



REDAKTOR DZIAŁU
dr hab. n. med.
Wiesław Piechota
Kierownik Zakładu
Diagnostyki
Laboratoryjnej
Wojskowego Instytutu
Medycznego
w Warszawie



REDAKTOR DZIAŁU
dr n. med.
Wiktor Piechota
Medicover, Warszawa

Ostatnio wprowadzono do diagnostyki nowe testy do oznaczania biomarkerów mających znaczenie w wykrywaniu nieprawidłowości w przebiegu ciąży. Są to ciążowe białko osocza A (PAPP-A), łożyskowy czynnik wzrostu (PIGF) oraz rozpuszczalny receptor naczyniowo-śródbłonkowego czynnika wzrostu VEGF (sFlt-1). Ich potencjalne zastosowanie wykracza jednak poza patologię ciąży. Szczególnie obiecująca jest ich przydatność jako biomarkerów kardiologicznych. Jeden z tych biomarkerów – ciążowe białko osocza A (PAPP-A) omówiliśmy dokładnie w *Kardiologii po Dyplomie* w marcu tego roku. Obecnie przedstawiamy wiadomości na temat potencjalnych zastosowań łożyskowego czynnika wzrostu w kardiologii.

Redaktorzy działu

Łożyskowy czynnik wzrostu jako biomarker kardiologiczny

Wiesław Piechota, Wiktor Piechota

Adres:
Wojskowy Instytut Medyczny w Warszawie,
Zakład Diagnostyki Laboratoryjnej

Badania nad nowymi biomarkerami kardiologicznymi wynikają głównie z potrzeby wczesnego oszacowania zagrożenia zawałem i zgonem pacjentów z ostrymi zespołami wieńcowymi. Wielu bowiem chorych bez jakichkolwiek dowodów uszkodzenia kardiomiocytów może należeć do grupy wysokiego ryzyka wystąpienia tych punktów końcowych. Ponieważ zapalenie i związane z nim pęknięcie blaszki miażdżycowej poprzedzają ostre niedokrwienie, które może prowadzić do martwicy, biomarkery zapalne są w centrum uwagi.

Jednym z najbardziej obiecujących jest łożyskowy czynnik wzrostu (placental growth factor, PIGF) wykorzystywany głównie jako czynnik predykcyjny stanu przedzrzucawkowego w przebiegu ciąży. Jest to białko o masie cząsteczkowej około 38 kDa, które należy do rodziny naczyniowo-śródbłonkowego czynnika wzrostu (vascular endothelial growth factor, VEGF) pobudzającego angiogenezę. Ekspresja PIGF jest najbardziej nasiloną w łożysku i w nieco mniejszym stopniu w sercu, płucach i gruczole tarczowym.

PIGF działa prozapalnie i pobudza angiogenezę, wiążąc się z receptorem naczyniowo-śródbłonkowego czynnika wzrostu (VEGFR-1). Silne działanie prozapalne powodowane jest poprzez nasilenie rekrutacji makrofagów i rozrost blaszki miażdżycowej, indukowanie ekspresji cząsteczki adhezyjnej komórek śródbłonka (vascular cell adhesion molecule-1, VCAM-1), nasilenie ekspresji genu dla czynnika tkankowego oraz sty-

mulację sekrecji proteinaz przez makrofagi [1-3]. Działania te są przyczyną niestabilności blaszki miażdżycowej, co może prowadzić do jej pęknięcia.

W warunkach fizjologicznych ekspresję PIGF wykazują komórki śródbłonna. Po pobudzeniu komórki śródbłonna uwalniają PIGF w pokażnej ilości. Przewlekła aktywacja komórek śródbłonna może prowadzić do angiogenezy, która powiązana jest z zapaleniem [4]. Indukcja angiogenezy przez PIGF *in vivo* odbywa się częściowo w odpowiedzi na niedokrwienie. Dotyczy to w dużym stopniu mięśnia sercowego [5]. Hipoksja wraz z zapaleniem nasilają angiogenezę. *In vitro* PIGF stymuluje migrację i proliferację komórek śródbłonna. Angiogeneza pod wpływem PIGF może mieć istotne znaczenie patogenezy polegające na tworzeniu nowych naczyń kapilarnych w obrębie powikłanych blaszek miażdżycowych z następową ich niestabilnością i pęknięciem. Pęknięcie często poprzedzone jest krwawieniem w obrębie blaszki miażdżycowej [6].

Patogenną rolę PIGF potwierdzać może w dużej mierze badanie przeprowadzone przez Pilarczyk i wsp. [7] z udziałem 60 chorych z miażdżycą tętnic szyjnych poddawanych endarterektomii tych tętnic. Ekspresja PIGF była zwiększona w blaszkach miażdżycowych tętnic szyjnych, szczególnie u pacjentów z objawami klinicznymi. Zwiększonej ekspresji PIGF w blaszkach towarzyszyło nasilenie zmian zapalnych w obrębie blaszek, zwiększona gęstość naczyń kapilarnych i destabilizacja blaszek. Nie jest całkiem pewne czy powyższe wyniki można w pełni odnieść także do naczyń wieńcowych mięśnia sercowego.

Istotny wzrost ekspresji PIGF w mięśniu sercowym wykazał Iwama i wsp. [8] w czasie eksperymentalnie wywołanego zawału (badania na myszach). Wzrost ten (ponad 20-krotny) występował w pierwszej dobie, trwał przez następne dwa dni i powracał do normy po 7 dniach. Głównym miejscem wzmożonej ekspresji PIGF był śródbłonek naczyniowy w rejonie zmian objętych zawałem. Produkcja PIGF była w pewnym stopniu zależna od masy uszkodzonego miokardium. W badaniu tym oznaczano także stężenie PIGF w osoczu pacjentów z zawałem mięśnia sercowego. Osiągało ono maksimum w trzecim dniu od początku objawów i było ujemnie skorelowane z frakcją wyrzutową lewej komory (LVEF). Jednak wyższe stężenia PIGF w tym czasie związane były z większą poprawą LVEF w późniejszej, przewlekłej fazie zawału. Dlatego autorzy badania wyrazili przypuszczenie, iż PIGF może mieć znaczenie naprawcze (angiogeneza) dla uszkodzonego mięśnia sercowego.

Ta ciekawa, odosobniona hipoteza wymagałaby potwierdzenia w dalszych badaniach. Być może mogłyby one wykazać pewną dwoistość działania PIGF (janusową twarz) w zależności od sytuacji patofizjologicznej. Zupełnie ostatnio opublikowana praca Takedy i wsp. [9] dotycząca wpływu egzogenego ludzkiego rekombinowanego PIGF na procesy naprawcze w mięśniu sercowym myszy po eksperymentalnie wywołanym zawałe zdaje się potwierdzać taką możliwość: przeżywalność i stopień zachowania funkcji serca były większe u myszy leczonych w porównaniu z grupą kontrolną. Podobnie korzystny

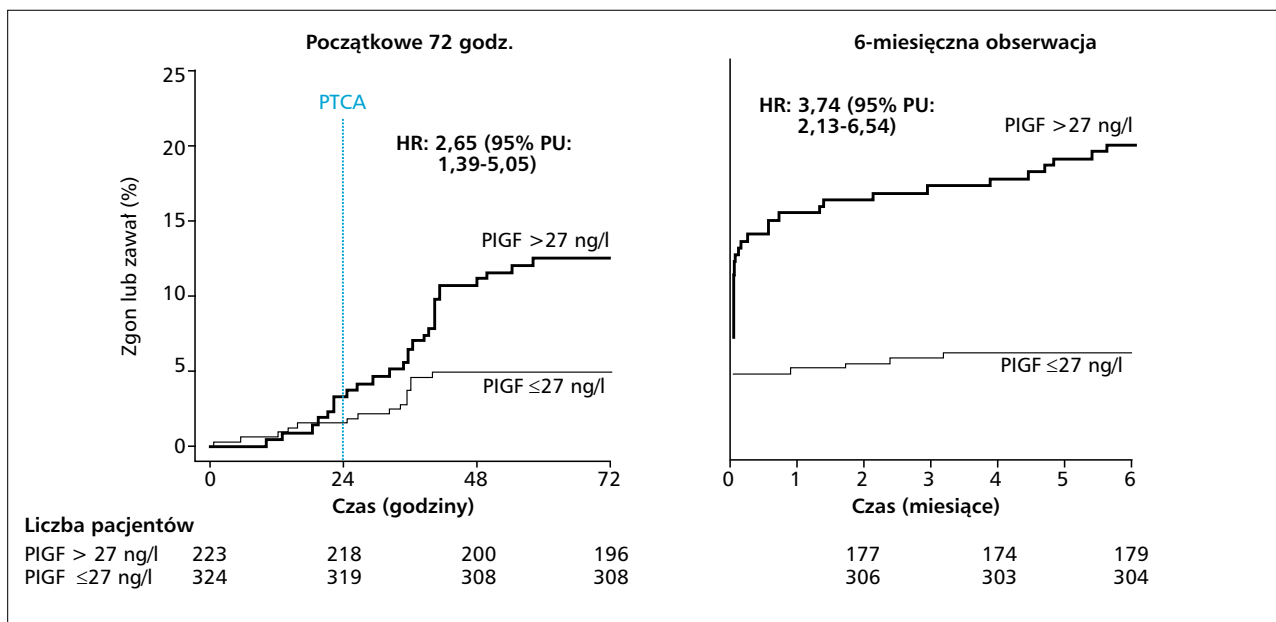
wpływ leczenia podwyższającego stężenie PIGF w krążeniu (PIGF adenowirus) wykazali także na modelu mysim (28 dni po zawałe) Roncal i wsp. [10]. Na razie jednak przeważa opinia o niekorzystnym prozapalnym działaniu PIGF połączonym z raczej patologiczną angiogenezą.

Badania nad potencjalnym znaczeniem stężenia osocznego PIGF w szacowaniu ryzyka zgonu lub zawału serca nie zakończonego zgonem w ciągu 30 dni od początku objawów ostrego zespołu wieńcowego przeprowadził Heschel i wsp. w 2004 roku [11]. W badaniu uczestniczyło 1173 pacjentów podzielonych na dwie grupy: pierwsza licząca 547 pacjentów z potwierdzonym angiograficznie ostrym zespołem wieńcowym (badanie CAPTURE) i druga licząca 626 pacjentów przyjmowanych do szpitala z bólem w klatce piersiowej. Aby uniknąć możliwości wpływu leczenia przeciwplatekowego, tylko ramię placebo badania CAPTURE wykorzystano do oceny znaczenia PIGF. W grupie tej 40,8% pacjentów miało podwyższone stężenia PIGF (>27 ng/l) w czasie przyjęcia do szpitala. U chorych tych ryzyko wystąpienia niekorzystnych incydentów sercowo-naczyniowych było znacznie zwiększone (iloraz zagrożeń [HR] 3,03 w porównaniu z pacjentami ze stężeniami poniżej tego progu). Podobne co do wartości ryzyko cechowało bardziej heterogenną grupę pacjentów z bólem w klatce piersiowej. Istotny wzrost ryzyka następował wcześniej – już w trzeciej dobie (rycina). Łączny czas obserwacji pacjentów wynosił 6 miesięcy.

Stężenia PIGF nie były skorelowane ze stężeniami markerów martwicy (troponiny T) ani ze stężeniem rozpuszczalnego ligandu CD40 (sCD40L). Z powyższego badania wynika, iż łożyskowy czynnik wzrostu może stanowić niezależny biomarker ryzyka zgonu i zawału mięśnia sercowego u chorych z ostrymi zespołami wieńcowymi. Pojedynczy wyjściowy pomiar PIGF w osoczu zwiększa także siłę predykcyjną i prognostyczną tradycyjnych markerów zapalenia.

Lenderink i wsp. [12] kontynuowali powyższe badanie z dalszym udziałem pacjentów ramienia placebo badania CAPTURE. Czas obserwacji przedłużono aż do 4 lat. Badanie to potwierdziło związek podwyższonych stężeń PIGF w osoczu (>27 ng/l, czwarty i piąty kwintyl) z wyraźnie zwiększoną częstością (HR 3,3) występowania łącznego punktu końcowego (zgon oraz zawał mięśnia serca niezakończony zgonem) w długoletniej obserwacji. Dodatkowo wykazano, że PIGF jest bardziej swoistym markerem zapalenia naczyń niż inne markery zapalne i powinien być wykorzystywany do stratyfikacji ryzyka w ostrych zespołach wieńcowych zamiast markerów uogólnionego zapalenia (np. CRP).

Oznaczanie łożyskowego czynnika wzrostu może mieć znaczenie w wielomarkerowej strategii oceny ryzyka niekorzystnej ewolucji ostrych zespołów wieńcowych. Apple i wsp. [13] oznaczyli wyjściowe stężenia 7 biomarkerów: mieloperoksydazy (MPO), rozpuszczalnego ligandu CD40 (sCD40L), łożyskowego czynnika wzrostu (PIGF), metaloproteiny-9 (MMP-9), wysoce czułego CRP (hsCRP), sercowej troponiny I (cTnI), propeptydu natiuretycznego typu B (NT-prBNP) u 457 pacjentów z objawami ostrego zespołu wieńcowego. Dodatkowo szacowano GFR według



RYCINA

Skumulowana częstość zgonu i zawału mięśnia sercowego niezakończony zgonem w czasie 72 godzin oraz 6 miesięcy obserwacji, z uwzględnieniem stężenia PIGF, u pacjentów z potwierdzonym OZW ($n=547$, badanie CAPTURE). HR – iloraz zagrożeń, PU – przedział ufności.

wzoru MDRD. Pacjentów obserwowano przez kolejne 4 miesiące. Umieralność ogólna wśród osób ze zwiększonymi stężeniami PIGF, NT-proBNP, hsCRP albo cTnI, albo zmniejszonym GFR była zwiększona (od 11 do 20%) w porównaniu z pacjentami, którzy mieli stężenia tych markerów w granicach wartości referencyjnych. Nie odnotowano podobnego związku z umieralnością ogólną dla MPO, sCD40L i MMP-9.

PIGF może mieć znaczenie fizjopatologiczne lub predykcyjne w innych chorobach sercowo-naczyniowych. Wśród 32 826 kobiet z Nurses' Health Study, u których oznaczono wyjściowe stężenie PIGF i obserwowano przez 14 lat, stwierdzono 453 incydenty sercowe wynikające z choroby wieńcowej. W analizie wieloczynnikowej wykazano, że kobiety ze stężeniami PIGF z 5 kwintyla charakteryzowało większe ryzyko wystąpienia choroby wieńcowej niż kobiety, u których stężenia nie przekraczały 1 kwintyla [ryzyko względne 1,58 (1,03-2,41)] [14]. Ryzyko zwiększało się do 2,79, jeśli ograniczono czas obserwacji do ostatnich 10 lat przed incydem klinicznym. Wyniki tego badania wskazują na możliwość wczesnego, przewlekłego aterosclerogenicznego działania PIGF najprawdopodobniej o mechanizmie zapalnym.

Nakamura i wsp. [15], badając grupę 98 pacjentów z zastoinową niewydolnością serca o zróżnicowanej etiologii, nie wykazali u nich zmian stężenia PIGF w stosunku do grupy kontrolnej ani zależności stężenia PIGF od klasy NYHA. W podgrupie pacjentów z niewydolnością serca w przebiegu kardiomiopatii niedokrwiennej wykazano istotny wzrost stężenia PIGF w kolejnych klasach niewydolności serca wg NYHA oraz dodatnią korelację tego czynnika wzrostu ze stężeniami BNP. Oznacza

to, iż w kardiomiopatii niedokrwiennej stężenia PIGF w osoczu krwi rosną wraz z ciężkością (zaawansowaniem) niewydolności serca. Może to wskazywać na rolę zwiększonego uwalniania PIGF w patogenezie kardiomiopatii na tle przewlekłego niedokrwienia mięśnia sercowego.

Wiadomości dotyczące wpływu leków na stężenie PIGF są ograniczone do atorwastatyny. Statyna ta, podawana przez 6 miesięcy pacjentom po zawale mięśnia sercowego, obniżała stężenie w osoczu PIGF i VEGF przy jednoczesnym wzroście stężenia rozpuszczalnej izoformy receptora dla tych czynników wzrostu – rozpuszczalnej Fms-podobnej tyrozynowej kinazy-1 (sFlt-1). Skorelowana z tymi zmianami była poprawa czynności lewej komory mierzona zmianami frakcji wyrzutowej (LVEF) [16].

Podsumowując najważniejsze informacje na temat łożyskowego czynnika wzrostu, można stwierdzić, iż wykazuje on przede wszystkim działania prozapalne i w mniejszym stopniu pobudzające angiogenezę (prawdopodobnie patologiczną) oraz jest niezależnym, krótko- i długoterminowym czynnikiem predykcyjnym zgonu i zawału mięśnia sercowego u osób z ostrymi zespołami wieńcowymi.

Piśmiennictwo

- Luttun A, Tjwa M, Moons L, et al.: Revascularization of ischemic tissues by PIGF treatment, and inhibition of tumor angiogenesis, arthritis and atherosclerosis by anti-Flt1. *Nat Med* 2002, 8: 831-840.
- Autiero M, Luttun A, Tjwa M, et al.: Placental growth factor and its receptor, vascular endothelial growth factor receptor-1: novel targets for stimulation of ischemic tissue revascularization and inhibition of angiogenic and inflammatory disorders. *J Thromb Haemost* 2003, 1: 1356-1370.

3. Khurana R, Moons L, Shafi S, et al.: Placental growth factor promotes atherosclerotic intimal thickening and macrophage accumulation. *Circulation* 2005, 111: 2828-2836.
4. Rajashekhar G, Willuweit A, Patterson C, et al.: Continuous endothelial cell activation increases angiogenesis: evidence for the direct role of endothelium linking angiogenesis and inflammation. *J Vasc Res* 2006, 43: 193-204.
5. Torry R, Tomanek R, Zheng W, et al.: Hypoxia increases placenta growth factor expression in human myocardium and cultured neonatal rat cardiomyocytes. *J Heart Lung Transpl* 2009, 28: 183-190.
6. Khurana R, Simons M, Martin J, et al.: Role of angiogenesis in cardiovascular disease. A critical appraisal. *Circulation*. 2005, 112: 1813-1824.
7. Pilarczyk K, Sattler K, Galili O, et al.: Placenta growth factor expression in human atherosclerotic carotid plaques is related to plaque destabilization. *Atherosclerosis* 2008, 196: 333-340.
8. Iwama H, Uemura S, Naya N, et al.: Cardiac expression of placental growth factor predicts the improvement of chronic phase left ventricular function in patients with acute myocardial infarction. *JACC* 2006, 47: 1559-1567.
9. Takeda Y, Uemura S, Iwama H, et al.: Treatment with recombinant placental growth factor (PlGF) enhances both angiogenesis and arteriogenesis and improves survival after myocardial infarction. 2009, Jul 15, *Circ J*. [Epub ahead of print].
10. Roncal C, Buysschaert I, Chorianopoulos E, et al.: Beneficial effects of prolonged systemic administration of PlGF on late outcome of post-ischaemic myocardial performance. *J Pathol* 2008, 216: 236-244.
11. Heesch C, Dimmeler S, Fichtlscherer S, et al.: Prognostic value of placental growth factor in patients with acute chest pain. *JAMA* 2004, 291: 435-441.
12. Lenderink T, Heesch C, Fichtlscherer S, et al.: Elevated placental growth factor levels are associated with adverse outcomes at four-year follow-up in patients with acute coronary syndromes. *JACC* 2006, 47: 307-311.
13. Apple F, Pearce L, Chung A, et al.: Multiple biomarker use for detection of adverse events in patients presenting with symptoms suggestive of acute coronary syndrome. *Clin Chem* 2007, 53: 874-881.
14. Cassidy A, Chiuvè S, Manson J, et al.: Potential role for plasma placental growth factor in predicting coronary heart disease risk in women. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2009, 29: 134-139.
15. Nakamura T, Funayama H, Kubo N, et al.: Elevation of plasma placental growth factor in the patients with ischemic cardiomyopathy. *Int J Cardiol* 2009, 131: 186-191.
16. Kodama Y, Kitta Y, Nakamura T, et al.: Atorvastatin increases plasma soluble Fms-like tyrosine kinase-1 and decreases vascular endothelial growth factor and placental growth factor in association with improvement of ventricular function in acute myocardial infarction. *JACC* 2006, 48: 43-50.