

**UNIVERZITA KARLOVA**  
**3. LÉKAŘSKÁ FAKULTA**



**Doktorandská dizertační práce**

# **Remodelace levé komory**

**MUDr. Radovan Jirmář**

III. interní-kardiologická klinika 3. LF UK a FNKV v Praze

Školitel: prof. MUDr. Petr Widimský, DrSc.

Praha 2006

## OBSAH

PŘEDMLUVA.....	3
PODĚKOVÁNÍ.....	4
SEZNAM ZKRATEK.....	5

### 1. OBECNÁ ČÁST- ÚVOD DO PROBLEMATIKY REMODELACE LEVÉ KOMORY

1.1. Definice remodelace levé komory, základní procesy vedoucí k remodelaci levé komory a jejich vliv na změnu morfologie a metabolismus myokardu.....	6
1.2. Koncentrická a excentrická hypertrofie levé komory – adaptace či maladaptace na zvýšenou tlakovou zátěž ?.....	9
1.2.1. wall stress hypotéza	
1.2.2. adaptivní a maladaptivní signály indukované tlakovým přetížením	
1.3. Remodelace levé komory po infarktu myokardu.....	11
1.4. Klinické aspekty remodelace levé komory.....	15
1.4.1. základní aspekty remodelace významné z hlediska klinické praxe	
1.4.2. klinické zobrazovací metody posuzující remodelaci levé komor	
1.4.3. terapeutického zásahy do remodelace levé komory	
1.5. Je proces remodelace maladaptací od samého počátku?.....	24
1.6. Závěr.....	25
1.7. Literatura.....	26

### 2. PŮVODNÍ PRÁCE.....29

<b>2.1. Změny metabolismu srdečního kolagenu predikují remodelaci levé komory po infarktu myokardu.....</b>	<b>29</b>
2.1.1. Souhrn.....	30

2.1.2. Úvod.....	31
2.1.3. Materiál a metody.....	32
2.1.4. Výsledky.....	35
2.1.5. Diskuse .....	39
2.1.6. Závěr.....	41
2.1.7. Použitá literatura.....	42
2.1.8. Tabulky a obrázky.....	45
<b>3. SOUHRN PŮVODNÍ PRÁCE .....</b>	<b>53</b>
<b>4. LITERATURA AUTORA</b>	
4.1. Originální publikované práce se vztahem k tématu práce.....	54
4.2. Abstrakta z konferencí.....	75
4.3. Přednášky .....	77

## PŘEDMLUVA

S problematikou remodelace levé komory se setkáváme již řadu let jak v experimentálních, tak klinických studiích. Od období prací, které proces remodelace pouze popisovali, jsme se překlenují přes období klinických lékových studií prokazujících možnost regrese remodelace levé komory s následným příznivým vlivem na prognózu pacientů (léčba inhibitory ACE, betablokátory) až do současné doby. V ní dominuje výzkum signálních cest regulujících proces remodelace a hledání dalších léčebných zásahů na celulární či subcelulární úrovni. V posledních deseti letech jsme zažili velký rozmach biochemických metod (stanovení hladin BNP, katecholaminů, řady cytokinů a hladiny endotelinů), které spolu s rozvojem zobrazovacích klinických metod (např. pulzní tkáňová dopplerovská echokardiografie či magnetické rezonance) značně prohloubily naše vědomosti o patofyziologii remodelace levé komory.

Existuje mnoho klinických prací, které zkoumají remodelaci levé komory z pohledu poškození myocytů, mnohem méně je však v klinické kardiologii známo o významu intersticia lidského myokardu a změnách jeho proteinového profilu pro proces remodelace levé komory.

Cílem této doktorandské práce bylo: a) posoudit možnost detekce změn metabolismu srdečního kolagenu za podmínek *in vivo*; b) využít takto detekovaných změn metabolismu myokardiálního kolagenu pro predikci rozsahu remodelace levé komory u pacientů s akutním infarktem myokardu.

## PODĚKOVÁNÍ

Mé poděkování patří všem, kteří se spolupodíleli na vzniku této doktorandské práce. Je to především můj školitel prof. MUDr. Petr Widimský, DrSc., jemuž jsem zavázán za cenné rady, které předcházely vzniku původní práce, a za odborné vedení v dalším období doktorandského studia; dále bych chtěl poděkovat prof. RNDr. Václavu Pelouchovi CSc., který mě uvedl do problematiky srdečního kolagenu a svou odbornou pomocí během celého doktorandského studia se významně podílel na tom, že jsem toto studium mohl zakončit sepsáním dizertační práce. Mé díky patří i prof. MUDr. Michalu Andělovi CSc. za jeho podnětné nápady a rady při zahájení série projektů posuzujících význam srdečního kolagenu v klinické kardiologii. Poděkování rovněž patří mnoha dalším spolupracovníkům za jejich odbornou nebo lidskou pomoc.

**SEZNAM ZKRATEK**

ACE	angiotensin konvertující enzym
ANP, BNP	atrial, brain natriuretic peptide
CK	enzym kreatinfosfokináza
CKMB	srdeční frakce enzymu kreatinfosfokinázy
CRT	srdeční resynchronizační terapie
ECM	extracelulární matrix
EF	ejekční frakce
ICHS	ischemická choroba srdeční
ICTP	karboxyterminálního telopeptidu kolagenu typu I
IM	infarkt myokardu
LVEDVi	indexovaný enddiastolický objem levé komory
MAP	proteinkináza aktivovaná mitogeny
MMP	metalloproteináza
NO	oxid dusnatý
RAAS	renin-angiotensin-aldosteronový systém
PCI	primární koronární intervence
PICP	karboxyterminální propeptid kolagenu typu I
PIIINP	aminoterminální propeptid kolagenu typu III
STEMI	akutní infarkt myokardu s elevacemi ST úseků
TDE	tkáňový doppler
TGF $\beta$	transforming growth factor $\beta$
TIMP	tkáňové inhibitory metalloproteináz
TNF – $\alpha$	tumor necrosis factor alfa

## 1. Obecná část - úvod do problematiky remodelace levé komory

### 1.1. Definice remodelace levé komory, základní procesy vedoucí k remodelaci levé komory a jejich vliv na změnu morfologie, funkce a metabolismu myokardu.

Koncept remodelace levé komory pochází z roku 1985, kdy byla publikována experimentální studie (1) popisující dilataci a změnu funkce levé komory v důsledku ligace koronární arterie u laboratorních krys. Autoři tyto změny v architektonce levé komory nazvali remodelací. Proces poinfarktové remodelace levé komory byl dále blíže definována v roce 1990 (2) jako změny komorové architektony rozvíjející se v akutní i chronické fázi infarktu myokardu. V dalších letech se termín remodelace levé komory začal používat všeobecně pro změny architektony levé komory vzniklé na podkladě tlakového či objemového přetížení levé komory. Dnes je zřejmé, že změny tvaru a velikosti levé komory jsou podmíněny nejen postižením vzájemného spojení a metabolismu myocytů, ale také změnou metabolismu non – myocytárních buněk jako např. fibroblastů. Navozený proces fibrotizace tak doplňuje myocytární remodelaci levé komory (3). Všeobecně lze říci, že remodelaci levé komory můžeme také definovat jako proces exprese genů regulujících složení kontraktálních elementů, cytoskeletu, extracelulární matrix, iontovou homeostázu, apoptózu myocytů a projevující se klinicky jako změny velikosti, tvaru a funkce levé či pravé komory.

Mezi základní procesy formující remodelaci levé komory byly zařazeny:

- a) *koncentrická hypertrofie* podmíněná tlakovým přetížením myocytů a vedoucí k jejich zbytnění,
- b) *excentrická hypertrofie* v důsledku objemového přetížení a protažení myocytů a již zmíněná

- c) *kombinace tlakového a objemového přetížení* (např. poinfarktová remodelace levé komory či jiná vzniklá na podkladě ztráty myocytů)

Remodelace levé komory je spojena často s přestavbou – remodelací struktury cévní stěny, kde dochází k odchýlkám v metabolismu buněk hladké svaloviny cévní stěny, fibroblastů a endoteliálních buněk. Všechny tyto zmíněné procesy může zahrnout pod pojem remodelace a reparace kardiovaskulárního systému.

Myokard je tvořen z 85% kardiálními myocyty. Odchytky ve velikosti, tvaru a počtu myocytů během tlakového, objemového přetížení či kombinace obou činitelů jsou rozhodujícím faktorem určujícím změny velikosti a tvaru levé komory. Kromě velikosti zatížení je rozhodující i délka trvání stimulu. *Zvýšení tlakové zátěže* vede k indukci koncentrické hypertrofie (4) – síla stěny se zvyšuje bez zvětšení velikosti levé komory. Tento fenomén je spojen s laterální expanzí myocytů beze změny jejich počtu a průměrné délky. Na subcelulární úrovni je tento proces charakterizován proliferací myofibril s paralelním přidáváním nových jednotek. V myofibrilách se vyskytují následující proteiny: *kontraktilní proteiny* (50% tvoří myosin, 25% aktin), 20% jsou *regulační proteiny* (troponiny a tropomyosiny) a zbytek jsou různé *modulační proteiny* (např. titin, C-, M- proteiny a další bílkoviny, které se podílejí jak na regulaci struktury myofibrily, tak ovlivňují rychlost kontrakce). Všechny *kontraktilní proteiny* srdečního svalu se vyskytují v řadě isoform – jejich syntéza a procentuální zastoupení v srdečních oddílech je ovlivněno řadou patologických situací a je charakteristické i pro jednotlivé typy remodelace tak, jak jsou popsány výše. Paralelně se změnami kontraktilních proteinů, mění se i aktivita různých *metabolických proteinů* – jde o enzymy přeměny cukrů, tuků a proteinů, které jsou lokalizovány v mitochondriích a cytozolu. Podobně jako kontraktilní proteiny se mění v rámci remodelace srdeční tkáně i tato část proteinového profilu srdečního svalu.



Proteinová remodelace je proto kvalitativní i kvantitativní změna nejen *metabolických, kontraktilních, regulačních, modulačních* ale také kolagenních proteinů (viz dále).

Zvýšená objemová zátěž vede k dilataci levé komory a její excentrické hypertrofii.

Proces je charakterizován protažením myocytů v důsledku replikace sarkomer a jejich sériového připojení pouze s diskrétními změnami v příčném rozměru myocytů.

V případě kombinace obou stimulů myocyty se zvětšují jak v délce tak příčném rozměru. Hypertrofie levé komory se může rozvíjet kromě výše zmíněných stimulů také vlivem hormonální stimulace angiotensinem II či noradrenalinem (growth regulating factors) (3).

Od výše uvedených typů remodelace se poněkud liší remodelace levé komory, se kterou se setkáváme po infarktu myokardu či vlivem stárnutí, t.j. remodelace iniciovaná ztrátou myocytů fokálně či difúzně. Zejména fokální ztráta myocytů způsobuje kompenzatorní přetížení nepoškozených oblastí s následnou lokální hypertrofií a dilatací.

Změny morfologie a struktury srdečních myocytů se tedy rozhodující měrou podílí na remodelaci levé komory. Přibývají však důkazy, že rovněž *non-myocytární kompartment* hraje důležitou roli v tomto procesu (5). V tomto kompartmentu je velmi heterogenní bílkovinné složení (6): kolagenní proteiny, které jsou tvořeny různými kolageny (dominantní jsou fibrilární kolageny typ I a III, nefibrilární kolageny typu IV a V), nekolagenními glykoproteiny (např. fibronectin, laminin), proteoglykany (např. heparansulfát, dermatansulfát), růstové faktory (PDGF, FGF, cytokiny), řada metalloproteináz (Ca dependentní enzymy, které vyžadují k aktivaci Zn ionty) i další bílkoviny (např. elastin). Jsou podány důkazy o změně ve složení a struktuře srdečního kolagenu během procesu remodelace (6,7,8). Tyto změny neovlivňují pouze mechanické vlastnosti srdečního svalu, ale hrají významný podíl na celkovém

procesu remodelace levé komory, jak bude uvedeno ještě dále. Existuje několik důvodů, proč je dosud kolagen pokládán za mysteriózní protein myokardu: 1. tvoří pouze malé procento z celkové bílkoviny srdečního svalu, 2. detekce kolagenních proteinů proto vyžaduje specializované analytické a morfologické techniky, 3. preparační postupy nejsou dostatečně specifické – jednotlivé komponenty ECM nemusí být proto vždy z tkáně kompletně extrahovány; následně měřené kvalitativní a kvantitativní parametry kolagenní proteinů neodpovídají vždy skutečnosti - klinické či experimentální nálezy mohou proto být i chybně interpretovány.

## **1.2. Koncentrická a excentrická hypertrofie levé komory - adaptace či maldaptace na zvýšenou tlakovou a objemovou zátěž?**

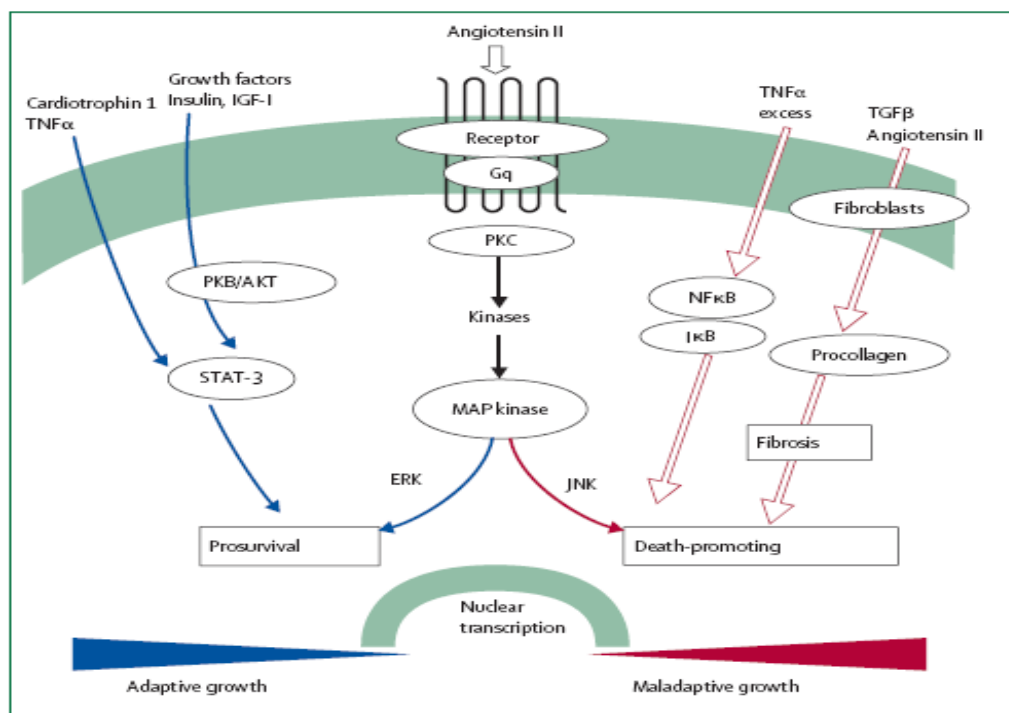
### 1.2.1. „wall stress“ hypothesis

Při sledování procesu remodelace levé komory a jejího hemodynamického dopadu se nabízí otázka, kdy se ještě jedná o formu adaptace na stimulační podněty a kdy již o maladaptaci. K vysvětlení tohoto protikladu může přispět teorie o regulaci napětí stěny levé komory a analýza molekulární procesů, které se objevují v důsledku změny napětí myocytů a které můžeme např. ovlivňovat transgeneticky. Podle Grossmanovy teorie (4) o zachování systolického napětí stěny (wall stress hypothesis) vycházející z Laplaceova zákona platí, že zvýšené napětí ve stěně komory v důsledku jejího tlakové přetížení vede k ztlušťování myocytů a tím k zesílení stěny komory. Zesílení stěny pak vede ke snížení jejího napětí. Jestliže je hypertrofie adekvátní, napětí stěny se normalizuje a srdeční mechanika je tak v kompenzovaném stavu. Rovněž tak objemové přetížení s elongací a excentrickou hypertrofií vede ke kompenzaci stavu. Avšak další pokračování adaptačního procesu

na zatížení obvykle vede k přechodu do stadia srdečním selhávání (9,10). Nejasnost v příčině přechodu do maladaptace si vyžádala výzkum signálních procesů spouštějících remodelaci levé komory.

### 1.2.2. adaptivní a maladaptivní signály indukované tlakovým přetížením

Základní hypotéza vyplývající z podstaty těchto signálních procesů říká, že myocyt může proces zatížení přežít a dochází k jeho hypertrofii či elongaci nebo podle programu buněčné smrti – apoptóze (11). Podle toho, která z forem dominuje, dochází k adaptaci či rozvoji srdečního selhání. Vlastní zvýšení mechanického napětí myokardu vede k aktivaci signálních cest na molekulární úrovni. Jedna ze signálních cest je představována zvýšenou syntézou angiotensinu II v myokardu v důsledku zvýšeného napětí stěny levé komory (4). Po jeho navázání na receptor pro angiotensin II dochází k aktivaci G proteinu (Gq) a následně proteinkinázy C s aktivací signálů pro enzymový komplex proteinkinázy aktivované mitogeny (MAP), obr.1. Některé komponenty MAP komplexu podporují přežívání myocytů jiné stimulují apoptózu. Jiná signální cesta je prezentována účinkem cytokinů; cytokiny jako tumor necrosis factor  $\alpha$  (TNF $\alpha$ ) mohou mít duální účinek; v nízkých koncentracích protektivní, ve vysokých maladaptivní, obr. 1 (12). Další signální cestou může být aktivace tvorby vazivové tkáně v důsledku účinku angiotensinu II, aldosteronu a TGF  $\beta$  (transforming growth factor  $\beta$ ) (11). V práci studující modely myší s transgenní inaktivací proteinu Gq (13) byla hypertrofie méně vyjádřená oproti předpokladu, a tedy nebylo dosaženo plné korekce zvýšeného napětí stěny. Avšak kontraktilita u těchto transgenních myší byla lepší než u kontrolní skupiny myší, kde byla hypertrofie myokardu více vyjádřena. Tyto nálezy jsou poněkud v kontradikci s modelem hypertrofizace myokardu jako procesu kompenzujícího tlakového přepětí



Obr 1

### Signální cesty determinující rozvoj hypertrofie levé komory nebo apoptózy

Signální cesty na levé straně znamenají převážně rozvoj adaptivní hypertrofie, na pravé straně apoptózu myocytů a fibrotizaci (maladaptivní hypertrofie). Hlavní cesta vede od angiotensinu II k mitogenem aktivované proteinkináze (MAP), zde dochází k rozdělení cesty podle toho, která komponenta MAP je aktivována; buď směrem k extracelulárním signálům regulovaným kinázou (ERK) s přežíváním myocytu nebo směrem k Jun N-terminální kináze (JNK) s apoptotickým efektem. Angiotensin II rovněž vede ke stimulaci fibrózy. Proteinkináza C (PKC), proteinkináza B (PKB), insulin like growth factor (IGF-I), transforming growth factor  $\beta$  (TGF $\beta$ ), nuclear factor  $\kappa$ B (NF $\kappa$ B).

Opie LH, Commerford PJ, Gersh BJ, Pfeffer MA. Controversies in ventricular remodelling. Lancet 2006; 367: 356-67.

stěny levé komory. V jiné skupině transgenního modelu (14), ve kterém byla aktivována pouze kináza regulovaná extracelulárními signály (ERK), byla konečným výsledkem adaptivní hypertrofie s normalizací napětí stěny a plnou kompenzací pro zvýšenou zátěž. Ačkoli přesný obraz všech pochodů a počtu buněk zahrnutých do procesu remodelace levé komory není stále znám, lze předpokládat následující scénář na molekulární úrovni: v důsledku zvýšeného napětí myocytů dochází ke zvýšení lokální aktivity angiotensinu II, endotelinu a noradrenalinu. Lze však předpokládat spoluúčast dalších faktorů, jako endotelinů, cytokinů (zejména tumor

necrosis factors a interleukinů) (15,16), oxidu dusnatého (NO) spolu s oxidativním stresem (10,16). Tyto změny vedou k expresi řady genů s následným uvolněním regulačních proteinů ovlivňujících metabolismus myocytů a non - myocytárních buněk. Přehled některých cest a faktorů ovlivňujících remodelaci levé komory je ukázán v tabulce 1.

Tab. 1

### Faktory ovlivňující remodelaci levé komory

růst buněk	fibróza	apoptóza	antiremodelační efekt
angiotensin II TNF – $\alpha$ IGF mechanické napětí katecholaminy endotelin STH	angiotensin II TGF – $\beta$ MMP endotelin mechanické napětí	TNF – $\alpha$	ANP, BNP bradykinin NO

TNF –  $\alpha$  (tumor necrosis factor), IGF (insulin like growth factor), STH (růstový hormon), TGF –  $\beta$  (transforming growth factor), MMP (matrix metalloproteinases), NO (kyslíčnick dusnatý), A(B)NP atrial (brain) natriuretic peptide

### **1.3. Remodelace levé komory po infarktu myokardu**

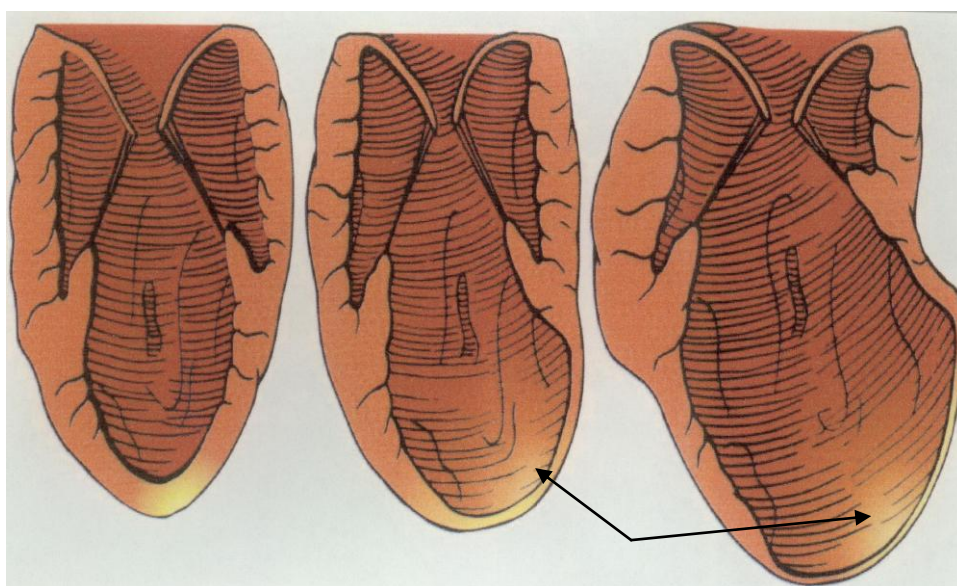
#### *1. základní procesy určující remodelaci po IM*

Tento typ remodelace je charakterizován komplexem progresivních procesů, mezi které patří:

- a) formování a expanze jizvy z nekontraktilního vaziva v místě proběhlého infarktu myokardu (IM);
- b) objemové a druhotně tlakové přetížení zbylých oblastí myokardu levé komory

c) další ischemické inzulty modulující proces remodelace .

Zmíněné procesy vedou na jedné straně k poklesu ejekční frakce (EF) levé komory v závislosti na rozsahu nekrózy, avšak rozvíjející se objemové změny zvyšují tepový výdej v důsledku Starlingova mechanismu, který v kombinaci s tachykardií vede k normalizaci minutového výdeje. Tyto mechanismy lze chápat v časném období po IM jako příznivé pro zachování cirkulace, avšak nepříznivé z dlouhodobého pohledu (17). Postupná dilatace levé komory v chronické fázi IM nevzniká pouze následkem expanze infarktového ložiska (tu vidáme obvykle již ve velmi časném období po IM a odráží postižení kolagenní struktur myokardiálního intersticia s následným posunem myocytů vůči sobě, tzv. slippage myocytů) (18), ale změnami v délce svalových vláken v důsledku chronického objemového přetížení neinfarktových oblastí (obr.2).



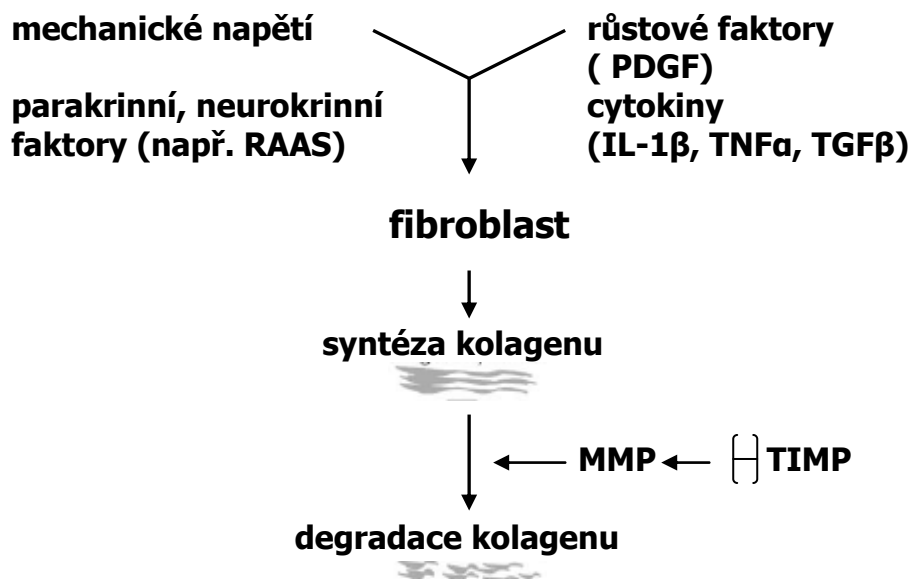
**Obr.2**

Tvarové změny levé komory při ICMS vznikající jako důsledek remodelace její infarktové ( → ), ale i neinfarktové oblasti.

Progredující remodelace levé komory po IM je dlouhodobý (letitý) proces a jeho ovlivnění má zásadní klinický význam, jak bude vedeno dále v textu.

## *2. význam myokardiálního intersticia pro proces hojení IM, pozdní remodelaci po IM a vývoj funkce levé komory*

V období po IM dochází ke zvýšené aktivitě metalloproteináz (MMP) (19), aktivované MMP vedou k rozrušení části stávajícího kolagenu s následnou novotvorbou kolagenu (v prvních fázích zejména kolagen III), který však nezabrání v tzv. posunu myocytů (side-to-side), který je významnou součástí remodelace levé komory (18, 20,21). V důsledku tohoto posunu dochází ke ztenčení stěny levé komory, změněm příčného tvaru myocytů od původně kulatého k elipsoidnímu. Posun myocytů je jasně potvrzen v experimentální kardiologii na zvířecích modelech (18), v oblasti humánní medicíny jsou zatím nálezy pro tento jev ne zcela přesvědčivé. Rovněž poměr aktivit mezi MMP a jejich tkáňovými inhibitory (TIMP), obr. 3, je důležitý s ohledem na vývoj pozdní remodelace po IM (22); převaha TIMP vede k další tvorbě kolagenu v terénu již dilatované komory. Proces přeměny kolagenu je spojený se zvýšenou aktivitou fibroblastů a je provázen také zvýšenou aktivitou růstového faktoru - cytokinu TGFβ (23). Nejen z pohledu experimentálních modelů, ale i z hlediska klinické kardiologie je důležitá spoluúčast renin-angiotensin-aldosteronového systému (RAAS) na procesu novotvorby kolagenu a fibrotizace myokardiálního intersticia. Jak během akutní fáze, tak zejména v chronické fázi IM, ve stadiu aktivní remodelace a zejména ve stadiu srdeční nedostatečnosti dochází k aktivaci tonu sympatiku a aktivaci RAAS. Aktivovaný angiotensin II vede v experimentu k hypertrofii levé komory, intersticiální fibróze a zvýšení hladiny aldosteronu, který stimuluje syntézu kolagenu myokardiálními fibroblasty a podílí se pravděpodobně i na zvýšené apoptóze myocytů (23).



Obr.3

Přehled některých faktorů zasahujících do procesu syntézy a degradace kolagenu.

## 1.4. Klinické aspekty remodelace levé komory

### 1.4.1. základní aspekty remodelace významné z hlediska klinické praxe

Z pohledu klinické kardiologie chápeme remodelaci levé komory především jako tvarové, objemové a funkční změny levé komory navozené tlakovým přetížením (aortální stenóza, arteriální hypertenze), objemovým přetížením (aortální či mitrální insuficience), kombinací obou (po proběhlém infarktu myokardu či prodělané myokarditidě nebo v rámci dilatační kardiomyopatie). Ačkoli etiologie těchto onemocnění je odlišná, procesy vedoucí k remodelaci jsou obdobné (zvláštní postavení má kompenzatorní hypertrofie levé komory u vrcholových sportovců, kterou můžeme nazvat remodelací fyziologickou). V klinické praxi v našich podmínkách se nejčastěji setkáváme s remodelací levé komory u pacientů s ischemickou chorobou srdeční (IČHS), typickým modelem jsou pacienti po akutním IM, proto následující části textu budou věnovány zejména této formě remodelace



levé komory. Proces remodelace levé komory u pacientů s IM začíná velmi brzy, obvykle se rozvíjí během prvních hodin po IM (18,21). Experimentální studie (21), ale i některé klinické studie (20), ukázaly že tzv. expanze infarktového ložiska (akutní dilatace a zeslabení infarktové oblasti, kterou však nelze vysvětlit progresí nekrózy myocytů) se rozvíjí během první dnů po IM (maximum změn bývá obvykle čtvrtý den po IM). Průběh remodelace levé komory po IM je ovlivňován kromě rozsahu proběhlé nekrózy dalšími přídatnými faktory - recidiva IM či recidivující ischemie myokardu, neuroendokrinní aktivace, změny v intersticiu a léčba (20). Následující tabulka č.2 ukazuje jednotlivé mechanismy, které ve výsledku určují rozsah remodelace. Důsledkem těchto změn je také výsledná globální funkce levé komory.

Tab.2

Komplex procesů určujících rozsah remodelace levé komory po IM.

prodloužení myocytů
hypertrofie myocytů
pokračující zánik myocytů
reaktivní zánět a resorpce nekrotické tkáně
tvorba jizvy, zeslabení stěny levé komory
zvýšená produkce kolagenu v intersticiu
expanze infarktového ložiska
změna tvaru celé levé komory

Iniciální fáze remodelace po IM jsou spojeny s reparačními procesy časného poinfarktového období, tedy tvořením jizvy. Tyto procesy lze považovat do určité míry za prospěšné. Dochází k přestavbě struktury stěny levé komory a změnám tvaru.

Cílem těchto změn je udržení či zlepšení tepového výdeje, avšak za cenu zvýšeného objemu levé komory. Remodelace je z výše uvedených příčin provázena progresivním zvětšováním indexovaného endsystolického objemu a poklesem EF levé komory. Řada studií (17,24,25,26) ukázala, že právě tyto parametry jsou signifikantními prediktory mortality. Je však také doloženo řadou prací, že výše popisované morfologické změny jsou podmíněny především protažením vláken kontraktilní tkáně a nikoli protažením struktur nekontraktilních poinfarktových segmentů. Studie (26,27) sledující regionální a celkové změny objemu levé komory např. ukázaly, že časná dilatace levé komory po IM přední stěny se dále může progresivně zhoršovat, avšak kompenzatorní hypertorfie se ukazuje jako velmi pozdní a nedostatečný mechanismus adaptace v prvním roce po IM.

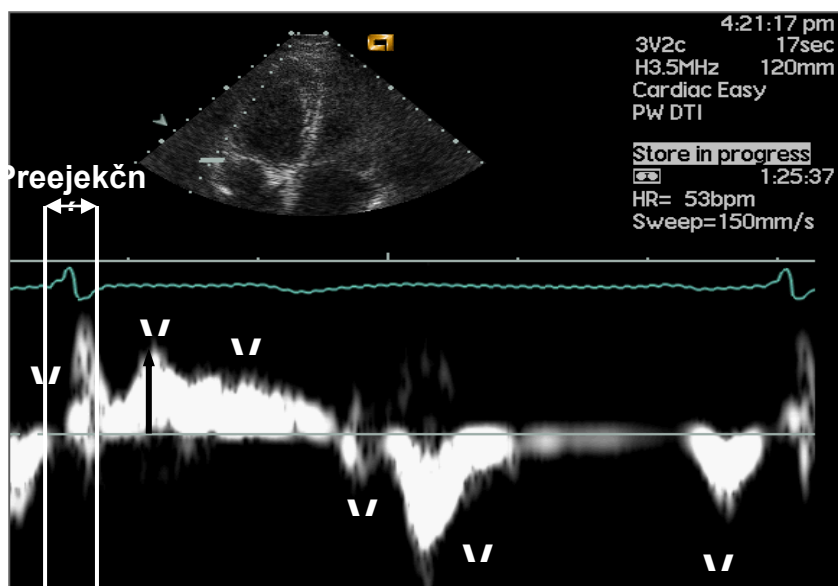
Dlouhodobé zvýšené napětí stěny levé komory a postupný rozvoj srdeční nedostatečnosti vede k aktivaci řady mechanismů, které vedou k další dilataci levé komory. Lze soudit na to, že tyto mohou určovat prognózu pacientů minimálně se stejnou prediktivní hodnotou jako vlastní proces remodelace. Jedním z takových mechanismů je aktivace neurohumorálních systémů (28). Jejich zvýšení odráží nejenom přítomnost srdečního selhání, ale tyto systémy jsou současně i markery progresu remodelace levé komory. Například zvýšená hladina noradrenalinu (29) v krvi odrážející zvýšenou adrenergní aktivitu u pacientů se srdečním selháním koreluje přímo úměrně s horší dlouhodobou prognózou těchto pacientů. Naopak klesající hladina predikuje dobrou prognózu. Se zvýšením sérové hladiny se můžeme setkat i u jiných neurohumorálních systémů a to již za situace dysfunkce levé komory i bez srdečního selhání (29). V současné době již existuje řada studií, které ukazují, že výše uvedená tvrzení o faktorech monitorujících či přímo vedoucích k progresi remodelace platí také pro brain, atrial natriuretic peptide (BNP, ANP), aldosteron, již

výše zmíněný noradrenalin a hladinu reninu (30). U pacientů, kteří měli kardiovaskulární příhodu během prvních třech měsíců po IM, můžeme zaznamenat signifikantně vyšší hladiny těchto látek již v od desátého dne po IM. Naopak pacienti se signifikantně nižšími nebo klesajícími hladinami těchto hormonů neměli žádnou kardiovaskulární příhodu během sledovaného období. Dalšími sérovými markery predikujícími prognózu pacientů s remodelující se levou komorou jsou dnes již považovány hladiny endotelinů, některých cytokinů (TNF, interleukiny), produkce NO a oxidativní stres .

Změny sérové hladiny těchto uvedených látek a jejich účinek již byly zmíněny v úvodních kapitolách této práce. Ukazuje se však, že nejen měření jejich hladin v séru, ale zejména jejich ovlivnění léčbou může mít klinický význam. Endoteliny jsou mohutnými vasokonstrikčními peptidy, je známo, že jejich hladina je zvýšena u pacientů se srdečním selháním. Blokáda endotelinových receptorů tak skýtá léčebné možnosti právě u pacientů se srdečním selháním. Cytokiny jsou proteiny secernované buňkami jako odpověď na různé stimuly. Je známo, že cirkulující hladina cytokinu TNF $\alpha$  je výrazně zvýšena u pacientů s kardiální formou kachektizace. Elevace TNF $\alpha$  je spojeno s výraznou aktivitou RAAS, jak to vidáme v terminálním stadiu srdečního selhání. Také např. klinická studie SOLVD (15) potvrdila nárůst hladiny cytokinů tak, jak se zhoršovala funkční klasifikace NYHA těchto pacientů. Oxidativní stres (stav nepoměru mezi produkcí volných radikálů a účinností antioxidantních mechanismů) je situace, se kterou se setkáváme u některých akutních stavů jako je reperfuční terapie IM, ale také v chronických stádiích remodelace levé komory, zejména ve spojení se srdečním selháním. Jak hladiny cytokinů, tak oxidativní stres jsou faktory spouštějící apoptózu myocytů. Tyto se dále negativně podílí na změnách morfologie a funkce levé komory během remodelace.

#### 1.4.2. klinické zobrazovací metody posuzující remodelaci levé komory

Použití echokardiografie a radionuklidového zobrazení pro anatomii a funkci levé komory (hodnocenou pomocí EF) je dnes standardní klinickou praxí (26,27). I když obě představují technicky poměrně jednoduché a rozšířené metody, existují pro ně určité limitace (echokardiografie – vliv vyšetřitelnosti, radionuklidové vyšetření – obtížná standardizace mezi centry). Mnohem větší přesnost přináší vyšetření nukleární magnetickou rezonancí (NMR), avšak tato metoda je proti předchozím výrazně dražší a hůře dostupná. K objektivizaci remodelace a tzv. reverzní remodelace významně přispěl rozvoj echokardiografického zobrazení pomocí tkáňového dopplera (TDE). Existuje několik modalit TDE. Nejrozšířenější je tzv. pulzní tkáňový doppler, kterým lze hodnotit rychlost pohybu stěn myokardu (obr.3) v průběhu srdečního cyklu v jednotlivých segmentech levé či pravé komory. Výhodou pulzního TDE je široká dostupnost, jednoduchost zpracování a hodnocení křivek a relativní nezávislost kvality rychlostního záznamu na vyšetřitelnosti pacienta. Tato metoda je nejen schopna přinést patofyziologické informace o stupni, lokalizaci a změnách v asynchronii kontrakcí levé komory, ale zřejmě také predikovat přínos léčby CRT u jednotlivých pacientů se srdečním selháním při dysfunkci levé komory. Běžné echokardiografické vyšetření obvykle stanoví EF a objemy levé komory. EF je pak v klinických studiích často používaným prognostickým parametrem (30,31). Nutno však zdůraznit, že tento parametr však neodráží vůbec kvalitu, kvantitu a poměr patofyziologických změn v myokardiální a non – myokardiální komponentě procesu remodelace levé komory. I v tomto směru se zdá právě přínosné vyšetření tkáňovým dopplerem.



Obrázek 3. Normální rychlostní profil u zdravého jedince.

#### 1.4.3. terapeutické zásahy do remodelace levé komory

Rozsah remodelace levé komory je všeobecně uznávanou determinantou prognózy pacientů, a to jak pacientů se systolickou dysfunkcí levé komory a manifestním srdečním selháním (zde je cílem léčby ovlivnění jak obtíží, tak zlepšení prognózy), tak i pacientů s asymptomatickou dysfunkcí bez srdečního selhání (terapeutické ovlivnění prognózy); je známo, že i pacienti s asymptomatickou dysfunkcí levé komory mají všeobecně horší prognózu.

#### *Inhibitory angiotensin konvertujícího enzymu (ACE) zpomalují proces remodelace levé komory*

Aktivace RAAS s následnou celkovou, ale i tkáňovou nadprodukcí angiotensinu II, a aktivace adrenergního systému jsou všeobecně považovány za spouštěcí a udržovací proces remodelace (4,28). Klinické studie jako SOLVD, SAVE (15,17), již přinesly dostatek důkazů o tom, že inhibitory ACE příznivě modifikují proces remodelace levé komory; brání progresi end-systolického a end-diastolického objemu levé komory a tím progresi dysfunkce levé komory a kompenzatorní hypertrofie, která

zhoršuje diastolickou funkci levé komory. U jiných léků jako např. u látek s pozitivně inotropním efektem tento účinek prokázán nebyl. Navíc např. inhibitory fosfodiesterázy dokonce zhoršují prognózu pacientů se srdečním selháním. Příčina není zcela zřejmá, ale sekundární neurohumorální aktivace a arytmie jsou nejpravděpodobnějšími kandidáty. Rovněž inhibitory endotelinu A nepřinesly předpokládaný klinický efekt u pacientů se srdečním selháním ve srovnání s léčbou betablokátry. V procesu remodelace hrají důležitou roli dva propojené signální systémy, které jsou modifikovány právě inhibitory ACE. Jak již bylo dříve zmíněno, jedná se o systémy RAAS a TGF $\beta$ , které vedle svého účinku na myocyty aktivují fibroblasty a podporují proces fibrotizace se všemi důsledky pro morfologii a funkci levé komory. Inhibitory ACE brání degeradaci peptidu, který snižuje expresi genu pro TGF $\beta$  (obdobný účinek je popisován např. i u atorvastatinu). Nabízí se také otázka možnosti zásahu do signálních cest; např. možnost genetického přerušení cesty angiotensinu II, která vede k převaze apoptózy v procesu reakce na tlakové zatížení následným snížením nadměrné hypertrofie myokardu. Kromě těchto příčin existuje však i remodelace levé komory nezávislá na vlivu angiotensinu II, pravděpodobně v důsledku lokální produkce aldosteronu v myokardu.

*Spironolacton a eplerenon* jako inhibitory aldosteronu zpomalují proces remodelace po IM (32,33), zpomalují přechod od hypertrofie do srdečního selhání redukcí fibrózy, oxidativního stresu a zánětu. Tato data získaná v experimentu korelují s výsledky klinických studií. Přidání spironolaktonu k ACE inhibitoru zlepšuje ejekční frakci, redukuje markery myokardiální fibrózy.

*Betablokátry – léky vedoucí k reverzní remodelaci levé komory*

S ohledem na dříve uvedená data je logické, že významnou roli v léčbě pacientů s dysfunkcí levé komory hrají betablokátry (24,25), zejména v kombinaci s ACE

inhibitory. Jejich vlivem dochází ke zlepšení EF jak u ischemické, tak i neischemické kardiomyopatie. Hlavním cílem podávání betablokátorů u pacientů s dysfunkcí levé komory je ovlivnění remodelace levé komory a tím prognózy pacientů. V klinických studiích MERIT-HF, CIBIS (24,25) betablokátorů jako, metoprolol, bisoprolol snižovaly celkovou mortalitu o 34-65%, a to zejména díky snížení kardiovaskulárních příhod. Studie CARMEN (34) prokázala, že časná kombinace inhibitorů ACE a neselektivního betablokátoru carvedilolu vedla k reverzní remodelaci levé komory u pacientů s mírným až středním stupněm srdečního selhání. Je pravděpodobné, že kromě vlastního alfa- a beta-blokátorového účinku přispívá k antiremodelačnímu efektu také antioxidační působení carvedilolu.

O významu podávání *inhibitorů HMG-CoA reductázy, statinů*, u pacientů s koronární nemocí není dnes již pochyb. Snížení hladiny cholesterolu a předpokládaná stabilizace aterosklerotického plátu přináší příznivý efekt na mortalitu a morbiditu těchto pacientů. Některé experimentální práce (35) však poukazují na další možný příznivý mechanismus působení statinů na kardiovaskulární systém nezávislý na hypolipidemickém účinku, který však zatím nebyl verifikován klinickými studiemi. Jedná se o možné potlačení nadprodukce metalloproteináz (viz výše), které hrají negativní roli v procesu remodelace levé komory postihujícím zejména neinfarktové oblasti myokardu v chronické fázi IM. Statinům se připisuje rovněž možný přímý inhibiční efekt na tkáňový renin- angiotensinový systém.

*Srdeční resynchronizační terapie (CRT)* pomocí biventrikulární stimulace představuje invazivní metodu, která v selektované skupině pacientů se srdečním selháním a dysfunkcí levé komory zlepšuje nejen funkční stav ale i prognózu těchto pacientů (36). Uvedená práce prokázala, že efekt CRT je založen na morfologických celulárních a molekulárních změnách myokardu. CRT vede k redukci remodelace

mykardiálního intersticia, apoptózy a snížení exprese TNF- $\alpha$ . Ve studované skupině pacientů CRT snižovala rozsah typické intersticiální remodelace pozorované jinak v selhávajícím myokardu. CRT vedla ke snížení procentuálního zastoupení mykardiálního kolagenu a signifikantnímu zvýšení kapilární denzity. Vzhledem k tomu, že 2-3 násobné zvýšení množství kolagenu v jednotce objemu myokardu vede k zvýšení tuhosti levé komory a diastolické dysfunkci, lze předpokládat, že příznivý klinický efekt CRT je založen právě na principu negativní remodelace, která vede ke zlepšení systolické i diastolické funkce levé komory, redukci výskytu arytmií a zlepšení difúzní kapacity pro kyslík. Jednou z hypotetických příčin, proč CRT vede k negativní remodelaci levé srdeční komory, může být snížení mechanického napětí myokardu. Toto mechanické odlehčení levé komory vede nejen k potlačení aktivace signálních cest pro apoptózu, pro tvorbu TNF- $\alpha$ , ale i pro ukládání kolagenu do myokardu. Tento fakt jen zdůrazňuje zásadní význam mechanického napětí myokardu pro rozvoj remodelace levé komory. Z klinického pohledu je velmi významné potvrzení možnosti negativní remodelace a tedy reverzibility změn v selhávajícím myokardu.

*Buněčná transplantace* jako metoda zasahující do remodelace levé komory získává zájem v posledních letech, a to zejména u pacientů po infarktu myokardu. Základní představa této metody vychází z předpokladu ztráty myocytů jako hlavní příčiny remodelace levé komory, která tedy může být přerušena implantací nových kontraktálních elementů. Zatímco experimentální práce a některé studie podporují tento koncept reparace levé komory (37), velkými klinickými problémy, které doposud nebyly vyřešeny, jsou otázky zdroje buněk, jejich udržení a přežití v místě implantace, zásah do mechanismů, které povedou ke zlepšení funkce levé komory a snížení invazivity procesu implantace buněk do myokardu (38). Závěrem je nutno



zdůraznit, že nejúčinnějším léčebným přístupem, který brání vzniku remodelace levé komory u pacientů s akutním infarktem myokardu, je časná koronární revaskularizace.

### **1.5. Je proces remodelace maladaptací od samého počátku?**

Časnou remodelaci levé komory chápeme jako adaptaci na patologickou situaci jejíž cílem je udržení tepového srdečního objemu. Avšak od samého počátku se dostává myokard do kontraverzní situace. Zvýšené napětí stěny myokardu, které se objevuje v důsledku tlakového i objemového přetížení, je jedním ze základních faktorů zvyšujících spotřebu  $O_2$  v myokardu. Toto zvýšené napětí aktivující řadu dříve zmíněných mechanismů vede k tvorbě koncentrické či excentrické hypertrofie myokardu. Tím sice dochází ke snížení napětí ve stěně srdeční komory podle La Placeova zákona ( $T = \Delta P r / h$ ,  $T$  = napětí stěny,  $P$  = transmurní tlak,  $r$  = poloměr dutiny,  $h$  = síla stěny) a tedy i ke snížení spotřeby  $O_2$  v myokardu, avšak za cenu vzniku hypertrofie či dilatace srdeční komory nebo kombinace obou. Toto je však stav, který sám vede opět k nevhodné kyslíkově-energetické bilanci v myocytech (zvýšení energetických nároků hypertrofického myokardu obvykle při zhoršení difuze  $O_2$  v myokardu).

Jak bylo ukázáno dříve, dochází kromě uvedeného posunu od jedné formy náročné na spotřebu kyslíku k jiné také ke spuštění řetězové reakce signálními molekulami v myokardu, které potencují proces remodelace a vnášejí do hry další faktory – apoptózu myocytů (28) či jejich nekrózu. Ukazuje se, že prolongovaná stimulace růstovými faktory již diferencovaných myocytů neschopných dělení, vede k přesmyku od udržovacího programu k programu exprese fetálních genů, který je charakterizován mimo jiné zvýšenou apoptotickou aktivitou a abnormální růst intersticia. V celém procesu, který znamená přechod normálního myokardu přes jeho

remodelaci k selhávajícímu myokardu, jsou důležité dva okamžiky: první je přechod od adaptační k maladaptivní hypertrofii a druhý přechod ze stavu oběhové kompenzace do chronické oběhové nedostatečnosti. Co spouští tyto dva zlomové okamžiky, je zatím ve stadiu zkoumání. Rovněž je nejasné, zda v těchto přechodových procesech hrají dominantní roli strukturální či funkční změny.

### **1.6. Závěr**

Nelze pochybovat o tom, že remodelace levé komory je komplexní a velmi složitý patofyziologický proces. Experimentální a klinické práce jasně ukázaly význam remodelace pro progresi dysfunkce levé komory. Zda je iniciální fáze remodelace levé komory procesem pouze adaptivním je minimálně kontraverzní, jak ukazuje výzkum signálních cest spouštěných přetížením levé komory a jak také ukazují transgenní modely a klinické nálezy. Přechod od zjevně kompenzovaného stavu do srdečního selhání je zřejmě komplexem pochodů navozených celkovou, ale i místní neurohumorální reakcí, účinkem kyslíkových radikálů a nepoměrem mezi aktivitou metalloproteináz a jejich inhibitorů v myokardu. Zásahy do těchto procesů s cílem ovlivnit remodelaci levé komory skýtají nové léčebné možnosti v klinické praxi.

Klinické studie ukázaly, že se nelze řídit pouze symptomy pacientů, ale že pro zahájení léčby stačí již přítomnost morfoloických známek remodelace levé komory. Dosud jsou však málo prozkoumány informace, a to zejména z hlediska klinické praxe, které vznikají během remodelace na buněčné a molekulární úrovni. Jedním z mnoha cílů výzkumu orientovaného na klinickou kardiologii by mělo být nalezení senzitivnějších markerů (39) detekujících remodelaci levé komory a také léčebných přístupů, které by ještě účinněji a s vyšší specificitou zabránily remodelaci nebo vedli k reverzní remodelaci levé komory.

## 1.7. Literatura

1. JM Pfeffer, MA Pfeffer, E Braunwald. Influence of chronic captopril therapy on the infarcted left ventricle of the rat, *Circ Res* 57 (1985),84–95.
2. MA Pfeffer, E Braunwald. Ventricular remodeling after myocardial infarction. Experimental observations and clinical implications, *Circulation* 81 (1990),1161–1172.
3. W Grossman, D Jones and L McLaurin. Wall stress and patterns of hypertrophy in the human left ventricle, *J Clin Invest* 56 (1975),56–64.
4. K Sadoshima, Y Xu, HS Slayter, S Izumo. Autocrine release of angiotensin-II mediates stretch-induced hypertrophy of cardiac myocytes in vitro of cardiac myocytes in vitro, *Cell* 75 (1993), 977–984
5. G Olivetti, JM Capasso, EH Sonnenblick, P Anversa. Side-to-side slippage of myocytes participates in ventricular wall remodeling acutely after myocardial infarction in rats, *Circ Res* 67 (1990), 23–34.
6. V Pelouch, IMC Dixon, L Golfman, RE Beamish, NS Dhalla. Role of extracellular proteins matrix in heart function. *Mol. Cell. Biochem.* 129:101-120, 1993a.
7. R Jirmář, V Pelouch. The role of myocardial interstitium in the left ventricular remodelling after an acute myocardial infarction. *Cor Vasa* 35: 206-209,1993
8. JPM. Cleutjens, JC Kandala, E Guarda et al. Regulation of collagen degradation in the rat myocardium after infarction. *J Mol Cell Cardiol* 27 (1995),1281–1292.
9. S Hein, E Amon and S Kostin et al. Progression from compensated hypertrophy to failure in the pressure-overloaded human heart. Structural deterioration and compensatory mechanisms, *Circulation* 107 (2003), 984–991.
10. DL Mann. Stress-activated cytokines and the heart: from adaptation to maladaptation, *Annu Rev Physiol* 65 (2003), 81–101.
11. CP Baines, JD Molkentin. STRESS signaling pathways that modulate cardiac myocyte apoptosis, *J Mol Cell Cardiol* 38 (2005), 47–62.
12. WS Bradham, B Bozkurt, H Gunasinghe et al. Tumor necrosis factor-alpha and myocardial remodeling in progression of heart failure: a current perspective, *Cardiovasc Res* 53 (2002), 822–830.
13. G Esposito, A Rapacciuolo, SVN Prasad et al. Genetic alterations that inhibit in vivo pressure-overload hypertrophy prevent cardiac dysfunction despite increased wall stress, *Circulation* 105 (2002), 85–92.
14. OF Bueno, LJ De Windt, TR Kimball et al. The MEK1-ERK 1/2 signaling pathway promotes compensated cardiac hypertrophy in transgenic mice, *EMBO J* 19 (2000), 6341–6350.
15. G Torre-Amione, S Kapadia, C Benedict et al. Proinflammatory cytokine levels in patients with depressed left ventricular ejection fraction: a report from the Studies of Left Ventricular Dysfunction (SOLVD). *J Am Coll Cardiol* 27 (1996),1201–1206.
16. DB Sawyer, D Siwik, L Xiaol et al. Role of oxidative stress in myocardial hypertrophy and failure, *J Mol Cell Cardiol* 34 (2002), 379–388.
17. M St John Sutton, MA Pfeffer and L Moye et al., Cardiovascular death and left ventricular remodeling two years after myocardial infarction: baseline predictors and impact of long-term use of captopril: information from the Survival and Ventricular Enlargement (SAVE) trial, *Circulation* 96 (1997),3294–3299.
18. G Olivetti, JM Capasso, EH Sonnenblick et al. Side-to-side slippage of myocytes participates in ventricular wall remodeling acutely after myocardial infarction in rats, *Circ Res* 67 (1990),23–34.
19. J Sundstrom, JC Evans, EJ Benjamin et al. Relations of plasma matrix metalloproteinase-9 to clinical cardiovascular risk factors and echocardiographic left ventricular measures: the Framingham Heart Study, *Circulation* 109 (2004),2850–2856.
20. R Jirmar, V Pelouch, P Widimsky, J Capek, M Andel, R Prusa, M Pechova. Influence of primary coronary intervention on myocardial collagen metabolism and left ventricle

- remodeling predicted by collagen metabolism markers. *International Heart Journal* 46: 949-959, 2005.
21. LW Eaton, BH Bulkley. Expansion of acute myocardial infarction: its relationship to infarct morphology in a canine model. *Circ Res* 49 (1981), 80–88.
  22. S Heymans, B Schroen, P Vermeersch et al. Increased cardiac expression of tissue inhibitor of metalloproteinase-1 and tissue inhibitor of metalloproteinase-2 is related to cardiac fibrosis and dysfunction in the chronic pressure-overloaded human heart, *Circulation* 112 (2005), 1136–1144.
  23. PA Modesti, S Vanni, I Bertolozzi et al. Early sequence of cardiac adaptations and growth factor formation in pressure- and volume-overload hypertrophy, *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 279 (2000), H976–H985
  24. MERIT-HF Study Group. Effect of metoprolol CR/XL in chronic heart failure: metoprolol CR/XL randomized intervention trial in congestive heart failure. *Lancet* 353 (1999), 2001–2007.
  25. CIBIS II Investigators and Committees. The Cardiac Insufficiency Bisoprolol Study II (CIBIS II): a randomized trial. *Lancet* 353 (1999), 9–13.
  26. GF Mitchell, GA Lamas, DE Vaughan, MA Pfeffer Left ventricular remodeling in the year after first anterior myocardial infarction: a quantitative analysis of contractile segment lengths and ventricular shape, *J Am Coll Cardiol* 19 (1992), 1136–1144.
  27. G.L. Nicolosi, R. Latini, P. Marino et al. The prognostic value of predischARGE quantitative two-dimensional echocardiographic measurements and the effects of early lisinopril treatment on left ventricular structure and function after myocardial infarction in the GISSI-3 trial. *Eur Heart J* 17 (1996), 1646–1656.
  28. J.N. Cohn, T.B. Levine, M.T. Olivari et al. Plasma norepinephrine as a guide to prognosis in patients with chronic congestive heart failure. *N Engl J Med* 311 (1984), 819–823.
  29. G.S. Francis, C. Benedict, D.E. Johnstone et al. Comparison of neuroendocrine activation in patients with left ventricular dysfunction with and without congestive heart failure. *Circulation* 82 (1990), 1724–1729.
  30. P. Vantrimpont, J.L. Rouleau, A. Ciampi et al. Two-year course and significance of neurohumoral activation in the Survival and Ventricular Enlargement (SAVE) study. *Eur Heart J* 19 (1998), 1552–1563.
  31. H.D. White, R.M. Norris, M.A. Brown et al. Left ventricular end-systolic volume as the major determinant of survival after recovery from myocardial infarction. *Circulation* 76 (1987), 44–51.
  32. GM Kuster, E Kotlyar, MK Rude et al., Mineralocorticoid receptor inhibition ameliorates the transition to myocardial failure and decreases oxidative stress and inflammation in mice with chronic pressure overload, *Circulation* 111 (2005), 420–427.
  33. C.G. Brilla, G. Zhou, L. Matsubara, K.T. Weber. Collagen metabolism in cultured adult rat cardiac fibroblasts: response to angiotensin II and aldosterone. *J Mol Cell Immunol* 26 (1994), 809–820.
  34. Remme JW, Rieger G, Hildebrandt P et al. The benefits of early combination treatment of carvedilol and an ACE-inhibitor in mild heart failure and left ventricular systolic dysfunction. The carvedilol and ACE-inhibitor remodelling mild heart failure evaluation trial (CARMEN). *Cardiovasc Drugs Ther.* 2004;18(1):57-66.
  35. Hayashidani S, Tsutsui H, Shiomi T et al. Fluvastatin, a 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme a reductase inhibitor, attenuates left ventricular remodeling and failure after experimental myocardial infarction. *Circulation*, 2002;105(7):868-73.
  36. D'Ascia C, Cittadini A, Monti MG, et al. Effects of biventricular pacing on interstitial remodeling, tumor necrosis factor- $\alpha$  expression, and apoptotic death in failing human myocardium. *Eur Heart J* 2006;27: 201-206.
  37. N Dib, RE Michler, FD Pagani et al. Safety and feasibility of autologous myoblast transplantation in patients with ischemic cardiomyopathy: four-year follow-up, *Circulation* 112 (2005), 1748–1755.

38. S Janssens, C Dubois, J Bogaert et al. Autologous bone marrow-derived stem-cell transfer in patients with ST-segment elevation myocardial infarction: double-blind, randomised controlled trial, *Lancet* 367 (2006), 113–121.
39. R.Jirmar, V.Pelouch , P.Widimsky, J.Capek, M.Andel, R.Prusa, M.Pechova. Changes of collagen metabolism predict the left ventricular remodeling after myocardial infarction. *Mol. Cell Biochem* 2006.

## 2. PŮVODNÍ PRÁCE

### 2.1. Změny metabolismu srdečního kolagenu predikují remodelaci levé komory po infarktu myokardu.

Jirmář Radovan, <sup>1</sup> MD, Pelouch Václav, <sup>2,3</sup> PhD, Widimský Petr, <sup>1</sup> MD, PhD, FESC, Čapek Jan, <sup>1</sup> MD, Anděl Michal, <sup>4</sup> MD, PhD, Průša Richard, <sup>5</sup> MD, PhD, Pechová Martina. <sup>5</sup>

<sup>1</sup> *III.interní - kardiologická klinika Fakultní nemocnice Královské Vinohrady a 3. Lékařské fakulty UK, Praha 10*

<sup>2</sup> *Oddělení lékařské chemie a biochemie 2. Lékařské fakulty UK, Praha 5*

<sup>3</sup> *Centrum pro kardiovaskulární výzkum 2. Lékařské fakulty UK, Praha 5*

<sup>4</sup> *II.Interní klinika Fakultní nemocnice Královské Vinohrady a 3. Lékařské fakulty UK, Praha 10*

<sup>5</sup> *Oddělení klinické biochemie a patobiochemie 2. Lékařské fakulty UK, Praha 5*

#### **Klíčová slova:**

infarkt myokardu; kolagen; remodelace levé komory; koronární revaskularizace

### 2.1.1. Souhrn

**Cíl.** Zhodnotit, zda změny metabolismu srdečního kolagenu „in vivo“ mají schopnost predikce rozsahu remodelace levé komory ve skupině pacientů s akutním infarktem myokardu (IM) léčených primární koronární intervencí (PCI).

**Metodika.** V souboru 45 pacientů (prům.věk  $66 \pm 8,27$  roků) byla provedena biochemická analýza metabolismu srdečního kolagenu. Tento soubor byl rozdělen do tří skupin A,B,C. Skupinu A (n=30) tvořili pacienti s prvním infarktem myokardu léčení úspěšnou PCI. Ve skupině B (n=5) byli pacienti s akutním IM a neúspěšnou PCI a ve skupině C (n=10) pacienti podstupující pouze elektivní diagnostickou koronarografii. Metabolismus myokardiálního kolagenu byl analyzován v akutním a subakutním stadium IM pomocí sérových markerů metabolismu kolagenu: karboxyterminálního propeptidu kolagenu typu I (PICP), aminoterminálního propeptidu kolagenu typu III (PIIINP) a karboxyterminálního telopeptidu kolagenu typu I (ICTP).

Změny ejekční frakce (EF) a enddiastolického objemu levé komory byly hodnoceny echokardiograficky během šesti měsíců sledování.

**Výsledky.** Bylo zjištěno statisticky významné zvýšení sérové hladiny PICP a PIIINP 4.den po IM. Sérové hladiny PICP a PIIINP stanovené 30. den po IM byly signifikantně vyšší ve skupině pacientů s neúspěšnou PCI oproti skupině s úspěšnou PCI. Hladiny PICP stanovené 4.den po IM a přesahující 110 ug/l a PIIINP přesahující 4 ug/l byly nalezeny významně častěji v podskupině pacientů, u kterých došlo během 6 měsíců sledování k minimálnímu zlepšení EF (méně jak 10%) nebo jejímu zhoršení; v těchto podskupinách byla zjištěna významná progresse velikosti levé komory. Samotná srdeční katetrizace neovlivnila metabolismus srdečního kolagenu.

**Závěr.** Sérové markery metabolismu kolagenu umožňují in vivo hodnotit proces hojení IM a predikovat funkční a objemové změny levé komory po IM.

### 2.1.2. Úvod

Myokardiální ischemie indukovaná okluzí koronární tepny s následným rozvojem infarktu myokardu vede u experimentálních zvířat k morfologickým a biochemickým změnám – remodelaci srdečního svalu; tyto změny postihují jak myofibrilární kompartment tak extracelulární matrix (ECM). Remodelace je extrémně komplikovaný proces, který zahrnuje jednak morfologické změny (posun myocytů vůči sobě, tzv. slippage, zeslabení a dilataci infarktové, ale i neinfarktové oblasti, novotvorbu jizvy a fibrotizaci i v nepostíženém myokardu), ale také kvalitativní a kvantitativní změny metabolismu kontraktálních a kolagenních proteinů (1-6). V experimentu bylo zjištěno, že na těchto procesech se významně podílí cytokiny TGF - beta 1, cardiotrophin 1, interleukin 6 (IL- 6) a změny aktivit metalloproteináz (7-10). Mnohem méně je však známo o podkladu biochemické remodelace v lidském ischemickém srdečním svalu. Je zřejmé, že i u lidí jsou určujícími faktory při hojení infarktového ložiska jeho rozsah, lokalizace a proces jak morfologických, tak metabolických změn myocytů ale i ECM. Všechny tyto faktory ovlivňují nezávisle proces remodelace levé komory, vývoj funkce levé komory a prognózu pacientů po IM (11-15). ECM je tvořena různými kolageny (nejčastější zastoupení má kolagen I a III), proteoglykany a glykoproteiny. Kolagen typu I je syntetizován ve formě prokolagenu s přídatnými sekvencemi aminokyselin na N a C konci molekuly kolagenu. Karboxyterminální propeptid kolagenu typu I (PICP) je uvolňován do krve během syntézy kolagenu I. Na proti tomu karboxyterminální telopeptid umístěný na C konci molekuly kolagenu I je uvolňován během jeho degradace. Kolagen typu III je



rovněž syntetizován ve formě prokolagenu. Jeho N – terminální propetid (PIIINP) je uvolňován do oběhu jak během syntézy tak degradace kolagenu III, protože některé molekuly PIIINP zůstávají navázané na vláknech kolagenu III i po jeho syntéze (14). Změny hladiny PIIINP by tedy měly být interpretovány jako metabolický obrat kolagenu III (16). Syntéza kolagenu III je aktivována v určitých situacích např. hypertrofie, ischemie myokardu. Hladina PIIINP může být rovněž ovlivněna podáním trombolýzy (17,18).

Zatím co existuje řada metod pro monitoraci metabolismu srdečních kolagenů v experimentu, k detekci syntézy a degradace těchto proteinů *in vivo* během akutní a subakutní fáze IM můžeme použít pouze jednu. Je to právě analýza kolagenní peptidů v séru (19-22).

Cílem této studie bylo stanovení metabolismu srdečního kolagenu v ischemicko - nekrotickém myokardu u pacientů s akutním IM s elevacemi ST úseků (STEMI) léčených primární koronární intervencí (PCI) pomocí sérové hladiny markerů metabolismu kolagenu. Dále jsme chtěli zhodnotit u těchto pacientů pomocí echokardiografie funkční a anatomické změny levé srdeční komory během půlročního sledování a provést korelaci se změnami metabolismu srdečního kolagenu v akutní a subakutní fázi a posoudit tak prediktivní schopnost sérových markerů metabolismu kolagenu na změny funkce a velikosti levé komory.

### **2.1.3. Materiál a metody**

#### **Pacienti a protokol studie**

U čtyřiceti pěti pacientů (průměrný věk  $66 \pm 8,27$  roků) byla provedena biochemická analýza metabolismu srdečního kolagenu ( skupina A,B,C). Třicet pět pacientů bylo po sobě přijato na koronární jednotku naší kliniky s jejich prvním akutním STEMI

během 12 hodin od vzniku obtíží. Všichni tito pacienti byli léčeni pouze pomocí primární PCI; 30 z nich (*skupina A*) měla PCI úspěšnou, u 5 byla PCI neúspěšná (*skupina B*), TIMI průtok 0 po PCI či zbytková stenóza 100%. Základní charakteristika skupiny A a B je ukázána v Tabulce 1. Kontrolní skupinu C (n=10, průměrný věk 63±4,68 roků) tvořili stabilní pacienti bez anamnézy IM, kteří podstoupili pouze plánovanou diagnostickou koronarografií. Zařazovací kritéria pro pacienty s infarktem myokardu (*skupina A+B*) byla definována typickou bolestí na hrudi přetrvávající déle jak 20 minut, přítomností elevací ST úseků více jak 0,1mV v končetinových svodech a / nebo 0,2 mV v prekordiálních svodech, a to alespoň ve dvou svodech současně na 12-ti svodém EKG. Současně byla nutná přítomnost signifikantní (dvojnásobek horní hranice normy) zvýšení sérové hladiny kreatinfosfokinázy (CK) a její MB frakce (CKMB) nebo troponinu I. Přítomnost jakékoli nemoci, která by mohla ovlivnit hladinu markerů metabolismu kolagenu (např. onemocnění kostí a kloubů, diabetes mellitus I.typu , renální selhání, jaterní nedostatečnost nebo maligní nádor) byla vylučovacím kritériem pro zařazení do studie.

Krevní vzorky pro analýzu metabolismu kolagenu byly odebírány ihned po přijetí (den 1), v den 2 ve všech skupinách, v den 4, 7 a 30 jen ve skupině A+B; vzorky byly stočeny v centrifuze a sérum odpipetováno a uchováno při minus 25<sup>0</sup> C. Hladiny CK,CKMB, event. troponinu I byly stanoveny ihned po přijetí a dále za 8,16 a 24 hodin od přijetí. Pacienti byli sledována po dobu 6 měsíců také s ohledem na výskyt závažných klinických jevů (srdeční selhání, nutnost nové koronarografie, rehospitalizace, recidiva IM, nová angina pectoris, úmrtí).

### **Farmakologická léčba pacientů ve studii**

Pacienti byli zásadně léčeni pomocí primární PCI a protideštičkových preparátů, dále kombinací inhibitorů ACE, betablokátorů, statinů. Většina pacientů (89%) byla léčena betablokátry (u všech těchto pacientů byla léčba zahájena od 24 hodin od přijetí), 49% pacientů bylo léčeno ACE inhibitory (toto relativně nízké procento dáváme do souvislosti s tím, že v době, kdy byla prováděna tato studie, nebyly ještě známy výsledky klinických studií EUROPA, HOPE o významu inhibitorů ACE pro sekundární prevenci ICHS).

### **Echokardiografické vyšetření**

Pacienti byly vyšetřeny echokardiograficky 1., 4., 30. a 180. den STEMI; toto vyšetření bylo prováděno na přístroji HP Sonos 2500. Parametry funkce levé komory vyjádřené ejekční frakcí (**EF,%**) a indexovaným enddiastolickým objemem levé komory (**LVEDVi, ml/m<sup>2</sup>**) byly stanoveny pomocí metody automatické detekce endokardu. V případech horší vyšetřitelnosti tyto parametry byly hodnoceny pomocí metody "area-length" z apikální dvoudutinové projekce; pro kalkulaci byl použit průměr ze tří měření. Rovněž byla zaznamenávána přítomnost mitrální insuficience či rozvoj aneuryzmatu levé komory. Záznamy ze všech vyšetření byly uloženy na videopásku.

### **Laboratorní metody**

Ze vzorků zmraženého séra byly následně analyzovány hladiny markerů metabolismu kolagenu. Jejich roztátí bylo vždy součástí vlastního měření a koncentrace markerů byla stanovena pomocí RIA metody (kity firmy ORION, Finsko, detekce izotopu <sup>125</sup>I) podle přiložených instrukcí výrobce. Všechna měření byla prováděna jako zaslepená, tedy bez znalosti klinických dat.

Pro vyšetření jsem použili čtyři různé kity:

a) *pro syntézu kolagenu I,III:*

- 1) PICP – C - terminalní propeptid prokolagenu I
- 2) PIIINP – N - terminalní propeptid prokolagenu III

b) *pro degradaci kolagenu I,III*

- 3) ICTP – C - terminalní telopeptid kolagenu I

### **Statistická analýza**

Data jsou ukázána ve formě *průměru ± SD* nebo jako procento podle charakteru měřeného parametru. ANOVA test byl použit pro časově závislé změny kontinuálních proměnných, nepárový T-test pro korelaci kontinuálních proměnných mezi skupinami, párový T- test pro korelaci uvnitř skupiny, Fišerův exaktní test pro kategorické proměnné, Mann-Whitney test pro nezávislé vzorky

Chi-kvadrát test pro dichotomická data. Korelace byla kalkulována pomocí Spearmanova korelačního koeficientu. Výskyt závažných jevů ve skupinách byl hodnocen pomocí metody dle Kaplana–Meiera. Rozdíly mezi křivkami znázorňující počet jedinců bez příhody v jednotlivých skupinách byly porovnány použitím log-rank testu. Hodnoty  $p < 0.05$  byly považovány za statisticky významné. \* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.01$ .

*Výzkum byl prováděn se souhlasem Etické komise III.LF Karlovy University, Praha 10 vydaným pod číslem 134/99 dne 19.5.1999. Každý pacient zařazený do studie podepsal informovaný souhlas.*

## **2.1.4. Výsledky**

### **A) Analýza metabolismu lidského srdečního kolagenu**

### **A1) Změny hladiny PICP, PIIINP ve skupinách A+B (pacienti s IM) versus C (kontrolní skupina) - vliv srdeční katetrizace**

Hladina PICP byla signifikantně vyšší ve skupinách A+B již od druhé dne IM (A+B =  $91,79 \pm 32,85$  a  $109,99 \pm 26,6$   $\mu\text{g/l}$ ;  $p= 0.001$  pro první a druhý den). Takové zvýšení jsem nenašli ve skupině C (C =  $118 \pm 39,3$   $\mu\text{g/l}$  a  $105,63 \pm 24,31$   $\mu\text{g/l}$ ;  $p= 0.17$ ; NS pro první a druhý den). Stejně výsledky jsem zjistili pro hladiny PIIINP (není zobrazeno).

### **A2) hladina PICP ve skupinách A, B (pacienti s IM) – efekt revaskularizace na metabolismus kolagenu I.**

Nalezli jsme významný rozdíl mezi hladinami PICP stanovené 30.den ve skupině A (úspěšná revaskularizace) a ve skupině B (neúspěšná revaskularizace) (A =  $147,65 \pm 34,46$   $\mu\text{g/l}$ ; B =  $211 \pm 66,04$   $\mu\text{g/l}$ ,  $p= 0.01$ ) (Obr.1A).

Na základě maximálních změn EF levé komory během 6-ti měsíčního sledování jsme rozdělili pacienty s IM do dvou podskupin (*podskupina I*,  $n=21$ : zlepšení EF  $\leq 10\%$  nebo zhoršení; *podskupina II*,  $n =12$ : zlepšení EF  $> 10\%$ ). Základní charakteristika obou podskupin je ukázána v Tabulce 2. Nalezli jsme signifikantní zvýšení hladiny PICP 30. den oproti 1. dni IM v obou podskupinách (*podskupina I* =  $95,65 \pm 43,08$   $\mu\text{g/l}$ ,  $151,03 \pm 32,09$   $\mu\text{g/l}$ , v den 1 a 30 respektive, *podskupina II* =  $84,51 \pm 14,06$   $\mu\text{g/l}$ ,  $138,56 \pm 30,45$   $\mu\text{g/l}$ ;  $p=0.005$  v obou skupinách). Hladina PICP stanovená 2.den IM ( $116,76 \pm 29,67$  a  $95,46 \pm 19,61$   $\mu\text{g/l}$  pro skupinu I a II, respektive,  $p=0.005$ ), 4.den IM ( $137,49 \pm 49,16$  a  $93,65 \pm 14,46$   $\mu\text{g/l}$ ,  $p=0.02$ ) a 7.den IM ( $151,03 \pm 57,39$  a  $138,56 \pm 30,45$   $\mu\text{g/l}$ ,  $p=0.01$ ) byla signifikantně nižší ve skupině pacientů, u kterých došlo ke zlepšení EF o více jak 10% (*podskupina II*) ve srovnání se skupinou I. Nalezli jsme signifikantně vyšší ( $p=0.01$ ) výskyt hladiny PICP nad 110  $\mu\text{g/l}$  stanovené

4.den IM v podskupině pacientů I. Tyto nálezy nebyly závislé na výchozí EF levé komory stanovené 1.den. Progrese LVEDVi během 6 měsíců sledování byla signifikantně vyšší ve skupině pacientů s PICP4 (PICP v den 4)  $> 110 \mu\text{g/l}$  než ve skupině pacientů PICP4  $\leq 110 \mu\text{g/l}$  ( $\Delta$  LVEDVi  $8,93 \pm 1,68 \text{ ml/m}^2$  versus  $3,96 \pm 1,01 \text{ ml/m}^2$ ;  $p= 0,02$ ).

Navíc hladina PICP4  $> 110\mu\text{g/l}$  dokázala se senzitivitou 86% (specifitou 64%) identifikovat pacienty podskupiny I bez ohledu na iniciální EF (výchozí EF nad 45% versus pod 45%). Nenalezli jsme signifikantní rozdíl mezi skupinou pacientů s předním IM a skupinou pacientů s IM v jiné lokalizaci co se týče změn v hladině PICP stanovené během 1.-30. dne IM.

### **A3) hladina PIIINP ve skupinách A,B (pacienti s IM) – efekt revaskularizace na metabolismus kolagenu III.**

Nalezli jsme statisticky významné zvýšení hladiny PIIINP u pacientů skupin A+B 30. den IM ve srovnání s dnem 1 (A+B =  $3,54 \pm 1,39$  a  $4,84 \pm 2,67 \mu\text{g/l}$ ;  $p= 0.001$  pro den 1 a den 30, respektive). Nalezli jsem statisticky významný rozdíl mezi skupinou A (úspěšná revaskularizace) a skupinou B (neúspěšná revaskularizace) co se týče hladiny PIIINP stanovené 7 a 30. den (A =  $4,17 \pm 1,56 \mu\text{g/l}$ ;  $4,26 \pm 1,10 \mu\text{g/l}$  resp.; B= $6,36 \pm 2,00 \mu\text{g/l}$ ;  $9,46 \pm 3,54 \mu\text{g/l}$  resp.;  $p= 0.01, 0,02$ ; resp.) Obr. 1B.

Hladina PIIINP4 byla významně nižší v podskupině II při srovnání se skupinou I ( viz výše) bez ohledu na iniciální EF (výchozí EF nad 45% versus pod 45%) (I=  $4,22 \pm 1,68$  versus II=  $3,17 \pm 1,17 \mu\text{g/l}$ ,  $p=0.002$ ). Nalezli jsem signifikantně vyšší ( $p=0.002$ ) výskyt PIIINP4 nad  $4 \mu\text{g/l}$  v podskupině I. Tyto nálezy nebyly závislé na iniciální EF (FIG2A). Dále jsme zjistili, že PIIINP4  $>4\mu\text{g/l}$  dokázala identifikovat pacienta podskupiny I se senzitivitou 100 %, ale specifitou pouze 57%.

Prediktivní schopnost pro zařazení pacienta do podskupiny I (zlepšení EF méně jak 10%) byla zvýšena kombinací PICP > 110 µg/l a PIIINP > 4,0 µg/l, obě stanovené 4.den IM. Sensitivita této kombinace pro identifikace podskupiny I byla 83%, specificita 75%. Progrese LVEDVi během 6 měsíců sledování byla signifikantně vyšší (Obr.2B) ve skupině pacientů, kteří měli PIIINP4 > 4,0 µg/l než u pacientů s PIIINP4 ≤ 4,0 µg/l ( $\Delta$  LVEDVi 12,84 ± 1,23 ml/m<sup>2</sup> versus 4,67± 0,95 ml/m<sup>2</sup>; p= 0,0001).

#### **A4) ICTP - degradace kolagenu I**

Byl nalezen signifikantní rozdíl v sérové hladině ICTP stanovené 30.den IM mezi skupinou A (úspěšná revaskularizace) a skupinou B (neúspěšná revaskularizace) (A = 4,4±1,60 µg/l; B=8,90±2,01 µg/l; p= 0.01). Obr. 3A.

Rovněž byl nalezen signifikantní rozdíl v hladině ICTP stanovení 4. a 7. den IM mezi podskupinami I a II (I = 5,88±0,73 µg/l, 6,44±0,79 µg/l, respektive; II = 4,12±0,44 µg/l, 4,27±0,50 µg/l, respektive; p=0,05 and 0,03, respektive). Obr.3B

#### **B) Vztah mezi hladinami PICP a maximální hladinou CKMB.**

Nenalezli jsme signifikantní korelaci mezi hladinami PICP a CKMB max. ve dnech 1, 4 a 30 od IM; významná korelace byla nalezena pouze pro 7.den (p=0.01, korelace dle Spearmana, koeficient  $r_s = 0,45$ ).

Nenalezli jsme korelaci mezi hladinami PICP max. stanovených ve dnech 1-30 a CKMB max. (Obr.4A) ani mezi hladinami  $\Delta$ LVEDVi max. a CKMB max. (Obr. 4B).

### 2.1.5. Diskuze

Proteinová remodelace jak ECM (růst fibroblastů, změny v metabolismu kolagenních proteinů) tak myofibrilárního kompartmentu byla pozorována v ischemickém myokardu. Změny metabolismu kolagenu jsou dány ve výsledku interakcí mezi jeho syntézou, degradací a expresí metaloproteinázového systému. Tyto údaje jsou však převážně známy z experimentálních prací s ligací koronárních arterií experimentálních zvířat (1,2,16,19,22). Jiné nálezy vycházejí z prací s humánním materiálem získaným post mortem (13, 23). Mnohem méně je však známo o změnách proteinového profilu v lidském myokardu po IM za podmínek *in vivo*. Je všeobecně známo, že pro detekci myokardiální nekrózy při IM jsou velmi senzitivními markery hladina troponinu I, troponinu T a aktivita CKMB (24,25); tyto markery však nejsou schopny predikovat reverzibilitu ischemického poškození myokardu (26,27) a rozsah remodelace levé komory po IM. Proto hlavním cílem naší práce bylo nalézt takové biochemické markery, které jsou schopny *in vivo* zobrazit proces hojení IM a predikovat rozsah remodelace levé komory během akutní a subakutní fáze STEMI. Pro tyto účely jsme použili sérové markery syntézy a degradace kolagenu. Syntéza kolagenu I a III byla detekována pomocí hladiny PICP a PIIINP, oba markery v naší analýze ukázaly obdobné výsledky. Tyto můžeme shrnout v následující body:

*Za prvé*, změny metabolismu kolagenu lze detekovat již ve velmi časných stadiích IM. V této studii jsem pozorovali zvýšenou akumulaci kolagenu I a III již během prvních 48 hodin IM. V souladu s jinými pracemi (14) vyšší syntéza kolagenu I přetrvávala déle jak jeden měsíc od IM; hladina kolagenu III ve skupině s úspěšnou PCI však v této době již zvýšena nebyla.



*Za druhé*, ukázali jsme, že syntéza srdečního kolagenu je mnohem více vyjádřena u pacientů s neúspěšnou PCI oproti pacientů s úspěšnou PCI. Stejná data byla nalezena ve skupině pacientů, u kterých *nedošlo* k zásadnímu zlepšení funkce levé komory během 6 měsíců sledování, tito také měli vyšší hladiny PICP a PIIINP v séru v souladu s jinými studiemi (29). Z těchto nálezů usuzujeme na to, že podkladem akcelerace remodelace levé komory je zvýšená akumulace srdečního kolagenu v ECM.

*Za třetí*, kvantitativní a kvalitativní rozdíly v zastoupení kolagenu v různých místech myokardu pravé a levé komory, které byly pozorovány v některých pracích studujících remodelaci po IM (vyšší obsah kolagenu byl pozorován v pravé komoře u krys s IM, vyšší množství kolagenu bylo detekováno v zadní stěně ve srovnání s myokardem přední stěny levé komory v sekčním materiálu pacientů po IM; 5,13,19,30), jsme v naší práci (*in vivo*) při srovnání skupiny pacientů s předním a zadním IM neprokázali. Tento náleží může být také odrazem toho, že proces biochemické remodelace levé komory je komplexní a že indukce ukládání kolagenu do různých oblastí myokardu v postischemickém období může mít své vlastní zákonitosti a mechanismy.

*Za čtvrté*, našli jsem prediktivní schopnost hladin PICP, PIIINP stanovených 4. den IM pro funkční změny (EF) a objemové změny (LVEDVi) levé komory.

Prokázali jsme, že sérová hladina PICP nad 110 µg/l stanovená 4.den IM predikuje významnou dilataci levé komory nebo minimálním zlepšení či zhoršení její funkce (zlepšení EF méně jak 10%) během období 6 měsíců po IM. Tato prediktivní schopnost je zvýšena při přítomnosti sérové hladiny PIIINP nad 4,0 µg/l stanovenou 4.den IM, tato prediktivní schopnost není závislá na výchozí EF. Vzhledem k tomu, že nejsou přítomny rozdíly v základních charakteristikách obou našich podskupin I,II

(zlepšení EF do 10% a nad 10% respektive) viz Tab.2, je nutno hledat příčinu rozdílného zlepšení EF právě v procesu hojení infarktového ložiska. To jenom potvrzuje prediktivní schopnosti hodnot PICP4 a PIIINP4. Dále jsem ukázali, že vlastní katetrizace neovlivní hladiny těchto markerů.

Zdá se tedy, že markery metabolismu kolagenu přináší informace o vývoji a rozsahu remodelace levé komory po IM, mohou tak rozšířit nabídku biochemických vyšetření, která používáme u pacientů s akutním IM, avšak k jejich zavedení do rutinní praxe je zapotřebí dalších klinických studií.

#### **2.1.6. Závěr**

Analýza sérové hladiny markerů metabolismu kolagenu umožňuje predikovat rozsah remodelace levé komory po infarktu myokardu in vivo. Hladiny PICP a PIIINP stanovené 4.den IM predikují změny funkce levé komory a enddiastolického objemu během následujících 6 měsíců po STEMI bez ohledu na výchozí EF či úspěšnost revaskularizace. Neúspěšná revaskularizace významně zvyšuje syntézu a degradaci kolagenu I a III v myokardu pacientů s akutní IM. Srdeční katetrizace samotná neovlivňuje metabolismus kolagenu I a III.

### 2.1.7. Literatura

1. Pelouch V, Dixon IMC, Golfman L, Beamish RE, Dhalla NS. Role of extracellular proteins matrix in heart function. *Mol Cell Biochem.* 129: 101-120, 1993.
2. Pelouch V, Dixon IMC, Sethi R, Dhalla NS. Alteration of collagenous profile in congestive heart failure secondary to myocardial infarction. *Mol Cell Biochem.* 129:121-131,1993.
3. Cleutjens JP, Verleuyten MJ, Smiths JF, Daemen MJ: Collagen remodeling after myocardial infarction in rat heart. *Am J Pathol.* 147:325-338, 1995.
4. Dhalla NS, Kaura D, Liu X, Beamish RE. Mechanisms of subcellular remodelling in post-infarct heart failure. *EXS.* 76: 463-477,1996.
5. Wei S, Chow LT, Shum IO, Qin L, Sanderson JE. Left and right ventricular collagen type I/III ratios and remodelling post-myocardial infarction. *J Card Fail.*5: 117-126,1999.
6. Paul S. Ventricular remodeling. *Crit Care Nurs Clin North Am.* 15: 407- 411. 2003.
7. Delcayre C, Swynghedauw B. Molecular mechanisms of myocardial remodelling. The role of aldosterone. *J Mol Cell Cardiol.* 34:1577-1584,2002.
8. Freed DH, Moon MC, Borowiec AM, Jones SC, Zahradka P, Dixon I. Cardiotrophin –I: expression in experimental myocardial infarction and potential role in post – MI wound healing. *Mol Cell Biochem.* 254: 247- 56,2003.
9. Janitcki JS, Brower GL, Gardner JD, Chancey AL, Steward JA, Jr. The dynamic interaction between matrix metalloproteinase activity and adverse myocardial remodelling. *Heart Fail Rev.* 9:33-42,2004.
10. Sun M, Dawood F, Wen WH, Chen M, Dixon I, Kirshenbaum LA, Li X. Excessive tumor necrosis factor activation after infarction contributes to susceptibility of myocardial rupture and left ventricular dysfunction. *Circulation.* 110: 3221-3228,2004.
11. Whittaker P, Boughner DR, Kloner RA. Role of collagen in acute myocardial infarct expansion. *Circulation.* 84:2123-2134,1991.
12. Whittaker P, Kloner RA, Boughner DR, Pickering JG. Quantitative assessment of myocardial collagen with picrosirius red staining and circularly polarized light. *Basic Res Cardiol.* 89:397-410,1994.
13. Jirmar R, Pelouch V, Andel M, et al. The relationship of collagen composition to left ventricular function and aneurysm formation after myocardial infarction. *Cor Vasa.*40 (7). 340-346,1998.

14. Poulsen SH, Host NB, Jensen SE, et al. Relationship between serum amino-terminal propeptide of type III procollagen and changes of left ventricular function after acute myocardial infarction. *Circulation*. 101:1527-1532, 2000.
15. Halkin A, Aymong E, Cox DA, et al. Relation between late patency of the infarct-related artery, left ventricular function, and clinical outcomes after primary percutaneous intervention for acute myocardial infarction (CADILLAC trial). *Am J Cardiol*. 93(3):349-53,2004.
16. Jensen LT, Horst NB. Collagen: scaffold for repair or execution. *Cardiovasc Res*. 33: 535- 549,1997.
17. Poulsen SH, Host NB, Egstrup K. Long-term changes in collagen formation expressed by serum carboxyterminal propeptide of type I procollagen and relation to left ventricular function after acute myocardial infarction. *Cardiology*. 96:45-50, 2001.
18. Hosgor I, Zarat A, Zmazzer S, Giriskan G, Ahmad S. Collagen deposition in myocardium after inhibition of fibrinolytic activity. *Blood Coagul Fibrinolysis*. 16:25-30,2005.
19. Jirmar R, Pelouch V. The role of myocardial interstitium in the left ventricular remodeling after an acute myocardial infarction. *Cor Vasa*. 35:206-209,1993.
20. Jirmar R, Pelouch V, Widimsky P. Biochemical markers of collagen metabolism in patients with acute myocardial infarction. Another prognostic marker? (in czech – english summary). *Cor Vasa*. 45:592-595,2003.
21. Querejeta R, Lopez B, Gonzales A, Sanchez E, Larman M, Martinez UJL, Diez J. Increased collagen type I synthesis in patients with heart failure of hypertensive origin: relation to myocardial fibrosis. *Circulation*. 110:1263-1268, 2004.
22. Pelouch V, Jirmar R. Biochemical characteristics of cardiac collagen and its role in ventricular remodeling following infarction. *Physiol Res*. 42:283-292,1993.
23. Chen K, Li D, Zhang X, Hermonat PL, Mehta JL. Anoxia-reoxygenation stimulates collagen type I and MMP-1 expression in cardiac fibroblasts: modulation by the PPAR- gamma ligand pioglitazone. *J Cardiovasc Pharmacol*. 44:682 –687, 2004.
24. Lopez B, Gonzales A, Varo N, Laviades C, Querejete R, Diez J. Biochemical assessment of myocardial fibrosis in hypertensive heart disease. *Hypertension*. 38:1222 –1226, 2001.
25. Antman EM, Tanasijevic MJ, Thomson B. Cardiac specific troponin I levels to predict the risk of mortality in-patient with acute coronary syndromes. *N Engl J Med*. 335:1342-9,1996.
26. Vatner SF, Heyndrickx GR, Fallon JT: Effects of brief periods of myocardial ischemia on regional myocardial function and creatine kinase release in conscious dogs and baboons. *Can J Cardiol*. Suppl A:19A-24A,1986.

27. Heyndrickx GR, Amano J, Kenna T et al. Creatine kinase release not associated with myocardial necrosis after short periods of coronary artery occlusion in conscious baboons. *J Am Coll Cardiol.* 6(6):1299-303,1985.
28. Lindhal B, Toss H, Siegbahn A. Markers of myocardial damage and inflammation in relation to long-term mortality in unstable coronary artery disease. *N Engl J Med.* 343:1139-47,2000.
29. Cicoira M, Rossi A, Bonapace S, Zanolla L, Golia G, Franceschini L, Caruso B, Marino PN, Zardini P. Independent and additional prognostic value of aminoterminal propeptide of type III procollagen circulation levels in patients with chronic heart failure. *J Card Fail.*10:403–411,2004.
30. Host NB, Jensen LT, Bendixen PM, Koldkjaer OG, Simon EE. The aminoterminal peptide of type III procollagen provided new information on prognosis after acute myocardial infarction. *Am J Cardiol.*76: 869-873,1995.

### 2.1.8. Tabulky a obrázky

#### Tabulka 1.

#### Klinická charakteristika skupiny A a B.

	<i>Skupina A</i>		<i>Skupina B</i>		<b>Významnost A vs B</b>		
N	30		5				
Věk, roky, prům ± SD	65 + 9,96		69 ± 10,16		NS		
Pohlaví M/Ž	16	14	3	2	NS		
Arteriální hypertenze, n	13		4		NS		
Kuřáctví, n	16		2		NS		
LVEDVi den 1 (ml/m <sup>2</sup> ), prům.± SD	66,79±2,35		83,24±3,43		p=0.01		
Max. Δ LVEDVi / 6 měsíců (ml/m <sup>2</sup> ), prům.±SD	6,53±1,01		11,19±1,84		NS		
Výchozí EF, prům. ± SD	42,00± 9,10		31,00± 11,03		p=0.05		
Max.Δ EF / 6 měsíců (%)	9,38 ± 1,11		3,00 ± 3,49		p=0.04		
CKMB max. (μkat/l), prům.±SD	3,76±0,50		7,40±0,60		p=0.006		
TIMI před PCI 0-1/ 2-3, n	21	9	4	1	NS		
TIMI po PCI 0-1 / 2-3, n	0	30	5	0	p=0.0001		
Počet nemocných tepen: 1/2/3, n	11	8	11	0	1	4	NS
Přední/spodní+boční IM, n	17/13		3/2		NS		
ACE–inhibitory při dimisi, n	14		3		NS		
β-□ blokátory při dimisi , n	25		5		NS		

EF (ejekční frakce), IM (infarkt myokardu), PCI (perkutánní koronární intervence),

LVEDVi (indexovaný enddiastolický objem levé komory)

Statistická významnost: p=0.05, p=0.04, p=0.01, p=0.006, p=0.0001, NS (stat. nevýznamný),

Tabulka 2.

**Klinická charakteristika dvou podskupin pacientů vytvořených podle maximálního zvýšení ejekční frakce levé komory během 6-ti měsíčního sledování**

	<i>Podskupina I :</i>		<i>Podskupina II :</i>		Významnost I vs II		
	$\Delta EF \leq 10\%$		$\Delta EF > 10\%$				
N	21		14				
Věk, roky, prům. $\pm$ SD	66 $\pm$ 11,06		65 $\pm$ 8,55		NS		
Pohlaví M/Ž, n	10	11	9	5	NS		
Arteriální hypertenze, n	9		6		NS		
Kuřáctví, n	12		5		NS		
LVEDVi den 1 (ml/m <sup>2</sup> ), prům. $\pm$ SD	72,24 $\pm$ 3,04		61,73 $\pm$ 2,68		p=0.03		
Max. $\Delta$ LVEDVi / 6 měsíců (ml/m <sup>2</sup> ), prům. $\pm$ SD	7,89 $\pm$ 1,44		3,34 $\pm$ 0,78		p= 0.05		
Výchozí EF, prům. $\pm$ SD (%)	41 $\pm$ 11,3		41 $\pm$ 6,6		NS		
Max. $\Delta$ EF / 6 měsíců (%)	4,5 $\pm$ 0,83		17,46 $\pm$ 1,66		P= 0,0001		
CKMB max. ( $\mu$ kat/l), prům. $\pm$ SD	4,99 $\pm$ 0,60		2,47 $\pm$ 0,62		p=0.01		
TIMI před PCI 0-1/ 2-3, n	15	6	10	4	NS		
TIMI po PCI 0-1/ 2-3, n	4	17	1	13	NS		
Počet nemocných tepen: 1/2/3, n	5	7	9	6	1	7	NS
Přední/spodní+boční MI, n	9/12		8/6		NS		
ACE inhibitory při dimisi, n	12		5		NS		
$\beta$ -blokátoři při dimisi, n	21		9		NS		

EF (ejekční frakce), IM (infarkt myokardu), PCI (perkutánní koronární intervence),

LVEDVi (indexovaný enddiastolický objem levé komory )

Statistická významnost: p=0.05, p=0.03, p=0.01, p=0.0001, NS (stat. nevýznamný),

## Legenda k obrázkům

### Obr.1 A

Průměrná hladina PICP 1.-30. den ve skupině pacientů s IM rozdělených dle výsledku PCI (skupina A – úspěšná revaskularizace, skupina B - neúspěšná revascularizace) a ve skupině C (pouze koronarografie). Signifikantně vyšší ( $p = 0,01$ ) PICP 30.den ve skupině B.

PCI (perkutánní koronární intervence), PICP (C- terminální propeptid prokolagenu I)

### Obr.1 B

Průměrná hladina PIIINP 1.-30. den ve skupině pacientů s IM rozdělených dle výsledku PCI (skupina A – úspěšná revaskularizace, skupina B - neúspěšná revascularizace) a ve skupině C (pouze koronarografie). Signifikantně vyšší ( $p = 0,01$ ) PIIINP 30.den ve skupině B.

PCI (perkutánní koronární intervence), PICP (C- terminální propeptid prokolagenu I)

### Obr.2 A

Bodový graf zobrazující hladiny PIIINP 4.den po IM v podskupinách I,II vytvořený s ohledem na výchozí EF v den 1 a s ohledem na maximální změny EF během půlročního sledování.

Signifikantně vyšší (\*\*  $p=0.002$ ) výskyt PIIINP4 nad  $4 \mu\text{g/l}$  ve skupině se zvýšením EF méně jak 10% nebo zhoršením EF.

EF (ejekční frakce), IM (infarkt myokardu), PIIINP (N-terminální propeptid prokolagenu III)



**Obr.2B**

**Porovnání maximálního zvětšení LVEDVi během 6 měsíců sledování a průměrné hladiny PIIINP 4.den; \*\* p= 0,0001.**

LVEDVi (indexovaný enddiastolický objem levé komory), PIIINP (N-terminální propeptid prokolagenu III)

**Obr.3A**

Průměrná hladina ICTP 1.-30. den ve skupině pacientů s IM rozdělených dle výsledku PCI (skupina A – úspěšná revaskularizace, skupina B - neúspěšná revaskularizace) a ve skupině C (pouze koronarografie). Signifikantně vyšší ( $p = 0,01$ ) ICTP 30.den ve skupině B. PCI (perkutánní koronární intervence), ICTP (C- terminální telopeptid kolagenu I)

**Obr.3B**

Korelace průměrné sérové hladiny ICTP ( $\mu\text{g/l}$ ) 1.-30. den IM ve skupinách A+B rozdělené do dvou podskupin podle maximální změny EF. Zlepšení EF pod 10% nebo zhoršení EF (podskupina I) a zlepšení více jak 10% (podskupina II) během 6 měsíců sledování. Signifikantně vyšší ( $p=0,05$  a  $0,03$ ; resp.) sérová hladina ICTP 4.,7. den v podskupině I.

EF (ejekční frakce), IM (infarkt myokardu), ICTP (C terminalní telopeptid kolagenu I)

**Obr. 4A**

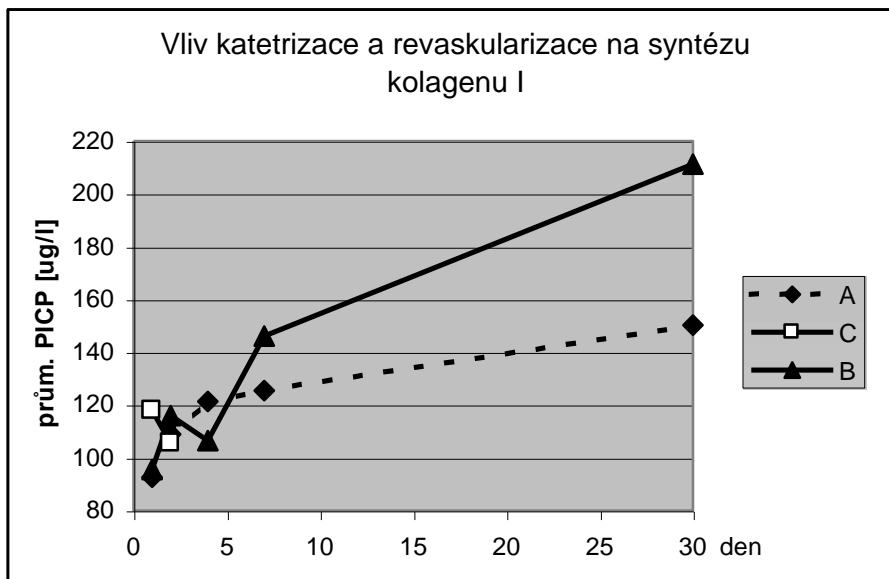
Korelace mezi maximální hladinou CKMB a maximální sérovou hladinou PICP stanovenou 1.-30. den IM

CKMB (sérová kreatinkináza – MB frakce), PICP (C- terminální propeptid prokolagenu I)

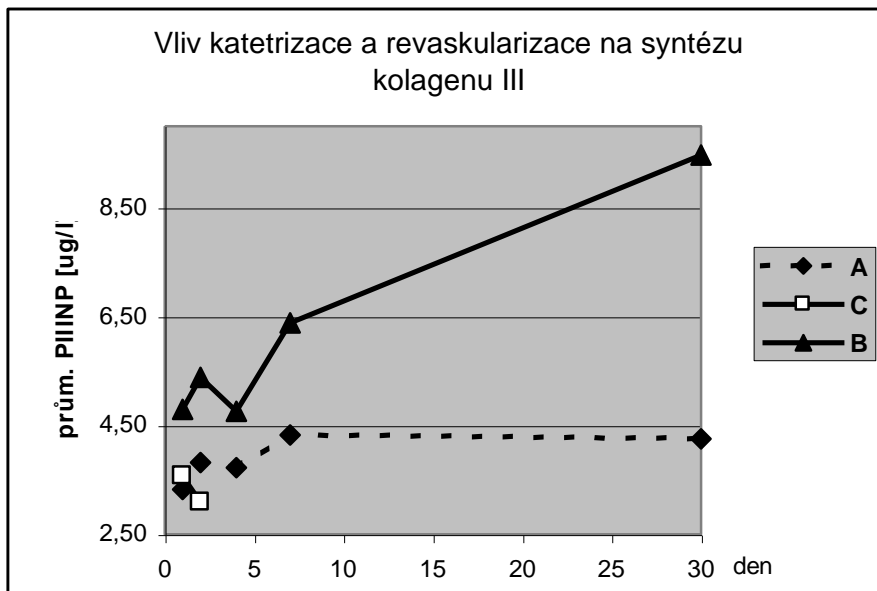
**Obr. 4B**

Korelace mezi maximální hladinou CKMB a maximální změnou LVEDVi během 6 měsíců sledování.

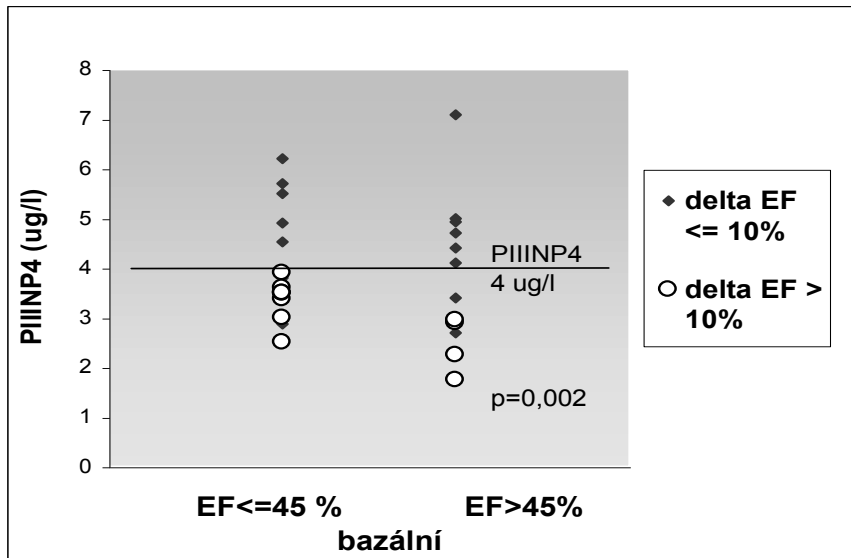
CKMB (sérová kreatinkináza – MB frakce), LVEDVi ((indexovaný enddiastolický objem levé komory)



Obr.1A

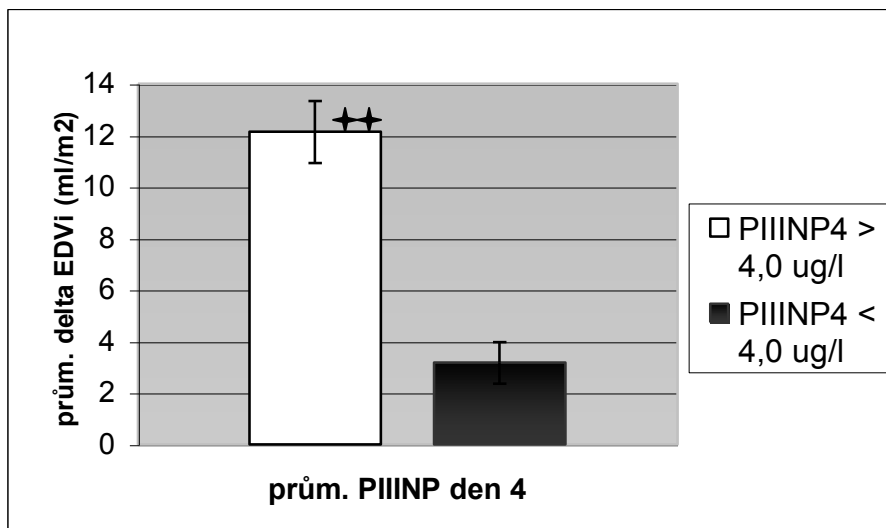


Obr. 1B

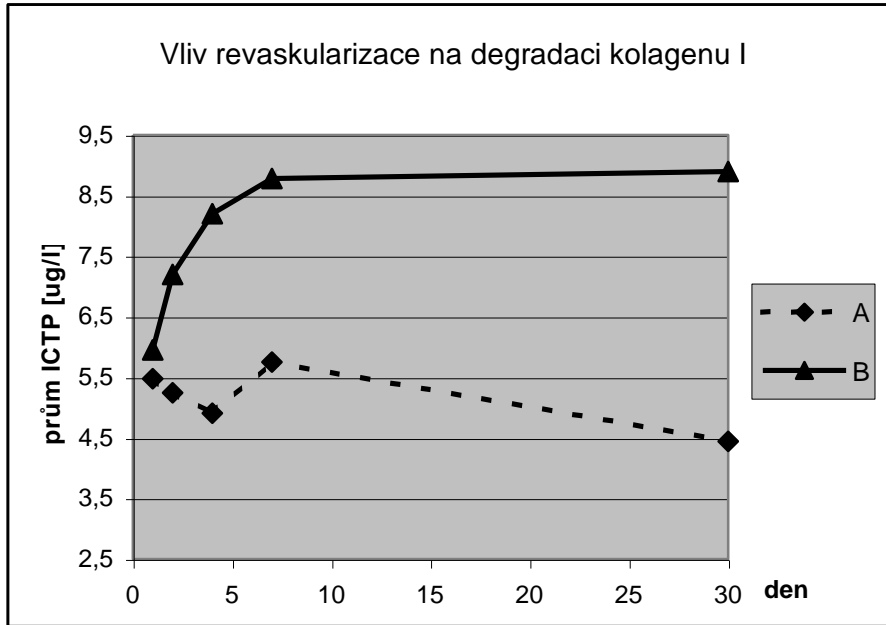


Obr.2A

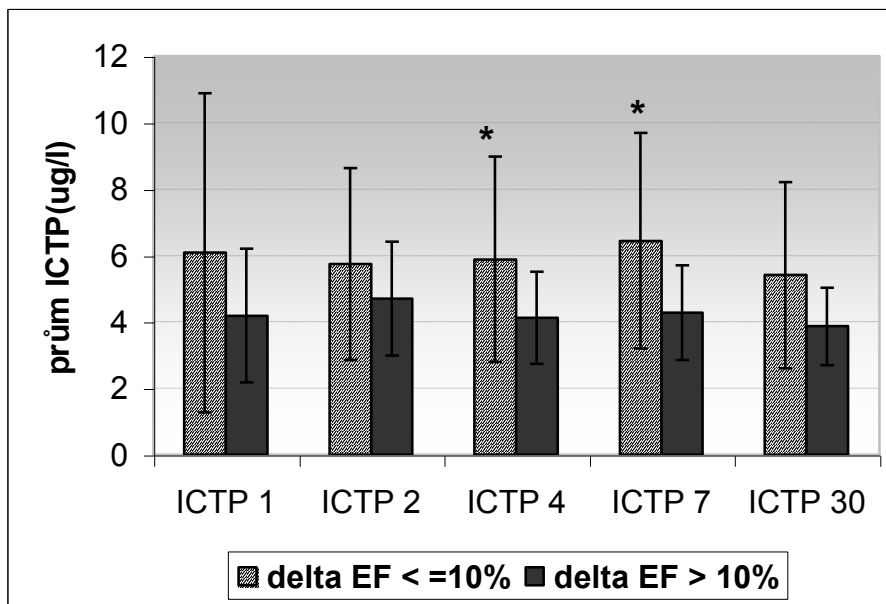
B



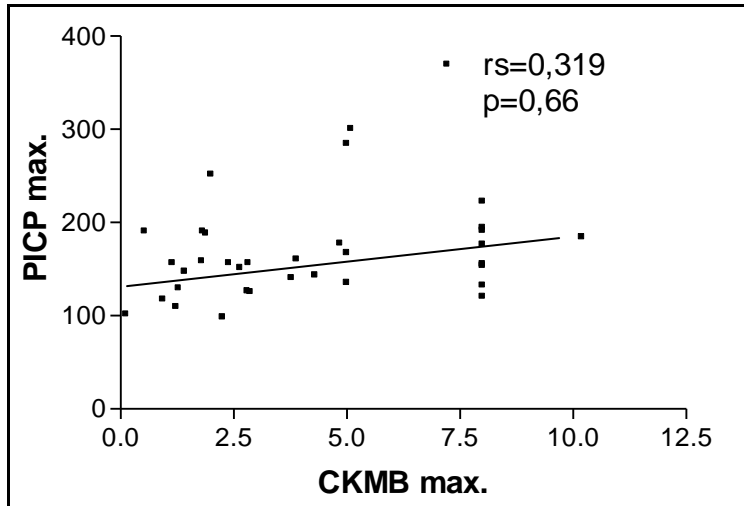
Obr.2B



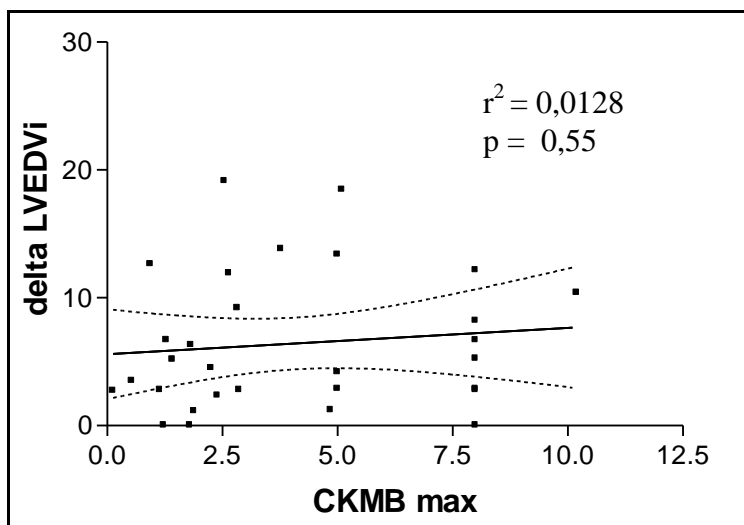
Obr.3A



Obr.3B



Obr. 4A



Obr. 4B

### 3. SOUHRN PŮVODNÍ PRÁCE

V této práci jsme prokázali, že biochemická metoda využívající markerů metabolismu kolagenu je schopna detekovat změny metabolismu myokardiálního kolagenu za podmínek *in vivo*. Ve srovnání s dříve publikovanými pracemi zabývajícími se problematikou myokardiálního intersticia jsme poprvé testovali prediktivní schopnost markerů metabolismu kolagenu pro remodelaci levé komory ve skupině pacientů s akutním infarktem myokardu léčených výhradně primární koronární intervencí, tedy při znalosti koronární anatomie a při znalosti úspěšnosti reperfúze u všech studovaných pacientů. Jako první jsme provedli korelaci hladin sérových markerů metabolismu kolagenu mezi skupinami s úspěšnou a neúspěšnou rekanalizací věnčité tepny. Věříme, že naše práce vnese nový pohled do procesu remodelace lidského myokardu po infarktu myokardu a napomůže použití markerů metabolismu kolagenu v klinické praxi.

#### 4. LITERATURA AUTORA

##### 4.1. Články v odborných časopisech se vztahem k tématu práce

ISSN 1349-2365 Int Heart J



**Volume 47, Number 3  
May 2006**

**Published Bimonthly  
by the International Heart Journal Association**

Department of Cardiovascular Medicine  
Graduate School of Medicine, University of Tokyo

## Influence of Primary Coronary Intervention on Myocardial Collagen Metabolism and Left Ventricle Remodeling Predicted by Collagen Metabolism Markers

Radovan JIRMÁR,<sup>1</sup> MD, Václav PELOUCH,<sup>2</sup> PhD, Petr WIDIMSKÝ,<sup>1</sup> PhD,  
Jan ČAPEK,<sup>1</sup> MD, Michal ANDEL,<sup>3</sup> PhD, Richard PRŮŠA,<sup>4</sup> PhD,  
and Martina PECHOVÁ,<sup>4</sup> RN

### SUMMARY

The aims of the present study were to analyze cardiac collagen metabolism changes *in vivo* during acute and nonacute phases of ST elevation myocardial infarction (STEMI) in patients who were treated with primary coronary intervention (PCI) only, and to determine the predictive significance of collagen I and III synthesis markers (PICP, PIIINP) as well as the collagen I degradation marker (ICTP) on left ventricular function and volume changes after STEMI. Serum levels of the carboxy-terminal propeptide of type I procollagen (PICP) and amino-terminal propeptide of type III procollagen (PIIINP) assessed on the 30th day and the carboxyterminal telopeptide located at the C end of collagen type I (ICTP) assessed on the 7th day after STEMI were significantly higher ( $P = 0.01$ ,  $P = 0.019$ ,  $P = 0.04$ , respectively) in the PCI unsuccessful group than in the PCI successful group. These findings support the theory that early and successful PCI not only limits the amount of muscle necrosis but also protects cardiac collagen from ischemia-related injury. PICP and PIIINP levels assessed on the fourth day after acute STEMI enables us to predict the development of left ventricular function (EF) and end-diastolic volume changes over the course of 6 months, irrespective of the initial EF or revascularization success. (Int Heart J 2005; 46: 949-959)

**Key words:** Myocardial infarction, Left ventricle remodeling, Collagen metabolism, Coronary revascularization

THE extent and location of a myocardial infarction (MI) together with the process of morphological and protein changes in the extracellular matrix (ECM) determine healing after a myocardial infarction. All of these factors are independent and influence the extent of left ventricular remodelling,<sup>1-3)</sup> the function of the left ventricle, and the prognosis of a patient after MI. The ECM is composed of

From the <sup>1</sup> Cardiocenter, Department of Cardiology, 3<sup>rd</sup> Medical School, Charles University and University Hospital Kralovske Vinohrady, <sup>2</sup> Department of Medical Chemistry and Biochemistry, 2<sup>nd</sup> Faculty of Medicine, <sup>3</sup> 2<sup>nd</sup> Internal Clinic, University Hospital Kralovske Vinohrady and the 3<sup>rd</sup> Faculty of Medicine, <sup>4</sup> Department of Clinical Biochemistry and Pathobiochemistry, 2<sup>nd</sup> Faculty of Medicine, Charles University, Prague, Czech Republic.

Address for correspondence: Radovan Jirmar, MD, Cardiocenter, Department of Cardiology, 3<sup>rd</sup> Medical School Charles University and University Hospital Kralovske Vinohrady Prague, Czech Republic.

Received for publication January 25, 2005.

Revised and accepted August 4, 2005.



various types of collagens (major ones are collagen I and III), proteoglycans, and glycoproteins. Collagen type I is synthesized in the form of procollagen with additional sequences of amino acids at the N and C ends of its molecule. The carboxyterminal propeptide of type I procollagen (PICP) is released into the bloodstream during collagen type I synthesis. On the other hand, the carboxyterminal telopeptide located at the C end of the molecule of collagen type I (ICTP) is eliminated from collagen type I during its degradation. Collagen type III is synthesized in the form of its procollagen and N-terminal propeptide (PIIINP) is released into the blood circulation during the conversion into collagen. It seems PIIINP is also released during collagen III degradation; some PIIINP remains bound on the fibres of collagen III even after its synthesis.<sup>4)</sup>

Nevertheless, the synthesis of collagen III is substantially activated during the cardiac remodeling (eg, myocardial hypertrophy, ischemic myocardium). However, the level of PIIINP can also be influenced by thrombolysis.<sup>5)</sup> The only possible way to detect *in vivo* the synthesis and degradation of different types of collagens in human heart after MI is by estimation of the levels of their propeptides in serum.

The primary aim of the present study was, therefore, to evaluate the dynamics of collagen metabolism in ischemic myocardium by means of both synthesis and degradation of the collagen markers in ST segment elevation MI (STEMI) patients treated using direct percutaneous coronary intervention (PCI). Another goal was to assess the functional and volume changes of the left ventricle in these patients by means of echocardiography. Furthermore, the biochemical, functional, and volume values were correlated and the predictive significance of cardiac collagen metabolism markers on the left ventricular function and volume changes were estimated in the acute and subacute phases of STEMI.

## METHODS

**Patients and protocol:** Forty-five patients (age,  $66 \pm 8.27$ ) underwent biochemical and functional analysis for cardiac collagen metabolism (groups A, B, and C). Thirty-five had been consecutively admitted to the coronary care unit with their first acute STEMI within 12 hours from the start of symptoms. All 35 of these patients were treated by primary PCI only; PCI was successful in 30 (group A) and unsuccessful (group B) in 5 (TIMI flow 0, residual stenosis 100%). The baseline characteristics of groups A and B are presented in Table I. Eighty-six percent of these patients were treated with beta-blockers; 93.3% received metoprolol (25-100 mg/day), and 6.7% carvedilol (12.5 mg/day). Treatment was started within 24 hours of admission in most patients. Beta-blockers were administered to 76.2% of the patients in group I (see below) and 64.3% of the patients

Table I. Clinical Characteristics of Groups A and B

	Group A		Group B		Significance A vs B		
N	30		5		NS		
Age (years), mean $\pm$ SD	65 $\pm$ 9.96		69 $\pm$ 10.16				
Sex, M/F	16	14	3	2	NS		
Arterial hypertension, <i>n</i>	13		4		NS		
Smokers, <i>n</i>	16		2		NS		
Initial EF, mean $\pm$ SD	42 $\pm$ 9.1		31 $\pm$ 11.03		<i>P</i> = 0.05		
$\Delta$ EF $\leq$ 10% / $\Delta$ EF $>$ 10% in 6 months	18	11	4	1	NS		
TIMI before PCI 0-1 / 2-3, <i>n</i>	21	9	4	1	NS		
TIMI after PCI 0-1 / 2-3, <i>n</i>	0	30	5	0	<i>P</i> = 0.0001		
Number of diseased vessels: 1/2/3, <i>n</i>	11	8	11	0	1	4	NS
Anterior/inferior + lateral MI, <i>n</i>	17/13		3/2		NS		
ACE-inhibitors at discharge, <i>n</i>	14		3		NS		
$\beta$ -Blockers at discharge, <i>n</i>	25		5		NS		

EF indicates ejection fraction; MI, myocardial infarction; PCI, percutaneous coronary intervention; and NS, nonsignificant.

*P* = 0.05, *P* = 0.02, *P* = 0.0001.

in group II. The difference was not statistically significant. Group C (control group; *n* = 10, age, 63  $\pm$  4.68) consisted of stable patients without a history of MI who only underwent elective diagnostic coronary angiography. STEMI (in groups A + B) was defined as typical chest pain persisting for more than 20 minutes, ST elevation above 0.1 mV in limb leads, and/or above 0.2 mV in precordial leads simultaneously in at least two leads in a 12-lead ECG, and significant increases in both creatine kinase (CK) and creatine kinase - MB fraction (CKMB) or troponin I more than twice the normal upper limit. Exclusion criteria included any disease that could potentially influence the level of the biochemical markers of collagen metabolism (skeletal and articular disease, type I diabetes mellitus, renal insufficiency, liver disease, or a malignant tumor). Blood samples for collagen analysis were obtained immediately after admission (day 1) and on days 2 (for all groups), 4, 7, and 30 (groups A + B) following admission; all samples were centrifuged and the serum was stored at  $-25^{\circ}\text{C}$ . CK and CKMB levels were assessed at admission and then after 8, 16, and 24 hours after admission.

**Echocardiography:** The patients were evaluated by means of echocardiography on days 1, 4, and 30, and 6 months after STEMI using an HP Sonos 2500. The function of the left ventricle, expressed by ejection fraction (EF, %), and the left ventricular end-diastolic volume index (LVEDVi, mL/m<sup>2</sup>) were evaluated using an endocardium border automated detection method. The size of the left ventricle

and the development of ventricular aneurysm or mitral insufficiency were also evaluated. In the case of a suboptimal echocardiographic window, EF and volume were evaluated by the area-length method from the apical two-chamber view. The mean of 3 measurements was used and records were stored on videotape.

**Laboratory method:** Frozen serum samples were consequently analyzed for collagen metabolism marker kits; furthermore, both CK and CKMB were assessed. Sample thawing was always performed as a part of measuring the collagen concentration by RIA (ORION kits, Finland, detection of the isotope  $^{125}\text{I}$ ) according to the instructions provided by the kit supplier. All measurements were analyzed by someone blinded to the clinical data.

Four different kits were used:

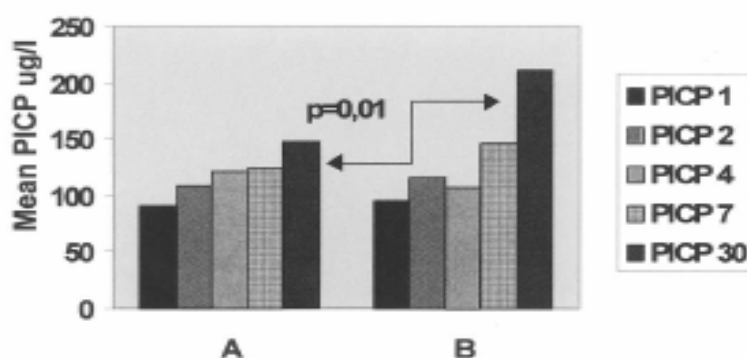
a) collagen synthesis :

- 1) PINP – N terminal propeptide of type I procollagen
- 2) PICP – C terminal propeptide of type I procollagen
- 3) PIIINP – N terminal propeptide of type III procollagen

b) collagen degradation

- 4) ICTP – C terminal telopeptide of type I collagen

**Statistical analysis:** Data are presented as the mean  $\pm$  SD or as a percentage where appropriate. ANOVA was used to analyze the time-dependent changes of continuous variables, an unpaired *t*-test for continuous variables between groups, a paired *t*-test for within-group differences, Fisher's exact test for categorical variables, the Mann-Whitney test for independent two samples, and the chi-square test for dichotomous data. Correlations were calculated using the Spearman rank



**Figure 1.** Comparison of PICP on days 1, 2, 4, 7, and 30 in groups A versus B according to the results of PCI. PICP was significantly higher ( $P = 0.01$ ) on day 30 in group B with failed PCI.

PCI and PICP indicate percutaneous coronary intervention and C-terminal propeptide of type I procollagen, respectively.

correlation coefficient. The composite of major events during follow-up were analysed by the Kaplan-Meier method. The differences between the event-free survival curves were compared using the log-rank test. Values of  $P < 0.05$  were considered statistically significant. Values of  $P < 0.05$  were considered statistically significant (\* $P$ ),  $P < 0.01$  highly statistically significant (\*\* $P$ ).

The study was conducted after receiving approval from the institutional review (ethical) committee of the 3<sup>rd</sup> Medical School Charles University issued on 19/May/1999 (reg. No. 134/99) and informed consent from each participant. The presence of heart failure, need for new coronary angiography, new hospitalisation, recurrence of MI, angina pectoris, and death were recorded during a one-year clinical follow-up.

## RESULTS

### A) Analysis of cardiac collagen metabolism:

#### A1) Changes in PICP and PIIINP in groups A + B (STEMI patients) versus C (control group) - influence of catheterization.

The level of PICP was already significantly higher in group A + B on day 2 (A + B =  $91.79 \pm 32.85$  and  $109.99 \pm 26.6 \mu\text{g/L}$ ;  $P = 0.001$  on the first and the second day, respectively). No such increase was observed in group C (C =  $118 \pm 39.3 \mu\text{g/L}$  and  $105.63 \pm 24.31 \mu\text{g/L}$ ;  $P = 0.017$  for the first and second day, respectively). Similar results were observed for the serum level of PIIINP (data not shown).

#### A2) PICP in groups A, B - effect of revascularisation on collagen I.

A significant difference in PICP, assessed on day 30, was observed between group A (successful revascularisation,  $147.65 \pm 34.46 \mu\text{g/L}$ ) and group B (unsuccessful revascularisation,  $211 \pm 66.04 \mu\text{g/L}$ ) ( $P = 0.01$ ) (Figure 1).

The MI patients were divided into two subgroups (subgroup I,  $n = 21$ : improvement of EF  $\leq 10\%$  or worsening; and subgroup II,  $n = 12$ : improvement of EF  $> 10\%$ ) on the basis of the maximal change in left ventricular EF during the 6-month follow-up. The baseline characteristics of subgroups I and II are shown in Table II. There was a significant increase in serial PICP concentrations between days 1 and 30 in both subgroups as well (subgroup I =  $95.65 \pm 43.08 \mu\text{g/L}$ ,  $151.03 \pm 32.09 \mu\text{g/L}$ , for days 1 and 30, respectively, subgroup II =  $84.51 \pm 14.06 \mu\text{g/L}$ ,  $138.56 \pm 30.45 \mu\text{g/L}$ ;  $P = 0.005$  for both subgroups). PICP levels on day 2 ( $116.76 \pm 29.67$  and  $95.46 \pm 19.61 \mu\text{g/L}$  for subgroups I and II, respectively,  $P = 0.005$ ), on day 4 ( $137.49 \pm 49.16$  and  $93.65 \pm 14.46 \mu\text{g/L}$ ,  $P = 0.02$ ) and on day 7 ( $151.03 \pm 57.39$  and  $138.56 \pm 30.45 \mu\text{g/L}$ ,  $P = 0.01$ ) were significantly lower in patients whose EF improved more than 10% (subgroup II) compared to those whose did not (subgroup I). A significantly higher ( $P = 0.01$ )

incidence of PICP on day 4 (PICP4) above 110  $\mu\text{g/L}$  was observed in subgroup I. This finding was independent of initial EF. The increase in LVEDVi during 6 month follow-up was significantly higher in the group of patients with PICP4 > 110  $\mu\text{g/L}$  than in the group with PICP4  $\leq$  110  $\mu\text{g/L}$  ( $\Delta$  LVEDVi 8.93  $\pm$  1.68 mL/m<sup>2</sup> versus 3.96  $\pm$  1.01 mL/m<sup>2</sup>;  $P = 0.02$ ). Furthermore, PICP4 > 110  $\mu\text{g/L}$  on day 4 showed a sensitivity of 86% (specificity 64%) with respect to identifying patients of subgroup I, regardless of the initial EF. There were no significant differences between patients with anterior MI and MI in other locations with respect to the changes in PICP levels on days 1 to 30 (data not shown).

#### A3) PIIINP in groups A, B - effect of revascularisation on collagen III.

The time-dependent increase in serial PIIINP concentrations from day 1 to day 30 was statistically significant (A + B = 3.54  $\pm$  1.39 and 4.84  $\pm$  2.67  $\mu\text{g/L}$ ;  $P = 0.001$  for day 1 and day 30, respectively). PIIINP levels on day 4 (PIIINP4) were significantly lower in patients in subgroup II compared to patients in subgroup I (see above), regardless of the initial EF (4.22  $\pm$  1.68 versus 3.17  $\pm$  1.17  $\mu\text{g/L}$ ,  $P = 0.002$ ). A significantly higher ( $P = 0.002$ ) occurrence of PIIINP4 above 4  $\mu\text{g/L}$  was observed in subgroup I. This finding was independent of initial EF (data not shown). Furthermore, PIIINP > 4  $\mu\text{g/L}$  on day 4 showed high sensitivity (100%), but specificity of 57% to identify patients of subgroup I.

The probability of predicting an EF improvement of less than 10% (subgroup I) during follow-up was increased by the combination of PICP > 110  $\mu\text{g/L}$  and PIIINP > 4.0  $\mu\text{g/L}$  both assessed on day 4. The sensitivity was 83% and the specificity 75% to identify these patients.

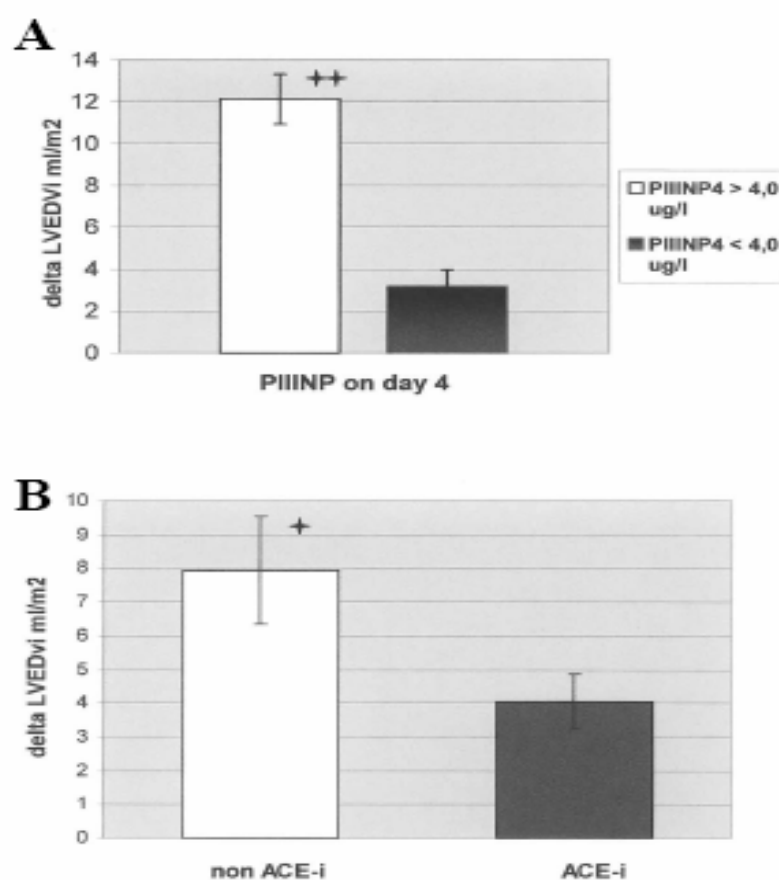
The increase in LVEDVi during the 6 month follow-up was significantly higher (Figure 2A) in the group of patients with PIIINP4 > 4.0  $\mu\text{g/L}$  than in the group with PIIINP4  $\leq$  4.0  $\mu\text{g/L}$  ( $\Delta$  LVEDVi 12.84  $\pm$  1.23 mL/m<sup>2</sup> versus 4.67  $\pm$  0.95 mL/m<sup>2</sup>;  $P = 0.0001$ ).

#### A4) Relationship between the changes in PICP concentration and CKMB max level.

There was no significant correlation between the levels of PICP on days 1, 4, or 30 and CKMB maximal levels, although a significant correlation was observed for day 7 ( $P = 0.01$ , Spearman's correlation coefficient  $r = 0.45$ , data not shown).

#### A5) Effect of ACE inhibitors on cardiac collagen metabolism and left ventricle remodeling.

Seventeen study patients (49%) were treated with ACE inhibitors (ACE-i); 7 (41.2%) of whom received perindopril (2-4 mg/day), 8 (47.1%) ramipril (1.25-5 mg/day), and 2 (11.7%) trandolapril (2 mg/day). ACE-i treatment was started between days 1 and 4 in all patients. There was no statistically significant difference between subgroups I and II (see above) with respect to the number of



**Figure 2.** A: Comparison of the maximal increase in left ventricular end-diastolic volume index during 6 month follow-up and PIINP level on day 4 (PIINP4) \*\*  $P = 0.0001$ . B: Comparison of the maximal increase in left ventricular end-diastolic volume index (LVEDVi) during 6 month follow-up between groups without and with ACE inhibitor (ACE-i) treatment. \* $P = 0.039$ . PIINP indicates N-terminal propeptide of type III procollagen.

patients treated with ACE-i. Eight patients (78.6%) in group II had a basal EF above 40% so there was no absolute indication for ACE-i treatment in the years the study was conducted.

The mean level of ICTP on day 30 only was significantly higher in MI patients treated with ACE-i as compared to patients without ACE-i [mean ICTP on day 30 was  $5.91 \pm 0.88$  in the ACE-i (+) group versus  $3.93 \pm 0.37$  in the ACE-i (-) group ( $P = 0.043$ )]. The mean levels of PICP and PIINP on days 7 and 30 were not significantly different in MI patients treated with ACE-i as compared to patients without ACE-i.

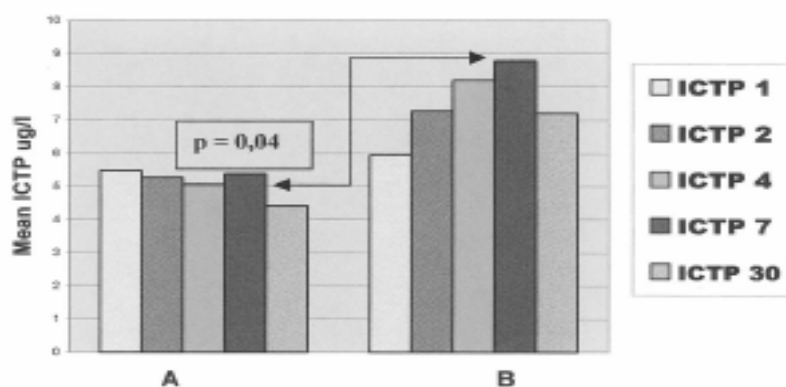
We observed a significantly lower progression of EDVi during the 6 month follow-up in MI patients treated with ACE-i than in the non-ACE-i group (mean delta EDVi was  $4.04 \pm 1.00$  versus  $7.93 \pm 1.52$ ;  $P = 0.039$ ) (Figure 2B). The change in the left ventricle EF during the 6 months after MI was not significantly different between the groups with and without ACE inhibitor treatment.

A6) ICTP in groups A,B - effect of revascularisation on collagen I degradation.

A significant difference between group A (successful revascularisation) and group B (unsuccessful revascularisation) with respect to ICTP assessed on day 7 ( $A = 5.38 \pm 2.70$  and  $B = 8.78 \pm 3.27 \mu\text{g/L}$ ;  $P = 0.04$  for day 7) was observed (Figure 3). There was a significant difference in the concentration of ICTP between subgroups I and II on days 4 and 7 (data not shown).

**B) Clinical outcome:** During the one-year follow-up there were 4 deaths in group A and no deaths in group B. Two deaths in group A were cardiac (one patient died on the 2<sup>nd</sup> day after admission of cardiogenic shock and the other died one month after MI due to heart failure) and the other 2 were noncardiac (lung tumor and stroke after 6 months of follow-up).

An initial EF lower than 45% was found in 18 patients (60%) in group A and 5 patients (100%) in group B. During a 6-month follow-up period, 11 patients in group A and only 1 patient in group B (this patient underwent bypass surgery during follow-up) had an improvement in their EF of more than 10%. The small amount of noted clinical events (new MI, heart failure, death) in both groups did



**Figure 3.** Comparison of ICTP on days 1, 2, 4, 7, and 30 in groups A and B (MI patients) according to the results of PCI. ICTP was significantly higher ( $P = 0.04$ ) on day 7 in group B with failed PCI. PCI and ICTP indicate percutaneous coronary intervention and C terminal telopeptide of type I collagen, respectively.

not allow us to evaluate the predictive value of the changes in serum concentrations of collagen metabolism markers on these events.

### DISCUSSION

Protein remodelling of both ECM and myofibrillar compartments has been observed in ischemic myocardium.<sup>6)</sup> However, these data were predominantly derived from the myocardium of animals after ligation of coronary arteries.<sup>7)</sup> Much less is known about the protein profile of human myocardium in patients after MI. Until now the results have been derived mainly from myocardium in sectioned material.<sup>8)</sup> It is generally known that biochemical analysis of troponin levels or CKMB activity is very sensitive for detecting myocardial necroses after MI,<sup>9,10)</sup> but insensitive for predicting changes in cardiac function and left ventricular remodeling after MI. Therefore, the main aim of this study was to identify *in vivo* markers reflecting MI healing and remodeling of the left ventricle during both acute and nonacute periods of MI in STEMI patients. Markers of both collagen degradation and synthesis have been used for this purpose. We have shown that changes in collagen metabolism were detected very early after MI. Increases in collagen I and collagen III synthesis were observed within the first 48 hours after MI. This process might persist even 1 month after MI,<sup>5)</sup> however, collagen synthesis was much less pronounced in patients after successful PCI compared to patients where this treatment was unsuccessful. Therefore, unsuccessful PCI may significantly elevate the concentration of collagen in the human myocardium and accelerate remodeling of cardiac ECM after MI.

It has been shown<sup>11,12)</sup> that ACE inhibitors influence ventricular remodeling not only due to their effects on pre- and afterload reduction, but also due to their interference with the increase in DNA synthesis of fibroblasts as normal adaptive responses of the heart to the loss of muscle. The result of this interference is a decrease in the amount of collagen in noninfarcted myocardium after ACE-i treatment, as well as a probable effect of ACE-i on scar collagen. Our study was not primarily designed to assess the influence of ACE inhibitors on cardiac collagen metabolism, therefore, we retrospectively evaluated their influence on cardiac collagen metabolism. Our findings suggest that the manner in which ACE inhibitors may have decreased the amount of collagen in noninfarcted and infarcted myocardium could also be an increase in collagen degradation.

It seems that biochemical remodeling of ECM induced by ischemia is more complex. The correlation of biochemical data (PICP, PIIINP) with functional (EF) and volume changes of the left ventricle after STEMI yields some predictive values; absolute values of both PICP (marker of collagen I synthesis) and PIIINP (marker of collagen III synthesis) on the fourth day after MI have met this



**Table II.** Clinical Characteristics of Two Subgroups Divided on the Basis of Maximal Increase in LV Ejection Fraction During 6-Month Follow-Up

	Subgroup I: $\Delta EF \leq 10\%$		Subgroup II: $\Delta EF > 10\%$		Significance I versus II		
Age (years), mean $\pm$ SD	66 $\pm$ 11.06		65 $\pm$ 8.55		NS		
Sex, M/F, <i>n</i>	10	11	9	5	NS		
Arterial hypertension, <i>n</i>	9		6		NS		
Nicotine abuse, <i>n</i>	12		5		NS		
Initial EF, mean $\pm$ SD (%)	41 $\pm$ 11.3		41 $\pm$ 6.6		NS		
$\Delta EF$ / 6 month (%)	4.5 $\pm$ 0.83		17.46 $\pm$ 1.66		<i>P</i> = 0.0001		
$\Delta LVEDVi$ / 6 month (mL/m <sup>2</sup> )	7.89 $\pm$ 1.44		3.34 $\pm$ 0.78		<i>P</i> = 0.03		
Time pain - PCI $\leq$ 6hrs / $>$ 6 hrs, <i>n</i>	11	10	8	6	NS		
TIMI before PCI 0-1/ 2-3, <i>n</i>	15	6	10	4	NS		
TIMI after PCI 0-1/ 2-3, <i>n</i>	4	17	1	13	NS		
Number of diseased vessels: 1/2/3, <i>n</i>	5	6	9	6	2	5	NS
Anterior MI, <i>n</i>	9		10		NS		
Inferior, lateral MI, <i>n</i>	11		5		NS		
ACE inhibitors at discharge, <i>n</i>	12		2		NS		
$\beta$ -Blockers at discharge, <i>n</i>	16		9		NS		

EF indicates ejection fraction; MI, myocardial infarction; PCI, percutaneous coronary intervention; LVEDVi, left ventricular end-diastolic volume index; and NS, not significant. Significance: *P* = 0.03, *P* = 0.0001

requirement. The extent of EF improvement in subgroup I and II patients (up to 10% and above 10%, respectively) was impossible to explain based on the differences in basic characteristics (Table II) and thus the predictive values of PICP4 and PIIINP4 are even higher. We have proved that heart catheterization itself does not affect PICP and PIIINP levels. It seems that the markers of collagen metabolism could expand the group of biochemical markers assessing the prognosis of the MI patients. Further studies are required to determine which of the collagen metabolism markers should be incorporated into the routine management of patients with MI.

**Conclusion:** Unsuccessful coronary revascularization leads to significantly higher collagen synthesis and degradation in the myocardium of patients with acute MI. Cardiac catheterization itself does not affect collagen metabolism. The analysis of collagen metabolism markers in blood enables us to predict remodeling of the left ventricle after MI *in vivo*. The PICP and PIIINP serum levels on the fourth day after MI predict the changes in left ventricular function and end-diastolic volume in the 6 month period following STEMI, irrespective of the initial EF or revascularization success.

## ACKNOWLEDGEMENTS

This study was supported by grant NA/6350-3 IGA from the Ministry of Health, Czech Republic and by Research Project Nr. MSM 0021620817 of Charles University, Prague, awarded by the Czech Ministry of Education.

## REFERENCES

1. Halkin A, Aymong E, Cox DA, *et al.* Relation between late patency of the infarct-related artery, left ventricular function, and clinical outcomes after primary percutaneous intervention for acute myocardial infarction (CADILLAC trial). *Am J Cardiol* 2004; 93: 349-53.
2. Sano I, Kusachi S, Murakami T, *et al.* OPC-8212, a quinoline derivative, counteracts the reduction in type III collagen mRNA due to lipopolysaccharides in cultured rat cardiac fibroblasts. *Jpn Heart J* 2001; 42: 125-34.
3. Whittaker P, Boughner DR, Kloner RA. Role of collagen in acute myocardial infarct expansion. *Circulation* 1991; 84: 2123-34.
4. Poulsen SH, Host NB, Jensen SE, Egstrup K. Relationship between serum amino-terminal propeptide of type III procollagen and changes of left ventricular function after acute myocardial infarction. *Circulation* 2000; 101: 1527-32.
5. Poulsen SH, Host NB, Egstrup K. Long-term changes in collagen formation expressed by serum carboxyterminal propeptide of type I procollagen and relation to left ventricular function after acute myocardial infarction. *Cardiology* 2001; 96: 45-50.
6. Whittaker P, Boughner DR, Kloner RA. Analysis of healing after myocardial infarction using polarized light microscopy. *Am J Pathol* 1989; 134: 879-93.
7. Pelouch V, Jimar R. Biochemical characteristics of cardiac collagen and its role in ventricular remodeling following infarction. *Physiol Res* 1993; 42: 283-92.
8. Jimar R, Pelouch V, Andel M, *et al.* The relationship of collagen composition to left ventricular function and aneurysm formation after myocardial infarction. *Cor Vasa* 1998; 40: 340-6.
9. Antman EM, Tanasijevic MJ, Thomson B, *et al.* Cardiac-specific troponin I levels to predict the risk of mortality in patients with acute coronary syndromes. *N Engl J Med* 1996; 335: 1342-9.
10. Lindhal B, Toss H, Siegbalm A, Venge P, Wallentin L. Markers of myocardial damage and inflammation in relation to long-term mortality in unstable coronary artery disease. FRISC Study Group. Fragmin during Instability in Coronary Artery Disease. *N Engl J Med* 2000; 343: 1139-47.
11. van Krimpen C, Schoemaker RG, Cleutjens JP, *et al.* Angiotensin I converting enzyme inhibitors and cardiac remodeling. *Basic Res Cardiol* 1991; 86 (Suppl 1): 149-55.
12. Whittaker P. Unravelling the mysteries of collagen and cicatrix after myocardial infarction. *Cardiovasc Res* 1995; 29: 758-62. (Review)



# Changes of collagen metabolism predict the left ventricular remodeling after myocardial infarction

Jirmar Radovan,<sup>1</sup> Pelouch Vaclav,<sup>2,3</sup> Widimsky Petr,<sup>1</sup> Capek Jan,<sup>1</sup>  
Andel Michal,<sup>4</sup> Prusa Richard<sup>5</sup> and Pechova Martina<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Cardiocenter, Department of Cardiology, 3rd Medical School, Charles University and University Hospital Kralovske Vinohrady, Prague, Czech Republic; <sup>2</sup>Department of Medical Chemistry and Biochemistry of the 2nd Faculty of Medicine, Charles University, Prague, Czech Republic; <sup>3</sup>Centre for Cardiovascular Research of the 2nd Faculty of Medicine, Charles University, Prague, Czech Republic; <sup>4</sup>2nd Internal Clinic of the University Hospital Kralovske Vinohrady and the 3rd Medical School, Charles University, Prague, Czech Republic; <sup>5</sup>Department of Clinical Biochemistry and Pathobiochemistry of the 2nd Medical School, Charles University, Prague, Czech Republic.

Received 22 June 2005; accepted 8 September 2005

## Abstract

**Objectives:** To analyze the predictive value of cardiac collagen metabolism "in vivo" in patients with myocardial infarction (MI) treated with percutaneous coronary intervention (PCI). **Design:** Forty-five patients (age  $66 \pm 8.27$ ) underwent biochemical analysis for cardiac collagen metabolism (groups A, B and C); 30 patients with their first MI were treated with successful PCI (group A;  $n = 30$ ), group B ( $n = 5$ ) were MI patients with unsuccessful PCI. Group C were patients without MI ( $n = 10$ ), they underwent elective diagnostic coronary angiography only. The collagen metabolism was analyzed in acute and subacute MI phases by using serum blood markers: the carboxy-terminal propeptide of type I procollagen (PICP), amino-terminal propeptide of type III procollagen (PIIINP) and carboxy-terminal telepeptide of type I collagen (ICTP). Furthermore, the ejection fraction (EF) and left ventricular end-diastolic volume maximal changes in the course of 6 months were measured by echocardiography. **Results:** A significant increase of both PICP and PIIINP on day 4 following MI was detected. Furthermore, PICP and PIIINP level assessed on the 30th day was significantly higher in the PCI unsuccessful group versus successful group. PICP level on day 4 above 110  $\mu\text{g/l}$  and PIIINP level above 4  $\mu\text{g/l}$  was significantly often found in the subgroup of patients with the EF improvement less than 10% or worsening and with significant left ventricular dilatation during 6 months follow-up. Cardiac catheterization itself does not affect collagen metabolism. **Conclusion:** We concluded that collagen metabolism markers enable to study *in vivo* the MI healing and to predict left ventricular functional and volume changes.

**Key words:** collagen, coronary revascularization, human heart, left ventricular remodeling, myocardial infarction

## Introduction

Ischemia of myocardium induced by occlusion of coronary arteries with subsequent myocardial infarction in experimen-

tal animals led to morphological and biochemical remodeling of cardiac muscle; these changes are localized in both myofibrillar and extracellular matrix (ECM) compartments. The remodeling is, however, an extremely complicated

process in which myocyte slippage, thinning and dilatation of infarct chamber and both the scar and fibrosis formation occurred. In parallel, both qualitative and quantitative changes of metabolic, contractile and collagenous proteins were presented [1–6]. Recently, the effects of TGF- $\beta$  1, cardiotrophin 1 of IL 6 cytokines family and activities of different metalloproteinases in these processes were analysed [7–10]. Much less is, however, known about biochemical remodeling in human ischemic myocardium. The extent, location of the myocardial infarction (MI) and the process of both the morphological and protein changes of the ECM determinate the healing after myocardial infarction in patients. All these factors are independent and they influence both extent of left ventricular remodelling, the function of the left ventricle and the prognosis of patients after MI as well [11–15].

The ECM is composed of various collagens (major collagens are type I and type III), proteoglycans and glycoproteins. Collagen type I is synthesized in the form of its procollagen with additional sequences of amino acids at the N and C ends of its molecule. Furthermore, the carboxyterminal propeptide of type I procollagen (PICP) is released into the bloodstream during the synthesis of collagen type I. On the other hand, the carboxyterminal telopeptide located at the C end of this molecule (ICTP) is eliminated during the degradation of collagen I. Moreover, collagen of type III is synthesized in the form of its procollagen as well; its N-terminal propeptide (PIIINP) is released into blood circulation during both the maturation and conversion of collagen type III; however, some PIIINP remained bound on the fibres of this collagen even after its synthesis [14]. The changes of PIIINP should be, however, interpreted as the collagen type III turnover [16]. Nevertheless, the synthesis of collagen III is substantially activated under different pathological situations (e.g. myocardial hypertrophy, ischemic myocardium). However, the level of PIIINP can be influenced (e.g. by thrombolysis) [17, 18]. Whereas there are a lot of markers to monitor the metabolism of cardiac collagens in animals but probably only one of them is able to detect the synthesis and degradation of this protein *in vivo* in human myocardium under both acute and non-acute phases of myocardial infarction. It is the analysis of collagen propeptides in the patient's serum [19–22].

The aim of this study was, therefore, to evaluate the collagen metabolism in ischemic myocardium in ST segment elevation MI (STEMI) patients treated with percutaneous coronary intervention (PCI). Another goal was to assess the functional and volume changes of the left ventricle in these patients by means of echocardiography. Furthermore, these parameters were correlated. The predictive significance of cardiac collagen metabolism markers serum level in the acute and non-acute phases of STEMI on the changes of left ventricular function and volume were estimated.

## Material and methods

### *Patients and protocol*

Forty-five patients (age  $66 \pm 8.27$ ) underwent biochemical and functional analysis for cardiac collagen metabolism (groups A, B, C). Thirty-five of them were patients admitted consecutively to the coronary-care unit with their first acute STEMI within 12 h from the start of symptoms. All these patients were treated by primary PCI only; 30 of them (group A) were successfully treated with PCI, and in 5 patients (group B), the PCI was unsuccessful (TIMI flow 0, residual stenosis 100%). Baseline characteristics of the groups A and B are demonstrated in Table 1. Group C (control group;  $n = 10$ , age  $63 \pm 4.68$ ) consisted of stable patients without history of MI, which underwent elective diagnostic coronary angiography only. MI (in groups A+B) was defined as typical chest pain persisting for more than 20 min, ST elevation above 0.1 mV in limb leads, and/or above 0.2 mV in precordial leads simultaneously in at least 2 leads in the 12-leads ECG. Furthermore, there was a significant increase in the level of both the creatin kinase (CK) and creatin kinase – MB fraction (CKMB) or troponin I more than twice the normal upper limit. Any disease which could potentially influence the level of the biochemical markers of collagen metabolism (e.g. skeletal and articular diseases, diabetes mellitus – type I, renal insufficiency, liver disease or malignant tumor) were given as exclusion criteria of this study.

Blood samples for collagen analysis were taken immediately after admission (day 1) and on days 2 (for all groups), 4, 7 and 30 (groups A + B) following the admission; all samples were centrifuged and serum stored at  $-25^{\circ}\text{C}$ . The levels of the CK and CKMB were assessed immediately after admission and then after 8, 16, and 24 h from admission.

### *Pharmacological treatment of study patients*

The study patients were regularly treated with primary coronary intervention and with combination of ACE inhibitors, beta-blockers, statins and anti-platelet agents. The majority of patients (89%) were treated with beta-blockers (all patients received this treatment during the first 24 h after admission) and 49% were treated with ACE inhibitors (relatively low percentage of patients treated with ACE inhibitors were connected to the fact that in time of this study period the results of clinical studies EUROPA, HOPE were unknown).

### *Echocardiography*

The patients were evaluated by means of echocardiography on days 1, 4, 30 and 6 months after STEMI; this was

Table 1. Clinical characteristics of groups A and B

	Group A (N = 30)	Group B (N = 5)	Significance A vs B
Age (mean $\pm$ S.D.)	65 $\pm$ 9.96	69 $\pm$ 10.16	NS
Sex			
Male	16	3	NS
Female	14	2	NS
Arterial hypertension (n)	13	4	NS
Nicotine abuse (n)	16	2	NS
LVEDVi on day 1 (ml/m <sup>2</sup> , mean $\pm$ S.D.)	66.79 $\pm$ 2.35	83.24 $\pm$ 3.43	<i>p</i> = 0.01
Max. $\Delta$ LVEDVi/6 month (ml/m <sup>2</sup> , mean $\pm$ S.D.)	6.53 $\pm$ 1.01	11.19 $\pm$ 1.84	NS
Initial EF (mean $\pm$ S.D.)	42.00 $\pm$ 9.10	31.00 $\pm$ 11.03	<i>p</i> = 0.05
Max. $\Delta$ EF/6 months (%; mean $\pm$ S.D.)	9.38 $\pm$ 1.11	3.00 $\pm$ 3.49	<i>p</i> = 0.04
CKMB max. ( $\mu$ katL, mean $\pm$ S.D.)	3.76 $\pm$ 0.50	7.40 $\pm$ 0.60	<i>p</i> = 0.006
TIMI			
Before PCI 0–1/2–3 (n)	21/9	4/1	NS
After PCI 0–1/2–3 (n)	0/30	5/0	<i>p</i> = 0.0001
Number of diseased vessels 1/2/3 (n)	11/8/11	0/1/4	NS
Anterior/anterior + lateral MI (n)	17/13	3/2	NS
ACE-inhibitor at discharge (n)	14	3	NS
$\beta$ -blocker at discharge (n)	25	5	NS

Note. EF, ejection fraction; MI, myocardial infarction; PCI, percutaneous coronary intervention; LVEDVi, left ventricular end-diastolic volume index; NS, non significant.

performed by HP Sonos 2500. The function of the left ventricle, expressed by ejection fraction (EF, %), and the left ventricular end-diastolic volume index (LVEDVi, ml/m<sup>2</sup>) were evaluated by endocardium border automated detection method. In case of suboptimal echocardiographic window, EF and volume was estimated by the area-length method from the apical two-chamber view; the mean of three measurements was used. Moreover, the size of the left ventricle and the development of ventricular aneurysm or mitral insufficiency were also evaluated. All records were kept in videotapes.

#### Laboratory method

Frozen serum samples were consequently analysed for collagen metabolism marker kits; furthermore CK, CKMB were both assessed. The thawing of samples was always done as a part of measuring of the collagen concentration by RIA method (ORION kits, Finland, detection of the isotope <sup>125</sup>I) according to the instructions given by the kit supplier. All measurements were analyzed blinded to the clinical data.

Four different kits were used:

#### (a) Collagen synthesis:

- 1) PINP: N terminal propeptide of type I procollagen
- 2) PICP: C terminal propeptide of type I procollagen

#### 3) PIIINP: N terminal propeptide of type III procollagen

#### (b) Collagen degradation:

#### 4) ICTP: C terminal telopeptide of type I collagen

#### Statistical analysis

Data are presented as the mean value  $\pm$  S.D. or as percentages where it is appropriated. ANOVA for the time-dependent changes of continuous variables, unpaired *t*-test for continuous variables between groups, paired *t*-test within-group, Fisher's exact test for categorical variables, Mann-Whitney test for two independent samples and chi-square test for dichotomous data were used. Correlations were calculated by Spearman rank correlation coefficient. The composite of major events during follow-up were analysed by Kaplan-Meier method. The differences between the event-free survival curves were compared with the use of the log-rank test. Values of *p* < 0.05 were considered statistically significant (\**p* < 0.05, \*\**p* < 0.01).

The research was done with the approval of Institutional Review (Ethical) Committee issued on 19th May 1999 (reg. no. 134/99); each participant supplied an informed written consent. The 1-year clinical follow-up recorded the presence of heart failure, necessity of new coronary angiography, new hospitalisation, recurrence of MI, angina pectoris and death.

## Results

### Analysis of human cardiac collagen

#### Changes of PICP, PIIINP in groups A+B (MI patients) versus C (control group) – influence of catheterization

The level of PICP was significantly higher in the groups A+B already on day 2nd ( $A+B = 91.79 \pm 32.85$  and  $109.99 \pm 26.6 \mu\text{g/l}$ ;  $p = 0.001$  for first and second day, respectively). No such increase was observed in group C ( $C = 118 \pm 39.3 \mu\text{g/l}$  and  $105.63 \pm 24.31 \mu\text{g/l}$ ;  $p = 0.017 = \text{NS}$  for first and second day, respectively). Similar results we observed for PIIINP serum level (data are not shown).

#### PICP in groups A, B (MI patients) – effect of revascularisation on collagen I

We found a significant difference between group A (successful revascularisation) and group B (unsuccessful revascularisation) as far as the value of PICP, assessed on day 30 ( $A = 147.65 \pm 34.46$ ;  $B = 211 \pm 66.04 \mu\text{g/l}$ ,  $p = 0.01$ ) is concerned (Fig. 1A).

On the basis of the maximal change in left ventricular EF during the 6-month follow-up, we divided the MI patient into two subgroups (subgroup I,  $n = 21$ : the improvement of  $\text{EF} \leq 10\%$  or worsening; and subgroup II,  $n = 12$ : the improvement of  $\text{EF} > 10\%$ ). Baseline characteristics of subgroups I and II is demonstrated in Table 2. There was a significant increase in serial PICP concentrations between days 1–30 in both subgroups as well (subgroup I:  $95.65 \pm 43.08$ ,  $151.03 \pm 32.09 \mu\text{g/l}$  for day 1 and 30, respectively; and subgroup II:  $84.51 \pm 14.06$ ,  $138.56 \pm 30.45 \mu\text{g/l}$  for day 1 and 30, respectively;  $p = 0.005$  for both subgroups). PICP levels on day 2 ( $116.76 \pm 29.67$  and  $95.46 \pm 19.61 \mu\text{g/l}$  for subgroup I and II, respectively,  $p = 0.005$ ), on day 4 ( $137.49 \pm 49.16$  and  $93.65 \pm 14.46 \mu\text{g/l}$ ,  $p = 0.02$ ) and on day 7 ( $151.03 \pm 57.39$  and  $138.56 \pm 30.45 \mu\text{g/l}$ ,  $p = 0.01$ ) were significantly lower in patients whose EF improved more than 10% (subgroup II) as compared to patients of subgroup I. We have found a significantly higher ( $p = 0.01$ ) occurrence of PICP on day 4 (PICP4) above  $110 \mu\text{g/l}$  in the patients of subgroup I. This finding was independent of initial EF. The increase of LVEDVi during 6-months follow-up was significantly higher in group of patient with PICP4  $> 110 \mu\text{g/l}$  than in group of patient with PICP4  $\leq 110 \mu\text{g/l}$  ( $\Delta\text{LVEDVi} 8.93 \pm 1.68 \text{ ml/m}^2$  versus  $3.96 \pm 1.01 \text{ ml/m}^2$ ;  $p = 0.02$ ). Furthermore, PICP4  $> 110 \mu\text{g/l}$  on day 4 showed sensitivity of 86% (specificity 64%) to identify patients of the subgroup I, regardless of the initial EF. There were no significant differences between patients with anterior MI and MI in other locations when considering the changes of the PICP levels on day 1–30 (data are not shown).

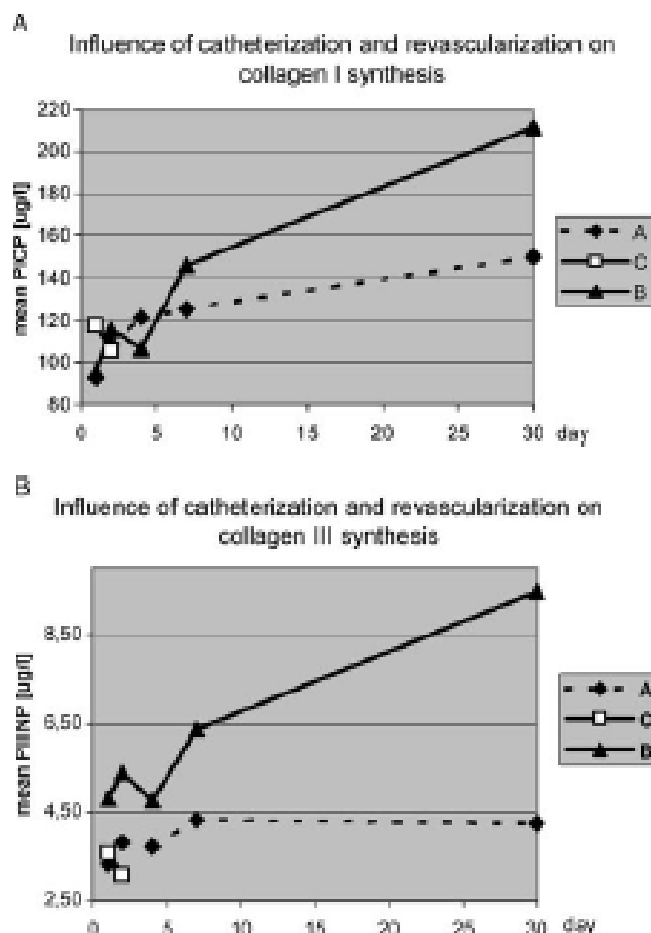


Fig. 1. (A) The mean serum level of PICP on day 1–30 in the group of MI patients according to results of PCI (group A – successful revascularization, group B – unsuccessful revascularization) and in the group C (coronary angiography only). Significantly higher ( $p = 0.01$ ) PICP on day 30 in the group B. (B) The mean serum level of PIIINP on day 1–30 in the group of MI patients according to results of PCI (group A – successful revascularization, group B – unsuccessful revascularization) and in the group C (coronary angiography only). Significantly higher ( $p = 0.01$ ) PIIINP on day 30 in the group B. PCI, percutaneous coronary intervention; PICP, C-terminal propeptide of type I procollagen.

#### PIIINP in groups A, B (MI patients) – effect of revascularisation on collagen III

The time-dependent increase in serial PIIINP concentrations on day 1–30 was statistically significant ( $A+B = 3.54 \pm 1.39$  and  $4.84 \pm 2.67 \mu\text{g/l}$ ;  $p = 0.001$  for day 1 and 30, respectively). We found a significant difference between group A (successful revascularisation) and group B (unsuccessful revascularisation) as far as the value of PIIINP, assessed on days 7 and 30 is concerned ( $A = 4.17 \pm 1.56$ ;  $4.26 \pm 1.10 \mu\text{g/l}$ , respectively;  $B = 6.36 \pm 2.00 \mu\text{g/l}$ ;  $9.46 \pm 3.54 \mu\text{g/l}$ , respectively;  $p = 0.01, 0.02$ ; respectively) (Fig. 1B).

PIIINP levels on day 4 (PIIINP4) were significantly lower in patients in subgroup II as compared to patients in subgroup

Table 2. Clinical characteristics of two subgroups divided on the basis of maximal increase of the LV ejection fraction during 6-month follow-up

	Subgroup I: $\Delta EF \leq 10\%$ (N = 21)	Subgroup II: $\Delta EF > 10\%$ (N = 14)	Significance I vs II
Age (mean $\pm$ S.D.)	66 $\pm$ 11.06	65 $\pm$ 8.55	NS
Sex			
Male (n)	10	9	NS
Female (n)	11	5	NS
Arterial hypertension (n)	9	6	NS
Nicotine abuse (n)	12	5	NS
LVEDVi on day 1 (ml/m <sup>2</sup> , mean $\pm$ S.D.)	72.24 $\pm$ 3.04	61.73 $\pm$ 2.68	<i>p</i> = 0.03
Max. $\Delta$ LVEDVi / 6 months (ml/m <sup>2</sup> , mean $\pm$ S.D.)	7.89 $\pm$ 1.44	3.34 $\pm$ 0.78	<i>p</i> = 0.05
Initial EF (%; mean $\pm$ S.D.)	41 $\pm$ 11.3	41 $\pm$ 6.6	NS
Max. $\Delta$ EF% months (%; mean $\pm$ S.D.)	4.5 $\pm$ 0.83	17.46 $\pm$ 1.66	<i>P</i> = 0.0001
CKMB max. ( $\mu$ kat/l, mean $\pm$ S.D.)	4.99 $\pm$ 0.60	2.47 $\pm$ 0.62	<i>p</i> = 0.01
TIMI			
Before PCI 0–1/2–3 (n)	15/6	10/4	NS
After PCI 0–1/2–3, n	4/17	1/13	NS
Number of diseased vessels 1/2/3 (n)	5/7/9	6/1/7	NS
Anterior/inferior + lateral MI (n)	9/12	8/6	NS
ACE inhibitor at discharge (n)	12	5	NS
$\beta$ -blocker at discharge (n)	21	9	NS

Note. EF, ejection fraction; MI, myocardial infarction; PCI, percutaneous coronary intervention; LVEDVi, left ventricular end-diastolic volume index; NS, non significant.

I (see above), regardless of the initial EF ( $4.22 \pm 1.68 \mu\text{g/l}$  versus  $3.17 \pm 1.17 \mu\text{g/l}$ , *p* = 0.002). We have found a significantly higher (*p* = 0.002) occurrence of PIIINP4 above  $4 \mu\text{g/l}$  in patients of subgroup I. This finding was independent of initial EF (Fig. 2A). Furthermore, PIIINP >  $4 \mu\text{g/l}$  on day 4 showed high sensitivity of 100%, but specificity of 57% to identify patients of subgroup I.

The probability of the prediction for EF improvement less than 10% (subgroup I) during follow-up was increased by combination of PICP > 110 and PIIINP >  $4.0 \mu\text{g/l}$ , both assessed on day 4. The sensitivity was 83% and the specificity 75% to identify these patients.

The increase of LVEDVi during 6-month follow-up was significantly higher (Fig. 2B) in group of patient with PIIINP4 >  $4.0 \mu\text{g/l}$  than in group of patient with PIIINP4  $\leq 4.0 \mu\text{g/l}$  ( $\Delta$ LVEDVi  $12.84 \pm 1.23 \text{ ml/m}^2$  versus  $4.67 \pm 0.95 \text{ ml/m}^2$ ; *p* = 0.0001).

#### ICTP – degradation of collagen I

We found a significant difference between groups A (successful revascularisation) and B (unsuccessful revascularisation) as far as the serum level of ICTP, assessed on day 30 is concerned (A =  $4.4 \pm 1.60$ ; B =  $8.90 \pm 2.01 \mu\text{g/l}$ ; *p* = 0.01) (Fig. 3A).

The serum level of ICTP in group of MI patients (A+B) has shown significant differences between subgroups I and II on day 4 and day 7 (I =  $5.88 \pm 0.73$ ,  $6.44 \pm 0.79 \mu\text{g/l}$ ,

respectively; II =  $4.12 \pm 0.44$ ,  $4.27 \pm 0.50 \mu\text{g/l}$ , respectively; *p* = 0.05 and 0.03, respectively) (Figure 3B).

#### The relationship between the changes of PICP concentration and CKMB maximum level

There was no significant correlation between the levels of PICP and CKMB maximal levels on days 1, 4 and 30; significant correlation was reached for day 7 only (*p* = 0.01, Spearman's correlation coefficient *r<sub>s</sub>* = 0.45, data are not shown).

We have found neither significant correlation between the maximal serum level of CKMB and maximal serum level of PICP assessed between day 1–30 (Fig. 4A) nor between the maximal serum level of CKMB and  $\Delta$ LVEDVi during 6-month follow-up (Fig. 4B)

## Discussion

Protein remodeling of both ECM and myofibrillar compartment has been observed in ischemic myocardium; in this process, fibroblast growth and metabolism of collagenous proteins are affected. It is the result of interaction among synthesis, degradation of collagen and expression of metalloproteinases. However, these data were predominantly derived from the myocardium of animals after ligation of coronary arteries [1, 2, 16, 19, 22]. Other results were derived mainly



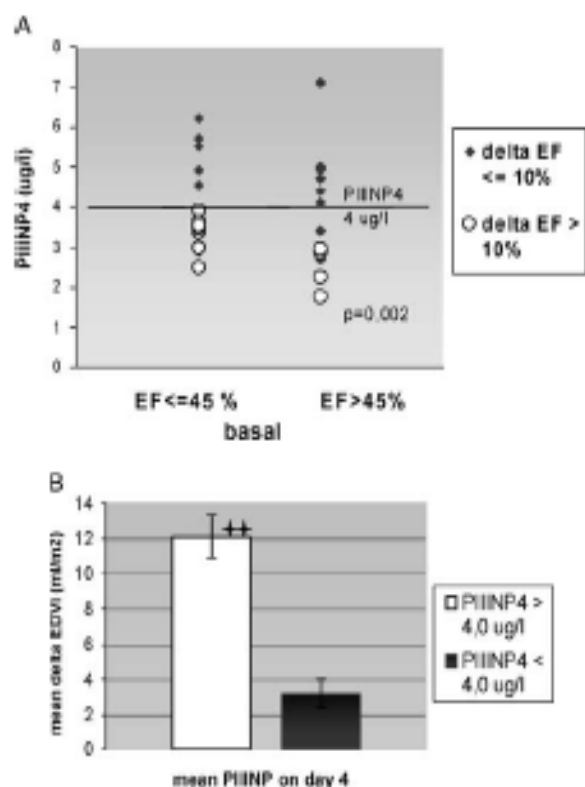


Fig. 2. (A) Scatterplot of the PIINP serum level on the 4th day after MI in subgroups I, II divided according to the basal EF (on day 1) and to the maximal change of EF during 6 months follow-up. Significantly higher (\*\* $p = 0.002$ ) occurrence PIINP4 above  $4 \mu\text{g/l}$  in the subgroup with an increase of EF below 10%. (B) Comparison of the maximal increase of the left ventricular end-diastolic volume index during 6 months follow-up and the mean PIINP serum level on day 4 (PIINP4); \*\* $p = 0.0001$ . LVEDVI, left ventricle end-diastolic volume index; PIINP, N-terminal propeptide of type III procollagen; EF, ejection fraction; MI, myocardial infarction.

from myocardium in section Material [13, 23]. Much less is known about protein profile of human myocardium in patients after MI.

It is generally accepted that biochemical analysis of both troponin level and activities of CKMB are very sensitive markers for the detection of myocardial necroses in course of MI [24, 25], but insensitive for the evaluation of the reversibility of ischemic myocardial injury [26, 27] and the left ventricular remodeling after MI. So, the main goal of this paper was to find out *in vivo* markers reflecting MI healing and remodeling of the left ventricle during both acute and non-acute period of MI in the STEMI patients. For this purpose, markers of both collagen degradation and synthesis have been used. The synthesis of collagen types I and III were detected by both PICP and PIINP kits; in our analysis they both gave very similar results. The results of our study have offered the following:

Firstly, the changes of collagen metabolism were detected very early after MI. In this study was observed increased

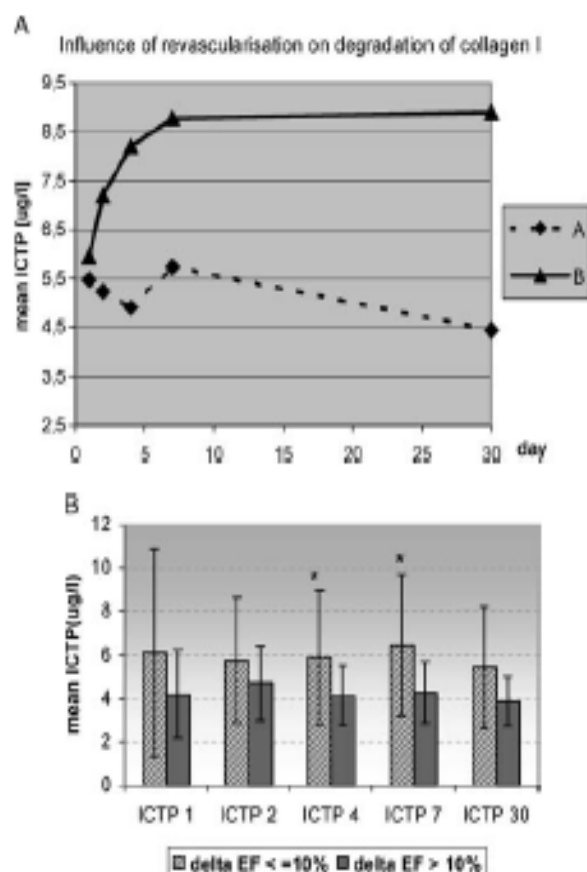


Fig. 3. (A) The mean serum level of ICTP on day 1–30 in the group of MI patients according to results of PCI (group A – successful revascularization, group B – unsuccessful revascularization). Significantly higher ( $p = 0.01$ ) ICTP on day 30 in the group B. (B) Comparison of the mean serum level of ICTP ( $\mu\text{g/l}$ ) on day 1–30 after MI in group A+B divided into two subgroups by the maximal change of EF below 10% (subgroup I) and above 10% (subgroup II) during 6 months follow-up. Significantly higher ( $p = 0.05$  and  $0.03$ ; respectively) serum level of ICTP on day 4 and 7 in the subgroup I. EF, ejection fraction; MI, myocardial infarction; ICTP, C terminal telopeptide of type I collagen; PCI, percutaneous coronary intervention.

accumulation of collagens I and III within the first 48 h after MI. In agreement with [14] higher synthesis of collagen I persisted even 1 month after MI; level of collagen III, however, was no more elevated in this time period.

Secondly, it was demonstrated in our study that the synthesis of cardiac collagens was much less pronounced in patients after successful PCI as compared with group of unsuccessful PCI patients. Similar data were obtained even for patients after acute MI with no improvement in left ventricle function during follow-up; they have higher concentration of PICP and PIINP in serum in accordance with other studies [28]. It could, therefore, be stressed that remodeling of cardiac ECM in patients after an unsuccessful PCI might be accelerated due to higher accumulation of myocardial collagen.

Thirdly, the quantitative and qualitative differences of collagen in the right and left ventricles of diseased myocardium

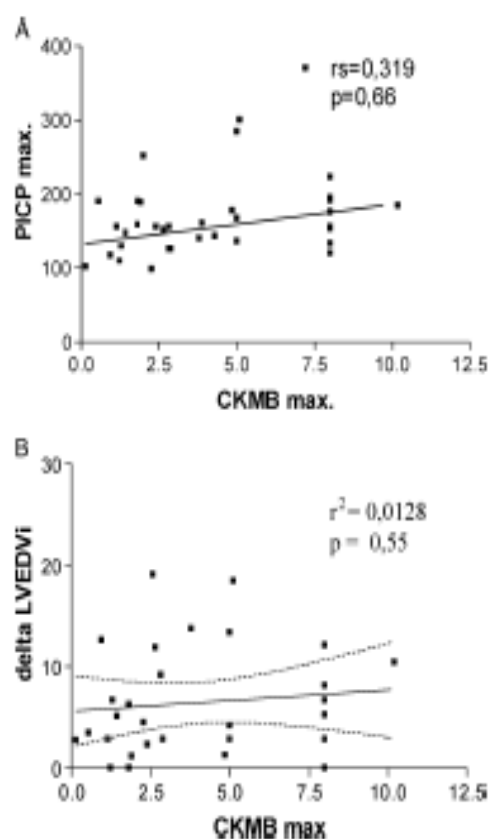


Fig. 4. (A) Correlation between the maximal level of CKMB and maximal serum level of PICP assessed between day 1–30. (B) Correlation between the maximal level of CKMB and maximal  $\Delta$ LVEDVi during 6 months follow-up. CKMB, creatinkinase – MB fraction; LVEDVi, left ventricle end-diastolic volume index; PICP, C-terminal propeptide of type I procollagen.

(higher amount of collagen was in either the right ventricles of rat myocardium or in the left ventricular posterior wall as compared to the anterior wall in autopsy material of the patients after MI) were observed in remodeling after myocardial infarction [5, 13, 19, 29]. On the other hand, no such differences were found in this study (*in vivo*) comparing anterior and posterior MI patients. It might, however, reflect the separate mechanisms involved in the induction of cardiac collagen deposition in post-ischemic period. It seems that biochemical remodeling of ECM induced in human myocardium is more complex.

Fourthly, the correlation of biochemical data (PICP, PIIINP) with functional (EF) and volume changes of the left ventricle after MI brings some predictive values; absolute values of both PICP (marker of collagen I synthesis) and PIIINP (marker of collagen III synthesis) on the 4th day after MI have met this requirement. We have proved that the serum level of PICP on day 4 above  $110 \mu\text{g/l}$  predicts left ventricle dilatation and minimal improvement of left ventricular EF (less than 10%) in the course of next half a year after MI. The prediction

of dilatation and minimal or none improvements of the left ventricular function is increased if the PIIINP4 level reached value above  $4 \mu\text{g/l}$ ; this prediction does not depend on initial EF value. The extent of EF improvement in our subgroups I and II of patients (up to 10% and above 10%, respectively) was not possible to explain by differences in basic characteristics of patients (see Table 2). It means that the predictive values of PICP4 and PIIINP4 are even higher. Moreover, we have proved that heart catheterization itself does not affect PICP and PIIINP level. It could be pointed out that different collagen metabolism markers provide additional prognostic information to the left ventricular function changes after MI; they extend set of different biochemical markers of MI patients, however, the incorporation of collagen markers into the routine management of patients with MI would required further studies.

## Conclusion

The analysis of collagen metabolism markers in serum enables to predict remodeling of the left ventricle after MI *in vivo*. The PICP and PIIINP serum levels on fourth day after MI predict the changes of the left ventricular function and end-diastolic volume in the following 6 month after STEMI, irrespective of the initial EF or revascularization success. The unsuccessful coronary revascularization leads to significantly higher collagen synthesis and degradation in myocardium of the patients with acute MI. Cardiac catheterization itself does not affect collagen metabolism.

## Acknowledgments

This study was supported by grant NA/6350-3 IGA of the Ministry of Health, Czech Republic and partly by the Research Project No. MSM 0021620817 of the Charles University, Prague, awarded by the Czech Ministry of Education.

## References

1. Pelouch V, Dixon BMC, Golfman L, Beamish RE, Dhalla NS: Role of extracellular proteins matrix in heart function. *Mol Cell Biochem* 129: 101–120, 1993
2. Pelouch V, Dixon BMC, Sethi R, Dhalla NS: Alteration of collagenous profile in congestive heart failure secondary to myocardial infarction. *Mol Cell Biochem* 129: 121–131, 1993
3. Cleutjens JP, Verleuyten MJ, Smiths JF, Daemen MJ: Collagen remodeling after myocardial infarction in rat heart. *Am J Pathol* 147: 325–338, 1995
4. Dhalla NS, Kaura D, Liu X, Beamish RE: Mechanisms of subcellular remodeling in post-infarct heart failure. *EXS* 70: 463–477, 1995

5. Wei S, Chow LT, Shum JG, Qin L, Sanderson JE: Left and right ventricular collagen type III ratios and remodelling post-myocardial infarction. *J Card Fail* 5: 117–126, 1999
6. Paul S: Ventricular remodeling. *Crit Care Nurs Clin North Am* 15: 407–411, 2003
7. Delcayre C, Swynghedauw B: Molecular mechanisms of myocardial remodeling. The role of aldosterone. *J Mol Cell Cardiol* 34: 1577–1584, 2002
8. Freed DH, Moon MC, Borowicz AM, Jones SC, Zahradka F, Dixon J: Cardiotrophin-1: Expression in experimental myocardial infarction and potential role in post-MI wound healing. *Mol Cell Biochem* 254: 247–256, 2003.
9. Janicki JS, Brewer GL, Gardner JD, Chancey AL, Steward JA, Jr: The dynamic interaction between matrix metalloproteinase activity and adverse myocardial remodeling. *Heart Fail Rev* 9: 33–42, 2004
10. Sun M, Dawood F, Wen WH, Chen M, Dixon J, Kirshenbaum LA, Li X: Excessive tumor necrosis factor activation after infarction contributes to susceptibility of myocardial rupture and left ventricular dysfunction. *Circulation* 110: 3221–3228, 2004
11. Whittaker P, Boughner DR, Kloner RA: Role of collagen in acute myocardial infarct expansion. *Circulation* 84: 2123–2134, 1991
12. Whittaker P, Kloner RA, Boughner DR, Fickering JG: Quantitative assessment of myocardial collagen with picrosirius red staining and circularly polarized light. *Basic Res Cardiol* 89: 397–410, 1994
13. Jirnar R, Pelouch V, Andel M, et al.: The relationship of collagen composition to left ventricular function and aneurysm formation after myocardial infarction. *Cor Vasa* 40(7): 340–346, 1998
14. Poulsen SH, Host NB, Jensen SE, et al.: Relationship between serum amino-terminal propeptide of type III procollagen and changes of left ventricular function after acute myocardial infarction. *Circulation* 101: 1527–1532, 2000
15. Halkin A, Aymong E, Cox DA, et al.: Relation between late patency of the infarct-related artery, left ventricular function, and clinical outcomes after primary percutaneous intervention for acute myocardial infarction (CADILLAC trial). *Am J Cardiol* 93(3): 349–353, 2004
16. Jensen LT, Horst NB: Collagen: scaffold for repair or execution. *Cardiovasc Res* 33: 535–549, 1997
17. Poulsen SH, Host NB, Egstrup K: Long-term changes in collagen formation expressed by serum carboxyterminal propeptide of type I procollagen and relation to left ventricular function after acute myocardial infarction. *Cardiology* 96: 45–50, 2001
18. Hosgor I, Zarai A, Zlmazer S, Grltsken G, Ahmad S: Collagen deposition in myocardium after inhibition of fibrinolytic activity. *Blood Coagul Fibrinolysis* 16: 25–30, 2005
19. Jirnar R, Pelouch V: The role of myocardial interstitium in the left ventricular remodeling after an acute myocardial infarction. *Cor Vasa* 35: 206–209, 1993
20. Jirnar R, Pelouch V, Widimsky P: Biochemical markers of collagen metabolism in patients with acute myocardial infarction. Another prognostic marker? (in Czech – English Summary). *Cor Vasa* 45: 592–595, 2003
21. Querejeta R, Lopez B, Gonzales A, Sanchez E, Larman M, Martinez ULL, Diez J: Increased collagen type I synthesis in patients with heart failure of hypertensive origin: relation to myocardial fibrosis. *Circulation* 110: 1263–1268, 2004
22. Pelouch V, Jirnar R: Biochemical characteristics of cardiac collagen and its role in ventricular remodeling following infarction. *Physiol Res* 42: 283–292, 1993
23. Chen K, Li D, Zhang X, Hermonat PL, Mehta JL: A noxia-reoxygenation stimulates collagen type I and MMP-1 expression in cardiac fibroblasts: Modulation by the PPAR-gamma ligand pioglitazone. *J Cardiovasc Pharmacol* 44: 682–687, 2004
24. Lopez B, Gonzales A, Yano N, Lavandos C, Querejeta R, Diez J: Biochemical assessment of myocardial fibrosis in hypertensive heart disease. *Hypertension* 38: 1222–1226, 2001
25. Animan EM, Tanasijevic MJ, Thomson B: Cardiac specific troponin I levels to predict the risk of mortality in-patient with acute coronary syndromes. *N Engl J Med* 335: 1342–1349, 1996
26. Vaher SE, Heyndrickx GR, Fallon JT: Effects of brief periods of myocardial ischemia on regional myocardial function and creatine kinase release in conscious dogs and baboons. *Can J Cardiol Suppl A*: 19A–24A, 1985
27. Heyndrickx GR, Amano J, Kenna T, et al.: Creatine kinase release not associated with myocardial necrosis after short periods of coronary artery occlusion in conscious baboons. *J Am Coll Cardiol* 6(6): 1299–1303, 1985
28. Ciccoira M, Rossi A, Bonapace S, Zanolla L, Golia G, Franceschini L, Caruso B, Marino PN, Zardini P: Independent and additional prognostic value of aminoterminal propeptide of type III procollagen circulation levels in patients with chronic heart failure. *J Card Fail* 10: 403–411, 2004
29. Host NB, Jensen LT, Bendixen PM, Koldkjaer OG, Simon EE: The aminoterminal peptide of type III procollagen provided new information on prognosis after acute myocardial infarction. *Am J Cardiol* 76: 869–873, 1995

## 4.2. Abstrakta z konferencí

# XIII. VÝROČNÍ SJEZD ČESKÉ KARDIOLOGICKÉ SPOLEČNOSTI BRNO - VÝSTAVIŠTĚ, 8. - 11. 5. 2005

## UMOŽNÍ ÚSPĚŠNÁ PRIMÁRNÍ KORONÁRNÍ INTERVENCE AMBULANTNÍ LÉČBU PACIENTŮ S AKUTNÍM INFARKTEM MYOKARDU S ELEVACEMI ST ÚSEKŮ? STUDIE PRAGUE 5

**Tématický okruh:** Akutní stavy v kardiologii

**Typ:** ústní sdělení

R. Jirmář, FNKV Praha 10, III.interní klinika, Praha, J. Čapek, Praha, P. Widimský, Praha, J. Dvořák, Praha, L. Lisa, Praha, T. Budešínský, Praha, O. Hlinomaz, FN u sv. Anny, I.interní kardiologická klinika, Brno, L. Groch, FN u sv. Anny, I.interní kardiologická klinika, Brno

**Cíl:** prokázat, že velmi časně propuštění (24-30 hodin od přijetí) pacientů s akutním infarktem myokardu s elevacemi ST (STEMI) ošetřených úspěšnou primární perkutánní koronární intervencí (PCI) je možné a bezpečné ve skupině pacientů s nízkým rizikem komplikací.

**Metoda:** po předchozí pilotní fázi studie bylo 43 pacientů s STEMI léčených úspěšnou primární PCI randomizováno do dvou skupin: se standardní délkou hospitalizace (A) a velmi časným propuštěním (B). Vyloučení byli pacienti s dojezdem do kardiocentra více jak 30 minut, s anamnézou IM v jiné lokalizaci, poinfarktovou anginou pectoris, známkami srdeční insuficience či ejekční frakcí levé komory (EF) pod 40%, závažnými arytmiemi přetrvávajícími více než 6 hodin po PCI, nemocí 2-3 tepen, špatným sociálním zázemím, věkem nad 75 let. Pravidelné kontroly (klinické, ekg, echo) byly prováděny během měsíčního sledování.

**Výsledky:** ve skupině A (n=16, prům.věk 58,9±8,7, vstupní EF 53,6±8,05 %) byla průměrná doba hospitalizace 105,8 hodin, ve skupině B (n=27, prům.věk 58,6, vstupní EF 50,85±8,47 %) 29,2 hodin (p=0,0001). Během měsíčního sledování obou skupin nebyly zaznamenány žádné významné kardiální či nekardiální komplikace. Nenalezli jsem signifikantní rozdíl ve změně EF mezi oběma skupinami během měsíčního sledování po PCI. Časně propuštění do domácí péče hodnotili pacienti vysoce pozitivně. Námi stanovená kritéria pro randomizaci však splnilo pouze 10 % z přijatých pacientů s STEMI.

**Závěr:** primární úspěšná PCI u pacientů s akutním STEMI umožňuje bezpečné, velmi časně (24-30 hodin od přijetí) propuštění do domácí péče ve skupině pacientů s nízkým rizikem komplikací. Další zkracování doby hospitalizace nepovažujeme v současné době za bezpečné.

Podpořeno grantem IGA ČR NA 6537-3.



## **PRIMÁRNÍ KORONÁRNÍ INTERVENCE U PACIENTŮ S AKUTNÍM INFARKTEM MYOKARDU A UMĚLOU PLICNÍ VENTILACÍ.**

JIRMÁŘ R, WIDIMSKÝ P, DVOŘÁK J, LISA L, BUDEŠÍNSKÝ T.

*III.interní-kardiologická klinika FNKV a 3.LF UK, Praha 10*

**Cíl:** zjistit prognózu pacientů s akutním infarktem myokardu (AIM) a nutností umělé plicní ventilace (UPV) v éře PCI.

**Soubor a metodika:** retrospektivně byl zhodnocen průběh onemocnění v souboru 1300 pacientů (prům. věk  $65 \pm 12$ ) přijatých pro AIM (STEMI i non-STEMI) v období leden 2003 až září 2005 a indikovaných k PCI. Z nich 77 pacientů (průměrný věk  $67 \pm 11$ ) bylo léčeno UPV ( $n=33$ ) či KPCR+UPV ( $n=44$ ) v akutní fázi. Indikací k UPV byl kardiogenní šok u 29 (38%) pacientů, plicní edém u 30 (39%) pacientů, předchozí KPCR pro primární maligní arytmie u 18 (23%) pacientů. STEMI mělo 86 % pacientů ze souboru pacientů s AIM na UPV. PCI byla provedena úspěšně u 88 % pacientů s AIM na UPV.

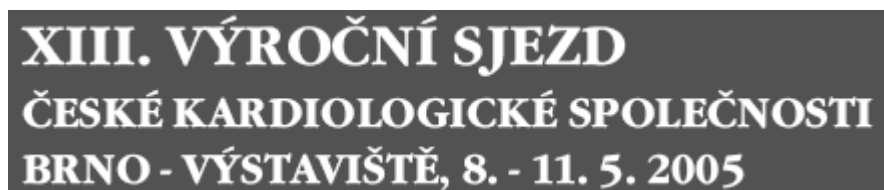
**Výsledky:** mezi 1223 nemocnými s AIM léčenými PCI bez nutnosti UPV mělo 90 nemocných srdeční selhání Killip III,IV; tj. 7,3 %. Mezi 77 nemocnými s UPV/KPCR mělo srdeční selhání Killip III,IV 59 nemocných, tj. 77 %. Nemocniční mortalita ve skupině pacientů na UPV a plicním edémem byla 30 %, UPV a kardiogenním šokem 56 %. Ve skupině pacientů indikovaných k UPV pouze pro maligní arytmie byla nemocniční mortalita 7 %. Závažné extrakardiální komplikace (závažná pohypoxická encefalopatie, aspirace, závažné infekce, krvácení do GIT) se vyskytly u 31 % pacientů na UPV. Průměrná délka hospitalizace pacientů, kteří přežili, byla 15,4 dne.

**Závěr:** *v současné době moderní léčby AIM pomocí PCI vznikne nutnost UPV/KPCR v akutní fázi v 6% případů. Tito nemocní mají vysokou mortalitu z podstaty své choroby. Ve srovnání s literárními údaji před érou PCI je však mortalita i u těchto pacientů při PCI léčbě podstatně nižší. Nemocní na UPV po KPCR pro primární maligní arytmie mají většinou příznivou prognózu při léčbě PCI.*

### 4.3. Přednášky



R. Jirmář: UMOŽNÍ ÚSPĚŠNÁ PRIMÁRNÍ KORONÁRNÍ INTERVENCE AMBULANTNÍ LÉČBU PACIENTŮ S AKUTNÍM INFARKTEM MYOKARDU S ELEVACEMI ST ÚSEKŮ? STUDIE PRAGUE 5



R. Jirmář . INFARKT MYOKARDU U ŽEN