

FRA TROPONIN-FRAGMENTER TIL KARDIOPROTEKSJON HOS STEMI-PASIENTER

Dan Atar, Oslo universitetssykehus, Ullevål og Universitetet i Oslo

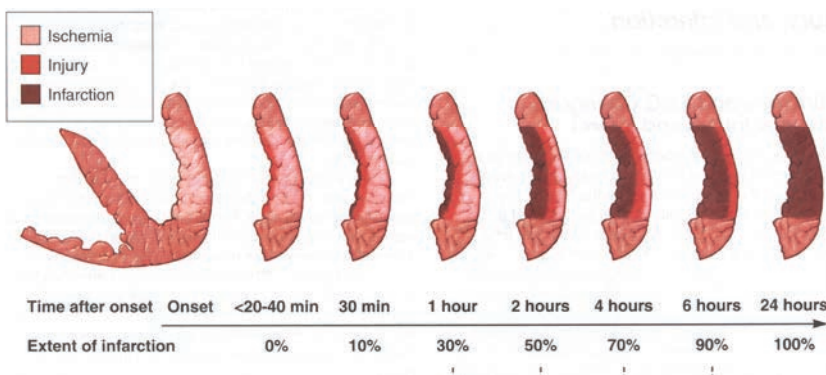
Prismottakerens forskningsinteresse knyttet seg tidlig til iskemiske forandringer i myokard. Allerede på slutten av sytti-tallet var det såkalte bølgefront-fenomenet, først beskrevet av Reimer og Jennings, velkjent i det kardiologiske miljøet [1]. Denne teorien beskriver utbredelsen av myokardnekrose over tid, idet en koronar okklusjon typisk medfører først endotel-nær nekrose, som etter hvert utvider seg til å bli en transmural myokardnekrose (figur 1). Tidsaspektet i myokards celledød er slik at ca. halvdel av myokard er nekrotisk etter en to-timers total okklusjon av det tilhørende koronar-kar. I klinisk praksis modifierer kollateraler disse tidsaspekter, og ofte er okklusjonen subtotal eller fluktuerende, idet trombedannelsen over et rupturert plakk er en dynamisk prosess.

Etter at man startet med trombolyse ble det klart at reperfusjon av myokard var det viktigste prinsipp for å redusere dødelighet hos pasienter med akutt myokardinfarkt. Imidlertid beskrev Braunwald og Kloner

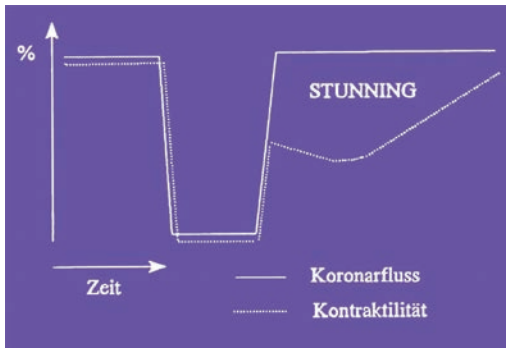
allerede på åtti-tallet at reperfusjon kan oppfattes som et tveegget sverd [3]. Forskerne hadde observert at reperfusjon i seg selv kunne medføre død av kardiomyocytter. I de følgende år ble to typiske fenomener av reperfusjonsskade i myokard beskrevet: myokardial stunning (figur 2) og myokardial hibernering [4,5]. Prismottakeren begynte å interessere seg for de molekylære og cellulære mekanismene bak førstnevnte tilstand, myokardial stunning.

I en dyremodell med isolerte og perfunderte rottehjerter undersøkte forskningsgruppen under Eduardo Marban ved Johns Hopkins-universitetet intracellulære kalsiumtransienter og simultane kraftmålinger (figur 3).

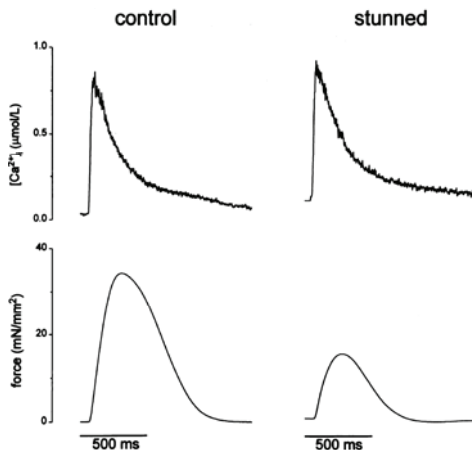
Disse forsøk viste overraskende at kalsiumreguleringen i cellene ikke var kompromittert under stunning-perioden, i motsetning til hva man hadde funnet ved hjertesvikt, men utelukkende fremkalte ned-satt kraftutvikling. Således ble konklusjonen at stunning-forklaringen måtte ligge i en



Figur 1: Nekroseutbredelse i myokard de første 24 timer etter koronarokklusjon [2]. Starter 30-45 minutter etter okklusjonen. Etter 90 minutter er 40-50 % nekrotisert. Etter 6t er nekrosen ofte fullstendig. Kollateraler modifierer disse utsagnene. Ofte er okklusjonen subtotal/fluktuerende. AHA Textbook of Advanced Cardiac Life Support, 1999



Figur 2: Det generelle patofysiologiske prinsipp ved myokardial stuning. X-aksen representerer tid, mens y-aksen reflekterer prosent av funksjon. Utgangspunktet for de 2 funksjonelle linjer, henholdsvis koronarflow (hel linje) og myokardkontraktilitet (stiplet linje), er tenkt å representere 100 % eller normal utgangsfunksjon. Etter en periode med normal koronarperfusjon og kontraktilitet viser skjemaet en tenkt komplett koronarokklusjon (ned-satt flow til 0 %). Ettersom myokardcellene ikke har nevneverdig metabolsk reserve, følger kontraktiliteten nesten umiddelbart med, dvs. myokardkontraktiliteten faller til 0 %. Når reperfusjonen imidlertid blir re-etablert, viser det seg at kontraktiliteten ikke simultant normaliserer seg, men forblir svekket i en forlenget tidsperiode. Denne diskrepans mellom re-etablering av koronar perfusjon og svekkelse av kontraktiliteten har fått navnet stuning [6].



Figur 3: Intracellulære Ca^{2+} -transienter (øvre pane) og simultane kraftmålinger (nedre pane) i representative trabekler fra kontrollperfunderede hjerter (venstre side) og hjerter i en tilstand av stuning (høyre side) [7].

abnorm eksitasjons-kontraksjons-koblingsmekanisme i de stunnete hjerter [7].

Som neste steg var det derfor nærliggende å undersøke hypotesen at det er de kontraktile elementene i kardiomyocytene som er ansvarlige for den målte kraftnedsettelsen. I en ny tilnærming gjorde Marbans forskningsgruppe derfor systematiske immunoblot-analyser av normalt perfunderede hjerter (negativ kontrollgruppe), hjerter med ren iskemi uten reperfusjon og hjerter med iskemi og etterfølgende reperfusjon (figur 4) [8]. Som positiv kontrollgruppe sammenlignet man med prolongert iskemiske hjertemusklér. Alle kjente molekylære elementer av det kontraktile apparat ble undersøkt av prismottakeren og medarbeiderne, og det ble etter hvert tydelig at troponin-I-molekylet viste nedbrytning i de stunnete hjertene på immunoblots, som ikke fantes på ren iskemiske hjerter uten reperfusjon (figur 4).

Dette resultatet representerte en grunnleggende karakterisering av det anatomisk-patologiske substrat for kontraktilitetsnedsettelsen ved myokardial stuning.

Det var i fortsettelsen nærliggende å undersøke troponinets modifikasjoner hos koronarpasienter. I samarbeid med Thomas F. Lüscher i Zürich ble det etablert immunoblot-analyse av troponin-I og -T hos pasienter med gjennomgått akutt myokardinfarkt [9]. Videre hadde vi gleden av å etablere den samme immunoblot-metoden på Ullevål sykehus, i samarbeid med Geir Christensen. I 2006 publiserte vår gruppe en karakterisering av tidsforløpet av degraderingen i det kardiale troponin-I-molekylet, når pasientene hadde gjennomgått STEMI [10].

Prisvinneren hadde en visjon om å teste forhindring av reperfusjonsskade hos pasienter med STEMI. Yellon og Hausenloy hadde i 2007 på elegant vis oppsummert alle kandidat-mekanismer for myokardial stuning i deres oversiktsartikkel i New England Journal of Medicine [11]. Det var hovedsakelig 2 mekanismer som virkede mest lovende: Den første var å forhindre kapillær-lekkasje fra endotel til myokard, og dermed forhindre invadering av myokard av immunkompetente celler. I denne kon-

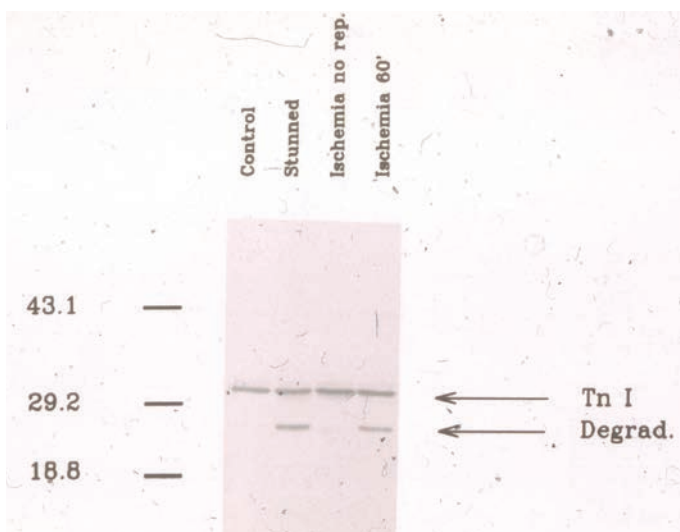


Fig. 4: Immunoblot-analyser med antistoff mot troponin-I-molekylet i (fra venstre til høyre) kontrollperfunderede isolerte hjerter, hjerter med stuning, hjerter med iskemi uten reperfusion og langtids-iskemiske hjerter. Antistoffene gjenkjenner det intakte troponin-I molekylet ved ca. 32 kD i alle 4 baner, men i tillegg et degraderingsprodukt som bare ses ved stuning og ved vedvarende iskemi [8].

teksten undersøkte en multisenterstudiet under navnet F.I.R.E. et peptid som er derivert av den humane fibrinsekvensen. Dette peptidet har vist seg å inhibere bindingen av fibrin til cadherin og dermed forhindre kapillær lekkasje. Peptidet har for øvrig fått en dramatisk ny aktualitet, da det ble eksperimentelt brukt hos de 2 hittil observerte ebola-pasientene som har ligget på sykehus i Tyskland. F.I.R.E.-studien ble gjennomført i ti land. Studien undersøkte STEMI-pasienter som umiddelbart før primær PCI ble randomisert til dette peptidet intravenøst versus placebo. F.I.R.E.-studien viste signifikant reduksjon av den nekrotiske «core zone» på MR av hjertet. Imidlertid var venstre ventrikkels ejsjonsfraksjon ikke forskjellig mellom de to gruppene [12].

Den andre mekanismen, utpekt som mest lovende, var å blokkere åpningen av den mitokondriale transisjons-kanalen. Dermed kom det siste tiltak innenfor samme forskningsområde i stand: MITOCARE-studien. Denne var helfinansiert av et EU-FP7-stipend, og det var i alt 14 partnere i dette EU-prosjektet. MITOCARE-studien undersøkte et molekyl som har blitt vist å kunne inhibere åpningen av den mitokon-

driale transisjons-kanalen. Studien ble utført i ti intervensjonsentra i Danmark, Frankrike, Norge og Sverige, og pasientene ble randomisert i tidsrommet oktober 2011 til september 2013. Også i denne studien ble pasientene randomisert rett før primær PCI til enten intravenøs injeksjon av det eksperimentelle stoffet versus placebo. MITOCARE-studien viste ingen forskjell i infarktstørrelse bedømt ut ifra troponin-I- og CK-kurvene og på MR-parametere. Også i denne studien var det ingen signifikant forskjell i venstre ventrikkels ejsjonsfraksjon mellom de to gruppene. Faktisk hadde gjennomsnittet av STEMI-pasientene i denne studien bevart sine nor-

male venstre ventrikkels ejsjonsfraksjonverdier [13].

Forskning innenfor reperfusjons-skade av hjertemuskelen og kardioproteksjon er et vanskelig område. Det har vært et utall av negative, dvs. skuffende, resultater over mange år. Dette skyldes uten tvil den fremragende behandling som mange STEMI-pasienter mottar i dagens moderne helsevesen. En umiddelbar re-vaskularisering hos STEMI-pasienter medfører ofte at infarktstørrelsen er liten, og myokardets funksjon er bevart. Hva vi i klinisk praksis i dag opplever er først og fremst reperfusjons-gevinst, fremfor reperfusjonsskade. Forskere bør derfor tenke godt igjennom hvordan fremtidige kardioprotektive forskningsstudier skal utformes med tanke på å få bedre sjanser for et positivt utkomme i fremtiden.

Prismottakeren takker det norske kardiologiske miljø for å ha fått fremragende forskningsmuligheter og stor kollegial støtte, aller mest fra mine venner og kolleger på Oslo universitetssykehus, Aker og Ullevål, hvilket nå har kulminert i mottakelsen av Ole Storsteins pris 2014.

Referanser

1. Reimer KA, Lowe JE, Rasmussen MM, Jennings RB. The wavefront phenomenon of ischemic cell death. 1. Myocardial infarct size versus duration of coronary occlusion in dogs. *Circulation*. 1977;56:786-94.
2. AHA Textbook of Advanced Cardiac Life Support, 1999.
3. Braunwald E, Kloner RA. Myocardial reperfusion: a double-edged sword? *J Clin Invest*. 1985;76:1713-9.
4. Patel B, Kloner RA, Przyklenk K, Braunwald E. Postischemic myocardial "stunning": a clinically relevant phenomenon. *Ann Intern Med*. 1988;108:626-8.
5. Rahimtoola SH. Chronic myocardial hibernation. *Circulation*. 1994;89:1907-8.
6. Atar D, Grädel C, Stulz P, Pfisterer M. Kann Myokardschaden nach Infarkt reversibel sein? (Can myocardial damage following acute infarction be reversible)?. *Praxis (Bern 1994)*. 1997;86:421-4.
7. Gao WD, Atar D, Backx PH, Marban E. Relationship between intracellular calcium and contractile force in stunned myocardium. Direct evidence for decreased myofilament Ca²⁺ responsiveness and altered diastolic function in intact ventricular muscle. *Circ Res*. 1995;76:1036-48.
8. Gao WD, Atar D, Liu Y, Perez NG, Murphy AM, Marban E. Role of troponin I proteolysis in the pathogenesis of stunned myocardium. *Circ Res*. 1997;80:393-9.
9. Labugger R, Organ L, Collier C, Atar D, Van Eyk JE. Extensive troponin I and T modification detected in serum from patients with acute myocardial infarction. *Circulation*. 2000;102:1221-6.
10. Madsen LH, Christensen G, Lund T, Serebruany VL, Granger CB, Hoen I, Grieg Z, Alexander JH, Jaffe AS, Van Eyk JE, Atar D. Time course of degradation of cardiac troponin I in patients with acute ST-elevation myocardial infarction: the ASSENT-2 troponin substudy. *Circ Res*. 2006;99:1141-7.
11. Yellon DM, Hausenloy DJ. Myocardial reperfusion injury. *N Engl J Med*. 2007;357:1121-35.
12. Atar D, Petzelbauer P, Schwitter J, Huber K, Rensing B, Kasprzak JD, Butter C, Grip L, Hansen PR, Süsselbeck T, Clemmensen PM, Marin-Galiano M, Geudelin B, Buser PT; F.I.R.E. Investigators. Effect of intravenous FX06 as an adjunct to primary percutaneous coronary intervention for acute ST-segment elevation myocardial infarction results of the F.I.R.E. (Efficacy of FX06 in the Prevention of Myocardial Reperfusion Injury) trial. *J Am Coll Cardiol*. 2009;53:720-9.
13. Atar D, Arheden H, Berdeaux A, Bonnet JL, Carlsson M, Clemmensen P, Cuvier V, Danchin N, Dubois-Randé JL, Engblom H, Erlinge D, Firat H, Halvorsen S, Hansen HS, Hauke W, Heiberg E, Koul S, Larsen AI, Le Corvoisier P, Nordrehaug JE, Paganelli F, Pruss RM, Rousseau H, Schaller S, Sonou G, Tuset V, Veys J, Vicaut E, Jensen SE. Effect of intravenous TRO40303 as an adjunct to primary percutaneous coronary intervention for acute ST-elevation myocardial infarction: MITOCARE study results. *Eur Heart J* 2014; doi:10.1093/eurheartj/ehu331. [Epub ahead of print]