

Factor de Diferenciación de Crecimiento 15: ¿Un Nuevo Biomarcador en Pacientes con Disfunción Diastólica?

Wilfried Dinh^{1,2,3*}, Reiner Füh^{1,2}, Mark Lankisch^{1,2}, Georg Hess⁴, Dietmar Zdunek⁵, Thomas Scheffold^{1,6}, Frank Kramer⁵, Rolf M Klein^{1,8}, Michael Coll Barroso³, Werner Nickl MD^{1*}

Institute for Heart and Circulation Research, University Witten/Herdecke¹ - Alemania; Helios Clinics Wuppertal, Department of Cardiology² - Alemania; CoroVital, Institute for Sports Medicine³, Wuppertal - Alemania; Universität Mainz, Medical Department, Langenbeckstrasse 1⁴, Mainz - Alemania; Roche Diagnostics GmbH⁵, Mannheim - Alemania; Stiftung Institut für Herzinfarktforschung Ludwigshafen (IHF)⁶ - Alemania; Global Biomarker Research, Bayer HealthcareAG⁷, Wuppertal - Alemania; Augusta Hospital Düsseldorf, Department of Cardiology⁸ - Alemania

* Ambos autores contribuyeron a este trabajo

Resumen

Fundamento: El factor de diferenciación de crecimiento-15 o GDF-15, una citocina de respuesta al estrés relacionada con el factor transformador de crecimiento beta (TGF- β), es elevado y está independientemente relacionado con el pronóstico adverso en la insuficiencia cardíaca sistólica.

Objetivo: El objetivo del presente estudio es investigar los niveles plasmáticos de GDF-15 en pacientes con disfunción diastólica preclínica o insuficiencia cardíaca con fracción de eyección normal (ICFEN).

Métodos: Evaluamos a 119 pacientes con fracción de eyección (FE) normal, derivados a angiografía coronaria electiva, de los cuales 75 (63%), tenían enfermedad arterial coronaria (EAC). Los individuos fueron clasificados como teniendo una disfunción diastólica ventricular izquierda leve (DDVI grado I, n = 61), ICFEN (DDVI grado II o III, n = 38), o función diastólica normal (controles, n = 20). En un subgrupo de 20 individuos, las alteraciones en el débito cardíaco (DC), se midieron a través de una nueva inhalación de gas inerte (Innocor[®]) en respuesta a un test hemodinámico ortostático.

Resultados: Los niveles de GDF-15 en la ICFEN [mediana 1,08, variación intercuartil (0,88-1,30) ng/ml], eran significativamente más altos que en los controles [0,60 (0,50-0,71) ng/ml, p = 0,003] y en los pacientes con DDVI grado I [0,78 (0,62-1,04) ng/ml, p < 0,001]. Además, los niveles de GDF-15 estaban significativamente elevados en los pacientes con DDVI grado I, en comparación con los controles (p = 0,003). Por añadidura, el GDF-15 estaba correlacionado con los marcadores ecocardiográficos de disfunción diastólica y con la magnitud de la respuesta del DC a la alteración en la posición del cuerpo variando de la posición erecta a la posición supina (r = -0,67, p = 0,005).

Conclusión: Los niveles de GDF-15 están elevados en individuos con ICFEN y pueden diferenciar una función diastólica normal de DDVI. Además, los niveles de GDF-15 están asociados con una reducción en la respuesta del DC en el test hemodinámico ortostático. (Arq Bras Cardiol 2011; 97(1):65-75)

Palabras clave: Factor 15 de diferenciación de crecimiento, insuficiencia cardíaca, volumen sistólico, disfunción ventricular.

Introducción

Casi un 50% de los pacientes que presentan señales y síntomas de insuficiencia cardíaca (IC), tienen una fracción de eyección (FE) normal^{1,2}, una condición llamada de insuficiencia cardíaca con una fracción de eyección normal (ICFEN). Los datos recientes nos indican que la mortalidad general de la ICFEN es equivalente a la de la insuficiencia cardíaca sistólica (ICS)^{1,2}. En la población en general, la disfunción diastólica ventricular izquierda (DDVI), la cual se considerada precursora de la ICFEN³, es un predictor potente e independiente de la muerte⁴.

Pero sin embargo, estudios clínicos sobre la ICFEN han sido a menudo decepcionantes, incluyendo a aquellos con los medicamentos aprobados para ICS⁵⁻⁷.

Sin embargo, el hecho de mantenerse el mismo nivel de mortalidad general, se debe, en parte, a una menor proporción de muerte relacionada con la IC en la población general de pacientes con ICFEN⁸. Las discrepancias en las tasas de mortalidad relacionadas con la IC, pueden ser atribuidas a la considerable heterogeneidad en los pacientes con ICFEN, lo que se explica por el uso de diferentes criterios de reclutamiento⁹ o por la complejidad del diagnóstico ecocardiográfico. Aunque una directriz específica haya sido propuesta recientemente por la *American Society of Cardiology*¹⁰, establecer esa condición médica es difícil en la práctica clínica. La ecocardiografía puede mostrar un resultado no muy fiable o con conclusiones inexactas, y no siempre es suficiente para establecer el diagnóstico. La

Correspondencia: Wilfried Dinh •

CoroVital - Institute for Sports Medicine - Arrenberger Street 20 - 42117 - Wuppertal - Alemania
E-mail: wd@corovital.de
Artículo recibido el 6/10/10; revisado recibido el 15/12/10; aceptado el 03/01/11.

mejor caracterización de pacientes con ICFEN y riesgo mayor de muerte y complicaciones relacionadas con la IC puede permitir un uso más efectivo de intervenciones específicas.

Los Biomarcadores reflejan un mecanismo distinto de la enfermedad, lo que incluye la activación neurohumoral, inflamación, daño al miocito y turnover de la matriz extracelular.

El factor de diferenciación de crecimiento-15 (*Growth Differentiation Factor-15*) o GDF-15, es un miembro de la superfamilia de las citocinas TGF- β (Factor Transformador de Crecimiento Beta), y fue clonado primeramente como una citocina inhibidora de macrófagos-1¹¹. Estudios anteriores demostraron que pacientes con ICS tenían niveles circulantes aumentados de GDF-15¹² y se constató que esos niveles suministran información de pronóstico además de los factores de riesgos clínicos y bioquímicos ya establecidos^{13,14}.

El objetivo del presente estudio fue testar el valor diagnóstico del GDF-15 en la identificación de pacientes con DDVI preclínica asintomática o ICFEN. Además, analizamos la asociación de los niveles de GDF-15 con diferentes condiciones de precarga.

Métodos

Fueron incluidos en el estudio un total de 119 pacientes derivados a la angiografía coronaria electiva debido a enfermedad arterial coronaria (EAC), estable o bajo sospecha, o evaluación diagnóstica de IC. Los pacientes que necesitaron revascularización coronaria con angioplastia o cirugía de revascularización no fueron incluidos en el estudio. El protocolo fue aprobado por el Comité de Ética local y el Término de Consentimiento Informado se obtuvo por parte de todos los pacientes. Los criterios de exclusión incluyeron una fracción de eyección del ventrículo izquierdo (FEVI) < 50%, EAC conocida como dolor torácico progresivo en el último mes, angioplastia coronaria o infarto del miocardio hace menos de 6 semanas, cardiomiopatía hipertrófica, enfermedad cardíaca valvular de moderada a grave, hipertensión no controlada, fibrilación atrial u otras arritmias graves o creatinina sérica > 2,0 mg/dl.

En los pacientes sin diabetes, se realizó un test oral de tolerancia a la glucosa (TOTG), estándar (75g glucosa), de acuerdo con el protocolo de la Organización Mundial de la Salud (OMS), como fue previamente descrito¹⁵. El índice de masa corporal (IMC), fue calculado como peso (kg)/altura² (m²).

Ecocardiografía

La ecocardiografía fue realizada utilizando un sistema de ultrasonido estándar (Vivid 7, General Electric, Milwaukee, Wisconsin). La fracción de eyección del ventrículo izquierdo (FEVI), se midió tomando como base el método de Simpson biplanar modificado. El índice de volumen del atrio izquierdo (IVAE)¹⁶ se calculó usando el método área-extensión biplanar¹⁶. Las dimensiones fueron registradas a través de las técnicas estándar de acuerdo con las directrices actuales¹⁷. El índice de masa del ventrículo izquierdo (IMVI), fue calculado por la fórmula de Devereux indexada al área de superficie corporal¹⁷. El flujo transmitral convencional fue medido por un Doppler pulsado. Las velocidades precoz atrial (E), tardía atrial (A) y la

relación (E/A), fueron medidas con la obtención del promedio de tres latidos consecutivos. La imagen por Doppler tisular pulsado (DTP), se obtuvo en la junción lateral del anillo mitral y septal, obteniéndose el promedio de tres latidos consecutivos. Las velocidades diastólicas precoces (E' medial, E' lateral) fueron registradas; el valor promedio (E' promedio) fue determinado de la E' en las regiones lateral y medial del anillo mitral. Las razones de E/E' medial, E/E' lateral y la relación promedio E/E' fueron calculadas. La disfunción diastólica fue clasificada de acuerdo con el estudio de un consenso común de las sociedades *American Society of Echocardiography* y *European Society of Echocardiography* (ASE, ESC)¹⁰.

Reinhalación de gas inerte (Innocor®)

Una espirometría (dispositivo Innocor® INNO0500) fue realizada para excluir la disfunción pulmonar relevante. El débito cardíaco (DC) fue medido utilizando un dispositivo de reinhalación de gas inerte (RGI) (Innocor®, Innovision A/S, Dinamarca), en un subgrupo con función diastólica normal o DDVI leve asintomática (DDVI grado I, n = 10), y pacientes con ICFEN (DDVI grado II o III, n = 10). El método ya había sido descrito detalladamente en otro lugar¹⁸ y ya había sido también validado en pacientes con IC en reposo y durante el ejercicio^{19,20}. Para el método de RGI, un gas-test enriquecido con 0,5% N₂O (gas soluble en la sangre) y 0,1% SF₆ (gas insoluble en la sangre) fue utilizado. El volumen de gas se ajustó para atender a la demanda fisiológica durante el reposo. El uso de SF₆ permitió la medida del volumen de los pulmones, válvula y bolsa de reinhalación. La concentración del gas-test fue disminuida durante la maniobra de reinhalación, con una tasa proporcional al flujo sanguíneo pulmonar (FSP). La disminución de la cinética de eliminación del N₂₀ se correlaciona con el FSP y DC en la ausencia del *shunt* pulmonar. Antes de la mensuración, los pacientes recibieron instrucciones sobre la técnica de reinhalación. El intervalo para las medidas fue de como mínimo 3 minutos, para permitir el *clearance* completo del gas inerte. El DC fue medido con el paciente en diferentes posiciones corporales como un modelo de alteraciones de la carga ventricular e indexado al área de superficie corporal (ASC, DCi). Después de cinco minutos de reposo en la posición supina, el DC fue medido tres veces, y entonces la posición corporal se cambió de supina a erecta. Después de un período de tres minutos antes del período mínimo para alcanzar el equilibrio hemodinámico, tres medidas consecutivas fueron realizadas. Los promedios de las medidas se obtuvieron en cada posición.

Análisis laboratorial

Las muestras de sangre se obtuvieron en reposo para el análisis de los parámetros laboratoriales de rutina y fueron almacenadas a -80° C para el análisis posterior. Después de la descongelación, el GDF-15 se midió en el plasma utilizando un inmunoensayo por electroquimioluminiscencia precomercial y NT-proBNP con un inmunoensayo por electroquimioluminiscencia disponible comercialmente en un equipo analizador automatizado (Elecsys®, Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Alemania), por un investigador que no conocía las características de los pacientes.

Análisis estadístico

Todos los análisis fueron realizados utilizando el software estadístico SPSS (SPSS 17.0, Chicago, IL). Los datos aparecen como medianas (variación intercuartil), para las variables continuas o números absolutos (%) para variables categóricas, a no ser que se especifique lo contrario. Los valores log-transformados se usaron para el análisis cuando fue pertinente. Un valor de $p < 0,05$ fue considerado estadísticamente significativo. Test no paramétricos fueron realizados para las diferencias de grupos entre categorías. El test de Kruskal Wallis fue usado para testar la igualdad de las medianas entre más que dos grupos distintos. El test U de Wilcoxon-Mann-Whitney se usó para analizar las diferencias entre las medianas de dos grupos y el test χ^2 para evaluar las diferencias en proporciones en más de 2 grupos de variables categóricas. El test de Fisher fue usado para comparar dos grupos de variables binarias. Los niveles de GDF-15 fueron comparados en diferentes grados de DDVI y diferentes categorías de las razones promedios de E/E' y el IVAE por el test de Jonckheere-Terpstra. La correlación de puestos de Spearman fue utilizada para identificar las variables asociadas con el GDF-15. Fueron construidos modelos de análisis multivariado de co-variancia y de regresión logística, incluyendo la variable más predictiva para las variables dependientes. El análisis de regresión lineal fue aplicado para identificar los factores que estaban asociados de forma independiente con los niveles de GDF-15.

Resultados

Características de los pacientes.

Incluimos 119 pacientes con FE normal (66 años [59-73]) en el estudio (45% del sexo femenino), 63% de los cuales tenían EAC sin necesidad de revascularización. Los individuos fueron clasificados como teniendo DDVI leve (grado I, $n = 61$), ICFEN (DDVI grado II o III, $n = 38$) o función diastólica normal (FD normal, $n = 20$). Los pacientes con ICFEN eran más viejos, tenían un promedio de clase funcional NYHA más alto, valores de presión arterial sistólica y promedio más altos, FC de reposo más baja y una mayor probabilidad de tener diabetes, cuando se les comparó con el grupo con FD normal $p < 0,005$ para todos). Un test oral de tolerancia a la glucosa (TOTG) fue realizado en 80 individuos, de los cuales 35 (92%) presentaron una tolerancia normal a la glucosa (TNG), 31 (26%) intolerancia a la glucosa (IG) y 24 (20%) diabetes mellitus recién diagnosticada. Veinte y nueve pacientes tenían un historial de diabetes mellitus tipo 2 (DMT2) antes de la inclusión. Por lo tanto, 53 (45%) individuos incluidos en el estudio fueron identificados como teniendo DMT2. El síndrome metabólico (SM) fue diagnosticado en un 51% de los pacientes de acuerdo con el *National Cholesterol Education Program's Adult Treatment Panel III* (ATP-III) revisado²¹. Las características clínicas de los pacientes clasificados de acuerdo con la presencia o la ausencia de DDVI o ICFEN aparecen en la Tabla 1 y los datos laboratoriales y paramétricos de evaluación cardíaca en la Tabla 2.

GDF-15 y función diastólica

En el grupo de estudio como un todo, los niveles de GDF-15 estaban significativamente altos en pacientes con ICFEN

(1,08 [0,88-1,30]), cuando se compararon con los pacientes con FD normal (0.60 [0.50-0.71], $p < 0,001$) o DDVI leve (0,78 [0,62-1,04], $p < 0,001$). Además de eso, los niveles plasmáticos de GDF-15 eran más altos en los individuos con DDVI leve, cuando se les comparó con los pacientes con función diastólica normal ($p = 0,003$, Figura 1). Al excluir a los individuos con EAC, los niveles de GDF-15 permanecieron significativamente asociados a la gravedad de la disfunción diastólica (DD) ($p < 0,001$). Los niveles de GDF-15 estaban íntimamente relacionados con la clase funcional de la "New York Heart Association" (NYHA). En un modelo de regresión lineal multivariado que incluía variables conocidas como estando asociadas a la presencia de DDVI, edad ($\beta = 0,456$, $p < 0,001$), y a la presencia de DDVI leve o ICFEN ($\beta = 0,315$, $p = 0,001$), fueron identificados como variables predictivas de niveles más altos de GDF-15. Sexo femenino, presencia o ausencia de EAC, IMC, historial de DMT2, infarto del miocardio previo, masa muscular del VI e hipertensión que no mostraron una adición significativa al modelo (r^2 ajustado = 0,39, $p < 0,001$ para el modelo en general).

La relación entre los cuartiles de GDF-15 y las características clínicas ecocardiográficas y niveles de NT-pro-BNP aparece en la Tabla 3. Los aumentos en los cuartiles de GDF-15 quedaron asociados con la FE más alta, IVAE más alto, relación promedio E/E' septal y E/E' más alta y más baja E' septal, lateral y relación promedio E'. Además, los cuartiles de GDF-15 estaban asociados con los niveles más altos de NT-pro-BNP. Particularmente entre la asociación con los parámetros ecocardiográficos de la DD, los niveles de GDF-15 estaban significativamente aumentados en el IVAE y la relación promedio E/E', ambos indicativos de presión de llenado atrial izquierda elevada (Figura 2a y Figura 2b). Se produjo una débil correlación lineal entre el IVAE ($r = 0,354$, $p < 0,001$) y la relación promedio E/E' con los niveles de GDF-15 ($r = 0,613$, $p < 0,001$).

En contraposición, los valores de la tensión (*strain*) longitudinal global (SLG), una herramienta bastante sensible para detectar la disfunción sistólica leve, sin considerar la FE normal, no estaban asociados con los niveles de GDF-15. Además de eso, los parámetros de geometría ventricular izquierda (índice de masa del VI, grosor relativo de la pared e índice de volumen diastólico final del VI), no se correlacionaron con los niveles de GDF-15 (Tabla 3).

GDF15 y test hemodinámico ortostático

En un subestudio, el DCi se midió a través de la técnica de reinhalación de gas inerte, en las posiciones supina y erecta, como un modelo de alteración de la carga ventricular. En los individuos con ICFEN, el DCi fue 1,96 [1,8-2,23] l/m² en la posición erecta vs 1.90 [1,6-1,93] l/min en los individuos con función diastólica normal o DDVI leve. Después de una alteración en la posición del cuerpo de erecta para supina, el grupo con ICFEN alcanzó un aumento en el DCi de un 7% [3-16%], mientras que el grupo sin ICFEN presentó un aumento en el DCi de un 28% [23-16%], $p = 0,002$ (Figura 3a). La respuesta del DCi con diagramación en gráfico contra los cuartiles de GDF-15, aparece en la Figura 3b. Los niveles de GDF-15 estaban negativamente correlacionados con la magnitud de la respuesta del DCi ($r = -0,67$, $p = 0,005$).

Tabla 1 - Características clínicas

	FD Normal	DDVI Leve	ICFEN	Valor de p ^a	Todos
Variabes clínicas					
Edad (años)	51 (48-58)	67 (60-72)	73 (66-77)	<0,001*	66 (59-73)
Sexo femenino, n (%)	7 (35)	27 (44)	20 (53)	0,426	54 (45)
IMC (kg/m ²)	26 (24-30)	28 (25-31)	27 (25-32)	0,2	27 (25-32)
Circunferencia de la cintura (cm)	98 (88-110)	107 (96-117)	104 (100-111)	0,96	104 (97-115)
Circunferencia de la cadera (cm)	98 (91-105)	109 (96-114)	105 (99-114)	0,176	104 (95-114)
PAS (mmHg)	123 (110-130)	130 (124-140)	133 (130-140)	0,002*	130 (120-140)
PAD (mmHg)	77 (70-80)	80 (72-86)	80 (70-88)	0,111	80 (70-86)
PAM (mmHg)	94 (83-96)	96 (92-101)	99 (93-103)	0,015*	96 (90-102)
Presión de pulso	42 (40-50)	52 (48-60)	50 (46-70)	0,016*	50 (41-60)
FC reposo (lpm)	73 (68-80)	74 (65-80)	69 (65-77)	0,047*	72 (65-78)
EAC, n (%)	10 (50)	40 (65)	25 (66)	0,417	75 (63)
Historial de IM, n (%)	5 (25)	11 (18)	12 (32)	0,299	28 (23)
Historial de derrame, n (%)	0	2 (3)	3 (8)	0,339	5 (4)
Historial de ACTP, n (%)	9 (45)	28 (46)	19 (50)	0,905	56 (47)
Clase NYHA promedio	1 (0,5-2)	2 (1-2)	2,5 (2-3)	<0,001*	2 (1-2)
Factores de riesgo cardiovascular					
Hipertensión tratada	14 (70)	55 (92)	37 (98)	0,004*	106 (90)
Tabaquismo, n (%)	8 (44)	8 (13)	7 (19)	0,013*	23 (20)
Historial familiar de EAC	7 (35)	40 (66)	16 (43)	0,019*	63 (53)
Hiperlipidemia, n (%)	8 (40)	44 (72)	26 (68)	0,029*	78 (66)
Metabolismo de glucosa					
TNG, n (%)	12 (60)	15 (25)	8 (21)		35 (29)
IG, n (%)	5 (25)	17 (28)	9 (24)	0,013*	31 (26)
DM T2 recién detectada, n (%)	2 (10)	10 (16)	12 (32)		24 (20)
DM T2 conocida, n (%)	1 (5)	19 (31)	9 (24)		29 (24)
Duración de la DMT2 (años)	2,5 (2-3)	5,5 (2-10)	14 (4-24,5)	0,076	5,5 (2,5-12,5)
Medicamentos					
Inhibidor de ECA, n (%)	12 (60)	37 (61)	23 (61)	0,999	72 (61)
Bloqueante del receptor AT1, n (%)	0	11 (18)	12 (32)	0,014*	23 (20)
Diuréticos, n (%)	1 (%)	18 (30)	21 (55)	<0,001*	40 (34)
Bloqueante de Ca ²⁺ , n (%)	3 (15)	8 (13)	13 (34)	0,032*	24 (20)
β-bloqueante, n (%)	11 (55%)	41 (67)	34 (89)	0,009*	86 (72)
Terapia insulínica, n (%)	0	7 (14)	5 (16)	0,355	12 (13)
ADO, n (%)	1 (8)	12 (25)	3 (9)	0,109	16 (17)
Estatinas, n(%)	7 (35)	38 (62)	25 (65)	0,274	70 (59)
AAS, n (%)	10 (47)	51 (83)	29 (76%)	0,021*	90 (76)

Valores expresados en medianas (variación intercuartil) o n (%). Los Test de Mann-Whitney^a, test Jonckheere-Terpstra, test de Fisher o test χ^2 fueron usados como apropiado, * estadísticamente significativo ($p < 0,05$). IMC - índice de masa corporal, PAS - presión arterial sistólica, PAD - presión arterial diastólica, EAC - Enfermedad Arterial Coronaria, RM - revascularización miocárdica, FD - función diastólica, ICFEN - insuficiencia cardíaca con fracción de eyección normal, IG - intolerancia a la glucosa, DDVI - disfunción diastólica del VI, TNG - tolerancia normal a la glucosa, FC - frecuencia cardíaca, PAM - presión arterial promedio, ADO - antidiabéticos orales, ACTP - angioplastia coronaria transluminal percutánea, DMT2 - diabetes mellitus tipo 2.

Tabla 2 - Datos laboratoriales y parámetros de evaluación cardíaca de acuerdo con la función diastólica

	FD normal	DDVI leve	ICFEN	Valor de p ^a
Biomarcador				
GDF-15	0,60 (0,50-0,71)	0,78 (0,62-1,04)	1,08 (0,88-1,30)	<0,001*
NT-pro-BNP	98,5 (56,5-129,0)	96,0 (58,5-178,5)	525,5 (349,0-1,147,0)	<0,001*
Parámetro de rutina				
Colesterol Total (mg/dl)	182 (165-199)	195 (172-225)	198 (164-210)	0,483
LDL-Colesterol (mg/dl)	103 (86-125)	111 (92-135)	110 (93-137)	0,495
HDL-Colesterol (mg/dl)	51 (42-60)	53 (40-62)	46 (40-56)	0,201
Triglicéridos (mg/dl)	133 (111-186)	146 (98-206)	161 (119-212)	0,120
Lp (a) (mg/dl)	7 (5-21)	15 (5-35)	14 (6-58)	0,180
TSH (mU/l)	1,3 (0,9-2,3)	1,4 (0,9-2,1)	1,3 (0,9-1,8)	0,784
Creatinina (mg/dl)	0,8 (0,7-0,9)	0,9 (0,7-0,9)	0,9 (0,8-1,1)	0,003*
PCRus	0,2 (0,1-0,5)	0,3 (0,1-0,6)	0,3 (0,2-0,7)	0,248
HOMA-IR	1,14 (0,7-1,3)	1,6 (1,1-2,7)	1,8 (1,1-3,4)	0,019*
2h-PG (mg/dl)	126 (106-162)	142 (112-191)	170 (130-215)	0,016*
Hba1c (%)	5,7 (5,5-6,0)	6,1 (5,7-6,8)	6,2 (5,8-6,6)	0,015*
Función sistólica				
Fracción de eyección (%)	64 (61-69)	65 (61-70)	70 (63-74)	0,028*
Smax (cm/s)	6,25 (5,65-6,75)	5,90 (5,05-7,15)	6,00 (5,30-6,80)	0,640
GLS (-,%)	20,3 (21,6-18,2)	19,4 (21,8-16,6)	18,4 (21,2-16,4)	0,205
Geometría del VI				
DDFVI (mm)	45 (43-48)	42 (39-47)	45 (42-51)	0,418
IMVI (g/m ²)	79 (63-93)	81 (69-107)	104 (80-135)	0,003*
ERP	0,45 (0,40-0,48)	0,51 (0,46-0,67)	0,55 (0,44-0,63)	0,016*
Función diastólica				
IVAE (ml/m ²)	25 (23-28)	29 (27-31)	42 (37-51)	<0,001*
E (cm/s)	60 (60-75)	60 (50-70)	80 (70-100)	0,001*
A (cm/s)	60 (50-70)	80 (70-90)	80 (70-90)	0,014*
E/A ratio	1,2 (0,9-1,4)	0,8 (0,7-0,9)	1,1 (0,9-1,3)	0,148
E' septal (cm/s)	8,4 (7,6-9,3)	5,8 (5,1-6,7)	5,6 (4,4-6,2)	0,001*
E' lateral (cm/s)	11,1 (10,4-13,0)	7,9 (7,0-9,0)	7,0 (5,4-8,2)	0,001*
E' Promedio	9,7 (9,1-11,0)	7,1 (6,0-7,9)	6,3 (5,2-7,3)	0,001*
Relación E/E' septal	7,9 (7,2-8,6)	10,4 (8,5-12,2)	15,0 (12,3-17,2)	0,001*
Relación E/E' lateral	6,7 (5,9-7,4)	8,8 (7,4-10,3)	13,2 (10,9-15,4)	0,001*

* estadísticamente significativa ($p < 0,05$). Test de Jonckheere-Terpstra. A - velocidad diastólica tardía transmitral, FE - fracción de eyección. Smax - velocidad sistólica, FD - función diastólica, GLS - strain longitudinal global, AE - atrio izquierdo, E - velocidad diastólica precoz transmitral, E' septal - velocidad diastólica precoz del anillo septal al Doppler tisular, E' lateral - velocidad diastólica precoz lateral al Doppler tisular, ICFEN - insuficiencia cardíaca con fracción de eyección normal, HOMA-IR - Modelo de Evaluación de la Homeostasis, PCRus - proteína C-reactiva ultrasensible, DDFVI - diámetro diastólico final del VI, Lp (a) - Lipoproteína (a), VI - ventrículo izquierdo, IMVI - índice de masa muscular del VI, IVAI - índice de volumen del atrio izquierdo; NT-proBNP - péptido natriurético pro-B N-terminal, GPP - glucosa posprandial, GRP - grosor relativo de la pared, Smax - velocidad sistólica.

Discusión

Los niveles plasmáticos de Factor de Diferenciación de Crecimiento-15 (GDF-15), están asociados con el diagnóstico de ICFEN y DDVI. Además de eso, los niveles de GDF-15 aumentan con los grados más graves de DDVI y pueden diferenciar a los individuos con función diastólica normal y

DDVI asintomática. Los niveles de GDF-15 se correlacionan con los criterios ecocardiográficos implementados en las directrices actuales para el diagnóstico y la clasificación de DDVI. Ese es el primer estudio que muestra una asociación entre los niveles de GDF-15 y la respuesta del DC bajo diferentes condiciones de precarga, sirviendo como un parámetro funcional de reserva hemodinámica.

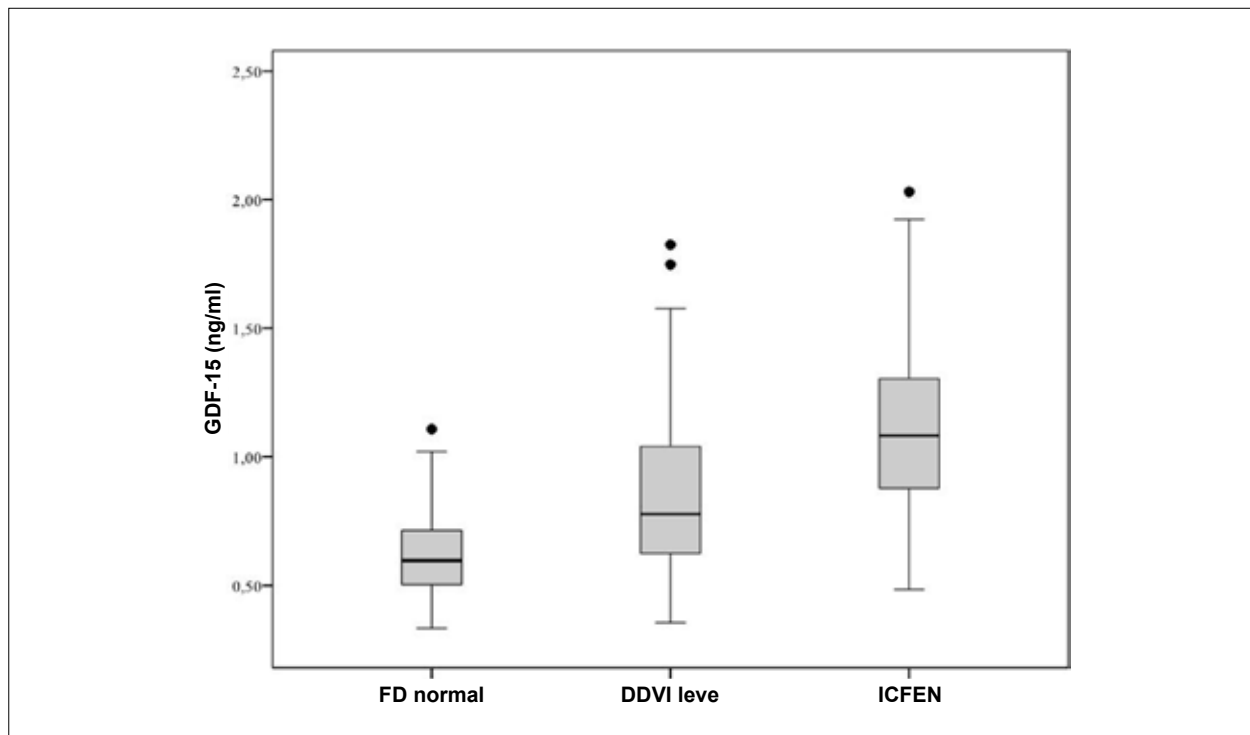


Fig. 1 - Niveles del Factor de Diferenciación de Crecimiento-15 o GDF-15 en pacientes con función diastólica normal, disfunción diastólica leve e insuficiencia cardíaca con fracción de eyección normal. Los niveles de GDF-15 aparecen en el box (percentil 25, mediana, percentil 75) y whisker plots, y los puntos fuera de la curva en la parte superior aparecen como puntos negros. FD - función diastólica, GDF-15 - Factor de Diferenciación de Crecimiento-15, DDVI - disfunción diastólica ventricular izquierda.

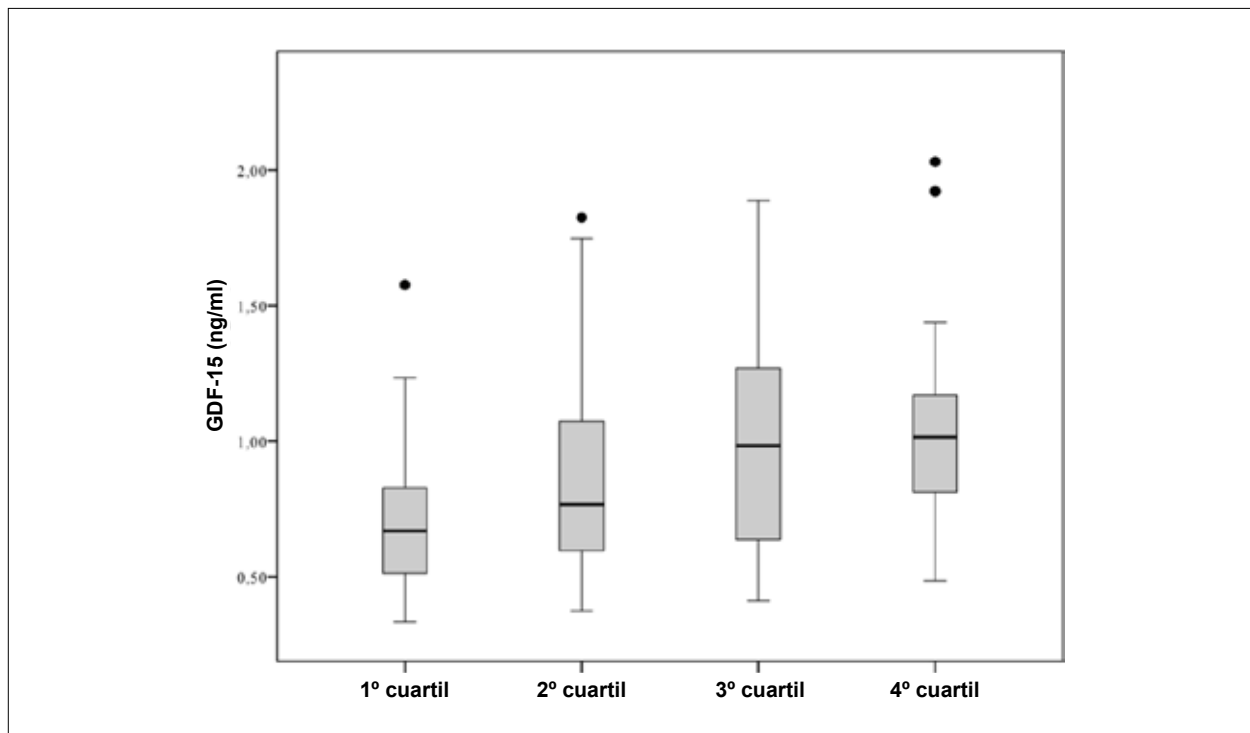


Fig. 2a - Niveles del Factor de Diferenciación de Crecimiento-15 estratificados a tono con los cuartiles del índice de volumen atrial izquierdo. Los niveles de GDF-15 aparecen en el box (percentil 25, mediana, percentil 75) y whisker plots, y los puntos fuera de la curva en la parte superior aparecen como puntos negros. GDF-15 = Factor de Diferenciación de Crecimiento-15. El índice de volumen atrial izquierdo en el primer cuartil varió de 19,3-26,7 ml/m² de área de superficie corporal (ASC); en el segundo cuartil, de 26,7-30,2 ml/m², en el tercer cuartil de 30,2-37,5 ml/m² y en el cuarto cuartil de 37,2-82,0 ml/m² ($p < 0,001$ en el test de Jonckheere-Terpstra).

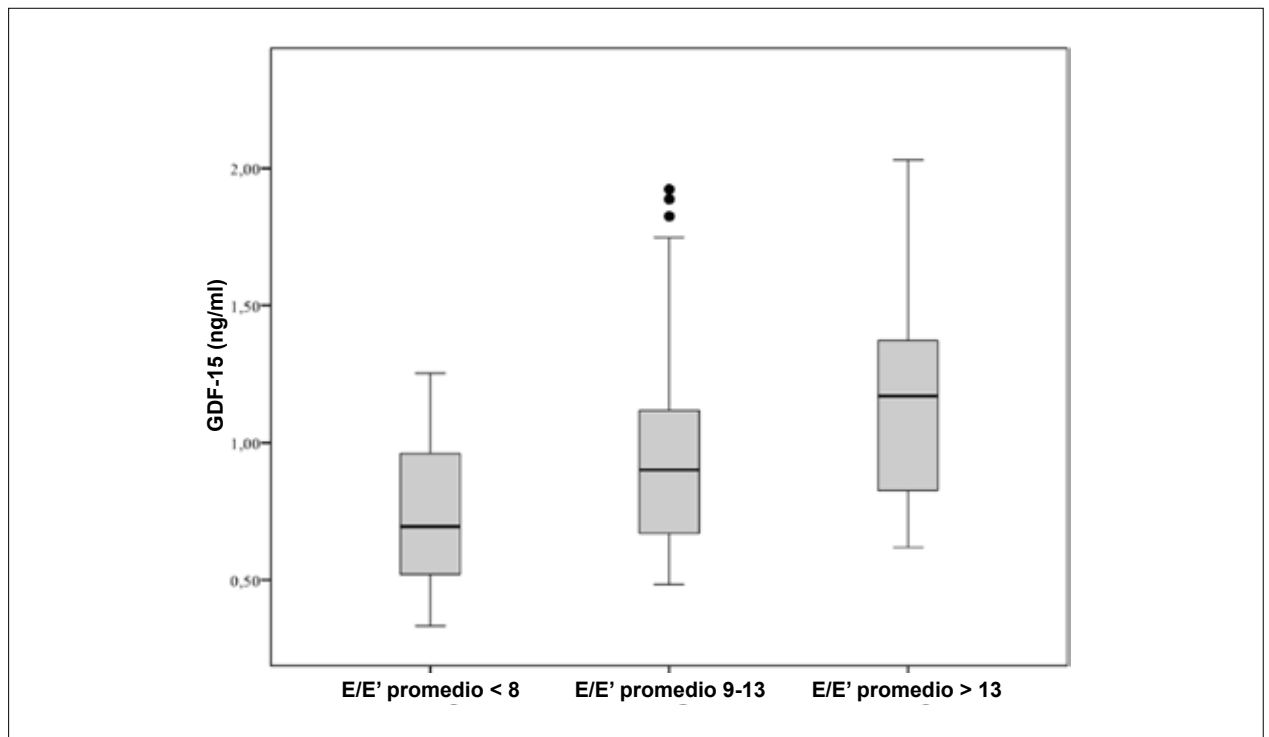


Fig. 2b - Niveles del Factor de Diferenciación de Crecimiento-15 o GDF-15 diagramados en coordenadas contra la razón promedio E/E'. Los niveles de GDF-15 están en el box (percentil 25, mediana, percentil 75), y whisker plots y puntos fuera de la curva en la parte superior aparecen como puntos negros ($p < 0$, para tendencia por Jonckheere-Tepstra). GDF-15 - Factor de Diferenciación de Crecimiento-15.

Estudios experimentales han demostrado que la expresión de GDF-15 aumenta significativamente en el corazón después de varias formas de estrés, incluyendo la sobrecarga de presión^{22,23}. Estudios en animales mostraron que el GDF-15 genera efectos protectores, antiapoptóticos y antihipertróficos en el corazón²³. Secundando el hecho de que el GDF-15 es producido por varios otros tipos de células además de cardiomiocitos (células endoteliales, adipocitos, macrófagos, células de músculo liso vascular), es probable que ese biomarcador integre la información de diferentes vías de la enfermedad, suministrando el conocimiento patofisiológico necesario en los pacientes con ICFEN. El promotor de GDF-15 en humanos contiene dos sitios de vínculo consenso p53 y dos Egr1²⁴. El aumento en la expresión del p53 ha sido detectado en un miocardio humano con insuficiencia y se cree que él tiene un papel en la transición de la hipertrofia cardíaca hacia la insuficiencia cardíaca sistólica²⁵. Erg1 es inducido en las placas ateroscleróticas humanas²⁶ y es un mediador de la hipertrofia por sobrecarga de presión en un modelo de ratones caseros²⁷. Por lo tanto, el GDF-15 parece tener funciones cardioprotectoras; aquellas en ICS y niveles más elevados que están asociados con los desenlaces cardiovasculares adversos. Por ende, los niveles más elevados de GDF-15 en pacientes con estadios más avanzados de DDVI (ICFEN, DDVI grado II o III), pueden reflejar una respuesta adaptada que es superior a la gravedad de la enfermedad de base. Como el GDF-15 predice la mortalidad cardíaca en pacientes con EAC²⁸, infarto agudo del miocardio²⁹ o ICS¹³, el GDF-15 puede ser un futuro biomarcador en los pacientes con ICFEN, tal vez indicando el pronóstico.

De acuerdo con las actuales directrices, los pacientes pueden ser clasificados como teniendo ICFEN o DDVI sin la necesidad de evidencia objetiva de una limitación hemodinámica en la tolerancia al ejercicio, como resultado del aumento en las condiciones de precarga o poscarga. Es algo contradictorio, en el actual abordaje diagnóstico, que los principales síntomas de pacientes con ICFEN estén relacionados con la actividad física³⁰, mientras que el desempeño ventricular obtenido en reposo no exprese de forma precisa la tolerancia al ejercicio y el estado sintomático de los pacientes con insuficiencia cardíaca³¹. A tono con el hecho de que la expresión del GDF-15 sea activada en respuesta al estrés²⁷, nuestros datos mostraron una correlación negativa significativa entre la magnitud de la respuesta del DCi a las alteraciones en la posición del cuerpo, de erecta para supina, que puede ser considerada como un modelo de alteración de la precarga. La asociación de la respuesta del débito cardíaco reducido al estrés de la precarga y el aumento de los niveles de GDF-15, confirmaron la hipótesis de que la respuesta adaptada de la expresión del GDF se anula por la gravedad de la enfermedad de base. Eso queda reforzado particularmente por la correlación del GDF-15 y el IVAE, un parámetro que indica las anomalías graves de la función diastólica por un largo período de tiempo. Un aumento en el IVAE sin una enfermedad valvular concomitante refleja un efecto acumulativo persistente de diferentes contribuidores para el desarrollo de DDVI y así, queda menos vulnerable a las alteraciones intermitentes en la precarga (por ejemplo, estado de volumen) o poscarga (por ejemplo, presión arterial). Las alteraciones agudas en esas condiciones durante el diagnóstico ecocardiográfico pueden

Tabla 3 - Parámetros de evaluación cardíaca de acuerdo con los niveles de GDF-15

	GDF-15 1º cuartil	GDF-15 2º cuartil	GDF-15 3º cuartil	GDF-15 4º cuartil	Valor de p ^a
Función sistólica					
FE (%)	65 (62-70)	63 (59-68)	65 (61-72)	70 (64-73)	0,021*
Smax (cm/s)	6,60 (5,70-7,15)	5,90 (5,30-7,00)	5,65 (5,00-6,50)	6,10 (5,10-6,90)	0,283
SLG (-,%)	19,0 (21,3-16,9)	18,9 (21,4-16,6)	18,9 (20,5-17,5)	19,0 (22,0-17,1)	0,956
Geometría del VI					
DDFVI (mm)	43 (41-47)	45 (41-49)	44 (39-50)	44 (41-48)	0,851
IMVI (g/m ²)	79 (64-96)	96 (72-108)	83,1 (71-127)	92 (67-117)	0,326
E	0,50 (0,40-0,60)	0,49 (0,44-0,62)	0,54 (0,45-0,63)	0,51 (0,45-0,69)	0,145
Función diastólica					
AE- índice (ml/m ²)	27 (25-30)	29 (24-34)	34 (28-40)	36 (30-46)	<0,001*
E (cm/s)	60 (60-70)	70 (60-70)	60 (50-70)	70 (60-90)	0,047*
A (cm/s)	70 (60-80)	80 (70-90)	80 (70-90)	80 (65-95)	0,129
Razón E/A	0,9 (0,8-0,9)	0,9 (0,8-1,0)	0,8 (0,7-1,2)	0,9 (0,7-1,2)	0,978
E' septal (cm/s)	6,8 (5,3-7,9)	6,1 (5,3-7,6)	5,8 (4,8-6,5)	5,7 (4,1-6,2)	0,002*
E' lateral (cm/s)	9,9 (8,2-10,9)	8,2 (6,9-10,5)	7,6 (7,0-8,6)	7,3 (5,6-8,8)	<0,001*
E' promedio	8,3 (7,0-9,6)	7,3 (6,1-8,7)	6,8 (6,0-7,7)	6,3 (5,0-7,3)	<0,001*
Razón E/E' septal	8,8 (8,0-11,4)	10,5 (8,5-12,7)	11,4 (8,3-14,1)	14,5 (11,5-17,1)	<0,001*
Razón E/E' promedio	7,4 (6,7-9,3)	9,0 (7,4-10,5)	9,4 (7,5-11,3)	12,1 (10,1-15,4)	<0,001*
Laboratorial					
NT-proBNP (pg/ml)	98 (64-189)	120 (90-253)	183 (65-502)	406 (117-773)	<0,001*

* Estadísticamente significativo ($p < 0,05$). Test de Jonckheere-Terpstra. A - velocidad diastólica tardía transmitral, FE - fracción de eyección, SLG - strain longitudinal global, AE - atrio izquierdo, E - velocidad diastólica precoz transmitral, E' septal - velocidad diastólica precoz del anillo septal al Doppler tisular, E' lateral - velocidad diastólica precoz lateral al Doppler tisular, VI - ventrículo izquierdo, DDFVI - diámetro diastólico final del VI, IMVI - índice de masa muscular del VI, NT-proBNP - péptido natriurético pro-B N-terminal, ERP - grosor relativo de la pared, Smax - velocidad sistólica. Los niveles de GDF-15 en el primer cuartil variaron de 0,37-0,93ng/ml, en el segundo cuartil de 0,93-1,28 ng/ml, en el tercer cuartil de 1,28-2,02 ng/ml y en el cuarto cuartil de 2,02- 3,60 ng/ml ($p = 0,005$ en el test de Jonckheere-Terpstra).

conllevar a la clasificación equivocada de anomalías de la función diastólica.

El hallazgo de una asociación entre los niveles de GDF-15 y DDVI está a tono con un estudio reciente de Stahrenberg et al³², que evaluó la relación en una investigación hecha con base en la comunidad. Sin embargo, existe una preocupación con relación a las cuestiones metodológicas que pueden haber influido en los resultados presentados en este interesante estudio. Y lo más importante es que no hubo una evaluación de la presencia de la EAC a través de test de estrés no invasivo o angiografía coronaria. Como la EAC mostró estar asociada a la elevación de los niveles de GDF-15^{28,33} y DDVI³⁴, la falta de información sobre la morfología coronaria es una fuente potencial de sesgo en dirección al aumento de los niveles plasmáticos de GDF-15 y en dirección al aumento de la prevalencia y/o gravedad de la DDVI. Por las inseguridades sobre la presencia de EAC, no se obtuvo el promedio de la relación E/E' de las velocidades medial y lateral, como fue recomendado por las directrices actuales¹⁰. Debido al hecho de que algunos pacientes probablemente presenten una anomalía de movimiento regional de la pared, el efecto de la motilidad de segmentos adyacentes (*tethering*), puede haber sido una posible fuente de sesgo. Además de eso, los pacientes no fueron sometidos a un test oral de tolerancia

a la glucosa (TOTG) para diabetes no detectada, que ha sido asociada con el aumento en los niveles de GDF-15^{35,36} y la presencia y la gravedad de la DDVI, especialmente en individuos con diabetes recién diagnosticada en el TOTG³⁷.

En contraposición, el presente estudio secundó las actuales directrices para el diagnóstico de DDVI en individuos bien caracterizados para el grado de anomalía de los niveles de glucosa en el plasma y morfología coronaria. Por lo tanto, fuimos capaces de reforzar los datos de Stahrenberg et al³², en una cohorte diferente de pacientes con una morfología coronaria y un estado metabólico ya conocidos. Además, extendimos los hallazgos hasta un parámetro funcional hemodinámico, porque fuimos capaces de demostrar una asociación entre los niveles de GDF-15 y la disminución de la respuesta hemodinámica en diferentes condiciones de la precarga.

Limitaciones

El número de pacientes, especialmente con FD normal en nuestra cohorte, era relativamente pequeño, resultando en un limitado poder estadístico. Además de eso, las tasas de EAC y los factores de riesgo cardiovascular eran altos en esa población de estudio. Por eso, los presentes resultados pueden no representar con total rapidez la población en general. Além disso, os pacientes com ICFEN eram mais velhos del

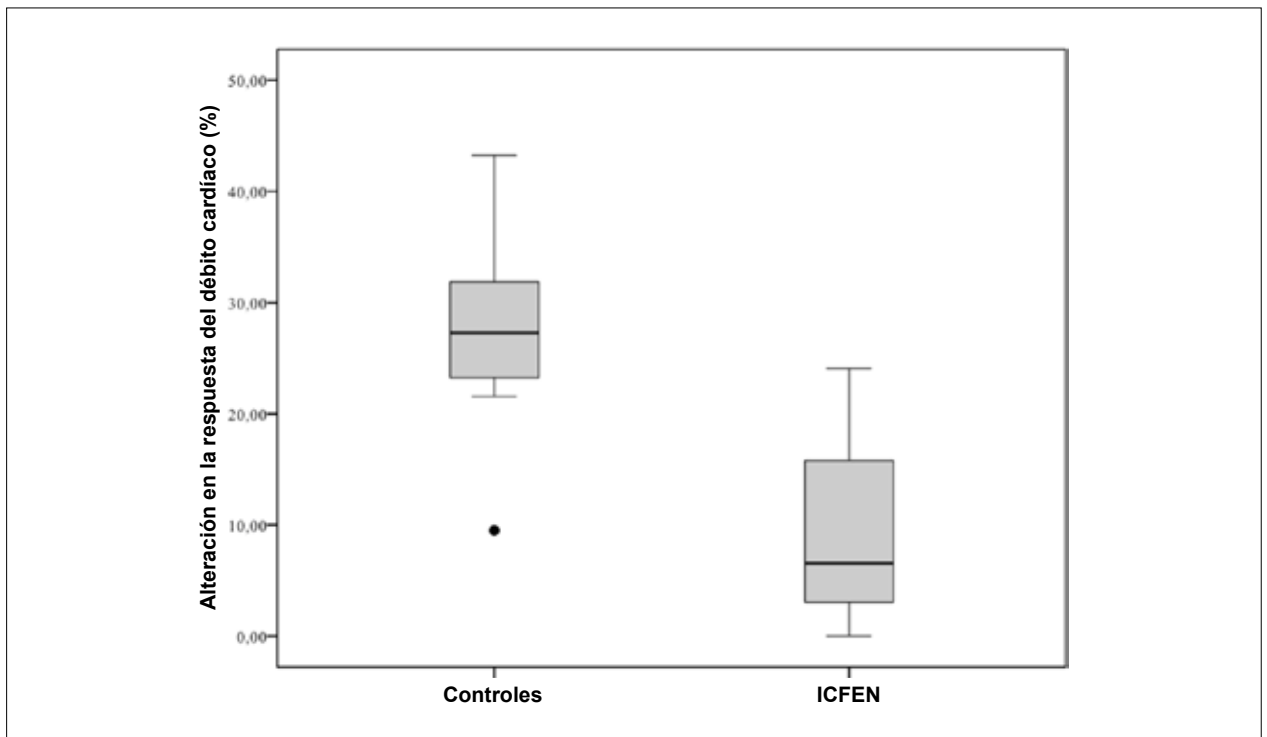


Fig. 3a - Alteración en la respuesta del débito cardíaco (DC) de la posición erecta hacia la posición supina. El eje muestra la alteración en el índice de DC causada por las alteraciones en la posición del cuerpo de posición erecta a supina, medido por las técnicas de reinhalación de gas inerte. El índice de DC está presentado como box (percentil 25, mediana, percentil 75) y whisker plots y los puntos fuera de la curva en la parte superior que aparecen como puntos negros. ICFEN - insuficiencia cardíaca con fracción de eyección normal.

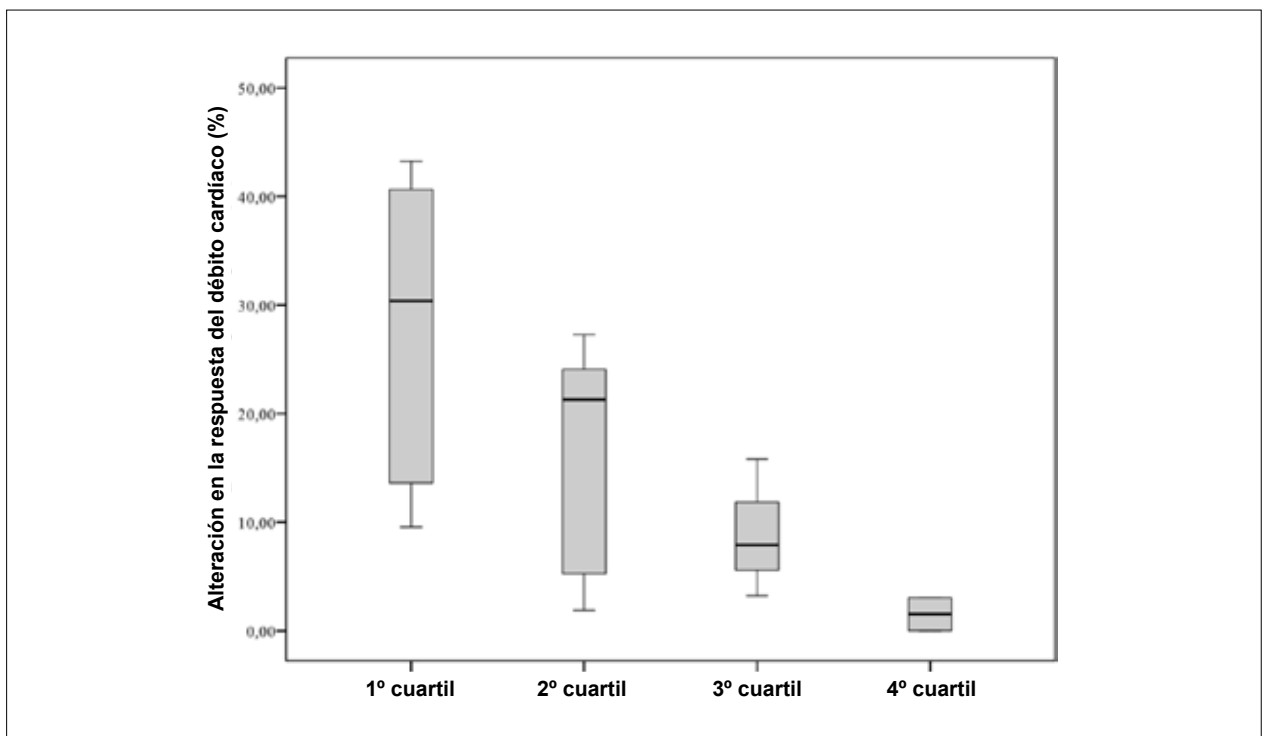


Fig. 3b - Alteración en la respuesta del débito cardíaco (DC), de la posición erecta para supina, estratificada de acuerdo con los cuartiles del Factor de Diferenciación de Crecimiento-15 o GDF-15. El eje muestra la alteración en el índice de DC causada por las alteraciones en la posición del cuerpo de posición erecta a supina, medido por las técnicas de reinhalación de gas inerte. El índice de DC aparece como box (percentil 25, mediana, percentil 75) y whisker plots, y los puntos fuera de la curva en la parte superior están como puntos negros. Los niveles de GDF-15 en el primer cuartil variaron de 0,33-0,83ng/ml, en el segundo cuartil de 0,83-1,13 ng/ml, en el tercer cuartil de 1,13-1,54 ng/ml y en el cuarto cuartil de 1,54- 2,03 ng/ml ($p = 0,005$ en el test de Jonckheere-Terpstra).

que aqueles com FD normal, uma fonte potencial de viés em direção ao aumento de los niveles plasmáticos de GDF-15. Entretanto, a associação entre a DDVI e os niveles de GDF-15 permaneceu significativa após o ajuste para EAC, idade, metabolismo de la glucosa e hipertensão como covariables nos modelos de regressão multivariada.

Aunque el diagnóstico de DDVI haya sido hecho con base en las actuales directrices recientemente publicadas, su valor clínico todavía precisa ser validado prospectivamente.

Além disso, a taxa de pacientes recebendo tratamento antihipertensivo era maior no grupo com ICFEN. Entretanto, uma relación significativa de qualquer desses medicamentos com o aumento de los niveles plasmáticos de GDF-15 nunca foram identificados. Finalmente, nuestro proyecto transversal de estudio no permite ninguna conclusión sobre causalidad.

Conclusión

El GDF-15 es un nuevo y promisorio biomarcador en la ICFEN que está elevado en individuos con DDVI leve o moderada a grave, independientemente de la presencia de EAC u otros factores de riesgo establecidos, frecuentemente asociados al ICFEN. Considerando el hecho de que el GDF-15 parece tener funciones cardioprotectoras, nuestra hipótesis es que los niveles más altos de GDF-15 pueden reflejar

una respuesta adaptadora que es superada por la gravedad de la enfermedad subyacente. La incorporación de un biomarcador para ayudar en el diagnóstico y en la previsión de riesgo en la ICFEN, puede aumentar la capacidad de la identificación precisa y precoz de los pacientes con mayor riesgo para complicaciones relacionadas con la IC. Una mejor caracterización de los pacientes con el ICFEN puede permitir un uso más efectivo de las estrategias terapéuticas y de prevención específicas. Pero más estudios se hacen necesarios para determinar el valor del GDF-15 en el diagnóstico y en la monitorización de la terapia en la IC diastólica.

Potencial Conflicto de Intereses

Declaro no haber conflicto de intereses pertinentes.

Fuentes de Financiación

Dr. Werner Jachstädt Foundation financió el presente estudio y Heinz-Dieter Oberdick Foundation financió parcialmente el presente estudio.

Vinculación Académica

Este artículo forma parte de tesis de Doctorado de Daniel Scheyer, por University of Witte/Herdecke, Alemania.

Referencias

1. Bhatia RS, Tu JV, Lee DS, Austin PC, Fang J, Haouzi A, et al. Outcome of heart failure with preserved ejection fraction in a population-based study. *N Engl J Med.* 2006;355(3):260-9.
2. Owan TE, Hodge DO, Herges RM, Jacobsen SJ, Roger VL, Redfield MM. Trends in prevalence and outcome of heart failure with preserved ejection fraction. *N Engl J Med.* 2006;355(3):251-9.
3. Redfield MM, Jacobsen SJ, Burnett JC Jr, Mahoney DW, Bailey KR, Rodeheffer RJ. Burden of systolic and diastolic ventricular dysfunction in the community: appreciating the scope of the heart failure epidemic. *JAMA.* 2003;289(2):194-202.
4. Mogelvang R, Sogaard P, Pedersen SA, Olsen NT, Marott JL, Schnohr P, et al. Cardiac dysfunction assessed by echocardiographic tissue Doppler imaging is an independent predictor of mortality in the general population. *Circulation.* 2009;119(20):2679-85.
5. Flather MD, Shibata MC, Coats AJ, Van Veldhuisen DJ, Parkhomenko A, Borbola J, et al. Randomized trial to determine the effect of nebivolol on mortality and cardiovascular hospital admission in elderly patients with heart failure (SENIORS). *Eur Heart J.* 2005;26(3):215-25.
6. Massie BM, Carson PE, McMurray JJ, Komajda M, McKelvie R, Zile MR, et al. Irbesartan in patients with heart failure and preserved ejection fraction. *N Engl J Med.* 2008;359(23):2456-67.
7. Persson H, Lonn E, Edner M, Baruch L, Lang CC, Morton JJ, et al. Diastolic dysfunction in heart failure with preserved systolic function: need for objective evidence: results from the CHARM Echocardiographic Substudy-CHARMES. *J Am Coll Cardiol.* 2007;49(6):687-94.
8. Hobbs FD, Roalke AK, Davis RC, Davies MK, Hare R. Prognosis of all-cause heart failure and borderline left ventricular systolic dysfunction: 5 year mortality follow-up of the Echocardiographic Heart of England Screening Study (ECHOES). *Eur Heart J.* 2007;28(9):1128-34.
9. Paulus WJ, van Ballegoij JJ. Treatment of heart failure with normal ejection fraction: an inconvenient truth! *J Am Coll Cardiol.* 2010;55(6):526-37.
10. Nagueh SF, Appleton CP, Gillebert TC, Marino PN, Oh JK, Smiseth OA, et al. Recommendations for the evaluation of left ventricular diastolic function by echocardiography. *Eur J Echocardiogr.* 2009;10(2):165-93.
11. Bootcov MR, Bauskin AR, Valenzuela SM, Moore AG, Bansal M, He XY, et al. MIC-1, a novel macrophage inhibitory cytokine, is a divergent member of the TGF-beta superfamily. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1997;94(21):11514-9.
12. Kempf T, Horn-Wichmann R, Brabant G, Peter T, Allhoff T, Klein G, et al. Circulating concentrations of growth-differentiation factor 15 in apparently healthy elderly individuals and patients with chronic heart failure as assessed by a new immunoradiometric sandwich assay. *Clin Chem.* 2007;53(2):284-91.
13. 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(11):1054-60.
14. Kempf T, Wollert KC. Growth-differentiation factor-15 in heart failure. *Heart Fail Clin.* 2009;5(4):537-47.
15. Rathmann W, Haastert B, Icks A, Lowel H, Meisinger C, Holle R, et al. High prevalence of undiagnosed diabetes mellitus in Southern Germany: target populations for efficient screening. The KORA survey 2000. *Diabetologia.* 2003;46(2):182-9.
16. Peterson LR, Waggoner AD, Schechtman KB, Meyer T, Gropler RJ, Barzilay B, et al. Alterations in left ventricular structure and function in young healthy obese women: assessment by echocardiography and tissue Doppler imaging. *J Am Coll Cardiol.* 2004;43(8):1399-404.
17. Lang RM, Bierig M, Devereux RB, Flachskampf FA, Foster E, Pellikka PA, et al. Recommendations for chamber quantification: a report from the American Society of Echocardiography's Guidelines and Standards Committee and the Chamber Quantification Writing Group, developed in conjunction with the European Association of Echocardiography, a branch of the European Society of Cardiology. *J Am Soc Echocardiogr.* 2005;18(12):1440-63.

18. Clemensen P, Christensen P, Norsk P, Gronlund J. A modified photo- and magnetoacoustic multigas analyzer applied in gas exchange measurements. *J Appl Physiol*. 1994;76(6):2832-9.
19. Agostoni PG, Wasserman K, Perego GB, Guazzi M, Cattadori G, Palermo P, et al. Non-invasive measurement of stroke volume during exercise in heart failure patients. *Clin Sci (Lond)*. 2000;98(5):545-51.
20. Saur J, Fluechter S, Trinkmann F, Papavassiliu T, Schoenberg S, Weissmann J, et al. Noninvasive determination of cardiac output by the inert-gas-rebreathing method—comparison with cardiovascular magnetic resonance imaging. *Cardiology*. 2009;114(4):247-54.
21. Executive Summary of The Third Report of The National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, And Treatment of High Blood Cholesterol In Adults (Adult Treatment Panel III). *JAMA*. 2001;285(19):2486-97.
22. 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(3):351-60.
23. 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(3):342-50.
24. Tan M, Wang Y, Guan K, Sun Y. PTGF-beta, a type beta transforming growth factor (TGF-beta) superfamily member, is a p53 target gene that inhibits tumor cell growth via TGF-beta signaling pathway. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2000;97(1):109-14.
25. Sano M, Minamino T, Toko H, Miyauchi H, Orimo M, Qin Y, et al. p53-induced inhibition of Hif-1 causes cardiac dysfunction during pressure overload. *Nature*. 2007;446(7134):444-8.
26. McCaffrey TA, Fu C, Du B, Eksinar S, Kent KC, Bush H Jr, et al. High-level expression of Egr-1 and Egr-1-inducible genes in mouse and human atherosclerosis. *J Clin Invest*. 2000;105(5):653-62.
27. Buitrago M, Lorenz K, Maass AH, Oberdorf-Maass S, Keller U, Schmitteckert EM, et al. The transcriptional repressor Nab1 is a specific regulator of pathological cardiac hypertrophy. *Nat Med*. 2005;11(8):837-44.
28. Kempf T, Sinning JM, Quint A, Bickel C, Sinning C, Wild PS, et al. Growth-differentiation factor-15 for risk stratification in patients with stable and unstable coronary heart disease: results from the AtheroGene study. *Circ Cardiovasc Genet*. 2009;2(3):286-92.
29. 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. *Eur Heart J*. 2009;30(9):1057-65.
30. Kitzman DW, Higginbotham MB, Cobb FR, Sheikh KH, Sullivan MJ. Exercise intolerance in patients with heart failure and preserved left ventricular systolic function: failure of the Frank-Starling mechanism. *J Am Coll Cardiol*. 1991;17(5):1065-72.
31. Franciosa JA, Park M, Levine TB. Lack of correlation between exercise capacity and indexes of resting left ventricular performance in heart failure. *Am J Cardiol*. 1981;47(1):33-9.
32. Stahrenberg R, Edelmann F, Mende M, Kockskamper A, Dungen HD, Scherer M, et al. Association of glucose metabolism with diastolic function along the diabetic continuum. *Diabetologia*. 2010;53(7):1331-40.
33. Wollert KC, Kempf T, Lagerqvist B, Lindahl B, Olofsson S, Allhoff T, et al. Growth differentiation factor 15 for risk stratification and selection of an invasive treatment strategy in non ST-elevation acute coronary syndrome. *Circulation*. 2007;116(14):1540-8.
34. Ohara T, Little WC. Evolving focus on diastolic dysfunction in patients with coronary artery disease. *Curr Opin Cardiol*. 2010;25(6):613-21.
35. Dostalova I, Roubicek T, Bartlova M, Mraz M, Lacinova Z, Haluzikova D, et al. Increased serum concentrations of macrophage inhibitory cytokine-1 in patients with obesity and type 2 diabetes mellitus: the influence of very low calorie diet. *Eur J Endocrinol*. 2009;161(3):397-404.
36. Lajer M, Jorsal A, Tarnow L, Parving HH, Rossing P. Plasma growth differentiation factor-15 independently predicts all-cause and cardiovascular mortality as well as deterioration of kidney function in type 1 diabetic patients with nephropathy. *Diabetes Care*. 2010;33(7):1567-72.
37. Futh R, Dinh W, Bansemir L, Ziegler G, Bufe A, Wolfertz J, et al. Newly detected glucose disturbance is associated with a high prevalence of diastolic dysfunction: double risk for the development of heart failure? *Acta Diabetol*. 2009;46(4):335-8.