

ОЦЕНКА НА СЕРУМНИ НИВА НА ХЕПСИДИН И VEGF ПРИ ПАЦИЕНТИ С ИСХЕМИЧЕН ИНСУЛТ

Ю. Петрова¹, В. Манолов², С. Хаджидекова³, В. Василев⁴, К. Цачев², М. Петрова¹,
Л. Трайков¹, Б. Маринов⁵, И. Богов⁶, Г. Генчев⁷ и Р. Емилова⁸

¹Катедра по неврология, МУ – София,

²Катедра по клинична лаборатория и клинична имунология, МУ – София

³Катедра по медицинска генетика, МУ – София,

⁴Клинична лаборатория и клинична фармакология, УМБАЛ „Александровска”

⁵Клиника по обща и патологична бременност, УАГБ “Майчин дом”, МУ – София

⁶МБАЛ НКБ – София

⁷Катедра по здравен мениджмънт, Факултет по обществено здраве, МУ – София

⁸НЦЗПБ – София

EVALUATION OF THE SERUM HEPICIDIN AND VEGF LEVELS IN PATIENTS WITH ISCHEMIC STROKE

J. Petrova¹, V. Manolov², S. Hadjidekova³, V. Vasilev⁴, K. Tzatchev², M. Petrova¹,
L. Traykov¹, B. Marinov⁵, I. Bogov⁶, G. Gentchev⁷ and R. Emilova⁸

¹Department of Neurology, Medical University – Sofia

²Department of Clinical Laboratory and Clinical Immunology, Medical University – Sofia

³Department of Medical Genetics, Medical University – Sofia

⁴University Hospital „Aleksandrovskia”, Clinical Laboratory and Clinical Pharmacology,

⁵Clinic of General and Pathological Pregnancy, UOGH “Maichin Dom”, Medical University – Sofia

⁶HAT NCH – Sofia

⁷Department of Health Management, Faculty of Public Health, Medical University – Sofia

⁸NCCPD – Sofia

Резюме:

Оксидативният стрес играе една от важните роли в патогенезата на церебралната исхемия. Повишените нива на свободно желязо водят до образуването на свободни радикали. Потърсихме корелационна зависимост между пептида, регулиращ обмяната на желязо – хепсидин, и васкуларния ендотелен растежен фактор, индуктор на ангиогенезата при пациенти с дестабилизиран атеросклеротични плаки и исхемичен инсулт. Изследвахме серумен хепсидин и VEGF при 73 пациенти (60% мъже) с исхемичен инсулт (преди стентирание); средна възраст 61.5 год. (54-69). Получените резултати бяха сравнени спрямо 73 съответстващи по пол и възраст здрави доброволци. Установихме статистически значимо повишени серумни нива при пациентите с исхемичен инсулт $95.4 \pm 17.3 \mu\text{g/L}$ спрямо здравата контрола $19.9 \pm 3.9 \mu\text{g/L}$ ($P < 0.001$). Серумните нива на VEGF бяха значително повишени при пациентите с инсулт ($68.8 \pm 8.1 \text{ pg/ml}$) спрямо контролната група ($36.2 \pm 3.3 \text{ pg/ml}$); $P < 0.005$. Хепсидинът корелираше положително с VEGF при пациентите с исхемичен инсулт ($r = 0.719$, $P < 0.005$). Серумните нива на VEGF и хепсидин са повишени при пациенти с атеросклеротични изменения, водещи до исхемичен инсулт. Резултатите ни показват важната роля на хепсидина при свръхнатрупването на желязо при церебрална исхемия.

Ключови думи:

хепсидин, инсулт, VEGF, желязо, феритин

Адрес за кореспонденция:

Д-р Виктор Манолов, дм, Катедра по Клинична лаборатория и клинична имунология, МУ – София, ул. “Св. Г. Софийски” 1, 1431 София, тел. 02 9230 928, e-mail: victhedoc2@yahoo.com

Abstract:

Oxidative stress plays an important role in pathogenesis of cerebral ischemia. Elevated free iron levels result in formation of free radicals. We searched for correlation between the peptide that regulates iron homeostasis – hepcidin, and vascular endothelial growth factor, an angiogenesis inducer in patients with destabilized atherosclerotic plaques and ischemic stroke. 73 patients with

<p>Key words:</p> <p>Address for correspondence:</p>	<p>ischemic stroke (before stenting) were measured for serum hepcidin and VEGF concentrations (60% males); middle age 61.5 (54-69). Established results were compared to 73 age- and gender matched healthy volunteers. We found significantly elevated serum hepcidin levels in the patients with ischemic stroke ($95.4 \pm 17.3 \mu\text{g/L}$) compared to control group ($19.9 \pm 3.9 \mu\text{g/L}$) ($P < 0.001$). VEGF concentrations in serum in patients with ischemic stroke were considerably increased ($68.8 \pm 8.1 \text{ pg/ml}$) compared to healthy controls ($36.2 \pm 3.3 \text{ pg/ml}$); $P < 0.005$. Hepcidin correlates positively to VEGF levels in patients with ischemic stroke ($r = 0.719$, $P < 0.005$). The serum VEGF and hepcidin levels are increased in patients with atherosclerotic changes, leading to ischemic stroke. Our results show the important role of hepcidin in iron overload in cerebral ischemia.</p> <p>hepcidin, stroke, VEGF, iron, ferritin</p> <p><i>Victor Manolov, MD PhD, Department of Clinical Laboratory and Clinical Immunology, Medical University, Bg – 1431 Sofia, 1 “Sv. Georgi Sofiyski” St., tel.: +359 2 9230 928, e-mail: victhedoc2@yahoo.com</i></p>
--	--

ВЪВЕДЕНИЕ

Оксидативният стрес играе една от важните роли в патогенезата на церебралната исхемия [1, 2]. Желязото е микроелемент, който има отношение към невроналното увреждане, причинено от исхемия. Повишените нива на свободно желязо водят до образуването на свободни радикали [3]. Хепсидинът е наскоро открит пептид, регулиращ обмяната на желязо. Своята функция той осъществява чрез взаимодействието си с вътреклетъчния експортер на желязо – феропортин [4]. Повишените серумни нива на хепсидин водят до натрупване на желязо в макрофаги, дуоденални ентероцити, хепатоцити, плацентата, ендометриум и др. [5]. Нови проучвания показват и участието на феритина в процеса на оксидативно увреждане на тъкани, вкл. мозъчна [6]. Васкуларният ендотелен растежен фактор (VEGF) индуцира ангиогенезата и има важна роля за съдовата цялост и функцията, както и за дестабилизацията на атеросклеротичните плаки [7].

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИ

Изследвахме серумен хепсидин и VEGF при 73 пациенти (60% мъже) с исхемичен инсулт (преди стентиране); средна възраст 61.5 год. (54-69). Получените резултати бяха сравнени спрямо 73 съответстващи по пол и възраст здрави доброволци.

На всички пациенти бяха определени биохимични изследвания, вкл. високо чувствителен С-реактивен протеин (вчCRP), феритин, хепсидин и VEGF. Определянето на показателите бе извършено с помощта на биохимичен анализатор Dimension RxL MAX (Siemens Healthcare). ВчCRP беше измерен чрез BN ProSpec (Siemens Healthcare). Серумните нива на хепсидин и VEGF

бяха определени чрез ELISA метод. Получените резултати бяха анализирани статистически чрез SPSS 13.0 (IBM). Измерените стойности са представени като средна стойност \pm SD. Корелационната зависимост бе определена с теста на Pearson. За доказване на статистическа значимост използвахме чифтния тест на Student.

РЕЗУЛТАТИ

Установихме статистически значимо повишени серумни нива при пациентите с исхемичен инсулт $95.4 \pm 17.3 \mu\text{g/L}$ спрямо здравата контрола $19.9 \pm 3.9 \mu\text{g/L}$ ($P < 0.001$). Серумните концентрации на феритин бяха също значимо повишени при пациентите с инсулт $341.7 \pm 47.6 \mu\text{g/L}$ спрямо контролната група $165.9 \pm 39.5 \mu\text{g/L}$ ($P < 0.001$).

Изследваните нива на желязо при пациентите с исхемичен инсулт бяха значимо повишени $44.7 \pm 5.9 \mu\text{mol/L}$ спрямо здравите контроли $20.7 \pm 4.4 \mu\text{mol/L}$ ($P < 0.01$). Серумното ниво на хепсидин корелираше с вчCRP, което бе увеличено $29.3 \pm 9.5 \text{ mg/L}$ спрямо здравите контроли $1.7 \pm 1.4 \text{ mg/L}$ ($P < 0.001$).

Серумните нива на VEGF бяха значително повишени при пациентите с инсулт ($68.8 \pm 8.1 \text{ pg/ml}$) спрямо контролната група ($36.2 \pm 3.3 \text{ pg/ml}$); $P < 0.005$. Концентрациите на VEGF корелираха положително с вчCRP ($r = 0.676$; $P < 0.001$). Хепсидинът корелираше положително с VEGF при пациентите с исхемичен инсулт ($r = 0.719$, $P < 0.005$).

ОБСЪЖДАНЕ

Няколко проучвания показват ролята на регулаторния пептид хепсидин в хомеостазата на желязото и връзката му с феропортина [5]. Установено е експериментално, че исхемията води до повишена експресия на хепсидин и про-

меня нивото на феропортина в церебралния кортекс и хипокампуса [8]. Други автори доказват ролята на железните хелатори за намаляване на уврежданията при сърдечна исхемия и реперфузия [9], както и при церебрална исхемия [10]. Няколко проучвания установяват ролята на VEGF при настъпване на атеросклеротични изменения, особено подчертано при мъжете [11]. Хистологични анализи показват връзката на повишените нива на вчCRP с концентрацията на VEGF [12]. Експресията на VEGF води до разрастване на адвентицията на съдовете [13]. Главните механизми на индуцираната от оксидативен стрес ангиогенеза включват хипоксия-индуциращ фактор (HIF), който участва и в синтеза на хепсидина [14]. Известни са два пътя за развитие на свръхнатрупване на желязо в исхемичните мозъчни зони – а) исхемията води до увеличен синтез на хепсидин, и б) исхемията води до нарастване на HIF нивата, което чрез хепсидиновия синтез увеличава акумулацията на желязо в исхемичните тъкани.

В нашето проучване установихме повишени серумни нива на хепсидин, VEGF, вчCRP и феритин при пациенти с исхемичен инсулт.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Серумните нива на VEGF, хепсидин и вчCRP са повишени при пациенти с атеросклеротични изменения, водещи до исхемичен инсулт. В комбинация те биха могли да бъдат нови, проспективни маркери за установяване на атеросклеротични изменения и дестабилизиране на атеросклеротичните плаки, което води до исхемичен инсулт. Вероятно хепсидинът взема участие в дестабилизиране на плаките на по-късен етап, при настъпване на хистологичните промени.

Нашите резултати показват важната роля на хепсидина при свръхнатрупването на желязо при церебрална исхемия.

Благодарности

Този проект е осъществен с подкрепата на Медицински университет – София, „Грант“ с Договор № 4-С/2016 г. Авторският колектив изказва своите благодарности за подкрепата на фирма “Марвена”

(официален представител на “Siemens Healthcare” за България), и по-специално на г-н Велизар Драгоев и г-жа Силвия Кирова.

Библиография

1. Peeters-Scholte C, Koster J. Neuroprotection by Selective Nitric Oxide Synthase Inhibition at 24 Hours After Perinatal Hypoxia-Ischemia. *Stroke* 2002, 33: 2304-2310.
2. Aki HS, Fujita M, Yamashita S, et al. Elevation of jugular venous superoxide anion radical is associated with early inflammation, oxidative stress, and endothelial injury in fore-brain ischemia-reperfusion rats. *Brain Res* 2009, 1292: 180-90.
3. Chi SI, Wang CK, Chen JJ, et al. Differential regulation of H- and L-ferritin messenger RNA subunits, ferritin protein and iron following focal cerebral ischemia-reperfusion. *Neuroscience* 2002, 100: 475-484.
4. Nemeth E, Tuttle MS, Powelson J et al. Hepcidin regulates cellular iron efflux by binding to ferroportin and inducing its internalization. *Science* 2004, 306: 2090-2093.
5. Zhang AS, Enns CA. Iron homeostasis: recently identified proteins provide insight into novel control mechanisms. *J Biol Chem* 2009, 284: 711-715.
6. Moos T, Rosengren Nielsen T, Skjorringe T, Morgan EH. Iron trafficking inside the brain. *J Neurochem* 2007, 103: 1730-1740.
7. Holm PW, Slart RH, Zeebregts CJ et al. Atherosclerotic plaque development and instability: a dual role for VEGF. *Ann Med*. 2009; 41(4):257-64.
8. Ding H, Yan C-Z, Shi H, et al. Hepcidin is involved in iron regulation in the ischemic brain. *PLoS ONE* 2001, 6(9): e25324.
9. Tang WH, Wu S, Wong TM, et al. Polyol pathway mediates iron-induced oxidative injury in ischemic-reperfused rat heart. *Free Radic Biol Med* 2008, 45: 9.
10. Hamrick SE, McQuillen PS, Jiang X, et al. A role for hypoxia-inducible factor-1alpha in desferoxamine neuroprotection. *Neurosci Lett* 2005, 379: 96-100.
11. Kimura K, Hashiguchi T, Deguchi T et al. Serum VEGF – As a prognostic factor of atherosclerosis. *Atherosclerosis*. 2007;194(1):182-8.
12. Fittipaldi S, Pini R, Pasquinelli GA, et al. High Sensitivity C-Reactive Protein and Vascular Endothelial Growth Factor as Indicators of Carotid Plaque Vulnerability. *J Cardiovasc Surg (Torino)*. 2014 Mar 19.
13. Michel JB, Martin-Ventura JL, Nicoletti A, Ho-Tin-Noé B. Pathology of human plaque vulnerability: mechanisms and consequences of intraplaque haemorrhages. *Atherosclerosis*. 2014; 234(2):311-9.
14. Kim YW, Byzova TV. Oxidative stress in angiogenesis and vascular disease. *Blood*. 2014; 123(5):625-31.

Постъпила за печат на 8 февруари 2017 г.