

Kalcificējošas aortas vārstuļa stenozes biomarķieru – hemerīna un FGF-21 – diagnostiskais novērtējums

*Juris Lūriņš, Alise Visocka¹,
Vitolds Mackēvičs², Pēteris Tretjakovs³*

jl.cardio@gmail.com

Rīgas Stradiņa universitāte, Doktorantūras nodaļa, Latvija

¹ *Rīgas Stradiņa universitāte, Medicīnas fakultāte, Latvija*

² *Rīgas Stradiņa universitāte, Iekšējgo slimību katedra, Latvija*

³ *Rīgas Stradiņa universitāte, Cilvēka fizioloģijas
un bioķīmijas katedra, Latvija*

Kopsavilkums

Ievads. Aortas vārstuļa (AoV) stenozē ir bieži sastopama vārstuļu slimība. Hemerīns ir iekaisumu regulējošs adipokīns. Fibroblastu augšanas faktoram 21 (angļu val. *fibroblast growth factor*, turpmāk tekstā – FGF-21) piemīt kardioprotektīva darbība išēmijas un oksidatīvā stresa gadījumā.

Darba mērķis ir izpētīt hemerīna un FGF-21 potenciālo diagnostisko nozīmi atkarībā no aortas vārstuļa (AoV) stenozes pakāpes.

Materiāls un metodes. Pētījumā tika iekļauti 102 pacienti. Viņi tika iedalīti kontroles grupā (bez AoV stenozes) un pētījuma grupā (ar AoV stenozē). Pacienti ar AoV stenozē tika iedalīti trīs apakšgrupās atbilstīgi ehokardiogrāfijā pierādītai stenozes pakāpei, ņemot vērā maksimālo plūsmas ātrumu ($V_{maks.}$, m/s), vidējo spiediena gradientu ($PG_{vid.}$, mm/Hg) un aortas vārstuļa atveres laukumu (AVA, cm^2). Smagas stenozes kritēriji ir šādi: $V_{maks.} > 4,0$ m/s, $PG_{vid.} > 40$ mm/Hg, AVA $< 1,0$ cm^2 ; vidējas stenozes kritēriji: $V_{maks.}$ 3,0–4,0 m/s, $PG_{vid.}$ 20–40 mm/Hg, AVA 1,0–1,5 cm^2 ; vieglas stenozes kritēriji: $V_{maks.}$ 2,5–2,9 m/s, $PG_{vid.} < 20$ mm/Hg, AVA 1,5–2,0 cm^2 . Tika noteikts hemerīna un FGF-21 līmenis, izmantojot enzīmu imūnsorbcijas testa jeb ELISA metodi.

Rezultāti. Pacientu iedalījums: 49,0% (50) pacientu iekļauti kontroles grupā, 15,7% (16) – pētījuma grupā ar vieglu AoV stenozē, 19,6% (20) ar vidēji smagu un 15,7% (16) ar smagu AoV stenozē. Hemerīna līmenis bija paaugstināts visu AoV stenozes pakāpju pacientiem: vieglas (U = 139,00; $p < 0,001$), vidējas (U = 232,00; $p < 0,001$) un smagas pakāpes (U = 251,5; $p = 0,026$). FGF-21 AoV stenozes pacientiem smagas aortālā vārstuļa stenozes grupā bija augstāks nekā kontroles grupā (U = 201; $p = 0,005$). Hemerīna un FGF-21 ROC līknes rādīja, ka hemerīns ir labs vieglas AoV stenozes diagnostiskais marķieris (LZL = 0,82; $p < 0,001$) ar robežvērtību 43,12 ng/ml. Hemerīna jutīgums vieglas Ao stenozes gadījumā bija 87,50%, specifiskums 69,00%, pozitīvā prediktīvā vērtība (PPV) – 71,93% un negatīvā prediktīvā vērtība (NPV) – 75,54%.

Savukārt FGF-21 ir apmierinošs smagas AoV diagnostiskais marķieris (LZL = 0,74; $p = 0,005$) ar robežvērtību 287,10 pg/ml. FGF-21 jutīgums smagas Ao stenozes gadījumā bija 75,00%, specifiskums 64,00%, PPV 40,00% un NPV 88,89%.

Secinājumi. Hemerīns ir labs vieglas, bet FGF-21 ir apmierinošs smagas AoV stenozes diagnostiskais marķieris.

Atslēgvārdi: biomarķieri, kalcificējoša aortas vārstuļa stenoze, FGF-21, hemerīns.

Ievads

Kalcificējoša AoV stenoze ir bieži sastopama vārstuļu saslimšana attīstītās valstīs (*Akerström*, 2013) un bieža ķirurģiskas vārstuļu implantācijas indikācija ar pieaugošu izplatību (*Passik*, 1987). Tās gadījumā AoV ir izmainītas gan morfoloģiski, gan funkcionāli. Kalcificējošu AoV sklerozi, kam raksturīgas tikai AoV morfoloģiskās izmaiņas, konstatē aptuveni 9 % pacientu vidēji 54 gadu vecumā un līdz pat 42 % pacientu 81 gada vecumā (*Coffey*, 2014). AoV sklerozes pacientiem aptuveni 9 % gadījumu tā progresē piecu gadu laikā līdz AoV stenozei (*Novaro*, 2007). Diemžēl šobrīd pieejamās aortas stenozes progresa novēršanas iespējas ir ierobežotas, tomēr vieglas aortas stenozes diagnostika ir potenciāli svarīga, jo 50 % pacientu ar vieglu vai vidējas pakāpes AoV stenozī tā progresē līdz smagas pakāpes AoV stenozei četru gadu laikā (*Otto*, 2004; *Rosenhek*, 2004). Pēc aortas stenozes klīnisko simptomu – sāpēm aiz krūškaula, sinkopes, sirds mazspējas – parādīšanās, ja vien netiek aizstāts aortas vārstulis, 75 % pacientu mirst triju gadu laikā (*Carabello*, 2008).

Lai atrastu diagnostiskos biomarķierus, svarīgi ir izprast slimības patoģenēzi. Aterosklerozes un aortas vārstuļa stenozes patoģenēzes mehānismi ir līdzīgi (*Bossé*, 2008). Abos gadījumos tiek novērota endotēlija disfunkcija un caurlaidības palielināšanās, oksidētu zema blīvuma lipoproteīnu nogulsēšanās, iekaisuma šūnu infiltrācija un lokāla un sistēmiska iekaisuma aktivēšanās, tomēr aterosklerozes attīstības pēdējais posms ietver aterosklerotiskas plātnītes veidošanos asinsvadu visdziļākajā slānī, bet smagas AoV stenozes gadījumā notiek AoV viru kalcifikācija (*Wypasek*, 2015; *Akerström*, 2013; *Yetkin*, 2009). Iekaisuma mediatori AoV stenozes gadījumā inducē fibroblastu diferenciāciju par miofibroblastiem, kas pārveido ekstracelulāro matrici. Daļa no miofibroblastiem savukārt diferencējas par osteoblastiem līdzīgām šūnām, kas veicina kalcija mezglīņu un kaulaudu veidošanos (*Freeman*, 2005).

Hemerīns ir adipokīns, ligands receptoram CMKLR1 ar makrofāgu un dendrītisko šūnu hemotakses un aktivācijas regulācijas funkciju (*Roh*, 2007; *Cash*, 2008). Tam piemīt parakrīna, endokrīna un autokrīna darbība. Hemerīns galvenokārt tiek ekspresēts baltajos taukaudos un aknās, mazākā daudzumā – sirdī, plaušās u. c. audos (*Rourke*, 2013; *Goralski*, 2007). Pētīta tiek periadventiciāla tauku depoziču loma aterosklerozes patoģenēzē.

Ar aterosklerozi korelējoša hemerīna un CMKLR1 ekspresija konstatēta gludajā muskulatūrā un putu šūnās, bet hemerīna ekspresija – periadventiciālajos taukaudos (*Kostopoulos*, 2014). Paaugstināts hemerīna līmenis serumā tiek asociēts ar iekaisuma marķieriem, piemēram, ar TNF- α , IL-6, hsCRP, metabolā sindroma komponentiem, t. i., ar triglicerīdu (TG) līmeni, KMI . Tāpat hemerīns tiek asociēts ar citām hroniskām iekaisuma slimībām, piemēram, ar čūlaino kolītu (*Weigert*, 2010) un hronisku nieru slimību (*Rutkowski*, 2012). Skaidrs, ka hemerīnam ir nozīme iekaisuma procesā, regulējot makrofāgu darbību, kā arī ateroģenēzē, taču zinātnieki joprojām nav vienprātīgi, vai tā ir proiekaisuma vai pretiekaisuma aktivitāte (*Cash*, 2008; *Ernst*, 2010; *Monnier*, 2012; *Bondue*, 2012). Citu pētījumu rezultāti liek domāt, ka hemerīna līmenim nav pozitīvas korelācijas ar slimības smaguma pakāpi; piemēram, ir pierādīts, ka hemerīns negatīvi korelē ar aknu cirozes smaguma pakāpi (*Eisinger*, 2015).

FGF-21 galvenokārt tiek ekspresēts aknās. Tā ekspresija ir daļa no ligandatkarīga transkripcijas faktora signalizācijas ceļiem (PPAR α), kam ir centrālā loma lipīdu un enerģijas homeostāzes kontrolē (*Badman*, 2007). Tas tiek aktivēts, piemēram, badošanās laikā brīvo taukskābju piesaistes dēļ (*Ge*, 2012). FGF-21 nav heparīnu saistošo receptoru, tāpēc tas var tikt izdalīts asinīs un darboties kā hormons (*Fukumoto*, 2008). Tas darbojas kā svarīgs metabolisma regulators ar pleiotropisku efektu uz glikozes un lipīdu homeostāzi (*Kharitonov*, 2007, 2005), piemēram, modulē ketoģenēzi un lipolīzi taukaudos (*Inagaki*, 2007), glikoneoģenēzi (*Potthoff*, 2009). FGF-21 piemīt arī pretiekaisuma darbība. Tas samazina iekaisuma citokīnu IL-6, IL- β un TNF- α producēšanu serumā un aknās (*Xu*, 2016). Tas ir paaugstināts

pacienti ar koronāro sirds slimību vai karotīdo artēriju aterosklerotiskām pangām, pieļaujot, ka FGF-21 var tikt izmantots kā biomarkieris aterosklerotisku saslimšanu gadījumos (Chow, 2013; Lin Z., 2010; An, 2012). Tāpat FGF-21 līmenis ir paaugstināts pacientiem ar nelabvēlīgu lipīdu profilu, aptaukošanos, metabolisko sindromu, glikozes tolerances traucējumiem, t. s. nealkohola taukaino aknu slimību, hipertensiju (Zhang, 2008; Semba, 2013; Reinehr, 2012). Turklāt FGF-21 ir nozīme saistaudu veidošanās procesā. FGF-21 samazina TGF- β un Nf κ B ekspresiju, kam ir noteicoša loma aknu fibrozes attīstībā (Lawrence, 2009). FGF-21 piemīt arī protektīva darbība dažādu metabolisko un kardiovaskulāro saslimšanu gadījumos. Eksperimentālos pētījumos ir konstatēta diabēta un dislipidēmijas rādītāju uzlabošanās primātiem un pelēm pēc FGF-21 lietošanas (Dostálová, 2009). Attiecībā uz aterosklerozes patoģenēzi ir pierādīts, ka miokarda asinsvadu endotēlija šūnas sekretē FGF-21, atbildot uz oksidētu LDL radītu stresu, un rezultātā samazinās endotēlija šūnu apoptoze (Lü, 2010). Kreisā kambara hipertrofija ir kompensatora atbilde AoV stenozes gadījumā. Pētījumos ar dzīvniekiem novērots, ka FGF-21 ir atgriezenisks efekts uz miokarda hipertrofiju (Planavila, 2013). Tika novērots mazāks FGF-21 pieaugums pacientiem ar aptaukošanos. FGF-21 mākslīga ievadīšana var pasargāt miokardu un atjaunot sirds funkciju pēc miokarda išēmijas (Patel, 2014).

Kopumā FGF-21 līmenis ir palielināts metabolisku traucējumu un kardiovaskulāro saslimšanu gadījumos, un līdz ar procesa smaguma pakāpi pieaug arī FGF-21 produkcija, piemēram, diabētiskas retinopātijas gadījumā (Lin Y., 2014).

Hipotētiski domājams, ka AoV stenozes sākumā prevalē iekaisuma process, līdz ar to hemerīns ir vieglas AoV stenozes marķieris, bet FGF-21 korelē ar AoV stenozes smaguma pakāpi.

Darba mērķis

Darba mērķis ir izpētīt bioķīmisko marķieru – hemerīna un FGF-21 – potenciālo diagnostisko nozīmi atkarībā no AoV stenozes smaguma pakāpes.

Materiāls un metodes

Prospektīvs pētījums tika veikts no 2011. līdz 2016. gadam VSIA “Paula Stradiņa Klīniskā universitātes slimnīca”, SIA “Vidzemes slimnīca”, SIA “Dubultu poliklīnika”, PSIA “Kauguru Veselības centrs” un SIA “Zemgales Veselības centrs” ar Rīgas Stradiņa universitātes Ētikas komitejas atļauju un pacientu rakstisku piekrišanu. 102 pacienti tika mērķtiecīgi atlasīti atbilstīgi iekļaušanas un neiekļaušanas kritērijiem un iedalīti divās pamatgrupās: ar AoV stenozi 51 % (52) un kontroles grupā 49 % (50). No visiem pētījumā iekļautajiem pacientiem 72,5 % (74) bija sievietes un 27,5 % (28) vīrieši. Kontroles grupā tika iekļauti pacienti bez AoV stenozes vecumā no 50 līdz 80 gadiem, kas atbilst AoV stenozes pacientu vidējam vecumam pēc Eiropas Kardiologu biedrības 2012. gada sirds vārstuļu slimību ārstēšanas vadlīnijām (Members, 2012). Kontroles grupā tika iekļauti pacienti, kuriem, veicot ehokardiogrāfiju, tika apstiprināts, ka aortas vārstulis ir vesels. Visiem kontroles grupas pacientiem ehokardiogrāfijas laikā netika konstatētas cita veida sirds patoloģijas. Neiekļaušanas kritēriji abās grupās, ņemot vērā iepriekšējo izmeklējumu datus, bija šādi: sistēmas saistaudu slimības, infekcijas slimības, onkoloģiskas slimības, pārciests miokarda infarkts, smadzeņu infarkts, transitīva išēmiska lēkme, vairogdziedzera disfunkcija un cukura diabēts. Kontroles grupā tika iekļauti pacienti, kuri iepriekš nebija lietojuši statīnu un fibrātu grupas medikamentus un kuriem netika konstatēta dislipidēmija. Pieļaujamā saslimšana kontroles grupā bija šāda: pirmās pakāpes primāra arteriāla hipertensija 56 % (28) un palielināts ķermeņa svars 24 % (12), kas tika aprēķināts pēc ķermeņa masas indeksa.

Visiem pētījumā iekļautajiem pacientiem tika veikta ehokardiogrāfija, un iegūtie dati tika arhivēti, izmantojot iekārtu *GE VIVID 7 Dimension* un *Philips IE 33*. Katru ehokardiogrāfijas izmeklējumu izvērtēja divi speciālisti.

Pacienti ar AoV stenozī tika iedalīti trīs grupās atkarībā no stenozes pakāpes, ņemot vērā maksimālo plūsmas ātrumu $V_{maks.}$ (m/s), vidējo spiediena gradientu $PG_{vid.}$ (mm/Hg) un AoV atveres laukumu AVA (cm^2). Pirmajā grupā iekļāva smagas AoV stenozes pacientus: $V_{maks.} > 4,0$ m/s, $PG_{vid.} > 40$ mm/Hg, AVA $< 1,0$ cm^2 ; otrajā grupā – vidējas AoV stenozes pacientus: $V_{maks.}$ 3,0–4,0 m/s, $PG_{vid.}$ 20–40 mm/Hg, AVA 1,0–1,5 cm^2 ; trešajā grupā – vieglas AoV stenozes pacientus: $V_{maks.}$ 2,5–2,9 m/s, $PG_{vid.} < 20$ mm/Hg, AVA 1,5–2,0 cm^2 .

Pacientu iedalījums AoV stenozes grupā bija šāds: 15,7% (16) ar vieglu aortas stenozī, 19,6% (20) ar vidēji smagu, 15,7% (16) pacientu ar smagu aortas stenozī.

Pētījumā iekļautajiem pacientiem tika izdarīti laboratoriskie izmeklējumi: noteikts hemerīna un FGF-21 līmenis ar ELISA metodi, izmantojot attiecīgi *EZHCMRN-57K* un (*EZHFGF21-19k*) Rīgas Stradiņa universitātes Cilvēka fizioloģijas un bioķīmijas katedras laboratorijā.

Statistiskajai datu apstrādei tika izmantotas programmas *Microsoft Excel* un *IBM SPSS Statistics*. Ticamības koeficients $p < 0,05$ tika uzskatīts par statistiski nozīmīgu. Neparimetriskie dati tika raksturoti ar mediānu un starpkvartīļu intervālu. Divu savstarpēji neatkarīgu, normālsadalījumam neatbilstošu izlašu salīdzināšanai tika izmantots Manna-Vitnija U tests, bet hemerīna un FGF-21 kā AoV stenozes diagnostisko marķieru raksturojumam tika lietoti šādi rādītāji: ROC līknes, laukums zem ROC līknes, no tām iegūtā robežvērtība, testa jutīgums, specifiskums, pozitīvā un negatīvā prediktīvā vērtība, sasniedzot attiecīgās robežvērtības. Testa precizitāte tika novērtēta pēc laukuma zem ROC līknes vērtībām: laba (0,8–0,9), apmierinoša (0,7–0,8) un vāja (0,6–0,7).

Rezultāti

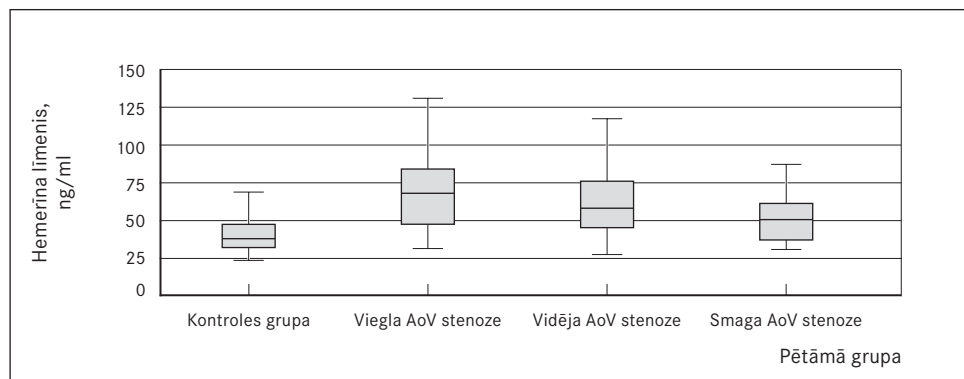
Kopumā hemerīna līmenis pacientiem ar AoV stenozī bija augstāks nekā kontroles grupā (vidējais rangs 58,60 vs. 40,00; $U = 781,50$; $p = 0,002$). Tomēr augstākais hemerīna līmenis tika novērots vieglas AoV stenozes gadījumā, kā arī tika novērota tendence hemerīna līmenim samazināties līdz ar AoV stenozes pakāpes pieaugumu (sk. 1. att.).

Hemerīna līmenis bija statistiski būtiski augstāks, salīdzinot ar kontroles grupu, visās AoV stenozes pakāpēs: vieglas (vidējais rangs 49,81 vs. 28,28; $U = 139,00$; $p < 0,001$), vidējas (vidējais rangs 42,78 vs. 30,53; $U = 232,00$; $p < 0,001$) un smagas (vidējais rangs 40,63 vs. 31,95; $U = 251,50$; $p = 0,026$) stenozes gadījumā.

Kopumā FGF-21 līmenis pacientiem ar AoV stenozī bija augstāks nekā kontroles grupā (vidējais rangs 56,20 vs. 41,10; $U = 822,50$; $p = 0,012$). Tika novērota tendence paaugstināties FGF-21 līmenim līdz ar AoV stenozes smaguma pakāpi (sk. 2. att.).

1. attēls. Hemerīna līmenis asins serumā pacientiem ar AoV stenozī atkarībā no aortas vārstuļa stenozes pakāpes, salīdzinot ar kontroles grupu

Chemerin serum level in patients with AoV stenosis depending on the degree of aortic valve stenosis comparing to control group



Tomēr tikai smagas AoV stenozes grupā FGF-21 līmenis bija statistiski nozīmīgi augstāks nekā kontroles grupā (vidējais rangs 43,94 vs. 28,69; U = 201,00; p = 0,005). Gan vieglas, gan vidēji smagas AoV stenozes grupā FGF-21 līmenis bija statistiski nenozīmīgi augstāks, salīdzinot ar kontroles grupu (attiecīgi vidējais rangs 40,36 vs. 29,88; U = 258,00; p = 0,051 un 40,63 vs. 31,95; U = 357,50; p = 0,099).

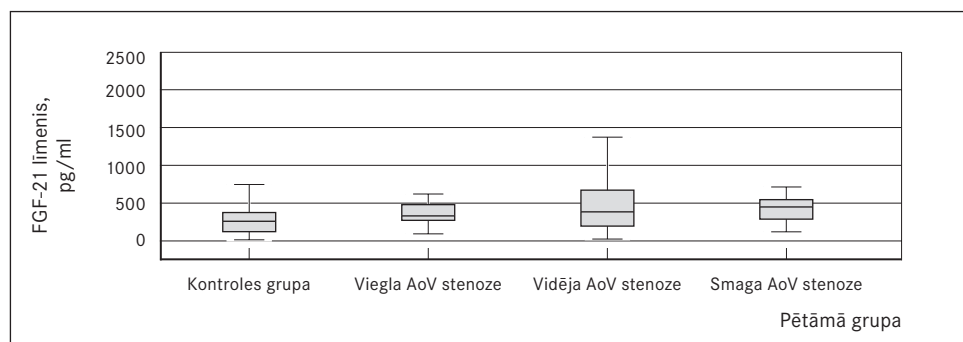
Salīdzinot FGF-21 līmeni AoV stenozes smaguma pakāpju grupās, statistiski būtiskas atšķirības netika novērotas. Vieglas (vidējais rangs 18,25) un vidējas (vidējais rangs 18,70) AoV stenozes grupā FGF-21 līmenis statistiski būtiski neatšķīrās (U = 156,00; p = 0,899). Smagas AoV vārstuļa stenozes grupā FGF-21 bija statistiski nenozīmīgi augstāks (vidējais rangs 19,38) nekā vidējas stenozes grupā (vidējais rangs 17,80; U = 146,00; p = 0,656). Smagas stenozes gadījumā (vidējais rangs 18,00) FGF-21 līmenis bija statistiski nenozīmīgi augstāks nekā vieglas stenozes gadījumā (vidējais rangs 15,00; U = 104,00; p = 0,366).

Tika veikta hemerīna un FGF-21 ROC līkņu analīze. Tika analizēti šādu grupu rādītāji: visu AoV stenozes pakāpju pacientu pret kontrolgrupu; vieglas AoV stenozes pacientu pret kontrolgrupu; smagas AoV stenozes pacientu pret kontrolgrupu (rezultātus sk. 1.-3. tab., līknes sk. 3.-5. att.).

Analizējot ROC līknes, tika konstatēts, ka hemerīns ir vidējs diagnostiskais marķieris visās AoV stenozes grupās (AUC = 0,76; p < 0,001) un labs diagnostiskais marķieris vieglas AoV stenozes grupā (AUC = 0,82; p < 0,001). Savukārt FGF-21 ir vidējs diagnostiskais marķieris smagas AoV stenozes grupā (AUC = 0,74; p = 0,005).

2. attēls. FGF-21 līmenis asins serumā pacientiem ar AoV stenozī atkarībā no aortas vārstuļa stenozes pakāpes, salīdzinot ar kontroles grupu

FGF-21 serum level in patients with AoV stenosis depending on degree of aortic valve stenosis comparing to control group



1. tabula. Hemerīna un FGF-21 diagnostiskais vērtējums visu smaguma pakāpju AoV stenozes pacientiem attiecībā pret kontroles grupu

Diagnostic evaluation of serum chemerin and FGF-21 for patients with all grades of aortic stenosis vs. control group

Biomarķieris	Laukums zem ROC līknes, AUC (95 % TI)	p vērtība	Robežvērtība	Specifiskums, %	Jutīgums, %	NPV, %	PPV, %
Hemerīns	0,76 (0,67-0,85)	< 0,001	38,60	55,15	80,00	72,21	63,67
FGF-21	0,67 (0,56-0,77)	0,003	309,83	67,02	61,50	61,50	66,67

2. tabula. Hemerīna un FGF-21 diagnostiskais vērtējums vieglas pakāpes AoV stenozes pacientiem attiecībā pret kontroles grupu

Diagnostic evaluation of serum chemerin and FGF-21 for patients with mild aortic stenosis vs. control group

Biomarķieris	Laukums zem ROC līknes, AUC (95 % TI)	p vērtība	Robežvērtība	Specifiskums, %	Jutīgums, %	NPV, %	PPV, %
Hemerīns	0,82 (0,70-0,95)	< 0,001	43,12	69,00	87,50	75,54	71,93
FGF-21	0,66 (0,51-0,81)	0,04	283,78	61,20	75,00	64,44	65,45

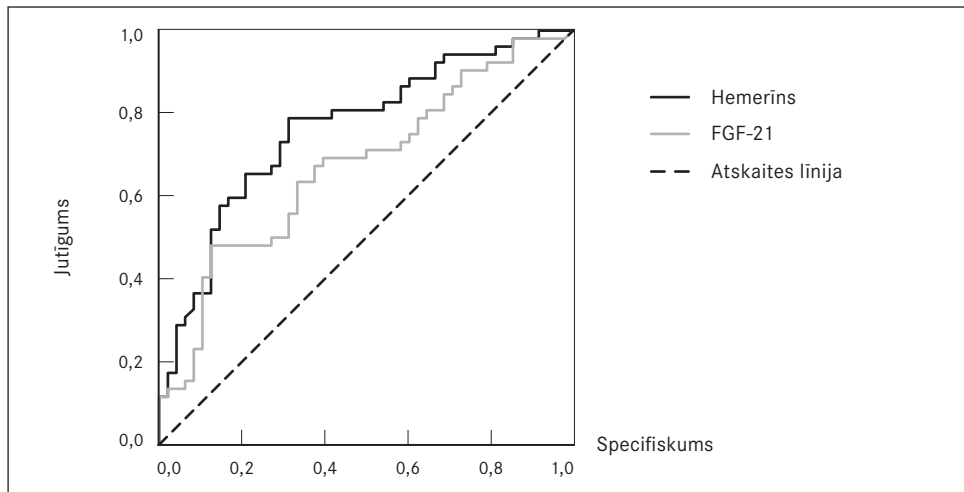
3. tabula. Hemerīna un FGF-21 diagnostiskais vērtējums smagas pakāpes AoV stenozes pacientiem attiecībā pret kontrolgrupu

Diagnostic evaluation of serum chemerin and FGF-21 for patients with severe aortic stenosis vs. control group

Biomarķieris	Laukums zem ROC līknes, AUC (95% TI)	p vērtība	Robežvērtība	Specifiskums, %	Jutīgums, %	NPV, %	PPV, %
Hemerīns	0,69 (0,55–0,84)	0,020	43,01	68,00	68,75	87,18	40,74
FGF-21	0,74 (0,56–0,88)	0,005	287,10	64,00	75,00	88,89	40,00

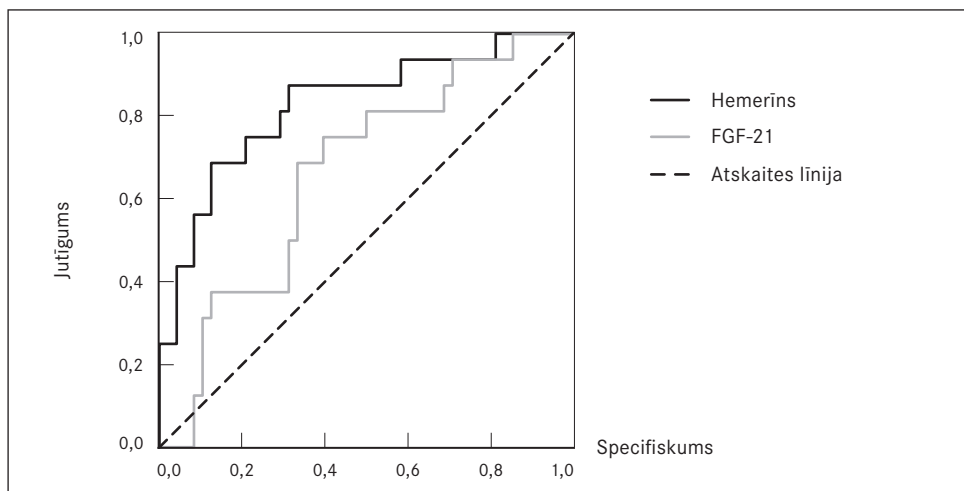
3. attēls. Hemerīna un FGF-21 jutīgumu un specifiskumu raksturojoša ROC līkne AoV stenozes (iekļauti visu smaguma pakāpju pacienti) diagnostikā pret kontrolgrupu

Serum chemerin and FGF-21 sensitivity and specificity (ROC curve) in diagnosis of aortic stenosis (all degrees of aortic stenosis severity) vs. control group



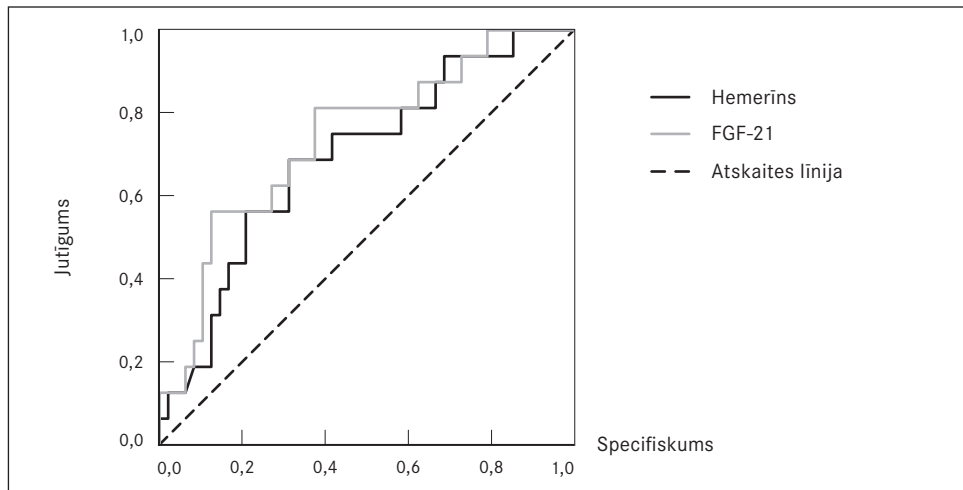
4. attēls. Hemerīna un FGF-21 jutīgumu un specifiskumu raksturojoša ROC līkne vieglas kalcificējošās AoV stenozes diagnostikā pret kontrolgrupu

Serum chemerin and FGF-21 sensitivity and specificity (ROC curve) in diagnosis of mild calcific aortic stenosis vs. control group



5. attēls. Hemerīna un FGF-21 jutīgumu un specifiskumu raksturojoša ROC līkne smagas kalcificējošās AoV stenozes diagnostikā pret kontrolgrupu

Serum chemerin and FGF-21 sensitivity and specificity (ROC curve) in diagnosis of severe calcific aortic stenosis vs. control group



Diskusija

Iepriekš veiktajos zinātniskajos pētījumos FGF-21 un hemerīna līmenis serumā pacientiem ar kalcificējošu AoV stenozī nav pētīts. Atbilstoši AoV stenozes histoloģiskajam pētījumam (*Kostopoulos, 2014*), kurā novēroja hemerīna ekspresiju periadventīcija taukaudos, artērijas sienīgas gludajos miocītos un un putu šūnās, AoV stenozes grupā tika novērots paaugstināts hemerīna līmenis serumā. Hemerīns tiek asociēts ar citiem aterosklerotiskajiem procesiem, piemēram, ar miega artēriju slimību un pangas nestabilitāti tās gadījumā (*Zhao, 2015*). AoV stenozes gadījumā smagas AoV stenozes dēļ tika novērots palielināts FGF-21 līmenis serumā – līdzīgi kā citos aterosklerotiskajos procesos koronārās sirds slimības (*Shen, 2013*) un miega artēriju slimības gadījumā. FGF-21 korelē ar slimības smagumu – artērijas sienīgas *intima-media* biezumu (*Chow, 2013*). Citos pētījumos parādīta FGF-21 protektīvā loma oksidētu zema blīvuma lipoproteīnu (LDL) izraisīta stresa gadījumos (*Lü, 2010*) un miokarda išēmijas pacientiem (*Patel, 2014*).

Pētnieciskā darba mērķis bija saistīts ar AoV stenozes biomarķieru analīzi un to nozīmes pētīšanu atkarībā no AoV stenozes pakāpes. Jau no darba sākuma kā jauns, nozīmīgs un statistiski ticams biomarķieris izrādījās hemerīns. Salīdzinot vieglas un smagas AoV stenozes jutīgumu un laukuma vērtības zem ROC līknēm, kas liecina par testa precizitāti, augstāki rezultāti tika novēroti vieglas AoV stenozes gadījumā: attiecīgi 87,5% vs. 68,5% un 0,82 vs. 0,69. Pētījuma procesā bija svarīgi ne tikai atrast šos biomarķierus, bet arī noskaidrot, kurš no tiem ir vairāk raksturīgs iekaisuma procesam un kurš – kalcifikācijas procesam. Statistiski zemākais hemerīna līmenis tika konstatēts pacientiem ar smagāku slimības pakāpi – līdzīgi kā aknu cirozes gadījumā, kurā novēro (atbilstīgi *Child-Plugh* vērtēšanas skalai) samazinātu hemerīna līmeni C grupas slimniekiem salīdzinājumā ar A un B grupas slimniekiem (*Eisinger, 2015*).

FGF-21 līmenis pieaug līdz ar AoV stenozes smaguma pakāpi, un FGF-21 ir augstāks smagas pakāpes AoV stenozes grupā, taču netika iegūtas statistiski nozīmīgas FGF-21 atšķirības starp AoV stenozes pakāpēm. Vērtīgs ieguvums, darbu turpinot, būtu vēl citu biomarķieru atrade, kuri izrādītos statistiski ticami, lai noteiktu AoV stenozes attīstības sākumu, kad pēc morfoloģiskajiem datiem prevalē iekaisums. Tā būtu, domājams, iespēja iedarboties un aizkavēt šo iekaisuma procesu, ja pēc attiecīgajiem biomarķieriem varētu piemeklēt medikamentus. Turpmākajos AoV stenozes pētījumos būtiska loma varētu būt histoloģiskajiem datiem, lai precizētu iekaisuma izcelsmi. Turpmākajos pētījumos jāiekļauj

lielāks pacientu skaits – gan AoV stenozes, gan kontroles grupās –, lai pētījuma rezultāti kļūtu vēl pārlicinošāki secinājumu izdarīšanai.

Saistībā ar kalcificējošu AoV stenozī ir pētīti daži citi biomarkieri, piemēram, NT-proBNP, BNP, homocisteīns un osteopontīns (*Ferrari, 2010*), augšanas diferenciācijas faktors 15, šķīstošais ST2 (*Lindman, 2015*), taču bez stratifikācijas AoV stenozes smaguma grupās.

Secinājumi

Hemerīns ir labs vieglas AoV stenozes diagnostiskais marķieris, bet FGF-21 ir apmierinošs smagas AoV stenozes diagnostikas marķieris.

Darbu būtu lietderīgi turpināt un padziļināti pētīt esošos un citus biomarkierus. Ņemot vērā pašreizējos datus un nostāju, ka AoV stenozē ir aktīvs process, kas sākas ar iekaisumu, bet, slimībai progresējot, pāriet kalcifikācijā, turpmāk varētu pētīt šī iekaisuma cēloņus un, iespējams, varbūtēju medikamentozu terapiju.

FGF-21 norāda vairāk uz starpšūnu telpas remodelāciju, un tam visaugstākais līmenis ir smagas AoV stenozes gadījumā, tādēļ tam vairāk ir pētnieciska un mazāk – klīniska nozīme, jo smagas aortas stenozes terapija ir ķirurģiska.

Hemerīns var izrādīties labs biomarkieris eventuālai medikamentozai terapijai, un šādi biomarkieri, kuri korelē ar slimības sākuma stadijām, būtu jāatrod vēl.

Šīm pašām pacientu grupām tika analizēts MMP (matrices metālproteināžu) līmenis un tā saistība ar AoV stenozes pakāpēm. Iegūtie rezultāti apstiprina AoV stenozī kā aktīvu iekaisuma procesu.



Diagnostic Evaluation of Serum Chemerin and FGF-21 in Calcific Aortic Valve Stenosis

Abstract

Calcific aortic valve stenosis is the most common valvular disease. Chemerin is an adipokine, which regulates the inflammatory process. FGF-21 is a cytokine with cardio protective properties.

The aim of the research was to investigate biochemical markers: chemerin, FGF-21 potential diagnostic significance depending on AoV stenosis severity.

102 patients were selected: 50 patients without AoV stenosis (control group) and patients with AoV stenosis (stenosis group). AoV stenosis patients were divided into three sub-groups by echocardiography: max flow rate – V_{max} (m/s), mean pressure gradient – mean PG (mm/Hg), AoV area – AVA (cm^2). Severe stenosis $V_{max} > 4.0$ m/s, mean PG > 40 mm/Hg, AVA < 1.0 cm^2 , moderate stenosis V_{max} 3.0–4.0 m/s, mean PG 20–40 mm/Hg, AVA 1.0–1.5 cm^2 , mild stenosis V_{max} 2.5–2.9 m/s; mean PG < 20 mm/Hg, AVA 1.5–2.0 cm^2 . Chemerin and FGF-21 were determined by ELISA.

49.0% (50) control patients, AoV stenosis patients: 15.7% (16) mild stenosis, 19.6% (20) moderate stenosis, 15.7% (16) severe stenosis. Chemerin level was higher in all degrees of AoV stenosis vs. control: the mild ($U = 139.00$; $p < 0.001$), the moderate ($U = 232.00$; $p < 0.001$), the severe ($U = 251.50$; $p = 0.026$). FGF-21 was higher vs. control group in severe stenosis ($U = 201.00$; $p = 0.005$). ROC curves show that chemerin is a good mild AoV stenosis diagnostic marker (AUC = 0.82; $p < 0.001$), for mild stenosis the sensitivity is 87.50%, specificity 69.00%. In turn, FGF-21 is a satisfactory diagnostic marker of severe AoV stenosis (AUC = 0.74; $p = 0.005$), for severe stenosis sensitivity is 75.00%, specificity 64.00%.

Chemerin is a good diagnostic marker for mild AoV stenosis and FGF-21 is a satisfactory diagnostic marker for severe stenosis. The highest level of FGF-21 is in patients with severe degree of stenosis, therefore FGF-21 has more research significance and little clinical significance as the therapy of severe AoV stenosis is operative. Chemerin may prove to be a good biomarker for eventual drug therapy.

Keywords: biomarkers, calcific aortic valve stenosis, FGF-21, chemerin.

Literatūra

1. Akerström, F., Barderas, M. G., Rodríguez-Padial, L. Aortic stenosis: a general overview of clinical, pathophysiological and therapeutic aspects. *Expert Review of Cardiovascular Therapy*. 2013, 11(2), 239–250.
2. An, S. Y., Lee, M. S., Yi, S. A. et al. Serum fibroblast growth factor 21 was elevated in subjects with type 2 diabetes mellitus and was associated with the presence of carotid artery plaques. *Diabetes Research and Clinical Practice*. 2012, 96(2), 196–203.
3. Badman, M. K., Pissios, P., Kennedy, A. R. et al. Hepatic fibroblast growth factor 21 is regulated by PPARalpha and is a key mediator of hepatic lipid metabolism in ketotic states. *Cell Metabolism*. 2007, 5(6), 426–437.
4. Bondue, B., Henau, O. D., Luangsay, S. et al. The chemerin: chemR23 system does not affect the pro-inflammatory response of mouse and human macrophages *ex vivo*. *PLoS One*. 2012, 7(6), e40043.
5. Bossé, Y., Mathieu, P., Pibarot, P. Genomics: the next step to elucidate the etiology of calcific aortic valve stenosis. *Journal of the American College of Cardiology*. 2008, 51(14), 1327–1336.
6. Carabello, B. A. Aortic stenosis: a fatal disease with but a single cure. *JACC: Cardiovascular Interventions*. 2008, 1(2), 127–128.
7. Cash, J. L., Hart, R., Russ, A. et al. Synthetic chemerin-derived peptides suppress inflammation through ChemR23. *The Journal of Experimental Medicine*. 2008, 205(4), 767–775.
8. Chow, W. S., Xu, A., Woo, Y. C. et al. Serum fibroblast growth factor-21 levels are associated with carotid atherosclerosis independent of established cardiovascular risk factors. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*. 2013, 33(10), 2454–2459.
9. Coffey, S., Cox, B., Williams, M. J. A. The prevalence, incidence, progression, and risks of aortic valve sclerosis: a systematic review and meta-analysis. *Journal of the American College of Cardiology*. 2014, 63(25 Pt A), 2852–2861.
10. Dostálová, I., Haluzíková, D., Haluzík, M. Fibroblast growth factor 21: a novel metabolic regulator with potential therapeutic properties in obesity / type 2 diabetes mellitus. *Physiological Research*. Academia Scientiarum Bohemoslovaca, 2009, 58(1), 1–7.
11. Eisinger, K., Krautbauer, S., Wiest, R. et al. Reduced serum chemerin in patients with more severe liver cirrhosis. *Experimental and Molecular Pathology*. 2015, 98(2), 208–213.
12. Ernst, M. C., Sinal, C. J. Chemerin: at the crossroads of inflammation and obesity. *Trends in Endocrinology and Metabolism: TEM*. 2010, 21(11), 660–667.
13. Ferrari, G., Sainger, R., Beckmann, E. et al. Validation of plasma biomarkers in degenerative calcific aortic stenosis. *The Journal of Surgical Research*. 2010, 163(1), 12–17.
14. Freeman, R. V., Otto, C. M. Spectrum of calcific aortic valve disease pathogenesis, disease progression, and treatment strategies. *Circulation*, 2005, 111(24), 3316–3326.
15. Fukumoto, S. Actions and mode of actions of FGF-19 subfamily members. *Endocrine Journal*. 2008, 55(1), 23–31.
16. Ge, X., Wang, Y., Lam, K. S., Xu, A. Metabolic actions of FGF-21: molecular mechanisms and therapeutic implications. *Acta Pharmaceutica Sinica*, 2012, 2(4), 350–357.
17. Goralski, K. B., McCarthy, T. C., Hanniman, E. A. et al. Chemerin, a novel adipokine that regulates adipogenesis and adipocyte metabolism. *Journal of Biological Chemistry*. September 2007, 282(38), 28 175–28 188.
18. Inagaki, T., Dutchak, P., Zhao, G. et al. Endocrine regulation of the fasting response by PPARalpha-mediated induction of fibroblast growth factor 21. *Cell Metabolism*, 2007, 5(6), 415–425.
19. Kharitonov, A., Shiyanova, T. L., Koester, A. et al. FGF-21 as a novel metabolic regulator. *Journal of Clinical Investigation*. 2005, 115(6), 1627–1635.
20. Kharitonov, A., Wroblewski, V. J., Koester, A. et al. The metabolic state of diabetic monkeys is regulated by fibroblast growth factor 21. *Endocrinology*. 2007, 148(2), 774–781.
21. Kostopoulos, C. G., Spiroglou, S. G., Varakis, J. N. et al. Chemerin and CMKLR1 expression in human arteries and periadventitial fat: a possible role for local chemerin in atherosclerosis? *BMC Cardiovascular Disorders*, 2014, 14, 56.
22. Lawrence, T. The nuclear factor NF-kappaB pathway in inflammation. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*. 2009, 1(6), a001651.
23. Lehrke, M., Becker, A., Greif, M. et al. Chemerin is associated with markers of inflammation and components of the metabolic syndrome but does not predict coronary atherosclerosis. *European Journal of Endocrinology*. European Federation of Endocrine Societies, 2009, 161(2), 339–344.
24. Lin, Y., Xiao, Y., Zhu, H. et al. Serum fibroblast growth factor 21 levels are correlated with the severity of diabetic retinopathy. *Journal of Diabetes Research*, 2014.
25. Lin, Z., Wu, Z., Yin, X. et al. Serum levels of FGF-21 are increased in coronary heart disease patients and are independently associated with adverse lipid profile. *PLoS One*. 2010, 5(12), e15534.

26. Lindman, B. R., Breyley, J. G., Schilling, J. D. et al. Prognostic utility of novel biomarkers of cardiovascular stress in patients with aortic stenosis undergoing valve replacement. *Heart*. British Cardiac Society, 2015, 101(17), 1382–1388.
27. Lü, Y., Liu, J. H., Zhang, L. K., Du, J. et al. Fibroblast growth factor 21 as a possible endogenous factor inhibits apoptosis in cardiac endothelial cells. *Chinese Medical Journal*. 2010, 123(23), 3417–3421.
28. Monnier, J., Lewén, S., O'Hara, E. et al. Expression, regulation, and function of atypical chemerin receptor CCRL-2 on endothelial cells. *Journal of Immunology*. 2012, 189(2), 956–967.
29. Novaro, G. M., Katz, R., Aviles, R. J., Gottdiener, J. S. et al. Clinical factors, but not C-reactive protein, predict progression of calcific aortic-valve disease: the cardiovascular health study. *Journal of the American College of Cardiology*. 2007, 50(20), 1992–1998.
30. Otto, C. M. Aortic stenosis: even mild disease is significant. *European Heart Journal*. 2004, 25(3), 185–187.
31. Passik, C. S., Ackermann, D. M., Pluth, J. R., Edwards, W. D. Temporal changes in the causes of aortic stenosis: a surgical pathologic study of 646 cases. *Mayo Clinic Proceedings*. 1987, 62(2), 119–123.
32. Patel, V., Adya, R., Chen, J. et al. Novel insights into the cardio-protective effects of FGF-21 in lean and obese rat hearts. *PloS One*. 2014, 9(2), e87102.
33. Planavila, A., Redondo, I., Hondares, E. et al. Fibroblast growth factor 21 protects against cardiac hypertrophy in mice. *Nature Communications*. 2013, 4, 2019.
34. Potthoff, M. J., Inagaki, T., Satapati, S. et al. FGF-21 induces PGC-1 α and regulates carbohydrate and fatty acid metabolism during the adaptive starvation response. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2009, 106(26), 10 853–10 858.
35. Reinehr, T., Woelfle, J., Wunsch, R., Roth, C. L. Fibroblast growth factor 21 (FGF-21) and its relation to obesity, metabolic syndrome, and nonalcoholic fatty liver in children: a longitudinal analysis. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. 2012, 97(6), 2143–2150.
36. Roh, S., Song, S. H., Choi, K. C. et al. Chemerin – a new adipokine that modulates adipogenesis via its own receptor. *Biochemical and Biophysical Research Communication*, 2007, 362(4), 1013–1018.
37. Rosenhek, R., Klaar, U., Schemper, M. et al. Mild and moderate aortic stenosis. *European Heart Journal*. 2004, 25(3), 199–205.
38. Rourke, J. L., Dranse, H. J., Sinal, C. J. Towards an integrative approach to understanding the role of chemerin in human health and disease. *Obesity Reviews*. 2013, 14(3), 245–262.
39. Rutkowski, P., Sledzinski, T., Zielinska, H. et al. Decrease of serum chemerin concentration in patients with end stage renal disease after successful kidney transplantation. *Regulatory Peptides*. 2012, 173(1–3), 55–59.
40. Semba, R. D., Crasto, C., Strait, J. et al. Elevated serum fibroblast growth factor 21 is associated with hypertension in community-dwelling adults. *Journal of Human Hypertension*. 2013, 27 (6), 397–399.
41. Shen, Y., Ma, X., Zhou, J. et al. Additive relationship between serum fibroblast growth factor 21 level and coronary artery disease. *Cardiovascular Diabetology*. 2013, 12, 124.
42. Vahanian, A., Alfieri, O., Andreotti, F., et al. Guidelines on the management of valvular heart disease (version 2012). *European Heart Journal*. 2012, 33(19), 2451–2496.
43. Weigert, J., Obermeier, F., Neumeier, M. et al. Circulating levels of chemerin and adiponectin are higher in ulcerative colitis and chemerin is elevated in Crohn's disease. *Inflammatory Bowel Diseases*. 2010, 16(4), 630–637.
44. Wypasek, E., Potaczek, D. P., Undas, A. Association of the C-reactive protein gene (CRP) rs1205 C>T polymorphism with aortic valve calcification in patients with aortic stenosis. *International Journal of Molecular Sciences*. 2015, 16(10), 23745–23759.
45. Xu, P., Zhang, Y., Liu, Y. et al. Fibroblast growth factor 21 attenuates hepatic fibrogenesis through TGF- β /smad2/3 and NF- κ B signaling pathways. *Toxicology and Applied Pharmacology*. 2016, 290, 43–53.
46. Yetkin, E., Waltenberger, J. Molecular and cellular mechanisms of aortic stenosis. *International Journal of Cardiology*. 2009, 135(1), 4–13.
47. Zhang, X., Yeung, D. C. Y., Karpisek, M. et al. Serum FGF-21 levels are increased in obesity and are independently associated with the metabolic syndrome in humans. *Diabetes*. 2008, 57(5), 1246–1253.
48. Zhao, D., Bi, G., Feng, J., Huang, R., Chen, X. Association of serum chemerin levels with acute ischemic stroke and carotid artery atherosclerosis in a Chinese population. *Medical Science Monitor: International Medical Journal of Experimental and Clinical Research*. 2015, 21, 3121–3128.