ETH zürich

ETH Library

Search for novel biomarkers for diagnostics of atherosclerosis or acute aortic dissection

Doctoral Thesis

Author(s):
Reiser, Hans

Publication date:
2016

Permanent link:
https://doi.org/https://doi.org/10.3929/ethz-a-010639716

Rights / license:
In Copyright - Non-Commercial Use Permitted

This page was generated automatically upon download from the ETH Zurich Research Collection.
For more information, please consult the Terms of use.

DISS. ETH Nr. 23239

SEARCH FOR NOVEL BIOMARKERS FOR DIAGNOSTICS OF ATHEROSCLEROSIS OR ACUTE AORTIC DISSECTION

A thesis submitted to attain the degree of
DOCTOR OF SCIENCES of ETH ZURICH
(Dr. sc. ETH Zurich)
presented by

HANS REISER
M. Sc. in Biological Chemistry, ETH Zurich
born on 20.04.1983
citizen of
Winterthur, Zurich

accepted on the recommendation of
Prof. Rudolf Aebersold
Prof. Arnold von Eckardstein
Prof. Dario Neri
Prof. Christian Matter
Prof. Wilhelm Gruissem

2016

SUMMARY

Cardiovascular disease (CVD) is the leading cause of death worldwide and a major cost component in the healthcare system. Atherosclerosis reflects the most common cause of CVD and is a progressive disease characterized by a chronic inflammation. Stroke and coronary artery disease reflect the most common consequences of atherosclerotic CVD. Although contemporary diagnostics contribute significantly to the clinical management of CVD, novel blood-borne biomarkers could greatly improve the current situation. In theory, they have a great impact on the risk prediction of coronary artery disease and on the diagnosis of the acute coronary syndrome. Moreover, they could be supremely valuable in monitoring the progression of atherosclerosis under therapy what is today only possible by using imaging techniques. At this time, cardiac troponins are used to assist the early diagnosis of acute myocardial infarction. However, no protein is known that can serve as biomarker of the atherosclerotic burden in patients.

The acute aortic dissection (AAD) is a rare disease with a very high mortality rate that is difficult to diagnose. In this case as well, biomarkers that are measurable in the blood would massively facilitate AAD diagnosis that is currently still reliant on imaging technology platforms.

In this thesis, several different approaches were applied in order to identify, verify and characterize novel biomarkers of atherosclerosis and acute aortic dissection. Tissue-derived fluids, so-called secretomes, were used as source for biomarker discovery and mass spectrometry-based proteomics was utilized as the tool for secretome analysis. Differential proteomics of secretomes from atherosclerotic plaques versus control arteries identified junction plakoglobin (JUP) and the fatty acid-binding protein 4 (FABP4) as potential candidates. The validation of JUP as a biomarker failed due to the lack of immuno-assays and antibodies that interact with native JUP in plasma. Isoforms of JUP, candidate biomarkers of atherosclerotic CVD, were characterized. Clinical studies provided evidence that FABP4 can serve as predictive risk marker in acute coronary syndrome patients but not in asymptomatic individuals. Finally, four biomarker candidates were identified by bioinformatics-assisted data mining of the proteomics data and their diagnostic value was validated in pooled samples of different patient cohorts. These studies rather rule out their suitability. Secretomes from aortas of AAD patients and controls were analyzed in a label-free proteomics approach. In doing so, 149 differentially expressed proteins were identified that reflect novel AAD biomarker candidates. A machine learning feature selection algorithm identified from this proteomic data set a small panel of proteins that perfectly assigns each patient sample to its cohort and can therefore be regarded as biomarker candidate of AAD.

Taken together, the herein applied strategic approach, which favours secretomes over plasma as source for biomarker discovery and which identifies as well as quantifies the proteins contained in it by using mass spectrometry, reflects a powerful method when it comes to the identification of novel biomarkers across a variety of diseases. In addition, we believe that the findings described here represent a further contribution to modern biomarker discovery especially in the field of atherosclerosis and acute aortic dissection.

Keywords: biomarkers, cardiovascular disease, atherosclerosis, acute aortic dissection, secretome, mass spectrometry, label-free proteomics, clinical studies, patient cohorts, monocyte/macrophage differentiation

ZUSAMMENFASSUNG

Herz-Kreislauferkrankungen sind die weltweit häufigste Todesursache und ein wichtiger Kostenverursacher im Gesundheitswesen. Atherosklerose ist eine progressive Erkrankung, charakterisiert durch eine chronische Entzündung, und bildet die Hauptursache von kardiovaskulären Erkrankungen. Schlaganfall und die koronare Herzkrankheit (KHK) sind die häufigsten Folgen von atherosklerotischen Herz-Kreislauferkrankungen. Obwohl die heutige Diagnostik einen wesentlichen Beitrag zum klinischen Management von kardiovaskulären Erkrankungen leistet, könnten neue Blut-Biomarker die aktuelle Situation massiv verbessern. Theoretisch hätten solche Marker einen grossen Einfluss auf die Risikovorhersage der KHK und auf die Diagnose des akuten Koronarsyndroms. Zudem wären sie von äusserst grossem Nutzen für die Überwachung der Entwicklung der Atherosklerose bei Patienten in Behandlung, was heutzutage ausschliesslich mit teuren bildgebenden Verfahren möglich ist. Zum jetzigen Zeitpunkt werden kardiale Troponine als Unterstützung bei der Frühdiagnose von akuten Herzinfarkten benutzt. Proteine, welche als Biomarker für den Schweregrad der Atherosklerose eines Patienten dienen könnten, sind jedoch keine bekannt.

Die akute Aortendissektion (AAD) ist eine seltene Erkrankung mit einer sehr hohen Sterblichkeitsrate, welche schwierig zu diagnostizieren ist. Auch hier würden im Blut messbare Biomarker die Diagnostik massiv erleichtern, welche aktuell noch auf bildgebende Methoden angewiesen ist.

In dieser Dissertation wurden verschieden Projekte durchgeführt mit dem Ziel, neue Biomarker der Atherosklerose und der AAD zu identifizieren, verifizieren und charakterisieren. Aus Gewebe gewonnene Flüssigkeiten, sogenannte Sekretome, wurden als Quelle für die Biomarker-Identifizierung eingesetzt und Massenspektrometrie-basierte Proteomik wurde als Werkzeug für die Sekretom-Analyse benutzt. Differenzielle Proteomik von Sekretomen aus atherosklerotischen Plaques versus Kontrollarterien führte zur Identifizierung von Junction Plakoglobin (JUP) und dem Fettsäure-bindenden Protein 4 (fatty acid-binding protein 4, FABP4) als potentielle Kandidaten. Weil jedoch immunologische Analysemethoden sowie Antikörper fehlten, welche mit dem nativen JUP in Plasma interagieren, war die Validierung von JUP als Biomarker nicht möglich. Mehrere Isoformen von JUP wurden biochemisch charakterisiert, welche vorgängig als Biomarker-Kandidaten von atherosklerotischen kardiovaskulären Erkrankungen identifiziert worden waren. Klinische Studien erbrachten den Nachweis, dass FABP4 als prognostischer Risikomarker zwar in Patienten des akuten Koronarsyndroms aber nicht in asymptomatischen Personen dienen kann. Schlussendlich wurden vier Biomarkerkandidaten mithilfe von Bioinformatik-gestützter Datenanalyse des Proteomik-

Datensatzes identifiziert und deren diagnostischer Wert in Mischproben verschiedener Patientenkohorten validiert.

Sekretome aus Aorten von AAD-Patienten und Kontrollpatienten wurden mittels markierungsfreier Proteomik analysiert und verglichen. Dabei wurden 149 Proteine identifiziert, welche in den beiden Kohorten unterschiedlich stark exprimiert sind und deshalb potentielle neue Biomarkerkandidaten der AAD darstellen. Derselbe Proteomik-Datensatz wurde dazu verwendet, um mit Rechner-gestütztem maschinellem Lernen ein kleines Set von Proteinen zu identifizieren, welche gemeinsam dazu in der Lage sind jede Patientenprobe der richtigen Kohorte zuzuordnen. Der so gefundene Proteinsatz kann als Biomarkerkandidat der AAD betrachtet werden.

Zusammenfassend kann gesagt werden, dass unser strategischer Ansatz, welcher Sekretome gegenüber Plasma als Biomarker-Quelle favorisiert und welcher mittels massenspektrometrischer Verfahren die darin enthaltenen Proteine sowohl identifiziert als auch quantifiziert, eine potente Methode für die Identifizierung neuer Biomarker verschiedenster Erkrankungen wiederspiegelt. Zudem glauben wir, dass die hier beschriebenen Erkenntnisse einen weiteren Beitrag zur modernen Biomarkerforschung auf dem Gebiet der Atherosklerose und der akuten Aortendissektion leisten.

Schlüsselworte: Biomarker, kardiovaskuläre Erkrankungen, Atherosklerose, akute Aortendissektion, Sekretom, Massenspektrometrie, markierungsfreie Proteomik, klinische Studie, Patientenkohorte, Monozyt/Makrophage Differenzierung