

lek. Tomasz Zemleduch

„Stężenie feniksyny (PNX) w osoczu pacjentów z przewlekłą niewydolnością serca z obniżoną frakcją wyrzutową.”

Rozprawa na stopień naukowy doktora nauk medycznych.

Promotor: prof. dr hab. Ewa Straburzyńska-Migaj

Katedra Kardiologii, I Klinika Kardiologii



Wydział Medyczny

Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu

Poznań, 2020

Dziękuję Żonie za cierpliwość, wytrwałość i miłość.

Dziękuję Rodzicom za trud wychowania, ukształtowanie i przykład.

Spis treści

1.	Wykaz skrótów.....	5
2.	Słowa kluczowe.....	8
3.	Wprowadzenie	
3.1.	Epidemiologia niewydolności serca w Polsce i na świecie.....	9
3.2.	Definicja i klasyfikacja niewydolności serca w świetle aktualnych wytucznych towarzystw naukowych.....	10
3.3.	Etiologia oraz patofizjologia niewydolności serca z obniżoną frakcją wyrzutową.....	13
3.4.	Zastosowanie klasycznych biomarkerów niewydolności serca w diagnostyce, leczeniu oraz ocenie rokowania.....	17
3.5.	Przegląd nowych biomarkerów w niewydolności serca.	19
3.5.1.	Biomarkery związane ze stanem zapalnym.....	21
3.5.2.	Biomarkery związane ze stresem oksydacyjnym.....	24
3.5.3.	Biomarkery związane z przebudową macierzy pozakomórkowej.....	27
3.5.4.	Neurohormony / peptydy osoczowe.....	31
3.5.5.	Biomarkery związane z uszkodzeniem kardiomiocytów.....	36
3.5.6.	Biomarkery związane z obciążeniem kardiomiocytów.....	37
3.5.7.	Biomarkery niesklasyfikowane.....	38
3.6.	Wielomarkerowa strategia stratyfikacji ryzyka w niewydolności serca...41	
3.7.	Feniksyna - nowy neuropeptyd i jego znaczenie fizjologiczne.....	45
4.	Założenia i cele pracy.....	50
4.1.	Cele pracy badawczej.....	50
5.	Materiały i metody.....	51

5.1.	Materiał badawczy.....	51
5.2.	Metody badań.....	52
5.3.	Analiza statystyczna.....	54
6.	Wyniki.....	55
6.1.	Charakterystyka grup badanych.....	55
6.2.	Stężenie feniksyny w osoczu pacjentów z niewydolnością serca i w grupie kontrolnej.....	58
6.3.	Stężenie feniksyny w określonych podgrupach.....	60
6.4.	Analiza korelacji stężenia feniksyny z wybranymi zmiennymi.....	64
7.	Dyskusja.....	68
8.	Wnioski.....	75
9.	Spis rycin i tabel.....	76
9.1.	Spis rycin.....	76
9.2.	Spis tabel.....	77
10.	Streszczenie.....	78
11.	Abstract.....	80
12.	Piśmiennictwo.....	82

1. Wykaz skrótów

ACCF- *ang. American College of Cardiology Foundation*, Fundacja Amerykańskiego Kolegium Kardiologicznego

ACEI - *ang. angiotensin converting enzyme inhibitor*, inhibitor konwertazy angiotensyny

ADH - *ang. antidiuretic hormone*, hormon antydiuretyczny (wazopresyna)

ADM - adrenomedulina

AHA - *ang. American Heart Association*, Amerykańskie Towarzystwo Kardiologiczne

AHF - *ang. acute heart failure*, ostra niewydolność serca

AKI - *ang. acute kidney injury*, ostre uszkodzenie nerek

ANP - *ang. atrial natriuretic peptide*, przedsionkowy peptyd natriuretyczny

ARB - *angiotensin II receptor blocker*, bloker receptora angiotensyny II

BB - beta-adrenolityk

BNP - peptyd natriuretyczny typu B

BSA - *ang. body surface area*, pole powierzchni ciała

CHOL-C - cholesterol całkowity

CRP - *ang. C-reactive protein*, białko C-reaktywne

cTn - *ang. cardiac troponins*, sercowe troponiny

CVD - *ang. cardiovascular diseases*, choroby sercowo-naczyniowe

DALY - *ang. disability adjusted life-years*, lata życia skorygowane niesprawnością

ECM - *ang. extracellular matrix*, macierz pozakomórkowa

EF - *ang. ejection fraction*, frakcja wyrzutowa

eNOS - śródbłonkowa syntaza tlenku azotu

ERK - kinaza regulowana zewnątrzkomórkowo

ESC - *ang. European Society of Cardiology*, Europejskie Towarzystwo Kardiologiczne

ET-1 - endotelina-1

GDF-15 - *ang. growth/differentiation factor 15*, różnicujący czynnik wzrostu 15

Gal-3 - galektyna-3

HF - *ang. heart failure*, niewydolność serca

hFABP - *ang. heart-type Fatty Acid Binding Protein*, białko wiążące kwasy tłuszczowe typu sercowego

HFD - *ang. high-fat diet, dieta wysokotłuszczowa*

HFpEF - *ang. heart failure with preserved ejection fraction*, niewydolność serca z zachowaną frakcją wyrzutową

HFrEF - *ang. heart failure with reduced ejection fraction*, niewydolność serca z obniżoną frakcją wyrzutową

HFSA - *ang. Heart Failure Society of America*, Amerykańskie Towarzystwo Niewydolności Serca

HPGA - *ang. hypothalamic–pituitary–gonadal axis*, oś podwzgórze - przysadka - gonady

IFN - interferon

IGF-1 - *ang. insulin-like growth hormone-1*, insulinopodobny czynnik wzrostu typu 1

IGFBP-7 - *ang. insulin-like growth hormone binding protein-7*, białko wiążące insulinopodobny czynnik wzrostu typu 7

IHD - *ang. ischemic heart disease*, choroba niedokrwienna serca

IL - interleukina

I/R - ischemia / reperfuzja

LAA - *ang. left atrial area*, pole powierzchni lewego przedsionka

LAVI - *ang. left atrial volume index*, indeksowana objętość lewego przedsionka

LV - *ang. left ventricle*, lewa komora

LVEDV - *ang. left ventricular end-diastolic volume*, objętość końcowo-rozkurczowa

LVH - *ang. left ventricular hypertrophy*, przerost lewej komory

LVMI - *ang. left ventricular mass index*, wskaźnik masy lewej komory

MI - *ang. myocardial infarction*, zawał serca

miR - mikroRNA

mitoKATP - mitochondrialny kanał potasowy regulowany ATP

MMPs - *ang. matrix metalloproteinases*, metaloproteinazy macierzy pozakomórkowej

MPO - mieloperoksydaza

MRA - *ang. mineralocorticoid receptor antagonist*, antagonist receptora mineralokortykoidowego

MR-proANP - (*ang. mid-regional*) środkowy fragment pro-peptydu natriuretycznego typu A

NGAL - *ang. neutrophil gelatinase-associated lipocalin*, lipokalina związana z żelatynazą neutrofilów

NPs - *ang. natriuretic peptides*, peptydy natriuretyczne

NT - nadciśnienie tętnicze

NT-proBNP - N-końcowy fragment pro-peptydu natriuretycznego typu B

NYHA - *ang. New York Heart Association*, Nowojorskie Towarzystwo Kardiologiczne

oxLDL - oksydowany LDL

PI3K - kinaza 3-fosfatydyloinozytolu

PNX - *ang. phoenixin*, feniksyna

RAA - renina - angiotensyna - aldosteron

RAAS - *ang. renin-angiotensin-aldosterone system*, układ renina - angiotensyna - aldosteron

ROS - *ang. reactive oxygen species*, reaktywne formy tlenu

sRNA - *ang. small, non-coding RNA*, małe, niekodujące RNA

sST2 - *ang. soluble ST2*, rozpuszczalne ST2

TGF - *ang. transforming growth factor*, transformujący czynnik wzrostu

TIMPs - *ang. tissue inhibitors of metalloproteinases*, tkankowe inhibitory metaloproteinaz

TNF α - *ang. tumor necrosis factor alpha*, czynnik martwicy nowotworu alfa

TRAIL - *ang. TNF-related apoptosis inducing ligand*, związany z TNF ligand wywołujący apoptozę

VHD - *ang. valvular heart disease*, zastawkowa wada serca

YLLs - *ang. years of life lost*, utracone lata życia

WHR - *ang. waist-hip ratio*, stosunek obwodu talii do obwodu bioder

2. Słowa kluczowe / *key words*

feniksyna, niewydolność serca, biomarker

phoenixin, heart failure, biomarker

3. Wprowadzenie

3.1. Epidemiologia niewydolności serca w Polsce i na świecie.

Niewydolność serca (*ang. heart failure, HF*) jest niewątpliwie narastającym globalnie problemem zarówno w aspekcie medycznym jak i społecznym. Nazywana „epidemią XXI wieku”, stanowi w Polsce jedną z trzech wiodących przyczyn zgonów wśród chorób sercowo-naczyniowych (*ang. cardiovascular diseases, CVD*), obok choroby niedokrwiennej serca oraz choroby naczyń mózgowych [1]. Natomiast sumarycznie CVD nadal pozostają głównym powodem śmierci w Polsce [1]. Według szacunków Sekcji Niewydolności Serca Polskiego Towarzystwa Kardiologicznego przedstawionych w 2018 roku w naszym kraju na HF choruje około 750 tys. [2], a najnowsze dane wskazują, iż nawet > 1 mln osób (Baza Analiz Systemowych i Wdrożeniowych Ministerstwa Zdrowia: <https://basiw.mz.gov.pl/>). W krajach rozwiniętych, jak Stany Zjednoczone, HF dotyka około 2% populacji ogólnej - jednak spodziewany jest istotny wzrost tej liczby w kolejnych latach, w miarę starzenia się społeczeństwa oraz postępów medycyny wydłużających przeżycie pacjentów z niewydolnością serca [3]. Znaczące jest również ryzyko rozwoju niewydolności serca w trakcie całego życia. Według ekspertów amerykańskich, dla osoby 45-letniej wynosi ono 20-45% i rośnie wraz z nasileniem czynników ryzyka HF, ze szczególnym uwzględnieniem otyłości oraz nadciśnienia tętniczego [3]. Śmiertelność w niewydolności serca, mimo postępów farmakoterapii, elektroterapii, programów kompleksowej opieki nad pacjentami z HF, pozostaje wysoka, a rokowanie jest porównywalne z nowotworami złośliwymi: rakiem jelita grubego, jajnika, pęcherza moczowego, natomiast gorsze od jednych z najczęstszych nowotworów: raka piersi u kobiet i raka prostaty u mężczyzn [4].

Skala zachorowalności oraz rokowanie wskazują na obciążenia - zarówno ekonomiczne - dla systemu opieki zdrowotnej oraz społeczne, pod względem utraconych lat życia (*ang. years of life lost, YLLs*) oraz lat życia skorygowanych niesprawnością (*ang. disability adjusted life-years, DALY*). Jak wykazała Gańczak M i wsp. choroba

niedokrwienna serca (*ang. ischemic heart disease, IHD*), która stanowi etiologię nawet 75% przypadków niewydolności serca w Polsce, na przestrzeni ostatnich trzech dekad, niezmiennie jest główną przyczyną YLLs oraz DALY [5]. W naszym kraju wskaźniki hospitalizacji i re-hospitalizacji z powodu HF należą do najwyższych w Europie, a koszty z tym związane stanowią 90% wydatków płatnika publicznego ponoszonych w związku z opieką nad pacjentami z niewydolnością serca [6]. Autorzy raportu „Ocena kosztów niewydolności serca w Polsce z perspektywy gospodarki państwa.” szczególną uwagę zwracają na stale rosnące koszty pośrednie, które znacznie przekraczają wydatki bezpośrednie związane z leczeniem. Należą do nich: przedwczesny zgon osoby w wieku produkcyjnym, trwała niezdolność do pracy, nieobecność w pracy z powodu choroby, obniżona produktywność osób chorych obecnych w pracy [6]. Szacuje się, iż całkowity koszt związany z HF w Polsce rocznie może wynosić nawet 3,5 mld PLN [7].

3.2. Definicja i klasyfikacja niewydolności serca w świetle aktualnych wytycznych towarzystw naukowych.

Niewydolność serca to zespół objawów klinicznych powstających jako manifestacja nieprawidłowości strukturalnych lub funkcjonalnych serca prowadzących do upośledzenia fazy napełniania lub wyrzutu cyklu sercowego. Wytyczne ACCF/AHA z 2013 roku za podstawowe objawy podmiotowe uznają: duszność, męczliwość, upośledzenie tolerancji wysiłku oraz często występujące w badaniu przedmiotowym objawy retencji płynów [8]. Rekomendacje Europejskiego Towarzystwa Kardiologicznego (*ang. European Society of Cardiology, ESC*) dodatkowo za typowe dolegliwości uznają: orthopnoe, napadową duszność nocną, znużenie, obrzęki okołokostkowe oraz objawy fizykalne: zwiększone ciśnienie w żyłach szyjnych, objaw wątrobowo-szyjny, trzeci ton serca, przemieszczenie boczne uderzenia koniuszkowego. Przyczyną powstania tego złożonego zespołu symptomów mogą być arytmie, choroby osierdzia, wsierdzia, zastawek lub dużych naczyń serca, ale najczęściej wynikają z upośledzenia funkcji skurczowej lub rozkurczowej mięśnia sercowego [9]. Dlatego w

przeszłości typowo wyróżniano „skurczową HF” oraz „rozkurczową HF” - obecnie jednak odstąpiono od tego mylnego rozgraniczenia ponieważ jest oczywiste, iż obie te dysfunkcje często współwystępują. Ogólnie przyjęty podział niewydolności serca wyróżnia: HF z obniżoną frakcją wyrzutową (*ang. ejection fraction, EF*) < 40% (*ang. heart failure with reduced ejection fraction, HFrEF*) oraz z zachowaną frakcją wyrzutową, $EF \geq 50\%$ (*ang. heart failure with preserved ejection fraction, HFpEF*) - w zależności aktualnego poziomu EF lewej komory [8][10]. Postacie HF z EF o wartościach pomiędzy 41 a 49% amerykańskie środowisko kardiologiczne klasyfikuje w obrębie HFpEF, wyróżniając jednocześnie dwa specyficzne podtypy: HFpEF „borderline” z graniczną wartością EF: 41 - 49% - o prawdopodobnie podobnej charakterystyce i rokowaniu do klasycznego HFpEF, a także HFpEF „improved” z wartością $EF > 40\%$ - to pacjenci z pierwotnie HFrEF, których funkcja skurczowa mięśnia sercowego uległa poprawie, np. w skutek zastosowanego leczenia [8]. ESC w 2016 roku po raz pierwszy wyróżniło osobną postać HF dla tzw. „szarej strefy” wartości frakcji wyrzutowej: 40 - 49% - niewydolność serca z pośrednią frakcją wyrzutową (*ang. heart failure with mid-range ejection fraction, HFmrEF*) [10], co miało na celu zwrócenie większej uwagi na tą grupę chorych w badaniach klinicznych. Kryterium rozpoznania HF, w świetle obowiązujących europejskich wytycznych, jest stwierdzenie typowych objawów podmiotowych oraz ew. przedmiotowych, a także obniżonej frakcji wyrzutowej < 40%. W przypadku wartości $EF \geq 40\%$ konieczne jest potwierdzenie podwyższonego stężenia peptydów natriuretycznych (BNP > 35 pg/ml i/lub NT-proBNP > 125 pg/ml), jak również: nieprawidłowości strukturalnych definiowanych jako przerost lewej komory (*ang. left ventricular hypertrophy, LVH*) i/lub powiększenia lewego przedsionka (*ang. left atrial enlargement, LAE*) bądź też wykładników echokardiograficznych dysfunkcji rozkurczowej miokardium [10]. Kryterium LVH jest wskaźnik masy lewej komory (*ang. left ventricular mass index, LVMI*) $\geq 115 \text{ g/m}^2$ dla mężczyzn i $\geq 95^2 \text{ g/m}$ dla kobiet, natomiast wyznacznikiem LAE jest indeksowana objętość lewego przedsionka (*ang. left atrial volume index, LAVI*) > 34ml/m². Dysfunkcja rozkurczowa jest złożoną diagnozą, dla postawienia której konieczne jest wyznaczenie kilku parametrów

echokardiograficznych, z których najważniejsze są: wskaźnik $E/e' \geq 13$ oraz $e' < 9$ cm/s (średnia dla przegrody międzykomorowej oraz ściany bocznej lewej komory [10]. Standardy amerykańskie wskazują 5 parametrów, z których min. 3 muszą być spełnione w celu postawienia diagnozy: przegrodowy $e' < 7$ cm/s, boczny $e' < 10$ cm/s, $E/e' \geq 14$ (wartość e' uśredniona), LAVI > 34 ml/m², maksymalna prędkość fali niedomykalności zastawki trójdzielnej $> 2,8$ m/s [11]. Pacjent z niewydolnością serca może zostać sklasyfikowany zgodnie ze stadium rozwoju choroby, wg podziału ACCF/AHA [12] - Tab. 1, lub też zgodnie z nasileniem objawów, wg klasycznej skali Nowojorskiego Towarzystwa Kardiologicznego (*ang. New York Heart Association, NYHA*) [9] - Tab. 2.

Tab. 1. Klasyfikacja stadium niewydolności serca wg ACCF/AHA.

A	Wysokie ryzyko rozwoju niewydolności serca. Brak strukturalnej choroby serca lub objawów niewydolności serca.
B	Strukturalna choroba serca bez objawów niewydolności serca.
C	Strukturalna choroba serca z objawami niewydolności serca (obecnie lub w przeszłości).
D	Niewydolność serca z objawami opornymi na leczenie, wymagająca specjalnych działań.

Tab. 2. Klasyfikacja czynnościowa niewydolności serca wg NYHA.

I	Brak ograniczeń aktywności fizycznej. Normalna aktywność fizyczna nie powoduje objawów HF.
II	Niewielkie ograniczenie aktywności fizycznej. Normalna aktywność fizyczna powoduje wystąpienie objawów HF.
III	Istotne ograniczenie aktywności fizycznej. Mniejsza niż normalna aktywność fizyczna powoduje wystąpienie objawów HF.

IV	Brak możliwości podejmowania jakiegokolwiek aktywności fizycznej lub objawy HF w spoczynku.
----	---

3.3. Etiologia oraz patofizjologia niewydolności serca z obniżoną frakcją wyrzutową.

Pomimo łagodnego trendu w kierunku spadku zapadalności w ostatnich latach, HFrEF jest bardzo ważną postacią niewydolności serca [13]. Zidentyfikowano liczne przyczyny wywołujące dysfunkcję skurczową miokardium, a w konsekwencji rozwój pełnoobjawowej choroby - Tab. 3. Kluczowe zdarzenie w tym procesie może być nagłe, jak np. ostre niedokrwienie m. sercowego, lub rozciągnięte w czasie, jak np. zaburzenia metaboliczne, naciekanie lub spichrzanie, które prowadzi do trwałego lub przejściowego zaburzenia kurczliwości mięśnia sercowego [14]. Aktywuje to mechanizmy kompensacyjne mające na celu krótkoterminowe utrzymanie optymalnej pojemności minutowej oraz perfuzji życiowo ważnych organów, a które w dłuższej perspektywie prowadzą do pogłębienia istniejących nieprawidłowości.

Tab. 3. Potencjalne przyczyny niewydolności serca z obniżoną frakcją wyrzutową:

Choroba niedokrwienna serca: martwica, ogłuszenie, hibernacja miokardium.
Nadciśnienie tętnicze
Nabyte wady zastawkowe
Zaburzenia rytmu serca (tachyarytmie i bradyarytmie)
Uszkodzenia toksyczne: alkohol, kokaina, amfetamina, metale ciężkie, cytostatyki, radioterapia
Wrodzone wady serca

Schorzenia genetyczne: kardiomiopatie, dystrofia mięśniowa
Choroby naciekowe: amyloidoza, sarkoidoza, naciekanie nowotworowe
Choroby spichrzeniowe: hemochromatoza, ch. Pompego, ch. Fabry'ego
Choroby infekcyjne: wirusy, bakterie, grzyby, pierwotniaki (choroba Chagasa)
Choroby związane z reakcją immunologiczną: olbrzymiokomórkowe/limfocytowe zapalenia m. sercowego, zapalenie m. sercowego w przebiegu eozynofilii (ch. Churg-Straussa)
Zaburzenia metaboliczne: niedobory żywieniowe (np. tiamina , żelazo), zaburzenia endokrynne (ch. tarczycy, przytarczyc, akromegalia, ch. Conna, ch. Addisona, cukrzyca, pheochromocytoma)
Kardiomiopatia okołoporodowa

Na podstawie: Wytyczne ESC dotyczące diagnostyki i leczenia ostrej i przewlekłej niewydolności serca w 2016 roku. Ponikowski P, Voors AA i wsp., *Eur. Heart J.*, 2016. Zmodyfikowane.

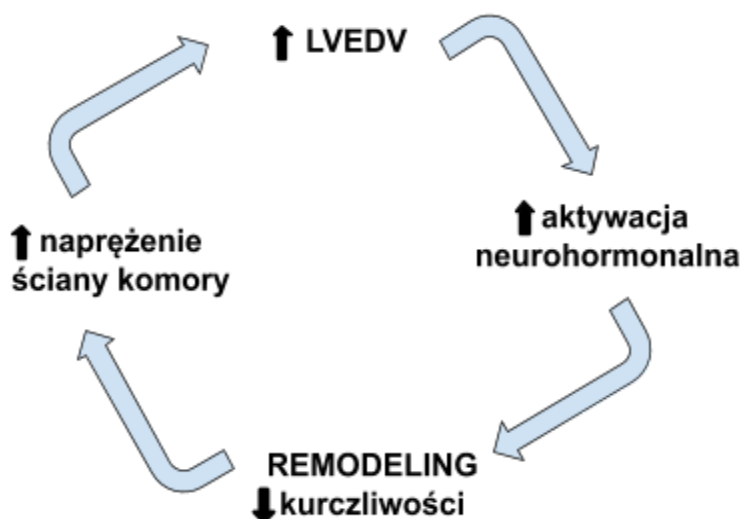
Nacześniejszą przyczyną HFrEF jest niedokrwienie miokardium - w różnych postaciach choroby niedokrwiennej serca (*ang. ischemic heart disease, IHD*). W badaniu Framingham Heart Study analizującym oryginalną kohortę z miasteczka Framingham oraz ich potomków - stwierdzono HF u 652 pacjentów, a etiologię niedokrwinną stwierdzono w 54% przypadków [15]. W kolejnej analizie, spośród 534 nowo-powstałych, objawowych niewydolności serca na przestrzeni lat 1981-2004, tło IHD wykryto w 52%, przy czym zdecydowanie częściej byli to mężczyźni, w 77% z wywiadem przebytego zawału serca [16]. Jako inne główne przyczyny HFrEF w powyższym badaniu określono nadciśnienie tętnicze (NT) oraz nabyte wady zastawkowe serca (*ang. valvular heart disease, VHD*). Analiza Teerlink JR i wsp., do której włączono 1861 pacjentów wykazała, iż można zastosować dychotomiczny podział niewydolności serca ze względu na etiologię, otrzymując rozkład 50% vs 50% -

odpowiednio: IHD HF vs non-IHD HF [17]. Co ciekawe, w powyższym badaniu w przypadku nieniedokrwienego podłoża niewydolności serca, 50% pacjentów określono jako idiopatyczna HF, 11% chorobę przypisano VHD, 10% NT, natomiast u 5% toksycznym uszkodzeniu miokardium przez etanol. Cykliczny brytyjski raport, sporządzony na podstawie analizy 58 885 nieplanowanych hospitalizacji z powodu niewydolności serca na przestrzeni lat 2017/2018 stwierdził, iż $\frac{2}{3}$ pacjentów stanowiły osoby z HFrEF, a wśród nich IHD występowała u 46% [18]. W europejskim programie badania niewydolności serca, do którego włączono ponad 10 000 nieplanowanych hospitalizacji z powodu HF, obecność choroby wieńcowej stwierdzono u 68% pacjentów [19]. natomiast w analizie dotyczącej ostrej HF (*ang. acute heart failure, AHF*) ostry zespół wieńcowy był jej wystąpienia w 60% przypadków [20]. Badając populację polską pacjentów ambulatoryjnych ze zdiagnozowaną niewydolnością serca Rywik i wsp. etiologię niedokrwieną stwierdzili u >80% pacjentów, przy czym najczęściej IHD współwystępowała z innymi schorzeniami, głównie nadciśnieniem tętniczym [21]. Czynniki etiologiczne, bez względu na charakter, rozpoczynają proces rozwoju choroby, który można podzielić arbitralnie na 3 fazy [22]:

1. Faza aktywacji natychmiastowych mechanizmów regulacyjnych.
2. Faza adaptacji przewlekłej i przerostu komórek.
3. Faza przerostu i dekompensacji układu krążenia.

Mechanizmy regulacji krótkoterminowej, w warunkach prawidłowych mają na celu kompensować zaburzenia homeostazy krążeniowej jakim codziennie poddawany jest ustrój, np. wysiłek fizyczny, utrata płynów ustrojowych itp. Możemy je podzielić na: hemodynamiczne (np. mechanizm Franka-Starlinga), neurogenne (np. odruch z baroreceptorów, aktywacja układu współczulnego) oraz humoralne (np. aktywacja układu RAA, wzrost stężenia wazopresyny). Jednakże ich działanie okupione jest zwiększeniem obciążenia mechanicznego oraz energetycznego kardiomiocytów. W dłuższej perspektywie przeciążone kardiomiocyty oraz mięsień sercowy jako całość,

adaptuje się do zaistniałej sytuacji przez zmianę ekspresji genów, produkcji białek, hipertrofię komórek oraz przerost ściany komór (koncentryczny lub ekscentryczny). Prowadzi to do względnej normalizacji pierwotnie zaburzonej rezerwy regulacyjnej pracy mięśniówki komór oraz jej parametrów hemodynamicznych. Przedłużający się stan wzmożonej aktywacji kompensacyjnych mechanizmów neurohormonalnych prowadzi do tzw. *remodelingu*, czyli przebudowy serca na poziomie komórkowym (głw. włóknienie miokardium) oraz jam serca (zmiana geometrii komór). Dekompensacja układu krążenia objawia się klinicznie w momencie przekroczenia przez zwiększające się obciążenie ciśnieniowe / objętościowe komory możliwości kompensacyjnych przerostu mięśnia sercowego. Prowadzi to do zastoju krwi w komorze (zwiększona objętość końcoworozkurczowa, LVEDV) i napędza „błędne koło” niewydolności serca - Ryc. 1. Nasiloną aktywacją neurohormonalną w tym patomechanizmie oznacza zmianę (najczęściej wzrost) syntezy i wydzielania szeregu czynników endo-, para- oraz autokrynych, produkowanych zarówno w komórkach serca jak i innych narządach (np. nerki, płuca, śródbłonek naczyniowy).



Ryc. 1. „Błędne koło” patofizjologii niewydolności serca.

Do podstawowych, najlepiej scharakteryzowanych, odchyleń neurohormonalnych w niewydolności serca zalicza się [23]:

- ↑ stężenia katecholamin (wyraz zwiększonego napięcia układu współczulnego),
- ↑ stężenie składowych układu renina-angiotensyna-aldosteron (RAA),
- ↑ stężenie endoteliny,
- ↑ stężenie peptydów natriuretycznych (ANP, BNP),
- ↑ stężenia cytokin prozapalnych.

Stwierdzenie tych, stosunkowo łatwo wyznaczalnych, odchyleń biochemicznych we krwi u pacjentów z HF, stało się podwaliną pod traktowanie w/w czynników jako biomarkerów choroby.

3.4. Zastosowanie klasycznych biomarkerów niewydolności serca w diagnostyce, leczeniu oraz ocenie rokowania.

Pojęcie biomarkera wprowadziła grupa robocza amerykańskiej agencji rządowej National Institutes of Health (NIH) i w dosłownym tłumaczeniu oznacza ono „znacznik biologiczny”. Zdefiniowano go jako: „cechę mierzalną lub możliwą do obiektywnej oceny, będącą wyznacznikiem procesów fizjologicznych bądź patologicznych lub odpowiedzi na interwencję terapeutyczną” [24]. Zgodnie z tą definicją biomarkerem może być dowolny zmierzony wskaźnik, jednak powszechnie terminu używa się do określenia stężenia określonych substancji we krwi lub płynach ustrojowych. Kryteria doskonałego markera choroby pierwszy sformułował Ridker PM [25], a następnie zmodyfikowali Morrow i de Lemos [26]:

- dostępna dokładna i powtarzalna metoda pomiarowa, w rozsądnej cenie,
- dostępne przekonujące dane iż pomiar dostarcza istotnej, dodatkowej wiedzy o rokowaniu w określonej chorobie,
- oznaczenie istotnie pomaga w prowadzonej terapii medycznej lub monitorowaniu choroby.

Biomarkerami o ugruntowanej pozycji w niewydolności serca, choć jeszcze nie w pełni odkrytym potencjale są z pewnością peptydy natriuretyczne (*ang. natriuretic peptides*, NPs), jako wykładnik przeciążenia mięśnia sercowego oraz sercowe troponiny (cTn), jako wskaźnik uszkodzenia kardiomiocytów. Zgodnie z wytycznymi ESC postępowania w niewydolności serca oznaczenie BNP lub NT-proBNP można stosować jako wstępny test diagnostyczny w ocenie pacjentów z objawami odpowiadającymi niewydolności serca [10]. Ustalono punkty odcięcia BNP < 35 pg/ml, NT-proBNP < 125 pg/ml dla nieostrego początku objawów oraz BNP < 100 pg/ml, NT-proBNP < 300 pg/ml, MR-proANP (środkowy fragment propeptydu natriuretycznego typu A) < 120 pmol/l dla ostrego początku objawów charakteryzujące się wysoką negatywną wartością predykcyjną. Dlatego też, na tym etapie, oznaczeń tych dokonuje się głównie w celu wykluczenia sercowego pochodzenia dolegliwości. Należy również rozważyć oznaczenie poziomu peptydów natriuretycznych w celu kwalifikacji do określonego postępowania terapeutycznego. Troponiny, wg ekspertów europejskich mogą być wykorzystywane, razem z NPs, w wykrywaniu i monitorowaniu kardiotoxyczności stosowanej chemioterapii [10]. Inne biomarkery wymienione w cytowanym dokumencie, tj. sST2, galektyna-3, kopeptyna, adrenomedullina, nie otrzymały rekomendacji do stosowania ze względu na brak, w opinii autorów, wystarczających dowodów na ich przydatność w codziennej praktyce klinicznej. Bardziej liberalną postawę prezentują uaktualnione wytyczne amerykańskich towarzystw kardiologicznych. Zważywszy na stosunkowo szeroką dostępność oznaczeń NPs oraz zadowalający poziom czułości i specyficzności zauważony został potencjał do przesiewowego wykrywania HF u pacjentów z grupy ryzyka (stadium A wg podziału ACCF/AHA - Tab. 1.) [27]. Najwyższą klasę zaleceń nadano badaniu NPs w celu ustalenia bądź wykluczenia diagnozy HF, oceny rokowania lub zaawansowania HF, a także badaniu NPs i/lub cTn dla oszacowania ryzyka niepomyślnych zdarzeń u pacjenta hospitalizowanego z ostrą niewydolnością serca. Ponadto uznano przydatność (wartość dodana do NPs / cTn) oznaczenia nowszych biomarkerów włóknienia miokardium w wyznaczeniu ryzyka

hospitalizacji i zgonu pacjentów z przewlekłą HF [27]. Zestawienie aktualnych rekomendacji przedstawiono w Tabeli nr 4.

Tab. 4. Porównanie wytycznych postępowania w HF ESC [10] oraz ACCF/AHA/HFSA [27] w zakresie stosowania biomarkerów.

Biomarker i jego zastosowanie:	Rekomendacja ESC	Rekomendacja ACCF/AHA/HFSA
NPs w grupie ryzyka HF / prewencja HF	-	Ila
NPs diagnostycznie w podejrzeniu AHF	I	I
cTn diagnostycznie / prognostycznie przy hospitalizacji z powodu HF	I (diagnostycznie)	I (prognostycznie)
NPs prognostycznie przy przyjęciu z powodu HF	Ila	I
NPs prognostycznie przy wypisie pacjenta z HF	-	Ila
Biomarkery włóknienia (np. sST2, galektyna-3) prognostycznie w przewlekłej niewydolności serca	-	Ilb

3.5. Przegląd nowych biomarkerów w niewydolności serca.

Stale rosnąca lista potencjalnych biomarkerów wymaga pewnego uporządkowania. W 2008 roku Eugene Braunwald zaproponował podział na 7 podstawowych klas [28]:

- I. Związane ze stanem zapalnym.

- II. Związane ze stresem oksydacyjnym.
- III. Związane z przebudową macierzy pozakomórkowej.
- IV. Neurohormony.
- V. Związane z uszkodzeniem kardiomiocytów.
- VI. Związane z obciążeniem kardiomiocytów.
- VII. Biomarkery o nieustalonym znaczeniu.

Celem poniższego opracowania jest przegląd informacji o nowych biomarkerach niewydolności serca oraz ich znaczeniu w praktyce klinicznej, z wyłączeniem peptydów natriuretycznych oraz troponin. Pełna lista omówionych wskaźników została zawarta w Tabeli nr 5. W przypadku posiadania przez biomarker cech więcej niż jednej klasy zaszeregowania dokonano zgodnie z przeważającymi danymi literaturowymi.

Tab. 5. Biomarkery niewydolności serca zgodnie ze zmodyfikowanym podziałem wg Braunwalda.

I. Stan zapalny	białko C-reaktywne (CRP) czynnik martwicy nowotworów alfa (TNF α) interleukiny 1,6,18 (IL-1, IL-6, IL-18) Fas (APO-1) różnicujący czynnik wzrostu (GDF-15)
II. Stres oksydacyjny	mieloperoksydaza (MPO) kwas moczowy malonodialdehyd oksydowany LDL
III. Remodeling macierzy pozakomórkowej	metaloproteinazy macierzy pozakomórkowej (MMPs) tkankowe inhibitory metaloproteinaz (TIMPs) propeptydy kolagenu I, III rozpuszczalne ST2 (sST2)

		galektyna-3 (Gal-3)
IV.	Neurohormony / peptydy osoczowe	chromogranina A proenkefalina endotelina-1 (ET-1) wazopresyna (hormon antydiuretyczny, ADH) kopeptyna adrenomedulina (ADM) adiponektyna leptyna apelina
V.	Uszkodzenie kardiomiocytów	troponiny sercowe białko wiążące kwasy tłuszczowe typu sercowego (hFABP) łańcuch lekki miozyny typu 1 sercowe białko C wiążące miozynę
VI.	Obciążenie kardiomiocytów	peptydy natriuretyczne
VII.	Niesklasyfikowane	cystatyna C lipokalina związana z żelatynazą neutrofilów (NGAL) mikroRNA

3.5.1. Biomarkery związane ze stanem zapalnym.

W ciągu lat badań klinicznych zgromadzono liczne dowody na obecność stanu zapalnego o niskim nasileniu w niewydolności serca, jednakże wciąż brak pewności co do zależności przyczynowo-skutkowej [29]. Prawdopodobnie, mediatory stanu zapalnego stanowią zarówno odpowiedź na czynnik uszkadzający mięsień sercowy jak

i, obecne przewlekłe w podwyższonych stężeniach, mogą powodować jego dysfunkcję. W badaniu Framingham Heart Study obserwując kohortę >700 starszych osób, po kilku latach obserwacji u 8% pacjentów rozpoznano HF. Stwierdzono, iż podwyższone stężenie CRP (niespecyficzny marker stanu zapalnego), IL-6 (plejotropowa cytokina, która produkowana jest m. in. w komórkach serca) oraz poziom syntezy TNF α (silny czynnik cytotoksycznego i proapoptotycznego) w jednojądrzastych komórkach krwi obwodowej były niezależnym predyktorem wystąpienia choroby. Wysokie wartości wszystkich trzech biomarkerów zwiększały ryzyko HF 4-krotnie [30]. Cytokiny prozapalne powodują apoptozę lub hipertrofię kardiomiocytów, a także stymulują destrukcję macierzy pozakomórkowej poprzez nasilenie aktywności metaloproteinaz [28], natomiast CRP powoduje dysfunkcję śródbłonna naczyniowego i zmniejszenie produkcji tlenu azotu [31]. Wykazano iż podwyższony poziom CRP wskazuje na bardziej zaawansowaną HF [32] oraz wiąże się z gorszym rokowaniem [32,33]. U pacjentów poddawanych terapii resynchronizującej wysokie stężenie CRP we krwi jest niezależnym czynnikiem predykcyjnym braku odpowiedzi na leczenie (non-responder) [34], natomiast redukcja CRP po zastosowanym leczeniu farmakologicznym może być zapowiedzią poprawy w zakresie funkcji skurczowej lewej komory [35]. Wykazano, iż także inne białko z rodziny pentraksyn - tzw. białek ostrej fazy, do której należy CRP, tj. pentraksyna-3, jest również czynnikiem niekorzystnego rokowania w HF [36]. Doniesienia w zakresie terapii przeciwzapalnych stosowanych w niewydolności serca są niejednoznaczne. W randomizowanym badaniu z rosuwastatyną, do którego włączono 5000 pacjentów ze średnią EF 31% uzyskano istotną redukcję poziomu CRP bez wpływu na pierwotny, złożony punkt końcowy (śmiertelność CV, MI niezakończony zgonem, udar niezakończony zgonem), jednakże uzyskano redukcję hospitalizacji z przyczyn sercowo-naczyniowych [37]. Również wynikiem zmniejszenia odsetka hospitalizacji zakończyło się małe badanie REDHART, w którym zastosowano anakinrę (rekombinowanego antagonisty receptora IL-1) w grupie pacjentów z ostatnio zdekompensowaną HFrEF [38]. W sub-analizie badania CANTOS z wykorzystaniem kanakinumabu (przeciwciała przeciwko interleukinie 1 β) zaplanowano sprawdzenie

działania w objawowej niewydolności serca. Niestety przedwczesne zakończenie rekrutacji spowodowało drastyczne ograniczenie liczebności analizowanej grupy i utrudnia wyciąganie wniosków [39].

TNF α jest przedstawicielem szerokiej rodziny cytokin prozapalnych i cytotoksycznych, związanych z patogenezą niewydolności serca [40]. Należy do niej szereg substancji, dla których wykazano wpływ na rokowanie pacjentów z niewydolnością serca, takich jak: osteoprotegeryna [41,42], związany z TNF ligand wywołujący apoptozę (*ang. TNF-related apoptosis inducing ligand*, TRAIL) [43], ligand CD40 [44], ligand Fas/CD95 [45]. Także receptory dla ligandów należących do nadrodziny TNF (nazywanej czasami „receptorami śmierci”) zwróciły uwagę badaczy jako potencjalne znaczniki niewydolności serca. Wykazano m. in. korelację pomiędzy poziomem osoczymym receptorów TNF oraz wykładnikami dysregulacji autonomicznej w niewydolności serca [46]. Błonowe białko Fas (albo APO-1, *ang. apoptosis antigen 1*), klasyfikowane jako CD95, należące do nadrodziny receptorów TNF, ulega ekspresji na wielu typach komórek, również kardiomiocytach oraz posiada formę rozpuszczalną, obecną we krwi, której stężenie koreluje z nasileniem objawów HF [47]. Analizując ekspresję Fas w komórkach schyłkowo niewydolnego serca nie stwierdzono istotnych zmian po zastosowaniu zaawansowanego leczenia w postaci mechanicznego wspomaganie krążenia [48]. W badaniach klinicznych obrano również za cel terapeutyczny TNF α , dążąc do zablokowania jego biologicznej aktywności za pomocą rekombinowanego białka receptorowego (etanercept) lub swoistego, chimerycznego przeciwciała (infliksimab). Jak dotąd nie wykazano korzyści z zastosowania takiego leczenia w HF, a nawet stwierdzono zwiększone ryzyko zgonu i hospitalizacji z powodu HF u pacjentów leczonych infliksimabem [49–51].

Należący do rodziny TGF β różnicujący czynnik wzrostu 15 (*ang. growth/differentiation factor 15*, GDF-15) jest regulatorem procesu zapalnego i apoptozy, którego synteza indukowana jest przez liczne czynniki uszkodzające [52]. W miokardium, w stanie

fizjologicznym, nie jest produkowany, natomiast ulega ekspresji np. w wyniku uszkodzenia spowodowanego niedokrwieniem/reperfuzją [53] oraz przeciążenia ciśnieniowego [54]. W badaniu The Rancho Bernardo Study obserwowano 1391 dorosłych osób, bez rozpoznanej CVD, przez średnio 11 lat. Wyjściowe wysokie stężenie GDF-15 było niezależnym czynnikiem ryzyka zgonu sercowo-naczyniowego, ale także z dowolnej przyczyny [55]. W populacji pacjentów kardiologicznych poziom GDF-15 koreluje ze stężeniem NT-proBNP, klasą NYHA oraz jest niezależnym czynnikiem ryzyka zgonu, zarówno w HF [56] jak i u pacjentów z ostrym zawałem serca [57–59]. Czy GDF-15 w połączeniu z klasycznymi biomarkerami (NPs, cTn) poprawi stratyfikację ryzyka w niewydolności serca? Wstępne wyniki są niejednoznaczne - z pewnością konieczne są dalsze badania [60,61].

3.5.2. Biomarkery związane ze stresem oksydacyjnym.

Udział stresu oksydacyjnego oraz reaktywnych form tlenu (*ang. reactive oxygen species*, ROS) w patogenezie niewydolności serca jest dobrze udokumentowany [62–64]. Trudności w bezpośrednim pomiarze poziomu reaktywnych form tlenu działających cytotoksycznie oraz mnogość pośrednich skal o wciąż niezadowalającej przydatności klinicznej stymulują poszukiwania stabilnych, obiektywnych oraz łatwo dostępnych markerów stresu oksydacyjnego.

Mieloperoksydaza (MPO) to enzym produkowany przez wzbudzone granulocyty oraz monocyty jako element nieswoistej reakcji zapalnej. Jego udział w powstawaniu zmian miażdżycowych oraz w przewidywaniu ostrych zespołów wieńcowych został szczegółowo zbadany [65,66]. W niewydolności serca stwierdzono podwyższone stężenie MPO, a w ostatnich latach wykazano przydatność oznaczenia MPO w ocenie ryzyka wystąpienia HF w obserwacji odległej u osób bez rozpoznanej CVD [67] oraz w przesiewowym wykrywaniu dysfunkcji skurczowej lewej komory [68]. Prawidłowa wartość MPO miała >99% negatywnej wartości predykcyjnej, a połączone oznaczenie

NT-proBNP, CRP oraz MPO prawie 90% specyficzności w wykrywaniu niewydolności lewokomorowej. MPO stała się również obiektem zainteresowania jako cel terapeutyczny - w zwierzęcym modelu zawału serca podawanie jej specyficznego inhibitora (PF-1355) o 44% poprawiło EF w obserwacji 21-dniowej oraz istotnie zmniejszyło objętość końcoworozkurczową lewej komory (*ang. left ventricular end-diastolic volume*, LVEDV) [69]. Kolejne badania nad antagonistami MPO w niewydolności serca trwają.

Kwas moczowy, produkt katabolizmu puryn w procesie katalizowanym przez oksydazę ksantynową, jest szeroko dostępnym wykładnikiem nasilenia stresu oksydacyjnego [70]. W badaniu Framingham Offspring Study poddano retrospektywnej analizie 196 przypadków HF, które wystąpiły w grupie prawie 5000 uczestników badania przez prawie 3 dekady obserwacji. Stwierdzono, iż wysokie wyjściowe stężenie kwasu moczowego znamienne zwiększało ryzyko wystąpienia niewydolności serca [71]. Ponadto w licznych badaniach udokumentowano złe rokowanie w grupie pacjentów z HF oraz podwyższonym poziomem kwasu moczowego [72,73]. Badania kliniczne z zastosowaniem leków hipourykemizujących o różnych mechanizmach działania (allopurynol, oksypurynol, febuksostat - inhibitory oksydazy ksantynowej, probenecyd - inhibitor resorpcji kwasu moczowego w nefronie) w HF przyniosły niejednoznaczne rezultaty. W 2002 roku opublikowano brytyjską retrospektywną analizę rokowania 1760 pacjentów z prawdopodobną niewydolnością serca (robocza diagnoza postawiona na podstawie spełnienia dwóch kryteriów: przebytego zawału serca oraz przyjmowania diuretyków pęlowych) [74]. Oceniając przeżycie w 4 grupach: nigdy nie stosujący allopurynolu, przewlekłe stosujący dużą dawkę allopurynolu (min. 300 mg/d), krótkotrwale stosujący małą dawkę allopurynolu, przewlekłe stosujący małą dawkę allopurynolu, stwierdzono iż ta ostatnia grupa odznaczała się najwyższą śmiertelnością. Pacjenci stosujący wysoką dawkę oraz nigdy nie przyjmujący allopurynolu charakteryzowali się takim samym rokowaniem. Interpretacja tego spostrzeżenia przedstawiona przez autorów zakłada, iż niska dawka inhibitora oksydazy ksantynowej

nie była w stanie zabezpieczyć przed przewlekłym narażeniem na wysokie stężenie kwasu moczowego, natomiast jego wysoka dawka skutecznie redukowałą stres oksydacyjny do poziomu osób bez hiperurykemii. Jednakże, bezpośrednia ocena wysokiej dawki allopurynolu (600 mg) w randomizowanym, podwójnie zaślepionym badaniu klinicznym, do którego włączono ok. 250 pacjentów z HFrEF oraz wysokim stężeniem kwasu moczowego ≥ 9.5 mg/dl przyniosła rozczarowanie [75]. Pomimo skutecznej redukcji poziomu kwasu moczowego nie uzyskano poprawy stanu klinicznego, objawów lub LVEF. Potwierdziło to negatywne dane płynące z wcześniejszego badania randomizowanego z zastosowaniem oksypurynolu [76]. W niedawno opublikowanej prospektywnej analizie czeskiego rejestru AHEAD dotyczącej pacjentów z ostrą niewydolności serca, którzy przeżyli do wypisu ze szpitala, wykazano, iż hiperurykemia jest markerem złego rokowania, ale jej leczenie nie przynosi korzyści [77]. Toczy się randomizowane badanie (LEAF-CHF) z zastosowaniem innego, silnego inhibitora oksydazy ksantynowej - febuksostatu [78], który ma potencjał do poprawy frakcji wyrzutowej uszkodzonej lewej komory [79]. Probenecyd, lek urykozuryczny, w małym, kontrolowanym placebo, badaniu spowodował poprawę pewnych parametrów funkcji skurczowej i rozkurczowej lewej komory u pacjentów z HFrEF [80]. Nowym kierunkiem w leczeniu dny moczanowej jest podawanie dożylnie peglotykazy, rekombinowanego enzymu katalizującego przekształcenie kwasu moczowego do alantoiny. Jak wykazały badania III fazy, jej stosowanie, niestety, może powodować zaostrzenie współistniejącej niewydolności serca [81].

Oksydowany LDL (oxLDL), czyli utleniona forma lipoprotein o niskiej gęstości zwraca uwagę badaczy szczególnie w kontekście patofizjologii chorób miażdżycowych [82]. Wykazano, iż poziom oxLDL jest wykładnikiem nasilenia procesów oksydacyjnych w organizmie. Jego stężenie zwiększa się w miarę wzrostu stopnia zaawansowania niewydolności serca [83]. Jest również niezależnym czynnikiem rokowniczym zarówno w pozawałowym uszkodzeniu mięśnia sercowego jak i kardiomiopatii nieniedokrwiennej [83]. Ciekawe spostrzeżenia dotyczące patomechanizmów kardiomiopatii

okołoporodowej opublikowali w 2008 roku Forster i wsp. Po 6-miesięcznej obserwacji grupy 38 pacjentek dokonali jej podziału ze względu na osiągniętą lub nie poprawę stanu klinicznego (w zakresie LVEF oraz klasy NYHA) po zastosowanym leczeniu zachowawczym [84]. Okazało się, iż w grupie wykazującej poprawę zauważono istotny spadek, podwyższonego względem zdrowych kontroli, poziomu oksydowanego LDL we krwi, podczas gdy w grupie bez poprawy obserwowano nawet jego niewielki wzrost. Co szczególnie istotne - badacze analizowali panel złożony z 10 proponowanych biomarkerów (m. in. NT-proBNP, CRP, Fas/APO-1 itd.). Jedynie istotny spadek stężenia oxLDL oraz IFN- γ p okresie leczenia rozróżniał dwie grupy pacjentek (poprawa / brak poprawy klinicznej). Sugeruje to iż procesy oksydacyjne mogą mieć szczególne znaczenie patogenezie kardiomiopatii okołoporodowej.

Malonodialdehyd jest produktem peroksydacji nienasyconych kwasów tłuszczowych i postulowanym wskaźnikiem poziomu stresu oksydacyjnego. Na niewielkiej grupie pacjentów z HF wykazano wyższe stężenie osoczowe malonodialdehydu w porównaniu do grupy kontrolnej [85] oraz iż jest to niezależny czynnik wpływający na rokowanie pacjentów [86]. Znaczenie tych odkryć wymaga przeprowadzenia dalszych badań.

3.5.3. Biomarkery związane z przebudową macierzy pozakomórkowej.

Przebudowa macierzy pozakomórkowej (*ang. extracellular matrix, ECM*), czyli strukturalnego szkieletu stanowiącego oparcie oraz środowisko pracy roboczych kardiomiocytów z całą pewnością ma istotny wpływ na patogenezę niewydolności serca [22,28]. Głównym składnikiem ECM są włókna kolagenowe typu I oraz III, ale także elastyna, fibronektyna, laminina. Włókna kolagenowe w sercu są białkami trwałymi, z niskim tempem wymiany. Zaburzenie równowagi pomiędzy procesami ich produkcji i degradacji może wywołać dysfunkcję rozkurczową (przewaga produkcji - włóknienie) lub skurczową (przewaga degradacji - rozstrzeń i remodeling) komór serca. Kolagen

ulega rozkładowi proteolitycznemu, który katalizowany jest przez > 20 rodzajów metaloproteinaz macierzy pozakomórkowej (*ang. matrix metalloproteinases*, MMPs), których aktywność kontrolują tkankowe inhibitory metaloproteinaz (*ang. tissue inhibitors of metalloproteinases*, TIMPs) [22]. Zidentyfikowano liczne czynniki wpływające na proces odkładania (m. in. angiotensyna II, endotelina-1 [ET-1], aldosteron, TGF α oraz TGF β) oraz destrukcji (m. in. katecholaminy, glukokortykosteroidy, IL-1, TNF α) składników ECM [22]. Nasilenie procesów syntezy i dojrzewania włókien kolagenowych odzwierciedlają stężenia we krwi C-końcowych i N-końcowych propeptydów kolagenu I oraz III [87] natomiast C-końcowy telopeptyd kolagenu I powstaje w trakcie procesów proteolitycznych. Stężenie ww. można zmierzyć we krwi obwodowej i wykazano, że ich wysokie stężenie wskazuje na niekorzystne rokowanie pacjentów z niewydolnością serca [88–90]. Ekspresja licznych MMPs (głównie MMP-1, MMP-2, MMP-3, MMP-7, MMP-8, MMP-9, MMP-12, MMP-14) ulega zwiększeniu po zadziałaniu czynnika uszkadzającego miokardium (np. niedokrwienia) [91]. Wydaje się, że szczególnie zaburzenie stosunku MMPs/TIMPs ma kluczowe znaczenie w ocenie ryzyka powstawania niewydolności serca i jak dotąd nie ustalono jednoznacznie, które elementy tego złożonego układu mogą być najbardziej przydatne klinicznie [92].

Z przebudową macierzy pozakomórkowej wiąże się również funkcja dwóch najbardziej obiecujących i uznanych (poza NPs i cTn) biomarkerów badanych w ostatnich latach: sST2 oraz galektyny-3. ST2 to białko receptorowe dla IL-33, cytokiny produkowanej przez kardiomiocyty w odpowiedzi na przeciążenie, które posiada obecną w krążeniu formę rozpuszczalną (*ang. soluble ST2*, sST2). IL-33 posiada właściwości ochronne, redukuje włóknienie oraz przerost miokardium, dlatego sekwestracja tej cytokiny we krwi przez specyficzny receptor przynosi efekt przeciwny [93]. W 2003 roku Weinberg i wsp. wykazała, iż stężenie sST2 w surowicy pacjentów z przewlekłą HF jest podwyższone i koreluje z poziomem peptydów natriuretycznych oraz noradrenaliny, a także jest niezależnym predyktorem złożonego punktu końcowego (zgon lub transplantacja serca) [94]. W kolejnych doświadczeniach udowodniono, że zwiększony

poziom sST2 jest czynnikiem ryzyka rozwoju niewydolności serca po zawale serca [95], zgonu w obserwacji rocznej u pacjentów po przebytej dekomensacji niewydolności serca [96], a także odzwierciedla dysfunkcję obu komór serca [97]. Korzystnie sST2 nie wykazuje zmienności w zależności od wieku, funkcji nerek, BMI, etiologii HF, współwystępowania migotania przedsionków [98]. sST2 posiada również potencjał do optymalizowania farmakoterapii HF. Eskalacja dawki beta-adrenolityku okazała się szczególnie korzystna w redukcji niepomyślnych zdarzeń u pacjentów z niskim poziomem sST2 [99]. Te i inne dowody stały się przyczyną uznania sST2, obok galektyny-3 oraz wysokoczułej cTn, w dokumencie aktualizującym wytyczne amerykańskich towarzystw naukowych dotyczących postępowania w niewydolności serca wydanym w 2017 roku, za marker włóknienia miokardium i dopuszczenia jego oznaczania w celu szerszej stratyfikacji ryzyka u pacjentów z niewydolnością serca [27]. Stało się tak pomimo istnienia obszarów niepewności, jak choćby: czy sST2 rzeczywiście odzwierciedla stopień zwłóknienia mięśnia sercowego? Wątpliwości te pojawiły się po badaniach z wykorzystaniem rezonansu magnetycznego u pacjentów z chorobą wieńcową oraz zapaleniem mięśnia sercowego [100,101], w których nie stwierdzono różnic w stężeniu sST2 wśród grup z różnym poziomem wykładników obrazowych włóknienia miokardium.

Galektyna-3 (Gal-3), drugi z rekomendowanych biomarkerów, przeciwnie - wykazywała istotnie zwiększone stężenie w grupie pacjentów z najbardziej skróconym czasem relaksacji po podaniu gadolinowego środka kontrastowego w obrazach T1-zależnych - parametrem korelujący z włóknieniem oraz dysfunkcją rozkurczową mięśnia sercowego [100]. Gal-3 należy do rodziny lektyn wiążących β -galaktozydy, ulega nasilonej ekspresji w aktywowanych makrofagach i stymuluje proliferację fibroblastów oraz syntezę włókien kolagenowych [102]. Przekłada się to na zaangażowanie galektyny-3 w procesie włóknienia narządowego, w tym również serca [103]. Sharma i wsp. w ciekawym eksperymencie ustalili, iż galektyna-3 podawana doosierdziowo zdrowym szczurom powoduje w obserwacji 4-tygodniowej: spadek frakcji wyrzutowej LV, frakcji skracania

LV oraz wzrost wagi płuc w stosunku do całkowitej masy ciała - co prawdopodobnie wskazywało na zastój w krążeniu płucnym [102]. Galektyna-3 wydaje się mieć niższą wartość diagnostyczną od peptydów natriuretycznych, ale wyróżniającą się zdolność do przewidywania złego rokowania u pacjentów z ostrymi objawami HF [104]. Analizując pacjentów badania Val-HeFT stwierdzono, iż wysokie stężenie Gal-3 koreluje z większym zaawansowaniem HF, a jego wzrost w okresie obserwacji jest niezależnym czynnikiem ryzyka zgonu i hospitalizacji z powodu zaostrzenia choroby [105]. Ueland i wsp. badając Gal-3 wśród pacjentów ze stabilną HFrEF stwierdzili, że wysokie stężenie markera wiąże się szczególnie z ryzykiem zgonu z powodu niewydolności serca jako pompy, ale już nie zgonu arytmicznego [106]. Pomimo wątpliwości w zakresie użyteczności Gal-3 jako markera remodelingu LV oraz wymagającego szczegółowego zbadania znaczenia wpływu zaburzeń funkcji nerek na jej poziom, jest to silny czynnik złego rokowania u pacjentów z HF, szczególnie w połączeniu z NPs [107]. Co ciekawe, w zakresie wpływu na optymalizację farmakoterapii HF, w analizie post-hoc przywoływanego powyżej badania CORONA, wykazano zdolność niskiego poziomu galektyny-3 do identyfikowania pacjentów z niewydolnością serca, którzy mogą odnieść korzyść ze stosowania rozuwastatyny [108]. Badacze stwierdzili redukcję śmiertelności całkowitej oraz złożonych punktów końcowych: śmiertelność całkowita / hospitalizacja z przyczyny HF oraz śmiertelność CV / MI niezakończony zgonem / udar niezakończony zgonem w grupie pacjentów z niedokrwinnym uszkodzeniem mięśnia sercowego poddanej leczeniu rozuwastatyną oraz odznaczających się niskim stężeniem galektyny-3. Jeszcze wyraźniejsze korzyści kliniczne stwierdzono w grupie z dodatkowo niskim stężeniem NT-proBNP. Spekulując, autorzy, przypisali to zjawisko wykryciu grupy pacjentów z niskim, odwracalnym poziomem włóknienia-przebudowy macierzy pozakomórkowej miokardium, u których przeciwzapalne właściwości statyn mogą przynieść poprawę [108].

3.5.4. Neurohormony / peptydy osoczowe.

Stan pobudzenia układów neurohormonalnych (gł. układu współczulnego oraz układu RAA) jest podstawowym elementem złożonej patofizjologii niewydolności serca [9,22]. Progresji bezobjawowej dysfunkcji mięśnia sercowego do objawowej HF, ze stopniowo pogłębiającymi się zaburzeniami hemodynamicznymi, towarzyszy narastanie poziomu poszczególnych neurohormonów obecnych w krążeniu, co koreluje z pogarszającym się rokowaniem [98]. Pomimo szerokiej i ugruntowanej wiedzy o aktywacji neurohormonalnej w niewydolności serca [109], m. in. z przyczyn praktycznych, oznaczenia stężenia np. noradrenaliny czy aldosteronu, nie znajdują się w rozważanych zestawach biomarkerów diagnostycznych i stratyfikujących pacjentów z HF. Z tego też powodu prowadzi się badania wielu znanych i nowo odkrytych hormonów auto-, para- i endokrynych zaangażowanych w patogenezę HF.

Dobrym wskaźnikiem odzwierciedlającym stan aktywacji układu współczulnego jest wydzielana wraz z katecholaminami z zakończeń nerwowych oraz komórek chromochłonnych - chromogranina A, prekursor kilku biologicznie aktywnych peptydów, takich jak: katestatyna, wazostatyna-1 i innych [110]. Chromogranina A oraz produkty jej rozkładu proteolitycznego, generalnie, wydają się mieć znaczenie kardioprotekcyjne, kompensujące nadmierną stymulację katecholaminergiczną [111]. Ich podwyższone stężenie we krwi wskazuje na gorsze rokowanie [112–114], jednak jak dotąd nie udowodniono przekonująco użyteczności klinicznej. W powiązaniu z aktywnością układu współczulnego pozostaje również system endogennych peptydów opioidowych - enkefalin. Produkowane w układzie nerwowym, ale także przez kardiomiocyty, w krążeniu posiadają stabilny prekursor - proenkefalinę [115], której poziom koreluje z zaawansowaniem niewydolności serca oraz jest odwrotnie proporcjonalny do funkcji nerek [116]. Zainteresowanie budzi zdolność proenkefaliny do przewidywania u pacjentów z ostrą niewydolnością serca, obok ryzyka zgonu, prawdopodobieństwa pogorszenia funkcji nerek [117].

Endotelina-1 (ET-1) jest polipeptydem produkowanym przez śródbłonek naczyniowy o silnym działaniu naczynioskurczowym oraz stymulującym proliferację miocytów naczyń krwionośnych. ET-1 powoduje niekorzystną przebudowę i włóknienie mięśnia sercowego a także ściany naczyń krwionośnych [28]. Wykazano iż stężenie endoteliny jest wprost proporcjonalne do zindeksowanej LVEDV oraz klasy NYHA, a odwrotnie do LVEF oraz wskaźnika sercowego [118]. Ze względu na niestabilność właściwej endoteliny-1, lepszym celem pomiarowym wydaje się C-końcowy fragment proET-1, który wykazuje podobne właściwości rokownicze [119]. Jeszcze w latach 80-tych opracowano pierwszy z antagonistów receptora endoteliny, bosentan, który po obiecujących danych z badań przedklinicznych [120,121] został poddany testom w grupie pacjentów z niewydolności serca. Niestety stwierdzono brak wpływu stosowania bosentanu na rokowanie w HF oraz wzrost działań niepożądanych [122–124].

Wazopresyna, czyli przysadkowy hormon antydiuretyczny (*ang. antidiuretic hormone, ADH*), jest ważnym regulatorem gospodarki wodno-elektrolitowej ustroju. Działa poprzez aktywację 2 receptorów: V1- powoduje wazokonstrykcję oraz przerost mięśnia sercowego, V2- retencję wody w organizmie [125]. Podwyższone stężenie ADH zaobserwowano w krążeniu pacjentów z zastoinową niewydolnością serca i uważa się je częściową przyczynę powstawania obrzęków [126]. Tolwaptan, selektywny bloker receptora typu 2 wazopresyny, pomimo iż nie wykazał wpływu na rokowanie to istotnie zredukował objawy przewodnienia u pacjentów z HF [127]. C-końcowy fragment pre-prowazopresyny, nazwany kopeptyną, produkowany w takich samych ilościach co wazopresyna, okazał się bardziej praktycznym biomarkerem ze względu na dłuższy czas półtrwania we krwi. W badaniu BACH (Biomarkers in Acute Heart Failure), wielośrodkowym badaniu oceniającym właściwości diagnostyczne i prognostyczne panelu biomarkerów u pacjentów z ostrą niewydolnością krążenia - kopeptyna okazała się silnym czynnikiem złego rokowania [128]. Także u pacjentów z kardiomiopatią

przerostową kopeptyna miała wyższe stężenie w porównaniu ze zdrowymi osobami oraz była czynnikiem predykcyjnym rozwoju niewydolności serca [129].

Adrenomedulina (ADM) jest osoczymym peptydem produkowanym głównie w śródbłonku oraz w mięśniówce gładkiej ściany naczyń, który ulega degradacji poprzez proteolityczną aktywność neprylizyny [130]. ADM pełni ważną rolę w układzie naczyniowym - w odpowiedzi na przeciążenie objętościowe powoduje wazodilatację oraz zwiększa integralność bariery endotelium co zapobiega nadmiernej przepuszczalności i powstawaniu przesieków. Ponadto ADM jest funkcjonalnym antagonistą angiotensyny II, hamuje przerost mięśnia sercowego i sekrecję aldosteronu [130]. Stwierdzono podwyższone stężenie ADM u pacjentów z HF [131] oraz jego użyteczność w prognozowaniu zgonu podobną, jeśli nie lepszą, do BNP [132,133]. Niedawno, zespół prof. Voorsa postawił hipotezę iż biologicznie aktywna forma ADM może być cennym wykładnikiem zastoju systemowego w niewydolności serca oraz potencjalnym biomarkerem dla modyfikacji terapii diuretycznej [134,135]. W opracowaniu są strategie terapeutyczne związane z biologiczną funkcją ADM. Przede wszystkim postuluje się, iż przynajmniej część udowodnionych korzyści klinicznych ze stosowania inhibitora neprylizyny - sakubitrylu, u pacjentów z HF, płynie ze zmniejszonej degradacji krążącej ADM [136]. Ponadto, w małych badaniach klinicznych wykazano korzystne efekty hemodynamiczne wlewu dożylnego ADM u pacjentów z ostrą HF [137] oraz prekapilarnym nadciśnieniem płucnym [138]. Stworzono również humanizowane przeciwciało monoklonalne - adrecizumab, stabilizujące oraz zwiększające dostępność wewnątrznaczyniowej ADM co przekłada się na zwiększenie szczelności ściany naczyniowej oraz zmniejszenie indukowanej ADM wazodylatacji [130] - jego przydatność w terapii HF z pewnością winna być przedmiotem gruntownych badań klinicznych.

Tkanka tłuszczowa od dłuższego czasu nie jest już traktowana jak bierny magazyn energii i obecnie jej rola jako aktywnego organu wewnątrzwydzielniczego jest dobrze rozpoznana [139]. Scharakteryzowano > 50 adipokin (nazywanych też adipocytokinami), hormonów syntezowanych i uwalnianych przez adipocyty, które odgrywają zasadniczą rolę m.in. w regulowaniu gospodarki energetycznej ustroju, insulinowrażliwości, a także stanu zapalnego [140]. W otyłości, szczególnie tzw. postaci brzusznej, a także w cukrzycy typu II, które są ważnymi czynnikami ryzyka rozwoju niewydolności serca, dochodzi do istotnych zmian w wydzielaniu poszczególnych adipokin, co prawdopodobnie przyczynia się do powstania dysfunkcji m. sercowego ale również stanowi potencjalny marker choroby [141]. Adiponektyna zwiększa wrażliwość tkanek na insulinę oraz jest czynnikiem protekcyjnym przed rozwojem miażdżycy tętnic wieńcowych [142,143]. Paradoksalnie - jej wysokie stężenie we krwi u pacjentów z rozpoznaną IHD zwiększa ryzyko hospitalizacji z powodu HF oraz zgonu, ale nie zawału serca [144]. Kistorp i wsp. na próbie około 200 pacjentów ze stabilną niewydolnością serca wykazali, iż wysokie stężenie adiponektyny jest związane z wyższą śmiertelnością [145]. Być może ta obserwacja wynika z faktu, iż wysokie stężenie adiponektyny charakteryzuje osoby szczupłe, które skądinąd znamienne gorzej rokują w przypadku rozwinięcia niewydolności serca - jest to tzw. paradoks otyłości [146–148]. Leptyna, obiecujący metaboliczny marker niewydolności serca, to kluczowa adipokina mechanizmu zwanego „adipostatem”, który reguluje przyjmowanie pokarmu i uczucie głodu. Zwiększone nagromadzenie kwasów tłuszczowych w adipocytach powoduje wzrost produkcji leptyny, która przekazuje tę informację do podwzgórzowego ośrodka głodu i sytości ekspresję neuropeptydów o właściwościach oreksygenicznym [149]. W badaniu Framingham Study wykazano, iż wzrastający poziom leptyny we krwi ściśle koreluje z BMI oraz, że jest czynnikiem ryzyka rozwoju niewydolności serca na tyle na ile odzwierciedla ryzyko związane z otyłością [150]. Z drugiej strony, kacheksja związana z HF charakteryzuje się istotnym spadkiem poziomu krążącej leptyny [151], co może wynikać także ze zwiększonej aktywności adrenergicznej [152]. Być może leptyna mogłaby stać się laboratoryjnym markerem kacheksji sercowej i możliwości jej

terapii, np. z pomocą zoptymalizowanej terapii beta-adrenolitykami? Dodatkowo, poza funkcjami metabolicznymi, adipokiny mają udowodniony wpływ immunomodulujący na toczący się przewlekłe stan zapalny [153,154], który, jak przedstawiono powyżej, ma swój udział w patogenezie niewydolności serca.

W latach 90-tych XX wieku scharakteryzowano powszechny w układzie sercowo-naczyniowym receptor APJ, wykazujący podobieństwo strukturalne do receptora angiotensyny II - AT1, który ma kardynalne znaczenie dla funkcjonowania układu RAA. Pierwotnie wykazano, iż angiotensyna II nie ma powinowactwa do receptora APJ - a dopiero w 1998 roku Tatemoto i wsp. z żołądków wołowych wyizolowali specyficzny ligand polipeptydowy - apelinę [155]. Apelina powstaje w kilku izoformach, głównie w adipocytach oraz śródbłonku i pobudzając receptor APJ, wywołuje efekt inotropowo dodatni oraz wazodilatację zależną od tlenu azotu [156,157]. Zważywszy na swoisty antagonizm względem aktywności RAAS, uważa się, iż układ apelina-APJ może odgrywać rolę tymczasowej, ulegającej wyczerpaniu, kompensacji w stanie wzbudzenia neurohormonalnego prowadzącego do HF. Zespół prof. McDonagh wykazał znamienne niższe stężenie apeliny w osoczu pacjentów z HFrEF [158]. Zastosowanie terapii urządzeniowej - stymulacji resynchronizującej lub mechanicznego wspomaganie lewej komory powodowało odpowiednio: wzrost ekspresji receptora APJ i apeliny w mięśniu sercowym [159] oraz stężenia apeliny w osoczu [160]. Obserwowane zmiany mogą korelować z korzystnym, odwrotnym remodelingiem miokardium po wprowadzeniu zaawansowanej terapii niewydolności serca. W przywoływanym powyżej badaniu van Kimmenade i wsp. stężenie apeliny we krwi, w przeciwieństwie do galektyny-3, u pacjentów z ostrymi objawami niewydolności serca nie miało znaczenia diagnostycznego i prognostycznego u pacjentów z potwierdzonym AHF [104], podobnie zresztą jak w grupie z przewlekłą HF [161].

Poza wymienionymi w powyższym zestawieniu hormonami, w poszukiwaniach nowych biomarkerów oraz czynników ryzyka rozwoju i dekomensacji niewydolności serca,

zwraca się jeszcze uwagę na: rodzinę urokortyn [162,163], neuregulinę-1 [164], miostatynę [165], iryzynę [166], adropinę [167], osteonektynę [168], osteopontynę [169], kardiostrofinę-1 [170], wisfatynę [171]. Ich znaczenie, jak do tej pory, jest niepewne i niewątpliwie potrzebne są dalsze, szczegółowe badania.

3.5.5. Biomarkery związane z uszkodzeniem kardiomiocytów.

Działanie różnorodnych czynników uszkodzających (np. niedokrwienie, stan zapalny, stres oksydacyjny) prowadzi do uwolnienia białek wewnątrzkomórkowych kardiomiocytów, które stają się wykrywalne we krwi i płynach ustrojowych. Składowe aparatu kurczliwego komórek mięśniowych, o wysokiej specyficzności dla mięśnia sercowego - sercowe troponiny T oraz I, stały się fundamentalnym oznaczeniem w wykrywaniu ostrego lub przewlekłego uszkodzenia mięśnia sercowego [172]. W niewydolności serca, w fazie stabilnej choroby, trwa stan przewlekłego przeciążenia ciśnieniowego (wzrost ciśnienia transmuralnego ściany serca redukuje przepływ wieńcowy) oraz wzmożonej aktywacji neurohormonalnej, o określonym wpływie cytotoksycznym na kardiomiocyty [109]. Fazy dekompensacji HF, to okres nasilonej destrukcji miokardium - dlatego kumulacja zaostrzeń choroby prowadzi do stopniowego pogorszenia rokowania [173]. W licznych badaniach wykazano wartość rokowniczą troponin sercowych, szczególnie oznaczanych metodą wysokoczułą, dlatego też badanie to otrzymało wysoką klasę zaleceń w ostrej niewydolności serca, nie tylko w celu wykluczenia ostrego zespołu wieńcowego jako etiologii obserwowanych zaburzeń, ale także w celu poprawy prognozowania [27]. W ostatnich latach wzrasta zainteresowanie innymi wskaźnikami uszkodzenia miocytów dostarczających dodatkowych informacji.

Białko wiążące kwasy tłuszczowe typu sercowego (*ang. heart-type Fatty Acid Binding Protein*, hFABP), jest sercowym przedstawicielem rodziny jest niewielkich cytoplazmatycznych białek zaangażowanych w transport długołańcuchowych kwasów tłuszczowych do mitochondriów, które ulegają szybkiemu uwolnieniu do środowiska w

momencie uszkodzenia komórki [174]. Dlatego też hFABP, pomimo niepełnej swoistości względem kardiomiocytów, stało się przedmiotem badań w celu określenia klinicznego zastosowania jego oznaczenia we wczesnej diagnozie zawału serca [174]. Znaczenie omawianego białka w gospodarce energetycznej mięśnia sercowego zostało uwidocznione w eksperymencie z wytworzonym knock-outem genowym hFABP u myszy [175]. Spowodował on istotne przesunięcie w użyciu substratów energetycznych na korzyść glukozy względem kwasów tłuszczowych, co obniża efektywność produkcji energii i w efekcie dało objawy powysiłkowego wyczerpania u transgenicznych myszy. Z tego powodu, spekuluje się, że w niewydolności serca dochodzi do obniżenia wydolności energetycznej kardiomiocytów m. in. na skutek utraty cytoplazmatycznego hFABP [174]. Niizeki i wsp. wykazali że pacjenci hospitalizowani z powodu zaostrzenia niewydolności serca, u których w trakcie obserwacji wystąpił zgon z przyczyny sercowej lub re-hospitalizacja odznaczali się wysokim stężeniem hFABP w surowicy, które nie uległo normalizacji do momentu wypisu [176]. Co ciekawe, hFABP w tej analizie okazało się lepszym markerem ryzyka zdarzenia sercowo-naczyniowego niż troponina. Włączenie hFABP do modelu prognostycznego, obok peptydów natriuretycznych, wydaje się przynosić dodatkowe korzyści zarówno u pacjentów z przewlekłą [177], jak i ostrą niewydolnością serca [178]. Inne biomarkery uszkodzenia kardiomiocytów, jak np. łańcuch lekki miozyny typu 1 [179], sercowe białko C wiążące miozynę [179,180] czy też białka szoku cieplnego (tzw. białka opiekuńcze lub chaperonowe), tj. HSP60 [181] oraz HSP70 [182], w dobie łatwo dostępnych, wysokoczułych testów troponinowych, wydaje się, iż mają ograniczone znaczenie.

3.5.6. Biomarkery związane z obciążeniem kardiomiocytów.

Oznaczenie poziomu peptydów natriuretycznych (w różnych wariantach: BNP, NT-proBNP, MR-proANP) jest jednym z podstawowych badań wykonywanych u pacjentów z objawami ostrej lub przewlekłej niewydolności serca w celu postawienia lub

wykluczenia rozpoznania, oceny stadium choroby, rokowania, monitorowania leczenia a w celu przesiewowej oceny obecności dysfunkcji mięśnia sercowego także u bez- lub skąpoobjawowych osób z grupy ryzyka HF [10,27,28]. NPs są syntezowane w kardiomiocytach i uwalniane do krwioobiegu pod wpływem zwiększonego rozciągnięcia jam serca w przebiegu przeciążenia objętościowego oraz zwiększonego napięcia ścian serca w wyniku przeciążenia ciśnieniowego. W takich warunkach wykazano również zwiększoną syntezę innych czynników wykrywanych we krwi, w tym omówionych powyżej: adrenomedulina, GDF-15 oraz IL-33 (ligand dla sST2). Obecnie, dostępne są zaledwie pojedyncze prace dotyczące osteokryny, polipeptydu syntezowanego w układzie mięśniowo-szkieletowym, będącego inhibitorem receptora peptydów natriuretycznych typu 3. Jest to nieaktywny receptor, sekwestrujący głównie biologicznie czynny ANP [183]. W modelu mysim wykazano wzrost poziomu ANP oraz nasilenie jego fizjologicznych efektów, np wazodilatację, po podaniu osteokryny [183]. Ponadto, dożylny wlew osteokryny lub nadekspresja w organizmie transgenicznym przełożyła się na poprawę rokowania po wywołaniu zawału serca, co również przypisano większej aktywności układu NPs. Dalsze badania obejmujące układ peptydów natriuretycznych, w szerokim kontekście, są z pewnością potrzebne.

3.5.7. Niesklasyfikowane biomarkery.

Grupa osoczowych wskaźników oceniana pod kątem użyteczności w szczegółowej ocenie pacjentów z niewydolnością serca sukcesywnie się powiększa o nowe molekuly. Wpływ na występowanie niekorzystnych zdarzeń klinicznych lub śmiertelność pacjentów z HF, w nieznanym mechanizmie, wykazano m. in. dla: osoczowego białka ciężowego A (PAPPA-A) [184,185], podfrakcji 4 ludzkiego białka z komórek nabłonkowych najądrza (HE4) [186], glikoproteiny YKL-40 [187,188], krążącej fosfolipazy A2-IIA (sPLA2-IIA) [189] i innych.

Wśród markerów nie poddających się powyższej kategoryzacji szczególne zainteresowanie wzbudzają nowoczesne wykładniki ostrego oraz przewlekłego uszkodzenia nerek. W przypadku równoległego, wzajemnie zależnego pogarszania się funkcji nerek oraz serca niosą one możliwość złożonej oceny ryzyka wystąpienia sercowo-naczyniowego oraz nerkowego punktu końcowego. Cystatyna C, polipeptydowy inhibitor proteaz cysteinowych, ulega rozkładowi w komórkach cewki proksymalnej nefronu i wzrost jej stężenia we krwi jest wczesnym wykładnikiem uszkodzenia nerek [190]. W grupie pacjentów z objawami ostrej niewydolności serca cystatyna C była niezależnym czynnikiem ryzyka rehospitalizacji i zgonu, a jej wartość rokownicza dodana do modelu predykcyjnego opartego na danych klinicznych oraz wynikach echokardiograficznych była nawet wyższa od poziomu BNP [191]. Podobne dane w populacji AHF uzyskano dla lipokaliny związanej z żelatynazą neutrofilów (*ang. neutrophil gelatinase-associated lipocalin*, NGAL) [192,193]. Jest to glikoproteina uwalniana z komórek nabłonkowych w trakcie ostrego uszkodzenia nerek (*ang. acute kidney injury*, AKI) [194]. W badaniu CORONA, obserwując dużą grupę pacjentów z przewlekłym niedokrwinnym uszkodzeniem lewej komory, nie wykazano jednak by NGAL poprawiał stratyfikację ryzyka względem poziomu NT-proBNP [195]. Na tej podstawie można wyciągnąć wniosek iż czułe metody wykrywania subklinicznego uszkodzenia nerek w warunkach ostrej/zdekompensowanej HF, ale nie przewlekłej HF, mogą wskazać pacjentów o gorszym rokowaniu, niezależnie od parametrów kardiologicznych.

Kamieniem milowym genetyki, otwierającym niewyobrażalne możliwości zastosowań klinicznych, było odkrycie w 1993 roku małego, niekodującego RNA (*ang. small, non-coding RNA*, sRNA), zawierającego anty-sensowną sekwencję wobec fragmentu kodującego mRNA [196]. W procesie interferencji RNA, mikroRNA (miRNA lub miR) - jedna z klas sRNA, post-transkrypcyjnie reguluje ekspresję poszczególnych genów wpływając w ten sposób na cechy fenotypowe. Przykładowo, miR-1, produkowane w sercu w dużych ilościach jest ważnym regulatorem procesu hipertrofii m. sercowego. Na

modelu zwierzęcym stenozy aortalnej wykazano, iż poziom miR-1 istotnie spada przed pojawieniem się cech przerostu LV [197]. Wyciszenie ekspresji miR-1 powodowało hipertrofię kardiomiocytów, natomiast nadekspresja stanowiła czynnik ochronny przed przerostem miokardium wywoływaną izoproterenolem [198]. Ponadto, zidentyfikowano kilka fragmentów (*myomir*) mikroRNA, których ekspresja silnie wiąże się z powstawaniem przerostu lub włóknienia mięśnia sercowego prowadzącego do niewydolności: miR-132, miR-133, miR-212 (hipertrofia) oraz miR-21, miR-24, miR-29 (włóknienie). W przyszłości staną się one prawdopodobnie celem prób terapii genetycznej wytwarzającej analogi niedoborowych mikroRNA (*mimics*) oraz antysensowne, neutralizujące cząsteczki kwasu rybonukleinowego (*antimirs*) [199]. Patrząc z innej strony, okazuje się, że poziom ekspresji specyficznych miRNA oraz ich stężenie we krwi - nazywane „sygnaturą miRNA”, może być wykorzystywane jako biomarker w niewydolności serca. Watson i wsp. wykazali, że niektóre miRNA, np. miR-221 oraz miR-328, oznaczane łącznie mogą z zadowalającą czułością wykrywać HF oraz, iż stosowanie panelu miRNA w połączeniu z BNP doskonale rozróżnia HF_{rEF} od HF_{pEF} bez zastosowania badań obrazowych [200]. Prowadzone są również badania z zastosowaniem miRNA dla poprawy oceny rokowania [201,202]. Jest to nowy, obiecujący obszar badań klinicznych, dlatego wskazane jest prowadzenie pogłębionych studiów udziału miRNA w patofizjologii HF (pochodzenie krążących miRNA, korelacja poziomu poszczególnych miRNA we krwi oraz w mięśniu sercowym, zdolność do zmieniania aktywności szlaków wewnątrzkomórkowych np. endotelium lub kardiomiocytów) oraz implikacji diagnostycznych, prognostycznych i terapeutycznych.

Od lat znany jest fakt udziału układu hormon wzrostu/insulinopodobny hormon wzrostu typu 1 (*ang. Insulin-like growth hormone-1, IGF-1*) w powstawaniu niewydolności serca - wciąż nie wykorzystano szerzej jego potencjału w terapii HF [203]. Ważnymi regulatorami czasu półtrwania w krążeniu oraz tkankowej aktywności IGF-1 są odpowiednie białka wiążące [204]. Ostatnio, szczególną uwagę zwraca się na białko wiążące IGF-1 typu 7 (*ang. Insulin-like growth hormone binding protein-7, IGFBP-7*),

którego poziom wykazuje korelację z procesami starzenia, insulinooporności, zaburzeniami metabolicznymi w otyłości i może być użytecznym markerem zaburzeń fazy rozkurczu serca [205]. Wykazano istotnie wyższe stężenie w krwi IGFBP-7 oraz stosunek IGFBP-7/IGF-1 u pacjentów z bezobjawową dysfunkcją rozkurczową oraz HFpEF w relacji do kontroli [206]. Co ciekawe, w sub-analizie badania PARAGON-HF, wykazano istotny spadek poziomu IGFBP-7 podczas stosowania sakubityrylu/walsartanu u pacjentów z HFpEF [207], podobny do wykazanego spadku poziomu NPs [208].

Interesującym biomarkerem może okazać się rozpuszczalna forma CD146 (sCD146) - obecny w krążeniu fragment aparatu łączącego komórki endotelialne, uwalniany pod wpływem czynników uszkodzających [209]. Dysfunkcja śródbłonna implikuje zaburzenia rozkurczu naczyniowego co przekłada się na wzrost oporu naczyniowego - są to cechy charakterystyczne stanu niewydolności krążenia [22]. Stwierdzono istotnie wyższe stężenie sCD146 we krwi pacjentów ze zdekompensowaną niewydolnością serca [210]. Wykazano eksperymentalnie, że zastój obwodowy krwi powodujący zwiększone ciśnienie żyłne skutkuje wzrostem poziomu sCD146 [211]. Dodatkowo, sCD146 okazał się niezależnym czynnikiem ryzyka wystąpienia złożonego punktu końcowego u pacjentów ze stabilną HF w obserwacji 2-letniej. Van Aelst i wsp. wykazali, że poziom sCD146, obok MR-proANP, ale nie BNP, koreluje z echokardiograficznymi wykładnikami zastoju u pacjentów z ostrą niewydolnością serca [212]. Ma to szczególne znaczenie, albowiem w praktyce klinicznej potrzebny jest obiektywny marker resztkowego przewodnienia, które jest częstą przyczyną wczesnej rehospitalizacji i czynnikiem złego rokowania [213].

3.6. Wielomarkerowa strategia stratyfikacji ryzyka w niewydolności serca.

W codziennej pracy kardiologa nierzadko spotyka się z pacjentów z rozpoznaniem HFrEF, niezależnie od etiologii, z umownej - pośredniej grupy ryzyka. Taką grupę można by zdefiniować z użyciem kilku kryteriów:

- łagodne objawy podmiotowe - NYHA II,
- umiarkowanie obniżona frakcja wyrzutowa, EF: 30-40%
- umiarkowanie podwyższony poziom peptydów natriuretycznych, brak podwyższonego poziomu troponin sercowych,
- obecne niezaawansowane choroby współistniejące,
- prowadzone leczenie farmakologiczne (optymalne lub suboptymalne),
- brak wywiadu nawracających zaostrzeń niewydolności serca (objawy stabilne lub rozpoznane w ostatnim czasie).

Tak określona grupa pacjentów nie ma silnie wyrażonych czynników złego rokowania, a mimo to u znacznej części dojdzie do nagłego zgonu sercowego, rozwinię objawy zastoju i dekompensacji układu krążenia lub progresji niewydolności serca jako pompy co może doprowadzić do zgonu. Gruntowna ocena kliniczna może nie doprowadzić do wykrycia chorych szczególnie narażonych na wystąpienie tych niekorzystnych zdarzeń, a zatem wymagających ścisłej kontroli czynników ryzyka, intensyfikacji leczenia oraz wzmożonego nadzoru, dlatego potrzebne są obiektywne wskaźniki stratyfikujące ryzyko. Ponadto, niejednokrotnie decyzje o zastosowaniu inwazyjnych procedur winny być uzależnione od ocenionego w sposób wiarygodny rokowania. Dotyczy to np. decyzji o implantacji kardiowertera-defibrylatora w prewencji pierwotnej nagłego zgonu sercowego. W kanon współczesnej kardiologii weszło wiele skal ryzyka modyfikujących postępowanie, opracowanych na podstawie czynników ryzyka z wywiadu chorobowego, wyników badań obrazowych i laboratoryjnych. Do najbardziej użytecznych można zaliczyć np. skalę CHA_2DS_2-VASc określającą ryzyko wystąpienia udaru mózgu u pacjentów z migotaniem przedsionków, skalę GRACE określającą ryzyko zgonu wewnątrzszpitalnego oraz w okresie 6 miesięcy u pacjenta z ostrym zespołem wieńcowym bez uniesienia odcinka ST lub wskaźnik prognostyczny HCM Risk-SCD określający prawdopodobieństwo wystąpienia nagłego zgonu sercowego u pacjenta z kardiomiopatią przerostową w ciągu 5 lat. Stworzono wiele skal ryzyka i modeli prognostycznych dla pacjentów z niewydolnością serca - głównie z obniżoną frakcją wyrzutową [214]. Oceniane zmienne o najwyższej mocy predykcyjnej to głównie: wiek,

pleć, waga/BMI, frakcja wyrzutowa, klasa NYHA, ciśnienie tętnicze, etiologia HF, stosowane leczenie, choroby współtowarzyszące, nikotynizm, a także podstawowe wyniki laboratoryjne: poziom sodu, hemoglobiny, kreatyniny i inne. Do skal o uznanej wartości należą: SHFM (Seattle Heart Failure Model) [215], CHARM (Candesartan in Heart Failure: Assessment of Reduction in Mortality and morbidity) [216], MAGGIC (Meta-analysis Global Group in Chronic Heart Failure) [217], GISSI-HF [218]. Jednak, pomimo iż stosowanie zatwierdzonych skal ryzyka w niewydolności serca jest zalecane przez wytyczne amerykańskich towarzystw naukowych [8], a ESC wskazuje na potencjalną użyteczność takiego postępowania [10], są one stosowane w bardzo ograniczonym zakresie. W analizie danych z europejskiego rejestru ESC Heart Failure Long-Term Registry stwierdzono, że u <1% z włączonych do badania chorych wykonano usystematyzowaną ocenę ryzyka za pomocą dedykowanego narzędzia [219]. Brak przekonania lekarzy praktyków do stosowania dotychczas opracowanych metod stratyfikacji może wynikać z danych o ich słabym odzwierciedleniu indywidualnego ryzyka konkretnego pacjenta. W ciekawej analizie ponad 10 930 pacjentów z rozpoznaną niewydolnością serca z 3 baz danych amerykańskich firm ubezpieczeniowych porównano zdolność przewidywania zgonu na poziomie indywidualnym modelu SHFM oraz kalkulatora MAGGIC [220]. Wśród włączonych do badania pacjentów 1661 zmarło w ciągu roku. SHFM określił > 50% ryzyko zgonu w obserwacji rocznej dla 8 pacjentów spośród tych rzeczywiście zmarli (czułość 0,5%) oraz 5, którzy przeżyli rok. Z drugiej strony model predykcyjny wskazał iż 77,7% analizowanej kohorty ma > 85% prawdopodobieństwa przeżycia roku. W tej grupie znalazło się prawie 2/3 spośród osób, które w istocie zmarły w badanym okresie. Podobnie źle spisywał się model MAGGIC: wskazał na > 50% ryzyka zgonu u 52 pacjentów, którzy zmarli (czułość 3,1%) oraz 63, którzy przeżyli okres 1 roku. Niskie ryzyko zgonu wyliczono dla 3/4 całej kohorty i w tej grupie znalazło się 55% wszystkich zarejestrowanych w ciągu 12 miesięcy zgonów.

W 2014 roku Lupon i wsp. opracowali nowoczesną metodę estymacji ryzyka niekorzystnych zdarzeń, gdzie do ww. czynników ryzyka dołączono 3 biomarkery:

NT-proBNP, sercową troponinę T mierzona metodą wysokoczułą oraz sST2 [221]. Kalkulator Barcelona Bio-Heart Failure (dostępny na stronie internetowej: www2.bcnbiohfcalculator.org) umożliwia oszacowanie ryzyka 1-, 2-, 3-, 4-, oraz 5-letniego zgonu oraz hospitalizacji z powodu HF z możliwością wprowadzenia tylko niektórych z wymienionych komercyjnie dostępnych biomarkerów. Czy ta metoda oceny ryzyka znajdzie szerokie zastosowanie w praktyce klinicznej - będzie to z pewnością przedmiotem dalszych analiz.

Do dziś przestudiowano miriady potencjalnych, nowych wskaźników diagnostycznych i rokowniczych w niewydolności serca, poza klasycznie używanymi NPs oraz cTn. Od kilku lat trwają badania nad wykorzystaniem zgromadzonej wiedzy w praktyce. W niedalekiej perspektywie nasze podejście rokownicze, ale częściowo również terapeutyczne, do pacjenta z HF, może opierać się na oznaczeniu kilku wyselekcjonowanych markerów biologicznych, które stworzą obraz fenotypu molekularnego niewydolności serca podobny do wykorzystywanych w onkologii, np. w terapii raka piersi (ekspresja receptorów hormonalnych oraz amplifikacja genu HER2). W badaniu kohorty Framingham Offspring Study wykazano, iż łączne (*ang.* „multi-marker risk score”) stosowanie 5 biomarkerów: BNP, hsCRP, hs-TnI, GDF-15 oraz sST2 przewidywało wystąpienie objawów niewydolności serca oraz zgonu [222]. Podobne, wielowskaźnikowe podejście okazało się skuteczne w przewidywaniu zgonu w grupie pacjentów z zaawansowaną, przewlekłą niewydolnością serca [223] oraz ostrą niewydolnością serca [224]. Berezin i wsp. stworzyli punktację szacującą ryzyko zdarzeń sercowo-naczyniowych opartą na ocenie wyłącznie 6 biomarkerów (m. in. NT-proBNP, hsCRP, galektyna-3, osteoprotegeryna), która okazała się posiadać wyższą zdolność predykcyjną aniżeli SHFM oraz wskaźnik Barcelona Bio-HF [225]. Szczególnie dobrze przewidywała ona ryzyko wystąpienia re-hospitalizacji. Koncepcja terapii niewydolności serca kierowanej poziomem biomarkerów w 2017 roku doświadczyła dotkliwego ciosu, kiedy to ukazały się wyniki przedwcześnie zakończonego badania GUIDE-IT [226]. Na dużej grupie pacjentów, leczonych w

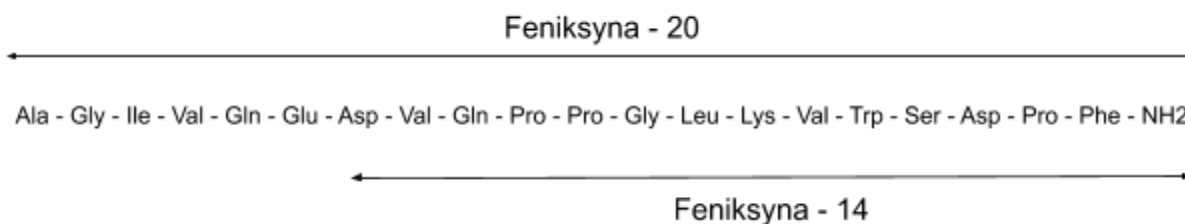
kilkudziesięciu ośrodkach w Ameryce Północnej, na podstawie oceny klinicznej lub poziomu NT-proBNP wykazano brak istotnej różnicy w zakresie osiągniętych punktów końcowych. Być może wskazuje to na potrzebę oparcia leczenia na kilku biologicznych wskaźników odzwierciedlających różne patofizjologiczne aspekty niewydolności serca (uszkodzenie i przeciążenie kardiomiocytów, stan zapalny, włóknienie itd.). Takie podejście przyjęli autorzy niewielkiego pilotażowego badania, którzy modyfikację terapii starali się oprzeć na autorskim wskaźniku MISS (Myocardial Injury Summary Score) łączący w sobie poziomy 4 biomarkerów: cTn, BNP, galektyny-3 oraz sST2 [227]. Jest to strategia godna uwagi i wymagająca dalszych badań.

3.7. Feniksyna - nowy neuropeptyd i jego dotychczas poznane znaczenie fizjologiczne.

Neurogenna regulacja funkcji układu krążenia jest wielowymiarowa i nie ogranicza się do przesunięć równowagi współczulno-przywspółczulnej. Neuroendokrynnny kompleks podwzgórzowo-przysadkowy wytwarza szerokie spektrum czynników peptydowych, które wpływają zarówno na czynność tzw. neuronów sercowo-naczyniowych, należących np. do ośrodka naczynioruchowego, ale również bezpośrednio na układ krwionośny dzięki obecności we krwi. Do tej pory zidentyfikowano szereg krążących neuropeptydów o różnorodnych funkcjach w układzie krążenia, m. in.: wazopresyna, angiotensyna II, leptyna, apelina, oreksyny, neuropeptyd Y [228].

W 2013 roku, wykorzystując dane genomowe, Gina Yosten i wsp., z pomocą bioinformatycznego algorytmu zidentyfikowali nowy peptyd o wysoce konserwatywnej międzygatunkowo sekwencji, który nazwali feniksyną (*ang. phoenixin*, PNX) [229]. Za pomocą metod immunoenzymatycznych badacze stwierdzili jego obecność w kilku organach, jednak najwyższą ekspresję wykazano w podwzgórzcu oraz, mniejszą, w sercu. Po wyizolowaniu ze szczurzych podwzgórzcy oraz bydlęcych serc dwóch izoform liczących 20 oraz 14 aminokwasów (Ryc. 2.), autorzy wykazali jej wpływ na wydzielanie gonadotropin z przedniego płata przysadki mózgowej poprzez wpływ m. in. na

ekspresję receptora dla gonadoliberyny (*ang. gonadotropin releasing hormone, GnRH*) [229]. Feniksyna jest produktem obróbki proteolitycznej białka prekursorowego powstającego z genu SMIM20 (*ang. small integral membrane protein 20*) zlokalizowanego na chromosomie 4 (dane uzyskane z Gene Database, <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>), które jest elementem kompleksu MITRAC, niezbędnego do prawidłowego funkcjonowania oksydazy cytochromu c [230]. Kolejne eksperymenty potwierdziły wysoką ekspresję PNX w sercu [231] oraz innych narządach obwodowych, np. poszczególnych częściach jelita cienkiego oraz wyspach trzustkowych [232]. Do dziś wykazano udział PNX m. in. w regulacji odczuwania bólu [231], świądu [233], uczucia lęku [234], pragnienia [235], termogenezy [234], pamięci [236,237]. W 2016 roku Stein i wsp. zidentyfikowali receptor dla feniksyny (GPR173) [238], a Treen i wsp. zbadały wewnątrzkomórkowe szlaki jakimi wpływa ona na ekspresję i sekrecję GnRH oraz kisspeptyny - ważnego regulatora osi podwzgórze - przysadka - gonady (*ang. hypothalamic – pituitary – gonadal axis, HPGA*) w liniach komórkowych neuronów podwzgorzowych [239]. Dodatkowo, wykazano, iż PNX powoduje wzrost uwalniania wazopresyny z neuronów jądra nadwzrokowego poprzez aktywację receptora GPR173 oraz jej poziomu w osoczu po podaniu dokomorowym [240].



Ryc. 2. Sekwencja aminokwasów izoform feniksyny. Na podstawie: Stein LM i wsp., Peptides, 2018. Zmodyfikowane.

W 2017 roku opublikowano pierwsze dane na temat obecności krążącej feniksyny w osoczu ludzkim [241]. Hofmann i wsp. stwierdzili odwrotną korelację pomiędzy stężeniem PNX a nasileniem objawów lękowych w grupie mężczyzn z otyłością olbrzymią. Wykazali również brak zależności pomiędzy poziomem PNX a wiekiem

pacjentów, BMI oraz występowaniem częstych chorób towarzyszących otyłości takich jak: nadciśnienie tętnicze, hiperlipidemia, cukrzyca typu 2 oraz choroba wieńcowa. W kolejnych badaniach analizujących związek feniksyny z zaburzeniami poznawczymi oraz hormonalnymi w zespole policystycznych jajników, stwierdzono jednak pewną zależność poziomu PNX od masy ciała, stężenia HDL oraz skurczowego ciśnienia tętniczego [237,242]. Feniksyna wydaje się być również hormonem o istotnej roli metabolicznej - stymuluje przyjmowanie pokarmu [243,244], a kwasy tłuszczowe, zarówno nasycone jak i nienasycone, ale nie leptyna - wskaźnik poziomu zmagazynowanych tłuszczu, pobudzają ekspresję PNX w neuronach podwzgórza [245,246]. U młodocianych pacjentów z jadłowstrętem psychicznym stwierdzono obniżony poziom feniksyny w surowicy, który prawdopodobnie rośnie w miarę stopniowej normalizacji masy ciała, a zatem gromadzenia tkanki tłuszczowej [247]. Niedawno wykazano jej ekspresję oraz sekrecję przez adipocyty szczurze, które stymuluje do proliferacji, różnicowania oraz lipogenezy [248]. PNX ulega ekspresji w komórkach wysp trzustkowych [232], a niedawno Billert i wsp. wykazali stymulujący wpływ PNX na produkcję oraz sekrecję insuliny w sposób zależny od poziomu glukozy [249].

W 2018 roku Rocca i wsp. opublikowali pierwsze studium dotyczące powiązań feniksyny z sercem [250]. Przede wszystkim, jako kolejna, niezależna grupa badaczy potwierdzili syntezę feniksyny w sercu szczurów. Obiektem ich szczegółowej analizy był model izolowanego, wstecznie perfundowanego serca według metody Langendorffa [251] poddanego 30 minutowemu niedokrwieniu oraz 2-godzinnej reperfuzji (model ischemia/reperfuzja - I/R) z dodatkiem lub bez feniksyny, a także selektywnych inhibitorów szlaków wewnątrzkomórkowych: kinazy 3-fosfatydilinozytolu (PI3K), kinaza regulowana zewnątrzkomórkowo 1/2 (ERK 1/2), mitochondrialnego kanału potasowego regulowanego ATP (mitoKATP) oraz śródbłonkowej syntazy tlenku azotu (eNOS). Niedokrwienie m. sercowego spowodowało wzrost ekspresji PNX, jednak nie u szczurów żywionych dietą wysokotłuszczową (*ang. high-fat diet*, HFD; 60% wartości

energetycznej pokarmu pochodzącej z tłuszczów). Badanie poziomu PNX w osoczu wykazało poposiłkowy wzrost stężenia PNX u szczurów żywionych standardowo, którego nie zaobserwowano jeżeli stosowano HFD. Feniksyna dodana do roztworu perfundującego izolowane serce, w sposób zależny od dawki, upośledzała kurczliwość oraz relaksację serca, bez wpływu na częstość akcji serca oraz ciśnienie w naczyniach wieńcowych. Na poziomie molekularnym PNX spowodowała wzmożoną fosforylację ERK 1/2, kinazy Akt oraz eNOS. W sercach poddanych I/R stwierdzono obniżone ciśnienie skurczowe w lewej komorze oraz podwyższone końcowo-rozkurczowe. Podanie PNX w trakcie reperfuzji skutecznie odwróciło te zaburzenia, tym samym wykazując ochronę zarówno czynności skurczowej jak i rozkurczowej mięśnia sercowego, a także zredukowało o ponad >50% strefę wyindukowanej martwicy [250]. Zastosowanie specyficznych inhibitorów PI3K, Erk1/2, mitoKATP, eNOS zniosło efekt kardioprotekcyjny feniksyny. Co więcej, pod wpływem PNX, stwierdzono istotną redukcję ekspresji pro-apoptotycznych białek w niedokrwionym m. sercowym, takich jak: Bax, kaspaza 3 oraz wzrost produkcji anty-apoptotycznego Bcl-2. Serca szczurów żywionych HFD, generalnie, okazały się bardziej odporne na ochronny wpływ feniksyny.

Obok właściwości kardioprotekcyjnych, feniksyna może wywierać również działanie ochronne w przypadku niedokrwienia centralnego układu nerwowego. Ostatnio wykazano redukcję przepuszczalności śródbłonna budującego barierę krew-mózg, pod wpływem PNX, po inkubacji w destrukcyjnych warunkach hipoglikemii oraz hipoksji [252]. Prawdopodobnie efekt zależał od wzrostu produkcji białka ścisłych połączeń międzykomórkowych endotelium - okludyny [252]. PNX zmniejszyła również wykładniki stresu oksydacyjnego oraz stanu zapalnego oraz normalizowała produkcję tlenu azotu w badanym modelu. Czy podobne wazoprotekcyjne mechanizmy leżą u podłoża, przynajmniej częściowo, działania feniksyny na niedokrwiony / reperfuncowany mięsień sercowy, pozostaje niejasne.

Z przedstawionych powyżej dowodów wyłania się obraz feniksyny jako biologicznie aktywnego peptydu o działaniu plejotropowym. Centralnie, zasadniczą rolę wydaje się odgrywać w regulacji HPGA, natomiast PNX obecna we krwi może być hormonem, przede wszystkim, metabolicznym oraz wazoaktywnym. Jak dotąd jego wpływ na fizjologię układu krążenia oraz związek z chorobami sercowo-naczyniowymi pozostaje szerzej niezbadany. Z tych powodów zdecydowałem się na przeprowadzenie badania poziomu feniksyny w osoczu pacjentów z niewydolnością serca z obniżoną frakcją wyrzutową, które byłoby pierwszym badaniem krążącej feniksyny w populacji pacjentów ze schorzeniami ściśle sercowo-naczyniowymi i kładło podwalinę pod zrozumienie jej znaczenia patofizjologicznego oraz ocenę możliwości zastosowania PNX jako biomarkera w niewydolności serca.

4. Założenia i cele pracy

Niewydolność serca z obniżoną frakcją wyrzutową jest chorobą znacznie pogarszającą jakość życia, obarczoną poważnym ryzykiem zgonu oraz stanowiącą istotne obciążenie dla systemu opieki zdrowotnej w wymiarze ekonomicznym. Określenie indywidualnego ryzyka zgonu oraz dekompensacji stanu klinicznego prowadzącego do hospitalizacji jest wstępnym i niezbędnym warunkiem do zogniskowania intensywnych działań prewencyjnych na wybranych pacjentach. Obecne we krwi wyselekcjonowane biomarkery są łatwo dostępnymi, obiektywnymi wskaźnikami skorelowanymi z występowaniem niekorzystnych zdarzeń w przebiegu naturalnym HFrEF. Do tej pory nie stworzono szeroko akceptowanej, opartej na dowodach naukowych, uwzględniającej informacje płynące z oznaczenia poziomu biomarkerów, kompleksowej strategii oceny ryzyka sercowo-naczyniowego u pacjentów z niewydolnością serca. Feniksyna jest nowym, obficie produkowanym w sercu ssaków peptydem o prawdopodobnie kardioprotekcyjnym potencjale. Poziom feniksyny w osoczu pacjentów z niewydolnością serca oraz jej związek z charakterystyką kliniczną pacjentów, objawami oraz zaawansowaniem choroby pozostaje niezbadany.

4.1. Cele pracy badawczej:

1. Określenie stężenia feniksyny w osoczu pacjentów z niewydolnością serca z obniżoną frakcją wyrzutową w porównaniu z grupą kontrolną osób bez HF.
2. Ocena korelacji pomiędzy stężeniem feniksyny w osoczu pacjentów z HFrEF oraz wybranymi parametrami klinicznymi, antropometrycznymi, biochemicznymi oraz echokardiograficznymi.

5. Materiały i metody

5.1. Materiał badawczy.

Badaną populację stanowili pacjenci Klinicznego Oddziału Kardiologii Szpitala Uniwersyteckiego w Zielonej Górze. Do grupy badanej, określanej dalej jako "HFrEF", włączono 74 pacjentów hospitalizowanych planowo lub nieplanowo, po osiągnięciu stabilizacji klinicznej, posługując się następującymi kryteriami:

Kryteria włączenia:

- pełnoletność,
- HFrEF - zdiagnozowane zgodnie z kryteriami ESC [10],
- stabilny stan kliniczny.

Kryteria wyłączenia:

- przewlekła choroba nerek - zdiagnozowana zgodnie z kryteriami KDIGO [253],
- niewydolność wątroby,
- przewlekła obturacyjna choroba płuc,
- przewlekła choroba zapalna,
- aktywny proces infekcyjny,
- aktywna lub leczona w przebiegu ostatnich 5 lat choroba nowotworowa.

Do grupy kontrolnej, określanej dalej jako "Kontrola", włączono 40 pacjentów hospitalizowanych planowo w celu wykonania diagnostycznej angiografii tętnic wieńcowych, u których nie stwierdzono istotnych zwężeń w naczyniach wieńcowych. Kryterium wyłączenia stanowiły istotne zaburzenia funkcji skurczowej lub rozkurczowej stwierdzone w echokardiografii, a także choroby przewlekłe uwzględnione w kryteriach wyłączenia przedstawionych dla HFrEF. Wszyscy pacjenci wyrazili pisemną, świadomą zgodę na udział w badaniu, a protokół badania został zaakceptowany przez Komisję Bioetyczną przy Okręgowej Izbie Lekarskiej w Zielonej Górze.

5.2. Metody badań.

Wszyscy pacjenci, w dniu rekrutacji, zostali poddani standardowemu postępowaniu:

1. szczegółowy wywiad chorobowy, w tym ocena aktualnych dolegliwości w grupie HFrEF,
2. spis aktualnie przyjmowanych leków,
3. wywiad rodzinny pod kątem obciążeń sercowo-naczyniowych,
4. ocena wywiadu pod kątem uzależnień (aktualnie i w przeszłości),
5. określenie fazy cyklu menstruacyjnego lub menopauzy u kobiet,
6. pomiary antropometryczne i kliniczne:
 - a. wzrost,
 - b. masa ciała,
 - * oszacowano pole powierzchni ciała (BSA) zgodnie ze wzorem Mostellera [254],
 - c. ciśnienie tętnicze zmierzono za pomocą zatwierdzonego, automatycznego ciśnieniomierza - uśredniona wartość dwóch pomiarów na obu kończynach górnych po min. 5-minutowym odpoczynku w pozycji leżącej na plecach,
 - d. obwód talii i bioder - wyliczono wskaźnik WHR (ang. *waist-hip ratio*),
7. badanie echokardiograficzne:
 - a. wymiary serca określono w projekcji przymostkowej osi długiej lewej komory,
 - b. oszacowano masę mięśnia lewej komory według wzoru Devereux [255]
 - c. pole powierzchni lewego przedsionka (LAA) zmierzono w projekcji koniuszkowej czterojamowej,
 - d. dokonano oceny parametrów funkcji rozkurczowej lewej komory,
 - e. wykonano pomiar frakcji wyrzutowej dwupłaszczyznową metodą Simpsona,

Wszystkie kobiety włączone do badania były w okresie postmenopauzalnym. Kolejnego dnia, po całonocnym odpoczynku, na czczo, pomiędzy 7.00 a 8.00 rano dokonano pobrania krwi z żyły zgięcia łokciowego do standardowych oznaczeń laboratoryjnych oraz immunoenzymatycznych. U każdego pacjenta oznaczono: morfologię, czas protrombinowy (PT), czas kaolinowo-kefalinowy (APTT), stężenie sodu, potasu, glukozy, kreatyniny (GFR oszacowany z użyciem wzoru MDRD), trójglicerydów, cholesterolu całkowitego, cholesterolu frakcji HDL, kwasu moczowego, aktywność AlAT oraz AspAT, wyliczono stężenie cholesterolu frakcji LDL. U pacjentów z grupy HFrEF oznaczono stężenie BNP. Próbkę krwi do oznaczeń immunoenzymatycznych została pobrana do probówki S-Monovette 4.9 ml zawierającej EDTA z żelazem separującym i natychmiast umieszczona w pojemniku z lodem. Następnie krew została poddana 10-minutowym wirowaniu z prędkością 3000 rpm w temperaturze 4°C. Osocze zostało zamrożone w temperaturze -40°C do czasu dalszej analizy. Stężenie feniksyny w osoczu oznaczono za pomocą komercyjnego testu immunoenzymatycznego (ELISA, nr katalogowy: EK-079-01, Phoenix Pharmaceuticals, Inc., Burlingame, CA, USA) zgodnie z zaleceniami producenta. Do poszczególnych dołków mikro płytki pokrytych drugorzędowym przeciwciałem przeciwko fragmentowi Fc przeciwciała pierwszorzędowego dodano po 50 µl roztworu peptydu do wykreślenia krzywej wzorcowej, pozytywnej kontroli oraz rozcieńczonego badanego osocza. Do wszystkich dołków, poza kontrolą negatywną, dodano 25 µl pierwszorzędowego przeciwciała anti-PNX oraz 25 µl biotynylowanej feniksyny. Mikro płytki inkubowano przez 2 godziny w temperaturze pokojowej w wyrząsarce orbitalnej. Po usunięciu płynu, każdy dołek przepłukano 4-krotnie buforem zawartym w zestawie przez producenta, a następnie dodano 100 µl roztworu peroksydazy chrzanowej skoniugowanej z streptawidyną. Płytki ponownie inkubowano w analogicznych warunkach przez godzinę oraz po usunięciu płynu przepłukano 4-krotnie buforem z zestawu. Do każdego dołka dodano 100 µl roztworu substratu peroksydazy - 3,3',5,5'-tetrametylobenzydiny (TMB) po czym przeprowadzono godziną inkubację w standardowych warunkach, chroniąc płytki

przed światłem. By zatrzymać reakcję enzymatyczną do dołków podano 100 µl roztworu kwasu solnego. Intensywność zabarwienia próbek zmierzono spektrofotometrem z użyciem fal o długości 450nm. Intensywność żółtego zabarwienia odwrotnie korelowała ze stężeniem feniksyny w próbce badanej ze względu na kompetycyjne wiązanie biotynylowanej feniksyny oraz peptydu osoczowego przez pierwszorzędowe przeciwciało.

5.3. Analiza statystyczna.

Uzyskane wyniki poddane zostały analizie statystycznej przeprowadzonej przy użyciu programu GraphPad Prism 8.0.1. Za pomocą testu Shapiro-Wilka zbadano normalność rozkładu badanych zmiennych. Do określenia różnic pomiędzy dwoma grupami zastosowano, biorąc pod uwagę rozkład danych, odpowiednio: test t Studenta oraz test Mana-Whitneya. Dla wielu grup wykorzystano jednoczynnikową analizę wariancji - test ANOVA. Do wyznaczenia współczynnika korelacji liniowej użyto testu Pearsona lub Spearmana, uwzględniając normalność rozkładu danych. W analizie wariancji wykorzystano test Chi-kwadrat oraz dokładny test Fischera dla dwóch grup. Za poziom istotności statystycznej obrano wartość $p < 0,05$.

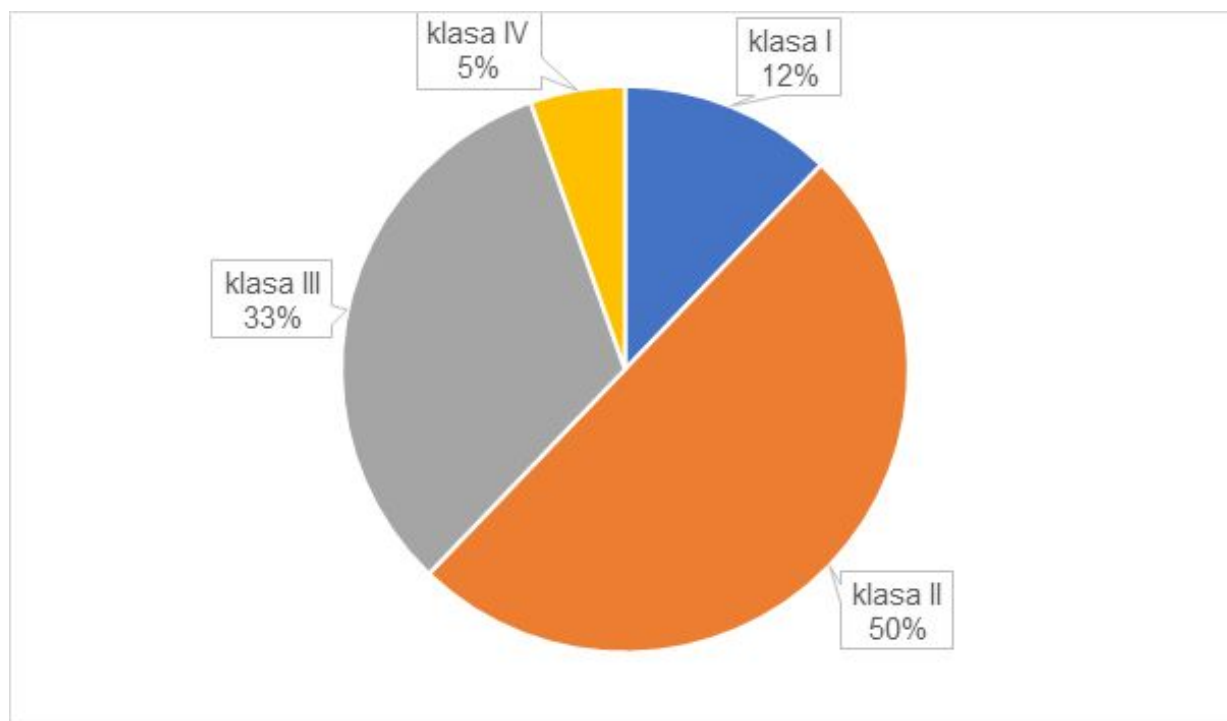
6. Wyniki badań

6.1. Charakterystyka grup badanych.

W grupie HFrEF znalazło się 74 pacjentów, z których 81% stanowili mężczyźni, średnia wieku wyniosła 61 lat. 50% grupy stanowiły przypadki uszkodzenia mięśnia sercowego w wyniku niedokrwienia. Objawy niewydolności serca każdego pacjenta zostały sklasyfikowane zgodnie z podziałem wg NYHA (Ryc. 3). W klasie I NYHA znajdowało się 12% pacjentów z HFrEF, odpowiednio w klasie II - 50%, III - 33%, IV - 5%. Analizując wywiad chorobowy stwierdzono współwystępowanie częstych chorób towarzyszących: nadciśnienia tętniczego - u 65% pacjentów, cukrzycy lub stanu przedcukrzycowego - 28%, migotania przedsionków - 45%. W badanej kohorcie co 4. pacjentowi wszczepiono urządzenie z funkcją kardiowertera-defibrylatora. Około 30% pacjentów z niewydolnością serca stanowili, głównie mężczyźni, z wywiadem nadużywania alkoholu. Przeprowadzono szczegółową kwerendę w zakresie stosowanego leczenia farmakologicznego - generalnie, była to populacja leczona w sposób korespondujący z aktualnie obowiązującymi wytycznymi ESC [10]: inhibitor konwertazy angiotensyny (ACEI) stosowano u - 78% pacjentów, antagonistę receptora angiotensyny II (ARB) - 10%, beta-adrenolityk (BB) - 92%, antagonistę aldosteronu (MRA) - 80%, diuretyk - 84%, iwabradyna - 15%, digoksyna - 12%.

Do grupy kontrolnej („Kontrola”) włączono 40 pacjentów w średnim wieku 64 lata, z których 65% stanowili mężczyźni. Grupy nie różniły się istotnie statystycznie pod względem wieku oraz struktury płciowej. Nie stwierdzono również istotnej różnicy w częstości występowania nadciśnienia tętniczego oraz cukrzycy - w grupie kontrolnej było to odpowiednio 70% oraz 33%. Pomimo to zauważalne były różnice w częstości stosowania leków o działaniu hipotensyjnym. W grupie kontrolnej znacznie rzadziej, niż w grupie HFrEF stosowano ACEI (33% vs 78%), BB (58% vs 92%), MRA (5% vs 80%), diuretyki (30% vs 84%), natomiast częściej ARB (25% vs 10%). Procent pacjentów stosujących antagonistę kanału wapniowego (wyłącznie non-DHP) był podobny w obu

grupach. W zakresie leczenia cukrzycy - z podobną częstością stosowano zarówno metforminę, jak i różne preparaty insulinowe.



Ryc. 3. Rozkład pacjentów z grupy HFrEF zgodnie z klasyfikacją nasilenia objawów wg NYHA.

Znamiennie częściej w grupie HFrEF występowało migotanie przedsionków - zarówno w wywiadzie, jak i w EKG w trakcie badania, z tego też powodu użycie doustnych antykoagulantów oraz amiodaronu było częstsze w grupie niewydolności serca (odpowiednio 47% vs 5% oraz 18% vs 3%). Nie znaleziono różnic w częstości stosowania następujących grup leków pomiędzy badanymi zbiorami chorych: leki przeciwplatekcyjne, statyny, inhibitory pompy protonowej. Zestawienie danych dotyczących obu grup przedstawiono w Tabeli nr 6.

Pacjenci włączeni do obu grup byli w podobnym stopniu obarczeni nadwagą i otyłością, średnie BMI w grupie HFrEF wyniosło 29,14 kg/m², natomiast w grupie kontrolnej 28,82 kg/m² (ns). Nie znaleziono istotnych różnic w zakresie BSA oraz WHR.

Tab. 6. Charakterystyka porównawcza grupy badanej oraz grupy kontrolnej.

	HFrEF (n=74)	Kontrola (n=40)	Poziom istotności (wartość p)
Wiek	61,36 ± 10,18	63,53 ± 10,09	0,3004
Płeć (mężczyźni/kobiety) [%]	81/19	65/35	0,0699
Nadciśnienie tętnicze	48 (65%)	28 (70%)	0,6787
Cukrzyca i stan przedcukrzycowy	21 (28%)	13 (33%)	0,6722
Migotanie przedsionków	33 (45%)	2 (5%)	<0,0001
Implantowany kardiowerter-defibrylator	17 (23%)	0 (0%)	<0,0001
Wywiad nadużywania alkoholu	22 (30%)	0 (0%)	<0,0001
Etiologia HF: niedokrwienna / nieniedokrwienna	37/37 (50%/50%)		
Klasa NYHA	2,31 ± 0,75	1,15 ± 0,36	<0,0001
Rytm w EKG (RZ/MP) [%]	69/31	100/0	<0,0001
Stosowane leczenie:			
Inhibitor konwertazy angiotensyny	58 (78%)	13 (33%)	<0,0001
Antagonista receptora angiotensyny II	7 (10%)	10 (25%)	<0,0001
Beta-adrenolityk	68 (92%)	23 (58%)	<0,0001
Antagonista receptora mineralokortykoidowego	59 (80%)	2 (5%)	<0,0001
Diuretyk	62 (84%)	12 (30%)	<0,0001
Iwabradyna	11 (15%)	0 (0%)	<0,0001
Digoksyna	9 (12%)	0 (0%)	<0,0001
Antagonista kanału wapniowego	9 (12%)	10 (25%)	0,1130
Amiodaron	13 (18%)	1 (3%)	0,0185
Doustny antykoagulant	35 (47%)	2 (5%)	<0,0001
Kwas acetylosalicyliowy	28 (38%)	19 (48%)	0,3275
Inhibitor receptora P2Y12	13 (16%)	5 (13%)	0,5952
Insulina	9 (12%)	1 (3%)	0,1615
Metformina	15 (20%)	10 (25%)	0,6372
Inhibitor SGLT2	2 (3%)	0 (0%)	0,5404
Statyna	41 (55%)	22 (55%)	>0,9999
Inhibitor pompy protonowej	16 (22%)	5 (13%)	0,3134

Stwierdzono szereg różnic echokardiograficznych pomiędzy grupami. Średnie LAA, a także wymiar poprzeczny oraz masa mięśnia lewej komory były większe u pacjentów z niewydolnością serca. Frakcja wyrzutowa LV wyniosła średnio 28,43% w grupie HFrEF oraz 62,66% w grupie kontrolnej ($p < 0,0001$). Wskaźnik E/e' (stosunek prędkości fali wczesnego napływu mitralnego oraz prędkości wczesnorozkurczowej pierścienia mitralnego) wyniósł odpowiednio średnio 14,66 vs 9,2 ($p < 0,0001$). Średnie wartości zmierzonego ciśnienia tętniczego różniły się istotnie w przypadku SBP: 130 mmHg (HFrEF) vs 138 mmHg (Kontrola) ale nie DBP: 81 mmHg vs 79 mmHg. Zastosowany panel badań laboratoryjnych ujawnił istotną różnicę w stężeniu kreatyniny 1,00 mg/dl vs 0,88 mg/dl ($p = 0,0037$), ale nie eGFR (wg równania MDRD). Pacjenci z niewydolnością serca mieli istotnie wyższe stężenie CRP: 6,49 mg/l vs 2,76 mg/l ($p = 0,0004$), aktywność AspAT: 37,35 IU/l vs 25,66 IU/l ($p = 0,0193$), kwasu moczowego: 7,33 mg/dl vs 5,61 mg/dl ($p < 0,0001$), a niższe cholesterolu frakcji HDL: 49,03 mg/dl vs 56,78 mg/dl ($p = 0,0067$). W zakresie pozostałych parametrów laboratoryjnych nie stwierdzono istotnych statystycznie różnic pomiędzy grupami. Porównanie wyników badań dodatkowych znajduje się w Tabeli nr 7.

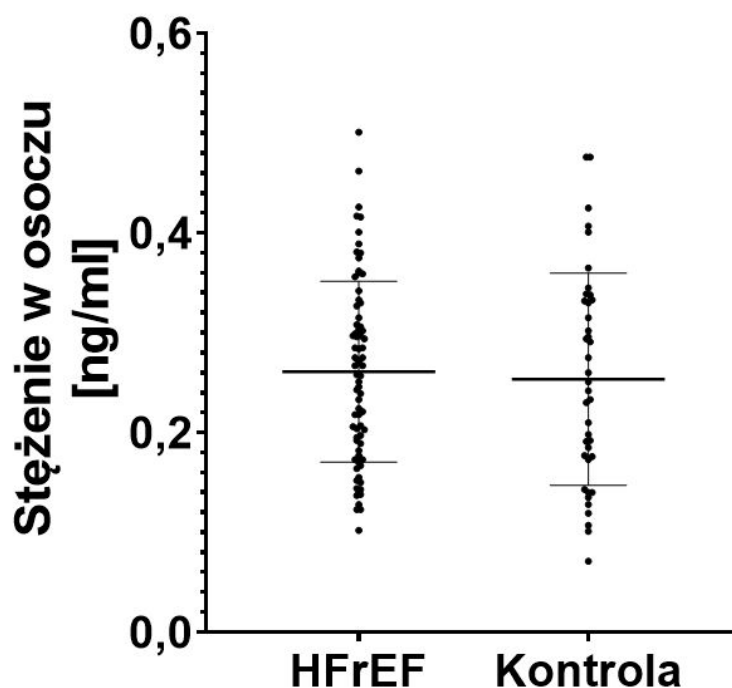
6.2. Stężenie feniksyny w osoczu pacjentów z niewydolnością serca i w grupie kontrolnej.

Średnie stężenie feniksyny w osoczu pacjentów z HFrEF wyniosło $0,261 \pm 0,091$ ng/ml. W grupie kontrolnej średnie stężenie PNX wyniosło $0,254 \pm 0,106$ ng/ml (Ryc. 4.). Nie stwierdzono istotnej statystycznie różnicy w poziomie PNX pomiędzy grupami ($p = 0,6932$).

Tab. 7. Wyniki pomiarów oraz badań dodatkowych grupy badanej oraz grupy kontrolnej.

Średnia \pm SD	HFrEF (n=74)	Kontrola (n=40)	poziom istotności (wartość p)
BMI [kg/m ²]	29,14 \pm 5,74	28,82 \pm 3,99	0,7554
BSA [m ²]	2,02 \pm 0,26	1,96 \pm 0,20	0,2730
WHR	1,01 \pm 0,09	0,99 \pm 0,07	0,2144
LAA [cm ²]	31,07 \pm 7,33	19,41 \pm 3,24	<0,0001
LVdD [cm]	6,59 \pm 0,83	4,86 \pm 0,48	<0,0001
LVM [g]	306,1 \pm 86,80	178,8 \pm 39,81	<0,0001
LVM index [g/m ²]	151,5 \pm 33,85	91,13 \pm 18,64	<0,0001
LV EF [%]	28,43 \pm 7,48	62,66 \pm 6,53	<0,0001
Wskaźnik E/e'	14,66 \pm 5,45	9,2 \pm 2,93	<0,0001
SBP [mmHg]	130 \pm 23	138 \pm 15	0,0088
DBP [mmHg]	81 \pm 12	79 \pm 10	0,4354
HGB [g/dl]	14,38 \pm 1,55	14,35 \pm 1,14	0,9042
Kreatynina [mg/dl]	1,00 \pm 0,23	0,88 \pm 0,15	0,0037
eGFR [ml/min/m ²]	80,99 \pm 18,62	87,40 \pm 16,97	0,0731
Cholesterol całkowity [mg/dl]	164,0 \pm 43,22	179,1 \pm 44,44	0,0814
Trójglicerydy [mg/dl]	123,4 \pm 60,15	141,0 \pm 71,48	0,2355
Cholesterol LDL [mg/dl]	90,27 \pm 36,58	96,94 \pm 41,78	0,5375
Cholesterol HDL [mg/dl]	49,03 \pm 18,19	56,78 \pm 15,09	0,0067
Glukoza [mg/dl]	126,4 \pm 56,41	111,8 \pm 30,38	0,9564
CRP [mg/l]	6,49 \pm 11,35	2,76 \pm 5,12	0,0004
AIAT [IU/l]	38,23 \pm 36,78	27,11 \pm 14,75	0,1858
AspAT [IU/l]	37,57 \pm 30,40	25,66 \pm 12,19	0,0193
Kwas moczowy [mg/dl]	7,33 \pm 2,22	5,61 \pm 1,57	<0,0001

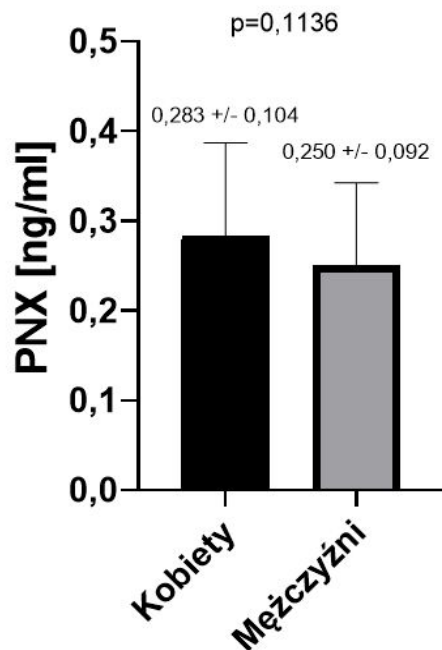
Feniksyna



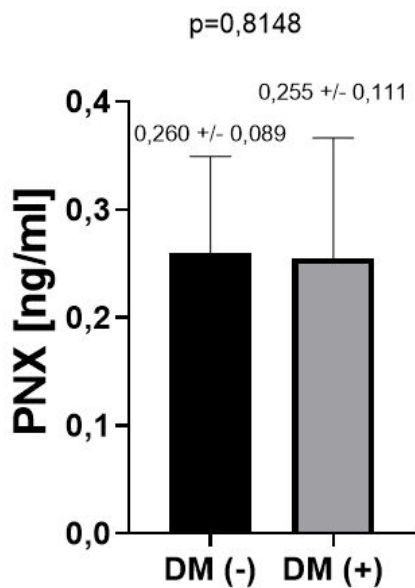
Ryc. 4. Stężenie feniksyny w osoczu pacjentów z niewydolnością serca z obniżoną frakcją wyrzutową oraz w grupie kontrolnej.

6.3. Stężenie feniksyny w określonych podgrupach.

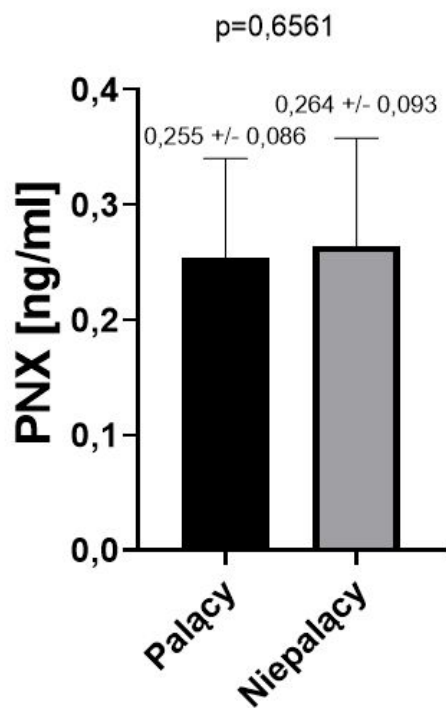
Przeprowadzono analizę stężeń feniksyny w określonych podgrupach. Nie stwierdzono istotnych różnic w stężeniu PNX w osoczu w zależności od płci (Ryc. 5.), obecności zaburzeń gospodarki węglowodanowej (Ryc. 6.) oraz nikotynizmu (Ryc. 7.). W grupie HFrEF stężenie PNX było jednakowe u pacjentów z niedokrwinnym tłem niewydolności serca oraz inną etiologią (Ryc. 8.). Nie wykazano również różnicy w poziomie PNX u pacjentów z migotaniem przedsionków lub zachowanym rytmem zatokowym (Ryc. 9.). Wreszcie, stężenie feniksyny w osoczu było takie samo bez względu na zgłaszane nasilenie objawów niewydolności serca wg klasyfikacji NYHA (Ryc. 10.).



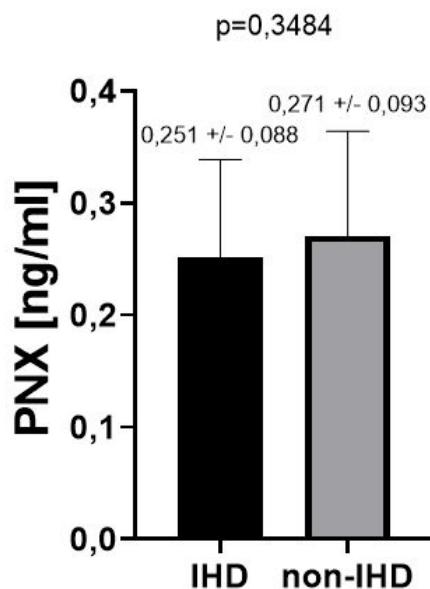
Ryc. 5. Stężenie PNX w osoczu u kobiet i mężczyzn (łącznie: HFrEF + Kontrola). Dane przedstawione jako średnia ± SD.



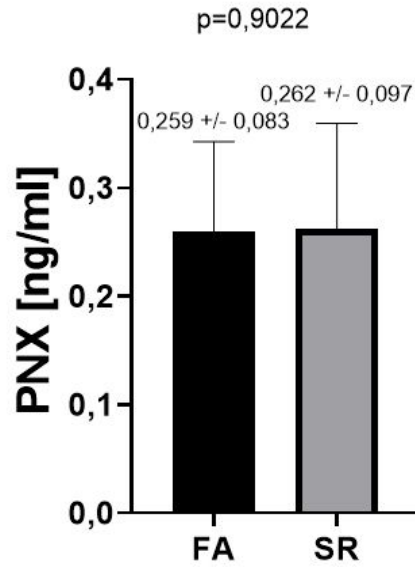
Ryc. 6. Stężenie PNX w osoczu pacjentów z cukrzycą typu 2 lub stanu przedcukrzycowego DM (+) oraz bez wywiadu cukrzycy DM (-) (łącznie: HFrEF + Kontrola). Dane przedstawione jako średnia ± SD.



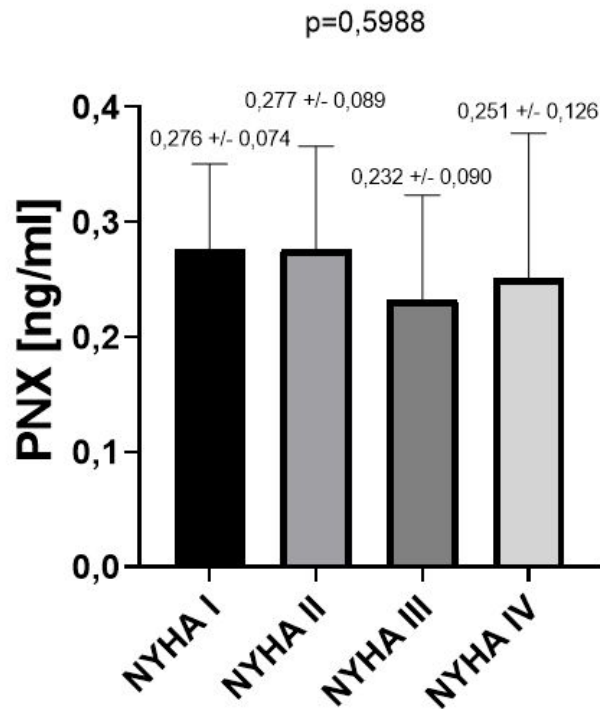
Ryc. 7. Stężenie PNx w osoczu pacjentów palących oraz niepalących papierosy (łącznie: HFrEF + Kontrola). Dane przedstawione jako średnia \pm SD.



Ryc. 8. Stężenie PNx w osoczu pacjentów z HF o etiologii niedokrwiennej (IHD) oraz nieniedokrwiennej (non-IHD). Dane przedstawione jako średnia \pm SD.



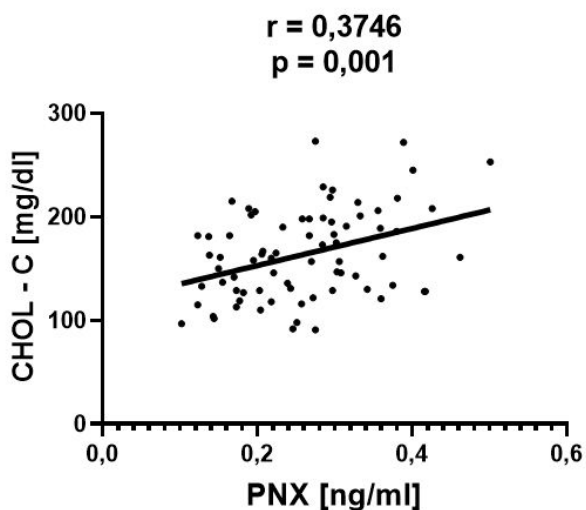
Ryc. 9. Stężenie PNX w osoczu pacjentów z HF z migotaniem przedsionków oraz zachowanym rytmem zatokowym. Dane przedstawione jako średnia \pm SD.



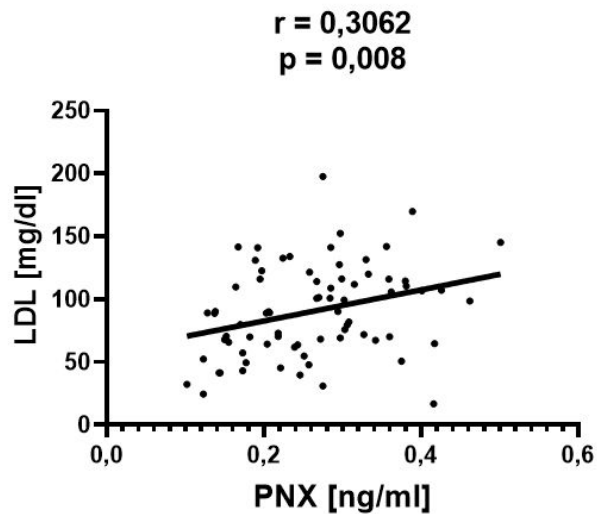
Ryc. 10. Stężenie PNX w osoczu pacjentów z HF z podziałem na klasy nasilenia objawów podmiotowych zgodnie z klasyfikacją wg NYHA. Dane przedstawione jako średnia \pm SD.

6.4. Analiza korelacji stężenia feniksyiny z wybranymi zmiennymi.

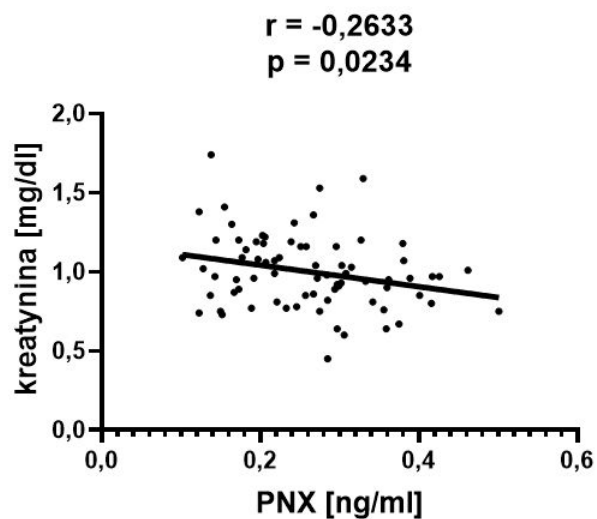
Analizę korelacji stężenia feniksyiny w osoczu z danymi antropometrycznymi, pomiarami echokardiograficznymi oraz wynikami laboratoryjnymi wykonano osobno dla każdej z grup. Niezależnie od badanej grupy, nie stwierdzono powiązania poziomu PNX we krwi z wiekiem, wagą, BMI, obwodem brzucha, WHR, BSA, wartościami ciśnienia tętniczego, parametrami morfologii krwi, poziomem glukozy na czczo, eGFR, stężeniem sodu, potasu, CRP, BNP, cholesterolu frakcji HDL we krwi, polem powierzchni lewego przedsionka, masą mięśnia lewej komory (w tym zindeksowaną względem BSA), frakcją wyrzutową lewej komory, wskaźnikiem E/e'. W grupie HFrEF, ale nie w Kontroli, ustalono pozytywną korelację stężenia PNX z stężeniem cholesterolu całkowitego (Ryc. 11.) oraz LDL (Ryc. 12.), a także negatywną ze stężeniem kreatyniny (Ryc. 13.). W grupie kontrolnej stwierdzono, iż poziom PNX w osoczu jest odwrotnie proporcjonalny do stężenia trójglicerydów (Ryc. 14.), kwasu moczowego (Ryc. 15.) oraz aktywności aminotransferazy alaninowej (Ryc. 16.).



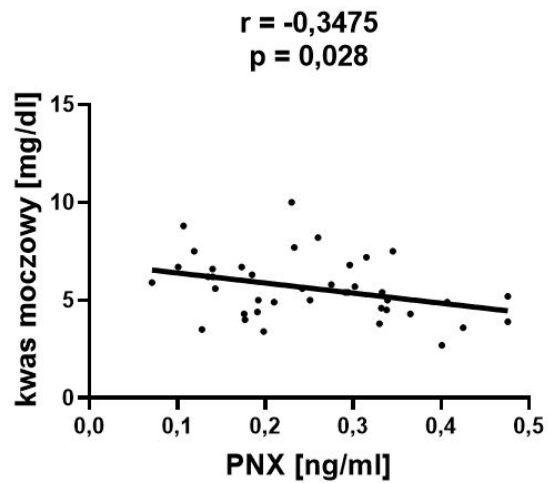
Ryc. 11. Wykres korelacji stężenia PNX oraz cholesterolu całkowitego we krwi u pacjentów z HFrEF.



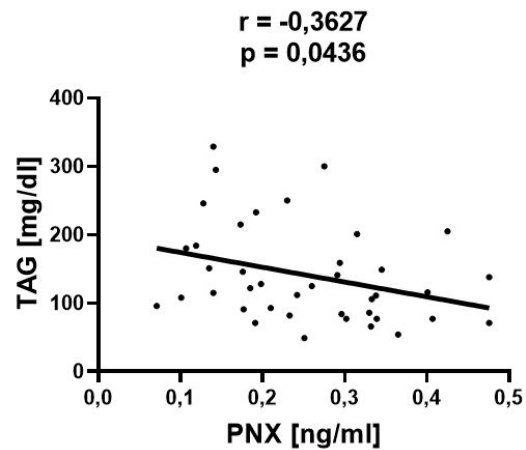
Ryc. 12. Wykres korelacji stężenia PNX oraz cholesterolu frakcji LDL we krwi u pacjentów z HFrEF.



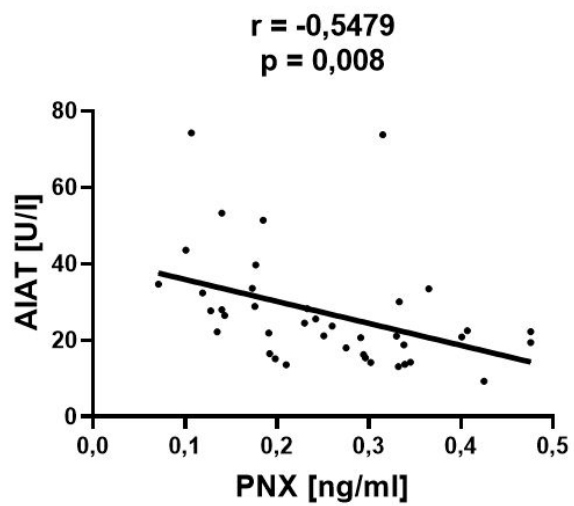
Ryc. 13. Wykres korelacji stężenia PNX oraz kreatyniny we krwi u pacjentów z HFrEF.



Ryc. 14. Wykres korelacji stężenia PNX oraz stężenia kwasu moczowego we krwi u pacjentów z grupy kontrolnej.



Ryc. 15. Wykres korelacji stężenia PNX oraz stężenia trójglicerydów (TAG) we krwi u pacjentów z grupy kontrolnej.



Ryc. 16. Wykres korelacji stężenia PNX oraz aktywności AIAT we krwi u pacjentów z grupy kontrolnej.

7. Dyskusja

Feniksyna jest nowym, filogenetycznie konserwatywnym, polipeptydem obecnym w osoczu u ludzi [237,241,242,247]. Celem badania było określenie stężenia krążącej feniksyny u pacjentów z niewydolnością serca. Jest to piąty, opublikowany eksperyment eksplorujący obecność PNx we krwi u ludzi, a pierwszy koncentrujący się na osobach ze schorzeniami ściśle sercowo-naczyniowymi, pomimo iż już we wczesnych doniesieniach stwierdzono wysoką ekspresję PNx w sercu [229], a niedawno Rocca i wsp. na modelu szczurzym niedokrwienia miokardium wykazali potencjalne znaczenie kardioprotekcyjne feniksyny [250]. W grupie mężczyzn badanych przez Hofmanna i wsp. znaleźli się co prawda pacjenci z nadciśnieniem tętniczym, cukrzycą oraz, bardzo nieliczni, z chorobą niedokrwieną serca, ale nie byli oni w szczególności sposobem analizowani [241]. Do dzisiaj, nie jest pewne czy sercopochodna feniksyna jest produkowana przez kardiomiocyty czy też inne komórki, ale wobec stwierdzonego istotnego wzrostu ekspresji PNx w homogenacie tkankowym serca poddanego uszkodzeniu niedokrwienneму [250], postanowiłem określić stężenie PNx w osoczu u osób z zaawansowaną dysfunkcją mięśnia lewej komory i porównać go do stężenia u adekwatnie dobranej grupy kontrolnej. W poddanej analizie grupie pacjentów z rozpoznaniem HFrEF średnia frakcja wyrzutowa LV wyniosła ok. 28%, natomiast stwierdzenie braku zaburzeń kurczliwości mięśnia sercowego w echokardiografii było niezbędnym warunkiem włączenia do grupy kontrolnej.

Pacjenci obciążeni niewydolnością serca zazwyczaj posiadają liczne choroby współistniejące. Charakterystyka pacjentów zakwalifikowanych do udziału w badaniu i włączonych do grupy HFrEF nie odbiega w znaczący sposób od danych literaturowych. Do polskiego, wieloośrodkowego badania ZOPAN, które rekrutowało osoby z niewydolnością serca leczone w warunkach podstawowej opieki zdrowotnej włączono ponad 800 pacjentów. Praktycznie wszyscy posiadali choroby towarzyszące [256]. W ok. 70% byli obciążeni chorobą niedokrwieną serca i w podobnym odsetku

nadciśnieniem tętniczym, natomiast 1/4 grupy chorowała na cukrzycę [256]. Balsam i wsp. zaprezentowali dane dotyczące polskich pacjentów włączonych do dwóch europejskich rejestrów niewydolności serca [257]. Nadciśnienie tętnicze występowało u 66% pacjentów włączonych do ESC Heart Failure Pilot Survey oraz u 71% do Heart Failure Long-Term Registry, z kolei cukrzyca była obecna u 35% osobników z obu kohort. W badanej przez mnie grupie 2/3 pacjentów z HF miało towarzyszące nadciśnienie tętnicze, co 4. cukrzycę lub stan przedcukrzycowy, natomiast inne choroby przewlekłe stanowiły kryterium wyłączenia z badania. Zważywszy na częstość współwystępowania u pacjentów z niewydolnością serca przewlekłej choroby nerek czy przewlekłej obturacyjnej choroby płuc (odpowiednio 12%/28% oraz 23%/15% - dane z ww. rejestrów [257]) istotnie ograniczyło to dostępną populację. Grupę kontrolną dobrałem w taki sposób by obciążenie chorobowe korespondowało z tym u pacjentów z grupy HFrEF. Migotanie przedsionków będące często konsekwencją progresywnej niewydolności serca lub przeciwnie - jej przyczyną, występowało istotnie częściej w grupie HFrEF. Odmienności w częstości stosowanej farmakoterapii w obu grupach są istotne praktycznie wyłącznie wśród grup leków wskazanych w niewydolności serca (ACEI, BB, MRA, diuretyki itd.). Znamiennych różnic nie znaleziono w częstości przyjmowania leków innych grup, takich jak: antagoniści kanału wapniowego, statyny, leki przeciwplatekcyjne, inhibitory pompy protonowej czy leki na cukrzycę. U połowy pacjentów z niewydolnością serca, w trakcie przeprowadzonej rutynowo diagnostyki, nie stwierdzono niedokrwiennej etiologii uszkodzenia miokardium. Dominującą przyczyną kardiomiopatii w populacji polskiej jest choroba niedokrwiennej etiologii uszkodzenia miokardium. Dominującą przyczyną kardiomiopatii w populacji polskiej jest choroba niedokrwiennej etiologii uszkodzenia miokardium. Wśród przyczyn nieniedokrwiennej, rozstrzeniowej kardiomiopatii, poza genetycznymi defektami białek sarkomerowych, najczęściej wymienia się uszkodzenie pozapalne, tachyarytmiczne lub toksyczne [258]. W badaniu ZOPAN tylko u 30% nie stwierdzono komponenty niedokrwiennej etiologii uszkodzenia serca [256]. U mniej niż połowy z tej grupy podejrzewano możliwość kardiotoksycznego wpływu konsumowanego alkoholu. Odmiennie, do cytowanych już rejestrów zgłoszono aż 40% / 45% pacjentów o nieniedokrwiennej etiologii HF a ponad połowa wszystkich analizowanych pacjentów

konsumowała alkohol częściej niż okazjonalnie [257]. Jest prawdopodobne iż częstość kardiomiopatii alkoholowej jako przyczyny HF jest, szczególnie w Polsce, niedoszacowana [259]. 30% pacjentów, których włączyłem do grupy HFrEF przyznało się do nadużywania obecnie lub w przeszłości alkoholu, dlatego wydaje się, iż uszkodzenie serca o tym tle stanowiło istotną część grupy badanej. Pacjent nadużywający alkoholu charakteryzuje się podwyższoną średnią objętością erytrocytu (MCV), która powraca do normy nawet kilka miesięcy po zaprzestaniu picia alkoholu [260]. Wśród 22 pacjentów z podejrzeniem zespołu zależności alkoholowej zaobserwowałem istotnie wyższą wartość MCV w porównaniu do reszty pacjentów z HFrEF (mediana 94,05 fl vs 89,9 fl, $p=0,0016$). Ta grupa pacjentów charakteryzowała się młodszym wiekiem oraz mniejszą częstością występowania chorób towarzyszących (dane nieprzedstawione). Na tak wysoki odsetek pacjentów z prawdopodobnie alkoholowym uszkodzeniem mięśnia sercowego wpłynęły kryteria włączenia do badania, które preferowały pacjentów bez dodatkowych chorób przewlekłych.

Grupy badane nie różniły się w zakresie BMI, BSA, WHR oraz rozkurczowego ciśnienia tętniczego, natomiast wartość skurczowego ciśnienia tętniczego była istotnie niższa w grupie HFrEF. Pomiary echokardiograficzne, zgodnie z oczekiwaniami, wykazały istotnie wyższe pole powierzchni lewego przedsionka, wymiar końcoworozkurczowy oraz masę lewej komory, a także wskaźnik E/e' wskazujący na zaburzenia rozkurczowej towarzyszące dysfunkcji skurczowej w grupie niewydolności serca. Nie stwierdzono istotnych różnic w stężeniu hemoglobiny, cholesterolu całkowitego i LDL, trójglicerydów, glukozy na czczo oraz aktywności AIAT. Natomiast grupa HFrEF miała wyższe stężenie CRP, kwasu moczowego oraz kreatyniny, aczkolwiek bez wpływu na różnicę w eGFR, a także niższe stężenie cholesterolu HDL.

Stężenie feniksyny w osoczu było statystycznie takie samo w grupie pacjentów z HFrEF jak w grupie kontrolnej. Etiologia uszkodzenia mięśnia sercowego nie miała wpływu na poziom krążącej PNX. Feniksyna nie korelowała również w żaden sposób z nasileniem

objawów (tj. z klasą w skali NYHA) oraz z zaawansowaniem choroby, wyrażonym przez stopień redukcji frakcji wyrzutowej lewej komory czy obecność migotania przedsionków. Na podstawie zgromadzonych danych można stwierdzić, że feniksyna nie posiada cech niezbędnych do rozpatrywania jej jako biomarkera niewydolności serca. Jednakże, wpływ na kurczliwość mięśnia sercowego [250] oraz na funkcję barierową śródbłonna [252] wskazują iż konieczne są dalsze badania PNx w fizjologii układu krążenia. Być może jej korzystne znaczenie dla uszkodzanego miokardium koncentruje się w ostrej fazie, tak jak to obserwowano w przypadku innych neuropeptydów, np. galaniny [261,262]. Wydaje się, iż jednym z etapów weryfikacji tej hipotezy mogłoby być określenie stężenia PNx we krwi u pacjentów z ostrym zawałem serca.

Podstawowa rola feniksyny związana jest z regulacją osi podwzgórze - przysadka - gonady przez wpływ na wydzielanie hormonów gonadotropowych regulowane m. in. przez ekspresję receptora dla GnRH [229,230]. Do tej pory nie zbadano zależności poziomu feniksyny we krwi od płci. W jedynej jak dotąd publikacji, w której uczestniczyli zarówno kobiety i mężczyźni, nie przeprowadzono analizy zależności poziomu PNx od płci [237]. Struktura płciowa włączonych do badania grup pacjentów była porównywalna, z nieistotną statystycznie przewagą mężczyzn w grupie HFrEF. Płeć męska jest niezależnym predyktorem wystąpienia HFrEF [263] i zazwyczaj dominuje w badanych populacjach pacjentów z niewydolnością serca [256,257]. Rekrutując kobiety do obu grup zwracałem szczególną uwagę na fazę cyklu miesięczkowego. Wszystkie kobiety uczestniczące w badaniu były w okresie pomenopauzalnym. Może to być jeden z powodów dlaczego nie wykazano istotnych różnic w stężeniu PNx pomiędzy płciami. Jest to kwestia, która wymaga dalszych badań.

Jak dotąd analizowano związek poziomu PNx we krwi z zaburzeniami psychicznymi, neurologicznymi oraz metabolicznymi. Hofmann i wsp. badali stężenie PNx w osoczu wyłącznie otyłych mężczyzn, z istotnym odsetkiem chorób towarzyszących [241]. 77,9% grupy miało nadciśnienie tętnicze, 35,3% hipertriglicydemię, 63,2% zaburzenia

oddychania w trakcie snu, a ponad 70% zaburzenia gospodarki węglowodanowej (najczęściej cukrzycę t. 2). Natomiast 9% pacjentów miało rozpoznaną chorobę wieńcową. W tak dobranej populacji, bez grupy kontrolnej, stwierdzono negatywną współzależność poziomu PNx oraz nasilenia zaburzeń lękowych ocenianych za pomocą skali GAD-7. Stwierdzono, iż obecność objawów lękowych, w przeciwieństwie do ww. chorób związanych z wysokim BMI, była predyktorem poziomu PNx. Ullah i wsp. przedstawili doniesienie o wyższym stężeniu PNx w surowicy młodych, miesiączkujących kobiet, z prawidłową masą ciała, obciążonych zespołem policystycznych jajników (*ang. polycystic ovary syndrome, PCOS*) w porównaniu do grupy kontrolnej [242]. PCOS charakteryzuje się zaburzeniami endokrynologicznymi prowadzącymi do rozwoju insulinooporności [264]. W cytowanym badaniu z grupy PCOS wykluczono pacjentki z rozpoznaną cukrzycą. Wykazano istotną negatywną korelację poziomu PNx z stężeniem estradiolu, a pozytywną dla hormonów gonadotropowych (LH, FSH), całkowitego testosteronu, progesteronu oraz BMI. Podobną relację pomiędzy PNx a wskaźnikiem masy ciała - BMI znaleziono również w grupie młodych, niedożywionych dziewcząt z jądłowstrętem psychicznym [247] oraz w wyodrębnionej podgrupie starszych osób z łagodnymi zaburzeniami poznawczymi [237]. W ostatnim przypadku autorzy nie podali jednak zarówno struktury płciowej jak i BMI tej populacji. Na bazie zgromadzonych danych stwierdziłem brak istotnej korelacji poziomu PNx z BMI oraz WHR. Podobnie jak Hofmann i wsp. [241] badałem w większości osoby z nadwagą i otyłością (średnie BMI ok 29 kg/m²), podczas gdy w pozostałych pracach oznaczano PNx u osób z prawidłowym [264] lub skrajnie niskim BMI [247]. Feniksyna produkowana w podwzgórzu ma udowodnione działanie stymulujące apetyt, choć nie jest pewne czy obecna w krążeniu PNx przekracza barierę krew-mózg pełni podobną rolę [243,244]. Potencjalnie, poziom oreksygenicznego peptydu jakim jest feniksyna, w zakresie prawidłowych lub obniżonych wartości BMI może odzwierciedlać stan akumulacji tkanki tłuszczowej, natomiast może dalej nie przyrastać po osiągnięciu nadwagi lub otyłości. Niedawno wykazano iż feniksyna produkowana jest w sznurkach adipocytach i ma wpływ na ich proliferację oraz

gromadzenie kwasów tłuszczowych [248]. Peptydy stymulujące apetyt, zarówno obwodowe jak grelina, czy centralne jak neuropeptyd Y, podlegają regulacji przez przyjęcie pokarmu, a w szczególności przez skład pożywienia [265,266]. Feniksyna, podobnie jak neuropeptyd Y, wydaje się podlegać regulacji poprzez tłuszcze zawarte w pożywieniu. Wykazano, iż kwasu tłuszczowe, takie jak kwas palmitynowy i oleinowy, stymulują ekspresję feniksyny w liniach komórkowych neuronów podwzgórzowych [245]. Osobnicza masa ciała, stan magazynów energetycznych organizmu, poprzez sekrecję adipokin, głównie leptyny, wpływa hamująco na sygnalizację oreksygeniczną [265,266]. Koresponduje to z obserwowanym u szczurów poposiłkowym wzrostem stężenia PNx we krwi, którego jednak nie stwierdzono u zwierząt żywionych przewlekle dietą wysokotłuszczową [250]. Rola nowej adipokiny - feniksyny, w gospodarce energetycznej organizmu, metabolizmie tkanki tłuszczowej, a także jej wpływie na insulinooporność, z pewnością wymaga dalszych badań.

Obecnie nie ma danych dotyczących relacji feniksyny z pozostałymi członkami rodziny adipocytokin. Adiponektyna, wisfatyna i rezystyna to peptydy o szczególnej roli w regulowaniu wrażliwości tkanek na insulinę [267]. Niedawno wykazano iż feniksyna produkowana jest w komórkach wysp trzustkowych, w sposób zależny od poziomu glukozy, oraz powoduje wzrost sekrecji insuliny [249]. Pomimo, iż w grupie kobiet z PCOS oraz istotnie podwyższonym wskaźnikiem HOMA-IR, określającym poziom insulinooporności, stwierdzono podwyższone stężenie PNx w surowicy krwi, to nie wykazano korelacji pomiędzy obiema zmiennymi [242]. W moim materiale doświadczalnym nie znalazłem korelacji PNx z poziomem glukozy na czczo oraz nie stwierdziłem istotnej statystycznie różnicy w stężeniu osoczym PNx pomiędzy pacjentami z cukrzycą typu 2 lub stanem przedcukrzycowym i bez tych zaburzeń. Jednak podgrupy osób z tymi zaburzeniami były stosunkowo mało liczne: 21 pacjentów wśród pacjentów z HF oraz 13 z grupy kontrolnej, dlatego wyciąganie ostatecznych wniosków na podstawie tej analizy byłoby przedwczesne. Poposiłkowy wzrost poziomu PNx we krwi może być elementem regulującym sekrecję insuliny, natomiast

ograniczone wytwarzanie PNx spowodowane przewlekłą dietą bogatotłuszczową prowadzącą do otyłości jednym z mechanizmów leżących u podłoża insulinooporności.

Poziom feniksyny w grupie pacjentów z niewydolności serca wykazywał dodatnią korelację ze stężeniem cholesterolu całkowitego oraz lipoprotein o niskiej gęstości, natomiast w grupie kontrolnej wykazano przeciwną zależność pomiędzy poziomem PNx a stężeniem trójglicerydów we krwi. Yuruyen i wsp. zaobserwowali pozytywną korelację pomiędzy stężeniem PNx w osoczu a stężeniem we krwi lipoprotein o wysokiej gęstości [237], którego wśród moich pacjentów nie stwierdziłem. Znaczenie tych faktów obecnie jest niepewne, jednak biorąc pod uwagę wpływ feniksyny na adipogenezę [248], przyjmowanie pokarmu [248,268] oraz potencjalną zależność od składników tłuszczowych obecnych w pożywieniu [245,250] wskazuje to na konieczność przeprowadzenia dalszych badań w tym zakresie.

W badanych populacjach stwierdziłem, iż poziom PNx był odwrotnie proporcjonalny do stężenia kreatyniny (grupa HFREF), kwasu moczowego oraz aktywności transaminazy alaninowej (Kontrola). W literaturze brak jest jakichkolwiek danych dotyczących wpływu feniksyny na funkcję nerek, metabolizm wątroby i procesy oksydacyjne w ustroju dlatego te wyniki wymagają potwierdzenia w innych, szerszych populacjach.

8. Wnioski:

1. Stężenie feniksyny w osoczu pacjentów z niewydolnością z obniżoną frakcją wyrzutową nie różni się istotnie od stężenia u pacjentów bez niewydolności serca.
2. Stężenie feniksyny w osoczu nie koreluje z frakcją wyrzutową lewej komory, poziomem BNP oraz klasą NYHA u pacjentów z HFrEF.
3. Stężenie feniksyny w osoczu nie różni się istotnie u mężczyzn i kobiet w wieku pomenopauzalnym.
4. U pacjentów z nadwagą lub otyłością stężenie feniksyny w osoczu nie koreluje z BMI.

9. Spis rycin i tabel

9.1. Spis rycin.

Ryc. 1. „Błędne koło” patofizjologii niewydolności serca.

Ryc. 2. Sekwencja aminokwasów izoform feniksyny.

Ryc. 3. Rozkład pacjentów z grupy HFrEF zgodnie z klasyfikacją nasilenia objawów wg NYHA.

Ryc. 4. Stężenie feniksyny w osoczu pacjentów z niewydolnością serca z obniżoną frakcją wyrzutową oraz w grupie kontrolnej.

Ryc. 5. Stężenie PNx w osoczu u kobiet i mężczyzn.

Ryc. 6. Stężenie PNx w osoczu pacjentów z cukrzycą typu 2 lub stanu przedcukrzycowego [DM (+)] oraz bez wywiadu cukrzycy [DM (-)].

Ryc. 7. Stężenie PNx w osoczu pacjentów palących oraz niepalących papierosy.

Ryc. 8. Stężenie PNx w osoczu pacjentów z HF o etiologii niedokrwiennej (IHD) oraz nieniedokrwiennej (non-IHD).

Ryc. 9. Stężenie PNx w osoczu pacjentów z HF z migotaniem przedsionków oraz zachowanym rytmem zatokowym.

Ryc. 10. Stężenie PNx w osoczu pacjentów z HF z podziałem na klasy nasilenia objawów podmiotowych zgodnie z klasyfikacją wg NYHA.

Ryc. 11. Wykres korelacji stężenia PNx oraz cholesterolu całkowitego we krwi u pacjentów z HFrEF.

Ryc. 12. Wykres korelacji stężenia PNx oraz cholesterolu frakcji LDL we krwi u pacjentów z HFrEF.

Ryc. 13. Wykres korelacji stężenia PNx oraz kreatyniny we krwi u pacjentów z HFrEF.

Ryc. 14. Wykres korelacji stężenia PNx oraz stężenia kwasu moczowego we krwi u pacjentów z grupy kontrolnej.

Ryc. 15. Wykres korelacji stężenia PNx oraz stężenia trójglicerydów (TAG) we krwi u pacjentów z grupy kontrolnej.

Ryc. 16. Wykres korelacji stężenia PNX oraz aktywności AIAT we krwi u pacjentów z grupy kontrolnej.

9.2. Spis tabel.

Tab. 1. Klasyfikacja stadium niewydolności serca wg ACCF/AHA.

Tab. 2. Klasyfikacja czynnościowa niewydolności serca wg NYHA.

Tab. 3. Potencjalne przyczyny niewydolności serca z obniżoną frakcją wyrzutową:

Tab. 4. Porównanie wytycznych postępowania w HF ESC oraz ACCF/AHA/HFSA w zakresie stosowania biomarkerów.

Tab. 5. Biomarkery niewydolności serca zgodnie ze zmodyfikowanym podziałem wg Braunwalda.

Tab. 6. Charakterystyka porównawcza grupy badanej oraz grupy kontrolnej.

Tab. 7. Wyniki pomiarów oraz badań dodatkowych grupy badanej oraz grupy kontrolnej.

10. Streszczenie

Wprowadzenie: Niewydolność serca (HF) we współczesnej kardiologii w krajach zachodnich jest ogromnym problemem o znaczeniu zarówno społecznym jak i ekonomicznym. Pomimo dynamicznie rozwijających się metod diagnostyki oraz leczenia brakuje szeroko akceptowanej strategii oceny rokowania i przewidywania re-hospitalizacji wyodrębniającej pacjentów najwyższego ryzyka. Takie podejście może zostać oparte na oznaczeniu kilku wyselekcjonowanych biomarkerów osoczowych, których powiązanie z zaawansowaniem HF oraz występowaniem niekorzystnych zdarzeń intensywnie badano w ostatnich latach. Do tej grupy zaliczają się, poza peptydami natriuretycznymi oraz troponinami sercowymi, szczególnie: różnicujący czynnik wzrostu 15 (GDF-15), galektyna-3, rozpuszczalna forma białka ST2, kopeptyna i adrenomedulina. Sukcesywnie badane są nowe peptydy, których znaczenie wykazano w patofizjologii uszkodzenia mięśnia sercowego. Feniksyna (PNX), neuropeptyd zaangażowany m. in. w regulację wydzielania gonadotropin z przedniego płata przysadki mózgowej, a także stymulację ośrodka głodu, metabolizm tkanki tłuszczowej oraz prawdopodobnie wydzielanie insuliny z komórek beta wysp trzustkowych, jest również obficie produkowany w sercu. W pionierskim eksperymencie wykazano jego wpływ na funkcję skurczową i rozkurczową miokardium, a także funkcję kardioprotekcyjną w modelu ischemia/reperfuzja. Obecność, stężenie i rola feniksyny w osoczu w populacji ludzkiej pozostaje szerzej niezbadane.

Cel pracy: Celem pracy było oznaczenie stężenia feniksyny w osoczu pacjentów z niewydolnością serca i porównania z grupą kontrolną oraz określenie korelacji stężeń PNX z szeregiem parametrów antropometrycznych, echokardiograficznych oraz biochemicznych w badanych populacjach.

Materiały i metody: Badano grupę 74 pacjentów z niewydolnością serca z obniżoną frakcją wyrzutową (HFrEF) oraz 40 pacjentów z grupy kontrolnej. Każdego pacjenta poddano badaniu klinicznemu, pomiarom antropometrycznym a także wykonano panel podstawowych badań laboratoryjnych oraz badanie echokardiograficzne. Metodą

immunoenzymatyczną wykonano oznaczenie stężenia PNx w osoczu krwi. Analizę statystyczną przeprowadzono z wykorzystaniem programu GraphPad Prism 8.0.1 przyjmując za poziom istotności statystycznej $p < 0,05$.

Wyniki: Do badania włączono populację pacjentów z HFrEF: średni wiek - 61 lat, BMI - ok. 29 kg/m², 81% mężczyzn, 50% o niedokrwiennej etiologii niewydolności serca, ze średnią wartością frakcji wyrzutowej ok. 28%. Stężenie feniksyny w osoczu pacjentów z HFrEF nie różniło się w sposób istotny statystycznie od stężenia u osób z grupy kontrolnej. Nie stwierdzono istotnej statystycznie zależności stężenia PNx od wieku, płci, BMI, występowania cukrzycy, migotania przedsionków czy etiologii uszkodzenia mięśnia sercowego. Stwierdzono istotną statystycznie pozytywną korelację poziomu feniksyny ze stężeniem cholesterolu całkowitego oraz LDL grupie pacjentów z HFrEF, a także negatywną ze stężeniem kreatyniny w grupie HFrEF, jak również kwasu moczowego, trójglicerydów oraz aktywności AIAT w grupie kontrolnej.

Wnioski: Stężenie feniksyny w osoczu pacjentów z HF nie różni się od stężenia u osób bez niewydolności serca. Poziom feniksyny we krwi nie różni się u mężczyzn i kobiet w wieku pomenopauzalnym oraz nie koreluje z BMI u osób z nadmierną masą ciała. Znaczenie feniksyny w chorobach sercowo-naczyniowych wymaga dalszych badań.

11. Abstract

Introduction: Heart failure (HF) nowadays in western countries is a immense problem largely due to its social impact as well as economic burden. Despite dynamically developing methods of investigation and treatment, a widely accepted strategy to establish prognosis and predict re-hospitalization events in HF is lacking. Such a comprehensive approach could be based on several selected plasma biomarkers, which have been studied extensively in recent years and have been correlated with HF stage and/or frequency of adverse events. Currently, besides natriuretic peptides and cardiac troponins, interests focus particularly on growth/differentiation factor 15 (GDF-15), galectin-3, soluble ST2 protein, copeptin and adrenomedullin. Still, new peptides with recently discovered role in myocardial impairment pathophysiology emerge.

Phoenixin (PNX) is a neuropeptide mainly involved in regulation of gonadotropin secretion from anterior pituitary gland, stimulation of appetite centre, adipose tissue metabolism and probably insulin secretion from pancreatic islet beta cells. It is also abundantly produced in the heart. In a groundbreaking experiment PNX has been shown to have an influence on both systolic and diastolic myocardial function and a cardioprotective effect in ischemia / reperfusion model. However, circulatory phoenixin's role and level in human population is predominantly unknown.

Study objectives: The aim of this study was to measure PNX plasma concentration in a group of heart failure with reduced ejection fraction (HFrEF) patients and to compare it to levels found in HF-negative participants. Secondary goal was to investigate significant correlation of PNX level and number of anthropometric, echocardiographic and biochemical parameters.

Materials and methods: A group of 74 HFrEF patients and a control group consisting of 40 participants without systolic or diastolic myocardial dysfunction were studied. Each individual underwent anthropometric measurements, basic laboratory testing and clinical as well as echocardiographic exam. To evaluate PNX plasma concentration, an

immunoenzymatic assay was performed. GraphPad Prism 8.0.1 software was used to conduct statistical analysis with set level of significance at $p < 0.05$.

Results: HFrEF patients analysed were at mean age of 61, BMI approx. 29 kg/m^2 , 81% of the group were male, 50% with ischemic aetiology of myocardial dysfunction, with mean ejection fraction of app. 28%. PNx plasma concentration in the HFrEF group was not statistically different than in the control group. No significant correlation between PNx level and age, sex, BMI, aetiology of HF, diabetes or atrial fibrillation presence was found. PNx concentration correlated positively with total and LDL cholesterol blood level in HFrEF patients. Negative correlation was found with creatinine in HFrEF, uric acid and triglycerides levels as well as AIAT activity in the control group.

Conclusion: Plasma phoenixin level is similar in HF and non-HF individuals. There is no significant difference in PNx plasma concentration between males and postmenopausal females. PNx level does not correlate with BMI in overweight or obese individuals. Phoenixin role in cardiovascular disease requires further investigation.

12. Piśmiennictwo

1. Strzelecki Z, Szymborski J. Zachorowalność i umieralność na choroby układu krążenia a sytuacja demograficzna Polski. Warszawa: Rządowa Rada Ludnościowa; 2015.
2. Nessler J, Kozierekiewicz A, Gackowski A, Ponikowski P, Straburzynska-Migaj E, Uchmanowicz I, et al. [Coordinated heart failure care in Poland: towards optimal organisation of the health care system]. *Kardiologia Polska*. 2018;76: 479–487.
3. Benjamin EJ, Muntner P, Alonso A, Bittencourt MS, Callaway CW, Carson AP, et al. Heart Disease and Stroke Statistics-2019 Update: A Report From the American Heart Association. *Circulation*. 2019;139: e56–e528.
4. Mamas A, Mamas MA, Sperrin M, Watson MC, Coutts A, Wilde K, et al. Do patients have worse outcomes in heart failure than in cancer? A primary care-based cohort study with 10-year follow-up in Scotland. *European Journal of Heart Failure*. 2017; 19(9): 1095–1104.
5. Gańczak M, Miazgowski T, Kozybska M, Kotwas A, Korzeń M, Rudnicki B, et al. Changes in disease burden in Poland between 1990–2017 in comparison with other Central European countries: A systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2017. *PLOS ONE*. 2020; 15(3): e0226766.
6. Łyszczarz B. Ocena kosztów niewydolności serca w Polsce z perspektywy gospodarki państwa. Warszawa: Instytut Innowacyjna Gospodarka; 2017.
7. Cook C, Cole G, Asaria P, Jabbour R, Francis DP. The annual global economic burden of heart failure. *International Journal of Cardiology*. 2014;171: 368–376.
8. Yancy CW, Jessup M, Bozkurt B, Butler J, Casey DE Jr, Drazner MH, 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. *Journal of the American College of Cardiology*. 2013;62: e147–239.
9. Bonow RO, Mann DL, Zipes DP, Libby P. Braunwald's Heart Disease: A Textbook of Cardiovascular Medicine. W B Saunders Company; 2012.
10. Ponikowski P, Voors AA, Anker SD, Bueno H, Cleland JGF, Coats AJS, et al. 2016 ESC Guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure: The Task Force for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure of the European Society of Cardiology (ESC) Developed with the special contribution of the Heart Failure Association (HFA) of the ESC. *European Heart Journal*.

2016;37: 2129–2200.

11. Nagueh SF, Smiseth OA, Appleton CP, Byrd BF 3rd, Dokainish H, Edvardsen T, et al. Recommendations for the Evaluation of Left Ventricular Diastolic Function by Echocardiography: An Update from the American Society of Echocardiography and the European Association of Cardiovascular Imaging. *Eur Heart J Cardiovasc Imaging*. 2016;17: 1321–1360.
12. Hunt SA, Abraham WT, Chin MH, Feldman AM, Francis GS, Ganiats TG, et al. 2009 Focused update incorporated into the ACC/AHA 2005 Guidelines for the Diagnosis and Management of Heart Failure in Adults A Report of the American College of Cardiology Foundation/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines Developed in Collaboration With the International Society for Heart and Lung Transplantation. *J Am Coll Cardiol*. 2009;53: e1–e90.
13. Savarese G, Lund LH. Global Public Health Burden of Heart Failure. *Card Fail Rev*. 2017;3: 7–11.
14. Mann DL, Bristow MR. Mechanisms and Models in Heart Failure. *Circulation*. 2005; 111(21): 2837–2849.
15. Ho KK, Anderson KM, Kannel WB, Grossman W, Levy D. Survival after the onset of congestive heart failure in Framingham Heart Study subjects. *Circulation*. 1993;88: 107–115.
16. Lee DS, Gona P, Vasan RS, Larson MG, Benjamin EJ, Wang TJ, et al. Relation of Disease Pathogenesis and Risk Factors to Heart Failure With Preserved or Reduced Ejection Fraction. *Circulation*. 2009; 119(24): 3070–3077.
17. Teerlink JR, Goldhaber SZ, Pfeffer MA. An overview of contemporary etiologies of congestive heart failure. *Am Heart J*. 1991;121: 1852–1853.
18. National Heart Failure Audit 2019 Summary Report. National Institute for Cardiovascular Outcomes Research; 2019. Dostępny: <https://www.nicor.org.uk/wp-content/uploads/2019/09/Heart-Failure-2019-Report-final.pdf>
19. Cleland JGF, Swedberg K, Follath F, Komajda M, Cohen-Solal A, Aguilar JC, et al. The EuroHeart Failure survey programme-- a survey on the quality of care among patients with heart failure in Europe. Part 1: patient characteristics and diagnosis. *Eur Heart J*. 2003;24: 442–463.
20. Nieminen MS, Brutsaert D, Dickstein K, Drexler H, Follath F, Harjola V-P, et al. EuroHeart Failure Survey II (EHFS II): a survey on hospitalized acute heart failure patients: description of population. *Eur Heart J*. 2006;27: 2725–2736.
21. Rywik SL, Wagrowska H, Broda G, Sarnecka A, Pytlak A, Polakowska M, et al.

- Heart failure in patients seeking medical help at outpatients clinics. Part I. General characteristics. *Eur J Heart Fail.* 2000;2: 413–421.
22. Beręsewicz A, Duda M, Klemenska E, Mackiewicz U, Maćzewski M. *Patofizjologia niewydolności serca.* Warszawa: Centrum Medyczne Kształcenia Podyplomowego; 2010.
 23. Bloom MW, Greenberg B, Jaarsma T, Januzzi JL, Lam CSP, Maggioni AP, et al. Heart failure with reduced ejection fraction. *Nat Rev Dis Primers.* 2017;3: 17058.
 24. Biomarkers Definitions Working Group. Biomarkers and surrogate endpoints: preferred definitions and conceptual framework. *Clin Pharmacol Ther.* 2001;69: 89–95.
 25. Ridker PM. Evaluating novel cardiovascular risk factors: can we better predict heart attacks? *Ann Intern Med.* 1999;130: 933–937.
 26. Morrow DA, de Lemos JA. Benchmarks for the assessment of novel cardiovascular biomarkers. *Circulation.* 2007; 115(8): 949–952.
 27. Yancy CW, Jessup M, Bozkurt B, Butler J, Casey DE Jr, Colvin MM, et al. 2017 ACC/AHA/HFSA Focused Update of the 2013 ACCF/AHA Guideline for the Management of Heart Failure: A Report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Clinical Practice Guidelines and the Heart Failure Society of America. *J Card Fail.* 2017;23: 628–651.
 28. Braunwald E. Biomarkers in Heart Failure. *New England Journal of Medicine.* 2008; 358: 2148–2159.
 29. Murphy SP, Kakkar R, McCarthy CP, Januzzi JL Jr. Inflammation in Heart Failure: JACC State-of-the-Art Review. *J Am Coll Cardiol.* 2020;75: 1324–1340.
 30. Vasan RS, Sullivan LM, Roubenoff R, Dinarello CA, Harris T, Benjamin EJ, et al. Inflammatory markers and risk of heart failure in elderly subjects without prior myocardial infarction: the Framingham Heart Study. *Circulation.* 2003;107: 1486–1491.
 31. Verma S, Wang C-H, Li S-H, Dumont AS, Fedak PWM, Badiwala MV, et al. A self-fulfilling prophecy: C-reactive protein attenuates nitric oxide production and inhibits angiogenesis. *Circulation.* 2002;106: 913–919.
 32. Anand IS, Latini R, Florea VG, Kuskowski MA, Rector T, Masson S, et al. C-reactive protein in heart failure: prognostic value and the effect of valsartan. *Circulation.* 2005;112: 1428–1434.
 33. Windram JD, Loh PH, Rigby AS, Hanning I, Clark AL, Cleland JGF. Relationship of high-sensitivity C-reactive protein to prognosis and other prognostic markers in

- outpatients with heart failure. *Am Heart J.* 2007;153: 1048–1055.
34. Kamioka M, Suzuki H, Yamada S, Kamiyama Y, Saitoh S-I, Takeishi Y. High sensitivity C-reactive protein predicts nonresponders and cardiac deaths in severe heart failure patients after CRT implantation. *Int Heart J.* 2012;53: 306–312.
 35. Nessler JM, Nessler BJ, Kitlinski M, Melander O, Fedorowski A. High Sensitivity C-Reactive Protein Predicts Carvedilol-Induced Improvement of Left Ventricular Systolic Function in Patients with Heart Failure. *Journal of Cardiac Failure.* 2011; 17(8): S29.
 36. Latini R, Gullestad L, Masson S, Nymo SH, Ueland T, Cuccovillo I, et al. Pentraxin-3 in chronic heart failure: the CORONA and GISSI-HF trials. *Eur J Heart Fail.* 2012;14: 992–999.
 37. Kjekshus J, Apetrei E, Barrios V, Böhm M, Cleland JGF, Cornel JH, et al. Rosuvastatin in older patients with systolic heart failure. *N Engl J Med.* 2007;357: 2248–2261.
 38. Van Tassell BW, Canada J, Carbone S, Trankle C, Buckley L, Oddi Erdle C, et al. Interleukin-1 Blockade in Recently Decompensated Systolic Heart Failure: Results From REDHART (Recently Decompensated Heart Failure Anakinra Response Trial). *Circ Heart Fail.* 2017;10(11): e004373.
 39. Trankle CR, Canada JM, Cei L, Abouzaki N, Oddi-Erdle C, Kadariya D, et al. Usefulness of Canakinumab to Improve Exercise Capacity in Patients With Long-Term Systolic Heart Failure and Elevated C-Reactive Protein. *Am J Cardiol.* 2018;122: 1366–1370.
 40. Ueland T, Aukrust P, Damas JK, Gullestad L, Yndestad A. The tumor necrosis factor superfamily in heart failure. *Future Cardiol.* 2006;2: 101–111.
 41. Røysland R, Masson S, Omland T, Milani V, Bjerre M, Flyvbjerg A, et al. Prognostic value of osteoprotegerin in chronic heart failure: The GISSI-HF trial. *Am Heart J.* 2010;160: 286–293.
 42. Friões F, Laszczynska O, Almeida P-B, Silva N, Guimarães J-T, Omland T, et al. Prognostic Value of Osteoprotegerin in Acute Heart Failure. *Can J Cardiol.* 2015;31: 1266–1271.
 43. Niessner A, Hohensinner PJ, Rychli K, Neuhold S, Zorn G, Richter B, et al. Prognostic value of apoptosis markers in advanced heart failure patients. *Eur Heart J.* 2009;30: 789–796.
 44. Ueland T, Aukrust P, Yndestad A, Otterdal K, Frøland SS, Dickstein K, et al. Soluble CD40 ligand in acute and chronic heart failure. *Eur Heart J.* 2005;26:

1101–1107.

45. Teplyakov AT, Berezikova EN, Shilov SN, Grakova EV, Torim YY, Efremov AV, et al. [Role of soluble Fas ligand in myocardial remodeling, severity and outcomes of chronic heart failure]. *Ter Arkh.* 2016;88: 10–16.
46. Straburzyńska-Migaj E, Ochotny R, Wachowiak-Baszyńska A, Straburzyńska-Lupa A, Leśniewska K, Wiktorowicz K, et al. Cytokines and heart rate variability in patients with chronic heart failure. *Kardiol Pol.* 2005;63: 478–85.
47. Okuyama M, Yamaguchi S, Nozaki N, Yamaoka M, Shirakabe M, Tomoike H. Serum Levels of Soluble Form of Fas Molecule in Patients with Congestive Heart Failure. *Am J Cardiol.* 1997;79: 1698–1701.
48. Bedi MS, Alvarez RJ Jr, Kubota T, Sheppard R, Kormos RL, Siegenthaler MP, et al. Myocardial Fas and cytokine expression in end-stage heart failure: impact of LVAD support. *Clin Transl Sci.* 2008;1: 245–248.
49. Bozkurt B, Torre-Amione G, Warren MS, Whitmore J, Soran OZ, Feldman AM, et al. Results of Targeted Anti-Tumor Necrosis Factor Therapy With Etanercept (ENBREL) in Patients With Advanced Heart Failure. *Circulation.* 2001; 103: 1044–1047.
50. Mann DL, McMurray JJV, Packer M, Swedberg K, Borer JS, Colucci WS, et al. Targeted anticytokine therapy in patients with chronic heart failure: results of the Randomized Etanercept Worldwide Evaluation (RENEWAL). *Circulation.* 2004;109: 1594–1602.
51. Chung ES, Packer M, Lo KH, Fasanmade AA, Willerson JT. Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled, Pilot Trial of Infliximab, a Chimeric Monoclonal Antibody to Tumor Necrosis Factor- α , in Patients With Moderate-to-Severe Heart Failure. *Circulation.* 2003; 107(25): 3133–3140.
52. Savic-Radojevic A, Pljesa-Ercegovac M, Matic M, Simic D, Radovanovic S, Simic T. Novel Biomarkers of Heart Failure. *Advances in Clinical Chemistry.* 2017; 79: 93–152.
53. Kempf T, Eden M, Strelau J, Naguib M, Willenbockel C, Tongers J, et al. The transforming growth factor-beta superfamily member growth-differentiation factor-15 protects the heart from ischemia/reperfusion injury. *Circ Res.* 2006;98: 351–360.
54. Xu J, Kimball TR, Lorenz JN, Brown DA, Bauskin AR, Klevitsky R, et al. GDF15/MIC-1 functions as a protective and antihypertrophic factor released from the myocardium in association with SMAD protein activation. *Circ Res.* 2006;98: 342–350.

55. Daniels LB, Clopton P, Laughlin GA, Maisel AS, Barrett-Connor E. Growth-differentiation factor-15 is a robust, independent predictor of 11-year mortality risk in community-dwelling older adults: the Rancho Bernardo Study. *Circulation*. 2011;123: 2101–2110.
56. Kempf T, von Haehling S, Peter T, Allhoff T, Cicoira M, Doehner W, et al. Prognostic utility of growth differentiation factor-15 in patients with chronic heart failure. *J Am Coll Cardiol*. 2007;50: 1054–1060.
57. Kempf T, Björklund E, Olofsson S, Lindahl B, Allhoff T, Peter T, et al. Growth-differentiation factor-15 improves risk stratification in ST-segment elevation myocardial infarction. *Eur Heart J*. 2007;28: 2858–2865.
58. Wollert KC, Kempf T, Peter T, Olofsson S, James S, Johnston N, et al. Prognostic value of growth-differentiation factor-15 in patients with non-ST-elevation acute coronary syndrome. *Circulation*. 2007;115: 962–971.
59. Khan SQ, Ng K, Dhillon O, Kelly D, Quinn P, Squire IB, et al. Growth differentiation factor-15 as a prognostic marker in patients with acute myocardial infarction. *European Heart Journal*. 2009; 30(9): 1057–1065.
60. Sharma A, Stevens SR, Lucas J, Fiuzat M, Adams KF, Whellan DJ, et al. Utility of Growth Differentiation Factor-15, A Marker of Oxidative Stress and Inflammation, in Chronic Heart Failure: Insights From the HF-ACTION Study. *JACC Heart Fail*. 2017;5: 724–734.
61. Chan MMY, Santhanakrishnan R, Chong JPC, Chen Z, Tai BC, Liew OW, et al. Growth differentiation factor 15 in heart failure with preserved vs. reduced ejection fraction. *Eur J Heart Fail*. 2016;18: 81–88.
62. McMurray J, Chopra M, Abdullah I, Smith WE, Dargie HJ. Evidence of oxidative stress in chronic heart failure in humans. *European Heart Journal*. 1993; 14(11); 1493–1498.
63. Grieve D. Oxidative stress in heart failure More than just damage. *European Heart Journal*. 2003; 24(24): 2161–2163.
64. Münzel T, Camici GG, Maack C, Bonetti NR, Fuster V, Kovacic JC. Impact of Oxidative Stress on the Heart and Vasculature. *Journal of the American College of Cardiology*. 2017; 70(2): 212–229.
65. Nicholls SJ, Hazen SL. Myeloperoxidase and Cardiovascular Disease. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*. 2005; 25: 1102–1111.
66. Lau D, Baldus S. Myeloperoxidase and its contributory role in inflammatory vascular disease. *Pharmacol Ther*. 2006;111: 16–26.

67. Tang WHW, Katz R, Brennan M-L, Aviles RJ, Tracy RP, Psaty BM, et al. Usefulness of myeloperoxidase levels in healthy elderly subjects to predict risk of developing heart failure. *Am J Cardiol.* 2009;103: 1269–1274.
68. Ng LL, Pathik B, Loke IW, Squire IB, Davies JE. Myeloperoxidase and C-reactive protein augment the specificity of B-type natriuretic peptide in community screening for systolic heart failure. *Am Heart J.* 2006;152: 94–101.
69. Ali M, Pulli B, Courties G, Tricot B, Sebas M, Iwamoto Y, et al. Myeloperoxidase Inhibition Improves Ventricular Function and Remodeling After Experimental Myocardial Infarction. *JACC Basic Transl Sci.* 2016;1: 633–643.
70. Sautin YY, Johnson RJ. Uric acid: the oxidant-antioxidant paradox. *Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids.* 2008;27: 608–619.
71. Krishnan E. Hyperuricemia and incident heart failure. *Circ Heart Fail.* 2009;2: 556–562.
72. Okazaki H, Shirakabe A, Kobayashi N, Hata N, Shinada T, Matsushita M, et al. Are atherosclerotic risk factors associated with a poor prognosis in patients with hyperuricemic acute heart failure? The evaluation of the causal dependence of acute heart failure and hyperuricemia. *Heart Vessels.* 2017;32: 436–445.
73. Amin A, Chitsazan M, Abad FSA, Taghavi S, Naderi N. On admission serum sodium and uric acid levels predict 30 day rehospitalization or death in patients with acute decompensated heart failure. *ESC Heart Failure.* 2017; 4(2): 162–168.
74. Struthers AD, Donnan PT, Lindsay P, McNaughton D, Broomhall J, MacDonald TM. Effect of allopurinol on mortality and hospitalisations in chronic heart failure: a retrospective cohort study. *Heart.* 2002;87: 229–234.
75. Givertz MM, Anstrom KJ, Redfield MM, Deswal A, Haddad H, Butler J, et al. Effects of Xanthine Oxidase Inhibition in Hyperuricemic Heart Failure Patients: The Xanthine Oxidase Inhibition for Hyperuricemic Heart Failure Patients (EXACT-HF) Study. *Circulation.* 2015;131: 1763–1771.
76. Hare JM, Mangal B, Brown J, Fisher C, Freudenberger R, Colucci WS, et al. Impact of Oxypurinol in Patients With Symptomatic Heart Failure. *Journal of the American College of Cardiology.* 2008; 51(24): 2301–2309.
77. Pavlusova M, Jarkovsky J, Benesova K, Vitovec J, Linhart A, Widimsky P, et al. Hyperuricemia treatment in acute heart failure patients does not improve their long-term prognosis: A propensity score matched analysis from the AHEAD registry. *Clinical Cardiology.* 2019; 42(8): 720-727.
78. Yokota T, Fukushima A, Kinugawa S, Okumura T, Murohara T, Tsutsui H. Randomized Trial of Effect of Urate-Lowering Agent Febuxostat in Chronic Heart

- Failure Patients with Hyperuricemia (LEAF-CHF). *Int Heart J.* 2018;59: 976–982.
79. Nakagomi A, Saiki Y, Noma S, Kohashi K, Morisawa T, Kosugi M, et al. Effects of febuxostat and allopurinol on the inflammation and cardiac function in chronic heart failure patients with hyperuricemia. *IJC Metabolic & Endocrine.* 2015; 8: 46–55.
 80. Robbins N, Gilbert M, Kumar M, McNamara JW, Daly P, Koch SE, et al. Probenecid Improves Cardiac Function in Patients With Heart Failure With Reduced Ejection Fraction In Vivo and Cardiomyocyte Calcium Sensitivity In Vitro. *J Am Heart Assoc.* 2018; 7(2): e007148.
 81. Lyseng-Williamson KA. Pegloticase: in treatment-refractory chronic gout. *Drugs.* 2011;71: 2179–2192.
 82. Trachtenberg BH, Hare JM. Biomarkers of Oxidative Stress in Heart Failure. *Heart Failure Clinics.* 2009; 5(4): 561–577.
 83. Tsutsui T, Tsutamoto T, Wada A, Maeda K, Mabuchi N, Hayashi M, et al. Plasma oxidized low-density lipoprotein as a prognostic predictor in patients with chronic congestive heart failure. *J Am Coll Cardiol.* 2002;39: 957–962.
 84. Forster O, Hilfiker-Kleiner D, Ansari AA, Bruce Sundstrom J, Libhaber E, Tshani W, et al. Reversal of IFN- γ , oxLDL and prolactin serum levels correlate with clinical improvement in patients with peripartum cardiomyopathy. *European Journal of Heart Failure.* 2008; 10(9): 861–868.
 85. Díaz-Vélez CR, García-Castiñeiras S, Mendoza-Ramos E, Hernández-López E. Increased malondialdehyde in peripheral blood of patients with congestive heart failure. *Am Heart J.* 1996;131: 146–152.
 86. Romuk E, Wojciechowska C, Jacheć W, Zemła-Woszek A, Momot A, Buczkowska M, et al. Malondialdehyde and Uric Acid as Predictors of Adverse Outcome in Patients with Chronic Heart Failure. *Oxid Med Cell Longev.* 2019;2019: 9246138.
 87. Chalikias GK, Tziakas DN. Biomarkers of the Extracellular Matrix and of Collagen Fragments. *Biomarkers in Cardiovascular Disease.* 2015. pp. 1–38.
 88. Klappacher G, Franzen P, Haab D, Mehrabi M, Binder M, Plesch K, et al. Measuring extracellular matrix turnover in the serum of patients with idiopathic or ischemic dilated cardiomyopathy and impact on diagnosis and prognosis. *The American Journal of Cardiology.* 1995; 75(14): 913–918.
 89. Cicoira M, Rossi A, Bonapace S, Zanolla L, Golia G, Franceschini L, et al. Independent and additional prognostic value of aminoterminal propeptide of type III procollagen circulating levels in patients with chronic heart failure. *J Card Fail.* 2004;10: 403–411.

90. Barasch E, Gottdiener JS, Aurigemma G, Kitzman DW, Han J, Kop WJ, et al. The relationship between serum markers of collagen turnover and cardiovascular outcome in the elderly: the Cardiovascular Health Study. *Circ Heart Fail.* 2011;4: 733–739.
91. DeLeon-Pennell KY, Meschiari CA, Jung M, Lindsey ML. Matrix Metalloproteinases in Myocardial Infarction and Heart Failure. *Progress in Molecular Biology and Translational Science.* 2017; 147: 75–100.
92. Nielsen SH, Mouton AJ, DeLeon-Pennell KY, Genovese F, Karsdal M, Lindsey ML. Understanding cardiac extracellular matrix remodeling to develop biomarkers of myocardial infarction outcomes. *Matrix Biol.* 2019;75-76: 43–57.
93. Passino C, Barison A, Vergaro G, Gabutti A, Borrelli C, Emdin M, et al. Markers of fibrosis, inflammation, and remodeling pathways in heart failure. *Clin Chim Acta.* 2015;443: 29–38.
94. Weinberg EO, Shimpo M, Hurwitz S, Tominaga S-I, Rouleau J-L, Lee RT. Identification of serum soluble ST2 receptor as a novel heart failure biomarker. *Circulation.* 2003;107: 721–726.
95. Shimpo M, Morrow DA, Weinberg EO, Sabatine MS, Murphy SA, Antman EM, et al. Serum levels of the interleukin-1 receptor family member ST2 predict mortality and clinical outcome in acute myocardial infarction. *Circulation.* 2004;109: 2186–2190.
96. Mueller T, Dieplinger B, Gegenhuber A, Poelz W, Pacher R, Haltmayer M. Increased plasma concentrations of soluble ST2 are predictive for 1-year mortality in patients with acute destabilized heart failure. *Clin Chem.* 2008;54: 752–756.
97. Shah RV, Chen-Tournoux AA, Picard MH, van Kimmenade RRJ, Januzzi JL. Serum levels of the interleukin-1 receptor family member ST2, cardiac structure and function, and long-term mortality in patients with acute dyspnea. *Circ Heart Fail.* 2009;2: 311–319.
98. Chow SL, Maisel AS, Anand I, Bozkurt B, de Boer RA, Felker GM, et al. Role of Biomarkers for the Prevention, Assessment, and Management of Heart Failure: A Scientific Statement From the American Heart Association. *Circulation.* 2017;135: e1054–e1091.
99. Gaggin HK, Motiwala S, Bhardwaj A, Parks KA, Januzzi JL Jr. Soluble concentrations of the interleukin receptor family member ST2 and β -blocker therapy in chronic heart failure. *Circ Heart Fail.* 2013;6: 1206–1213.
100. Lepojärvi ES, Piira O-P, Pääkkö E, Lammentausta E, Risteli J, Miettinen JA, et al. Serum PINP, PIIINP, galectin-3, and ST2 as surrogates of myocardial fibrosis and echocardiographic left ventricular diastolic filling properties. *Front Physiol.* 2015;6:

200.

101. Quick S, Waessnig NK, Kandler N, Poitz DM, Schoen S, Ibrahim K, et al. Soluble ST2 and myocardial fibrosis in 3T cardiac magnetic resonance. *Scand Cardiovasc J.* 2015;49: 361–366.
102. Sharma UC, Pokharel S, van Brakel TJ, van Berlo JH, Cleutjens JPM, Schroen B, et al. Galectin-3 marks activated macrophages in failure-prone hypertrophied hearts and contributes to cardiac dysfunction. *Circulation.* 2004;110: 3121–3128.
103. Piek A, Du W, de Boer RA, Silljé HHW. Novel heart failure biomarkers: why do we fail to exploit their potential? *Crit Rev Clin Lab Sci.* 2018;55: 246–263.
104. van Kimmenade RR, Januzzi JL Jr, Ellinor PT, Sharma UC, Bakker JA, Low AF, et al. Utility of amino-terminal pro-brain natriuretic peptide, galectin-3, and apelin for the evaluation of patients with acute heart failure. *J Am Coll Cardiol.* 2006;48: 1217–1224.
105. Anand IS, Rector TS, Kuskowski M, Adourian A, Muntendam P, Cohn JN. Baseline and serial measurements of galectin-3 in patients with heart failure: relationship to prognosis and effect of treatment with valsartan in the Val-HeFT. *Eur J Heart Fail.* 2013;15: 511–518.
106. Ueland T, Aukrust P, Broch K, Aakhus S, Skårdal R, Muntendam P, et al. Galectin-3 in heart failure: high levels are associated with all-cause mortality. *Int J Cardiol.* 2011;150: 361–364.
107. Srivatsan V, George M, Shanmugam E. Utility of galectin-3 as a prognostic biomarker in heart failure: where do we stand? *Eur J Prev Cardiol.* 2015;22: 1096–1110.
108. Gullestad L, Ueland T, Kjekshus J, Nymo SH, Hulthe J, Muntendam P, et al. Galectin-3 predicts response to statin therapy in the Controlled Rosuvastatin Multinational Trial in Heart Failure (CORONA). *Eur Heart J.* 2012;33: 2290–2296.
109. Hartupee J, Mann DL. Neurohormonal activation in heart failure with reduced ejection fraction. *Nature Reviews Cardiology.* 2017; 14(1): 30–38.
110. Helle KB. The chromogranin A-derived peptides vasostatin-I and catestatin as regulatory peptides for cardiovascular functions. *Cardiovasc Res.* 2010;85: 9–16.
111. Penna C, Tullio F, Perrelli M-G, Mancardi D, Pagliaro P. Cardioprotection against ischemia/reperfusion injury and chromogranin A-derived peptides. *Curr Med Chem.* 2012;19: 4074–4085.
112. Dieplinger B, Gegenhuber A, Struck J, Poelz W, Langsteger W, Haltmayer M, et al. Chromogranin A and C-terminal endothelin-1 precursor fragment add independent

- prognostic information to amino-terminal proBNP in patients with acute destabilized heart failure. *European Journal of Heart Failure Supplements*. 2008; 400(1-2) 91–96.
113. Røsjø H, Masson S, Latini R, Flyvbjerg A, Milani V, La Rovere MT, et al. Prognostic value of chromogranin A in chronic heart failure: data from the GISSI-Heart Failure trial. *European Journal of Heart Failure*. 2010; 12(6): 549–556.
 114. Peng F, Chu S, Ding W, Liu L, Zhao J, Cui X, et al. The predictive value of plasma catestatin for all-cause and cardiac deaths in chronic heart failure patients. *Peptides*. 2016;86: 112–117.
 115. Siong Chan DC, Cao TH, Ng LL. Proenkephalin in Heart Failure. *Heart Fail Clin*. 2018;14: 1–11.
 116. Emmens JE, Ter Maaten JM, Damman K, van Veldhuisen DJ, de Boer RA, Struck J, et al. Proenkephalin, an Opioid System Surrogate, as a Novel Comprehensive Renal Marker in Heart Failure. *Circ Heart Fail*. 2019;12: e005544.
 117. Ng LL, Squire IB, Jones DJL, Cao TH, Chan DCS, Sandhu JK, et al. Proenkephalin, Renal Dysfunction, and Prognosis in Patients With Acute Heart Failure: A GREAT Network Study. *J Am Coll Cardiol*. 2017;69: 56–69.
 118. Wei CM, Lerman A, Rodeheffer RJ, McGregor CG, Brandt RR, Wright S, et al. Endothelin in human congestive heart failure. *Circulation*. 1994;89: 1580–1586.
 119. Zhang C-L, Xie S, Qiao X, An Y-M, Zhang Y, Li L, et al. Plasma endothelin-1-related peptides as the prognostic biomarkers for heart failure: A PRISMA-compliant meta-analysis. *Medicine*. 2017;96: e9342.
 120. Fraccarollo D, Hu K, Galuppo P, Gaudron P, Ertl G. Chronic endothelin receptor blockade attenuates progressive ventricular dilation and improves cardiac function in rats with myocardial infarction: possible involvement of myocardial endothelin system in ventricular remodeling. *Circulation*. 1997;96: 3963–3973.
 121. Mulder P, Richard V, Derumeaux G, Hogie M, Henry JP, Lallemand F, et al. Role of Endogenous Endothelin in Chronic Heart Failure. *Circulation*. 1997; 96(6): 1976–1982.
 122. Packer M, Caspi A, Charlon V. Multicentre, double-blind, placebo-controlled study of long-term endothelin blockade with bosentan in chronic heart failure - results of the REACH-1 trial (Abstract). *Circulation Suppl* 1998;98 17 :I-3
 123. Packer M. Endothelin Antagonist Bosentan for Lowering Cardiac Events in Heart Failure [ENABLE] 1 and 2. Results presented at the American College of Cardiology 51st Annual Scientific Session. 2002; 17–20.

124. Packer M, McMurray JJV, Krum H, Kiowski W, Massie BM, Caspi A, et al. Long-Term Effect of Endothelin Receptor Antagonism With Bosentan on the Morbidity and Mortality of Patients With Severe Chronic Heart Failure: Primary Results of the ENABLE Trials. *JACC Heart Fail.* 2017;5: 317–326.
125. Holmes CL, Landry DW, Granton JT. Science review: Vasopressin and the cardiovascular system part 1--receptor physiology. *Crit Care.* 2003;7: 427–434.
126. Goldsmith SR, Francis GS, Cowley AW, Barry Levine T, Cohn JN. Increased plasma arginine vasopressin levels in patients with congestive heart failure. *Journal of the American College of Cardiology.* 1983; 1(6): 1385–1390.
127. Konstam MA, Gheorghide M, Burnett JC Jr, Grinfeld L, Maggioni AP, Swedberg K, et al. Effects of oral tolvaptan in patients hospitalized for worsening heart failure: the EVEREST Outcome Trial. *JAMA.* 2007;297: 1319–1331.
128. Maisel A, Xue Y, Shah K, Mueller C, Nowak R, Peacock WF, et al. Increased 90-day mortality in patients with acute heart failure with elevated copeptin: secondary results from the Biomarkers in Acute Heart Failure (BACH) study. *Circ Heart Fail.* 2011;4: 613–620.
129. Sahin I, Gungor B, Ozkaynak B, Uzun F, Küçük SH, Avci II, et al. Higher copeptin levels are associated with worse outcome in patients with hypertrophic cardiomyopathy. *Clin Cardiol.* 2017;40: 32–37.
130. Voors AA, Kremer D, Geven C, Ter Maaten JM, Struck J, Bergmann A, et al. Adrenomedullin in heart failure: pathophysiology and therapeutic application. *Eur J Heart Fail.* 2019;21: 163–171.
131. Jougasaki M, Wei CM, McKinley LJ, Burnett JC Jr. Elevation of circulating and ventricular adrenomedullin in human congestive heart failure. *Circulation.* 1995;92: 286–289.
132. Gegenhuber A, Struck J, Dieplinger B, Poelz W, Pacher R, Morgenthaler NG, et al. Comparative evaluation of B-type natriuretic peptide, mid-regional pro-A-type natriuretic peptide, mid-regional pro-adrenomedullin, and Copeptin to predict 1-year mortality in patients with acute destabilized heart failure. *J Card Fail.* 2007;13: 42–49.
133. Maisel A, Mueller C, Nowak R, Peacock WF, Landsberg JW, Ponikowski P, et al. Mid-region pro-hormone markers for diagnosis and prognosis in acute dyspnea: results from the BACH (Biomarkers in Acute Heart Failure) trial. *J Am Coll Cardiol.* 2010;55: 2062–2076.
134. Kremer D, Ter Maaten JM, Voors AA. Bio-adrenomedullin as a potential quick, reliable, and objective marker of congestion in heart failure. *Eur J Heart Fail.*

- 2018;20: 1363–1365.
135. Maaten JMT, ter Maaten JM, Kremer D, Demissei BG, Struck J, Bergmann A, et al. Bio-adrenomedullin as a marker of congestion in patients with new-onset and worsening heart failure. *European Journal of Heart Failure*. 2019; 21(6): 732–743.
 136. Singh JSS, Burrell LM, Cherif M, Squire IB, Clark AL, Lang CC. Sacubitril/valsartan: beyond natriuretic peptides. *Heart*. 2017;103: 1569–1577.
 137. Nishikimi T, Karasawa T, Inaba C, Ishimura K, Tadokoro K, Koshikawa S, et al. Effects of long-term intravenous administration of adrenomedullin (AM) plus hANP therapy in acute decompensated heart failure: a pilot study. *Circ J*. 2009;73: 892–898.
 138. Nagaya N. Haemodynamic and hormonal effects of adrenomedullin in patients with pulmonary hypertension. *Heart*. 2000; 84(6): 653–658.
 139. Fasshauer M, Blüher M. Adipokines in health and disease. *Trends Pharmacol Sci*. 2015;36: 461–470.
 140. Nakamura K, Fuster JJ, Walsh K. Adipokines: A link between obesity and cardiovascular disease. *Journal of Cardiology*. 2014; 63(4): 250–259.
 141. Jahng JWS, Song E, Sweeney G. Crosstalk between the heart and peripheral organs in heart failure. *Exp Mol Med*. 2016;48: e217.
 142. Ai M, Otokozawa S, Asztalos BF, White CC, Cupples LA, Nakajima K, et al. Adiponectin: an independent risk factor for coronary heart disease in men in the Framingham offspring Study. *Atherosclerosis*. 2011;217: 543–548.
 143. Frystyk J, Berne C, Berglund L, Jensevik K, Flyvbjerg A, Zethelius B. Serum adiponectin is a predictor of coronary heart disease: a population-based 10-year follow-up study in elderly men. *J Clin Endocrinol Metab*. 2007;92: 571–576.
 144. Beatty AL, Zhang MH, Ku IA, Na B, Schiller NB, Whooley MA. Adiponectin is associated with increased mortality and heart failure in patients with stable ischemic heart disease: data from the Heart and Soul Study. *Atherosclerosis*. 2012;220: 587–592.
 145. Kistorp C, Faber J, Galatius S, Gustafsson F, Frystyk J, Flyvbjerg A, et al. Plasma adiponectin, body mass index, and mortality in patients with chronic heart failure. *Circulation*. 2005;112: 1756–1762.
 146. Horwich TB, Fonarow GC. The impact of obesity on survival in patients with heart failure. *Heart Fail Monit*. 2002;3: 8–14.
 147. Davos CH, Doehner W, Rauchhaus M, Cicoira M, Francis DP, Coats AJS, et al.

- Body mass and survival in patients with chronic heart failure without cachexia: The importance of obesity. *Journal of Cardiac Failure*. 2003; 9(1): 29–35.
148. Lavie CJ, Osman AF, Milani RV, Mehra MR. Body composition and prognosis in chronic systolic heart failure: the obesity paradox. *Am J Cardiol*. 2003;91: 891–894.
 149. Jéquier E. Leptin Signaling, Adiposity, and Energy Balance. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 2006; 967: 379–388.
 150. Lieb W, Sullivan LM, Harris TB, Roubenoff R, Benjamin EJ, Levy D, et al. Plasma leptin levels and incidence of heart failure, cardiovascular disease, and total mortality in elderly individuals. *Diabetes Care*. 2009;32: 612–616.
 151. Murdoch DR, Rooney E, Dargie HJ, Shapiro D, Morton JJ, McMurray JJ. Inappropriately low plasma leptin concentration in the cachexia associated with chronic heart failure. *Heart*. 1999;82: 352–356.
 152. Hryniewicz K, Androne AS, Hudaihed A, Katz SD. Partial reversal of Cachexia by β -adrenergic receptor blocker therapy in patients with chronic heart failure. *Journal of Cardiac Failure*. 2003; 9(6): 464–468.
 153. Wang Z, Nakayama T. Inflammation, a Link between Obesity and Cardiovascular Disease. *Mediators of Inflammation*. 2010. pp. 1–17.
 154. Straburzyńska-Migaj E, Gwizdała A, Siniawski A, Ochotny R, Grajek S. Leptin and inflammation in patients with chronic heart failure. *Kardiologia Pol*. 2010;68: 1243–1247.
 155. Tatemoto K, Hosoya M, Habata Y, Fujii R, Kakegawa T, Zou MX, et al. Isolation and characterization of a novel endogenous peptide ligand for the human APJ receptor. *Biochem Biophys Res Commun*. 1998;251: 471–476.
 156. Chandrasekaran B, Dar O, McDonagh T. The role of apelin in cardiovascular function and heart failure. *European Journal of Heart Failure*. 2008; 10(8) 725–732.
 157. Japp AG, Cruden NL, Barnes G, van Gemeren N, Mathews J, Adamson J, et al. Acute cardiovascular effects of apelin in humans: potential role in patients with chronic heart failure. *Circulation*. 2010;121: 1818–1827.
 158. Chong KS, Gardner RS, Morton JJ, Ashley EA, McDonagh TA. Plasma concentrations of the novel peptide apelin are decreased in patients with chronic heart failure. *Eur J Heart Fail*. 2006;8: 355–360.
 159. Chen MM, Ashley EA, Deng DXF, Tsalenko A, Deng A, Tabibiazar R, et al. Novel role for the potent endogenous inotrope apelin in human cardiac dysfunction. *Circulation*. 2003;108: 1432–1439.

160. Francia P, Salvati A, Balla C, De Paolis P, Pagannone E, Borro M, et al. Cardiac resynchronization therapy increases plasma levels of the endogenous inotrope apelin. *Eur J Heart Fail.* 2007;9: 306–309.
161. Dalzell JR, Jackson CE, Chong KS, McDonagh TA, Gardner RS. Do plasma concentrations of apelin predict prognosis in patients with advanced heart failure? *Biomark Med.* 2014;8: 807–813.
162. Liew OW, Yandle TG, Chong JPC, Ng YX, Frampton CM, Ng TP, et al. High-Sensitivity Sandwich ELISA for Plasma NT-proUcn2: Plasma Concentrations and Relationship to Mortality in Heart Failure. *Clin Chem.* 2016;62: 856–865.
163. Yildirim E, Keles I, Cakmak HA, Cosansu K, Can G, Ikitimur B. Evaluation of the clinical utility of urocortin 1 in systolic heart failure. *Kardiol Pol.* 2014;72: 452–458.
164. Ky B, Kimmel SE, Safa RN, Putt ME, Sweitzer NK, Fang JC, et al. Neuregulin-1 beta is associated with disease severity and adverse outcomes in chronic heart failure. *Circulation.* 2009;120: 310–317.
165. Chen P, Liu Z, Luo Y, Chen L, Li S, Pan Y, et al. Predictive value of serum myostatin for the severity and clinical outcome of heart failure. *Eur J Intern Med.* 2019;64: 33–40.
166. Shen S, Gao R, Bei Y, Li J, Zhang H, Zhou Y, et al. Serum Irisin Predicts Mortality Risk in Acute Heart Failure Patients. *Cell Physiol Biochem.* 2017;42: 615–622.
167. Lian W, Gu X, Qin Y, Zheng X. Elevated plasma levels of adropin in heart failure patients. *Intern Med.* 2011;50: 1523–1527.
168. Berezin AE, Kremzer AA. Predictive value of circulating osteonectin in patients with ischemic symptomatic chronic heart failure. *Biomed J.* 2015;38: 523–530.
169. Tromp J, Khan MAF, Klip IT, Meyer S, de Boer RA, Jaarsma T, et al. Biomarker Profiles in Heart Failure Patients With Preserved and Reduced Ejection Fraction. *J Am Heart Assoc.* 2017;6(4): e003989.
170. Bielecka-Dabrowa A, Gluba-Brzózka A, Michalska-Kasiczak M, Misztal M, Rysz J, Banach M. The multi-biomarker approach for heart failure in patients with hypertension. *Int J Mol Sci.* 2015;16: 10715–10733.
171. Straburzyńska-Migaj E, Pilaczyńska-Szcześniak L, Nowak A, Straburzyńska-Lupa A, Sliwicka E, Grajek S. Serum concentration of visfatin is decreased in patients with chronic heart failure. *Acta Biochim Pol.* 2012;59: 339–343.
172. Thygesen K, Alpert JS, Jaffe AS, Chaitman BR, Bax JJ, Morrow DA, et al. [Fourth universal definition of myocardial infarction (2018)]. *Kardiol Pol.* 2018;76:

1383–1415.

173. Tung Y-C, Chou S-H, Liu K-L, Hsieh I-C, Wu L-S, Lin C-P, et al. Worse Prognosis in Heart Failure Patients with 30-Day Readmission. *Acta Cardiol Sin.* 2016;32: 698–707.
174. Otaki Y, Watanabe T, Kubota I. Heart-type fatty acid-binding protein in cardiovascular disease: A systemic review. *Clin Chim Acta.* 2017;474: 44–53.
175. Binas B, Danneberg H, McWhir J, Mullins L, Clark AJ. Requirement for the heart-type fatty acid binding protein in cardiac fatty acid utilization. *FASEB J.* 1999;13: 805–812.
176. Niizeki T, Takeishi Y, Arimoto T, Nozaki N, Hirono O, Watanabe T, et al. Persistently increased serum concentration of heart-type fatty acid-binding protein predicts adverse clinical outcomes in patients with chronic heart failure. *Circ J.* 2008;72: 109–114.
177. Ishino M, Takeishi Y, Niizeki T, Watanabe T, Nitobe J, Miyamoto T, et al. Risk stratification of chronic heart failure patients by multiple biomarkers: implications of BNP, H-FABP, and PTX3. *Circ J.* 2008;72: 1800–1805.
178. Hoffmann U, Espeter F, Weiß C, Ahmad-Nejad P, Lang S, Brueckmann M, et al. Ischemic biomarker heart-type fatty acid binding protein (hFABP) in acute heart failure - diagnostic and prognostic insights compared to NT-proBNP and troponin I. *BMC Cardiovasc Disord.* 2015;15: 50.
179. Hansen MS, Stanton EB, Gawad Y, Packer M, Pitt B, Swedberg K, et al. Relation of circulating cardiac myosin light chain 1 isoform in stable severe congestive heart failure to survival and treatment with flosequinan. *Am J Cardiol.* 2002;90: 969–973.
180. El Amrousy D, Hodeib H, Suliman G, Hablas N, Salama ER, Esam A. Diagnostic and Prognostic Value of Plasma Levels of Cardiac Myosin Binding Protein-C as a Novel Biomarker in Heart Failure. *Pediatr Cardiol.* 2017;38: 418–424.
181. Niizeki T, Takeishi Y, Watanabe T, Nitobe J, Miyashita T, Miyamoto T, et al. Relation of Serum Heat Shock Protein 60 Level to Severity and Prognosis in Chronic Heart Failure Secondary to Ischemic or Idiopathic Dilated Cardiomyopathy. *The American Journal of Cardiology.* 2008; 102(5): 606–610.
182. Jenei ZM, Gombos T, Föhrécz Z, Pozsonyi Z, Karádi I, Jánoskúti L, et al. Elevated extracellular HSP70 (HSPA1A) level as an independent prognostic marker of mortality in patients with heart failure. *Cell Stress Chaperones.* 2013;18: 809–813.
183. Miyazaki T, Otani K, Chiba A, Nishimura H, Tokudome T, Takano-Watanabe H, et al. A New Secretory Peptide of Natriuretic Peptide Family, Osteocrin, Suppresses the Progression of Congestive Heart Failure After Myocardial Infarction. *Circ Res.*

2018;122: 742–751.

184. Funayama A, Shishido T, Netsu S, Ishino M, Sasaki T, Katoh S, et al. Serum pregnancy-associated plasma protein a in patients with heart failure. *J Card Fail.* 2011;17: 819–826.
185. Dembic M, Hedley PL, Torp-Pedersen C, Køber L, Christiansen M. Pregnancy-associated plasma protein-A (PAPP-A) and the proform of the eosinophil major basic protein (ProMBP) are associated with increased risk of death in heart failure patients. *Scand J Clin Lab Invest.* 2017;77: 352–357.
186. de Boer RA, Cao Q, Postmus D, Damman K, Voors AA, Jaarsma T, et al. The WAP four-disulfide core domain protein HE4: a novel biomarker for heart failure. *JACC Heart Fail.* 2013;1: 164–169.
187. Rathcke CN, Kistorp C, Raymond I, Hildebrandt P, Gustafsson F, Lip GYH, et al. Plasma YKL-40 levels are elevated in patients with chronic heart failure. *Scand Cardiovasc J.* 2010;44: 92–99.
188. Bilim O, Takeishi Y, Kitahara T, Ishino M, Sasaki T, Suzuki S, et al. Serum YKL-40 predicts adverse clinical outcomes in patients with chronic heart failure. *J Card Fail.* 2010;16: 873–879.
189. Xin H, Chen Z-Y, Lv X-B, Liu S, Lian Z-X, Cai SL. Serum secretory phospholipase A2-IIa (sPLA2-IIA) levels in patients surviving acute myocardial infarction. *Eur Rev Med Pharmacol Sci.* 2013;17: 999–1004.
190. Fan P-C, Chang C-H, Chen Y-C. Biomarkers for acute cardiorenal syndrome. *Nephrology.* 2018; 23(54): 68–71.
191. Kim T-H, Kim H, Kim I-C. The potential of cystatin-C to evaluate the prognosis of acute heart failure: A comparative study. *Acute Card Care.* 2015;17: 72–76.
192. Maisel AS, Mueller C, Fitzgerald R, Brikhan R, Hiestand BC, Iqbal N, et al. Prognostic utility of plasma neutrophil gelatinase-associated lipocalin in patients with acute heart failure: the NGAL Evaluation Along with B-type Natriuretic Peptide in acutely decompensated heart failure (GALLANT) trial. *Eur J Heart Fail.* 2011;13: 846–851.
193. Palazzuoli A, Ruocco G, Pellegrini M, De Gori C, Del Castillo G, Franci B, et al. Comparison of Neutrophil Gelatinase-Associated Lipocalin Versus B-Type Natriuretic Peptide and Cystatin C to Predict Early Acute Kidney Injury and Outcome in Patients With Acute Heart Failure. *Am J Cardiol.* 2015;116: 104–111.
194. Kashani K, Cheungpasitporn W, Ronco C. Biomarkers of acute kidney injury: the pathway from discovery to clinical adoption. *Clin Chem Lab Med.* 2017;55:

1074–1089.

195. Nymo SH, Ueland T, Askevold ET, Flo TH, Kjekshus J, Hulthe J, et al. The association between neutrophil gelatinase-associated lipocalin and clinical outcome in chronic heart failure: results from CORONA*. *J Intern Med*. 2012;271: 436–443.
196. Ambros V. The functions of animal microRNAs. *Nature*. 2004; 431: 350–355.
197. Sayed D, Hong C, Chen I-Y, Lypowy J, Abdellatif M. MicroRNAs play an essential role in the development of cardiac hypertrophy. *Circ Res*. 2007;100: 416–424.
198. Ikeda S, He A, Kong SW, Lu J, Bejar R, Bodyak N, et al. MicroRNA-1 negatively regulates expression of the hypertrophy-associated calmodulin and Mef2a genes. *Mol Cell Biol*. 2009;29: 2193–2204.
199. Vegter EL, van der Meer P, de Windt LJ, Pinto YM, Voors AA. MicroRNAs in heart failure: from biomarker to target for therapy. *European Journal of Heart Failure*. 2016, 18(5): 457–468.
200. Watson CJ, Gupta SK, O’Connell E, Thum S, Glezeva N, Fendrich J, et al. MicroRNA signatures differentiate preserved from reduced ejection fraction heart failure. *Eur J Heart Fail*. 2015;17: 405–415.
201. Masson S, Batkai S, Beermann J, Bär C, Pfanne A, Thum S, et al. Circulating microRNA-132 levels improve risk prediction for heart failure hospitalization in patients with chronic heart failure. *Eur J Heart Fail*. 2018;20: 78–85.
202. Bayés-Genis A, Lanfear DE, de Ronde MWJ, Lupón J, Leenders JJ, Liu Z, et al. Prognostic value of circulating microRNAs on heart failure-related morbidity and mortality in two large diverse cohorts of general heart failure patients. *Eur J Heart Fail*. 2018;20: 67–75.
203. Castellano G, Affuso F, Conza PD, Fazio S. The GH/IGF-1 Axis and Heart Failure. *Curr Cardiol Rev*. 2009;5: 203–215.
204. Hoeflich A, David R, Hjortebjerg R. Current IGFBP-Related Biomarker Research in Cardiovascular Disease-We Need More Structural and Functional Information in Clinical Studies. *Front Endocrinol* . 2018;9: 388.
205. Gandhi PU, Gaggin HK, Sheftel AD, Belcher AM, Weiner RB, Baggish AL, et al. Prognostic usefulness of insulin-like growth factor-binding protein 7 in heart failure with reduced ejection fraction: a novel biomarker of myocardial diastolic function? *Am J Cardiol*. 2014;114: 1543–1549.
206. Barroso MC, Kramer F, Greene SJ, Scheyer D, Köhler T, Karoff M, et al. Serum insulin-like growth factor-1 and its binding protein-7: potential novel biomarkers for heart failure with preserved ejection fraction. *BMC Cardiovasc Disord*. 2016;16:

199.

207. Januzzi JL, Packer M, Claggett B, Liu J, Shah AM, Zile MR, et al. IGFBP7 (Insulin-Like Growth Factor–Binding Protein-7) and Neprilysin Inhibition in Patients With Heart Failure. *Circulation: Heart Failure*. 2018; 11(10): e005133.
208. Solomon SD, Zile M, Pieske B, Voors A, Shah A, Kraigher-Krainer E, et al. The angiotensin receptor neprilysin inhibitor LCZ696 in heart failure with preserved ejection fraction: a phase 2 double-blind randomised controlled trial. *Lancet*. 2012;380: 1387–1395.
209. Leroyer AS, Blin MG, Bachelier R, Bardin N, Blot-Chabaud M, Dignat-George F. CD146 (Cluster of Differentiation 146). *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2019;39: 1026–1033.
210. Gayat E, Caillard A, Laribi S, Mueller C, Sadoune M, Seronde M-F, et al. Soluble CD146, a new endothelial biomarker of acutely decompensated heart failure. *Int J Cardiol*. 2015;199: 241–247.
211. Arrigo M, Truong QA, Onat D, Szymonifka J, Gayat E, Tolppanen H, et al. Soluble CD146 Is a Novel Marker of Systemic Congestion in Heart Failure Patients: An Experimental Mechanistic and Transcardiac Clinical Study. *Clin Chem*. 2017;63: 386–393.
212. Van Aelst LNL, Arrigo M, Placido R, Akiyama E, Girerd N, Zannad F, et al. Acutely decompensated heart failure with preserved and reduced ejection fraction present with comparable haemodynamic congestion. *European Journal of Heart Failure*. 2018; 20(4): 738–747.
213. Rubio-Gracia J, Demissei BG, Ter Maaten JM, Cleland JG, O'Connor CM, Metra M, et al. Prevalence, predictors and clinical outcome of residual congestion in acute decompensated heart failure. *Int J Cardiol*. 2018;258: 185–191.
214. Rahimi K, Bennett D, Conrad N, Williams TM, Basu J, Dwight J, et al. Risk prediction in patients with heart failure: a systematic review and analysis. *JACC Heart Fail*. 2014;2: 440–446.
215. Levy WC, Mozaffarian D, Linker DT, Sutradhar SC, Anker SD, Cropp AB, et al. The Seattle Heart Failure Model. *Circulation*. 2006; 113(11): 1424–1433.
216. Pocock SJ, Wang D, Pfeffer MA, Yusuf S, McMurray JJV, Swedberg KB, et al. Predictors of mortality and morbidity in patients with chronic heart failure. *Eur Heart J*. 2006;27: 65–75.
217. Pocock SJ, Ariti CA, McMurray JJV, Maggioni A, Køber L, Squire IB, et al. Predicting survival in heart failure: a risk score based on 39 372 patients from 30

- studies. *European Heart Journal*. 2013; 34(19): 1404–1413.
218. Barlera S, Tavazzi L, Franzosi MG, Marchioli R, Raimondi E, Masson S, et al. Predictors of Mortality in 6975 Patients With Chronic Heart Failure in the Gruppo Italiano per lo Studio della Streptochinasi nell'Infarto Miocardico-Heart Failure Trial. *Circulation: Heart Failure*. 2013; 6(1): 31–39.
219. Canepa M, Fonseca C, Chioncel O, Laroche C, Crespo-Leiro MG, Coats AJS, et al. Performance of Prognostic Risk Scores in Chronic Heart Failure Patients Enrolled in the European Society of Cardiology Heart Failure Long-Term Registry. *JACC Heart Fail*. 2018;6: 452–462.
220. Allen LA, Matlock DD, Shetterly SM, Xu S, Levy WC, Portalupi LB, et al. Use of Risk Models to Predict Death in the Next Year Among Individual Ambulatory Patients With Heart Failure. *JAMA Cardiol*. 2017;2: 435–441.
221. Lupón J, de Antonio M, Vila J, Peñafiel J, Galán A, Zamora E, et al. Development of a novel heart failure risk tool: the barcelona bio-heart failure risk calculator (BCN bio-HF calculator). *PLoS One*. 2014;9: e85466.
222. Wang TJ, Wollert KC, Larson MG, Coglianese E, McCabe EL, Cheng S, et al. Prognostic utility of novel biomarkers of cardiovascular stress: the Framingham Heart Study. *Circulation*. 2012;126: 1596–1604.
223. Richter B, Koller L, Hohensinner PJ, Zorn G, Brekalo M, Berger R, et al. A multi-biomarker risk score improves prediction of long-term mortality in patients with advanced heart failure. *Int J Cardiol*. 2013;168: 1251–1257.
224. Demissei BG, Cotter G, Prescott MF, Felker GM, Filippatos G, Greenberg BH, et al. A multimarker multi-time point-based risk stratification strategy in acute heart failure: results from the RELAX-AHF trial. *Eur J Heart Fail*. 2017;19: 1001–1010.
225. Berezin AE, Kremzer AA, Martovitskaya YV, Samura TA, Berezina TA, Zulli A, et al. The utility of biomarker risk prediction score in patients with chronic heart failure. *Int J Clin Exp Med*. 2015;8: 18255–18264.
226. Felker GM, Anstrom KJ, Adams KF, Ezekowitz JA, Fiuzat M, Houston-Miller N, et al. Effect of Natriuretic Peptide-Guided Therapy on Hospitalization or Cardiovascular Mortality in High-Risk Patients With Heart Failure and Reduced Ejection Fraction: A Randomized Clinical Trial. *JAMA*. 2017;318: 713–720.
227. Vasudevan A, Jazi HH, Won JI, Ball T, Patankar GR, Sarmast SA, et al. Personalized treatment of heart failure with biomarker guidance using a novel disease severity score. *Proc* . 2017;30: 139–142.
228. Szczepanska-Sadowska E, Cudnoch-Jedrzejewska A, Ufnal M, Zera T. Brain and cardiovascular diseases: common neurogenic background of cardiovascular,

- metabolic and inflammatory diseases. *J Physiol Pharmacol*. 2010;61: 509–521.
229. Yosten GLC, Lyu R-M, Hsueh AJW, Avsian-Kretchmer O, Chang J-K, Tullock CW, et al. A novel reproductive peptide, phoenixin. *J Neuroendocrinol*. 2013;25: 206–215.
230. Mcilwraith EK, Belsham DD. Phoenixin: uncovering its receptor, signaling and functions. *Acta Pharmacol Sin*. 2018;39: 774–778.
231. Lyu R-M, Huang X-F, Zhang Y, Dun SL, Luo JJ, Chang J-K, et al. Phoenixin: a novel peptide in rodent sensory ganglia. *Neuroscience*. 2013;250: 622–631.
232. Prinz P, Scharner S, Friedrich T, Schalla M, Goebel-Stengel M, Rose M, et al. Central and peripheral expression sites of phoenixin-14 immunoreactivity in rats. *Biochem Biophys Res Commun*. 2017;493: 195–201.
233. Cowan A, Lyu R-M, Chen Y-H, Dun SL, Chang J-K, Dun NJ. Phoenixin: A candidate pruritogen in the mouse. *Neuroscience*. 2015;310: 541–548.
234. Jiang JH, He Z, Peng YL, Jin WD, Mu J, Xue HX, et al. Effects of Phoenixin-14 on anxiolytic-like behavior in mice. *Behav Brain Res*. 2015;286: 39–48.
235. Haddock CJ, Almeida-Pereira G, Stein LM, Yosten GLC, Samson WK. A Novel Regulator of Thirst Behavior: Phoenixin. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2020; 318(6): R1027-R1035.
236. Jiang JH, He Z, Peng YL, Jin WD, Wang Z, Mu LY, et al. Phoenixin-14 enhances memory and mitigates memory impairment induced by A β 1-42 and scopolamine in mice. *Brain Res*. 2015;1629: 298–308.
237. Yuruyen M, Gultekin G, Batun GC, Yavuzer H, Akcan FE, Doventas A, et al. Does plasma phoenixin level associate with cognition? Comparison between subjective memory complaint, mild cognitive impairment, and mild Alzheimer’s disease. *Int Psychogeriatr*. 2017; 1–8.
238. Stein LM, Tullock CW, Mathews SK, Garcia-Galiano D, Elias CF, Samson WK, et al. Hypothalamic action of phoenixin to control reproductive hormone secretion in females: importance of the orphan G protein-coupled receptor Gpr173. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2016;311: R489–96.
239. Treen AK, Luo V, Belsham DD. Phoenixin Activates Immortalized GnRH and Kisspeptin Neurons Through the Novel Receptor GPR173. *Mol Endocrinol*. 2016;30: 872–888.
240. Gasparini S, Stein LM, Loewen SP, Haddock CJ, Soo J, Ferguson AV, et al. Novel regulator of vasopressin secretion: phoenixin. *Am J Physiol Regul Integr Comp*

Physiol. 2018;314: R623–R628.

241. Hofmann T, Weibert E, Ahnis A, Elbelt U, Rose M, Klapp BF, et al. Phoenixin is negatively associated with anxiety in obese men. *Peptides*. 2017;88: 32–36.
242. Ullah K, Ur Rahman T, Wu D-D, Lin X-H, Liu Y, Guo X-Y, et al. Phoenixin-14 concentrations are increased in association with luteinizing hormone and nesfatin-1 concentrations in women with polycystic ovary syndrome. *Clin Chim Acta*. 2017;471: 243–247.
243. Schalla M, Prinz P, Friedrich T, Scharner S, Kobelt P, Goebel-Stengel M, et al. Phoenixin-14 injected intracerebroventricularly but not intraperitoneally stimulates food intake in rats. *Peptides*. 2017;96: 53–60.
244. Friedrich T, Schalla MA, Scharner S, Kühne SG, Goebel-Stengel M, Kobelt P, et al. Intracerebroventricular injection of phoenixin alters feeding behavior and activates nesfatin-1 immunoreactive neurons in rats. *Brain Res*. 2019;1715: 188–195.
245. McIlwraith EK, Loganathan N, Belsham DD. Phoenixin Expression Is Regulated by the Fatty Acids Palmitate, Docosahexaenoic Acid and Oleate, and the Endocrine Disrupting Chemical Bisphenol A in Immortalized Hypothalamic Neurons. *Front Neurosci*. 2018;12: 838.
246. McIlwraith EK, Loganathan N, Belsham DD. Regulation of Gpr173 expression, a putative phoenixin receptor, by saturated fatty acid palmitate and endocrine-disrupting chemical bisphenol A through a p38-mediated mechanism in immortalized hypothalamic neurons. *Mol Cell Endocrinol*. 2019;485: 54–60.
247. Pałasz A, Tyszkiewicz-Nwafor M, Suszka-Świtek A, Bacopoulou F, Dmitrzak-Węglarz M, Dutkiewicz A, et al. Longitudinal study on novel neuropeptides phoenixin, spexin and kisspeptin in adolescent inpatients with anorexia nervosa - association with psychiatric symptoms. *Nutr Neurosci*. 2019; 1–11.
248. Billert M, Wojciechowicz T, Jaszszwili M, Szczepankiewicz D, Waśko J, Kaźmierczak S, et al. Phoenixin-14 stimulates differentiation of 3T3-L1 preadipocytes via cAMP/Epac-dependent mechanism. *Biochim Biophys Acta Mol Cell Biol Lipids*. 2018;1863: 1449–1457.
249. Billert M, Kołodziejcki PA, Strowski MZ, Nowak KW, Skrzypski M. Phoenixin-14 stimulates proliferation and insulin secretion in insulin producing INS-1E cells. *Biochim Biophys Acta Mol Cell Res*. 2019;1866: 118533.
250. Rocca C, Scavello F, Granieri MC, Pasqua T, Amodio N, Imbrogno S, et al. Phoenixin-14: detection and novel physiological implications in cardiac modulation

- and cardioprotection. *Cell Mol Life Sci.* 2018;75: 743–756.
251. Bell RM, Mocanu MM, Yellon DM. Retrograde heart perfusion: the Langendorff technique of isolated heart perfusion. *J Mol Cell Cardiol.* 2011;50: 940–950.
252. Zhang B, Li J. Phoenixin-14 protects human brain vascular endothelial cells against oxygen-glucose deprivation/reoxygenation (OGD/R)-induced inflammation and permeability. *Arch Biochem Biophys.* 2020;682: 108275.
253. Stevens PE, Levin A, Kidney Disease: Improving Global Outcomes Chronic Kidney Disease Guideline Development Work Group Members. Evaluation and management of chronic kidney disease: synopsis of the kidney disease: improving global outcomes 2012 clinical practice guideline. *Ann Intern Med.* 2013;158: 825–830.
254. Mosteller RD. Simplified calculation of body-surface area. *N Engl J Med.* 1987;317: 1098.
255. Devereux RB, Alonso DR, Lutas EM, Gottlieb GJ, Campo E, Sachs I, et al. Echocardiographic assessment of left ventricular hypertrophy: comparison to necropsy findings. *Am J Cardiol.* 1986;57: 450–458.
256. Rywik TM, Kołodziej P, Targoński R, Fedyk-Łukasik M, Nowicka A, Zinka E, et al. Characteristics of the heart failure population in Poland: ZOPAN, a multicentre national programme. *Kardiol Pol.* 2011;69: 24–31.
257. Balsam P, Ozierański K, Kapłon-Cieślicka A, Borodzicz S, Tymińska A, Peller M, et al. Differences in clinical characteristics and 1-year outcomes of hospitalized patients with heart failure in ESC-HF Pilot and ESC-HF-LT registries. *Pol Arch Intern Med.* 2019;129: 106–116.
258. Wu AH. Management of patients with non-ischaemic cardiomyopathy. *Heart.* 2007;93: 403–408.
259. Manthey J, Probst C, Rylett M, Rehm J. National, regional and global mortality due to alcoholic cardiomyopathy in 2015. *Heart.* 2018;104: 1663–1669.
260. Maisch B. Alcoholic cardiomyopathy : The result of dosage and individual predisposition. *Herz.* 2016;41: 484–493.
261. Gür DÖ. Role of sympathetic cotransmitter galanin on autonomic balance in heart failure: an active player or a bystander? *The Anatolian Journal of Cardiology.* 2017; 18(4): 281-288.
262. Timotin A, Pisarenko O, Sidorova M, Studneva I, Shulzhenko V, Palkeeva M, et al. Myocardial protection from ischemia/reperfusion injury by exogenous galanin

- fragment. *Oncotarget*. 2017;8: 21241–21252.
263. Ho JE, Lyass A, Lee DS, Vasan RS, Kannel WB, Larson MG, et al. Predictors of New-Onset Heart Failure. *Circulation: Heart Failure*. 2013; 6(2): 279–286.
264. Dunaif A. Insulin resistance and the polycystic ovary syndrome: mechanism and implications for pathogenesis. *Endocr Rev*. 1997;18: 774–800.
265. Koliaki C, Kokkinos A, Tentolouris N, Katsilambros N. The effect of ingested macronutrients on postprandial ghrelin response: a critical review of existing literature data. *Int J Pept*. 2010; 2010: 710852.
266. Beck B. Neuropeptide Y in normal eating and in genetic and dietary-induced obesity. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*. 2006;361: 1159–1185.
267. Jaganathan R, Ravindran R, Dhanasekaran S. Emerging Role of Adipocytokines in Type 2 Diabetes as Mediators of Insulin Resistance and Cardiovascular Disease. *Can J Diabetes*. 2018;42: 446–456.e1.
268. Schalla MA, Stengel A. Phoenixin-A Pleiotropic Gut-Brain Peptide. *Int J Mol Sci*. 2018;19(6): 1726.