

СЕРОЛОГИЧЕСКИЙ УРОВЕНЬ ТРАНСФОРМИРУЮЩЕГО ФАКТОРА РОСТА – β КАК ПРОГНОСТИЧЕСКИЙ БИОМАРКЕР РАСШИРЕНИЯ АОРТЫ У ПАЦИЕНТОВ С СИНДРОМОМ МАРФАНА

© А.С. Рудой, А.М. Урываев

УО «Белорусский государственный медицинский университет», Минск

Для цитирования: Педиатр. – 2017. – Т. 8. – № 1. – С. 61–66. doi: 10.17816/PED8161-66

Поступила в редакцию: 24.11.2016

Принята к печати: 16.01.2017

Синдром Марфана (СМ) – наследственное, аутосомно-доминантное заболевание с ожидаемой частотой 3–5/10 000 и долей неомутаций 20–25 %, сопровождающееся нарушением соединительной ткани, возникающее вследствие мутации гена *FBN1*, кодирующего синтез фибриллина-1, играющего наиважнейшую роль в модуляции физиологической биодоступности ТФР- β (трансформирующий фактор – β). Прогнозирование разрыва аорты строится на выявлении факторов риска: наследственный анамнез, абсолютный размер корня аорты, скорость расширения аорты, которые основываются на результатах анамнеза и визуализирующих методик УЗИ, КТ, МРТ. В то же время имеется вероятность развития разрыва аорты при нормальных размерах корня аорты и при отсутствии каких-либо факторов риска, а также после проведения профилактического протезирования корня аорты. Это делает необходимым поиск альтернативных прогностических маркеров, угрожающих расслоением и разрывом аорты. Проведена оценка и уточнена прогностическая роль сывороточного трансформирующего фактора роста – β как серологического биомаркера для оценки расширения корня аорты у пациентов с СМ ($n = 23$, Ж : М / 7 : 16; $33 \pm 9,3$ года). Установлено, что повышенный уровень ТФР- β 1 в сыворотке крови ($49,1$ vs $29,15$ нг/мл в контроле, $p < 0,05$) у пациентов с СМ с диагностированным расширением корня аорты ($Z > 1,96$) может служить серологическим маркером, свидетельствующим о неблагоприятном прогнозе, сопровождающемся увеличением размеров корня аорты. При нормальных размерах корня аорты и после протезирования аорты закономерностей изменения сывороточного уровня ТФР- β 1 не выявлено. Сывороточный уровень ТФР- β может являться перспективной мишенью для терапевтических, диагностических и прогностических тактик, не основанных на визуализирующих методиках.

Ключевые слова: аневризма; биомаркеры; синдром Марфана; трансформирующий ростовой фактор – β ; Z-критерий.

SEROLOGICAL LEVEL OF TRANSFORMING GROWTH FACTOR- β AS A PREDICTIVE BIOMARKER OF AORTIC ENLARGEMENT IN PATIENTS WITH MARFAN SYNDROME

© A.S. Rudoy, A.M. Uryvaev

Belarusian State Medical University, Minsk, Belarus

For citation: *Pediatrician (St Petersburg)*, 2017;8(1):61-66

Received: 24.11.2016

Accepted: 16.01.2017

Marfan syndrome – an inherited, autosomal dominant disease with an expected rate of 3-5/10 000 or fraction of 20-25% of new mutations, accompanied by violation of the connective tissue that occurs as a result of gene mutations *FBN1*, coding for the synthesis of fibrillin-1, performing the most important role in the modulation physiological bioavailability TGF- β (transforming growth factor- β). Prediction of aortic rupture is based on the identification of risk factors: family history, the absolute size of the aortic root, the rate of expansion of the aorta, which are based on the results of the history and techniques of imaging ultrasound, CT, MRI. At the same time there is a chance of developing aortic rupture under normal aortic root size and the absence of any risk factors, as well as after the prophylactic prosthetic aortic root. This makes it necessary to search for alternative prognostic markers, threatening bundle and rupture of the aorta. Article verified the predictive role of TGF- β as a serological biomarker for assessing the extension of the aortic root in patients with Marfan syndrome ($n = 23$, F : M / 7 : 16; 33 ± 9.3 years). The article describes the patterns between TGF- β and the size and the reconstruction of the aneurysm of the thoracic aorta. It was found that elevated levels of serum TGF- β 1 (49.1 ng/ml Vs 29.15 ng/ml in the control, $p < 0.05$) in patients with MS diagnosed with an extension of the aortic root ($Z > 1.96$) can serve as a serological marker to poor prognosis, accompanied by an increase in the size of the aortic root. In patients with normal-sized aorta, and

after aortic reconstruction serum TGF β 1 not elevated. Serum TGF β may be a promising target for therapeutic, diagnostic and prognostic tactics which are not based on imaging techniques.

Keywords: aneurysm; biomarkers; Marfan syndrome; TGF- β ; Z-criteria.

АКТУАЛЬНОСТЬ

Синдром Марфана (СМ) — наследственное, аутосомно-доминантное заболевание, сопровождающееся классическим нарушением соединительной ткани, возникающее вследствие мутации гена *FBNI*, кодирующего синтез фибриллина-1, с ожидаемой частотой 3–5/10 000 и долей неомутаций 20–25 % [19]. Фибриллин-1, наряду с другими большими суперсемействами многодоменных белков, играет важнейшую роль в модуляции физиологической биодоступности ТФР- β (трансформирующий фактор — β) [2]. Обладая ТФР- β -сигнализирующими функциями во внеклеточном матриксе (ВКМ), аномалии указанного матричного белка в итоге приводят к повышению, а не к уменьшению внеклеточного уровня ТФР- β («ТФР β -парадокс»).

В настоящее время доказано изменение ТФР- β -сигнализации при нарушении целостности основных компонентов ВКМ в стенке аорты с формированием аневризм/диссекций — основной причины смертности пациентов с СМ [16].

Изучение мышинной модели СМ убедительно продемонстрировало избыточную ТФР- β -сигнализацию [11, 17], а лечение антителами, нейтрализующими ТФР- β , предотвращало патологические изменения в стенке аорты и останавливало прогрессирующую дилатацию аорты [12], наряду с миксоматозной дегенерацией митрального клапана [18]. Высокие цифры циркулирующего ТФР- β коррелируют с возрастом и размером аорты и снижаются при лечении лозартаном у мышей с СМ [5].

Перед современной кардиологией стоит ряд нерешенных задач, в частности прогнозирование разрыва аорты, для формирования точных показаний к оперативному лечению. В настоящее время решение этой задачи строится на выявлении факторов риска: наследственный анамнез, абсолютный размер корня аорты, скорость расширения аорты, которые основываются на результатах анамнеза и визуализирующих методик УЗИ, КТ, МРТ. В то же время имеется вероятность развития разрыва аорты при нормальных размерах корня аорты и при отсутствии каких-либо факторов риска [10], а также после проведения профилактического протезирования корня аорты [7]. Это делает необходимым поиск альтернативных прогностических маркеров, угрожающих расслоением и разрывом аорты.

Данные литературы о корреляции между циркулирующим ТФР- β и диаметром аорты у людей

с классическим фенотипом СМ представлены крайне недостаточно [8, 15], а при марфаноподобных состояниях — до настоящего времени остаются открытыми [3]. Синдром Марфана является болезнью со значительно разнообразными фенотипическими признаками и возрастом наступления различных проявлений, поэтому выявление биомаркеров, которые смогут предсказать активность заболевания и наступление угрожающего состояния (расслоения аорты), имеет первостепенное значение.

Цель: уточнить роль сывороточного ТФР- β как серологического биомаркера для оценки расширения корня аорты у пациентов с СМ с оценкой возможности применения сывороточных концентраций ТФР- β в качестве «серологической томографии» аорты.

Задачи: оценить уровень сывороточного ТФР- β 1 у пациентов с СМ в зависимости от размеров и степени реконструкции аневризмы грудного отдела аорты.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В простое одномоментное исследование включены 50 человек старше 18 лет ($33 \pm 9,3$ года). Синдром Марфана диагностирован у 23 человек (Ж : М/7 : 16) — основная группа; 27 человек составили группу контроля без признаков наследственных нарушений соединительной ткани (ННСТ), все участники исследования сопоставимы по возрастным ($30,2 \pm 8,6$ года) и гендерным (Ж : М/7 : 21) характеристикам. Пациенты основной группы с СМ дополнительно были разделены на три подгруппы: 1-я — с расширением корня аорты ($Z > 1,96$), 2-я — с нормальным размером корня аорты ($Z < 1,96$), 3-я — перенесшие оперативное протезирование корня аорты. Синдром Марфана диагностировался на основе Гентских критериев 2010 года [14]. Для определения сывороточного уровня ТФР- β 1 производился забор венозной крови с подготовкой сыворотки по стандартной методике. Применялся набор для иммуноферментной диагностики фирмы DRG TGF- β 1 ELISA (EIA-1864). Измерение сывороточного уровня ТФР- β 1 для группы исследования и контроля проводилось в одной лаборатории с использованием идентичного набора. Работа проведена в рамках НИР № ГР 20132073: при финансовой поддержке Белорусского фонда фундаментальных исследований (M13Y-001).

Критерием исключения было применение блокаторов ренин-ангиотензин-альдостероновой систе-

мы (ингибиторов АПФ / антагонистов рецепторов 1-го типа ангиотензина II (АРА)), потенциально обладающих влиянием на уровень ТФР-β1. Тактические подходы ведения пациентов с расширением грудной аорты основывались на современных опубликованных рекомендациях [1].

Диагностика расширения корня аорты проводилась на основании оценки эхокардиографических размеров корня аорты по методике «от переднего края до переднего края» (leading edgeto-leading edge) с расчетом показателя Z-критерия [4] с использованием регрессионных показателей норм для пациентов старше 15 лет [6]. Достоверность различий оценивалась по *t*-критерию Стьюдента при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

В целом в основной группе пациентов с СМ средняя концентрация ТФР-β в сыворотке крови имела тенденцию к повышению в сравнении с группой контроля (34,8 и 29,15 нг/мл соответственно, $t = 0,77$, $p < 0,1$) (рис. 1).

В основной группе у 10 пациентов было проведено оперативное лечение по протезированию аорты, у 6 отмечался нормальный размер аорты (Z-критерий в пределах $< 1,96$) и у 7 диагностировано расширение корня аорты с $Z > 1,96$.

В подгруппах пациентов с СМ с нормальным размером корня аорты ($n = 6$), как и у пациентов,

перенесших протезирование аорты ($n = 10$), достоверных различий в концентрации ТФР-β1 в сыворотке крови с группой контроля выявлено не было ($p > 0,05$).

У пациентов с СМ с диагностированным расширением корня аорты ($n = 7$; $Z > 1,96$) средняя концентрация ТФР-β1 в сыворотке крови составила 49,1 нг/мл, достоверно превышающая такую в контрольной группе — 29,15 нг/мл ($t = 2,01$, $p < 0,05$) (рис. 2).

В подгруппе пациентов с СМ с диагностированным расширением корня аорты отмечена слабая корреляция между размером аорты и уровнем ТФР-β1 в сыворотке крови ($R = 0,34$, $p < 0,05$) (рис. 3). В других подгруппах положительных корреляционных связей не установлено ($p < 0,05$).

ОБСУЖДЕНИЕ

Исследования последних лет закрепили ключевую роль дизрегуляции ТФР-β в прогрессировании СМ [5], сывороточные концентрации которого могут служить маркерами терапевтического ответа на β-адреноблокаторы и АРА (лозартан) [8]. В нашем исследовании мы показали, что сывороточный уровень ТФР-β1 не является уникальным признаком СМ, так как не превышает норму при нормальных размерах корня аорты, а также после протезирования аорты. Однако в подгруппе пациентов с СМ

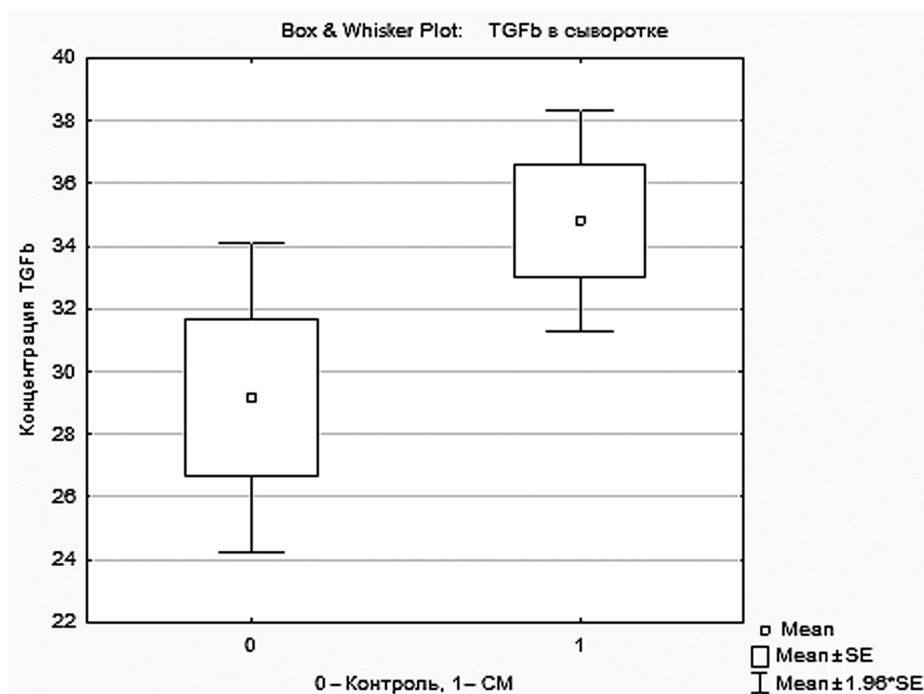


Рис. 1. Среднее и стандартная ошибка среднего ТФР-β в сыворотке крови у пациентов с синдромом Марфана и у здоровых пациентов (контроль), $p = 0,1$

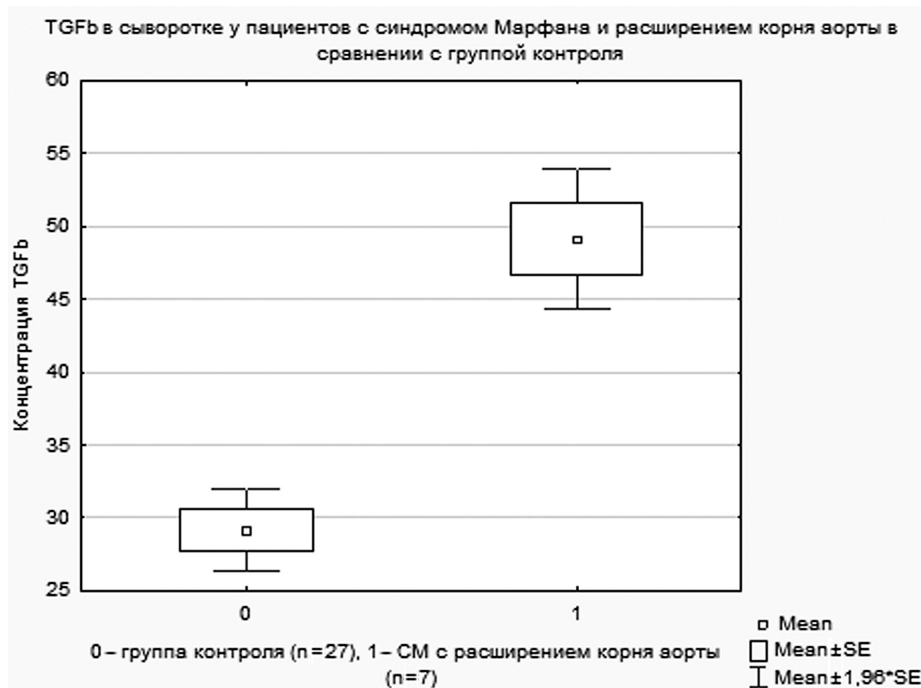


Рис. 2. Среднее и стандартная ошибка среднего ТФР-β в сыворотке крови у пациентов с синдромом Марфана, имеющих расширение аорты ($Z > 1,96$), и у здоровых пациентов (контроль), $p < 0,005$

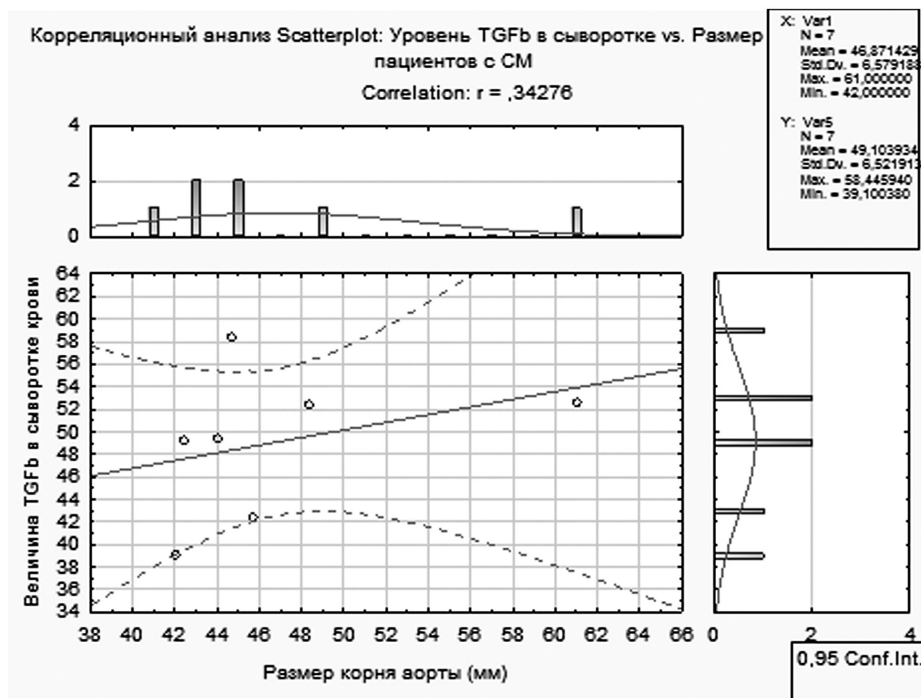


Рис. 3. Среднее и стандартная ошибка среднего ТФР-β в сыворотке крови у пациентов с синдромом Марфана, имеющих расширение аорты ($Z > 1,96$), и у здоровых пациентов (контроль), $p < 0,005$

с диагностированным расширением корня аорты отмечена значимая взаимосвязь размера аорты и уровнем ТФР-β1 в сыворотке, что соответствует данным литературы, полученным как на мышинной модели CM [15], так и в проспективных исследованиях [8]. Вместе с тем полученные результаты вступают

и в некую контрадикцию с более ранними результатами других исследователей, выводы которых являются разноречивыми в отношении сывороточных концентраций ТФР-β1 при CM [8,15]. Отсутствие единых данных может объясняться различными гипотезами, в том числе модифицирующей ролью

латентного воспаления, которое может «искажать» патофизиологические механизмы дилатации аорты [13]. Остаются нераскрытыми и взаимосвязи между тканевыми (местными) и системными (сывороточными) уровнями ТФР- β . В настоящее время достоверно неизвестно, насколько значимый вклад в сывороточный уровень ТФР- β вносит прогрессивное расширение корня аорты и одновременно какое влияние могут оказывать на системный уровень ТФР- β патология других органов и систем при СМ (в том числе скелетные мышцы, кожа, легкие, желудочно-кишечный тракт и др.).

В целом, по результатам нашего исследования, можно утверждать, что повышенный уровень ТФР- β в сыворотке крови у пациентов с СМ может служить серологическим маркером, свидетельствующим об имеющемся увеличении диаметра корня аорты, и использование сывороточного ТФР- β является крайне заманчивой перспективой, которая потенциально может позволить индивидуализировать подходы к терапевтической тактике ведения пациентов с СМ. Однако данный посыл исходит из упрощения о том, что латентный комплекс ТФР- β просто «вымывается» из тканей в системную циркуляцию из-за недостаточной функциональной активности ВКМ. При этом в системном кровотоке латентный комплекс ТФР- β имеет полупериод жизни 90 минут, а свободный ТФР- β — всего 2 минуты, что может накладывать значительные ограничения на процедуру исследования [9].

Полученные результаты не являются уникальными в данной области [8]. Вместе с тем, учитывая, что предыдущими исследователями не получено однозначного ответа по прогностической значимости сывороточных концентраций ТФР- β для рассечения аорты, наши данные представляют несомненный интерес и требуют дополнительного изучения вопроса, поскольку метод имеет значительное количество ограничений и нюансов. В частности, собственные нестандартизированные нормы (референсные диапазоны нормативных величин ТФР- β 1) для каждой отдельной лаборатории, набора производителя не дают возможности сравнивать абсолютные показатели различных исследователей, что делает определение ТФР- β в сыворотке крови больше научным исследованием, нежели методом, применимым на практике, и требует группы контроля.

ВЫВОДЫ

1. Сывороточный уровень ТФР- β 1 не является уникальным признаком СМ, так как не превышает норму при нормальных размерах корня аорты, а также после протезирования аорты. 2. Повышенный уровень ТФР- β 1 в сыворотке крови у пациен-

тов с СМ может служить серологическим маркером, свидетельствующим о неблагоприятном прогнозе, сопровождающемся увеличением размеров корня аорты. 3. Методические сложности определения сывороточного уровня ТФР- β 1 иммуноферментным методом, включающие в том числе собственные нестандартизированные нормы (референсные диапазоны нормативных величин ТФР- β 1) для каждой отдельной лаборатории, не дают возможность сравнивать абсолютные показатели, что делает определение ТФР- β в сыворотке крови в настоящее время больше научным исследованием, нежели методом, применимым на практике.

ЛИТЕРАТУРА

1. Лунева Е.Б., Малев Э.Г., Рудой А.С., Земцовский Э.В. Тактика ведения пациентов с расширением грудной аорты: выбор методики обследования, оценка результатов // Российский кардиологический журнал. – 2015. – Т. 123. – № 7. – С. 116–119. [Luneva EB, Malev EG, Rudoy AS, Zemtsovskiy EV. Management of the expansion of the thoracic aorta: Select the survey methodology, evaluation results. *Rossiyskiy kardiologicheskij zhurnal*. 2015;123(7):116-119. (In Russ.)]
2. Рудой А.С. TGF-beta-зависимый патогенез синдрома Марфана и родственных наследственных нарушений соединительной ткани // Артериальная гипертензия. – 2009. – Т. 15. – № 2. – С. 223–226. [Rudoy AS. TGF-beta-dependent pathogenesis of Marfan syndrome and related inherited disorders of connective tissue. *Arterial'naya gipertenziya*. 2009;15(2):223-226. (In Russ.)]
3. Рудой А.С. Заболевания верхних отделов желудочно-кишечного тракта у лиц молодого возраста, ассоциированные с наследственными нарушениями соединительной ткани (особенности клинической картины, этиологии, патоморфогенеза и прогноза клинического течения): Автореф. дис. ... д-ра мед. наук. – СПб., 2009. [Rudoy AS. Diseases of the upper gastrointestinal tract in young adults associated with hereditary disorders of connective tissue (clinical features, etiology, and prognosis pathomorphogenesis clinical course). [dissertation] Saint Petersburg; 2009. (In Russ.)]
4. Рудой А.С., Урываев А.М., Литвиненко А.М., Денещук Ю.С. Z-критерий как оптимальный параметр оценки эхокардиографических размеров корня аорты в норме и патологии // Медицинский журнал. – 2015. – № 1. – С. 132–139. [Rudoy AS, Uryvaev AM, Litvinenko AM, Deneshchuk YuS. Z-criterion, as the optimal parameter estimation of the echocardiographic aortic root dimensions in health and disease. *Meditinskiy zhurnal*. 2015;(1):132-139. (In Russ.)]

5. Cohn RD, Erp CV, Habashi JP, et al. Angiotensin II type 1 receptor blockade attenuates TGF- β -induced failure of muscle regeneration in multiple myopathic states. *Nature Medicine Nat Med.* 2007;13(2):204-10. doi: 10.1038/nm1536.
6. Devereux RB, Simone GD, Arnett DK, et al. Normal limits in relation to age, body size and gender of two-dimensional echocardiographic aortic root dimensions in persons ≥ 15 years of age. *The American Journal of Cardiology.* 2012;110(8):1189-94. doi: 10.1016/j.amjcard.2012.05.063.
7. Engelfriet P, Mulder B. Is there benefit of β -blocking agents in the treatment of patients with the Marfan syndrome? *International Journal of Cardiology.* 2007;114(3):300-2. doi: 10.1016/j.ijcard.2006.01.025.
8. Franken R, Hartog AWD, Waard VD, et al. Circulating transforming growth factor- β as a prognostic biomarker in Marfan syndrome. *International Journal of Cardiology.* 2013;168(3):2441-6. doi: 10.1016/j.ijcard.2013.03.033.
9. Gleizes P, Munger JS, Nunes I, et al. TGF- β Latency: Biological significance and mechanisms of activation. *Stem Cells.* 1997;15(3):190-7. doi: 10.1002/stem.150190.
10. Groenink M, Lohuis TAJ, Tijssen JGP, et al. Survival and complication free survival in Marfan's syndrome: implications of current guidelines. *Heart.* 1999Jan;82(4):499-504. doi: 10.1136/hrt.82.4.499.
11. Habashi J, Doyle J, Hokm T. Angiotensin II type 2 receptor signaling attenuates aortic aneurysm in mice through ERK antagonism. *Journal of Vascular Surgery.* 2011;54(3):910. doi: 10.1016/j.jvs.2011.07.058.
12. Habashi JP. Losartan, an AT1 antagonist, prevents aortic aneurysm in a mouse model of Marfan syndrome. *Science.* 2006Jul;312(5770):117-21. doi: 10.1126/science.1124287.
13. Holm TM, Habashi JP, Doyle JJ, et al. Noncanonical TGF signaling contributes to aortic aneurysm progression in Marfan syndrome mice. *Science.* 2011;332(6027):358-61. doi: 10.1126/science.1192149.
14. Loeys BL, Dietz HC, Braverman AC, et al. The revised Ghent nosology for the Marfan syndrome. *Journal of Medical Genetics.* 2010;47(7):476-85. doi: 10.1136/jmg.2009.072785.
15. Matt P, Schoenhoff F, Habashi J, et al. Circulating transforming growth factor in Marfan syndrome. *Circulation.* 2009;120(6):526-32. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.108.841981.
16. Matt P, Habashi J, Carrel T, et al. Recent advances in understanding Marfan syndrome: Should we now treat surgical patients with losartan? *The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery.* 2008;135(2):389-94. doi: 10.1016/j.jtcvs.2007.08.047.
17. Neptune ER, Frischmeyer PA, Arking DE, et al. Dysregulation of TGF- β activation contributes to pathogenesis in Marfan syndrome. *Nature Genetics Nat Genet.* 2003;33(3):407-11. doi: 10.1038/ng1116.
18. Ng CM, Cheng A, Myers LA, et al. TGF- β -dependent pathogenesis of mitral valve prolapse in a mouse model of Marfan syndrome. *J Clin Invest.* 2004Jan;114(11):1586-92. doi: 10.1172/JCI200422715.
19. Pearson GD, Devereux R, Loeys B, et al. Report of the National Heart, Lung, and Blood Institute and National Marfan Foundation Working Group on Research in Marfan Syndrome and Related Disorders. *Circulation.* 2008Nov;118(7):785-91. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.108.783753.

◆ Информация об авторах

Андрей Семенович Рудой — д-р мед. наук, доцент, заведующий, кафедра военно-полевой терапии. УО «Белорусский государственный медицинский университет». E-mail: andrewrudoj@gmail.com.

Алексей Михайлович Урываев — ассистент, кафедра военно-полевой терапии. УО «Белорусский государственный медицинский университет». E-mail: alexeyuryvaev@gmail.com.

◆ Information about the authors

Andrey S. Rudoy — MD, PhD, Dr Med Sci, Associate Professor, Head, Department of Military Field Therapy. Educational Institution "Belarusian State Medical University". E-mail: andrewrudoj@gmail.com.

Alexey M. Uryvaev — Assistant Professor, Department of Military Field Therapy. Educational Institution "Belarusian State Medical University". E-mail: alexeyuryvaev@gmail.com.