>Věk</b>	<b>0,01</b>	1,15	1,03	1,28
<b>Rodinná anamnéza</b>	<b>0,018</b>	24,93	1,73	359,90
<b>Anamnéza IM</b>	0,42	0,35	0,03	4,46
<b>DM</b>	0,185	0,18	0,02	2,24
<b>Hypertenze</b>	0,521	1,88	0,27	12,99
<b>Současný kuřák</b>	<b>0,03</b>	14,39	1,29	160,38
<b>Chronický statin</b>	0,591	1,86	0,19	17,71
<b>PAPP-A &gt; 9,1</b>	<b>0,008</b>	41,83	2,64	662,56

## 5. Závěry a diskuze

Hlavní cílem naší práce bylo posoudit možnosti testu na stanovení PAPP-A přispět ke zrychlení a zpřesnění diagnostiky akutního koronárního syndromu. Teoretické předpoklady, které vycházely ze známých patofyziologických poznatků, nás opravňovaly k hypotéze, že vzestup hladiny PAPP-A by mohl být markerem dějů předcházejících vzniku nekrózy myokardu. Pokud by se tyto předpoklady potvrdily, měli bychom k dispozici marker umožňující zahájení léčby před vznikem ireverzibilního poškození myokardu.

Výhodou zkoumaného testu je jeho snadná dostupnost, neboť se rutinně užívá v prenatalní diagnostice vývojových vad. U těhotných žen však koncentrace PAPP-A dosahují o několik řádů vyšších hodnot. V našem výzkumu jsme tak využili oba postupy zkoumání diagnostického testu uvedené v úvodu. Nejprve jsme provedli univariantní způsob hodnocení testu ve studii případů a kontrol s cílem posoudit, zda lze komerčně dostupný test, vyvinutý pro jinou populační skupinu, využít i pro „netěhotné“ jedince. Pak následovala studie hodnotící nezávislý příspěvek PAPP-A ke stanovení správné diagnózy u pacientů přicházejících do nemocnice s bolestí na hrudi nejasného původu.

### 5.1. Možnosti systému Kryptor při měření PAPP-A

Na souboru 283 pacientů jsme prokázali použitelnost systému Kryptor u pacientů ve věkovém rozmezí 38-83 let. Nejnižší měřitelná koncentrace PAPP-A byla 3,4 mIU/l, nejvyšší 146,8 mIU/l, neměřitelné koncentrace byly nalezeny u 20/283 (7%) pacientů.

Neprokázali jsme závislost PAPP-A na pohlaví či na věku ani skupině s normálním koronárním angiogramem ani u nemocných se stabilní ICHS. Hladina PAPP-A byla vyšší u mužů, pouze pokud byla skupina nemocných se stabilní ICHS sloučena s kontrolním souborem.

Neprokázali jsme významný rozdíl v hladině PAPP-A mezi pacienty s postižením jedné, dvou nebo tří věnčitých tepen ( $p=0,9$ ). Vztah rozsahu aterosklerózy a hladiny PAPP-A však nelze vyloučit a je spíše pravděpodobný, jak ukazují práce porovnávající hladinu PAPP-A v závislosti na výskytu rizikových faktorů aterosklerózy u dosud asymptomatických pacientů (Stulc T. et al., 2003; Aso Y. et al., 2004) či pacientů se klinickými projevy periferní lokalizace aterosklerózy (Mueller T. et al., 2006). Absolutní rozdíl v koncentracích PAPP-A u symptomatických a asymptomatických pacientů s klinicky stabilním stádiem aterosklerotického postižení však není velký (v citované práci Muellera se mediány PAPP-A lišily o 0,17 mIU/l v souboru 866 pacientů), a proto neovlivňuje při srovnání s pacienty s AKS.

V této naší pilotní práci jsme dále zjistili významně vyšší sérové koncentrace PAPP-A u pacientů s AKS ve srovnání s kontrolním souborem, ale také ve srovnání s pacienty se stabilní ICHS. Naše výsledky navíc ukazovaly významně časnější elevaci koncentrací PAPP-A při srovnání s troponinem I. Tyto výsledky jsme prezentovali na Evropském kardiologickém kongrese v roce 2006 spolu s dánskými kolegy nezávisle na sobě jako první na světě (Hájek P. et al., 2006, Iversen K. et al., 2006). Další výzkum v této oblasti však ukázal, že koncentrace PAPP-A se významně zvyšuje podáním heparinu. Vzhledem k tomu, že heparin je u nemocných s akutním infarktem myokardu s elevacemi ST standardní součástí přednemocniční léčby, lze předpokládat, že výsledky prací publikovaných před zjištěním

tohoto poznatku včetně naší pilotní práce byly podaným heparin zkresleny. Problematice ovlivnění hladin PAPP-A provedením koronární angioplastiky, periprocedurálními komplikacemi, průvodní medikací, ale i významem PAPP-A v diagnostice akutního koronárního syndromu při vyloučení vlivu heparinu se věnujeme v dalších odstavcích tohoto textu.

## **5.2. Vliv katetrizační intervence, periprocedurálních komplikací a konkomitantní farmakoterapie na hladinu PAPP-A**

Práce, které se zabývaly kinetikou PAPP-A, naznačovaly různý vývoj hladin PAPP-A v rámci AKS. Dále se zdálo, že hladina PAPP-A je ovlivněna dobou od uzávěru tepny do její reperfúze (Lund J. et al., 2006). Srovnání vlivu přímé PCI a trombolytické léčby na hladinu PAPP-A ukázalo, že nelze vyloučit vliv heparinu na hladinu PAPP-A (Brügger-Andersen T. et al., 2007). Potenciální význam aplikace heparinu na hladinu PAPP-A byl potvrzen na zvířecích modelech, aplikace heparinu byla spojena s rychlým a významným vzestupem hladiny PAPP-A (Terkelsen CJ et al., 2009). Tato hypotéza byla dále podpořena rychlým vzestupem PAPP-A po podání heparinu u dialyzovaných pacientů (Tertti R. et al., 2009).

Tyto poznatky nás vedly k provedení práce s cílem určit, jaký je časový průběh koncentrací PAPP-A v průběhu akutního koronárního syndromu, jaký je vliv perkutánní koronární intervence, periprocedurálních komplikací či konkomitantní medikace na hladinu PAPP-A. Důraz jsme kladli především na exaktní určení doby vzniku bolestí na hrudi, podání heparinu během transportu, před či v průběhu PCI, délky PCI a odběrů PAPP-A před, bezprostředně po PCI a za 1, 2, 4, 6, 12, 24 a 48 hodin po PCI.



Zjistili jsme, že koncentrace PAPP-A při přijetí heparinizovaných pacientů s AKS-STE byly zvýšeny u všech kromě jednoho s BMI=27 a nízkou dávkou podaného heparinu. Podání heparinu vedlo k rychlému a významnému zvýšení hladin PAPP-A nejen u pacientů s akutním koronárním syndromem, ale i u pacientů bez AKS a dokonce u pacientů bez angiografických známek koronární aterosklerózy. Koronární angiografie bez podání heparinu nevedla ke zvýšení koncentrace PAPP-A. Proto se domníváme, že zvýšení hladin PAPP-A je přímo spojeno s aplikací heparinu.

Účinek heparinu na hladinu PAPP-A byl přímo závislý na dávce heparinu, pozitivně koreloval s ACT a negativně s délkou intervalu od aplikace heparinu do odběru krevních vzorků. Tento nález je v souladu s naším pozorováním u pacientů s AKS-STE, kterým nebylo nutno vzhledem k účinné hladině antikoagulační léčby podávat dodatečně heparin během PCI. U těchto pacientů bylo zjištěno významné zvýšení hladiny PAPP-A z prvního odběru, hladina PAPP-A postupně zvolna klesala bez typického vzestupu způsobeného aplikací dodatečné dávky heparinu. Na druhé straně jsme neprokázali závislost vzestupu hladin PAPP-A na provedení a délce PCI či koronární angiografie, což opět svědčí pro přímou závislost vzestupu hladiny PAPP-A na aplikaci heparinu.

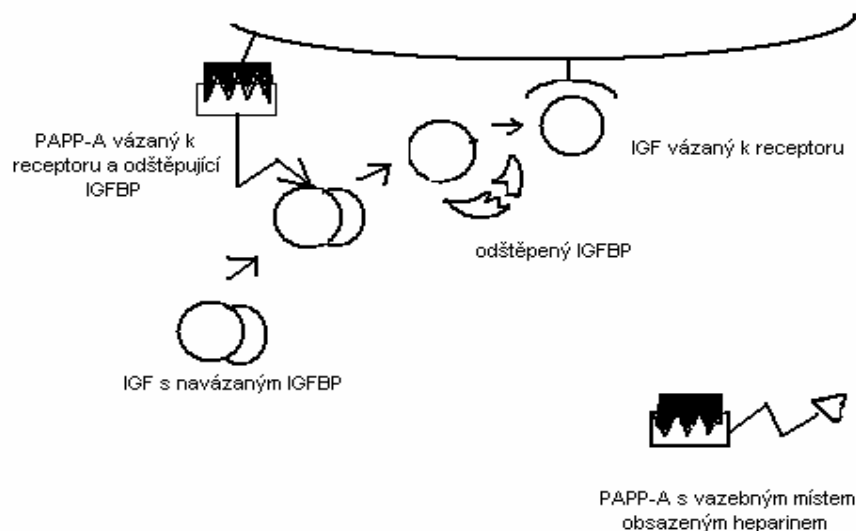
Rychlý vzestup PAPP-A po aplikaci heparinu byl následován rychlým poklesem během 1-2 hodin po podání s konečným poklesem k normálním hodnotám u 80% AKS-STE pacientů během 10-12 hodin. Pokles k normálním hodnotám PAPP-A u heparinizovaných pacientů po elektivní PCI nebo koronární angiografii byl významně rychlejší. Pomalejší návrat PAPP-A k normálním hodnotám u pacientů s akutním koronárním syndromem a přetrvávání zvýšených hodnot PAPP-A u některých pacientů mohly být v souvislosti s přítomností nestabilního plátu. Přetrvávání zvýšených hodnot PAPP-A u některých pacientů

mohlo být způsobeno klinickými komplikacemi, jakými jsou rozsáhlý hematom v místě vpichu, neúspěšná rekanizace infarktové tepny, nebo rozsahem aterosklerotického postižení. Naše výsledky také naznačují, že hodnocení prognostického významu PAPP-A u akutního koronárního syndromu může být provedeno ne dříve než po 12 hodinách od podání heparinu.

Zvýšená akumulace PAPP-A byla prokázána v hojících se tkáních (Chen BK et al., 2003). Heparinem indukované uvolnění PAPP-A z cévní stěny může tedy přispívat k potenciaci reparativních procesů, neboť PAPP-A svou proteolytickou aktivitou ovlivňuje dostupnost růstového faktoru IGF-1 na povrchu buněk (Terkelsen CJ et al., 2009). Clearance PAPP-A je způsobena nejen jeho eliminací ledvinami, ale také reasociací k buněčnému povrchu. Tuto možnost naznačuje naše pozorování, že dávka aplikovaného heparinu ovlivňuje maximální hladinu PAPP-A, avšak nikoli rychlost jeho poklesu.

Patofyziologickým podkladem interakce heparin-PAPP-A je patrně kompetice heparinu o vazebné místo PAPP-A k povrchu buňky (Laursen LS et al., 2002). PAPP-A se k buňce váže pomocí CCP modulu vazbou k heparan sulfátovému proteoglykanu na buněčném povrchu (Weyer K. et al., 2004). Tato vazba je nezbytná pro správnou funkci PAPP-A, neboť pokud dojde k odštěpení IGFBP od IGF jinde než v blízkosti buněčného povrchu, spojení IGFBP a IGF se rychle obnovuje. Jestliže se k CCP modulu PAPP-A naváže heparin, není tento komplex schopný silnější vazby k buněčnému povrchu analogicky jako při vzniku komplexu PAPP-A-proMBP, kdy se proMBP váže k CCP modulu PAPP-A svým glykosaminoglykanovým řetězcem (Laursen LS et al., 2002) – obrázek 12.

Obrázek 12. Interakce PAPP-A, IGF a heparinu (podle Laursen LS et al., 2002)



Limitací této naší práce je omezení vyšetřovaného souboru nemocných s akutním koronárním syndromem pouze na pacienty s elevacemi ST. Další limitací je užití systému Kryptor™ k stanovení PAPP-A, neboť tato metoda neumožňuje stanovení volného PAPP-A ani proMBP-fyziologického regulátoru aktivity PAPP-A (Cosin-Sales J. et al., 2004).

### 5.3. Diskuse k práci zaměřené na určení nezávislého příspěvku PAPP-A ke stanovení správné diagnózy AKS

Rychlé stanovení diagnózy u pacientů s akutně vzniklou bolestí na hrudi je klíčové pro určení rizika a pro volbu optimální léčebné strategie. Pouze dvě kardiologické společnosti řeší ve svých doporučeních specifická pravidla biochemické diagnostiky v období prvních šesti hodin od vzniku obtíží (Dekker MS et al., 2010). Neustále jsou vyvíjeny a zkoušeny nové biochemické markery, avšak srdeční troponiny zůstávají „zlatým standardem“

pro hodnocení původu akutní srdeční bolesti, i když jejich senzitivita v prvních hodinách po vzniku obtíží je relativně nízká.

Ačkoli první poznatky o diagnostickém významu PAPP-A v časném období prokazovaly vyšší senzitivitu tohoto markeru oproti TnI (Iversen KK et al., 2008), další práce tyto výsledky nepotvrdily a naopak ukázaly přímý vliv heparinu na zvýšení hladin PAPP-A (Iversen K. et al., 2011). Řada diagnostických a prognostických studií publikovaných v minulosti neobsahovala údaje o podání heparinu. Vzhledem k tomu, že heparin u pacientů s akutním infarktem myokardu s elevacemi ST je podáván již v přednemocniční fázi, je pravděpodobné, že výsledky těchto prací byly podáním heparinu ovlivněny narozdíl od kontrolní skupiny (Bayes-Genis A. et al., 2001; Hájek P. et al., 2008; Hájek P. et al., 2008; Iversen KK et al., 2008; Lund J. et al., 2006; Furenes EB et al., 2009).

Naším cílem bylo tedy určit význam PAPP-A pro diagnózu AKS u neselektované skupiny pacientů s akutní bolestí na hrudi, u nichž nebyl podán heparin. Podle našich znalostí šlo o první práci, která se zabývá celým spektrem pacientů s AKS s důrazem na absenci podání heparinu před odběrem vzorku krve k analýze PAPP-A.

Všichni nemocní podstoupili koronární angiografii, což nám umožnilo získat přesnou informaci o koronární anatomii a přítomnosti či absenci nestabilní koronární léze. Vysoká pozitivní prediktivní hodnota PAPP-A (95,7%), kterou jsme našli u našeho souboru, svědčí pro vysokou pravděpodobnost diagnózy AKS u pacientů s hladinou PAPP-A nad 9,1 mIU/l. Nízká negativní prediktivní hodnota PAPP-A (47,7%) neumožňuje vyloučit diagnózu AKS, pokud je hladina PAPP-A pod hodnotou 9,1 mIU/l.

Mezi STEMI pacienty, kteří byli diagnostikováni do šesti hodin od vzniku obtíží, jsme našli 4/7 PAPP-A pozitivních a 3/7 troponin pozitivních. Ani plocha pod ROC křivkou pro PAPP-A nebyla u těchto pacientů větší než pro TnI. Tyto výsledky naznačují, že PAPP-A není časnějším markerem STEMI než TnI. Na druhé straně jsme pozorovali 6/10 PAPP-A pozitivních pacientů a pouze 2/10 TnI pozitivních pacientů u AKS-NSTE v prvních šesti hodinách od vzniku obtíží.

PAPP-A byl uveden do kardiologické literatury Bayes-Genisem v roce 2001 (Bayes-Genis A.et al., 2001), který detekoval PAPP-A pouze v nestabilních a nikoli ve stabilních aterosklerotických plátech. Ačkoli další autoři poté tento náález potvrzovali, poslední práce M. Rossena (Rossen M.et al., 2007) a K. Iversena (Iversen K.et al., 2011) neprokázaly PAPP-A v koronárním, femorálním či karotickém plátu. Formulovali tedy hypotézu, že PAPP-A je při akutním koronárním syndromu uvolňován z jiné než ischemické srdeční tkáně.

Stejní autoři analyzovali PAPP-A ve dvou souborech ischemické extrakardiální tkáně, avšak nenalezli žádné zvýšení PAPP-A v cirkulaci. Naopak heparin podaný v experimentu u zdravých dobrovolníků vedl k rychlému zvýšení PAPP-A. Na základě těchto výsledků autoři konstatují, že za zvýšením PAPP-A u akutního koronárního syndromu je zodpovědné heparinem indukované uvolnění PAPP-A z neaterosklerotické arteriální stěny a nikoli z vulnerabilního plátu.

Naše data o vlivu heparinu na hladinu PAPP-A u pacientů bez angiografického průkazu koronární aterosklerózy (Hájek P.et al., 2011) potvrzují neaterosklerotický původ PAPP-A v cirkulaci. Výsledky naší současné práce zaměřené na eliminaci vlivu heparinu však

potvrzují významné zvýšení PAPP-A u akutního koronárního syndromu bez ohledu na podání heparinu.

PAPP-A je proteáza, která specificky degraduje vazebné proteiny-4 a -5 inzulin-podobnému růstového faktoru (IGF-1), čímž umožňuje vazbu IGF-1 k buněčnému povrchu a reguluje jeho biologickou dostupnost (Bunn RC et al., 2003). Nejsilnějšími aktivátory exprese PAPP-A v lidských endoteliálních buňkách a buňkách hladké svaloviny jsou prozánětlivé cytokiny (Conover CA et al., 2008). IGF-1 je peptid, který stimuluje buněčnou proliferaci a diferenciaci. Jak PAPP-A, tak i IGF jsou chápány jako potenciální proaterosklerotické faktory, avšak existují klinické i experimentální důkazy o protektivním účinku IGF při rozvoji ischemických cévních onemocněních. Z tohoto důvodu může být zvýšení PAPP-A důsledkem nikoli příčinou cévního a myokardiálního poškození jako součást kompenzatorní, IGF-1 – zprostředkované reparační odpovědi (Crea F. et al., 2005).

Interpretace výsledků naší práce je limitována relativně malým počtem pacientů. Bylo velmi obtížné získat krevní vzorky od pacientů s AKS před aplikací heparinu, neboť zejména u pacientů se STEMI je podání heparinu součástí přednemocniční lékařské péče a heparin je aplikován během transportu do nemocnice.

Výsledky koronární angiografie a kardiospecifických markerů jsou standardně užívány pro diagnostiku a rizikovou stratifikaci nemocných s AKS. I když normální koronární angiogram a opakovaně negativní výsledek náběru TnI zcela nevyklučuje diagnózu AKS, tito pacienti mají obvykle příznivou prognózu. J. Lund a kol. (Lund J. et al., 2003) prokázali nepříznivou prognózu pacientů s bolestmi na hrudi, negativním výsledkem TnI a zvýšením PAPP-A. Naše práce byla zaměřena především na schopnost PAPP-A zpřesnit a zrychlit

diagnostický algoritmus pacientů s bolestmi na hrudi v časně fázi rozvoje příznaků. O tom, zda a jak měnit léčebnou strategii při současném zvýšení hladiny PAPP-A, negativitě TnI a normálním koronárním angiogramu, mohou rozhodnout teprve studie provedené v budoucnu.

Vysoká prevalence akutního koronárního syndromu v našem souboru (45/67; 67%) mohla ovlivnit pozorovanou pozitivní prediktivní hodnotu. Akutní bolest na hrudi a absence podání heparinu před odběrem krve byly jediné dvě podmínky pro zařazení do studijního souboru. Z těchto důvodů věříme, že náš soubor odpovídá běžné populaci nemocných s bolestí na hrudi přicházející na akutní ambulanci.

Použitá metoda stanovení PAPP-A (systém Kryptor™) hodnotí celkový PAPP-A. Již dříve bylo publikováno, že hlavní formou PAPP-A uvolňovanou do cirkulace při AKS je volný nekomplexovaný PAPP-A (Qin Q-P et al., 2005). V současné době je k dispozici řada systémů k určení PAPP-A, avšak jejich standardizace a široké klinické užití vyžaduje ještě další zkoumání (Rossen M. et al., 2007; Iversen K. et al., 2011; Apple FS et al., 2005).

## 6. Nejdůležitější závěry našeho výzkumu

- 1) PAPP-A je nezávislým markerem diagnózy akutního koronárního syndromu s vysokou pozitivní prediktivní hodnotou. Diagnostický význam PAPP-A nepřevyšuje význam TnI, avšak u pacientů s akutním koronárním syndromem bez ST elevací přispívá k určení správné diagnózy.
- 2) U heparinizovaných pacientů nelze PAPP-A využít jako časný marker akutního koronárního syndromu. Zhodnocení diagnostického a prognostického významu PAPP-A vyžaduje odběr krevního vzorku před podáním heparinu nebo nejméně 12 hodin od poslední aplikace heparinu.
- 3) Systém Kryptor™ zajistil rychlou a spolehlivou diagnostiku celkové koncentrace PAPP-A.



## 7. Souhrn

Většina lékařských rozhodnutí je podpořena výsledky diagnostických testů, které pomáhají rozlišit normální od abnormálního. Výběr vhodného testu a správná interpretace jeho výsledku jsou nezbytnými kroky k určení správné diagnózy a k volbě příslušné léčby.

Rychlý průkaz akutního koronárního syndromu je klíčový pro optimální načasování další léčby, neboť včasné zahájení intervence přímo ovlivňuje prognózu pacienta. Jedním z nadějných markerů nestabilního aterosklerotického plátu je plazmatický protein A spojený s těhotenstvím (pregnancy-associated plasma protein – A, PAPP-A). Ke studiu tohoto markeru jsme zvolili komerčně dostupný systém Kryptor, který se rutinně užívá v prenatalním biochemickém screeningu k záchytu geneticky rizikových gravidit.

PAPP-A je metaloproteináza, která je důležitým markerem správné funkce placenty a tím i fyziologického vývoje plodu. Jedinou dosud známou fyziologickou funkcí PAPP-A je ovlivnění biologické dostupnosti růstového faktoru podobného insulinu (IGF – insulin like growth factor). IGF hraje významnou roli nejen v rozvoji aterosklerotického postižení, ale i při reparativních procesech tkáňového poškození. Na rozdíl od jiných metaloproteináz nebyl dosud podíl PAPP-A na destabilizaci aterosklerotického plátu prokázán.

Nejdříve jsme v pilotní práci ověřili možnost využití tohoto systému Kryptor i u nemocných s koronární aterosklerózou. Dalším krokem byla analýza vlivu konkomitantní medikace a provedených invazivních procedur na hladinu PAPP-A. Potvrdili jsme, že heparin zvyšuje hladinu PAPP-A a dále jsme ukázali, že hladina PAPP-A není ovlivněna délkou či obtížností invazivního výkonu.

V poslední práci jsme se zaměřili na určení nezávislého příspěvku PAPP-A k určení správné diagnózy akutního koronárního syndromu u nemocných přicházejících k vyšetření pro bolest na hrudi suspektní z kardiální příčiny, u nichž nebyl před odběrem vzorku na stanovení PAPP-A podán heparin. Tento příspěvek jsme dále porovnali se zlatým standardem biochemické diagnostiky akutního koronárního syndromu – s kardiálním troponinem.

Prokázali jsme, že PAPP-A je nezávislým markerem diagnózy akutního koronárního syndromu s vysokou pozitivní prediktivní hodnotou. I když jeho diagnostický význam nepřevyšuje význam troponinu I, u pacientů s akutním koronárním syndromem bez elevací ST přispívá k určení správné diagnózy. Zhodnocení diagnostického a prognostického významu PAPP-A vyžaduje odběr krevního vzorku před podáním heparinu nebo nejméně 12 hodin od poslední aplikace heparinu.

**Klíčová slova:** akutní koronární syndrom; plazmatický protein A spojený s těhotenstvím

## 8. Summary

Majority of medical decisions are based on results of diagnostic tests that help to differentiate normal from abnormal. The choice of appropriate test and its interpretation are necessary steps for correct diagnosis and treatment strategy determination.

Rapid prove of acute coronary syndrome (ACS) plays a key role in choice of optimal treatment strategy, because timing of intervention directly influences prognosis of the patient. Pregnancy-associated plasma protein-A (PAPP-A) has been studied as a promising marker of ACS. For PAPP-A evaluation in patients with coronary atherosclerosis, we have chosen commercially available system Kryptor that had been verified in prenatal screening of pregnancies in risk.

PAPP-A belongs among metalloproteinases. It is important marker of physiological development of placenta and fetus. The only proven physiological role of PAPP-A is the enabling of bioavailability of insulin-like growth factor (IGF). IGF as a growth factor, plays significant role in atherosclerosis development, but also it might contribute to healing processes connected with tissue injury. Nevertheless, PAPP-A role in plaque destabilization has not been proven yet, although it was found in other metalloproteinases.

In our pilot study, we confirmed the use of Kryptor system also for patients with coronary artery disease. In the next step we analyzed influence of concomitant medications, type of invasive procedure and complications on PAPP-A level. We showed that circulating

PAPP-A levels are not influenced by type and length of the procedure but they are significantly increased by concomitant heparin administration.

Finally, we aimed to ascertain the diagnostic significance of PAPP-A and to compare it with troponin I in an unselected group of patients with acute chest pain suspected of being of ACS origin, with strong emphasis on elimination of the influence of heparin at the PAPP-A level. We proved that PAPP-A level is an independent predictor of ACS diagnosis in heparin-naïve patients with high positive predictive value. Its diagnostic significance is not higher than troponin I even within a short period after the onset of chest pain. In troponin-negative NSTEMI-ACS patients, PAPP-A can help to make the correct final diagnosis. The diagnostic and prognostic validity of PAPP-A can be verified only within the first hours after clinical onset of ACS before heparin administration and in heparinized patients not earlier than 12 hours after last heparin application.

**Key words:** acute coronary syndrome; Pregnancy-associated plasma protein-A

## 9. Použitá literatura

- 1) Ambrose JA, Winters SL, Stern A, et al. Angiographic morphology and the pathogenesis of unstable angina pectoris. *J Am Coll Cardiol* 1985;5:609-616.
- 2) Apple FS, Wu AH, Mair J, Ravkilde J, Panteghini M, Tate J, Pagani F, Christenson RH, Mockel M, Danne O, Jaffe AS; Committee on Standardization of Markers of Cardiac Damage of the IFCC. Future biomarkers for detection of ischemia and risk stratification in acute coronary syndrome. *Clin Chem* 2005;51:810-824.
- 3) Aso Y, Okumura K, Wakabayashi S, Takebayashi K, Taki S, Inukai T. Elevated pregnancy-associated plasma protein-A in sera from type 2 diabetic patients with hypercholesterolemia: associations with carotid atherosclerosis and toe – brachial index. *J Clin Endocrinol Metab* 2004;89:5713-7.
- 4) 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;345:1022-9.
- 5) Bayes-Genis A, Schwartz RS, Lewis DA, et al. Insulin-like growth factor binding protein-4 protease produced by smooth muscle cells increases in the coronary artery after angioplasty. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2001;21:335-341.
- 6) Bayes-Genis A, Conover CA, Schwartz RS. The insulin-like growth factor axis: A review of atherosclerosis and restenosis. *Circ Res* 2000;86:125-130.

- 7) Beaudoux JL, Burc L, Imbert-Bismut F, et al. Serum plasma pregnancy-associated protein A: a potential marker of echogenic carotid atherosclerotic plaques in asymptomatic hyperlipidemic subjects at high cardiovascular risk. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2003;23:e7-10.
- 8) Boersma E, Maas AC, Deckers JW, Simoons ML. Early thrombolytic treatment in acute myocardial infarction: Reappraisal of the golden hour. *Lancet*. 1996;348:771–5.
- 9) Boldt HB, Kjaer-Sorensen K, Overgaard MT, et al. The Lin12-notch repeats of pregnancy-associated plasma protein-A bind calcium and determine its proteolytic specificity. *J Biol Chem* 2004;279:38525-31.
- 10) Brügger-Andersen T, Hetland Ø, Pönitz V, Grundt H, Nilsen DW. The effect of primary percutaneous coronary intervention as compared to tenecteplase on myeloperoxidase, pregnancy-associated plasma protein A, soluble fibrin and D-dimer in acute myocardial infarction. *Thromb Res* 2007;119:415-21.
- 11) Brügger-Andersen T, Aarsetøy H, Grundt H, et al. The long-term prognostic value of multiple biomarkers following a myocardial infarction. *Tromb Res* 2008;123:60-6.
- 12) Bunn RC, Fowlkes JL. Insulin-like growth factor binding protein proteolysis. *Trends Endocrinol Metab* 2003;14:176-181.

- 13) Conover CA, Kiefer MC, Zapf J. Posttranslational regulation of insulin-like growth factor binding protein-4 in normal and transformed human fibroblasts. Insulin-like growth factor dependence and biological studies. *J Clin Invest* 1993;91:1129-37.
- 14) Conover CA, Oxvig C, Overgaard MT, et al. Evidence that the insulin-like growth factor binding protein-4 protease in human ovaria follicular fluid is pregnancy associated plasma protein-A. *J Clin Endocrinol Metab.* 1999;84:4742-5.
- 15) Conover CA, Bale LK, Harrington SC, et al. Cytokine stimulation of pregnancy-associated plasma protein A expression in human coronaryartery smooth muscle cells: inhibition by resveratrol. *Am J Physiol Cell Physiol* 2006;290:C183-8.
- 16) Conover CA, Bale LK. Loss of pregnancy-associated plasma protein A extense lifespan in mice. *Aging Cell* 2007;6:727-9.
- 17) Conover CA, Harrington SC, Bale LK. Differential regulation of pregnancy-associated plasma protein-A in human coronary artery endothelial cells and smooth muscle cells. *Growth Horm IGF Res* 2008;18:213-220.
- 18) Conti E, Carrozza C, Capoluongo E, et al. Insulin-like growth factor-1 as a vascular protective factor. *Circulation* 2004;110:2260-5.
- 19) Conti E, Volpe M, Carrozza C, et al. Pregnancy-associated plasma protein-A and acute coronary syndromes: cause or consequence? *J Am Coll Cardiol* 2005;46:1583-4.

- 20) Cosin-Sales J, Christiansen M, Kaminski P, et al. Pregnancy-associated plasma protein-A and its endogenous inhibitor, the proform of eosinophil major basic protein (proMBP), are related to complex stenosis morphology in patients with stable angina pectoris. *Circulation* 2004;109:1724-1728.
- 21) 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;26:2093-8.
- 22) Crea F, Andreotti F. Pregnancy-associated plasma protein-A and coronary atherosclerosis: marker, friend, or foe? *Eur Heart J* 2005;26:2075-2076.
- 23) Dekker MS, Mosterd A, van 't Hof AW, Hoes AW. Novel biochemical markers in suspected acute coronary syndrome: systematic review and critical appraisal. *Heart* 2010;96:1001-10.
- 24) DeLong ER, DeLong DM, Clarke-Pearson DL. Comparing the areas under two or more correlated receiver operating characteristic curves: a nonparametric approach. *Biometrics* 1988;44:837-845.
- 25) Dominguez-Rodriguez A, Abreu-Gonzalez P, Garcia-Gonzalez M, et al. Circulating pregnancy-associated plasma protein A is not an early marker of acute myocardial infarction. *Clin Biochem* 2005;38:180-2.



- 26) Etter C, Straub Y, Hersberger M, Rätz HR, Kistler T, Kiss D, Wüthrich RP, Gloor HJ, Aerne D, Wahl P, Klaghofer R, Ambühl PM. Pregnancy-associated plasma protein-A is an independent short-time predictor of mortality in patients on maintenance haemodialysis. *Eur Heart J* 2010;31:354-9.
- 27) Elesber AA, Conover CA, Denktas AE, et al. Prognostic value of circulating pregnancy-associated plasma protein levels in patients with chronic stable angina. *Eur Heart J* 2006;27:1678-84.
- 28) Fialová L, Kalousová M, Soukupová J, Sulková S, Merta M, Jelínková E, Horejsí M, Srámek P, Malbohan I, Mikulíková L, Tesar V, Zima T. Relationship of pregnancy-associated plasma protein-a to renal function and dialysis modalities. *Kidney Blood Press Res* 2004;27:88-95.
- 29) Fredericks S, Bertomeu-Gonzalez V, Petrovic I, et al. Comment on immunoassays developed for pregnancy-associated plasma protein-A (PAPP-A) in pregnancy may not recognize PAPP-A in acute coronary syndromes. *Clin Chem* 2006;52:1619-20.
- 30) Furenes EB, Arnesen H, Solheim S, Grøgaard HK, Hoffmann P, Seljeflot I. The profile of circulating metalloproteinases after PCI in patients with acute myocardial infarction or stable angina. *Thromb Res* 2009;124:560-564.
- 31) Hajek P, Macek Sr M, Hladikova M, et al. Pregnancy-associated plasma protein-A/proform of eosinophil major basic protein complex in acute myocardial infarction with ST elevation. *Eur Heart J Abstr Suppl* 2006;P3862.

- 32) Hájek P, Macek M, Hladíková M, et al. Pregnancy-associated plasma protein A and proform eosinophilic major basic protein in the detection of different types of coronary artery disease. *Physiol Res* 2008;57:23-32.
- 33) Hajek P, Macek M Sr. Pregnancy associated plasma protein a as a quick and sensitive biomarker in early phase of acute coronary syndrome. *Am J Cardiol*. 2008;102:954.
- 34) Hájek P, Macek M Sr, Lashkevich A, Klučková H, Hladíková M, Hansvenclová E, Malý M, Veselka J, Krebsová A. Influence of concomitant heparin administration on pregnancy-associated plasma protein-A levels in acute coronary syndrome with ST segment elevation. *Arch Med Sci* 2011;7:977-83.
- 35) Heeschen C, Dimmeler S, Hamm CW, et al; CAPTURE Study Investigators. Pregnancy-associated plasma protein-A levels in patients with acute coronary syndromes: comparison with markers of systemic inflammation, platelet activation, and myocardial necrosis. *J Am Coll Cardiol* 2005;45:229-37.
- 36) Chen BK, Leiferman KM, Pittelkow MR, Overgaard MT, Oxvig C, Conover CA. Localization and regulation of pregnancy-associated plasma protein a expression in healing human skin. *J Clin Endocrinol Metab* 2003;88:4465-71.
- 37) Christenson RH, Azzazy HM. Cardiac point of care testing: a focused review of current National Academy of Clinical Biochemistry guidelines and measurement platforms. *Clin Biochem* 2009;42:150-7.

- 38) Iversen K, Teisner A, Schoos M, et al. Pregnancy-associated plasma protein-A in patients with acute ST-elevation myocardial infarction. *Eur Heart J Abstr Suppl* 2006; P3861.
- 39) Iversen KK, Teisner AS, Teisner B, et al. Pregnancy associated plasma protein A, a novel, quick, and sensitive marker in ST-elevation myocardial infarction. *Am J Cardiol* 2008;101:1389-94.
- 40) Iversen KK, Teisner AS, Teisner B, et al. Pregnancy-associated plasma protein A in non-cardiac conditions. *Clin Biochem.* 2008;41:548-53.
- 41) Iversen KK, Teisner AS, Teisner B, et al. Pregnancy associated plasma protein A, a potential marker for vulnerable plaque in patients with non-ST-segment elevation acute coronary syndrome. *Clin Biochem.* 2009;42:828-34.
- 42) Iversen KK, Dalsgaard M, Teisner AS, et al. Usefulness of pregnancy-associated plasma protein A in patients with acute coronary syndrome. *Am J Cardiol* 2009;104:1465-71.
- 43) Iversen K, Teisner A, Dalager S, Olsen KE, Floridon C, Teisner B. Pregnancy-associated plasma protein-A (PAPP-A) is not a marker of the vulnerable atherosclerotic plaque. *Clin Biochem* 2011;44:312-318.
- 44) Kalousová M, Sulková S, Fialová L, Soukupová J, Malbohan IM, Spacek P, Braun M, Mikulíková L, Fortová M, Horejsí M, Tesar V, Zima T. Glycooxidation and

- inflammation in chronic haemodialysis patients. *Nephrol Dial Transplant* 2003;18:2577-81.
- 45) Kalousová M, Bartosová K, Zima T, Skibová J, Teplan V, Viklický O. Pregnancy-associated plasma protein a and soluble receptor for advanced glycation end products after kidney transplantation. *Kidney Blood Press Res* 2007;30:31-7.
- 46) Kalousová M, Benáková H, Kuběna AA, Dusilová-Sulková S, Tesař V, Zima T. Pregnancy-associated plasma protein a as an independent mortality predictor in long-term hemodialysis patients. *Kidney Blood Press Res* 2012;35:192-201.
- 47) Krantz D, Goetzl L, Simpson JL, et al; First Trimester Maternal Serum Biochemistry and Fetal Nuchal Translucency Screening (BUN) Study Group. Association of extreme first-trimester free human chorionic gonadotropin-beta, pregnancy-associated plasma protein A, and nuchal translucency with intrauterine growth restriction and other adverse pregnancy outcomes. *Am J Obstet Gynecol* 2004;191:1452-8
- 48) Khosravi J, Diamandi A, Krishna RG, et al. Pregnancy associated plasma protein-A: ultrasensitive immunoassay and determination in coronary heart disease. *Clin Biochem* 2002;35:531-8.
- 49) Laterza OF, Cameron SJ, Chappell D, et al. Evaluation of pregnancy-associated plasma protein A as a prognostic indicator in acute coronary syndrome patients. *Clin Chim Acta* 2004;348:163-169.

- 50) Laursen LS, Overgaard MT, Weyer K, et al. Cell surface targeting of pregnancy-associated plasma protein A proteolytic activity. Reversible adhesion is mediated by two neighboring short consensus repeats. *J Biol Chem* 2002;277:47225-34.
- 51) Lawrence JB, Oxvig C, Overgaard MT, et al. The insulin-like growth factor (IGF)-dependent IGF binding protein-4 protease secreted by human fibroblasts is pregnancy-associated plasma protein-A. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999;96(6):3149-53.
- 52) Li XP, Zhou SH, Tang JJ, et al. Association between plasma pregnancy-associated plasma protein a and restenosis after percutaneous coronary angioplasty. *Circ J* 2008;72:729-33.
- 53) Lin TM, Galbert SP, Kiefer D, et al. Characterization of four human pregnancy-associated plasma proteins. *Am J Obstet Gynecol* 1974;118(2):223-36.
- 54) Lohse H, Ludwig R, Röhr M. *Statistische Verfahren für Psychologen, Pädagogen und Soziologen*. Berlin:VWV,1982:p132.
- 55) Lund J, Qin Q-P, Ilva T, Pettersson K, et al. Circulating pregnancy-associated plasma protein-A predicts outcome in patients with acute coronary syndrome but no troponin I elevation. *Circulation* 2003;108:1924-6.
- 56) Lund J, Qin QP, Ilva T, et al. Pregnancy-associated plasma protein A: a biomarker in acute ST-elevation myocardial infarction (STEMI). *Ann Med* 2006;38:221-8.

- 57) McNamara RL, Wang Y, Herrin J, et al. Effect of door-to-balloon time on mortality in patients with ST-segment elevation myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol.* 2006;47:2180–6.
- 58) Mehta RS, Granger ChB, Boden WE, et al., for the TIMACS Investigators. Early versus delayed invasive intervention in acute coronary syndromes. *N Engl J Med* 2009;360:2165–2175.
- 59) Monget P, Mazerbourg S, Delpuech T, et al. Pregnancy-associated plasma protein-A is involved in insulin-like growth factor binding protein-2 (IGFBP-2) proteolytic degradation in bovine and porcine preovulatory follicles: identification of cleavage site and characterization of IGFBP-2 degradation. *Biol Reprod* 2003;68:77-86.
- 60) Moons KG, Biesheuvel CJ, Grobbee DE. Test research versus diagnostic research. *Clin Chem* 2004;50:473-6.
- 61) Mueller T, Dieplinger B, Poelz W, Haltmayer M. Increased pregnancy-associated plasma protein-A as a marker for peripheral atherosclerosis: results from the Linz Peripheral Arterial Disease Study. *Clin Chem* 2006;52:1096-103.
- 62) Mueller T, Dieplinger B, Forstner T, et al. Pregnancy-associated plasma protein-A as a marker for long-term mortality in patients with peripheral atherosclerosis: inconclusive findings from the Linz Peripheral Arterial Disease (LIPAD) study. *Clin Chem Lab Med* 2010;48:537-42.

- 63) Nallamotheu B, Fox KA, Kennelly BM, et al. Relationship of treatment delays and mortality in patients undergoing fibrinolysis and primary percutaneous coronary intervention. The Global Registry of Acute Coronary Events. *Heart*. 2007;93:1552–5.
- 64) Overgaard MT, Haanning J, Boldt HB, et al. Expression of recombinant human pregnancy-associated plasma protein–A and identification of the proform of eosinophil major basic protein as its physiological inhibition. *J Biol Chem* 2000;275:31128-31133.
- 65) Oxvig C, Sand O, Kristensen T, et al. Circulating human pregnancy-associated plasma protein-A is disulfide-bridged to the proform of eosinophil major basic protein. *J Biol Chem* 1993;268:12243-6.
- 66) Qin Q-P, Kokkala S, Lund J, et al. Molecular distinction of circulating pregnancy-associated plasma protein A in myocardial infarction and pregnancy. *Clin Chem* 2005;51:75-83.
- 67) Qin Q-P, Laitinen P, Majamaa-Voltti K, et al. Release patterns of pregnancy associated plasma protein A (PAPP-A) in patients with acute coronary syndromes. *Scand Cardiovasc J* 2002;36:358-61.
- 68) Rivera GM, Fortune JE. Selection of the dominant follicle and insulin-like growth factor (IGF)-binding proteins: evidence that pregnancy-associated plasmaprotein A contributes to proteolysis of IGF-binding protein 5 in bovine follicular fluid. *Endocrinology* 2003;144:437-46.

- 69) Rossen M, Iversen K, Teisner A, et al. Optimisation of sandwich ELISA based on monoclonal antibodies for the specific measurement of pregnancy-associated plasma protein (PAPP-A) in acute coronary syndrome. *Clin Biochem* 2007;40:478-84.
- 70) Sangiorgi G, Mauriello A, Bonanno E, et al. Pregnancy-associated plasma protein-a is markedly expressed by monocyte-macrophage cells in vulnerable and ruptured carotid atherosclerotic plaques: a link between inflammation and cerebrovascular events. *J Am Coll Cardiol* 2006;47:2201-11.
- 71) Silaharoglu AN, Tümer Z, Kristensen T, et al. Assignment of the human gene for pregnancy-associated plasma protein A (PAPPA) to 9q33.1 by fluorescence in situ hybridization to mitotic and meiotic chromosomes. *Cytogenet Cell Genet* 1993;62:214-6.
- 72) Sjøe R, Overgaard MT, Thomsen AR, et al. Expression of recombinant urinepregnancy- associated plasma protein-A (PAPP-A) and a novel variant (PAPP-Ai) with differential proteolytic activity. *Eur J Biochem* 2002;269:2247-56.
- 73) Stulc T, Malbohan I, Malik J, et al. Increased levels of pregnancy-associated plasma protein-A in patients with hypercholesterolemia: the effect of atorvastatin treatment. *Am Heart J* 2003;146:E21.
- 74) Swets JA. Measuring the accuracy of diagnostic systems. *Science* 1988;240:1285-1293.



- 75) Terkelsen CJ, Oxvig C, Nørgaard BL, et al. Temporal course of pregnancy-associated plasma protein-A in angioplasty-treated ST-elevation myocardial infarction patients and potential significance of concomitant heparin administration. *Am J Cardiol* 2009;103:29-35.
- 76) Terti R, Wittfooth S, Porela P, et al. Intravenous administration of low molecular weight and unfractionated heparin elicits a rapid increase in serum pregnancy-associated plasma protein A. *Clin Chem* 2009;55:1214-7.
- 77) Wald NJ, Watt HC, Hackshaw AK. Integrated screening for Down's syndrome on the basis of tests performed during the first and second trimesters. *N Engl J Med* 1999; 341:461-7.
- 78) Weyer K, Overgaard MT, Laursen LS, et al. Cell surface adhesion of pregnancy-associated plasma protein-A is mediated by four clusters of basic residues located in its third and fourth CCP module. *Eur J Biochem* 2004;271:1525-35.

## 10. Přílohy – přehled publikací

### 10.1. Články v zahraničních (impaktovaných) časopisech vztahující se k tématu práce

- 1) Hájek P, Macek M, Pešková M, Hladíková M, Hansvenclová E, Malý M, Veselka J, Krebsová A. High positive predictive value of PAPP-A for acute coronary syndrome diagnosis in heparin-naïve patients. *J Thromb Thrombolysis* 2012;34:99-105. (IF 1,5)
- 2) Hájek P, Macek M Sr, Lashkevich A, Klučková H, Hladíková M, Hansvenclová E, Malý M, Veselka J, Krebsová A. Influence of concomitant heparin administration on pregnancy-associated plasma protein-A levels in acute coronary syndrome with ST segment elevation. *Arch Med Sci* 2011;7:977-83. (IF 1,2)
- 3) Hajek P, Macek M Sr. Pregnancy associated plasma protein a as a quick and sensitive biomarker in early phase of acute coronary syndrome. *Am J Cardiol* 2008;102:954. (IF 3,4)
- 4) Hájek P, Macek M, Hladíková M, Houbová B, Alan D, Durdil V, Fiedler J, Malý M, Ošťádal P, Veselka J, Krebsová A. Pregnancy-associated plasma protein A and proform eosinophilic major basic protein in the detection of different types of coronary artery disease. *Physiol Res* 2008;57:23-32. (IF 1,6)

## 10.2. Články v domácích časopisech vztahující se k tématu práce

- 1) Hájek P, Macek M. Plazmatický protein A spojený s těhotenstvím v patofyziologii, diagnostice a prognóze ischemické choroby srdeční. *Cor Vasa* 2010;52:453–457.

## 10.3. Abstrakta ze zahraničních kongresů vztahující se k tématu práce

- 1) Hajek P, Macek M Sr, Lashkevich A, Kluckova H, Hladikova M, Hansvenclova E, Maly M, Krebsova A, Veselka J. The increase of pregnancy associated plasma protein-A is directly linked to heparin administration not only to acute coronary syndrome. *Eur Heart J (Abstract Supplement)* 2010;31:193.
- 2) Hajek P, Macek M, Hladikova M, Maly M, Ostadal P, Hansvenclova E, Veselka J, Krebsova A. Pregnancy—associated plasma protein-A and proform of eosinophilic major basic protein in the detection of acute coronary syndrome. *Atherosclerosis (Abstract Supplement)* 2008;9:178.
- 3) Hajek P, Macek M sr, Hansvenclova E, Hladikova M, Houbova B, Maly M, Veselka J, Krebsova A. Higher admission levels of PAPP-A/proMBP complex are associated with worse prognosis after STEMI. *Eur Heart J (Abstract Supplement)* 2007;28:566-567.
- 4) Macek M Sr, Hajek P, Ostadal P, Lashkevich A, Chudoba D, Kluckova H, Simandlova M, Vlk R, Spalova I, Turnovec M, Diblík J, Havlovicova M, Macek M Jr.

Verification of an improved strategy for combined first trimester screening and of commercial PAPP-A/proMBP complex examination for early detection of acute coronary disease. *Eur J Hum Genet* 2007;15:137.

- 5) Hajek P, Macek M sr, Hladikova M, Alan D, Ostadal P, Maly M, Veselka J, Krebsova A. Pregnancy-associated plasma protein-A/proform of eosinophil major basic protein complex in acute myocardial infarction with ST elevation. *Eur Heart J (Abstract Supplement)* 2006;27:634.
- 6) Hajek P, Macek M, Hladikova M, Houbova B, Alan D, Durdil V, Fiedler J, Maly M, Ostadal P, Veselka J. Pregnancy-Associated Plasma Protein A and Proform Eosinophilic Major Basic Protein in the Detection of Different Types of Coronary Artery Disease. *Am J Cardiol* 2006; *Angioplasty Summit Abstracts*: AS-167.
- 7) Macek Sr M, Hájek P, Cuckle H, Houbová B, Simandlová M, Havlovicová M, Vlk R, Špálová I, Diblík J, Vilímová Š, Potužníková P. PAPP-A and proMBP proteins in contingent prenatal biochemical screening and detection of different types of coronary artery diseases. *Eur J Hum Genet* 2005;13:183.

#### **10.4. Přednášky na zahraničních kongresech vztahující se k tématu práce**

- 1) Hájek P. The diagnostic significance of PAPP-A for patients with acute chest pain. 54th Annual World Congress (ICA 2012), International College of Angiology, Innsbruck, 14.-16.9.2012.

- 2) Hajek P et al. Influence of concomitant heparin administration on pregnancy-associated plasma protein-A kinetics: need for reassessment of the diagnostic (prognostic) value in acute coronary syndrome. 52nd Annual World Congress (ICA 2010), International College of Angiology, Kentucky, USA, 17.-19.10.2010

#### **10.5. Abstrakta z domácích kongresů vztahující se k tématu práce**

- 1) Hájek P, Macek Sr M, Pešková M, Hladíková M, Hansvenclová E, Malý M, Veselka J, Krebsová A. Vysoká pozitivní prediktivní hodnota plazmatického proteinu A spojeného s těhotenstvím v diagnostice akutního koronárního syndromu. XX. Výroční sjezd České kardiologické společnosti 2012.
- 2) Hájek P, Macek M, Lashkevich A, Klučková H, Hladíková M, Hansvenclová E, Malý M, Veselka J, Krebsová A. Heparin zvyšuje hladinu Pregnancy-associated plasma proteinu A nejen u akutního koronárního syndromu. XIX. Výroční sjezd České kardiologické společnosti 2011.
- 3) Hájek P, Macek M SR, Adlová R, Hansvenclová E, Malý M, Hladíková M, Klučková H, Lashkevich A, Krebsová A, Veselka J. PAPP-A/proMBP u nemocných s normálním koronárním angiogramem. XVII. Výroční sjezd České kardiologické společnosti 2009.
- 4) Hájek P, Macek Sr. M, Ošťádal P, Hansvenclová E, Hladíková M, Malý M, Veselka J, Krebsová A. Význam intervalu “Bolest – Odběr” na hladinu komplexu Pregnancy-

- associated plasma protein-A/proform of eosinophil major basic protein u akutního koronárního syndromu. XVI. Výroční sjezd České kardiologické společnosti 2008:17
- 5) Hájek P, Macek M Sr, Hansvenclová E, Hladíková M, Houbová B, Malý M, Veselka J, Krebsová A. Vysoká hladina PAPP-A je ukazatelem horší prognózy nemocných s akutním infarktem myokardu s ST elevacemi. XV. Výroční sjezd České kardiologické společnosti 2007;49(4).
  - 6) Hájek P, Macek M sr, Hladíková M, Alan D, Durdil V, Fiedler J, Malý M, Ošřádal P, Veselka J, Krebsová A. Využití komplexu Pregnancy Associated Plasma Protein A a Proforma Eosinophilic Major Basic Protein v diagnostice různých forem ischemické choroby srdeční. XIV. Výroční sjezd České kardiologické společnosti 2006.
  - 7) Hájek P, Macek M. Využití komplexu pregnancy associated plazma proteinu A a proformy eosinofilic major basic proteinu v diagnostice různých forem ischemické choroby srdeční. 4. konference PS Akutní kardiologie ČKS 2005.

#### **10.6. Články v zahraničních (impaktovaných) časopisech nevztahující se k tématu práce**

- 1) Hajek P, Adla T, Taborska K, Veselka J. Computed tomography angiography-guided recanalization of saphenous vein graft chronic total occlusion. Arch Med Sci 2011;7:732-5. (IF 1,2)

- 2) Hajek P, Alan D, Vejvoda J, Linhartova K, Skapa P, Hajsmanova Z, Veselka J.  
Treatment of a large left main coronary artery thrombus by aspiration thrombectomy.  
J Thromb Thrombolysis 2009;27:352-4. (IF 1,5)

#### **10.7. Články v domácích časopisech nevztahující se k tématu práce**

- 1) Hájek P. Načasování a výběr způsobu revaskularizace při akutním koronárním syndromu bez elevací úseku ST s vícečetným postižením věnčitých tepen. Cor Vasa 2010;52:447–452.

#### **10.8. Přednášky na zahraničních kongresech nevztahující se k tématu práce**

- 1) Hájek P, Vejvoda J, Čípera R, Adlová R, Alan D, Veselka J. Successful treatment of prolonged out-of-hospital cardiac arrest with automatic mechanical chest compression enabling performance of primary PCI. Transcatheter Cardiovascular Therapeutics, TCT 2012, Miami, FL, USA, 22.-26.10.2012.
- 2) Hajek P. Treatment of the Large Left Main Coronary Artery Thrombus by Aspiration Trombectomy. Angioplasty Summit 2008-TCT Asia Pacific, Soul, Jižní Korea.

#### **10.9. Přednášky na domácích kongresech nevztahující se k tématu práce**

- 1) Hájek P. Hypertrofie levé komory a co dál... ECHO dny, Špindlerův mlýn, 21.9.2012.

- 2) Hájek P. Invasive physiological assessment of coronary disease in clinical practice, Prague Intervention VI, 8.6.2012.
- 3) Hájek P, Adla T, Táborská K, Veselka J. Užití CT angiografie při PCI uzavřeného žilního bypassu. XVIII. Výroční sjezd České kardiologické společnosti Brno 2010.
- 4) Hájek P, Alan D, Durdil V, Fiedler J, Hansvenclová E, Hladíková M, Malý M, Ošťádal P, Popelová J, Vojáček J, Veselka J. PCI u osob starších 70 let: výsledky dlouhodobého sledování. XIII. Výroční sjezd České kardiologické společnosti, Brno 8.-11.5.2005

#### **10.10. Spoluautorství**

- 1) Veselka J, Zimolová P, Martinkovičová L, Tomašov P, Hájek P, Malý M, Spaček M, Zemánek D, Tesař D. Comparison of mid-term outcomes of carotid artery stenting for moderate versus critical stenosis. Arch Med Sci 2012;8:75-80.
- 2) Veselka J, Zemánek D, Hájek P, Malý M, Adlová R, Martinkovičová L, Tomašov P, Tesař D. Effect of two-day atorvastatin pretreatment on long-term outcome of patients with stable angina pectoris undergoing elective percutaneous coronary intervention. Am J Cardiol 2011;107:1295-9.
- 3) Veselka J, Malý M, Zemánek D, Hájek P, Martinkovicová L, Tomašov P. Effect of MGuard net protective stent on the release of troponin I in patients with acute coronary syndromes. A randomized controlled trial. Int Heart J 2011;52:203-6.



- 4) Veselka J, Hájek P, Malý M, Zemánek D, Adlová R, Tomašov P, Martinkovičová L, Tesař D, Cervinka P. Predictors of coronary intervention-related myocardial infarction in stable angina patients pre-treated with statins. *Arch Med Sci* 2011;7:67-72.
- 5) Veselka J, Zimolová P, Špaček M, Hájek P, Malý M, Tomašov P, Martinkovičová L, Zemánek D. Comparison of carotid artery stenting in patients with single versus bilateral carotid artery disease and factors affecting midterm outcome. *Ann Vasc Surg* 2011;25:796-804.
- 6) Ostadal P, Alan D, Vejvoda J, Kukacka J, Macek M, Hajek P, Mates M, Kvapil M, Kettner J, Wiendl M, Aschermann O, Slaby J, Holm F, Telekes P, Horak D, Blasko P, Zemanek D, Veselka J, Cepova J. Fluvastatin in the first-line therapy of acute coronary syndrome: results of the multicenter, randomized, double-blind, placebo-controlled trial (the FACS-trial). *Trials* 2010;11:61.
- 7) Hubacek JA, Stanek V, Gebauerová M, Pilipcincová A, Dlouhá D, Poledne R, Aschermann M, Skalická H, Matousková J, Kruger A, Penicka M, Hrabáková H, Veselka J, Hájek P, Lánská V, Adámková V, Pitha J. A FTO variant and risk of acute coronary syndrome. *Clin Chim Acta* 2010;411(15-16):1069-72.
- 8) Veselka J, Zemánek D, Hájek P, Malý M, Adlová R, Martinkovicová L, Tesar D. Effect of two-day atorvastatin pretreatment on the incidence of periprocedural myocardial infarction following elective percutaneous coronary intervention: a single-center, prospective, and randomized study. *Am J Cardiol* 2009;104(5):630-3.

- 9) Veselka J, Cerná D, Zimolová P, Martinkovicová L, Fiedler J, Hájek P, Malý M, Zemánek D, Duchonová R. Feasibility, safety, and early outcomes of direct karotid artery stent implantation with use of the FilterWire EZ Embolic Protection System. *Catheter Cardiovasc Interv* 2009;73(6):733-8.
- 10) Maly M, Hrachovinova I, Tomasov P, Salaj P, Hajek P, Veselka J. Patients with acute coronary syndromes have low tissue factor activity and microparticle count, but normal concentration of tissue factor antigen in platelet free plasma: a pilot study. *Eur J Haematol* 2009;82(2):148-53.
- 11) Veselka J, Cerná D, Zimolová P, Blasko P, Fiedler J, Hájek P, Maly M, Zemánek D, Duchonová R. Thirty-day outcomes of direct carotid artery stenting with cerebral protection in high-risk patients. *Circ J* 2007;71(9):1468-72.
- 12) Malý MA, Tomasov P, Hájek P, Blasko P, Hrachovinová I, Salaj P, Veselka J. The role of tissue factor in thrombosis and hemostasis. *Physiol Res* 2007;56(6):685-95.
- 13) Veselka J, Duchonová R, Páleníčková J, Zemánek D, Sváb P, Hájek P, Maly M, Blasko P, Tesar D, Cervinka P. Age-related hemodynamic and morphologic differences in patients undergoing alcohol septal ablation for hypertrophic obstructive cardiomyopathy. *Circ J* 2006;70:880-4.
- 14) Mates M, Hrabos V, Hajek P, Rataj O, Vojacek J. Long-term follow-up after deferral of coronary intervention based on myocardial fractional flow reserve measurement. *Coron Artery Dis* 2005;16(3):169-74.

- 15) Ostadal P, Alan D, Hajek P, Vejvoda J, Mates M, Blasko P, Veselka J, Kvapil M, Kettner J, Wiendl M, Aschermann O, Slaby J, Nemecek E, Holm F, Rac M, Macek M, Cepova J. Fluvastatin in the therapy of acute coronary syndrome: Rationale and design of a multicenter, randomized, double-blind, placebo-controlled trial (The FACS Trial)[ISRCTN81331696]. *Curr Control Trials Cardiovasc Med* 2005;24:6(1):4.
- 16) Mates M, Hrabos V, Hájek P, Malý M, Horák D, Fiedler J, Durdil V, Vojáček J. Deferral of coronary intervention based on measurement of myocardial fractional flow reserve. *Vnitr Lek* 2004;50(8):600-5.
- 17) Malý M, Vojáček J, Hadacová I, Mates M, Hájek P, Durdil V. Assessment of speed of an anti-platelet effect after two different doses of acetylsalicylic acid by flocculation. *Vnitr Lek* 2004;50(6):428-33.
- 18) Ostadal P, Alan D, Hajek P, Horak D, Vejvoda J, Trefanec J, Mates M, Vojacek J. The effect of early treatment by cerivastatin on the serum level of C-reactive protein, interleukin-6, and interleukin-8 in the patients with unstable angina and non-Q-wave myocardial infarction. *Mol Cell Biochem* 2003;246(1-2):45-50.
- 19) Mates M, Hrabos V, Vojáček J, Hájek P, Malý M, Horák D, Fiedler J, Durdil V. Angiographically marginally significant coronary stenoses-postponement of intervention based on measurement of myocardial fractional flow reserve. *Vnitr Lek* 2002;48(5):363-7.

- 20) Chlumský J, Charvát J, Hájek P. Sonography findings in the carotid arteries in diabetics before aortocoronary bypass. *Vnitr Lek* 2001;47(11):744-6.