

Эффективность новых плазменных биомаркеров FGF-21 и GDF-15 в дифференциальной диагностике митохондриальных заболеваний

Цыганкова П.Г., Иткис Ю.С., Крылова Т.Д., Захарова Е.Ю.

ФГБНУ «Медико-генетический научный центр», Москва, polgamma@yandex.ru

Введение. Циркулирующие плазменные цитокины FGF-21 и GDF-15 — активно исследуемые регуляторы клеточного метаболизма. Несколько исследований показали, что тесты по определению этих маркеров высокочувствительны и специфичны для диагностики митохондриальных заболеваний, особенно с нервно-мышечными проявлениями. Митохондриальные болезни — клинически и генетически гетерогенная группа заболеваний. **Целью** исследования являлось изучение роли данных маркеров в дифференциальной диагностике группы митохондриальных болезней (МБ). Исследуемая группа включала 107 пациентов с МБ, и контрольную выборку. **Результаты.** Концентрации FGF-21 и GDF-15 в группе пациентов с МБ были достоверно выше, чем в контроле. GDF-15 показал более высокую чувствительность и специфичность (0,89; 0,88; AUC = 0,932), чем FGF-21 (0,75; 0,69; AUC = 0,82). Особенно резкое повышение обоих маркеров (в 100–200 раз) было отмечено в группе митохондриальных гепатопатий, у GDF-15 выявлена способность различить некоторые другие формы МБ между собой.

Ключевые слова: митохондриальные биомаркеры, митохондриальные гепатопатии, митохондриальные болезни, FGF-21, GDF-15.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Efficiency of new plasma biomarkers FGF-21, GDF-15 in differential diagnostic of mitochondrial diseases

Tsygankova P.G., Itkis Yu.S., Krylova T.D., Zakharova E.Yu.

Research centre for medical genetics, Moscow, Russia, polgamma@yandex.ru

Introduction. Plasma circulating cytokines FGF-21 and GDF-15 are recently described and actively investigated cell's metabolism regulators. They both have endocrine function and highly expressed in liver upon stress and starvation. Several studies established these markers as highly sensitive and specific for diagnosis of patients with mitochondrial diseases, especially those with prominent muscle system involvement. Mitochondrial diseases are clinically and genetically heterogeneous group of diseases. **Aim.** In our study we aimed to reveal the role of this markers in differential diagnostic of mitochondrial diseases. We measured plasma FGF-21 and GDF-15 concentration in 107 patients with genetically confirmed primary mitochondrial disease and control group. **Results.** The concentration of FGF-21 and GDF-15 in the group of patients with mitochondrial diseases was significantly higher than in the control. GDF-15 showed higher sensitivity and specificity (0.89, 0.88, AUC = 0.932) than FGF-21 (0.75, 0.69, AUC = 0.82). Especially sharp increase of both markers (100–200 times) was noted in the group of mitochondrial hepatopathies, GDF-15 showed the ability to distinguish some other forms of mitochondrial disease among themselves.

Key words: mitochondrial biomarkers, mitochondrial hepatopathies, mitochondrial encephalopathies, FGF-21, GDF-15.

Введение

Нарушения функции митохондрий могут возникать как из-за генетического дефекта, так и вследствие влияния внешних факторов. Первичными митохондриальными болезнями (МБ) называют наследственные заболевания, вызванные мутациями в мтДНК или ядерных генах, кодирующих белки, участвующие в работе митохондрий. Суммарная частота данной группы заболеваний в мире оценивается как 1:5000 [1].

При этом следует отметить, что вторичное нарушение функции митохондрий может наблюдаться и при других наследственных заболеваниях — дефектах окисления жирных кислот, нарушениях обмена гликогена, дефектах цикла мочевины и др. На снижение окисли-

тельного фосфорилирования влияют и внешние факторы, такие, как лекарственные препараты (вальпроаты, антибиотики), ингибиторы дыхательной цепи (различные яды, угарный газ и т.д.), излучение, свободные радикалы.

Спектр клинических проявлений у пациентов с МБ чрезвычайно разнообразен, болезнь часто носит мульти-системный характер и включает поражение нервной, мышечной, эндокринной систем, желудочно-кишечного тракта. Подтверждающая диагностика МБ затруднена в связи с чрезвычайной генетической гетерогенностью этих заболеваний и наличием феноменов гетероплазмии и неравномерного распределения мутантной мтДНК по различным тканям.

Универсального, высокоспецифичного и высокочувствительного биохимического теста для МБ на сегодняшний день не существует. Наиболее часто при МБ выявляют повышение концентрации лактата, и соотношения лактат/пируват, изменения в спектре органических кислот мочи (повышение лактата, кетонных тел и метаболитов цикла Кребса), снижение активности ферментов дыхательной цепи митохондрий в мышечном биоптате или культуре кожных фибробластов. При этом отсутствие отклонений при проведении этих тестов не позволяет исключить МБ [2, 3, 4].

Безусловно актуальным является выявление специфических и чувствительных биомаркеров МБ, которые позволяют провести отбор пациентов для дальнейшей молекулярной диагностики, оценить тяжесть заболевания и в перспективе проводить контроль лечения.

В 2011 году группа ученых во главе с А. Суомалайнен опубликовала исследование о плазменном белке FGF-21 (фактор роста фибробластов 21), как о потенциальном биомаркере болезней дыхательной цепи митохондрий с мышечной манифестацией. Данные о 67 пациентах с подтвержденным молекулярно-генетическим дефектом показали, что уровень FGF-21 более информативен при МБ, чем «классические» биомаркеры, такие, как уровень лактата, пирувата, активность креатинфосфокиназы [5]. Три года спустя был описан другой потенциальный биомаркер — GDF15 (ростовой фактор дифференциации 15), который рассматривался как более чувствительный и специфичный при митохондриальной патологии [6, 7]. В 2015 году Ятсуга с соавторами на выборке из 48 взрослых больных показал высокую чувствительность и специфичность GDF-15 как биомаркера митохондриальных заболеваний [8]. Позже исследовательская группа во главе с Монтеро установила, что сочетание определение FGF-21 и GDF-15 позволяет повысить чувствительность теста [9]. В то же время Дэвис с соавт. в 2016 году отметил, что комбинирование данных биомаркеров незначительно увеличивает площадь под ROC-кривой (AUC) по сравнению с GDF-15 в отдельности [10].

Физиология FGF-21 очень сложна — он синтезируется во многих органах и действует во множествах тканях в паракринной или эндокринной формах. У здоровых людей ни кетогенная диета, ни голодание не действуют на уровень FGF-21, но прием фруктозы вызывает быстрое и сильное повышение уровня FGF-21, циркулирующего в крови [11]. При недостаточности комплексов дыхательной цепи митохондрий в скелетной мышце повышается уровень экспрессии FGF-21, в результате чего повышается пролиферация митохондрий через mTOR-YY1-PGC1 α -зависимый путь [12].

GDF-15 — цитокин суперсемейства трансформирующих ростовых факторов b, который экспрессируется в основном в плаценте, почках, печени, легких, поджелудочной и предстательной железах. Этот цитокин вы-

полняет важную роль в регуляции клеточного ответа на стресс и воспаление, а также подавляет иммунную реакцию на ранних сроках беременности, участвует в патогенезе онкологических и сердечно-сосудистых заболеваний [13, 14, 15]. В ЦНС GDG-15 экспрессируется в хориоидном сплетении и действует как потенциальный нейротрофический фактор для двигательных и чувствительных нейронов.

В данном исследовании на выборке пациентов как педиатрического, так и взрослого контингентов изучена диагностическая значимость биомаркеров FGF-21 и GDF-15 для МБ.

Материалы и методы

Исследуемая выборка

Контрольная группа включала 30 здоровых взрослых и 30 здоровых детей.

Выборка пациентов с генетически подтвержденными МБ («МИТО») составила 107 человек. Образцы пациентов были отобраны и проанализированы в промежутке с 2014 г. по 2017 г., биоматериал был получен из различных медицинских учреждений Российской Федерации. Возраст пациентов варьировал от 1 недели жизни до 61 года. 43% пациентов были женского пола, 57% — мужского.

У 59 пациентов были выявлены мутации в мтДНК и у 48 — в ядерных генах. Группа была разделена на 8 подгрупп в зависимости от первичного молекулярно-генетического дефекта:

1. Наследственная оптическая нейропатия Лебера (LHON), n = 23;
2. Болезни, связанные с мутациями в генах структурных субъединиц дыхательной цепи мтДНК (синдром Ли и Ли-подобные фенотипы), n = 20;
3. Синдромы, связанные с крупными делециями мтДНК, n = 6;
4. Синдромы, обусловленные мутациями в митохондриальных тРНК, n = 11;
5. Синдромы, связанные с мутациями в ядерных генах субъединиц дыхательной цепи и сборщиках комплексов дыхательной цепи (синдром Ли, младенческие митохондриальные энцефалопатии), n = 17;
6. Заболевания, обусловленные мутациями в генах репликации и поддержания целостности мтДНК без поражения печени (синдромы PEO, SANDO, митохондриальная спиналомозжечковая атаксия), n = 19;
7. Заболевания, обусловленные мутациями в генах репликации и поддержания целостности мтДНК с поражением печени (младенческие митохондриальные гепатоцеребральные синдромы), n = 8;
8. Младенческие митохондриальные энцефалопатии, обусловленные недостаточностью пируватдегидрогеназного комплекса, n = 3.

Методы

ИФА

Иммуноферментный анализ для измерения концентрации FGF-21 и GDF-15 проводился наборами Human fibroblast factor-21 ELISA, Human GDF-15 фирмы Biovendor (Czech Republic) по протоколу производителя.

Статистические методы

Статистический анализ проведен с использованием программы SPSS.20 (IBM Corporation, Armonk, NY).

Различия между группами считали достоверным при значении двустороннего критерия меньше 0,05. Все значения меньше 0,001 записывали как $p < 0,001$. Референсные значения устанавливали на 95%-ном процентиле в контрольной группе образцов плазмы. Для определения различий между группами использовали непараметрический критерий Манна—Уитни. Для оценки диагностической эффективности FGF-21 и GDF-15 использовали ROC-анализ и подсчет площади под кривой (AUC).

Результаты

Концентрация FGF-21

Значение медианы концентрации FGF-21 в контроле составило 12 пг/мл (размах = 0—664). Принятые референсные значения (95% перцентилей) 0—440 пг/мл. Различий по возрасту не наблюдалось.

Медиана концентрации FGF-21 в группе МИТО ($n = 107$) составила 246 пг/мл (размах = 0—35777 пг/мл), что в 20 раз превышает значение в группе контроля (рис. 1).

При разделении группы митохондриальных болезней на подгруппы были выявлены следующие особенности.

Средние значения концентрации маркера FGF-21 повышались в ряду: LHON — мутации в мт тРНК — синдром Кирнса—Сейра, — мутации в ядерных генах субъединиц дыхательной цепи и сборщиках комплекса дыхательной цепи (КДЦ) — мутации мтДНК в генах субъединиц КДЦ — мутации в ядерных генах репликации и поддержания целостности мтДНК без вовлечения печени — мутации в гене альфа-субъединицы пируватдегидрогеназы — мутации в генах репликации и поддержания целостности мтДНК с вовлечением печени (рис. 2).

Максимальное значение FGF-21 в исследуемой выборке было выявлено у пациента с младенческой митохондриальной энцефалопатией, лактат-ацидозом и тубулопатией, мутацией в гене *RRM2B* и у одного пациента с недостаточностью пируватдегидрогеназного комплекса.

Все подгруппы достоверно отличались от контроля по уровню FGF-21, однако между подгруппами достоверных различий выявить не удалось, за исключением пациентов с гепатопатиями. В этой группе у всех пациентов наблюдалось значительное повышение этого маркера.

Концентрация GDF-15

Концентрация GDF-15 значимо отличалась между детьми ($N = 68$) и взрослыми ($N = 39$) в группе контроля. Значение медианы в контрольной группе у детей — 0 пг/мл (размах = 0—2755 пг/мл), у взрослых — 1115 пг/мл (размах = 0—4910 пг/мл). Принятые референсные значения (95% перцентилей) для детей равны 0—2400 пг/мл, для взрослых — 0—4500 пг/мл.

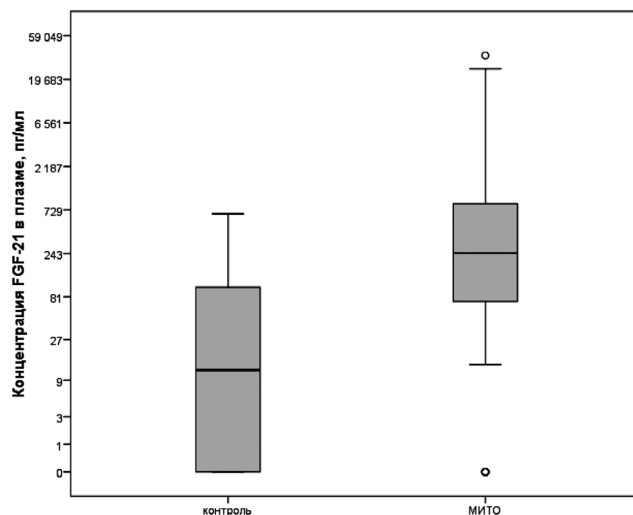


Рис. 1. Концентрация FGF-21 в плазме крови у пациентов с митохондриальными заболеваниями ($n = 107$) и в группе контроля ($n = 60$). Значения концентраций на оси Y указаны в логарифмической шкале.

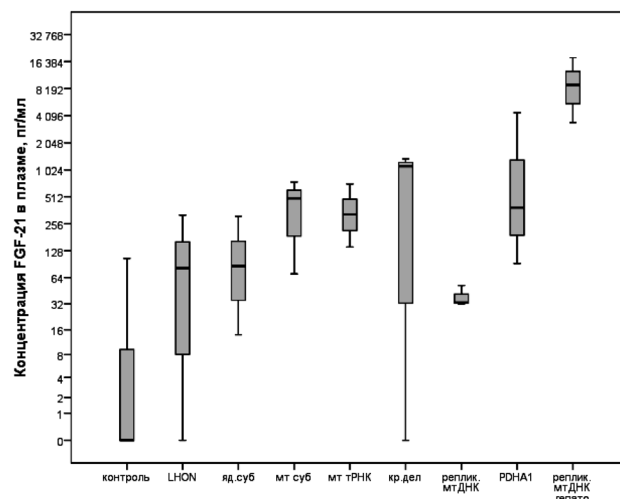


Рис. 2. Концентрация FGF-21 в плазме крови пациентов с различными формами МБ. Значения концентраций на оси Y указаны в логарифмической шкале. LHON — Наследственная оптическая нейропатия Лебера; яд.суб — мутации в ядерных генах субъединиц и сборщиков дыхательной цепи; мт суб — мутации в генах мтДНК, кодирующих субъединицы ДЦ; мт тРНК — мутации в генах митохондриальных транспортных РНК; кр. дел — крупные делеции мтДНК; реплик. мт ДНК — мутации в генах репликации и поддержания целостности мтДНК без вовлечения печени; PDHA1 — мутации в гене *PDHA1*, альфа-субъединица пируватдегидрогеназы; реплик. мт ДНК гепато — мутации в генах репликации и поддержания целостности мтДНК с гепатопатией

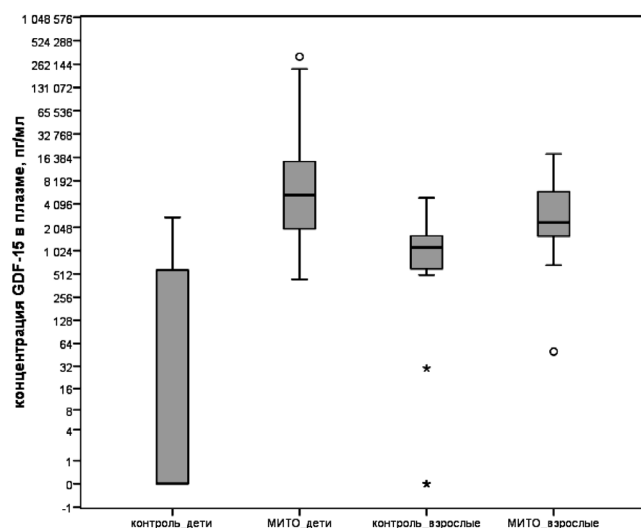


Рис. 3. Концентрация GDF-15 в плазме крови у пациентов с митохондриальными заболеваниями (n = 107) и в группе контроля (дети, n = 30; взрослые, n = 30). Значения концентраций на оси Y указаны в логарифмической шкале.

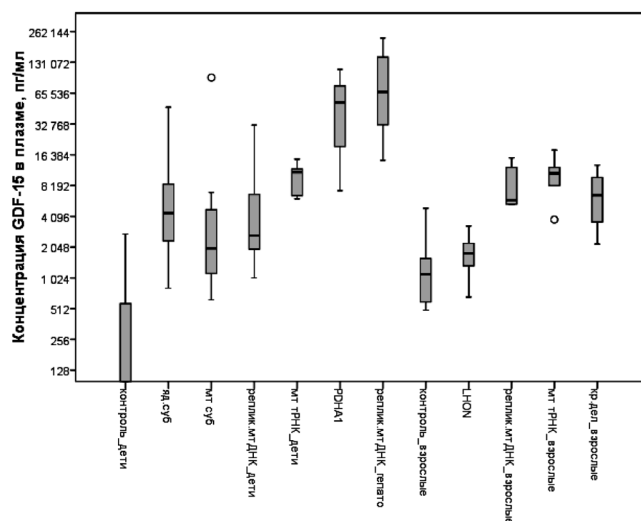


Рис. 4. Концентрация FGF-21 в плазме крови пациентов с различными формами МБ. Значения концентраций на оси Y указаны в логарифмической шкале. **яд.суб** — мутации в ядерных генах субъединиц и сборщиков дыхательной цепи; **мт суб** — мутации в генах мтДНК, кодирующих субъединицы ДЦ; **реплик. мт ДНК_дети** — мутации в генах репликации и поддержания целостности мтДНК у детей без вовлечения печени; **мт трНК_дети** — мутации в генах митохондриальных транспортных РНК у детей; **PDHA1** — мутации в гене *PDHA1*, альфа-субъединица пируватдегидрогеназы; **реплик. мт ДНК гепато** — мутации в генах репликации и поддержания целостности мтДНК с гепатопатией; **LHON** — Наследственная оптическая нейропатия Лебера; **реплик. мт ДНК взрослые** — мутации в генах репликации и поддержания целостности мтДНК у взрослых пациентов без вовлечения печени; **мт трНК_взрослые** — мутации в генах митохондриальных транспортных РНК у взрослых; **кр.дел. взрослые** — крупные делеции мтДНК у взрослых.

Концентрация GDF-15 сравнивалась отдельно в педиатрических группах и у взрослых, с нормализацией по возрасту.

Среднее значение GDF-15 в группе МБ у детей составило 26 024 пг/мл (медиана = 5353 пг/мл), что в 63 раза выше возрастного контроля. У взрослых пациентов среднее значение маркера составило 4640 пг/мл (медиана = 2350 пг/мл) — в среднем в 3,5 раза выше возрастного контроля (рис. 3).

Внутри группы так же, как и в случае FGF-21, повышение концентрации в незначительной степени наблюдалось в подгруппе пациентов с LHON (в 1,3 раза), у пациентов с синдромом Кирнса—Сейра (в 5 раз). Наиболее высокие значения концентрации GDF-15 в плазме крови выявлены у пациентов с мутациями в генах репликации и поддержания целостности мтДНК (гены *POLG*, *TWNK*, *DGUOK*, *RRM2B*, *FBXL4*). Среднее значение GDF-15 у детей в этой группе составило 80 795 пг/мл, что в 197 раз превышает нормальные значения (рис. 4). У взрослых пациентов из этой группы (пациенты с прогрессирующей наружной офтальмоплегией и синдромом SANDO, мутации в гене *POLG*) GDF-15 в плазме крови был повышен, но не столь значительно. Максимальное значение GDF-15 в исследуемой выборке было выявлено, как и при измерении FGF-21, у пациента с младенческой митохондриальной энцефалопатией, лактат-ацидозом и тубулопатией, с мутацией в гене *RRM2B*. У всех 3 пациентов с недостаточностью пируватдегидрогеназного комплекса концентрация GDF-15 была повышена, однако в разной степени.

GDF-15 оказался более информативен при сравнении подгрупп митохондриальных заболеваний (таблица). Среди педиатрических форм достоверно более высокие значения GDF-15 имели пациенты с мутациями в мт трНК по сравнению с группами с мутациями в ядерных генах субъединиц и сборщиков КДЦ ($p = 0,05$), с мутациями в генах мтДНК, кодирующих субъединицы КДЦ ($p = 0,003$). Пациенты с недостаточностью пируватдегидрогеназного комплекса, а также с младенческими митохондриальными гепатопатиями, как и в случае с FGF-21, показали очень значительные повышения концентрации GDF-15 и достоверно отличались от всех исследуемых групп.

Значения маркера у пациентов с LHON достоверно отличались от контроля, однако были ниже отрезного значения и ниже, чем у пациентов из других групп митохондриальных заболеваний (мутациями в мт трНК, крупными делециями мт ДНК, мутациями в генах биогенеза мтДНК) ($p < 0,001$).

Чувствительность и специфичность теста

Чувствительность и специфичность измерения FGF-21 при МБ составила 0,75 и 0,69 соответственно. GDF-15 — 0,89; 0,88 соответственно. Для сравнения клинической чувствительности и специфичности FGF-21 и GDF-15 был использован параметр площади под ROC-кривой (рис. 5). Для FGF-21 AUC = 0,812, для GDF-15 AUC = 0,932, что соответствует высокой чувствительности и специфичности.

Обсуждение

Аналогичные цифры по AUC для GDF-15 были получены Дэвисом в 2016 году на выборке взрослых пациентов с МБ. AUC для FGF-21 в той работе составил 0,911 [10]. Отличие данных параметров может быть обусловлено особенностями выборки пациентов.

В нашем исследовании самые высокие значения маркеров выявлены у пациентов с поражением печени и недостаточностью пируватдегидрогеназного комплекса. Значение обоих маркеров при митохондриальном гепатоцеребральном синдроме (гены *DGUOK*, *TWNK*) было в 100–200 раз выше нормы [16, 17].

Значительное повышение GDF-15 при нормальном либо слегка повышенном уровне FGF-21 наблюдалось у двух пациентов с мутациями в генах *SCO2*, *COX10*. Оба

гена отвечают за сборку IV КДЦ митохондрий на внутренней митохондриальной мембране, фенотип пациентов включает тяжелую гипертрофическую кардиомиопатию. Однако только у пациента с мутациями в гене *COX10* присутствовала патология сердца на момент исследования. Известно, что у пациентов с мутациями в гене *SCO2* кардиомиопатия может проявляться клинически только на терминальных стадиях заболевания. Из 7 пациентов с мутациями в гене *SCO2* у шести оба маркера, а в большей степени FGF-21, были на верхней границе нормы, либо незначительно повышены.

Отражает ли GDF-15 именно первичное нарушение функции митохондрий или его повышение связано с вторичным изменением их функции — однозначно сказать сложно. В 2017 года были опубликованы данные о приме-

Таблица

Сравнение концентрации плазменных маркеров FGF-21, GDF-15 в подгруппах митохондриальных заболеваний

FGF-21								
	LHON	мт тРНК	мт суб	яд суб	реп. мтДНК	PDHA1	реп. мтДНК гепато	мтДНК дел
LHON (N = 23)	1	0,064	0,233	0,129	0,095	0,117	<0,001	0,59
мт тРНК (N = 11)	0,064	1	0,76	0,776	1	0,838	0,001	0,699
мт суб (N = 20)	0,233	0,76	1	0,964	0,527	0,411	<0,001	0,831
яд суб (N = 17)	0,129	0,776	0,964	1	0,812	0,812	<0,001	0,806
реп. мтДНК (N = 19)	0,095	1	0,527	0,812	1	0,559	0,001	0,524
PDHA1 (N = 3)	0,117	0,838	0,411	0,56	0,559	1	0,102	0,439
реп. мтДНК гепато (N = 8)	<0,001	0,001	<0,001	<0,001	0,001	0,102	1	0,002
мтДНК дел (N = 6)	0,59	0,699	0,831	0,806	0,524	0,439	0,002	1

GDF-15						
Дети	мт тРНК	мт суб	яд суб	реп. мтДНК	PDHA1	реп. мтДНК гепато
мт тРНК (N = 6)	1	0,003	0,05	0,07	0,197	0,004
мт суб (N = 20)	0,003	1	0,052	0,212	0,014	0,001
яд суб (N = 17)	0,05	0,052	1	0,512	0,03	<0,001
реп. мтДНК (N = 14)	0,07	0,212	0,512	1	0,023	0,001
PDHA1 (N = 3)	0,197	0,014	0,03	0,023	1	0,426
реп. мтДНК гепато (N = 8)	0,004	0,001	<0,001	0,001	0,426	1

GDF-15				
Взрослые	мт тРНК	LHON	Биогенез мтДНК	мтДНК дел
мт тРНК (N = 5)	1	<0,001	0,715	0,286
LHON (N = 23)	<0,001	1	0,001	0,006
реп. мтДНК (N = 5)	0,715	0,001	1	1
мтДНК дел (N = 4)	0,286	0,006	1	1

Примечание. Достоверные различия ($p \leq 0,05$ по критерию Манна–Уитни) выделены полужирным шрифтом. LHON — наследственная оптическая нейропатия Лебера; мт тРНК — мутации в генах митохондриальных транспортных РНК; мт суб — мутации в генах мтДНК, кодирующих субъединицы ДЦ; яд.суб — мутации в ядерных генах субъединиц и сборщиков дыхательной цепи; реп. мт ДНК — мутации в генах репликации и поддержания целостности мтДНК без вовлечения печени; PDHA1 — мутации в гене PDHA1, альфа-субъединица пируватдегидрогеназы; реп. мт ДНК гепато — мутации в генах репликации и поддержания целостности мтДНК с гепатопатией; мтДНК дел — крупные делеции мтДНК.

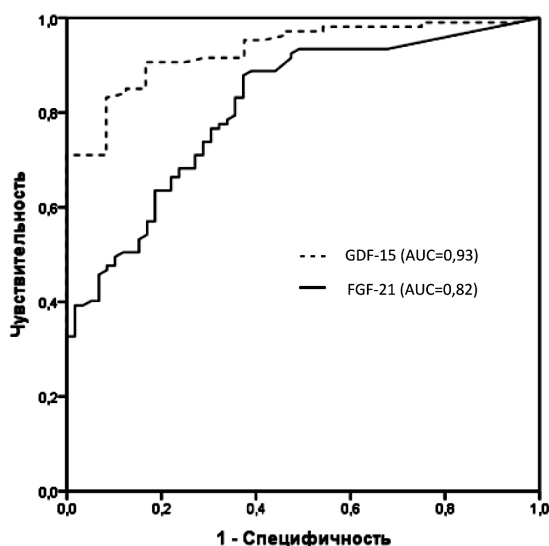


Рис. 5. ROC-кривые для FGF-21 и GDF-15 при сравнении групп митохондриальных заболеваний и контроля. Для GDF-15 приводятся данные по педиатрическому контингенту пациентов.

нении GDF-15 как прогностического маркера течения болезни сердца у детей и взрослых [18, 19]. Также стоит отметить, что у одного из 6 пациентов с недостаточностью митохондриальной АТФазы (мутация в мтДНК m.8993T>G) и очень высокими концентрациями обоих маркеров в клинической картине заболевания присутствовала сердечная недостаточность, гематологические нарушения. У остальных пациентов с аналогичной мутацией концентрации FGF-21 и GDF-15 были в пределах референсных значений и поражения сердечной мышцы у них не наблюдалось.

Полученные результаты показывают, что у большинства пациентов с синдромом Ли, а также у пациентов с PEO, SANDO, митохондриальной атаксией с мутациями в генах *POLG*, *TWNK* концентрация обоих маркеров находится в пределах нормы. Поэтому нормальные значения данных маркеров не являются основанием для исключения диагноза митохондриального заболевания. При оценке информативности абсолютных значений концентрации FGF-21 и GDF-15 в разных группах выявлено, что определение этих маркеров не дает возможность проводить дифференциальную диагностику МБ, и только группа митохондриальных гепатопатий достоверно отличается от всех исследуемых групп МБ.

Список литературы

1. Schaefer AM, Taylor RW, Turnbull DM, Chinnery PF. The epidemiology of mitochondrial disorders-past, present and future. *Biochim Biophys Acta*. 2004; 1659:115-120.
2. Gorman GS1, Schaefer AM, Ng Y, Gomez N, Blakely EL, Alston CL, Feeney C, Horvath R, Yu-Wai-Man P, Chinnery PF,

Taylor RW, Turnbull DM, McFarland R. Prevalence of nuclear and mitochondrial DNA mutations related to adult mitochondrial disease. *Ann Neurol*. 2015 May;77(5):753-9.

3. Haas RH, Parikh S, Falk MJ, Saneto RP, Wolf NI, Darin N, Wong LJ, Cohen BH, Naviaux RK. The in-depth evaluation of suspected mitochondrial disease. *Mol Genet Metab*. 2008 May;94(1):16-37.

4. DiMauro SI, Schon EA, Carelli V, Hirano M. The clinical maze of mitochondrial neurology. *Nat Rev Neurol*. 2013 Aug;9(8):429-44.

5. Suomalainen A. Fibroblast growth factor 21: a novel biomarker for human muscle-manifesting mitochondrial disorders. *Expert Opin Med Diagn*. 2013 Jul;7(4):313-7

6. Fujita Y, Ito M, Kojima T et al. GDF15 is a novel biomarker to evaluate efficacy of pyruvate therapy for mitochondrial diseases. *Mitochondrion*. 2014; 20:34-42.

7. Kalko SG, Paco S, Jou C et al. Transcriptomic profiling of TK2 deficient human skeletal muscle suggests a role for the p53 signalling pathway and identifies growth and differentiation factor-15 as a potential novel biomarker for mitochondrial myopathies. *BMC Genomics* 2014; 15:91.

8. Yatsuga S, Fujita Y, Ishii A, Fukumoto Y, Arahata H, Kaku-ma T, Kojima T, Ito M, Tanaka M, Saiki R, Koga Y. Growth differentiation factor 15 as a useful biomarker for mitochondrial disorders. *Ann Neurol*. 2015 Nov;78(5):814-23.

9. Montero R, Yubero D, Villarroya J. GDF-15 Is Elevated in Children with Mitochondrial Diseases and Is Induced by Mitochondrial Dysfunction. *PLoS One*. 2016 Feb 11;11(2): e0148709.

10. Davis RL, Liang C, Sue CM. A comparison of current serum biomarkers as diagnostic indicators of mitochondrial diseases. *Neurology*. 2016 May 24;86(21):2010-5.

11. Fisher FM, Maratos-Flier E. Understanding the Physiology of FGF21. *Annu Rev Physiol*. 2016;78: 223-41.

12. Ji K, Zheng J, Lv J, Xu J, Ji X, Luo YB, Li W, Zhao Y, Yan C. Skeletal muscle increases FGF21 expression in mitochondrial disorders to compensate for energy metabolic insufficiency by activating the mTOR-YY1-PGC1 α pathway. *Free Radic Biol Med*. 2015 Jul; 84:161-70.

13. Zimmers TA, Jin X, Hsiao EC, McGrath SA, Esqueda AF, Koniaris LG. Growth differentiation factor-15/ macrophage inhibitory cytokine induction after kidney and lung injury. *Shock*. 2005; 23: 543

14. Strelau J, Bottner M, Lingor P, Suter-Crazzolara C, Galter D, Jaszai J et al. GDF-15/MIC-1 a novel member of theTGF-beta superfamily. *J Neural Transm Suppl*. 2000; 273-6.

15. Moore AG, Brown DA, Fairlie WD, Bauskin AR et al. The transforming growth factor-ss superfamily cytokine macrophage inhibitory cytokine-1 is present in high concentrations in the serum of pregnant women. *J Clin Endocrinol Metab*. 2000 Dec; 85(12): 4781-8.

16. Krawczyk M, Zimmermann S, Hess G, Holz R, Dauer M, Raedle J, Lammert F, Grunhage Panel of three novel serum markers predicts liver stiffness and fibrosis stages in patients with chronic liver disease. *F.PLoS One*. 2017 Mar 16;12(3): e0173506.

17. Krautbauer S, Rein-Fischboeck L, Haberl EM, Pohl R, Wiest R, Buechler C. Circulating fibroblast growth factor 21 in patients with liver cirrhosis. *Clin Exp Med*. 2017 Jul 25.

18. Wollert KC, Kempf T, Wallentin L. Growth differentiation factor 15 as a biomarker in cardiovascular disease. *Clin Chem*. 2017; 63: 140-151

19. Baggen VJ, van den Bosch AE, Eindhoven JA, Schut AW, Cuypers JA, Witsenburg M, de Waart M, van Schaik RH, Zijlstra F, Boersma E et al. Prognostic value of N-terminal Pro-B-type natriuretic peptide, Troponin-T, and growth-differentiation factor 15 in adult congenital heart disease. *Circulation*. 2017; 135: 264-279