

可溶性 ST2 在心力衰竭诊断和预后中的价值*

湖北医药学院附属人民医院(十堰市人民医院) 张婉越 谭利国 朱郢鹤 王家宁*, 十堰 442000

关键词 可溶性基质裂解素-2; 白介素 1 受体; 白介素 33; 心力衰竭

中图分类号 R541.6 **文献标识码** A **DOI** 10.11768/nkjwzzzz20200620

心力衰竭(heart failure, HF)是由于心脏结构、功能异常导致心脏泵衰竭的一种临床综合征,它是各种心脏疾病的严重表现或晚期阶段^[1]。随着我国人口老龄化加剧, HF 的患病率、再住院率及病死率一直居高不下,5 年病死率达半数以上^[2]。HF 治疗重在预防。目前广泛用于 HF 诊断和预后的生物标志物有 B 型脑钠肽(B-type natriuretic peptide, BNP)和 N 末端 B 型脑钠肽前体(N-terminal pro-brain natriuretic peptide, NT-proBNP),但其易受年龄、性别、肾功能及脑啡肽酶抑制剂类新型抗心力衰竭药物等的影响,且敏感性不高。可溶性基质裂解素-2(soluble suppression of tumorigenicity 2, sST2)是近年来发现的一种新型生物标志物,它受传统临床因素影响小,且与心肌纤维化、心室重塑密切相关,多项研究表明其有利于 HF 的诊断、预后及危险分层等,现将其生物学、发展过程、检测方法及与 HF 的相关性综述如下。

可溶性基质裂解素-2

生物学 ST2 是白细胞介素(IL)-1 受体家族成员,它的基因位于人 2q12 染色体上且以 4 种亚型表达,其中 2 种亚型与心血管疾病密切相关,包括跨膜型 ST2(ST2 ligand, ST2L)和可溶性 ST2(sST2)^[3]。转录后同一 mRNA 的选择性剪接和加工可能是产生 sST2 和 ST2L 的原因。IL33 是 ST2 的配体,研究发现,IL33/ST2L 信号通路具有很好的心脏保护作用,可以防止心肌细胞肥大及减轻间质纤维化^[4]。当心肌受到应激或机械牵拉时,大量的 sST2 被分泌且竞争性的与 IL33 结合阻断 IL33/ST2L 信号通路,因此 sST2 也被看作是一种“诱骗受体”。循环中 sST2 的来源目前仍存在争论,虽然在应激心肌细胞中发现 sST2 的信使核糖核酸表达,但一些研究者提

出,sST2 来源于心脏外^[5~10]。Bartunek 等^[5]首先提出非心肌产生 sST2 蛋白,Demyanets 等^[6]也提出内皮细胞是 sST2 的主要来源。关于冠状静脉窦采样的侵入性研究并没有发现跨心脏浓度的 sST2^[7~9]。Pascual-Figal 等^[10]发现肺是 HF 患者 sST2 心脏外的重要来源之一,认为肺泡上皮细胞是心脏疾病中产生 sST2 的来源。目前循环 sST2 的来源尚未有明确的定论,仍需要进一步研究。

发现过程 1989 年首次发现 ST2 是一种孤儿受体^[11],早期研究显示 ST2 是炎症过程中涉及肥大细胞和 2 型 CD41 T 辅助细胞的重要介质。随后研究人员发现 ST2 与各种炎症性疾病相关,包括哮喘、肺纤维化、类风湿性关节炎、胶原血管疾病和脓毒性休克^[12~16]。2002 年,Weinberg 等^[17]通过体外模型鉴定了机械应激心肌细胞 sST2 和 ST2L 的表达。2009 年,Seki 等^[18]发现,与野生型小鼠相比,敲除 ST2 的小鼠在主动脉束带引起的 4 周压力过载后,心肌细胞肥大和纤维化程度更高,进一步说明 IL33/ST2 信号通路在体内可以保护心脏免受不良重构的影响。近年来,大量的临床研究证实了循环中 sST2 浓度的升高与 HF、急性心肌梗死、心脏结构异常等疾病的病死率增高密切相关。sST2 已成为炎症、纤维化、心脏应激和重构的标志物。2013 年美国 ACCF/AHA 心力衰竭指南推荐^[19]:sST2 作为心肌纤维化标志物,不仅可预测 HF 患者的再入院和病死率,还可在 BNP 的基础上提供额外的预后信息。2014 年中国心力衰竭指南推荐^[20]:sST2 在急、慢性 HF 的危险分层中可提供额外的信息。2017 年中国急性心力衰竭急诊临床实践指南推荐^[21]:sST2 对急性 HF 的诊断和预后评估亦具有价值。

检测方法

早期评估 sST2 的研究使用的酶联免疫吸附试验(enzyme linked immunosorbent assay, ELISA)并不精确,虽然在研究中提供了有用的预后信息,但由于健康受试者对 sST2 浓度的敏感性较低,且分析精度

*基金项目:国家自然科学基金项目(No:81270221);十堰市科学技术研究与开发项目计划(No:18Y70)

*通信作者:王家宁, E-mail: rywjn@vip. 163. com

较差,变异系数较高,导致这种测定方法受限。后来研究者开发了一种用于 sST2 的高灵敏度 ELISA (Presage[®] ST2) 检测方法,即使在非常低的分析物浓度下,也有较高的分析精度(变异系数 <5%)^[22],这是唯一一种用于临床的检测方法。

有研究者以社区为基础对社区内无结构性心脏病患者进行了 sST2 的测量,结果发现用高灵敏度 ELISA 方法测量的 sST2 的预期/正常值在男性中普遍较高,并且与年龄、糖尿病和高血压直接相关^[23]。该实验的最高参考限为 35 ng/mL,95% 的健康受试者低于这个阈值。高灵敏度 ELISA 检测 sST2 已被欧洲和美国的监管机构批准用于 HF 的预测。

虽然高灵敏度 ELISA 提供了可靠的 sST2 测定方法,但它耗时较长,依然缺乏一种更快速的 sST2 测定方法。目前,快速定量的侧流式免疫分析法已被开发,用于测定人血清中 sST2 蛋白的含量,可用于现场检测。虽然定量三明治单克隆免疫层析试验 (Aspect-PLUS ST2) 测试已经获得欧洲监管部门的批准,但它还没有获得美国食品和药品管理局的批准^[24]。

ST2 对心力衰竭的诊断价值

早期在一项急诊科关于呼吸困难的 BNP 研究中评估了 sST2 在急诊科以呼吸困难就诊的潜在应用价值^[25]。该研究对 593 例急性和非急性 HF 的呼吸困难患者进行 sST2 测定,诊断为急性 HF 的呼吸困难患者的 sST2 浓度明显高于非急性 HF 患者,低于 NT-pro BNP 对急性 HF 的诊断。而 Mueller 等^[26]的研究表明,与 BNP 相比,sST2 无助于诊断急性 HF。Jin 等^[27]纳入了 197 例根据其心室功能确诊为慢性 HF 的患者,将其按心室功能分为 II、III、IV 组,并纳入了 106 例健康人作为对照组,分别对 sST2 及 NT-proBNP 血清浓度进行测量,结果发现与对照组比较,实验组 II、III、IV 组血清 sST2 和 NT-proBNP 浓度显著增加,并呈现一定的浓度依赖性。该研究认为血清 sST2 和 NT-proBNP 可作为慢性 HF 的诊断指标。蒋凯林等^[28]就 sST2 对 HF 的诊断价值进行了 Meta 分析,发现 sST2 对 HF 有中等程度的诊断价值。Coronado 等^[29]发现血清 sST2 水平升高与年龄 ≤50 岁的心肌炎患者发生 HF 的风险增加相关。另有研究发现,sST2 的血清浓度与心脏手术围手术期右心室衰竭的诊断也有一定的临床意义^[30]。尽管目前关于 sST2 对 HF 诊断价值的研究很多,但 sST2 的升高还会受到炎症、免疫反应性疾病等的影

响^[31],本文仍需要更多样本、科学的随机对照等对其诊断价值进行进一步探究。

ST2 对心力衰竭的预后价值

近年来大量研究证实了 sST2 在 HF 预后方面的价值。Bahuleyan 等^[32]对 141 例射血分数降低的心力衰竭 (HFrEF) 患者进行了随访,发现其血清 sST2 浓度的升高与心脏死亡和心力衰竭恶化的再住院显著相关。Najjar 等^[33]对射血分数保留的心力衰竭 (HFpEF) 和 HFrEF 患者预后进行了研究,发现 HFpEF 患者血清 sST2 浓度的临界水平更低,可能与预后有更强的相关性,可能反应进行性纤维化,对预后更为重要,因此 sST2 对 HFpEF 具有更大的提示干预价值。Dalal 等^[34]对 150 例 HF 患者进行了 2 年的随访,发现最初住院时 sST2 > 35 ng/mL 的患者有显著的高病死率,提示单次 sST2 值的升高即预示不良后果,这有助于及时强化 HF 治疗。Huang 等^[35]将 HF 患者按照 HFrEF、射血分数中间值 (HFmrEF) 和 HFpEF 进行分组,发现 sST2 可预测 HFmrEF 患者发生不良事件而 NT-proBNP 却不能,提示 sST2 在 HFmrEF 的预后方面优于 NT-proBNP。

研究发现,对心力衰竭患者血清 sST2 浓度进行动态观察能够提供更多的预后信息,且对 HF 风险分层有一定的帮助。有学者对 496 例 HF 患者进行了 1 年的随访^[36],检测不同时间段 sST2 和 NT-proBNP 水平,结果发现 sST2 浓度连续上升与死亡及再入院等不良事件显著相关,且在不良事件发生前几周就会出现升高,提示动态观察 sST2 对 HF 患者预后更有价值,对临床预测和有针对性的提前给予干预有一定的价值。Skali 等^[37]对 sST2 与轻度有症状性 HF 患者的心律失常、HF 或死亡的风险预后进行了研究,该研究纳入了 684 例参与多中心自动除颤器植入试验 (MADIT)-CRT 的患者,在入院时基线水平和 1 年中不同时间段对 sST2 水平进行了动态观察。在多变量调整的模型中,基线 sST2 升高与死亡、死亡或 HF、死亡或室性心律失常的风险增加有关。此外,基线 sST2 水平较低的患者 CRT-D 的风险更低,动态观察显示 sST2 每增加 10%,导致室性心律失常风险及死亡增加,提示在有轻度 HF 症状并符合 CRT-D 的患者中,基线和动态观察 sST2 可能为 HF 风险分层提供重要信息^[37],有助于 HF 的优化治疗。

此外,sST2 在 HF 的药物干预方面亦可起到指导性的作用。Gaggin 等^[38]通过观察不同水平

sST2 的慢性 HF 患者给予不同剂量的 β -受体阻滞剂治疗后 sST2 水平的变化,发现慢性 HF 患者可能受益于更大的 β -受体阻滞剂剂量。在缬沙坦 HF 试验中,血管紧张素转换酶抑制剂和 β -受体阻滞剂均与较低的 sST2 浓度相关,而地高辛和利尿剂与较高的 sST2 浓度相关,随访中安慰剂组患者的 sST2 值有显著的上升趋势(每年增加 4ng/mL),但缬沙坦治疗后将这一增加趋势降低到 0.8 ng/mL^[39]。O'Meara 等^[40]发现与依那普利相比,沙库巴曲缬沙坦更能有效降低 sST2 水平。杨峰等^[41]发现左西孟旦能显著降低接受血运重建治疗后急性心肌梗死合并心力衰竭患者血清 sST2 水平,并改善患者心功能。这些研究都进一步证实了 sST2 在 HF 治疗中的指导作用,有利于 HF 患者的后期管理及治疗方案的优化。

ST2 与其他心力衰竭标志物的比较及联合应用

Bayes-Genis 等^[42]对反映心肌纤维化的生物标志物 sST2 和半乳糖凝集素 3 (Gal-3) 进行了关于慢性 HF 患者长期风险分层方面的比较,研究纳入了 11 项危险因素,添加了 NT-ProBNP,对 876 例 HF 患者进行了 5 年的随访,终点为 5 年全因死亡率和心血管病死亡率,以及综合全因死亡/HF 住院,结果显示 sST2 在风险分层方面优于 Gal-3。在多变量分析中,只有 sST2 与心血管病死亡率独立相关。Demissei 等^[43]对 7 个循环生物标志物 NT-proBNP、高敏心肌钙蛋白 T (hs-cTnT)、sST2、生长分化因子 15 (GDF-15)、半胱氨酸-C、Gal-3、和高敏 C 反应蛋白 (hs-CRP) 对急性 HF 的预后价值进行了评估,发现预后获益最大的是 NT-proBNP、hs-cTnT、GDF-15、sST2 的联合应用。Fernando 等^[44]对 BNP 和 sST2 在不同射血分数的急性 HF 患者的预后价值方面进行了前瞻性的研究,他们测量了 195 例急性 HF 患者的 sST2 和 BNP,并随访了 6 个月,发现在 HF_rEF 患者中,其中一种生物标志物的升高使终点风险增加了 4 倍,2 种生物标志物均升高使终点风险增加了 7 倍,而在 HF_pEF 患者中,其中一种标志物升高与终点风险无明显相关性,2 种生物标志物升高使终点风险均增加了 5 倍。说明 2 个指标的联合应用可为急性 HF 患者提供更多预后信息,尤其是射血分数保留的 HF。

结 语

sST2 是一种可用于 HF 诊断、预后和指导治疗

的生物标志物,具有良好的稳定性且受临床影响因素较小,可在 NT-proBNP 的基础上提供额外的预后价值。sST2 血清浓度与 HF 患者严重程度显著相关,对 HF 患者病死率、再住院率及相关不良心血管事件发生率均有较好预测价值,并且有利于 HF 患者的危险分层。此外,sST2 的动态观察有助于判断患者的病情变化,在一定程度上可以反应药物的治疗效果,优化患者的药物治疗,并能对 HF 患者提前进行治疗上的干预以改善预后。但其特异性不高,易受炎症、免疫相关疾病等因素的影响,这需要临床医师加以鉴别。未来的研究可以关注 sST2 检测的时间和频率,进一步探索其在临床决策中的应用价值。

参 考 文 献

- 1 中华医学会心血管病学分会心力衰竭学组,中国医师协会心力衰竭专业委员会,中华心血管病杂志编辑委员会. 中国心力衰竭诊断和治疗指南 2018 [J]. 中华心力衰竭和心肌病杂志,2018,46(10):760-789.
- 2 马里兰,杨瑛,陈章荣,等. 中国西南地区心力衰竭发病情况回顾性研究分析 [J]. 中国全科医学,2019,22(14):49-54.
- 3 Iwahana H, Yanagisawa K, Ito-Kosaka A, et al. Different promoter usage and multiple transcription initiation sites of the interleukin-1 receptor-related human ST2 gene in UT-7 and TM12 cells [J]. FEBS J, 2010,264(2):397-406.
- 4 Sanada S, Hakuno D, Higgins LJ, et al. IL-33 and ST2 comprise a critical biomechanically induced and cardioprotective signaling system [J]. J Clin Invest, 2007,117(6):1538-1549.
- 5 Bartunek J, Delrue L, Van Durme F, et al. Nonmyocardial Production of ST2 Protein in Human Hypertrophy and Failure Is Related to Diastolic Load [J]. J Am Coll Cardiol, 2008,52(25):2166-2174.
- 6 Demyanets S, Kaun C, Pentz R, et al. Components of the interleukin-33/ST2 system are differentially expressed and regulated in human cardiac cells and in cells of the cardiac vasculature [J]. J Mol Cell Cardiol, 2013,60(100):16-26.
- 7 Jozef B, Leen D, Frederik VD, et al. Nonmyocardial Production of ST2 Protein in Human Hypertrophy and Failure Is Related to Diastolic Load [J]. J Mol Cell Cardiol, 2008,52(25):2166-2174.
- 8 Pérez-Martínez MT, Javier LR, García de Lara J, et al. Noncardiac Production of Soluble ST2 in ST-Segment Elevation Myocardial Infarction [J]. J Mol Cell Cardiol, 2018,72(12):1429-1430.
- 9 Truong QA, Januzzi JL, Szymonifka J, et al. Coronary sinus biomarker sampling compared to peripheral venous blood for predicting outcomes in patients with severe heart failure undergoing cardiac resynchronization therapy: The BIOCRT study [J]. Heart Rhythm, 2014,11(12):2167-2175.
- 10 Pascual-Figal DA, Pérez-Martínez, Maria T, et al. Pulmonary Production of Soluble ST2 in Heart Failure [J]. Circ Heart Fail, 2018,11(12):e005488.
- 11 Tominaga SI. A putative protein of a growth specific cDNA from BALB/c-3T3 cells is highly similar to the extracellular portion of mouse interleukin 1 receptor [J]. Febs Lett, 1989,258(2):301-304.
- 12 Trajkovic V, Sweet MJ, Xu D. T1/ST2—an IL-1 receptor-like mod-

- ulator of immune responses [J]. *Cytokine Growth Factor Rev*, 2004, 15(2-3):87-95.
- 13 Oshikawa K, Kuroiwa K, Tago K. Elevated soluble ST2 protein levels in sera of patients with asthma with an acute exacerbation. [J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2001, 164(2):277-281.
 - 14 Leung BP, Xu D, Culshaw S, et al. A novel therapy of murine collagen-induced arthritis with soluble T1/ST2. [J]. *J Immunol*, 2004, 173(1):145-150.
 - 15 Kuroiwa K, Arai T, Okazaki H, et al. Identification of Human ST2 Protein in the Sera of Patients with Autoimmune Diseases [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2001, 284(5):1104-1108.
 - 16 Brunner M, Krenn C, Roth G, et al. Increased levels of soluble ST2 protein and IgG1 production in patients with sepsis and trauma [J]. *Intens Care Med*, 2004, 30(7):1468-1473.
 - 17 Weinberg EO, Shimpo M, Keulenaer GWD, et al. Expression and Regulation of ST2, an Interleukin-1 Receptor Family Member, in Cardiomyocytes and Myocardial Infarction [J]. *Circulation*, 2003, 106(23):2961-2966.
 - 18 Seki K, Sanada S, Kudina AY, et al. Interleukin-33 Prevents Apoptosis and Improves Survival After Experimental Myocardial Infarction Through ST2 Signaling [J]. *Circ Heart Fail*, 2009, 2(6):684-691.
 - 19 Yancy CW, Jessup M, Bozkurt B, et al. 2013 ACCF/AHA guideline for the management of heart failure: a report of the American College of Cardiology Foundation/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines [J]. *Circulation*, 2013, 127(5):E675-E686.
 - 20 中华医学会心血管病学分会, 中华心血管病杂志编辑委员会. 中国心力衰竭诊断和治疗指南 2014 [J]. *中国实用乡村医生杂志*, 2014, 24:3-10.
 - 21 中国医师协会急诊医师分会, 中国心胸血管麻醉学会急救与复苏分会. 中国急性心力衰竭急诊临床实践指南 (2017) [J]. *中华急诊医学杂志*, 2017, 26(12):1347-1357.
 - 22 Dieplinger B, James L, Januzzi Jr, et al. Analytical and clinical evaluation of a novel high-sensitivity assay for measurement of soluble ST2 in human plasma - The Presage? ST2 assay [J]. *Clin Chim Acta*, 2009, 409(1):33-40.
 - 23 Coglianese EE, Larson MG, Vasan RS, et al. Distribution and Clinical Correlates of the Interleukin Receptor Family Member Soluble ST2 in the Framingham Heart Study [J]. *Clin Chem*, 2012, 58(12):1673-1681.
 - 24 McCarthy CP, Januzzi JL. Soluble ST2 in Heart Failure [J]. *Heart Fail Clin*, 2018, 14(1):41-48.
 - 25 Januzzi JL, W Frank P, Maisel AS, et al. Measurement of the interleukin family member ST2 in patients with acute dyspnea: results from the PRIDE (Pro-Brain Natriuretic Peptide Investigation of Dyspnea in the Emergency Department) study [J]. *J Am Coll Cardiol*, 2007, 50(7):607-613.
 - 26 Mueller T, Gegenhuber A, Leitner I, et al. Diagnostic and prognostic accuracy of galectin-3 and soluble ST2 for acute heart failure [J]. *Clin Chim Acta*, 2016, 463:158-164.
 - 27 Jin XL, Huang N, Shang H, et al. Diagnosis of chronic heart failure by the soluble suppression of tumorigenicity 2 and N-terminal pro-brain natriuretic peptide [J]. *J Clin Lab Anal*, 2017, 32(7 Suppl):e22295.
 - 28 蒋凯林, 黄慈辉, 林潼, 等. 可溶性基质裂解素-2 对心力衰竭诊断价值的 Meta 分析 [J]. *中国循环杂志*, 2018, 33(3):241-245.
 - 29 Coronado MJ, Bruno KA, Blauwet LA, et al. Elevated Sera sST2 Is Associated With Heart Failure in Men ≤ 50 Years Old With Myocarditis [J]. *J Am Heart Assoc*, 2019, 8(2):e008968.
 - 30 Jabagi H, Mielniczuk LM, Liu PP, et al. Biomarkers in the Diagnosis, Management, and Prognostication of Perioperative Right Ventricular Failure in Cardiac Surgery-Are We There Yet? [J]. *J Clin Med*, 2019, 8(4):559.
 - 31 Ibrahim N, Januzzi JL. The potential role of natriuretic peptides and other biomarkers in heart failure diagnosis, prognosis and management [J]. *Expert Rev Cardiovasc Ther*, 2015, 13(9):1017-1030.
 - 32 Bahuleyan CG, Alumoottil GK, Abdullakutty J, et al. Prognostic value of soluble ST2 biomarker in heart failure patients with reduced ejection fraction-A multicenter study [J]. *Indian Heart J*, 2018, 70(Suppl 1):S79-S84.
 - 33 Najjar E, Ljung Faxén, Ulrika, et al. ST2 in heart failure with preserved and reduced ejection fraction [J]. *Scand Cardiovasc J*, 2019, 53(1):21-27.
 - 34 Dalal JJ, Digrajkhar A, Das B, et al. ST2 elevation in heart failure-predictive of a high early mortality [J]. *Indian Heart J*, 2018, 70(6):822-827.
 - 35 Huang A, Qi X, Hou W, et al. Prognostic value of sST2 and NT-proBNP at admission in heart failure with preserved, mid-ranged and reduced ejection fraction [J]. *Acta Cardiol*, 2018, 73(1):41-48.
 - 36 Van Vark LC, Lesman-Leege I, Baart SJ, et al. Prognostic Value of Serial ST2 Measurements in Patients With Acute Heart Failure [J]. *J Am Coll Cardiol*, 2017, 70(19):2378-2388.
 - 37 Skali H, Gerwien R, Meyer TE, et al. Soluble ST2 and Risk of Arrhythmias, Heart Failure, or Death in Patients with Mildly Symptomatic Heart Failure: Results from MADIT-CRT [J]. *J Cardiovasc Transl*, 2016, 9(5-6):1-8.
 - 38 Gaggin HK, Motiwala S, Bhardwaj A, et al. Soluble concentrations of the interleukin receptor family member ST2 and β -blocker therapy in chronic heart failure [J]. *Circ Heart Fail*, 2013, 6(6):1206-1213.
 - 39 Anand IS, Rector TS, Kuskowski M, et al. Prognostic value of soluble ST2 in the Valsartan Heart Failure Trial [J]. *Circ Heart Fail*, 2014, 7(3):418-426.
 - 40 O'Meara E, Prescott MF, Claggett B, et al. Independent Prognostic Value of Serum Soluble ST2 Measurements in Patients With Heart Failure and a Reduced Ejection Fraction in the PARADIGM-HF Trial (Prospective Comparison of ARNI With ACEI to Determine Impact on Global Mortality and Morbidity in Heart Failure) [J]. *Circ Heart Fail*, 2018, 11(5):e4446.
 - 41 杨峰, 徐承义. 左心室射血分数对接受血运重建治疗后急性心肌梗死合并心力衰竭患者血清可溶性 ST2 水平的影响 [J]. *内科急危重症杂志*, 2018, 24(6):463-466.
 - 42 Bayes-Genis A, De Antonio M, Vila J, et al. Head-to-head comparison of 2 myocardial fibrosis biomarkers for long-term heart failure risk stratification; ST2 versus galectin-3. [J] *J Am Coll Cardiol*, 2014, 63(2):158-166.
 - 43 Demissei BG, Cotter G, Prescott MF, et al. A multimarker multi-time point-based risk stratification strategy in acute heart failure: Results from the RELAX-AHF trial [J]. *Eur J Heart Fail*, 2017, 19(8):1001-1010.
 - 44 Fernando FE, Patrícia LO, Olga L, et al. Prognostic value of sST2 added to BNP in acute heart failure with preserved or reduced ejection fraction [J]. *Clin Res Cardiol*, 2015, 104(6):491-499.