

Moderní představy o mechanismech uvolňování srdečních troponinů a jejich diagnostické roli

(Modern ideas about the mechanisms of cardiac troponin release and their diagnostic role)

Aleksey M. Chaulin^{a,b}, Dmitry V. Duplyakov^{a,b}

^a „Samarská regionální klinická kardiologická léčebna“, Státní rozpočtový ústav zdravotní péče, Samara, Rusko

^b „Samarská státní lékařská univerzita“, Federální státní rozpočtová vzdělávací instituce Ministerstva zdravotnictví Ruska, Samara, Rusko

INFORMACE O ČLÁNKU

Historie článku:

Vložen do systému: 23. 2. 2022

Přijat: 24. 4. 2022

Dostupný online: 7. 12. 2022

Klíčová slova:

Akutní infarkt myokardu

Diagnostika

Srdeční troponiny

Uvolňovací mechanismy

SOUHRN

Hlavním, ke dnešnímu dni dokázaným mechanismem uvolňování srdečních troponinů (cTnT a cTnI) je ischemická nekróza buněk myokardu, která vede k uvolnění všech intracelulárních molekul, včetně cTnT a cTnI, do krevního oběhu při akutním infarktu myokardu (AIM). V reálné klinické praxi se však lékaři často setkávají s mnoha dalšími (kromě AIM) patologickými stavy, při kterých jsou koncentrace cTnT a cTnI v krevním řečišti zvýšené, ale známky ischemie myokardu nejsou pozorovány. To jasně ukazuje na existenci dalších (neischemických) mechanismů poškození kardiomyocytů a uvolňování cTnT a cTnI do krevního řečiště. Pochopení všech mechanismů uvolňování srdečních troponinů umožní zlepšit diagnostiku a diferenciální diagnostiku AIM, rozšířit záběr cTnT a cTnI (pro diagnostiku a stratifikaci rizika u dalších onemocnění, která mají negativní vliv na buňky myokardu). V tomto přehledu jsou systematizované aktuální informace o mechanismech uvolňování srdečních troponinů, podrobně diskutovány diagnostické role jednotlivých mechanismů uvolňování cTnT a cTnI.

© 2022, ČKS.

ABSTRACT

The main mechanism of cardiac troponin release (cTnT and cTnI) proven to date is ischemic necrosis of myocardial cells, which leads to the release of all intracellular molecules, including cTnT and cTnI into the bloodstream in acute myocardial infarction (AMI). However, in real clinical practice, doctors very often encounter many other (besides AMI) pathological conditions in which cTnT and cTnI concentrations in the bloodstream are elevated, but signs of myocardial ischemia are not observed. This clearly indicates the existence of other (non-ischemic) mechanisms of cardiomyocyte damage and the release of cTnT and cTnI into the bloodstream. Understanding all the mechanisms of cardiac troponin release will improve the diagnosis and differential diagnosis of AMI, expand the scope of cTnT and cTnI (for the diagnosis and stratification of risk in other diseases that have a negative impact on myocardial cells). This review systematizes up-to-date information on the mechanisms of cardiac troponin release, discusses in detail the diagnostic role of individual mechanisms of cTnT and cTnI release.

Keywords:

Acute myocardial infarction

Cardiac troponins

Diagnosis

Release mechanisms

Úvod

Molekuly troponinů mají různou strukturu aminokyselin v závislosti na lokalizaci v srdečním a kosterním svalstvu, na základě čehož jsou izolovány izoformy troponinů. Troponin I má tedy tři izoformy: srdeční troponin I (cTnI), troponin I rychlých kosterních vláken a troponin I pomalých kosterních vláken. Troponin T také existuje ve třech hlavních izoformách: srdeční troponin T (cTnT), troponin T

rychlých kosterních vláken a troponin T pomalých kosterních vláken. Podle molekulárně-genetických studií se aminokyselinová sekvence srdečního troponinu T a srdečního troponinu I liší přibližně o 40–60 % od aminokyselinových sekvencí odpovídajících izoform kosterních troponinů, lokalizovaných v kosterních vlákních.^{1,2} Tato důležitá strukturální vlastnost umožňuje použít srdeční troponiny T a I jako specifické biomarkery poškození myokardu při akutním infarktu myokardu (AIM) a dalších nekardiálních

Adresa pro korespondenci: Aleksey M. Chaulin, MD, „Samarská regionální klinická kardiologická léčebna“, Státní rozpočtový ústav zdravotní péče, Samara, Rusko, e-mail: alekseymichailovich22976@gmail.com

DOI: 10.33678/cor.2022.044

patologických stavech.^{3,4} Srdeční troponin C je na rozdíl od troponinů I a T svou strukturou aminokyselin zcela identický se svalovým (kosterním) troponinem C a zvýšená koncentrace tohoto proteinu v krvi neumožňuje spolehlivě rozlišit mezi poškozením tkáně srdečního svalu a kosterního svalstva, srdeční troponin C proto nelze použít jako kardiomarker pro diagnostiku AIM.

Přestože regulační dokumenty pro diagnostiku a léčbu různých forem akutního koronárního syndromu a AIM obsahují jasná doporučení ohledně načasování troponinových testů a úrovní rozhodování a diagnostická senzitivita a diagnostická specifita většiny imunotestů se blíží 100 %, stále existuje řada nevyřešených problémů a otázek, které se týkají využití těchto markerů v klinické praxi. Část těchto problémů je spojena s různorodostí troponinových diagnostik, jejich nestejnou diagnostickou senzitivitou a přesností, rozdílnou citlivostí na zkřížené reagující látky, tzn. s různými analytickými charakteristikami testovacích systémů.^{2,5} Další řada otázek je způsobena tím, že při nekróze myokardu jakékoli etiologie a někdy při absenci nevratného poškození myokardu (například s reverzibilním poškozením při fyzické zátěži, při selhání ledvin nebo při vlivu falešných pozitivních faktorů) jsou zvýšeny koncentrace srdečních troponinů v krvi.²⁻⁶ Podle „čtvrté univerzální definice infarktu myokardu (2018)“ zvýšení hodnot cTnT a cTnI svědčí o „poškození myokardu“. Nicméně, bez klinických známek ischemie svalové membrány srdce nejsou zvýšené hodnoty srdečních troponinů kritériem pro diagnostikování AIM.⁷ Kromě nekrózy kardiomyocytů tedy existují i další mechanismy poškození myokardu a uvolňování srdečních troponinů z buněk myokardu a/ nebo zvýšení koncentrace srdečních troponinů v krevním séru. Řada klinických studií ukazuje na velmi časté zvýšení koncentrace srdečních troponinů v krvi při různých fyziologických (například fyzická zátěž, stresové situace apod.) a patologických (sepe, selhání ledvin, plicní embolie, užívání kardiotoxických léků na chemoterapii atd.) stavech.⁵⁻⁸ Přitom mechanismus zvyšování obsahu troponinů v krvi u těchto onemocnění není nijak spojen s ischemickou nekrózou, která je hlavní příčinou zvýšení hodnoty troponinů u AIM. G. Lindner a spol. přezkoumali retrospektivní studii, ve které jasně prokázali nízkou specifitu srdečních troponinů pro diagnostiku AIM.⁹ Autoři provedli důkladnou analýzu příčin (onemocnění), které způsobují zvýšení koncentrace cTnT u pacientů přijatých na urgentní příjem. Celkem bylo do studie zařazeno 1 573 pacientů, z nichž pouze 10 % pacientů mělo zvýšené hodnoty cTnT, spojené s AIM, zatímco všichni ostatní pacienti (asi 90 %) neměli žádné známky AIM a zvýšené hodnoty cTnT byly vyvolány jinými onemocněními, jež způsobují zvýšení koncentrací cTnT v séru neischemickými mechanismy.⁹ Pokud by se tedy lékaři při diagnostice AIM spoléhali pouze na pozitivní troponinový test, u většiny těchto pacientů by byla diagnóza stanovena nesprávně.

Nejčastějšími příčinami zvýšené hodnoty cTnT byly následující nemoci: plicní embolie, selhání ledvin, akutní disekce aorty, srdeční selhání, akutní myokarditida, rhabdomyolýza, kardiotoxická chemoterapie, zhoršení chronické obstrukční plicní nemoci (CHOPN), sepe a infiltrativní srdeční patologie (např. amyloidóza). Zajímavým zjištěním při provádění této studie bylo, že ve 30 % případů nebylo možné zvýšené koncentrace cTnT nijak vysvětlit,

protože nebyly spojeny se žádnou z dříve v literatuře popsaných příčin zvýšených srdečních troponinů.⁹ Existuje vysoká pravděpodobnost toho, že by tyto příčiny mohly být spojeny s falešně pozitivními výsledky a/nebo dosud neobjevenými mechanismy a faktory, kterým výzkumníci a praktici dosud nevěnovali pozornost a nepopsali je v literatuře. Interpretace zvýšených výsledků srdečních troponinů je tedy v moderní klinické praxi extrémně obtížným a někdy až nadlidským úkolem. Proto je důležité mít na paměti, že *samotný troponinový test není „zlatým standardem“ pro diagnózu akutního infarktu myokardu, ale může se takovým stát pouze u těch pacientů, kteří mají typické klinické příznaky ischemie myokardu a odpovídající ischemické změny na elektrokardiogramu, echokardiogramu atd.*

Díky rozvoji moderních vysoce citlivých diagnostických testů (hs-cTnT a hs-cTnI) mají praktičtí lékaři možnost provádět včasnou diagnostiku AIM (v prvních dvou hodinách od přijetí pacientů) formou posouzení charakteristické dynamiky změny obsahu srdečních troponinů v krvi. Změny (zvýšení) koncentrace molekul srdečních troponinů v prvních dvou hodinách rozvoje onemocnění jsou extrémně malé (může být jen několik ng/l) a nejsou detekovány středně citlivými testovacími systémy. Je třeba zmínit, že díky řadě velkých multicentrických studií byly validovány algoritmy včasné diagnostiky (0 → 1 hodina a 0 → 2 hodiny) AIM bez elevací úseku ST (NSTEMI) s použitím ultrasenzitivních testovacích systémů od různých výrobců. (tabulka 1).¹⁰

S využitím moderních (ultracitlivých) metod studia troponinů byly molekuly srdečních troponinů detekovány v krvi a v řadě dalších biologických tekutin (moč, sliny atd.) téměř u všech zdravých lidí,¹¹⁻¹⁹ což staví před výzkumníky nové otázky a úkoly při hledání a objasňování možných mechanismů, které jsou základem uvolňování molekul troponinu z životaschopných kardiomyocytů. Zároveň lze tedy detekci molekul srdečního troponinu v biologických tekutinách do určité míry (pokud jejich koncentrace nepřesahuje horní sloupec 99. percentil) považovat za normální metabolické produkty tkáně srdečního svalu. Nicméně konkrétní mechanismy jejich uvolňování zatím nejsou jasné a mají pouze hypotetický charakter. Kromě toho budou mít pro výzkumníky a praktiky velkou důležitost faktory, které mohou uvolňování troponinů posílit nebo naopak oslabit. V současnosti jsou nejdiskutovanějšími biologickými faktory, které mají vliv na míru uvolňování troponinů z myokardu zdravých lidí, genderová, věková a cirkadiánní specifika.¹⁴⁻¹⁶ Genderová specifika srdečních troponinů spočívají v tom, že z myokardu zdravých mužů se uvolňuje více molekul srdečních troponinů než z myokardu zdravých žen.¹⁴ Tato specifika byla validována mnoha klinickými studiemi a při použití téměř všech moderních testovacích systémů se doporučuje zaměřit se na prahové hodnoty (99. percentil) v souladu s genderovou identitou. Specifika srdečních troponinů, jež souvisejí s věkem, spočívají v tom, že se z myokardu starších pacientů uvolňuje výrazně větší počet molekul srdečních troponinů než z myokardu mladých lidí.^{16,17} Cirkadiánní specifika srdečních troponinů spočívají v tom, že se z myokardu zdravých lidí ráno uvolňuje více molekul srdečních troponinů než z myokardu zdravých lidí ve večerním a nočním čase.^{18,19}

Tabulka 1 – Včasné diagnostické algoritmy pro vyloučení/potvrzení NSTEMI (0 → 1 hodina a 0 → 2 hodiny) schválené Evropskou kardiologickou společností¹⁰

Jedn hodinový diagnostický algoritmus NSTEMI					
Troponinový imunotest, společnost (výrobce)	Koncentrace biomarkeru, která indikuje extrémně nízkou pravděpodobnost diagnózy NSTEMI (ng/l)	Koncentrace biomarkeru, která indikuje nízkou pravděpodobnost diagnózy NSTEMI (ng/l)	Změny koncentrace biomarkerů po 1 hodině, při kterých by měla být vyloučena diagnóza NSTEMI (ng/l)	Koncentrace biomarkeru, která indikuje vysokou pravděpodobnost diagnózy NSTEMI (ng/l)	Změny biomarkeru po 1 hodině, kdy by měl být potvrzen NSTEMI (ng/l)
hs-cTnT (Elecsys; Roche)	< 5	< 12	< 3	≥ 52	≥ 5
hs-cTnI (Architect; Abbott)	< 4	< 5	< 2	≥ 64	≥ 6
hs-cTnI (Centaur; Siemens)	< 3	< 6	< 3	≥ 120	≥ 12
hs-cTnI (Access; Beckman Coulter)	< 4	< 5	< 4	≥ 50	≥ 15
Dvou hodinový diagnostický algoritmus NSTEMI					
Troponinový imunotest, společnost (výrobce)	Koncentrace biomarkeru, která indikuje extrémně nízkou pravděpodobnost diagnózy NSTEMI (ng/l)	Koncentrace biomarkeru, která indikuje nízkou pravděpodobnost diagnózy NSTEMI (ng/l)	Změny koncentrace biomarkerů po 2 hodinách, při kterých by měla být vyloučena diagnóza NSTEMI (ng/l)	Koncentrace biomarkeru, která indikuje vysokou pravděpodobnost diagnózy NSTEMI (ng/l)	Změny biomarkeru po 2 hodinách, kdy by měl být potvrzen NSTEMI (ng/l)
hs-cTnT (Elecsys; Roche)	< 5	< 14	< 4	≥ 52	≥ 10
hs-cTnI (Architect; Abbott)	< 4	< 6	< 2	≥ 64	≥ 15
hs-cTnI (Centaur; Siemens)	< 3	< 8	< 7	≥ 120	≥ 20
hs-cTnI (Access; Beckman Coulter)	< 4	< 5	< 5	≥ 50	≥ 20

Uvolňování srdečních troponinů z buněk myokardu: mechanismy a diagnostický význam

Kromě nekrózy kardiomyocytů jsou možné následující mechanismy uvolňování cTnT a cTnI: a) uvolňování srdečních troponinů jako výsledek procesů regenerace a obnovy buněk myokardu, b) uvolňování srdečních troponinů v důsledku apoptózy buněk myokardu, c) uvolňování srdečních troponinů v důsledku tvorby membránových váčků na povrchu buněk myokardu, d) intracelulární proteolytická degradace molekul srdečních troponinů na malé fragmenty a jejich uvolnění přes intaktní membránu buněk myokardu, e) uvolnění srdečních troponinů v důsledku zvýšené membránové propustnosti buněk myokardu, f) uvolnění srdečních troponinů z extrakardiálních buněk.

Některé z uvedených uvolňovacích mechanismů mohou přispívat nejen ke zvýšení koncentrace srdečních troponinů krve u zdravých jedinců, ale i významně narůstat pod vlivem různých fyziologických a patologických faktorů. Tak například apoptóza buněk myokardu může zesílit se zvýšením krevního tlaku,^{4,20} s roztažením stěn myokardu,^{20,21} se zvýšenou stimulací beta-adrenergických recepto-

rů,²² užíváním kardiotoxických chemoterapeutických léků a řadou dalších faktorů.²³ A u pacientů s chronickým selháním ledvin (CHSL) je zaznamenána exprese srdečních troponinů v kosterních svalech,²⁴ což hypoteticky může vést ke zvýšení koncentrace srdečních troponinů v krevním séru. Následný a podrobný popis možných mechanismů uvolňování srdečního troponinu je uveden níže.

Uvolňování srdečních troponinů v důsledku procesů regenerace a obnovy buněk myokardu

Důkaz, že buňky myokardu mohou regenerovat/obnovovat se, byl získán studiem metabolismu molekul DNA, označených C¹⁴ v buňkách myokardu. O. Bergmann a spol. provedli výpočet rychlosti obnovy kardiomyocytů pomocí studie rychlosti syntézy DNA, výpočet, který byl proveden formou studia rychlosti akumulace C¹⁴ v buňkách myokardu. Byla zjištěna obnova kardiomyocytů, intenzita, která každoročně klesala – od 1 %/ročně ve věku 25 let do 0,45 %/ročně ve věku 75 let. Obecně platí, že během života prošlo obnovou asi 50 % kardiomyocytů.²⁵ Tyto výsledky

dosvědčují existenci malého regeneračního potenciálu buněk myokardu. Někteří vědci předpokládají, že proces obnovy buněk myokardu může být spojen s uvolňováním srdečních troponinů z buněk,^{25–27} nicméně konkrétní mechanismus, který je základem tohoto jevu, zůstává neznámý. Jako možnou hypotézu lze předpokládat, že z postupně stárnoucích a přirozeně odumírajících kardiomyocytů se v důsledku postupné destrukce buněčné membrány uvolňují intracelulární molekuly kardiomarkerů včetně srdečních troponinů. Vzhledem k tomu, že rychlost obnovy kardiomyocytů je nízká, stupeň zvýšení koncentrací srdečních troponinů v séru je také nevýznamný (ne vyšší než 99. percentil). Tento mechanismus tedy může hypoteticky vysvětlit přítomnost malého množství molekul srdečních troponinů v krevním řečišti u všech zdravých jedinců..

V souladu s údaji jiných výzkumníků činí průměrná rychlost obnovy kardiomyocytů u savců 0,5–2,0 % za rok a může se lišit v závislosti na vlivu určitých faktorů, jako jsou fyziologické podmínky (fyzická zátěž), zranění a doprovodná onemocnění.^{28–30} Rychlost obnovy kardiomyocytů se tedy po poškození myokardu výrazně zvyšuje. Experimentální studie, kterou provedla P. Docshina a kol., prokázala, že ischemické poškození myokardu způsobuje aktivaci endogenních kmenových buněk a zvyšuje rychlost obnovy buněk myokardu.²⁸ Dvě další skupiny výzkumníků vedené C. Waringem a spol.²⁹ a M. Rovirou se spoluautory³⁰ zjistily zvýšení procesů proliferace a diferenciací kmenových buněk v myokardu potkanů a zebříček *Danio* během fyzické zátěže.

Nicméně na posouzení stupně regenerace a rychlost obnovy buněk myokardu mohou mít do určité míry vliv zánětlivé procesy, proliferace nemyocytárních buněk a tvorba jizvy pojivové tkáně v myokardu, které často komplikují nebo zkreslují výsledky studií.^{28,31} K prozkoumání konkrétní role možných regeneračních mechanismů při uvolňování srdečních troponinů z buněk je zapotřebí dalšího výzkumu.

Uvolňování srdečních troponinů v důsledku apoptózy buněk myokardu

K dnešnímu dni bylo objeveno značné množství faktorů, které mohou spustit procesy apoptózy kardiomyocytů. Indukce apoptózy vede ke zvýšení aktivity kaspázových enzymů, které mohou fragmentovat (poškozovat) molekuly DNA, proteiny a způsobit odumření buňky. Na rozdíl od nekrózy při apoptóze buňka odumírá pomaleji, integrita buněčné membrány je zachována mnohem déle a zánětlivá reakce kolem mrtvé buňky není pozorována. Ke studiu procesů apoptózy se využívá množství metod: různé druhy mikroskopie (světelná, elektronová, fluorescenční), průtoková cytometrie, imunohistochemické studie, metoda TUNEL (Terminal deoxynukleotidyltransferáza (TdT) dUTP Nick-End Labeling) atd. Metoda TUNEL je nejspolehlivějším a nejvčasnějším způsobem detekce apoptózy. Tato metoda umožňuje vizualizaci buněčných jader, ve kterých došlo k fragmentaci molekuly DNA v důsledku zvýšené aktivity endonukleáz a kaspáz. Tato metoda se nejčastěji používá ve všech moderních studiích zaměřených na studium etiopatogenetických mechanismů apoptózy různých buněk, včetně kardiomyocytů.^{32–34}

V experimentální studii vedené B. Weilem a spol. bylo prokázáno, že krátkodobá ischemie aktivuje apoptózu buněk myokardu u pokusných zvířat a apoptóza kardiomyocytů je doprovázena zvýšením koncentrací srdečních troponinů v krevním séru. Pro simulaci krátkodobé ischemie myokardu byl použit balonkový kateétr. Doba trvání ischemie byla deset minut, poté byla provedena reperfuze formou vypuštění balonku. K potvrzení apoptózy buněk myokardu byla použita metoda TUNEL, podle jejíchž výsledků se významně zvýšilo množství kardiomyocytů ve stavu apoptózy (6× oproti kontrolní skupině zvířat). Zároveň nebyly zjištěny žádné histologické známky nekrózy myokardu. To naznačuje, že krátkodobá (v tomto případě desetiminutová) ischemie nezpůsobuje ischemickou nekrózu kardiomyocytů, ale zesiluje apoptotické procesy v myokardu. Nicméně hodnoty srdečních troponinů se začaly rychle zvyšovat: 30 minut po reperfuzi se koncentrace troponinu I přiblížila horní hranici normálu (38 ng/l) a po jedné hodině ji překročila (51 ± 17 ng/l). Dvě a tři hodiny po reperfuzi byly hodnoty srdečního troponinu I v krevním séru 148 ± 88 ng/l a 180 ± 117 ng/l, což ukazovalo na pokračující uvolňování molekul troponinu z myokardu. A konečně 24 hodin po reperfuzi dosáhla koncentrace cTnI vrcholu a hodnota činila $1\,021 \pm 574$ ng/l.³³

Tato experimentální studie tedy jasně demonstrovuje roli apoptózy (indukované krátkodobou ischemií) při uvolňování molekul srdečních troponinů z buněk myokardu. Limitem této studie je poměrně krátký interval vyšetření tkáně srdečního svalu na přítomnost histopatologických změn; navíc podle těchto výsledků není možné stanovit stupeň a reverzibilitu poškození srdečních myocytů během apoptózy. Kromě toho byl ke stanovení cTnI použit středně citlivý testovací systém (enzymatický imunisorbentní test - ELISA), který je z hlediska analytické citlivosti horší než moderní vysoce citlivé imunologické technologie. V souvislosti s tím by se dynamické změny koncentrací hs-cTnT a hs-cTnI během apoptózy mohly významně lišit, zejména v prvních minutách a hodinách po reperfuzi.

V literatuře jsou popsány i další situace, kdy se apoptóza srdečních myocytů indukuje jinými mechanismy, které nejsou spojeny s reverzibilní (krátkodobou) ischemií srdeční svalové tkáně.^{34–36} Autoři vyznačují následující mechanismy apoptózy, které mohou podporovat uvolňování srdečních troponinů z buněk myokardu: roztažení stěn myokardu, zvýšené předpětí srdce a zvýšenou aktivitu sympatoadrenálního systému. W. Cheng a spol. tedy uvedli, že apoptóza buněk myokardu se zvyšuje s roztahováním stěn myokardu.³⁴ To umožňuje považovat mnohé fyziologické a patologické stavy, které způsobují roztahování stěn myokardu, za možné induktory apoptózy. Apoptóza tedy může do určité míry vysvětlit zvýšené koncentrace v séru u pacientů po dlouhodobé a intenzivní fyzické zátěži, hypertenzi, plicní embolii a CHOPN.

Ve své další experimentální studii B. Weil a spol. došli k závěru, že zvýšení předpětí srdce „spouští“ apoptózu a způsobuje zvýšení koncentrace cTnI v krvi pokusných zvířat. Pro zvýšení předpětí srdce byl pokusné skupině zvířat podáván intravenózně lék – fenylefrin (300 µg léku za minutu) po dobu jedné hodiny. Po modelaci byla pro potvrzení přetížení myokardu použita echokardiografie, pro ověření apoptózy a stanovení hodnot srdečních troponinů

byly použity histologické metody, včetně metody TUNEL, respektive středně citlivá imunoanalýza. Ve výsledku histologického vyšetření myokardu byl u pokusné skupiny zvířat zaznamenán významný nárůst počtu kardiomyocytů ve stavu apoptózy ve srovnání s kontrolní skupinou. Nebyly však zjištěny histologické známky nekrózy myokardu. Čtyřicet hodin po modelaci se počet kardiomyocytů ve stavu apoptózy snížil na úroveň kontrolní skupiny, což ukazuje na reverzibilitu apoptotických změn. Koncentrace cTnI překročila horní hranici normálu 30 minut po modelaci a poté se koncentrace cTnI dále prudce zvyšovala a hodnoty 856 ± 956 ng/l dosáhly jednu hodinu po modelaci. Koncentrace cTnI v séru zůstaly zvýšené po celou dobu studie (24 hodin) a dosáhly vrcholu hodnot $1\,462 \pm 1\,691$ ng/l.³⁵ Protože známky nekrózy, na rozdíl od apoptózy, nebyly pozorovány, je třeba myslet na to, že apoptóza vyvolaná indukovaným přetížením myokardu hraje důležitou roli při uvolňování molekul srdečních troponinů z buněk.

Stupeň uvolnění molekul srdečních troponinů z buněk myokardu v důsledku apoptózy, vyvolané přetížením myokardu, závisí na síle a délce působení. Například k relativně malému přetížení myokardu dochází při mírné až střední fyzické zátěži, hypertenzi, nemasivní plicní embolii a nezávažných formách CHOPN, stupeň zvýšení sérových koncentrací srdečních troponinů je proto u těchto stavů také relativně malý.^{36–39} Ale například při vysoce intenzivní fyzické zátěži, zhoršení CHOPN nebo masivní plicní embolii se přetížení myokardu stává mnohem významnějším, proto jsou tyto stavy doprovázeny relativně vyššími sérovými koncentracemi srdečních troponinů.

Dalším velmi zajímavým mechanismem iniciace apoptózy je zvýšení aktivity sympatoadrenálního systému. Výzkumná skupina vedená K. Singhem a spol. zjistila, že stimulace beta-adrenergických receptorů (β -AR) reguluje nitrobuněčné apoptotické signální dráhy v kardiomyocytech. Přičemž stimulace β_1 -AR zesiluje apoptózu buněk myokardu, zatímco stimulace β_2 -AR má opačný účinek.⁴⁰ Také bylo zaznamenáno, že hustota podtypů β -AR se významně mění s věkem. U starších pacientů tedy dochází k výraznějšímu poklesu počtu β_2 -AR, což může přispívat k oslabení antiapoptotického účinku, a tím i ke zvýšení apoptózy buněk myokardu. Vyšší stupeň apoptózy u starších pacientů může pravděpodobně souviset s věkovými zvláštnostmi hodnot srdečních troponinů: u starších lidí jsou hodnoty troponinů rozhodně vyšší než u mladých.^{41,42} Vlastnosti srdečních troponinů související s věkem byly prokázány v řadě klinických studií při studiu krve pomocí vysoce citlivých testovacích systémů.^{43,44}

Vzhledem k výše uvedenému je třeba apoptózu kardiomyocytů považovat za významný mechanismus uvolňování molekul srdečních troponinů z buněk myokardu. Tento mechanismus není spojen s nekrozou kardiomyocytů a napomáhá velmi významnému zvýšení sérových koncentrací srdečních troponinů. Obecně apoptóza buněk myokardu může mít významnou diagnostickou hodnotu u stavů, jako je dlouhodobá a intenzivní fyzická aktivita, arteriální hypertenze, plicní embolie, srdeční selhání a pravděpodobně i vyšší věk. Pro upřesnění přesné role apoptózy v uvolňování srdečních troponinů při fyziologických a patologických stavech je zapotřebí dalšího výzkumu.

Uvolňování srdečních troponinů v důsledku tvorby membránových váčků na povrchu buněk myokardu

Tento mechanismus uvolňování srdečních troponinů z buněk myokardu byl poprvé popsán v experimentální studii před poměrně dlouhou dobou. Výzkumný tým pod vedením P. Schwartzem uvedl, že na plazmatické membráně buněk myokardu se tvoří membránové váčky (blebbing vesicles).⁴⁵ A při krátkodobé ischemii kardiomyocytů se počet membránových váčků zvyšuje ve srovnání s intaktním stavem. Podobné tendence jsou také charakteristické pro hepatocyty.⁴⁶ Vzhledem k tomu, že tyto vezikuly jsou tvořeny z fragmentů buněčné membrány a cytoplazmy kardiomyocytů, mohou pravděpodobně obsahovat některé cytoplazmatické proteiny buněk myokardu, zejména kardiomarkery (izoformu kreatinkinázy MB, myoglobin a cytoplazmatickou frakci srdečních troponinů a další). Nicméně jelikož je objem cytoplazmatické frakce srdečních troponinů malý (přibližně 3–4 % cTnI a 7–8 % cTnT z celkového počtu troponinů v kardiomyocytu), bude podíl tohoto mechanismu na stupni zvýšení sérové koncentrace srdečních troponinů také omezený. Vycházíme-li ze zvláštností tvorby membránových váčků (významný nárůst při ischemii), lze předpokládat, že tento mechanismus se podílí na uvolňování srdečních troponinů při těch patologických stavech, které jsou provázeny ischemií buněk myokardu již v raných stádiích. Například počáteční (prenekrotické) stadium ischemie myokardu může tedy vyvolat tvorbu membránových váčků a uvolňování troponinů do krevního řečiště, což povede k vytvoření prvního vrcholu koncentrací srdečních troponinů v séru. Následně jsou možné dvě základní varianty: 1) se snížením ischemie buněk myokardu tvorba membránových váčků skončí a koncentrace troponinu se rychle vrátí k normálu, 2) s pokračováním/zvyšováním ischemie (jako např. při AIM) se zvyšuje tvorba membránových váčků, a navíc dochází k destrukci plazmatické membrány buněk myokardu a proteolýze (fragmentaci) troponinových proteinů, které jsou součástí hlavní (strukturní nebo kontraktilní frakce troponinů), což povede k formování druhého vrcholu v koncentraci srdečních troponinů v séru. Z patogenetického hlediska může každý fyziologický nebo patologický stav, který vede k ischemii kardiomyocytů (dokonce i k reverzibilní buněčné ischemii), aktivovat tento mechanismus uvolňování srdečního troponinu. Například některé fyziologické stavy (fyzická zátěž)³⁹ nebo patologické stavy (sepe)⁴⁷ mohou způsobit zvýšení potřeby kyslíku v buňkách myokardu, což bude doprovázeno ischemií srdeční svalové tkáně v důsledku narušení rovnováhy v dodávce a poptávce po kyslíku.

Nitrobuněčná proteolytická degradace molekul srdečních troponinů na malé fragmenty a uvolňování těchto fragmentů přes intaktní membránu buněk myokardu

Velikost a lokalizace nitrobuněčných molekul jsou dva klíčové faktory, které ovlivňují transport (uvolňování) molekul přes buněčnou membránu. Nízkomolekulární biomarkery se mnohem intenzivněji uvolňují přes plazmatickou membránu, což hraje roli v diagnostice mnoha onemocnění.

ní, včetně forem kardiovaskulární patologie. Takže například s rozvojem AIM se koncentrace nízkomolekulárních kardiomarkerů (myoglobin) v krevním séru zvyšuje mnohem dříve než koncentrace vysokomolekulárních kardiomarkerů (laktátdehydrogenáza-1).⁴⁸ To se vysvětluje tím, že molekuly myoglobinu jsou malé a mohou se uvolňovat v počátečních stádiích ischemie během rozvoje AIM (kdy je plazmatická membrána buněk myokardu ještě relativně mírně poškozena). Větší molekula (laktátdehydrogenáza-1) může opustit kardiomyocyt pouze tehdy, když bude jeho buněčná membrána významně poškozena. Biomarkery, které jsou volně lokalizovány v cytoplasmě buněk (například myoglobin, cytoplazmatická [nekontraktilní] frakce troponinů), mají také výhody při uvolnění z buňky, na rozdíl od těch biomarkerů, které jsou lokalizovány v organelách (jádra nebo mitochondrii buněk) nebo jsou těsně spojeny se strukturálními složkami sarkoplazmy (například se strukturální frakcí troponinů, která je zapojena do regulace kontraktilní frakce myokardu). Během vývoje AIM se tedy nejprve uvolňují molekuly troponinů, které jsou součástí cytoplazmatické frakce srdečních troponinů, a teprve poté dochází k destrukci sarkomer, konkrétně komplexu troponin-tropomyozin, a k uvolňování strukturálních srdečních troponinů.

Nejdůležitějším faktorem, který může ovlivnit velikost molekuly (biomarkeru), a tedy i možnost jejího uvolnění, je stupeň aktivity enzymů, které způsobují proteolýzu (fragmentaci) dané molekuly. Aktivita proteolytických enzymů se může měnit jak u fyziologických, tak u patologických stavů. V experimentální studii J. Fenga a spol. bylo prokázáno, že zvýšení předtížení na srdeční svalovou tkáň způsobuje aktivaci enzymu calpain, který fragmentuje molekulu cTnI, což může potenciálně hrát roli při uvolňování tohoto biomarkeru z buněk myokardu a zvýšení jeho koncentrace v krevním séru.⁴⁹ Zároveň mohou fyziologické a patologické stavy, které způsobují zvýšení předtížení na stěnu myokardu, napomáhat uvolňování srdečních troponinů z buněk myokardu tímto mechanismem.

Kromě enzymu calpainu mohou štěpení molekul srdečních troponinů katalyzovat určité typy matrixových metaloproteináz (MMP 2 a MMP 14)⁵⁰ a enzym trombin.⁵¹ Na aktivitu těchto enzymů také mohou mít vliv patologické procesy a některé léky, které tak mohou hypoteticky ovlivňovat koncentrace srdečních troponinů v séru.⁵¹ Například zvýšení aktivity trombinu u pacientů s dilatační kardiomyopatií⁵² tak může napomáhat fragmentaci cTnT, která může mít jak patogenetický význam (poškození cTnT, který je jednou ze základních součástí kontraktilního aparátu kardiomyocytů), tak diagnostickou hodnotu (zmenšení velikosti molekuly cTnT v důsledku fragmentace a možného zvýšení uvolňování těchto fragmentů do krevního řečiště).

Změny kyselosti (pH) také mohou modulovat aktivitu nitrobuněčných proteolytických enzymů. Patologické stavy, které narušují metabolismus myokardu, zejména ischemie myokardu, tedy vedou k přechodu z aerobního metabolismu myokardu na anaerobní a ke zvýšení tvorby kyseliny mléčné, která posouvá pH směrem k acidóze. V podmínkách acidózy se zase aktivují proteolytické a proapoptotické enzymy, které prostřednictvím fragmentace nemohou nepřispívat k tvorbě mnoha malých

fragmentů (molekul) srdečních troponinů, což zvýší pravděpodobnost jejich uvolnění z buněk myokardu do krevního řečiště.

Uvolňování srdečních troponinů v důsledku zvýšené membránové propustnosti buněk myokardu

Membránová permeabilita buněk myokardu je důležitým faktorem, který hraje roli při uvolňování molekul srdečních markerů z buněk myokardu do krevního řečiště. Na základě analýzy výsledků experimentálních dat lze rozlišit dva základní mechanismy, které jsou základem změny (zvýšení) membránové propustnosti buněk myokardu: 1) zvýšení membránové propustnosti buněk myokardu v důsledku zvýšení zátěže na myokard a roztahování jeho stěn; 2) zvýšení membránové propustnosti buněk myokardu v důsledku ischemie myokardu a aktivace proteolytických enzymů, které mohou poškodit membránu buňky.

První mechanismus uvolňování srdečních troponinů studoval M. Hessel a spol.⁵³ Ve své experimentální studii autoři stimulovali speciální glykoproteinové receptory buněk myokardu (integriny), které jsou citlivé na roztažení myokardu. K modelování roztažení myokardu a aktivaci integrinu vědci použili tripeptid RGD (Arg-Gly-Asp), který je silným agonistou integrinů a je součástí fibronektinu a dalších regulačních proteinů mimobuněčného matrixu.⁵⁴ Autoři dále poznamenali, že roztahování myokardu není spojeno s ischemickými a nekrotickými procesy ve tkáni srdečního svalu, což svědčí o tom, že za uvolňování srdečních troponinů z životaschopných buněk myokardu byl zodpovědný zejména specifický mechanismus roztahování stěny myokardu a aktivace integrinu.

Druhý mechanismus zvýšení propustnosti membrány je spojen s poškozením membrán při ischemii buněk myokardu. Ischemie myokardu iniciuje změny v metabolismu kardiomyocytů a okyselení (acidózu) nitrobuněčného prostoru buněk myokardu, což následně povede k aktivaci proteolytických a proapoptotických enzymů. Tyto enzymy mají mnoho určených a kromě své specifické činnosti (fragmentace srdečních troponinů) mohou samozřejmě katalyzovat proteolýzu proteinů, které tvoří buněčné organelly a membrány.^{55,56} Tento mechanismus zvýšení troponinů tedy úzce souvisí s popsáním mechanismem (zvýšení koncentrace troponinů v důsledku zvýšené proteolytické degradace struktur na malé fragmenty). Obecně lze zvýšení propustnosti membrány a nitrobuněčnou fragmentaci srdečních troponinů považovat za dva vzájemně související a synergické mechanismy, které jsou základem uvolňování molekul srdečních troponinů z buněk myokardu. Míra aktivity těchto mechanismů pravděpodobně souvisí se stupněm závažnosti patologických procesů. Takže například krátkodobá a/nebo reverzibilní ischemie buněk myokardu během fyzické zátěže, nekomplikované sepse může být spojena s relativně malým zvýšením aktivity nitrobuněčných proteolytických enzymů. V souvislosti s tím bude stupeň zvýšení koncentrací srdečních troponinů v séru také relativně malý a je způsoben pouze cytoplazmatickou frakcí srdečních troponinů (jejich fragmentací na malé molekulární fragmenty) a reverzibilním poškozením membrány/zvýšením propustnosti membrány. Při

patologických stavech, které způsobují ireverzibilní ischemii buněk myokardu (například AIM nebo těžká/komplikovaná sepe), se hodnoty troponinů v séru zvyšují mnohem výrazněji a hlavní podíl na celkových koncentracích srdečních troponinů v séru bude mít strukturální frakce srdečních troponinů. Jak proteiny komplexu troponin-tropomyozin, tak proteiny membrán kardiomyocytů se budou aktivněji fragmentovat (štěpit), a proto bude stupeň uvolňování srdečních troponinů u těchto patologií vyšší.

Uvolňování srdečních troponinů z extrakardiálních buněk

Jedním z kontroverzních, ale hypoteticky možných mechanismů, které jsou základem zvýšení koncentrací srdečních troponinů v séru, je uvolňování těchto molekul z extrakardiálních buněk. Několik experimentálních a klinických studií ukazuje na expresi molekul srdečních troponinů v buňkách tkáně kosterního svalstva^{57,58} a ve stěnách velkých cév,⁵⁹ což nám umožňuje považovat tyto orgány za možné zdroje koncentrací srdečních troponinů v séru. Američtí biochemici (V. Ricchiuti a F. Apple) pomocí polymerázové řetězové reakce (PCR) odhalili expresi matriční RNA cTnT ve tkáni kosterního svalstva dospělých, trpících terminálním stadiem selhání ledvin a dědičnou kosterní myopatií (Duchenneova svalová dystrofie). Matriční RNA cTnI nebyla nalezena v kosterních svaích pacientů trpících těmito formami patologie a v kosterních

svaích zdravých lidí. Kromě toho nebyly v kosterním svalstvu zdravých lidí zjištěny žádné známky exprese cTnI,²⁵ což ukazuje na možnou expresi jednoho typu srdečního troponinu (cTnT) pouze při existenci uvedených patologií. V další studii B. Messner a kol. potvrdili možnost extrakardiální exprese cTnT u pacientů trpících kostními myopatiemi. Výzkumníci pomocí PCR testu detekovali matriční RNA cTnT u pacientů, kteří trpí primární sarkoglykopenií a Duchenneovou svalovou dystrofií.⁵⁸ U některých pacientů se skeletálními myopatiemi byla kromě matriční RNA cTnT zaznamenána exprese matriční RNA cTnI.⁵⁸ Nicméně v těchto studiích autoři neměřili koncentrace srdečních troponinů v séru u pacientů trpících myopatiemi a CHSL. Toto je důležité omezení těchto studií, protože neumožňuje odpovědět na otázku: může exprese srdečních troponinů v kosterním svalstvu vést ke zvýšeným hodnotám srdečních troponinů v séru u pacientů, kteří trpí CHSL nebo dědičnými kostními myopatiemi? Kromě toho je třeba zmínit několik dalších výzkumných studií, jejichž výsledky jsou v rozporu s popsányi údaji o extrakardiální expresi. Například G. Bodor a spol. provedli studii a došli k závěru, že srdeční troponiny nejsou exprimovány ve tkáni kosterního svalstva u pacientů trpících Duchenneovou svalovou dystrofií a polymyozitidou.⁶⁰ Ani jiné výzkumné skupiny pod vedením A. Hammerera-Lerchera a J. Schmida nenalezly žádné známky exprese srdečních troponinů v kosterním svalstvu.^{61,62}

Druhým potenciálním nekardiálním zdrojem uvolňování srdečních troponinů jsou stěny velkých žil (kaválních a plicních). Některé studie (provedené D. Rusakovem

Tabulka 2 – Mechanismy uvolňování srdečních troponinů

Mechanismus	Diagnostický význam
Nekróza buněk myokardu	Základní prokázaný mechanismus, který stojí za zvýšením srdečních troponinů u AIM. Nekróza kardiomyocytů bude mít za následek uvolnění všech molekul (biomarkerů) z buňky do krevního řečiště.
Uvolňování srdečních troponinů jako důsledek procesů regenerace a obnovy buněk myokardu	Obnova buněk myokardu, ke které postupně dochází v průběhu celého života, může hypoteticky souviset s normálními (méně než horní hranice 99. percentilu) koncentracemi srdečních troponinů v krevním řečišti
Uvolňování srdečních troponinů v důsledku apoptózy buněk myokardu	Bylo dokázáno, že apoptóza kardiomyocytů (bez známek nekrózy) je doprovázena zvýšením koncentrace srdečních troponinů v séru. Jakékoli fyziologické (fyzická zátěž, vyšší věk) a patologické (srdeční selhání, arteriální hypertenze, chronická obstrukční plicní nemoc atd.) stavy, které zvyšují apoptózu, mohou být tedy doprovázeny uvolňováním srdečních troponinů z kardiomyocytů a zvýšením koncentrací v séru.
Uvolňování srdečních troponinů v důsledku tvorby membránových váčků na povrchu buněk myokardu	Membránové váčky (blebbing vesicles), které se vytvářejí na povrchu plazmatické membrány kardiomyocytů, mohou hypoteticky obsahovat cytoplazmatické proteiny včetně srdečních troponinů. Počet membránových váčků se zvyšuje s ischemií buněk myokardu a může být spojen s uvolňováním srdečních troponinů do krevního řečiště.
Nitrobuněčná proteolytická degradace molekul srdečních troponinů na malé fragmenty a jejich uvolňování přes intaktní membránu buněk myokardu	Molekuly srdečních troponinů mohou být fragmentovány/destruovány některými proteolytickými enzymy: calpainem, trombinem, matrixovými metaloproteinázami. V důsledku působení těchto enzymů mohou tvořit malé fragmenty molekul troponinů, které mají díky své velikosti vyšší pravděpodobnost uvolnění z buňky. Tento mechanismus může mít důležitý klinický význam: tedy všechny ty fyziologické a patologické stavy a/nebo léky, které ovlivňují aktivitu těchto proteolytických enzymů, mohou mít také vliv na uvolňování srdečních troponinů a jejich koncentraci v krevním řečišti.
Uvolňování srdečních troponinů v důsledku zvýšené membránové propustnosti buněk myokardu	Zvýšené uvolňování molekul srdečních troponinů do krevního řečiště je pozorováno při zvýšení membránové propustnosti buněk myokardu, což je typické pro ischemii myokardu, zvýšené předpětí a roztažení srdeční stěny.
Uvolňování srdečních troponinů z extrakardiálních buněk	Protichůdný mechanismus zvýšení hodnoty srdečních troponinů v oběhu. Byly publikovány studie, které potvrzují expresi srdečních troponinů ve tkáni kosterního svalstva u pacientů s chronickým selháním ledvin a následnými kostními myopatiemi a existují studie, které tuto hypotézu vyvracejí.

a spol.) uvádějí pouze přítomnost exprese srdečních troponinů ve stěnách těchto žil, ale nepopisují možnou roli těchto troponinů v diagnostice.⁵⁹ Hypoteticky lze předpokládat, že poškození nebo roztažení stěn těchto velkých žil může vést k uvolnění molekul srdečních troponinů do krevního řečiště.

Vzhledem k přítomnosti neznámých a protichůdných údajů o extrakardiální expresi jsou tedy nutné další studie pro validaci tohoto mechanismu.

Popsané mechanismy uvolňování srdečních troponinů a jejich diagnostický význam jsou shrnuty v tabulce 2.

Závěr

Kromě základního a v současnosti ověřeného mechanismu uvolňování srdečních troponinů v důsledku nekrózy buněk při akutním infarktu myokardu tedy existuje šest dalších potenciálně možných mechanismů uvolňování molekul troponinu do krevního řečiště (tabulka 2). Tyto mechanismy mohou způsobovat zvýšení koncentrací srdečních troponinů v séru u pacientů trpících různými patologiemi, které negativně ovlivňují buňky myokardu. V reálné klinické praxi tak zvýšené hodnoty troponinů často nejsou spojeny s ischemickou nekrózou myokardu u AIM a někdy je interpretovat pozitivní výsledky extrémně obtížné. Kromě toho byly pomocí vysoce citlivých detekčních metod molekuly troponinů detekovány i u absolutně zdravých lidí, což jasně svědčí o existenci normálních mechanismů uvolňování molekul srdečních troponinů do krevního oběhu a dává možnost je považovat za produkty normálního metabolismu srdeční svalové tkáně. Jsou zapotřebí další experimentální a fundamentální studie, které pomohou verifikovat a ověřit mechanismy uvolňování molekul srdečních troponinů z myokardu do krevního řečiště. Pochopení těchto mechanismů uvolňování srdečních troponinů umožní zlepšit diagnostiku a diferenciální diagnostiku AIM, jakož i rozšířit diagnostické možnosti metod stanovení srdečních troponinů.

Prohlášení autora o možném střetu zájmů

Autor vylučuje střet zájmů.

Financování

Vznik článku nebyl finančně podpořen žádným soukromým ani akademickým subjektem.

Literatura

- Ohtsuki I. Troponin: structure, function and dysfunction. *Adv Exp Med Biol* 2007;592:21–36.
- Chaulin AM, Duplyakov DV. Cardiac troponins: current data on the diagnostic value and analytical characteristics of new determination methods. *Cor Vasa* 2021;63:486–493.
- Jakubo V, Ondruš T, Beňovská M, et al. Overview and application of validated algorithms using high-sensitivity cardiac troponin assays for early diagnosis of acute myocardial infarction. *Cor Vasa* 2021;63:703–709.
- Chaulin A. Clinical and Diagnostic Value of Highly Sensitive Cardiac Troponins in Arterial Hypertension. *Vasc Health Risk Manag* 2021;17:431–443.
- Chaulin AM. Elevation Mechanisms and Diagnostic Consideration of Cardiac Troponins under Conditions Not Associated with Myocardial Infarction. Part 1. *Life (Basel)* 2021;11:914.
- Chaulin AM. Elevation Mechanisms and Diagnostic Consideration of Cardiac Troponins under Conditions Not Associated with Myocardial Infarction. Part 2. *Life (Basel)* 2021;11:1175.
- Thygesen K, Alpert JS, Jaffe AS, et al; Executive Group on behalf of the Joint European Society of Cardiology (ESC)/American College of Cardiology (ACC)/American Heart Association (AHA)/World Heart Federation (WHF) Task Force for the Universal Definition of Myocardial Infarction. Fourth Universal Definition of Myocardial Infarction (2018). *Glob Heart* 2018;13:305–338.
- Wu W, Li DX, Wang Q, et al. Relationship between high-sensitivity cardiac troponin T and the prognosis of elderly inpatients with non-acute coronary syndromes. *Clin Interv Aging* 2018;13:1091–1098.
- Lindner G, Pfortmueller CA, Braun CT, Exadaktylos AK. Non-acute myocardial infarction-related causes of elevated high-sensitivity troponin T in the emergency room: a cross-sectional analysis. *Intern Emerg Med* 2014;9:335–339.
- Collet JP, Thiele H, Barbato E, et al.; ESC Scientific Document Group. 2020 ESC Guidelines for the management of acute coronary syndromes in patients presenting without persistent ST-segment elevation. *Eur Heart J* 2021;42:1289–1367.
- Chaulin AM, Abashina OE, Duplyakov DV. High-sensitivity cardiac troponins: detection and central analytical characteristics. *Cardiovascular Therapy and Prevention* 2021;20:2590. (In Russian)
- Ziebig R, Lun A, Hoher B, et al. Renal elimination of troponin T and troponin I. *Clin Chem* 2003;49:1191–1193.
- Chen JY, Lee SY, Li YH, et al. Urine High-Sensitivity Troponin I Predict Incident Cardiovascular Events in Patients with Diabetes Mellitus. *J Clin Med* 2020;9:3917.
- Chaulin AM, Karslyan LS, Grigorieva EV, et al. Clinical and Diagnostic Value of Cardiac Markers in Human Biological Fluids. *Kardiologiya* 2019;59:66–75. (In Russian)
- Chaulin AM, Duplyakova PD, Bikbaeva GR, et al. Concentration of high-sensitivity cardiac troponin I in the oral fluid in patients with acute myocardial infarction: a pilot study. *Russian Journal of Cardiology* 2020;25:3814.
- Monneret D, Gellerstedt M, Bonnefont-Rousselot D. Determination of age- and sex-specific 99th percentiles for high-sensitive troponin T from patients: an analytical imprecision- and partitioning-based approach. *Clin Chem Lab Med* 2018;56:818–829.
- Chaulin AM. Main analytical characteristics of laboratory methods for the determination of cardiac troponins: a review from the historical and modern points of view. *Orv Hetil* 2022;163:12–20.
- Chaulin AM, Duplyakov DV. High-sensitivity cardiac troponins: circadian rhythms. *Cardiovascular Therapy and Prevention* 2021;20:2639. (In Russian)
- Chaulin AM, Duplyakova PD, Duplyakov DV. Circadian rhythms of cardiac troponins: mechanisms and clinical significance. *Russian Journal of Cardiology* 2020;25(35):4061.
- Liao XD, Wang XH, Jin HJ, et al. Mechanical stretch induces mitochondria-dependent apoptosis in neonatal rat cardiomyocytes and G2/M accumulation in cardiac fibroblasts. *Cell Res* 2004;14:16–26.
- Felker GM, Fudim M. Unraveling the Mystery of Troponin Elevation in Heart Failure. *J Am Coll Cardiol* 2018;71:2917–2918.
- Communal C, Colucci WS. The control of cardiomyocyte apoptosis via the beta-adrenergic signaling pathways. *Arch Mal Coeur Vaiss* 2005;98:236–241.
- Chen QM, Tu VC. Apoptosis and heart failure: mechanisms and therapeutic implications. *Am J Cardiovasc Drugs* 2002;2:43–57.
- Ricchiuti V, Apple FS. RNA expression of cardiac troponin T isoforms in diseased human skeletal muscle. *Clin Chem* 1999;45:2129–2135.
- Bergmann O, Bhardwaj RD, Bernard S, et al. Evidence for cardiomyocyte renewal in humans. *Science* 2009;324:98–102.
- Derks W, Bergmann O. Polyploidy in Cardiomyocytes: Roadblock to Heart Regeneration? *Circ Res* 2020;126:552–565.

27. White HD. Pathobiology of troponin elevations: do elevations occur with myocardial ischemia as well as necrosis? *J Am Coll Cardiol* 2011;57:2406–2408.
28. Docshin PM, Karpov AA, Eyvazova SD, et al. Activation of Cardiac Stem Cells in Myocardial Infarction. *Tsitologiya* 2018;60:81–88. (In Russian)
29. Waring CD, Vicinanza C, Papalamprou A, et al. The adult heart responds to increased workload with physiologic hypertrophy, cardiac stem cell activation, and new myocyte formation. *Eur Heart J* 2014;35:2722–2731.
30. Rovira M, Borràs DM, Marques IJ, et al. Physiological Responses to Swimming-Induced Exercise in the Adult Zebrafish Regenerating Heart. *Front Physiol* 2018;9:1362.
31. Isomi M, Sadahiro T, Ieda M. Progress and Challenge of Cardiac Regeneration to Treat Heart Failure. *J Cardiol* 2019;73:97–101.
32. Zhang Q, Yu N, Yu BT. MicroRNA-298 regulates apoptosis of cardiomyocytes after myocardial infarction. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 2018;22:532–539.
33. Weil BR, Young RF, Shen X, et al. Brief Myocardial Ischemia Produces Cardiac Troponin I Release and Focal Myocyte Apoptosis in the Absence of Pathological Infarction in Swine. *JACC Basic Transl Sci* 2017;2:105–114.
34. Cheng W, Li B, Kajstura J, et al. Stretch-induced programmed myocyte cell death. *J Clin Invest* 1995;96:2247–2259.
35. Weil BR, Suzuki G, Young RF, et al. Troponin Release and Reversible Left Ventricular Dysfunction After Transient Pressure Overload. *J Am Coll Cardiol* 2018;71:2906–2916.
36. El-Menyar A, Sathian B, Al-Thani H. Elevated serum cardiac troponin and mortality in acute pulmonary embolism: Systematic review and meta-analysis. *Respir Med* 2019;157:26–35.
37. Daquarti G, March Vecchio N, Mitrione CS, et al. High-sensitivity troponin and right ventricular function in acute pulmonary embolism. *Am J Emerg Med* 2016;34:1579–1582.
38. Stone IS, Petersen SE, Barnes NC. Raised troponin in COPD: clinical implications and possible mechanisms. *Heart* 2013;99:71–72.
39. Stavroulakis GA, George KP. Exercise-induced release of troponin. *Clin Cardiol* 2020;43:872–881.
40. Singh K, Communal C, Sawyer DB, Colucci WS. Adrenergic regulation of myocardial apoptosis. *Cardiovasc Res* 2000;45:713–719.
41. Xiao RP, Tomhave ED, Wang DJ, et al. Age-associated reductions in cardiac beta1- and beta2-adrenergic responses without changes in inhibitory G proteins or receptor kinases. *J Clin Invest* 1998;101:1273–1282.
42. de Lucia C, Eguchi A, Koch WJ. New Insights in Cardiac β -Adrenergic Signaling During Heart Failure and Aging. *Front Pharmacol* 2018;9:904.
43. Hickman PE, Abhayaratna WP, Potter JM, Koerbin G. Age-related differences in hs-cTnI concentration in healthy adults. *Clin Biochem* 2019;69:26–29.
44. Kuster N, Monnier K, Baptista G, et al. Estimation of age- and comorbidities-adjusted percentiles of high-sensitivity cardiac troponin T levels in the elderly. *Clin Chem Lab Med* 2015;53:691–698.
45. Schwartz P, Piper HM, Spahr R, Spieckermann PG. Ultrastructure of cultured adult myocardial cells during anoxia and reoxygenation. *Am J Pathol* 1984;115:349–361.
46. Siegmund B, Koop A, Klietz T, et al. Sarcolemmal integrity and metabolic competence of cardiomyocytes under anoxia-reoxygenation. *Am J Physiol* 1990;258(2 Pt 2):H285–H291.
47. Sheyin O, Davies O, Duan W, Perez X. The prognostic significance of troponin elevation in patients with sepsis: a meta-analysis. *Heart Lung* 2015;44:75–81.
48. Chen Y, Tao Y, Zhang L, et al. Diagnostic and prognostic value of biomarkers in acute myocardial infarction. *Postgrad Med J* 2019;95:210–216.
49. Feng J, Schaus BJ, Fallavollita JA, et al. Preload induces troponin I degradation independently of myocardial ischemia. *Circulation*. 2001;103:2035–2037.
50. Lin NN, Cheng CC, Lee YF, et al. Early activation of myocardial matrix metalloproteinases and degradation of cardiac troponin I after experimental subarachnoid hemorrhage. *J Surg Res* 2013;179:e41–e48.
51. Katrukha IA, Kogan AE, Vylegzhanina AV, et al. Thrombin-Mediated Degradation of Human Cardiac Troponin T. *Clin Chem* 2017;63:1094–1100.
52. Ito K, Hongo K, Date T, et al. Tissue thrombin is associated with the pathogenesis of dilated cardiomyopathy. *Int J Cardiol* 2017;228:821–827.
53. Hessel MH, Atsma DE, van der Valk EJ, et al. Release of cardiac troponin I from viable cardiomyocytes is mediated by integrin stimulation. *Pflugers Arch* 2008;455:979–986.
54. Ross RS, Borg TK. Integrins and the myocardium. *Circ Res* 2001;88:1112–1119.
55. Khabbaz KR, Feng J, Boodhwani M, et al. Nonischemic myocardial acidosis adversely affects microvascular and myocardial function and triggers apoptosis during cardioplegia. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2008;135:139–146.
56. Thatte HS, Rhee JH, Zagarins SE, et al. Acidosis-induced apoptosis in human and porcine heart. *Ann Thorac Surg* 2004;77:1376–1383.
57. Bakay M, Zhao P, Chen J, Hoffman EP. A web-accessible complete transcriptome of normal human and DMD muscle. *Neuromuscul Disord* 2002;12(Suppl 1):S125–S141.
58. Messner B, Baum H, Fischer P, et al. Expression of messenger RNA of the cardiac isoforms of troponin T and I in myopathic skeletal muscle. *Am J Clin Pathol* 2000;114:544–549.
59. Rusakov DY, Yamshchikov NV, Tulayeva ON, et al. Histogenesis and peculiarities of structural organization of the cardiac muscle tissue on the walls of human caval and pulmonary veins. *Morphology* 2015;148:38–42. (In Russian)
60. Bodor GS, Porterfield D, Voss EM, et al. Cardiac troponin-I is not expressed in fetal and healthy or diseased adult human skeletal muscle tissue. *Clin Chem* 1995;41(12 Pt 1):1710–1715.
61. Hammerer-Lercher A, Erlacher P, Bittner R, et al. Clinical and experimental results on cardiac troponin expression in Duchenne muscular dystrophy. *Clin Chem* 2001;47:451–458.
62. Schmid J, Liesinger L, Birner-Gruenberger R, et al. Elevated Cardiac Troponin T in Patients With Skeletal Myopathies. *J Am Coll Cardiol* 2018;71:1540–1549.