RĪGAS STRADIŅA
UNIVERSITĀTE

Juris Hofmanis

IEKAISĪGIE UN NEIEKAISĪGIE RISKA FAKTORI IEGŪTAS AORTAS VĀRSTUĻA STENOZES GADĪJUMĀ

Promocijas darbs
medicīnas doktora zinātniskā grāda iegūšanai

Specialitāte – internā medicīna

Rīga, 2019

RĪGAS STRADIŅA
UNIVERSITĀTE

Juris Hofmanis

IEKAISĪGIE UN NEIEKAISĪGIE
RISKA FAKTORI IEGŪTAS AORTAS
VĀRSTUĻA STENOZES GADĪJUMĀ

Promocijas darbs
medicīnas doktora zinātniskā grāda iegūšanai

Specialitāte – internā medicīna

Darba zinātniskie vadītāji:
Dr. med. asociētais profesors **Vitolds Mackēvičs**,
Dr. biol. profesors **Pēteris Tretjakovs**

Rīga, 2019

ANOTĀCIJA

Kalcificējoša aortas vārstuļa stenoze (AVS) izpaužas ar aortas vārstuļa (AV) viru fibro-kalcinējošu remodelāciju (pārveidošanos), kas ir lēni noritošs hroniska iekaisuma un kalcifikācijas process ar pilnībā neizzinātu un neviennozīmīgu etioloģiju un patoģenēzi.

Pašlaik nav medikamentozas ārstēšanas, lai apturētu vai aizkavētu slimības progresēšanu. Vienīgā pieejamā ārstēšana ir ķirurģiska un AV nomaiņa vai transkatetrāla aortas vārstuļa implantācija.

Pieaugot cilvēku dzīvildzei, pieaug to pacientu skaits, kuriem ir klīniski nozīmīga AVS. Gandrīz 25% cilvēku pēc 65 gadu vecuma ehokardiogrāfiski atrod AV sklerozi un apmēram 17% no šiem cilvēkiem turpmāk attīstās AVS. Laiks no AV sklerozes diagnosticēšanas līdz smagas AVS attīstībai vidēji ir 6–8 gadi.

Pētnieciskā darba mērķis ir analizēt un noskaidrot, kuri no iekaisuma un kalcifikācijas procesā iesaistītajiem faktoriem, šūnu producētajām regulējošajām molekulām (citokīniem) un cik lielā mērā ietekmē AVS attīstību visās trīs AVS smaguma pakāpēs. Rezultātā varētu izdalīt kādu biomarķieri, ar kura palīdzību būtu iespējams prognozēt AVS progresēšanas ātrumu. Šūnu producētās regulējošās molekulas (citokīni) tika noteikti asins serumā un plazmā (tioredoksīna reduktāze-1, mieloperoksidāze).

Pētnieciskā darba gaitā tika analizēta oksidatīvā stresa un iekaisuma mijiedarbība visās trijās AVS pakāpēs. Tāpat vēlreiz tika izvērtēta kopējā holesterīna un tā frakciju tieša un netieša ietekme uz AVS attīstību.

Veiktais klīniski–analītiskais pētījums ir jaukta tipa prospektīvs gadījuma – kontroles pētījums. Brīvprātīgi tika atlasīti 102 pacienti, vadoties pēc iekļaušanas uz izslēgšanas kritērijiem un iedalīti divās pamatgrupās: kontroles grupā un AV stenozes grupā. Individīdi kontroles grupā tika iekļauti atbilstoši ehokardiogrāfiski apstiprinātam veselam aortas vārstulim vecumā no 50 līdz 80 gadiem, kas atbilst AV stenozes pacientu vecumam, vadoties pēc 2012. gada Eiropas Kardiologu biedrības un Eiropas Sirds un Torakālo Ķirurģu asociācijas darba grupas sirds vārstuļu slimību ārstēšanas vadlīnijām. AV stenozes grupas pacienti tika sadalīti trīs apakšgrupās, atbilstoši AV stenozes pakāpei, vadoties pēc 2012. gada Eiropas Kardiologu biedrības un Eiropas Sirds un Torakālo Ķirurģu asociācijas darba grupas sirds vārstuļu slimību ārstēšanas vadlīnijām.

Pētījumā pirmoreiz Latvijas populācijā tika analizēti iekaisuma un neiekaisuma faktori, šūnu producētās regulējošās molekulas (citokīni) asins serumā un plazmā. Iegūtie rezultāti tika salīdzināti starp kontroles grupu un visām trijām AVS pakāpēm.

Zinot jaunākos pētījumus par kalcificējošas AVS etiopatogēnēzi, tika noteikti iekaisuma un neiekaisuma faktori (hemerīns, FGF-21, TrxR1, MPO), kas līdz šim nav pētīti AVS pacientiem.

Iegūtie rezultāti sniedz pilnīgāku informāciju par AVS patoģenēzi un analizēto iekaisuma un neiekaisuma faktoru savstarpējo saistību. Saistība starp hemerīnu un TrxR1 parāda, ka jau vieglā AVS pakāpē ir gan iekaisums, gan oksidatīvais stress. Pētījumā iegūtie dati ļauj spriest, ka hemerīns AVS pacientiem ir iekaisumu veicinošs. Hemerīns var tikt izmantots par vieglas aortas vārstuļa stenozes labu diagnostisko marķieri. Turpmāk būtu jāveido AV sklerozes pacientu novērošanas programma un jānosaka dinamiskā hemerīns, lai noteiktu, vai ar šo biomarķieri iespējams prognozēt AVS attīstību.

Analizējot FGF-21 līmeni AVS smaguma pakāpēs un tā saistību ar citiem faktoriem, var secināt, ka AVS attīstības sākumā tam ir pretiekaisuma darbība. Tālākajās AVS pakāpēs nevar viennozīmīgi noteikt FGF-21 lomu, jo tā var būt saistīta gan ar progresējošu kalcifikācijas procesu, gan pret darbību miokarda hipertrofijai.

Analizējot MMP un TIMP, mēs ieguvām tādus MMP-1 rezultātus, kas vedina domāt par ģenētiskā polimorfisma nozīmi AVS progresēšanas procesā. Turpmāk būtu lietderīgi pētīt MMP-1 polimorfismu, lai precizētu, vai 1G alēles nesējiem ir lēnāka AVS progresēšana.

MPO līmeņa analīze un saistība ar ABL-H parāda, ka ABL-H ir netieši saistīts ar AVS procesu, jo oksidatīvā stresa apstākļos pieaug ox-ZBL-H līmenis, radot ABL-H disfunkciju un ox-ABL-H veidošanos. MPO un TrxR1 rezultāti liek domāt, ka vidēji smagā un smagā AVS pakāpē prevalē oksidatīvais stress un progresējoša kalcifikācija.

Veiktais pētījums parāda, ka AVS ir aktīvs process visās smaguma pakāpēs, ko regulē iekaisums, oksidatīvais stress un no tiem atkarīga ekstracelulārās telpas remodelācija un progresējoša kalcifikācija.

Pētījuma rezultāti liek pievērst īpašu uzmanību AV sklerozes un vieglas pakāpes AVS pacientiem, veikt to dinamisku novērošanu (ehokardiogrāfija, analīzes), lai atrastu citus biomarķierus, kas varētu prognozēt slimības progresēšanu.

ANNOTATION

Calcific stenosis of the aortic valve (AVS) manifests with fibro-calcific remodeling (transformation) of the aortic valve (AV), which is a slow process of chronic inflammation and calcification with completely unexplored and ambiguous etiology and pathogenesis.

Currently, there is no medical treatment to stop or delay the progression of the disease. The only treatment available is a surgical replacement of AV or transcatheter aortic valve implantation. With increasing people's survival the number of patients with clinically relevant AVS is increasing.

Almost in 25% of people after the age of 65 echocardiographically AV sclerosis is found and about 17% of these people further develop AVS. The time between diagnosis of AV sclerosis and development of severe AVS is on average 6–8 years.

The aim of the research work is to analyze and find out which factors involved in the inflammation and calcification process, cell-produced regulatory molecules (cytokines) affect AVS development in all three AVS severity degrees and to what extent. As a result, some biomarkers could be isolated to predict the rate of progression of AVS. Cell-produced regulatory molecules (cytokines) were detected in blood serum and plasma (thioredoxin reductase-1, myeloperoxidase).

The interaction of oxidative stress and inflammation in all three AVS severity degrees was analyzed during the research work. The direct and indirect effects of total cholesterol and its fractions on the development of AVS were also re-evaluated.

The conducted clinical–analytical study is a prospective case-control study of mixed type. 102 patients were selected voluntarily according to inclusion and exclusion criteria and divided into two basic groups: the control group and the AV stenosis group. Individuals in the control group were included according to an echocardiographically approved healthy aortic valve between the age of 50 to 80 years, which corresponds to the AV stenosis patients' age at the 2012 European Society of Cardiology and the European Association for Cardio–Thoracic Surgery Guidelines for the management of valvular heart disease. Patients of the AV stenosis group were divided into three subgroups according to the degree of the AV stenosis, based on the 2012 European Society of Cardiology and the European Association for Cardio–Thoracic Surgery Guidelines for the Management of Valvular Heart Disease.

In the study for the first time in the Latvia population, inflammatory and non-inflammatory factors, cell-produced regulatory molecules (cytokines) in blood serum and

plasma were analyzed. The obtained results were compared between the control group and all three AVS grades.

Knowing recent studies on etiopathogenesis of the calcific AVS, inflammatory and non-inflammatory factors (chemerin, FGF-21, TrxR1 and MPO) that have not been studied in AVS patients so far were identified.

The obtained results provide more complete information on the pathogenesis of AVS and the correlation between the analyzed inflammatory and non-inflammatory factors. The relationship between chemerin and TrxR1 shows that inflammation and oxidative stress are already present in the mild AVS grade. The results obtained in the study allow to suggest that chemerin in AVS patients promotes inflammation. Chemerin can be used as a good diagnostic marker for the mild AVS. Hereafter, a follow-up program for the AV sclerosis patients should be developed and chemerin should be determined in dynamics to find out whether this biomarker can predict the development of AVS.

Analyzing level of FGF-21 in AVS severity grades and its correlation with other factors, it can be concluded that it has anti-inflammatory activity at the beginning of AVS development. FGF-21 role in the subsequent AVS severity grades cannot be unequivocally define as it may be associated with both progressive calcification process and counter-action to myocardial hypertrophy.

When analyzing MMP and TIMP, we obtained the result of MMP-1 that suggests the role of genetic polymorphism in the progression process of AVS. In the future, it would be useful to study MMP-1 polymorphism to clarify whether 1G allele carriers have slower AVS progression.

Analysis of the MPO level and its association with HDL-H shows that HDL-H is indirectly associated with the AVS process, as ox-LDL-H levels increase under oxidative stress conditions, resulting in HDL-H dysfunction and formation of ox-HDL-H. The results of MPO and TrxR1 suggest that oxidative stress and progressive calcification are prevalent in moderate to severe AVS.

The conducted study shows that AVS is an active process in all degrees of severity regulated by inflammation, oxidative stress, and extracellular remodeling and progressive calcification which depends on them. The results of the study suggest that special attention should be paid to the patients with AV sclerosis and mild AVS, their dynamic monitoring (echocardiography, analysis) should be done to find other biomarkers that can predict disease progression.

SATURS

DARBĀ LIETOTIE SAĪSINĀJUMI.....	8
IEVADS.....	12
Zinātniskā darba aktualitāte	12
Zinātniskā darba mērķis	13
Zinātniskā darba uzdevumi	13
Darba hipotēzes	14
Pētījuma zinātniskā novitāte	14
1. LITERATŪRAS APSKATS.....	15
1.1. Ieskats aortas vārstuļa anatomijā	15
1.2. Aortas vārstuļa stenozes riska faktori	16
1.3. Aortas vārstuļa stenozes klīniskās izpausmes.....	17
1.4. Aortas vārstuļa stenozes patoģenēze.....	18
1.5. Analizēto šūnu producēto citokīnu īss raksturojums	23
1.5.1. Hemerīns	23
1.5.2. Fibroblastu augšanas faktors-21 (FGF-21).....	25
1.5.3. C reaktīvais proteīns (CRP).....	26
1.5.4. Matrices metaloproteināzes (MMP) un to audu inhibitori (TIMP)	27
1.5.5. Tiorredoksīna reduktāze-1 (TrxR1).....	31
1.5.6. Mieloperoksidāze (MPO)	34
2. MATERIĀLS UN METODES	36
2.1. Pētījuma populācija.....	36
2.2. Pētījuma personu iekļaušanas un izslēgšanas kritēriji	37
2.3. Aortas vārstuļa stenozes diagnostika un izvērtēšana	38
2.4. Pētījuma shēma	39
2.5. Pētījumā izmantotais materiāls	39
2.6. Klīniski laboratorisko rādītāju noteikšana	40
2.7. Šūnu producēto regulējošo molekulu (citokīnu) noteikšana.....	42
2.8. Pētījumā iegūto datu statistiskā analīze	43
3. REZULTĀTI.....	44
3.1. Pētījuma pacientu un kontroles grupas indivīdu pamatdatu raksturojums	44
3.2. Šūnu producēto regulējošo molekulu (citokīnu) analīžu rezultāti	45
3.2.1. Hemerīns	45
3.2.2. Fibroblastu augšanas faktors-21	49
3.2.3. C reaktīvais proteīns	52
3.2.4. Matrices metaloproteināzes un to audu inhibitori	53
3.2.5. Tiorredoksīna reduktāze-1 (TrxR1).....	61
3.2.6. Mieloperoksidāze (MPO)	65
4. DISKUSIJA.....	69
5. SECINĀJUMI	75
6. PRAKTISKĀS REKOMENDĀCIJAS	76
LITERATŪRAS SARAKSTS.....	77
PUBLICĒTIE RAKSTI, MUTISKIE ZIŅOJUMI UN TĒZES	83
Publikācijas recenzētos medicīniskajos izdevumos par darba tēmu	83
Mutiskie ziņojumi kongresos un konferencēs par darba tēmu.....	83
Tēzes kongresos un konferencēs par darba tēmu.....	83

PATEICĪBAS	85
PIELIKUMI	86
Informācijas lapa pacientam	87
Informēta pacienta piekrišanas forma	88
Pacienta aptaujas anketa.....	89
Ētikas komitejas atļauja.....	90

DARBĀ LIETOTIE SAĪSINĀJUMI

5'-NT	5'-nukleotidāze
5-LO	5-lipoksigenāze
A2CH	apikālā divu kameru pozīcija
A4CH	apikālā četru kameru pozīcija
A5CH	apikālā piecu kameru pozīcija
AA	arahidonskābe
ABI	potītes brahiālais indekss
ABL-H	augsta blīvuma lipoproteīnu holesterīns
AKE	angiotenzīnkonvertējošais enzīms
ALP	sārmainā fosfatāze
Ang I	angiotenzīns I
Ang II	angiotenzīns II
apoA-1	apolipoproteīns A-1
apoB	apolipoproteīns B
ASK1	apoptozes signālus regulējošā kināze-1
ASV	Amerikas Savienotās Valstis
ATF	adenozīntrifosfāts
ATX	autotaksīns
AUC	laukums zem ROC līknes
AV	aortas vārstulis
AVA	aortas vārstuļa atvere
AVS	aortas vārstuļa stenoze
BH4	tetrahidrobiopterīns
BPM-2	kaulu morfogēnais proteīns
ChemR23	hemeīna receptors 23
Cl ⁻	hlora anjons
cMGP	karboksilēta matrices Gla-proteīna forma
COX2	ciklooksigenāze 2
CRP	C-reaktīvais proteīns
DNS	dezoksiribonukleīnskābe
EF	izsviedes frakcija
EGĀ	eritrocītu grimšanas ātrums

Ehokg	ehokardiogrāfija
EIDL3	diskoidīnam I līdzīgie domēni 3
FGF-21	fibroblastu augšanas faktors-21
FGFR1c	fibroblastu augšanas faktora receptors 1c
GPR1	G-proteīniem piesaistītais receptors 1
H ₂ O ₂	ūdeņraža peroksīds
HOCl	hipohlorskābe
hs-CRP	augsti jutīgais C-reaktīvais proteīns
IGF1	insulīnam līdzīgais augšanas faktors 1
IL-1 α	interleikīns-1 α
IL-2	interleikīns-2
IL-6	interleikīns-6
IL-8	interleikīns-8
IMT	intīmas un mēdijas slāņa biezums
KH	kopējais holesterīns
KK	kreisais kambaris
KK EDV	kreisā kambara beigu diastoles tilpums
KK ESV	kreisā kambara beigu sistoles tilpums
KL β	kofaktors β -Klotho (<i>cofactor β-Klotho</i>)
KVS	kardiovaskulārās slimības
ķMI	ķermeņa masas indekss
Lp(a)	lipoproteīns a
Lp-PLA-2	ar Lp saistītā fosfolipāze A2
LRP5	olbaltumviela 5
LVOT	kreisā kambara izplūdes trakts
LysoPA	lizofosfatīdskābe
LysoPC	lizofosfatidilholīns
ĻZBL-H	ļoti zema bīvuma lipoproteīnu holesterīns
MGP	matrices Gla-proteīns
MI	miokarda infarkts
MMP	matrices metaloproteināze
MMP-1,2,3,7,9,11	matrices metaloproteināzes-1,2,3,7,9,11
MnSOD	mitohondriālās superoksīda dismutāzes
MPO	mieloperoksidāze

MV	mitrālais vārstulis
NADPH oksidāze	nikotīnamīda adenīna dinukleotīda fosfāta oksidāze
NF- κ B	kodola faktors kappa β
NO	slāpekļa oksīds
NOS	slāpekļa oksīda sintāze
NPP1	ektonukleotīdu pirofosfatāze/fosfodiesterāze 1
NPV	negatīvā prognostiskā vērtība
O ₂	skābeklis
O ₂ ⁻	superoksīds
ONOO ⁻	peroksinitrīts
OPG	osteoprotegerīns
ox-ABL-H	oksidētais augsta blīvuma lipoproteīnu holesterīns
ox-PLs	oksidētais fosfolipīds
ox-ZBL	oksidētais zema blīvuma lipoproteīns
P2Y2	purīna receptori
PAR1	proteāzes aktivētais receptors-1
PAS	perifēro artēriju slimības
PG	spiediena gradients
PON-1	paraoksonāze-1
PPAR α	peroksisomu proliferatora aktivētais receptors α
PPV	pozitīvā prognostiskā vērtība
Pro-MMP	proenzīmi
PW	pulsa vilņa doplerogrāfija
RAA	renīna-angiotenzīna-aldosterona
RANK	kodola faktora kappa β receptora aktivators
RANKL	kodola faktora kappa β liganda receptora aktivators
ROC līkne	<i>Receiver-Operating Characteristic Curve</i>
ROS	reaktīvās skābekļa daļiņas
Se	jūtīgums
SOD	superoksīda dismutāze
Sp	specifiskums
SV	izsviedes tilpums
SVI	indeksētais izsviedes tilpums
TAVI	transkatetrāla aortas vārstuļa implantācija

TG	triglicerīdi
TGF	transformējošais augšanas faktors
TGF-1 β	transformējošais augšanas faktors-1 β
TGF- β	transformējošais augšanas faktors- β
TIMP	matrices metalproteināzes audu inhibitors
TIMP-1,3	matrices metaloproteināžu audu inhibitors-1,3
TNF- α	tumora nekrozes faktors- α
TNF- α -R1	tumora nekrozes faktora- α receptors 1
Trx	tioredoksīns
TrxR	tioredoksīna reduktāze
TrxR1,2,3	tioredoksīna reduktāze-1,2,3
ucMGP	nekarboksilēta matrices Gla-proteīna forma
VCAM-1	vaskulāro šūnu adhēzijas molekula-1
VEGF	asinsvadu endotēlija augšanas faktors
VIC	vārstuļa intersticiālās šūnas
VTI	ātruma laika integrālis
ZBL-H	zema blīvuma lipoproteīnu holesterīns

IEVADS

Zinātniskā darba aktualitāte

Lasot pašreiz pieejamos literatūras datus par aortas vārstuļa stenozes (AVS) veidošanos un attīstību, var domāt, ka viss ir izzināts un skaidrs. Bet neskatoties uz to, ka pēdējo apmēram 10 gadu laikā veikti daudzi bioķīmiski, molekulāri un gēnu pētījumi, nav pilnībā skaidras atbildes par slimības viennozīmīgu etioloģiju un patogēnēzi. Visās publikācijās ir vārdi: “jādomā, iespējams”; daudzi pētījumi veikti, balstoties uz operācijas laikā iegūto histoloģisko materiālu. Ētisku apsvērumu dēļ ir grūti veidot kontroles grupas.

Arī augsti attīstītās valstīs apzinās patreizējo AVS izplatību un eventuālo saslimstību nākotnē, bet tāpat nav līdzekļu slimības attīstības ierobežošanai. Tas mudina izzināt situāciju Latvijas populācijā un veikt pētniecisku darbu, lai meklētu atšķirīgo un kopīgo AVS dažādās smaguma pakāpēs; meklētu asins plazmā un serumā biomarkierus, ar kuru palīdzību varētu prognozēt slimības attīstību.

Kalcificējoša AVS izpaužas ar aortas vārstuļa (AV) viru fibrokalcifikisko remodelāciju (pārveidošanos), kas ir lēni noritošs hroniska iekaisuma un kalcifikācijas process ar pilnībā neizzinātu un neviennozīmīgu etioloģiju un patogēnēzi (*Lindman et al.*, 2016; *Pawade et al.*, 2015; *Zeng et al.*, 2017; *Kanwar et al.*, 2018). AVS kļuvusi par pieaugošu sabiedrības veselības apgrūtinājumu. Arvien turpinās pētījumi par slimības etiopatogēnēzi, un iespējam farmakoloģiski mainīt slimības norisi. Neskatoties uz to, nav medikamentozas ārstēšanas, lai apturētu vai aizkavētu slimības progresēšanu. Vienīgā pieejamā ārstēšana ir ķirurģiska AV nomaiņa vai transkatetrāla aortas vārstuļa implantācija (*Pawade et al.*, 2015; *Kleinauskienė et al.*, 2018; *Oury et al.*, 2019).

Vairāki reģistri un iedzīvotāju grupu pētījumi parāda nozīmīgu saikni starp kalcificējošu AVS un vecumu. Tamdēļ, pieaugot cilvēku dzīvildzei, pieaug to pacientu skaits, kuriem ir klīniski nozīmīga AVS (*Bonow et al.*, 2015). Gandrīz 25% cilvēku pēc 65 gadu vecuma ehokardiogrāfiski (Ehokg) atrod AV sklerozi, un apmēram 17% no šiem cilvēkiem turpmāk attīstās AVS. Ar AV sklerozi saprot AV viru sabiezēšanos bez plūsmas traucējumiem. Vidējais laiks no AV sklerozes diagnostikas līdz vidējas un smagas AVS attīstībai ir 6–8 gadi. AVS izplatība pieaug līdz ar vecumu: 50–59 gadu vecumā to sastop 0,2%; 60–69 gadu vecumā – 1,3%, bet 80–89 gadu vecumā līdz 9,8% (*Eveborn et al.*, 2013). Pēc divu lielu Amerikas Savienoto Valstu (ASV) un viena Somijas pētījumu datiem 70–80 gadu vecumā 2%, bet pēc 80 gadu vecuma 3–9% cilvēku slimo ar vidēji smagu AVS (*Eveborn et al.*, 2013).

AVS ir visizplatītākā vārstuļu slimība ASV un Eiropā un ir otrais biežākais iemesls sirds operācijai (*Eveborn et al.*, 2013). Pacientu skaits, kuri tika ievietoti slimnīcā AV ķirurģiskai nomaiņai, no 24568 pacientiem 1989. gadā pieauga līdz 31380 pacientiem 2011. gadā (pacienti vecāki par 65 gadiem; ASV). Šie dati, kas balstīti tikai uz ķirurģiskām procedūrām, neatspoguļo pilnīgu AVS biežumu, jo pārsvarā ietver simptomātiskus, smagas AVS pacientus. Nepieskaitīti paliek asimptomātiskie un tie pacienti, kuriem kādu iemeslu dēļ operāciju nevar veikt (*Bonow et al.*, 2015). Ņemot vērā pašreizējās pasaules iedzīvotāju demogrāfiskās tendences, līdz 2050. gadam apmēram 2,1 miljoni Eiropas un 1,4 miljoni Ziemeļamerikas iedzīvotāju būs simptomātiska smaga AVS. Viena no galvenajām AVS sekām ir sirds mazspējas attīstība. Nākotnē AVS var kļūt par nozīmīgu veselības un ekonomikas slogu (*Thaden et al.*, 2014).

Zinātniskā darba mērķis

Analizēt un noskaidrot, kuras no iekaisuma un kalcifikācijas procesā iesaistītajām šūnu producētajām regulējošām molekulām (citokīniem) būtiskāk ietekmē aortas vārstuļa stenozes rašanās un attīstības procesu katrā no trim stenozes smaguma pakāpēm.

Identificēt iespējamus biomarķierus, kurus potenciāli varētu izmantot vieglas pakāpes AVS diagnostikai.

Zinātniskā darba uzdevumi

1. AVS pacientu (visu triju smaguma pakāpju) un kontroles grupas indivīdu atlase atbilstoši pētījuma nosacījumiem pēc veiktās Ehokg parametriem.
2. Laboratorisko izmeklējumu veikšana visiem pētījumā iesaistītajiem, nosakot: holesterīnu ar frakcijām, fibrinogēnu, C-reaktīvais proteīnu (CRP), augsti jutīgo C-reaktīvo proteīnu (hs-CRP), hemerīnu, fibroblastu augšanas faktoru-21 (FGF-21), matricē metaloproteināzes-1,3,9 (MMP-1,3,9), matricē metaloproteināžu audu inhibitorus-1,3 (TIMP-1,3), transformējošo augšanas faktoru (TGF), tioredoksīna reduktāzi 1 (TrxR1), mieloperoksidāzi (MPO).
3. Izvērtēt analīžu rezultātus starp kontroles grupu un AVS grupu un visās trijās AVS smaguma pakāpēs.
4. Atrast pietiekami informatīvu un labu biomarķieri vieglas aortas vārstuļa stenozes diagnosticēšanai.
5. Izvērtēt noteikto lipīdu frakciju saistību ar AVS dažādās tās smaguma pakāpēs.

6. Izvērtēt oksidatīvā stresa jauno biomarkieru līmeni dažādās AVS smaguma pakāpēs.

Darba hipotēzes

1. Iekaisīgiem un neiekaisīgiem faktoriem – šūnu producētām regulējošām molekulām (citokīniem) – ir būtiska nozīme kalcificējošas AVS attīstībā, kā arī tie nosaka tās prognozi.
2. Lipīdu frakciju līmeņa izmaiņas AVS pacientiem nav viennozīmīgi vērtējamās kā absolūtais riska kritērijs.
3. Oksidatīvais stress ir saistīts ar AVS visās tās smaguma pakāpēs.

Pētījuma zinātniskā novitāte

Pētījumā pirmoreiz Latvijas populācijā ir analizēti dažāda vecuma kalcificējošas AVS pacientu asins plazmas un seruma bioķīmiskie rādītāji visās trijās AVS smaguma pakāpes grupās un iegūtie rezultāti ir izvērtēti salīdzinājumā ar kontroles indivīdiem.

Zinot jaunākos pētījumus par kalcificējošas AVS etiopatogēnēzi, šajā darbā tika izvēlēts noteikt tos iespējamos biomarkierus, kas līdz šim nav pētīti AVS pacientiem (hemerīns, FGF-21, tioredoksīna reduktāze-1, mieloperoksidāze).

Visi iegūtie pētījumā noteikto biomarkieru rezultāti tiek salīdzināti dažādās AVS smaguma pakāpēs, līdz ar to var detalizētāk spriest par katrā stenozes pakāpē dominējošiem patoģenētiskajiem procesiem.

Tika meklētas sakarības starp biomarkieriem, kā arī starp lipīdu frakcijām un biomarkieriem, un, analizējot lipīdu frakcijas, ir noteikts, ka dislipidēmija nav viennozīmīga AVS pacientiem. Tiek pamatota oksidatīvā stresa loma AVS attīstībā.

1. LITERATŪRAS APSKATS

1.1. Ieskats aortas vārstuļa anatomijā

AV sastāv no trijām virām (labā koronārā vira, kreisā koronārā vira un nekoronārā vira), kuras ir gludas, plānas (< 1mm), elastīgas un kustīgas. AV atrodas starp kreisā kambara izplūdes traktu un augšupejošo aortu. Vārstuļa viras veido trīs slāņi: fibrozaiss (*lamina fibrosa*), spongiozais (*lamina spongiosa*) un ventrikulārais (*lamina radialis*); skatīt 1.1. attēlu.

Fibrozaiss slānis vērsts uz aortas pusi; sastāv galvenokārt no riņķveidā (apļveidā) orientētiem kolagēna šķiedru kūlīšiem (I un III tipa), kas pārnes slodzi uz aortas saknes sienām un nodrošina stiepes izturību. Spongiozais slānis ir vidējais un sastāv galvenokārt no proteoglikāniem un kolagēna šķiedrām. Vārstuļa intersticiālās šūnas ir visas viras biezumā, bet proteoglikāni ir dominējoša vidējā slāņa sastāvdaļa un palīdz pretoties spiedes spēkiem. Ventrikulārais ir visplānākais slānis, vērsts uz kreisā kambara pusi, ārpus virām tas turpinās kā endokarda slānis. Šis slānis satur radiāli orientētu elastīnu un veicina elastību, ļaujot mainīties viru formai vārstuļa atvēršanās un aizvēršanās laikā. Starp kolagēna šķiedrām ir intersticiālās šūnas, kam piemīt fibroblastu un gludo muskuļšūnu īpašības. Šīs šūnas sauc arī par miofibroblastiem. Sirds ciklu laikā tās ģeometriski mainās un aktīvi darbojas līdz ar aortas vārstuli.

1.1. attēls. Aortas vārstuļa šūnu struktūra (Rajamannan et al., 2011)

Aortas vārstulis ir daļa no aortas saknes un savieno sirdi ar sistēmisko asinsriti. Vārstuļa darbība ir pakļauta bīdes, elastības un spriedzes procesiem sirds ciklu laikā. Elastība atbilst vārstuļa aktīvai atvēršanai un aizvēršanai. Bīde notiek, kad asinis plūst caur atvērto vārstuli. Sasprindzinājums ir tad, kad vārstulis ir aizvērts. Šo procesu rezultātā vārstuļa audi sirds cikla laikā nepārtraukti deformējas, pārvietojas. (*Hinton et al.*, 2011; *Garg*, 2016; *Misfeld et al.*, 2007; *Lerman et al.*, 2015).

AVS gadījumā vārstuļa viras kļūst biezākas, sklerotiskas un kalcinētas, rezultātā samazinās to kustīgums un progresē AV obstrukcija (*Pawade et al.*, 2015).

1.2. Aortas vārstuļa stenozes riska faktori

No visa veida AVS līdz 70 gadu vecumam 18% ir deģeneratīvas etioloģijas, bet pēc 70 gadu vecumam – 48% (*Ren*, 2017). Deģeneratīvas kalcificējošas AVS riska faktori ir pieaugošs vecums, smēķēšana, cukura diabēts, hiperholesterinēmija, hipertensija (*Pawade et al.*, 2015; *Boström*, 2019).

Ir pētīta un pierādīta lipoproteīna a [Lp(a)] nozīme AVS attīstībā un progresēšanas veicināšanā. Lp(a) ir lipoproteīns, kas bagāts ar holesterīnu. Tas atšķiras no zema blīvuma lipoproteīna (ZBL), jo tas satur papildu olbaltumvielu apolipoproteīnu (a). Līdzīgi kā ZBL, Lp(a) daļiņā ir arī viena apolipoproteīna B molekula. Ir vairāki mehānismi, kā Lp(a) var izraisīt un veicināt AVS:

- tas nogulsņējas uz AV virām līdzīgi kā ZBL, izraisot vārstuļa viru sabiezēšanu;
- tas veicina fibrīna nogulsņēšanos uz AV virām;
- tas var saistīties ar fibrīnu un audu bojājuma vietā veidot augstu holesterīna koncentrāciju un sekmēt kalcinozi;
- ģenētiskie pētījumi pierāda LPA gēna esamības saistību ar Lp(a) cēlonisko lomu AVS attīstībā (*Vassiliou et al.*, 2017; *Mathieu et al.*, 2017; *Torzewski et al.*, 2017).

Liela daļa no minētajiem riska faktoriem arī veicina jau diagnosticētu AVS progresēšanu: sieviešu dzimums, vecums, AV kalcinozes pakāpe, smēķēšana, arteriāla hipertensija, aptaukošanās, metabolais sindroms, sekundārs hiperparatireoīdisms, nieru mazspēja un paaugstināts plazmas Lp(a) līmenis (> 50 mg/dl; norma < 30 mg/dl).

Arteriāla hipertensija veicina AVS progresēšanu gan dēļ palielinātas mehāniskās slodzes uz kreiso kambari, gan dēļ paaugstinātas renīna-angiotenzīna-aldosterona (RAA) sistēmas aktivitātes. Ir pierādīta saistība starp AVS un paaugstinātu ZBL līmeni, bet tas, ka AVS gadījumā statīnu terapija ir neefektīva, liek domāt, ka ZBL ierosina AV kalcinozi, bet neietekmē slimības progresēšanu (*Lindman et al.*, 2016).

Līdz šim veiktie gēnu pētījumi ir nelielās pacientu grupās. Patreiz grūti noteikt, vai minētie riska faktori veicina AVS veidošanos, vai arī jau esošas slimības progresēšanu.

1.3. Aortas vārstuļa stenozes klīniskās izpausmes

Līdzīgi kā AVS patoģenēzi var iedalīt agrīnajā un vēlīnajā fāzē, arī klīniski aortas vārstuļa stenozei ir asimptomātisks un simptomātisks periods (simptomātiska AVS).

AVS simptomi parādās pakāpeniski pēc apmēram 10–20 gadu ilga latentā perioda. Galvenie simptomi ir sāpes krūtīs (parasti saistītas ar slodzi), aizdusa, presinkope vai sinkope. Dēļ samazinātas galvas smadzeņu perfūzijas rodas reibonis vai sinkope. To var izraisīt arī slodzes radīta sistēmiska vazodilatācija, jo asins plūsma netiek kompensēta fiksēta sirds minūtes tilpuma dēļ, baroreceptoru disfunkcijas vai retāk priekškambaru vai kambaru aritmiju dēļ.

Sašaurinoties AV atverei, rodas sistoliskais spiediena gradients starp kreiso kambari un aortu. Kā kompensējošs mehānisms ir kreisā kambara sienu hipertrofija un diastoliska disfunkcija. Palielinoties kreisā kambara masai un pieaugot kreisā kambara sistoliskajam spiedienam, paaugstinās miokarda skābekļa patēriņš, īpaši subendokardiālajā slānī. Lai gan koronārā asins plūsma var būt normāla, tomēr plūsmas rezerve bieži vien ir neatbilstoša kreisā kambara masai. Tādējādi miokarda perfūzija ir pavājināta dēļ relatīvi mazāka miokarda kapilārā blīvuma un samazināta koronārās perfūzijas diastoliskā spiediena. Kreisā kambara hipertrofija rada arī intra-miokardiālo koronāro artēriju kompresiju. AVS pacientiem bieži ir tahikardija, kas saīsina arī koronārās perfūzijas diastolisko laiku. Rezultātā rodas miokarda išēmija, kas izpaužas ar sāpēm krūtīs. Atkārtotas miokarda išēmijas izraisa miocītu apoptozi un miokarda fibrozi.

Smagākās slimības stadijās augstais kreisā kambara pildīšanās spiediens noved pie sekundāras pulmonālas hipertensijas un vēl vairāk veicina sirds mazspējas izpausmi un aizdusu (Ren, 2017; Kanwar et al., 2018).

Lielai daļai pacientu ar saglabātu kreisā kambara izsviedes frakciju (EF) tomēr ir daļēja kreisā kambara sistoliska disfunkcija. Tas rodas dēļ samazinātas kreisā kambara longitudinālās funkcijas (radiālā un cirkumferentā funkcija ir saglabāta). To izskaidro tādējādi, ka subendokardiālajā slānī išēmija un fibroze ir izteiktāka, jo tas ir vairāk pakļauts spiediena pārslodzei (Lindman et al., 2016). Simptomu parādīšanās pacientiem ar AVS ir slikts prognostiskais rādītājs. Ja netiek veikta ķirurģiska ārstēšana, tad apmēram 50% pacientu nomirst nākamo 12–18 mēnešu laikā (Perera et al., 2011; Otto et al., 2014).

Nav noteiktas korelācijas starp AVS smagumu un simptomu parādīšanos. Parasti simptomi parādās pacientiem ar smagu AVS un saglabātu kreisā kambara EF. Parādoties simptomiem, tikai 30–50% pacientu turpmāko 2 gadu laikā nav kardiovaskulāru notikumu. Biežākā ķirurģiski neārstētas un smagas aortas stenozes komplikācija ir pēkšņa nāve (*Kanwar et al.*, 2018).

1.4. Aortas vārstuļa stenozes patoģenēze

AVS attīstību var sadalīt divos posmos:

- agrīnajā fāzē, kad dominē endotēlija trauma, lipīdu nogulsnešanās un iekaisums – šajā fāzē ir daudz līdzību ar aterosklerozes procesu;
- vēlīnajā fāzē, kad kalcifikācijas un proosteogēniskie faktori noved pie slimības progresēšanas (*Pawade et al.*, 2015).

AVS un aterosklerozei ir atšķirīga reoloģija – koronārās artērijas ir pakļautas ilgstošai laminārai plūsmai, bet AVS raksturīgs pulsējošs spiediens uz kreisā kambara sienām un zems atgriezeniskais spiediens no aortas puses (*Lerman et al.*, 2015).

Kaut arī pašlaik mehāniskais stress tiek uzskatīts par galveno AVS sākumprocesu, ir virkne jaunu norādījumu, ka AVS ir ļoti sarežģītu un stingri regulētu procesu virkne (*Pawade et al.*, 2015).

Mehāniskais stress rada endotēlija bojājumu un disfunkciju. Notiek lipīdu infiltrācija un izdalās iekaisuma citokīni. Lipīdi un citokīni vēl vairāk sekmē endotēlija bojājumu, pastiprina iekaisuma procesu (*Boström*, 2019; *Hulin et al.*, 2018).

Zema blīvuma lipoproteīnu (ZBL) oksidatīvā transformācija par ox-ZBL rada lizofosfatīdskābi (LysoPA), kas ir lipīdu mediators un veicina vārstuļa intersticiālo šūnu (VIC) mineralizāciju un osteogēnēzi (*Hulin et al.*, 2018). Endotēlija bojājuma dēļ ir samazināta slāpekļa oksīda (NO) sintēze, kas vēl vairāk sekmē lipīdu oksidāciju un citokīnu izdali. Ar ZBL receptoriem saistītā olbaltumviela 5 (LRP5) un osteokalcīns regulē kaulaudu veidošanos. Hiperholesterinēmijas apstākļos LRP5 saistās ar glikoproteīnu Wnt, kas aktivizē β -katenīnu un izraisa kaulaudu veidošanos (*Rajamannan*, 2008; *Lerman et al.*, 2015). Ox-ZBL veicina MMP (matrices metaloproteināžu) izdali, rezultātā tiek producēti osteoblastisko gēnu marķieri, izmantojot Wnt ceļu (*Gao et al.*, 2015).

Lp(a) ir ģenētiski noteikts, neatkarīgs riska faktors un iespējams cēlonis AVS progresēšanai. Lp(a) var veicināt iekaisumu un izraisīt kalcifikāciju (*Torzewski et al.*, 2017). Nesen tika pierādīta saistība starp AVS esamību un Lp(a) 1-a nukleotīda polimorfismu (*Pawade et al.*, 2015).

Lp(a) piesaistās pie bojātā endotēlija, tas var veicināt putu šūnu veidošanos un iekaisumu. Lp(a) un ar to saistītais fosfolipīnu saturošais oksidētais fosfolipīds (ox-PLs) izraisa apoptozi makrofāgos, kas, iespējams, veicina vārstuļa bojājuma progresēšanu. Lp(a) ir galvenais ox-PLs nesējs plazmā. Lp(a) var veicināt iekaisumu, izmantojot apoB komponentu. ApoB peptīdi var aktivēt citokīnus – interleikīnu-6 un interleikīnu-8 (IL-6, IL-8). Lp(a), izmantojot ox-PLs, ir oksidatīvā stresa avots, veicina kalcifikāciju – endotēlija šūnu osteogēnu diferenciāciju (*Thanassoulis, 2016; Zheng et al., 2018*).

ZBL un Lp(a) transportētie enzīmi kā ar Lp saistītā fosfolipāze A2 (Lp-PLA-2) un autotaksīns (ATX) producē lizofosfolipīdu derivātus. ATX, ko sekretē arī VIC, pārveido lizofosfatidilholīnu (LysoPC) par lizofosfatīdskābi (LysoPA). LysoPA, tāpat kā Wnt, veicina VIC osteogēno pārveidi. Lipoproteīnu uzkrāšanās un saglabāšanās aortas vārstulī ir izšķirošs notikums, jo lipīdus tālāk var izmantot dažādi fermenti, lai iegūtu bioaktīvus savienojumus (piem., lizofosfolipīdus). Lp-PLA2 transportē apoB saturošie lipoproteīni, bagātina ar ZBL un Lp(a). Lp-PLA2 pārvērš ox-PLs par lizofosfatidilholīnu (LysoPC), kas veicina mitohondriju membrānas zudumu un VIC apoptozi. ATX darbība ir atkarīga no tumora nekrozes faktora- α (TNF- α), ko sekretē monocīti un makrofāgi. Tumora nekrozes faktora- α receptora 1 (TNF- α -R1) aktivācija izraisa kodola faktora kapa β (NF- κ B) aktivāciju, kam seko interleikīnu IL-1 β un IL-6 aktivācijas izraisīta mineralizācija (*Lindman et al., 2016; Perera et al., 2011*).

Endotēlija bojājuma dēļ veidojas makrofāgu un T-limfocītu infiltrācija. Ar adhēzijas molekulu palīdzību monocīti nonāk endotēlija slānī un pārveidojas par makrofāgiem. Aktivētie T-limfocīti veicina citokīnu IL-1 β un transformējošā augšanas faktora-1 β (TGF-1 β) izdalīšanu, kam seko matricas metaloproteināžu (MMP) izdala un ekstracelulārās telpas remodelācija. MMP izdala arī tenascīnu-C, kas veicina mineralizāciju un kaulaudu veidošanos (*Freeman et al., 2005*).

Makrofāgi izdala osteopontīnu, kas ir tieši saistīts ar ektopisku kalcifikāciju (*Rajamannan, 2008; Zeng, 2016*).

Tas, ka angiotenzīna konvertējošais enzīms (AKE) atrodas blakus apoB, liecina, ka AKE uz bojājumu var tikt pārnestas ar ZBL daļiņām (*Freeman et al., 2005*).

AVS pacientiem ir augsts AKE līmenis, kas veicina angiotenzīna I (Ang I) pāreju angiotenzīnā II (Ang II). Ang II piemīt gan profibrotiska ietekme caur Ang II A1 receptoriem, gan antifibrotiska un pretiekaisuma darbība caur A2 receptoriem. Viss ir atkarīgs no A1 un A2 receptoru daudzuma. A2 receptoru izpausmes ceļš tiek regulēts ar AKE-2 un Mas receptoriem, bet kalcinētā vārstulī šo receptoru skaits ir samazināts. Tāpēc kalcinētā vārstulī paaugstinātā RAA sistēmas aktivitāte ir saistīta ar fibrozi. Sistēmiskā līmenī paaugstinātā RAA sistēmas aktivitāte ir saistīta ar arteriālu hipertensiju, kas bieži ir novērojama pacientiem

ar AVS. Tā vēl vairāk palielina mehānisko slodzi un veicina AVS progresēšanu (Pawade *et al.*, 2015).

Ang II veicina kolagēna sintēzi un fibrozi. Arahidonskābe (AA) veicina prostaglandīnu un leukotriēnu sintēzi caur ciklooksigenāzes 2 (COX2) un 5 lipoksigenāzes (5-LO) ceļiem. Prostaglandīni un leukotriēni veicina iekaisumu un mineralizāciju (Lindman *et al.*, 2016). Mikrokalcifikācija sākas jau AVS attīstības sākumā no mikropūslīšiem, ko sekretē makrofāgi un VIC. Turklāt izteiktā ektonukleotidāžu izdale (NPP1, 5'-NT, ALP) veicina gan apoptozi, gan mineralizāciju; skatīt 1.2. attēlu. Mineralizāciju pavada fibroze un angioneoģenēze, ko veicina asinsvadu endotēlija augšanas faktors (VEGF). Angioneoģenēze palielina iekaisuma un preosteogēno procesu aktivitāti (Lindman *et al.*, 2016).

1.2. attēls. **Kalcinēta aortas vārstuļa patoģenēzes shēma** (adaptēta no Lindman *et al.*, 2016)

Jau sākotnēji vēro osteoblastiem līdzīgo šūnu pārveidi osteogēnā fenotipā. Tāpēc atrod palielinātu vairāku proteīnu (ieskaitot Cbfa-1/Runx-2 transkripcijas faktora) līmeni, kas ir specifiski osteoblastiskai diferenciācijai un osteoblastu funkciju regulēšanai. Visticamāk ka osteoblastiem līdzīgo šūnu avots vārstulī ir miofibroblasti (VIC). *In vivo* ir pierādījumi, ka AVS agrīnā attīstības fāzē šajā osteoblastā fenotipa izveidē piedalās makrofāgi, izmantojot iekaisuma citokīnus (IL-1 β , IL-6, IL-8, TNF- α , insulīnam līdzīgo augšanas faktoru-1, TGF-

β). Tomēr vēlākajos posmos dominē kalcifikācija, ieskaitot Notch, Wnt/b-kateīna un kodola faktora kappā β liganda receptora aktivatora – RANKL/osteoprotegerīna–OPG ceļus.

Notch pieder pie šūnu virsmu receptoru ģimenes (Notch 1–4), kas ir lielā daudzumā AV un tiem ir liela nozīme vārstuļa morfoloģiskajā attīstībā. Personām ar Notch-1 mutāciju funkcijas zaudējumu ir lielāks AVS risks. Notch-1 ir svarīgs, lai veidotu osteogēnās šūnas ar kaulu morfogēnā proteīna (BMP-2) palīdzību. BMP-2 ir spēcīgs osteogēnās diferenciācijas faktors. BMP-2 pieder multifunkcionāliem citokīniem no TGF-β saimes. BMP-2, BMP-4 izdala VIC. BMP-2 palielina kalcifikāciju, un veicina VIC osteoblastisko pārveidi (*Pawade et al.*, 2015).

Līdzīgi TGF-β1 spēj ierosināt šūnu kodolu translokāciju uz β-katenīnu un veicināt Wnt osteogēno pārveides ceļu (β-katenīns sekmē VIC osteoblasto transformāciju). TGF-β var palielināt kalcija un kolagēna nogulsnešanos. 45% no cirkulējošā TGF-β1 ir trombocītos. Mehāniskais stress var izraisīt latentā cirkulējošā TGF-β1 aktivāciju (*Lerman et al.*, 2015; *Pawade et al.*, 2015).

Tikpat nozīmīgs kalcifikācijā ir RANK/ RANKL/ OPG ceļš – kaulos RANKL saistās ar RANK, kas darbojas kā spēcīgs osteoklastu diferenciācijas un aktivitātes induktors. Šo procesu kontrolē OPG, kas saistās ar RANKL un neļauj tam aktivizēt RANK. Šķiet, ka asinsrites šūnās RANKL ir pretējs efekts, izraisot VIC osteoblasto fenotipu, izraisot kalcija mezgliņu veidošanos un pastiprinot osteokalcīna un sārmainās fosfatāzes izdalīšanos. RANKL veicina arī osteogēnas izpausmes gludajās muskuļšūnās (*Pawade et al.*, 2015).

Iespējams, ka kalcifikāciju izraisa šūnu bojāeja un apoptotisko ķermeņu atbrīvošanās. Šīs apoptotiskās struktūras ir līdzīgas matricēs pūslīšiem, kas atrodami kaulos un satur kalcija kristālus (ieskaitot kalcija un neorganisko fosfātu jonus) un veicina adatveida hidroksiapatīta kristālu veidošanos. Kaulos hidroksiapatīta kristāli bojā matricēs pūslīšu membrānu un nokļūst ekstracelulārajā telpā, kur veido vietas tālākai kalcija nogulsnešanai. Turklāt hidroksiapatīta nogulsnešanās vēl vairāk veicina iekaisumu (*Pawade et al.*, 2015). Fizioloģiski hidroksiapatīta kristālu augšanu vajadzētu inhibēt Gla-proteīnam (MGP), kas inhibē arī BMP-2.

Matricēs Gla-proteīns (MGP) sastāv no aktīvās (cMGP) un neaktīvās (ucMGP) formas. MGP nepieciešama K vitamīna izraisīta karboksilēšana. Tāpēc dzīvniekiem, kam tika nozīmēts K vitamīna antagonists varfarīns (*Warfarin*), novēroja AVS (*Peeters et al.*, 2018).

Kalcifikācijas procesu regulē arī VIC producētās ektonukleotidāzes, ko regulē ekstracelulāri producētais neorganiskais fosfāts (kalcifikācijas veicinātājs) un neorganiskais pirofosfāts. Ektonukleotīda pirofosfatāze-1 (NPP-1) ir izteikti paaugstināta stenotiskajos

vārstuļos. Ekstracelulārā adenoīna trifosfāta (ATP) hidrolīze ar NPP-1 rada palielinātu neorganiskā fosfāta līmeni, tādējādi veicinot kalcifikāciju un turpmāku NPP-1 produkciju (veidojas pozitīva atgriezeniskā saite). ATP darbojas kā VIC izdzīvošanas signāls, izmantojot P2Y2 receptorus (purīna receptorus). P2Y2 receptoru izzušana izraisa VIC apoptozi un sekojošu kalcifikācijas procesu. P2Y2 signalizācijas trūkums paaugstina IL-6 sekrēciju, kas veicina VIC turpmāku osteogēnu diferenciāciju, izmantojot BMP (*Pawade et al.*, 2015).

Aktivētie leukocīti pēc TNF- α sekrēcijas var stimulēt vārstuļa fibroblastu proliferāciju un MMP sekrēciju, aktīvi veicinot ekstracelulārās telpas remodelāciju. MMP ir no cinka atkarīgi proteolītiskie enzīmi. MMP proteolītisko aktivitāti regulē matricas metaloproteināžu audu inhibitori (TIMP) – endogēnās olbaltumvielas. Arī VIC sekretē MMP un TIMP. Kardiovaskulāro slimību sakarā vairāk pētīti ir MMP-1,2,3,9 un TIMP 1–4, bet ar neviennozīmīgiem rezultātiem.

Endotēlija bojājums veicina lipīdu, it īpaši ZBL un Lp(a) infiltrāciju fibrozajā slānī un izraisa iekaisuma šūnu piesaisti aortas vārstulim. Endotēlija bojājumu var izraisīt vairāki faktori, tai skaitā no lipīdiem iegūtas daļiņas, citokīni, mehāniskais stress un radiācijas ietekme. Reaktīvo skābekļa daļiņu (ROS) produkciju veicina slāpekļa oksīda sintāzes (NOS) atsaiste, kas palielina lipīdu oksidāciju un vēl vairāk pastiprina citokīnu sekrēciju. Fermenti, piemēram, Lp-PLA2 un autotaksīns (ATX), aortas vārstulī tiek nogādāti reizē ar lipoproteīniem (ZBL un LP (a)), ražo lizofosfolipīdu atvasinājumus.

ATX, ko arī izdala vārstuļa intersticiālās šūnas (VICs), pārveido lizofosfatidilholīnu (LysoPC) lizofosfatīdskābē (LysoPA). Vairāki faktori, tostarp LysoPA, kodola faktora kappa-B liganda (RANKL) un Wnt3a receptoru aktivators veicina VIC osteogēno pārveidošanos.

AA, kas enzīma PLA2 klātbūtnē veidojas citozolā, sekmē eikozanoīdu (prostaglandīnu un leukotriēnu) ražošanu attiecīgi pa ciklooksigenāzes 2 (COX2) un 5-lipoksigenāzes (5-LO) ceļiem. Savukārt eikozanoīdi veicina iekaisumu un mineralizāciju.

Himāzes un angiotenzīna konvertējošais enzīms (AKE) veicina angiotenzīna II veidošanos, kas palielina kolagēna sintēzi un sekrēciju VIC. Pateicoties lielākai matricas metaloproteināžu (MMP) ražošanai un samazinātai matricas metaloproteināžu audu inhibitoru (TIMP) sintēzei, aortas vārstulī veidojas neorganizēti fibrozie audi.

Mikrokalcifikācija sākas slimības sākumā, ko sekmē mikropūslīši, kurus izdala VIC un makrofāgi. Turklāt ektonukleotidāžu (NPP1, 5'-NT, ALP) pārmērīga izdala veicina gan apoptozi, gan osteogēno mediēto mineralizāciju. Kaulu morfogēnais proteīns 2 (BMP2) iesaistās osteogēnās pārveides procesā, kas ir saistīta ar transkripcijas faktoru (RUNX2 un MSX2) izdali. Osteoblastiem līdzīgās šūnas attiecīgi koordinē aortas vārstuļa kalcifikāciju kā daļu no ļoti regulēta procesa, kas līdzinās skeleta kaulu veidošanās procesam. Mineralizētās

matrices veidošanos papildina fibroze un jaunu asinsvadu veidošanās, ko veicina asinsvadu endotēlija augšanas faktors (VEGF). Savukārt neovaskularizācija palielina iekaisuma šūnu un kaulu smadzenēs iegūto osteoprogenitoro šūnu iesaisti procesā.

1.5. Analizēto šūnu producēto citokīnu īss raksturojums

1.5.1. Hemerīns

Hemerīns, saukts arī par retinoīda skābes receptoru atbildes reakcijas proteīnu 2. Tas tika atklāts 1997. gadā kā olbaltumviela, kas saistīta ar normālu ādas funkciju (pētījums veikts psoriāzes sakarā). Hemerīns ir adipokīns, kas pazīstams kā G proteīnu saistītā hemokīnam līdzīgā receptora 1 ligands (CMKLR1), kas zināms arī kā hemerīna receptors 23 (Chem23), kas pirmo reizi tika identificēts makrofāgos un dendrītiskajās šūnās. (*Roh et al.*, 2007; *Wittamer et al.*, 2003).

Hemerīns galvenokārt izdalās baltajos taukaudos, bet lielā koncentrācijā to atrod arī aknās, plaušās, brūnajos taukaudos, sirdī, nierēs, aizkuņģa dziedzerī un skeleta muskuļos. Hemerīns tiek izdalīts neaktīvā veidā. Ekstracelulāri proteolītiski tas tiek šķelts un veidojas aktīvas izoformas (*Docke et al.*, 2013; *Weigert et al.*, 2010; *Rourke et al.*, 2013).

Hemerīnu aktivizē iekaisuma un audu bojājuma proteāzes no makrofāgiem, dendrītiskajām šūnām. Hemerīns regulē iekaisuma procesu, veicinot makrofāgu migrāciju uz noteiktiem audiem, piemēram taukaudiem (*Goralski et al.*, 2007). Hemerīna tālākā darbība izpaužas, tam saistoties ar G-proteīniem piesaistīto receptoru 1 (GPR1) un hemerīna receptoru 23 (ChemR23).

ChemR23 receptorus atrod asinsvadu endotēlija šūnās, gludajās muskuļšūnās un kardiomiocītos. ChemR23 ekspresiju endotēlija šūnās paaugstina iekaisuma citokīni: TNF- α , IL-6, IL-1 β . Cirkulējošais hemerīna līmenis cilvēkam un dzīvniekiem spēcīgi korelē ar tādu iekaisuma marķieru līmeni kā TNF- α , IL-6, augsti jutīgais C-reaktīvais proteīns (hs-CRP), rezistīns un leptīns (*Eisinger et al.*, 2015; *Gu et al.*, 2014; *Kostopoulos et al.*, 2014). Hemerīnam saistoties ar GPR1 receptoriem, notiek kalcija mobilizācija. Hemerīns veicina endotēlija šūnu proliferāciju un MMP-2, MMP-9, MMP-7 izdali.

Hemerīnam ir nozīmīga loma angiogēnēzē, osteoblastogēnēzē, mioģenēzē un glikozes hemostāzes regulēšanā; skatīt 1.3. attēlu. Hemerīns ir saistīts ar adipocītu diferenciāciju un lipolīzes stimulāciju. Hemerīns samazina slāpekļa oksīda izdali endotēlija šūnās, veicinot asinsvadu sienīņu stīvumu un arteriālu hipertensiju (*Zabel et al.*, 2014; *Ferland et al.*, 2015).

1.3. attēls. **Hemerīna darbības veidi** (Ferland and Watts, 2015)

Hemerīna darbības diapazons vēl nav pilnībā skaidrs. Tā loma šķiet ir atkarīga no mērķa šūnu tipa. Pēc proteolītiskās aktivācijas veidojas hemerīna formas ar iekaisumu veicinošu vai pretiekaisuma darbību, atkarībā no proteāzes klases un mikrovides (Parmentier, 2013; Er et al., 2018).

Hemerīnam piemīt pretiekaisuma darbība endotēlija šūnās, novēršot TNF- α inducētu vaskulāro šūnu adhēzijas molekulu-1 (VCAM-1) ekspresiju un inhibējot makrofāgu adhēziju ar TNF- α stimulētām endotēlija šūnām un inhibējot NF- κ B (Ferland et al., 2015; Parmentier, 2013).

TNF- α veicina hronisku zemas pakāpes iekaisumu. *In vitro* TNF- α veicina hemerīna ekspresiju adipocītos. TNF- α palielina gan hemerīna, gan ChemR23 koncentrāciju. Hemerīns var ietekmēt TNF- α līmeni un otrādi. Hemerīna loma kā pretiekaisuma vai iekaisumu veicinošam faktoram joprojām ir pretrunīga. Iekaisuma vidē hemerīns veicina makrofāgu un nenobriedušu dendrītisko šūnu hemotaksi, bet, ārstējot ar hemerīnu mazinās neitrofilo leukocītu un makrofāgu darbība un iekaisuma citokīnu izdale (Helfer et al., 2018).

Apmēram 16–25% no seruma hemerīna līmeņa ir ģenētiski noteikts (Er et al., 2018). Genoma pētījums cilvēku populācijā parāda, ka seruma hemerīna līmenis ir pārmantojams un saistīts ar atsevišķu nukleotīdu polimorfismu diskoidīnam I līdzīgie domēni 3 (EIDL3) gēnā, kas regulē angioģenēzi (Helfer et al., 2018).

Ir atklāta pozitīva korelācija starp hemerīnu un koronāro artēriju slimību, išēmisku insultu un koronāro artēriju aterosklerotiskās plātnes nestabilitāti. Hemerīns korelē ar

ķermeņa masas indeksu (KMI), triglicerīdu līmeni un arteriālu hipertensiju. Paaugstināts hemerīna līmenis korelē ar sieviešu dzimumu un vecumu (*Zabel et al.*, 2014; *Ferland et al.*, 2015; *Er et al.*, 2018).

1.5.2. Fibroblastu augšanas faktors-21 (FGF-21)

FGF-21 ir fibroblastu augšanas faktora (FGF) ģimenes loceklis. FGF-21 ir vielmaiņas regulators, kas piedalās glikozes un lipīdu metabolismā. Joprojām nav vienotas skaidrības par tā saistību ar aterosklerozi. FGF-21 piemīt mitogēna un šūnu izdzīvošanas aktivitāte. FGF-21 piedalās audu atjaunošanā. Tam ir pretiekaisuma loma miocītos un tas uzlabo oksidatīvo kapacitāti.

FGF-21 ir peptīdu hormons, ko sintezē aknas, aizkuņģa dziedzeris, brūnie un baltie taukaudi un sirds endotēlija šūnas. FGF-21 regulē enerģijas homeostāzi (*Schlein et al.*, 2016; *Zhang et al.*, 2015).

FGF-21 var darboties kā kardiomiokīns, tas nozīmē, ka to nozīmīgā līmenī producē sirds šūnas un tas autokrīnā veidā darbojas uz sirdi. FGF-21 ietekme uz sirdi var būt sistēmiska (no aknās producētā FGF-21) un lokāla. FGF-21 aizsargā no miokarda hipertrofijas, iekaisuma un oksidatīvā stresa.

FGF-21 ekspresiju kontrolē peroksisomu proliferatora aktivētais receptors α (PPAR α - *peroxisome proliferator-activated receptor α*), kas asinsritē nonāk no aknām. FGF-21 darbības realizēšanai ir nepieciešams caurlaidīgas transmembrānas proteīns – β -Klotho (KLB). Sirds šūnās ir pierādīts ievērojams daudzums gan FGF-21 receptoru, gan kofaktora β -Klotho (*Planavila et al.*, 2015).

FGF-21 tiek uzskatīts par oksidatīvā stresa hormonu. Traucējumi mitohondrijos pasliktina oksidatīvo fosforilēšanos un rada samazinātu ATF (adenozīntrifosfāta) ražošanu, kas izraisa seruma FGF-21 pieaugumu.

Oksidatīvā stresa apstākļos veidojas reaktīvās skābekļa daļiņas (ROS) – ķīmiski reaģējošas molekulas, kas izraisa DNS, olbaltumvielu un enzīmu bojājumu. Mitohondriji strauji izdala FGF-21 kā stresa aizsargmehānismu, lai mazinātu šūnu bojāeju.

FGF-21 mazina oksidatīvo stresu: samazinot ROS, samazinot apoptozi un nomācot NF- κ B (*Gómez-Sámano et al.*, 2017).

FGF-21 ir paaugstināts pacientiem ar nelabvēlīgu lipīdu profilu, aptaukošanos, cukura diabētu, metabolo sindromu, kā arī koronāro sirds slimību un miega artēriju slimību (*Chow et al.*, 2013).

FGF-21 līmeņa paaugstināšanos asins serumā aterosklerozes, koronārās sirds slimības, miokarda išēmijas, sirds hipertrofijas gadījumos uzskata par kompensējošu reakciju, lai aizsargātu no oksidatīvā stresa, iekaisuma un apoptozes.

To, ka FGF-21 ir ne tikai sirds slimību biomarķieris, bet tam ir aizsargājoša darbība, pierādīja ārstēšanas ar FGF-21 pozitīvais efekts dzīvnieku modeļos.

Miokarda hipertrofiska remodelācija ir miokarda adaptīva reakcija pret noteiktām spriedzēm, tai skaitā arī vārstu slimību gadījumā. Spriedzes apstākļos miokarda hipertrofiju raksturo kardiomiocītu palielināšanās, nevis šūnu dalīšanās.

Mehāniskie pētījumi liecina, ka FGF-21 mazina miokarda hipertrofiju, aktivizējot fibroblastu augšanas faktora receptora 1c (FGFR1c)/β-Kloth ceļu, un veicinot vairāku antioksidantu gēnu, arī SOD-2 ekspresiju un kavējot ROS veidošanos autokrīnā ceļā (*Cheng et al.*, 2016).

Kreisā kambara biopsija no hipertensīviem sirds donoriem parādīja ievērojami augstāku FGF-21 līmeni, salīdzinot ar normotensīvām kontrolēm. FGF-21 augsto līmeni saistīja ar miokarda hipertrofiju un fibrozi (*Ferrer-Curriu et al.*, 2018).

FGF-21 samazina plazmas triglicerīdu līmeni: samazina plazmas neesterificēto taukskābju koncentrāciju un palielina triglicerīdiem bagātu lipoproteīnu katabolismu baltajos un brūnajos taukaudos (*Schlein et al.*, 2016).

FGF-21 līmenis korelē ar *intima media* biezumu un miega artēriju slimību sievietēm, bet ne vīriešiem (*Chow et al.*, 2013).

Tāpat paaugstināts FGF-21 līmenis sievietēm korelē ar cukura diabētu (pētījums veikts Ķīnā) (*Zhang et al.*, 2015).

FGF-21 deficīts paaugstina angiotenzīna II līmeni un sekmē arteriālu hipertensiju (*Pan et al.*, 2018).

1.5.3. C reaktīvais proteīns (CRP)

CRP ir zema līmeņa iekaisuma biomarķieris, ko izdala aknas. CRP pieaugumu vairāk saista ar sistēmiskā iekaisuma pazīmēm – sirds mazspēju, aptaukošanos (*Clavel et al.*, 2014).

Augsti jutīgais C-reaktīvais proteīns (hs-CRP) ir labs biomarķieris koronārai aterosklerozei, bet AVS pacientiem nav viennozīmīgu rezultātu. Hs-CRP varētu būt noderīgs sākotnējas kalcificējošas AVS pacientu identificēšanai.

Paaugstināts CRP līmenis ir saistīts ar vecumu, sieviešu dzimumu, paaugstinātu KMI, paaugstinātu asinsspiedienu, dislipidēmiju, cukura diabētu, smēķēšanu. CRP pieaugumu atrod AVS.

CRP gēna rs1205C>T polimorfisms ir saistīts ar paaugstinātu CRP līmeni un smagu AV kalcifikāciju. Pacienti ar rs1205C>T alēli ir smagāka AVS. CRP var būt aortas stenozes progresēšanas marķieris.

Ir ziņojumi par pacientiem ar smagu simptomātisku AVS un augstu CRP līmeni, kuriem pēc operatīvas terapijas CRP līmenis samazinājās. Tāpat ir pētīti asimptomātiski smagas AVS pacienti, kuriem augsts CRP līmenis norādīja uz slimības strauju progresēšanu (Wypasek *et al.*, 2015).

Ir gēnu pētījums, kurš atklāj, ka IL-6R 358Ala alēles klātbūtne AVS pacientiem ir saistīta ar novājinātu sistēmisku iekaisuma stāvokli un par 22% zemāku CRP līmeni (Wypasek *et al.*, 2014).

1.5.4. Matrices metaloproteināzes (MMP) un to audu inhibitori (TIMP)

MMP ir no cinka atkarīgas endopeptidāzes: kolagenāzes, želatināzes un stromelizīns, un tām ir būtiska loma ekstracelulārās telpas remodelācijā un audu pārveidošanā. Audu remodelācijas process ir atkarīgs no MMP un TIMP līdzsvara.

MMP funkcionē šūnu ekstracelulārajā telpā un degradē proteīnus. Tās piedalās morfoģenēzē, audu atjaunošanā un remodelācijā.

Sirds mazspējas, kreisā kambara hipertrofijas un citu slimību gadījumā miokardā notiek strukturālas izmaiņas, ko sauc par miokarda remodelāciju, kas ietver gan šūnu gan ārpus šūnu izmaiņu procesu summēšanos. Šūnu procesi sevī ietver miocītu augšanu, apoptozi un nekrozi. Ārpus šūnu procesi ietver pārveidi, inducējot un aktivizējot proteolītiskos enzīmus, MMP u.c.

Aortas vārstuļa stenozes pacientiem bieži novēro kreisā kambara hipertrofiju. Spiediena un tilpuma pārslodzes rezultātā veidojas izmaiņas kreisā kambara sienās. MMP ekstracelulārajā telpā izdalās kā proenzīmi (pro-MMP). Pro-MMP saistās ar specifiskām ekstracelulārās telpas olbaltumvielām (Spinale, 2007).

MMP darbību regulē audu inhibitori (TIMP). Cilvēkam ir 24 MMP gēni. MMP ekspresiju kontrolē iekaisuma citokīni, augšanas faktori, šūnu-šūnu un matricē-šūnu mijiedarbība. MMP aktivitāte pieaug, inhibējot TIMP. Ekstracelulārās telpas remodelācijā būtisks ir līdzsvars starp MMP un TIMP (Nagase *et al.*, 2006).

Angiotenzīns II ir svarīgs mediators miokarda remodelācijas procesā, kas saistīta ar miokarda infarktu, kreisā kambara hipertrofiju vai dilatācijas kardiomiopātiju. Potenciāli Ang II aktivācija var izraisīt MMP aktivāciju. Tomēr pastāv norādes, ka Ang II izraisītais MMP

pieaugums var nebūt ilgstošs. Ir pierādījumi, ka Ang II aktivācija izraisa TGF izdali, kas savukārt daudzveidīgi ietekmē MMP transkripciju.

Ang II stimulē aldosterona ražošanu, kas veicina fibrotisko proteīnu, piemēram, kolagēna veidošanos. Vai un cik lielā mērā aldosterons ietekmē MMP transkripciju, nav zināms. Jebkurā gadījumā Ang II un aldosterons veicina miokarda fibrozi.

Endotelīns ir vēl viena bioaktīva molekula, kas iespējams, veicina miokarda remodelācijas procesu. Endotelīns aktivizē proteīnkināzi C, kas savukārt aktivizē NF- κ B un tālāk MMP. Endotelīns palielina MMP-1 līmeni asinsvadu endotēlija šūnās.

Kreisā kambara hipertrofijas gadījumā izdalās TGF, kas tiek uzskatīta par profibrotisku molekulu, pieņemot, ka TGF inhibē MMP transkripciju un samazina izmaiņas ekstracelulārajā telpā. Tomēr ir novērots, ka TGF veicina dažu MMP veidu (piemēram, MMP-13) aktivitāti. Tādējādi ir iespējama dažāda TGF ietekme uz MMP transkripciju, kas varētu būt atkarīga no koncentrācijas, šūnas un laika.

Oksidatīvais stress un ROS veidošanās arī stimulē MMP transkripciju (*Spinale, 2007*).

Aortas vārstuļa stenozes pacientiem ekstracelulārās telpas remodelācija ietver kolagēna kūlīšu dezorganizāciju un elastīgo šķiedru fragmentāciju. Starp dezorganizētajiem kolagēna kūlīšiem atrod kalcificētas zonas.

Iepriekš veiktā pētījumā par ekstracelulārās telpas remodelāciju pacientiem ar AVS, izmantojot histoloģisko materiālu, tika konstatēts, ka MMP-9 un MMP-3, MMP-2 aktivitāte aortas stenozes vārstuļu audu paraugos (n=49) bija augstāka, salīdzinot ar audu paraugiem (n=8), kas tika iegūti transplantācijas laikā un tika izmantoti kā kontrole. Tas tika saistīts galvenokārt ar iekaisumu aortas stenozes skartajos vārstuļos. TIMP-1 un TIMP-2 konstatēja gan normālajos, gan patoloģiskajos aortas vārstuļos. TIMP-2 koncentrācija neatšķīrās, bet TIMP-1 līmenis bija ievērojami augstāks aortas stenozes grupā. MMP-9/TIMP-1 attiecība bija ar tendenci būt zemākai AS grupā nekā kontroles grupā. Tas galvenokārt bija saistīts ar ievērojamu TIMP-1 pieaugumu stenotisko AV audos. Vārstuļu intersticiālās šūnas *in vitro* tika pakļautas IL-1 β un TNF- α iedarbībai, bet novēroja tikai pro-MMP-2 aktivitātes variāciju; ne MMP-9, ne MMP-3 un MMP-7 netika konstatēti. Tāpat netika konstatētas TIMP-1 un TIMP-2 sintēzes un sekrēcijas izmaiņas. Aortas stenozes skartajos vārstuļos histoloģiskās un bioķīmiskās analīzes parādīja, ka ir notikusi patoloģiska vārstuļu ekstracelulārās telpas pārveide, kas ietver MMP/TIMP sistēmu. (*Fondard et al., 2005*).

Pētījumā, kura laikā salīdzināja objektīvās kreisā kambara izmaiņas un MMP-3 izmaiņas starp dzimumiem un klīnisko simptomu izteiktību, vīriešiem atrada augstāku MMP-3 līmeni nekā sievietēm; sliktāku sistolisko un diastolisko kreisā kambara funkciju un augstāku indeksēto kreisā kambara masu. Secināja, ka sievietēm ir mazāk izteikta kreisā

kambara remodelācija un fibroze. Taču rezultātus varēja iespaidot nevienmērīgais populācijas sadalījums, proti, no 174 pētījumā iekļautajiem pacientiem 133 bija vīrieši (76,4%) (*Singh et al.*, 2019).

Tabulā 1.1. parādīta MMP darbība, kas var ietekmēt šūnu migrāciju, diferenciāciju, augšanu, iekaisuma procesus, apoptozi u.c.

MMP ir ekstracelulārās olbaltumvielas, bet pētījumi liecina, ka MMP-1, MMP-2 un MMP-11 ir atrodamas arī intracelulāri un var ietekmēt citus intracelulāros proteīnus.

Pēc ķīmiskās struktūras MMP-1 ir intersticiālā kolagenāze; MMP-3 ir stromelizīns un MMP-9 ir želatināze.

1.1. tabula

Darbā analizēto matricas metaloproteināžu (MMP) īss raksturojums

MMP-1	MMP-3	MMP-9
veicina keratinocītu migrāciju	veicina šūnu migrāciju	uzlabo kolagēna afinitāti
veicina keratinocītu reepitelizāciju	veicina epiteliālo šūnu apoptozi	iekaisumu veicinoša un pretiekaisuma darbība
veicina šūnu migrāciju	uzlabo kolagēna afinitāti	samazina IL-2 atbildi
veicina trombocītu agregāciju	atbrīvo bFGF	veido audzēja šūnu rezistenci
iekaisumu veicinoša un pretiekaisuma darbība	palielina IGF1 biopieejamību un šūnu proliferāciju	palielina TNF- α biopieejamību
	iekaisumu veicinoša un pretiekaisuma darbība	rada tīmus neovaskularizāciju
	palielina TGF- β biopieejamību	veicina hipertrofisko hondrocītu apoptozi un osteoklastu veidošanu

Kolagenāzes šķel intersticiālos kolagēnus I, II, III un šie fragmenti var sagremot citas ekstracelulārās telpas molekulas un šķīstošos proteīnus. MMP-1 aktivizē proteāzes aktivēto receptoru-1 (PAR1) (*Nagase et al.*, 2006).

MMP-1 piemīt augsts specifiskums pret fibrilārajiem kolagēniem un citiem ekstracelulārās telpas proteīniem, piemēram proteoglikāniem (*Spinale*, 2007).

Želatināzes viegli sagremo želatīnu, izmantojot trīs II tipa fibronektīna atkārtojumus. Želatināzes sagremo arī vairākas citas ekstracelulārās telpas molekulas, tostarp IV, V, XI tipa kolagēnus, laminīnu.

Stromelizīniem ir līdzīgs domēna izkārtojums kā kolagenāzēm, bet tie nešķel intersticiālos kolagēnus (Nagase *et al.*, 2006).

MMP-9 piemīt afinitāte pret denaturēto fibrilāro kolagēnu, pamatā membrānas proteīniem. MMP-9 piemīt arī proteolītiskā aktivitāte pret elastīnu un proteoglikāniem (Perrotta *et al.*, 2016).

MMP-3 darbojas uz visiem bazālās membrānas proteīniem, elastīnu un proteoglikāniem. MMP-3 piemīt spēja inducēt citu MMP proteolītisko aktivāciju. (Spinale, 2007). MMP-3 sagremo vairākas ekstracelulārās telpas molekulas un piedalās pro-MMP aktivācijā (Nagase *et al.*, 2006).

MMP-3 degradē II, III, IV, IX un X tipa kolagēnu, proteoglikānus, fibronektīnu, laminīnu un elastīnu. Turklāt MMP-3 var aktivēt citus MMP, kā MMP-1, MMP-7 un MMP-9, izdarot būtisku lomu audu remodelācijā (Ye *et al.*, 1996). Papildus klasiskajai darbībai MMP-3 var iekļūt šūnu kodolos un kontrolēt transkripciju (Eguchi *et al.*, 2008).

MMP-3 gēnam piemīt polimorfisms, to izraisa adenoīnu skaita svārstības. *In vitro* funkcionālās analīzes parādīja, ka 5A alēlei ir lielāka promotora aktivitāte, salīdzinot ar 6A alēli (Ye *et al.*, 1996). Dažos pētījumos ir pierādīts, ka indivīdiem ar 5A alēli ir paaugstināta jutība pret akūtu miokarda infarktu un vēdera aortas aneirismu (Terashima *et al.*, 1999; Yoon *et al.*, 1999). Savukārt ir konstatēts, ka 6A alēle ir saistīta ar slimībām, kam raksturīga zemāka MMP-3 ekspresija, piemēram, koronārā ateroskleroze (Ye *et al.*, 1996; Humphries *et al.*, 1998; de Maat *et al.*, 1999).

MMP aktivitāti regulē 2 galvenie endogēno inhibitoru veidi: α 2-makroglobulīns un TIMP. MMP aktivitāti šķidrums fāzē galvenokārt regulē α 2-makroglobulīns un ar to saistītās olbaltumvielas. Proteīns tiek sasaistīts ar makroglobulīnu un šis komplekss tiek ātri izvadīts ar zema blīvuma lipoproteīna receptoru saistīta proteīna-1 palīdzību.

TIMP sastāv no 184–194 aminoskābēm; tie ir sadalīti N-termināla un C-termināla apakšdomēnos. TIMP inhibē visus līdz šim pārbaudītos MMP (Solache-Berrocal *et al.*, 2016).

Iepriekš veiktā pētījumā tika izvērtēti pacienti ar aortas vārstuļa stenozi un noteikts, kā MMP-1 polimorfisms ietekmē AVS attīstību. Analizējot kalcija saturu aortas vārstuļos, kas iegūti operācijas laikā un dezoksiribonukleīnskābi (DNS) perifērajās asinīs, noteica, ka 1G alēlei būtu aizsargājoša iedarbība pret kalcija nogulsņēšanos. Indivīdiem ar 2G alēli (homozigotiem un heterozigotiem) bija augstāks kalcija līmenis stenotiskajos vārstuļos. Turpmākie pētījumi varētu parādīt, vai 1G>2G MMP-1 polimorfismu var izmantot, lai prognozētu aortas vārstuļa stenozes iespējamo attīstību (Solache-Berrocal *et al.*, 2016).

Pētot vārstuļus, kas iegūti operācijas laikā no pacientiem ar kalcificējošu aortas vārstuļa stenozi, atrada, ka MMP-9 gandrīz pilnībā bija lokalizēts kalcifikācijas rajonos vai ap

tiem. Var domāt, ka MMP-9 var būt nozīmīga loma, veicinot ekstracelulārās telpas fibrotisku un uz kalcifikāciju vērstu remodelāciju (*Perrotta et al.*, 2016).

1.5.5. Tioredoksīna reduktāze-1 (TrxR1)

Superoksīds (viena no visaktīvākajām ROS molekulām) inaktivē NO un veicina endotēlija disfunkciju. NO ar NO sintāzes (NOS) palīdzību tiek atšķelts no L-arginīna. Ir 3 NOS formas, iesaistītas homeostāzē: kavē gludo muskuļšūnu kontrakcijas un augšanu; samazina trombocītu agregāciju; samazina iekaisuma šūnu adhēziju pie endotēlija. Pacientiem ar aortas stenozi ir pierādīts paaugstināts NOS endogēnā inhibitora līmenis (*Chester*, 2011).

Slimības attīstības procesā ir svarīga mijiedarbība starp ROS, endotēliju un antioksidantiem. Superoksīds reaģē ar NO un veidojas peroksinitrīts (ONOO^-) – spēcīgs oksidants, kurš tālāk veicina apoptozi vai nekrozi. Mitohondriālajām superoksīda dismutāzēm (MnSOD) šo saistīšanos vajadzētu nomākt. Šī peroksinitrīta veidošanās notiek ātrāk, nekā superoksīda dismutāzes (SOD) spēj superoksīdu pārvērst par ūdeņraža peroksīdu (H_2O_2) vai parastu skābekli. Peroksinitrīts veicina bioaktīvā NO zudumu un tieši darbojas citotoksiski. Peroksinitrīts inaktivē SOD, tādējādi vēl vairāk paaugstinot superoksīda līmeni. Normāli superoksīds tiek ražots mitohondrijos kā skābekļa metabolisma blakusprodukts. SOD ir svarīga loma kā antioksidantiem. Ir trīs SOD formas: SOD1 atrod citoplazmā, SOD2 mitohondrijos un SOD3 ir ekstracelulāri.

Vēl superoksīdu spēj ražot ksantīna oksidāze, NADPH oksidāzes un citohromi. Lai uzturētu homeostāzi, ir jāpanāk līdzsvars starp ROS ražošanu un patēriņu.

Superoksīda līmeni var palielināt tādi enzīmi kā nikotīnamīda adenīna dinukleotīda fosfāta oksidāzes (NADPH oksidāzes) – tā ir ROS sastāvdaļa, ko stimulē Ang II, ksantīna oksidāze, ciklooksigenāze, “atsaistītā” NO sintāze. Iekaisuma apstākļos arī leikocīti var paaugstināt superoksīda līmeni. Ang II rada oksidatīvo stresu un endotēlija disfunkciju, tā darbību var samazināt ar angiotenzīna konvertējošo enzīmu 2 (AKE 2), kas Ang II pārvērš par vazoprotektīvu peptīdu angiotenzīnu (1–7) (*Heistad et al.*, 2009; *Silva et al.*, 2012).

Ir hipotēze, ka SOD, veidojot H_2O_2 , var veicināt vazodilatāciju. Oksidatīvā stresa apstākļos parasti SOD līmenis ir paaugstināts. Histoloģiskajos materiālos atrod, ka stenotiskajos vārstuļos superoksīds ir ap kalcifikācijas zonām. Aortas vārstuļa stenozes attīstībā galvenā loma ir “atsaistītajam” NOS, bet ne NADPH; skatīt 1.4. attēlu. Kalcinētā vārstulī ir izteikti samazināta visu trīs SOD izoformu izdale un aktivitāte, tas veicina oksidatīvo stresu. Oksidatīvais stress veicina fibrozi un papildus tam arī MMP aktivitāti (*Heistad et al.*, 2009).

1.4. attēls. eNOS un O₂⁻ loma aortas vārstuļa stenozes procesā
(Heistad et al., 2009; Farrar et al., 2015)

Iekaisuma citokīni, TNF- α un IL-6 samazina NOS izdalīšanos (Hulin et al., 2018). TNF- α izraisa vārstuļa intersticiālo šūnu endotēlija aizsargfunkcijas zudumu, hronisku iekaisumu, osteogēnu aktivāciju, mazinot SOD un tetrahidrobiopterīnu (BH₄) (Farrar et al., 2015).

Jau 2008. gada publikācija (Miller et al.) pierāda oksidatīvā stresa lomu kalcinētā AV, bet ar atšķirīgu mehānismu nekā aterosklerozei. Audu histoloģiskajos izmeklējumos ap kalcinētajām zonām atrod augstu superoksīda līmeni, tas ir saistīts ar miofibroblastu aktivāciju. Atšķirībā no aterosklerozes aortas vārstuļa stenozes gadījumā oksidatīvā stresa palielināšanās nav saistīta ar NADPH aktivitāti. Aortas vārstuļa stenozes gadījumā oksidatīvo stresu saista ar antioksidantu mehānismu aizsardzības samazināšanos un "atsaistītā" NOS palielināšanos. Veselos, neskartos vārstuļos superoksīds bija zemā koncentrācijā un vienmērīgi sadalīts, bet kalcinētajos vārstuļos superoksīds bija ap kalcinētajām zonām un divreiz lielākā koncentrācijā. Kalcinētajos reģionos nebija NADPH aktivitātes. Kalcinēto rajonu antioksidantu mehānismi bija novājināti, ievērojami samazināta SOD aktivitāte un visu trīs SOD izoformu ekspresija (Miller et al., 2008).

1.5. attēls. **Oksidatīvā stresa izraisītās pārmaiņas aortas vārstuļa stenoze un ateroskleroze procesā** (Heistad *et al.*, 2009; Miller *et al.*, 2008)

Ir histoloģisks pētījums, kur aortas vārstuļa stenoze gadījumā vārstuļos atrod divējādas izmaiņas – vienā daļā kalcinoze vairāk skar vārstuļa pamatni, bet otrā – viru brīvās daļas; skatīt 1.5. attēlu. Tieši otrajai formai raksturīga ļoti augsta ROS aktivitāte (Takata *et al.*, 2016).

Tioredoksīna sistēma sastāv no NADPH, TrxR un Trx, tā aizsargā pret oksidatīvo stresu. Tioredoksīna (Trx) galvenā loma ir aizsargāt šūnas no oksidatīvā stresa. Trx ir atkarīgs no tioredoksīna reduktāzes (TrxR) darbības, lai mazinātu peroksīdu, tādējādi ietekmējot vielmaiņu, mazinot iekaisumu, proliferāciju, apoptozi.

Cilvēkam ir trīs TrxR izomēri: TrxR1 (citozola), TrxR2 (mitohondriju) un TrxR3. TrxR ir proteīns, kura darbībai ir nepieciešams selēns. Selēna deficīts samazina TrxR antioksidanto aizsardzību. Šūnās, kas nav pakļautas stresam, Trx reducētā forma var saistīties ar apoptozes signālregulējošo kināzi-1 (ASK1) un tieši inhibēt apoptozi veicinošās kināzes, darbojoties kā negatīvs kināzes aktivitātes regulētājs. Oksidatīvā stresa apstākļos Trx tiek oksidēts un nav spējīgs saistīties ar apoptozi veicinošām kināzēm un nomākt to aktivitāti un kā atbilde uz stresu ir kināžu inducēta šūnu apoptoze (Lee *et al.*, 2013).

Trx mijiedarbojošās olbaltumvielas (TXNIP) darbojas kā Trx fizioloģiskais inhibitors. Turklāt TXNIP efekti ir daļēji neatkarīgi no Trx – tie ietver tiešu iekaisuma aktivāciju un glikozes uzņemšanas kavēšanu. TXNIP mijiedarbojas ar NO signalizācijas sistēmu un nomāc NO efektus. TXNIP produkciju modulē redoks stress, glikozes līmenis, hipoksija un vairāki iekaisuma citokīni (Chong *et al.*, 2014).

1.5.6. Mieloperoksidāze (MPO)

Mieloperoksidāze ir saistīta gan ar iekaisumu, gan oksidatīvo stresu, jo tā atrodas leukocītos. MPO kodē 17. hromosomas MPO gēns. MPO tiek uzglabāta neitrofilo leukocītu azofīlajās granulās un degranulēšanas laikā izdalās ekstracelulārajā telpā. MPO satur kalcija saistīšanas vielu (*Strzepa et al., 2017*).

Mieloperoksidāze – prooksidanta ferments, izdalās no aktivētiem neitrofiliem un makrofāgiem un pasliktina ABL-H aizsardzību. ABL-H antioksidanta īpašības galvenokārt ir saistītas ar ABL-H saistīto enzīmu paraoksonāzi-1 (PON-1). Aortas vārstuļa stenozes pacientiem atrod ievērojami zemāku PON-1 koncentrāciju, bet MPO līmeni – augstāku. Aortas vārstuļa stenozes pacientiem ir apgriezta MPO un PON-1 attiecība, kas apstiprina nelīdzsvarotību (disbalansu) starp prooksidantiem un antioksidantiem un var veicināt aortas vārstuļa stenozes attīstību (*Matsushita et al., 2018*).

MPO katalizē ūdeņraža peroksīda (H_2O_2) pārveidi par hipohlorskābi. MPO no H_2O_2 un hlora (Cl^-) ražo hipohlorskābi (HOCl), kas oksidē tirozīnu. HOCl un tirozīna radikāļi ir citotoksiski. HOCl var izraisīt oksidatīvu bojājumu. MPO, oksidējot apoA-1, samazina ABL-H inducēto iekaisuma un šūnu apoptozes nomākumu.

Sterila iekaisuma apstākļos tiek uzskatīts, ka MPO un tās radītie oksidētāji veicina iekaisumu un audu bojājumu; skatīt 1.6. attēlu. HOCl palielina endotēlija caurlaidību. MPO uzkrājas ekstracelulārajā telpā, samazina NO biopieejamību, tas veicina endotēlija disfunkciju un ekstracelulārās telpas remodelāciju (*Strzepa et al., 2017*).

1.6. attēls. Mieloperoksidāze (MPO) un oksidatīvā stresa loma aortas vārstuļa stenozes procesā

MPO nevēlamā darbība asinsvados izpaužas ar to, ka makrofāgi uzņem ox-ZBL un veido putu šūnas. Ox-ZBL ar ROS palīdzību ir veidots no ZBL-H.

Iekaisuma apstākļos no makrofāgiem atbrīvojas MPO, kas veido ROS, izmantojot H_2O_2 , Cl^- , NO un tas tikai pastiprina ox-ZBL veidošanos, rezultātā ABL-H kļūst disfunkcionāls un veidojas ox-ABL un samazinās ABL-H aizsargājošā ietekme (*Schindhelm et al.*, 2009).

Ir pētīts MPO akūta koronārā sindroma (AKS) pacientiem. MPO līmenis nav atkarīgs no troponīna līmeņa un paaugstinās pat pirms troponīna līmeņa – tas var palīdzēt terapijas taktikas izvēlē nestabilas stenokardijas pacientiem. Atšķirībā no CRP un fibrinogēna līmeņa, kuri AKS pacientiem paaugstināti saglabājas relatīvi ilgāku laiku, MPO līmenis normalizējas jau apmēram pēc vienas nedēļas. MPO var būt akūtā perioda (aterosklerotiskās plātnes nestabilitātes) marķieris. MPO visticamāk nav specifisks kardiovaskulārajām slimībām, jo neitrofilu un makrofāgu aktivēšana var notikt jebkurā infekcijas, iekaisuma, infiltrācijas procesā (*Loria et al.*, 2008).

2. MATERIĀLS UN METODES

2.1. Pētījuma populācija

Klīniski analītiskais pētījums "Iekaisīgie un neiekaisīgie riska faktori iegūtas aortas vārstuļa stenozes gadījumā" ir jaukta tipa prospektīvs gadījuma–kontroles pētījums. Pētījums veikts ar Rīgas Stradiņa universitātes Ētikas komitejas atļauju. Ētikas komitejas sēdes datums 12.09.2013.; skatīt pielikumu Nr.4.

Pētījuma protokols atbilst 1975. gada Helsinku deklarācijas ētikas vadlīnijām. No 2013. gada 1. janvāra līdz 2016. gada 31. decembrim tika veikta pacientu atlase dažādās Latvijas slimnīcās un ambulatorajās iestādēs – Vidzemes slimnīcā (Valmiera), P. Stradiņa Klīniskās universitātes slimnīcā (Rīga) un Zemgales veselības centrā (Jelgava). 102 cilvēki tika brīvprātīgi atlasīti pēc iekļaušanas un izslēgšanas kritērijiem un iedalīti divās pamatgrupās: kontroles grupā un AV stenozes grupā. Kontroles grupā tika iekļauti cilvēki bez AV stenozes vecumā no 50 līdz 80 gadiem, kas atbilst AV stenozes pacientu vecumam pēc 2012. gada Eiropas Kardiologu biedrības un Eiropas Sirds un Torakālo Ķirurģu asociācijas darba grupas sirds vārstuļu slimību ārstēšanas vadlīnijām (*Vahanian et al.*, 2012). Kontroles grupa tika izveidota ar mērķi noteikt citokīnu referentās vērtības un tās salīdzināt ar aortas stenozes pacientu rezultātiem. Pētījumā tika iekļauti 28 (27%) vīrieši un 74 (73%) sievietes; skatīt 2.1. tabulu. No katra pētījumā iekļautā cilvēka tika iegūta rakstiski apstiprināta informācija cilvēka piekrišana dalībai pētījumā.

2.1. tabula

Pētījuma personu pamatdati

		Kontrole, n = 50	AV viegla stenoze, n = 18	AV vidēja stenoze, n = 19	AV smaga stenoze, n = 15
Dzimums, (%)	Vīrieši	11 (22,0)	2 (11,1)	8 (42,1)	7 (46,7)
	Sievietes	39 (78,0)	16 (88,9)	11 (57,9)	8 (53,3)
Vecums, gadi	<i>Mdn</i> <i>(IQR)</i>	62 (57–75)	71 (65–75)	74 (65–79)	65 (60–74)

2.2. Pētījuma personu iekļaušanas un izslēgšanas kritēriji

Pētījuma sākumā no katras personas abās pētījuma grupās tika ievākta slimību anamnēze, veikta personu anketēšana par kardiovaskulārās sistēmas stāvokli un jautājumiem, kas saistīti ar iekļaušanas un izslēgšanas kritērijiem, lietotajiem medikamentiem un veiktajiem izmeklējumiem; skatīt pielikumu Nr.3. Pirms iekļaušanas pētījumā tika iegūti un analizēti:

- pacienta vispārējie/demogrāfiskie dati;
- subjektīvā stāvokļa dati (kardiovaskulāro slimību anamnēze, mērķtiecīgi jautājumi kardiovaskulāro slimību izzināšanai);
- laboratoriskie dati (pilna asins aina + eritrocītu grimšanas ātrums (EGĀ), asins bioķīmiskie rādītāji);
- noteikts potītes brahiālais indekss (ABI);
- abpusēji mērīts intīmas un mēdijas slāņa biezums (IMT, *intima-media thickness*) kopējā miega artērijā (*arteria carotis comunis*);
- ehokardiogrāfija, kas apstiprina vai izslēdz aortas vārstuļa stenozi.

Indivīdi kontroles grupā tika iekļauti atbilstoši ehokardiogrāfiski apstiprinātam veselam aortas vārstulim. Izslēgšanas kritēriji abās grupās – kontroles un AVS grupā bija:

- aptaukošanās;
- saistaudu sistēmas slimības, infekcijas slimības, onkoloģiskas slimības;
- cukura diabēts;
- vairogdziedzera disfunkcija;
- smaga, vidēji smaga un nekontrolēta arteriāla hipertensija;
- akūts koronārais sindroms anamnēzē un manifesta koronārā sirds slimība;
- kreisā kambara sistoliska disfunkcija ar samazinātu EF zem 50%;
- smadzeņu infarkts un tranzitora išēmiska lēkme anamnēzē;
- ehokardiogrāfiski apstiprināta kardiomiopātija;
- vizuāla AV skleroze;
- citu vārstuļu patoloģijas;
- netiek lietota lipīdus zeminoša terapija.

Izslēgšanas kritērijs aortas vārstuļa stenozes pacientu grupā bija iedzimts (piemēram, divviru aortas vārstulis) un reimatisks aortas vārstuļa bojājums.

Visām pētījuma personām pirms iekļaušanas pētījumā tika noteikts. Sākotnēji šis indekss tika piedāvāts apakšējo ekstremitāšu perifēro artēriju slimības (PAS) neinvazīvai diagnostikai. Vēlāk tika pierādīts, ka ABI ir aterosklerozes indikators arī citiem asinsvadiem un var kalpot par sirds un asinsvadu notikumu un funkcionālo traucējumu prognozēšanas

marķieri. ABI ir attiecība starp sistoliskajiem spiedieniem, kas mērīti potītes līmenī uz *a. tibialis posterior* vai *a. dorsalis pedis* un uz augšdelma artērijas. Iegūtie rezultāti tika vērtēti atbilstoši Amerikas Sirds Asociācijas rekomendācijām (Aboyans et al., 2012): 1,4 un > liecina par kalcificētu, nespiežamu artēriju; 1,0–1,39 normāls ABI, ja ir mijklibošana, tad veic testu ar slodzi; 0,91–0,99 iespējams, ka pastāv perifēro artēriju slimība; < 0,9 pastāv perifēro artēriju slimība; ≤ 0,5 smaga išēmija un < 0,4 kritiska išēmija.

Visiem pētījumā iekļautajiem indivīdiem tika noteikts IMT kopējās miega artērijās, tas tika vērtēts kā normāls, ja < 0,9 mm un nav vizualizējamās aterosklerotiskas pangas.

Visiem pētījumā iesaistītajiem indivīdiem ehokardiogrāfijas izmeklējuma laikā tika noteikta izsviedes frakcija (EF), izmantojot Simpsona metodi – divplakņu disku metode (izvēles metode), sadalot KK dobumu elipsveida diskos (parasti 20) un analizējot to summārā apjoma izmaiņas. Katra diska viens diametrs tiek noteikts A4CH (apikālā četru kameru pozīcija), otrais – A2CH (apikālā divu kameru pozīcija) pozīcijā. Manuāli diastoles un sistoles beigās apvelk KK endokarda robežu, izslēdzot papillāros muskuļus. Bazālais līmenis – taisna līnija, kas savieno MV gredzena laterālo un septālo malu A4CH pozīcijā un priekšējo un apakšējo malu A2CH pozīcijā.

Tika noteikts izsviedes tilpums (SV, no angļu val., *stroke volume*), norma: 55–100 ml. Izsviedes tilpums ir asins tilpums, ko sirds kreisais kambaris izgrūž vienas saraušanās laikā. SV nosaka, no kreisā kambara beigu diastoles tilpuma (KK EDV) atņemot kreisā kambara beigu sistoles tilpumu (KK ESV), izmantojot kreisā kambara izplūdes trakta (LVOT, no angļu val. *left ventricle outflow tract*) metodi. Pielietojot LVOT palielinājumu, izmēra tā diametru. LVOT diametru mēra sistolē 5–10 mm no aortas vārstuļa fibrozā gredzena. Izrēķina LVOT laukumu: $LVOT \text{ laukums} = \pi \times (LVOT \text{ diametrs})^2 / 4$. Izmēra LVOT VTI (ātruma laika integrālis, no angļu val., *velocity time integral*) A5CH pozīcijā ar pulsa vilņa doplerogrāfiju. Ultraskaņas staram jāiet paralēli asins plūsmai, un iegūto plūsmu attēlu apvelk. Izrēķina pēc formulas $SV = \pi \times (LVOT \text{ diametrs})^2 / 4 \times LVOT \text{ VTI}$.

2.3. Aortas vārstuļa stenozes diagnostika un izvērtēšana

Visām personām pirms iekļaušanas pētījumā tika veikta ehokardiogrāfija ar datu saglabāšanu, izmantojot ehokardiogrāfijas iekārtas: *GE VIVID 7 Dimension* un *Philips IE 33*. Katru ehokardiogrāfijas izmeklējumu izvērtēja divi ehokardiogrāfijas speciālisti. Pacienti ar aortas vārstuļa stenozi tika iedalīti, atkarībā no AVS smaguma pakāpes, trijās apakšgrupās – vieglā, vidēji smagā un smagā; skatīt 2.1. attēlu, vadoties pēc 2012. gada Eiropas Kardiologu

biedrības un Eiropas Sirds un Torakālo Ķirurģu asociācijas darba grupas sirds vārstuļu slimību ārstēšanas vadlīniju kritērijiem:

- aortas plūsmas ātrums – $V_{maks.}$ (m/s);
- vidējais spiediena gradients – PG vid. (mmHg);
- aortas vārstuļa atvere – AVA (cm^2);
- indeksētā aortas vārstuļa atvere – indeksētā AVA (cm^2/m^2).

Smaga AVS: $V_{maks.} > 4$ m/s, PG vid. > 40 mmHg, AVA $< 1,0$ cm^2 , indeksētā AVA $< 0,6$ cm^2/m^2 ; vidēji smaga AVS: $V_{maks.}$ 3,0–4,0 m/s, PG vid. 20–40 mmHg, AVA 1,0–1,5 cm^2 , indeksētā AVA 0,60–0,85 cm^2/m^2 ; viegla AVS: $V_{maks.}$ 2,5–2,9 m/s, PG vid. < 20 mmHg, AVA $> 1,5$ cm^2 , indeksētā AVA $> 0,85$ cm^2/m^2 .

2.4. Pētījuma shēma

2.1. attēls. Pētījuma shēma

2.5. Pētījumā izmantotais materiāls

Pētījuma analīžu veikšanai tika izmantots asins serums un plazma. Visām pētījumā iesaistītajām personām tika paņemti perifēro asiņu paraugi. Venozās asinis tika ņemtas tukšā dūšā no rīta. No asins paraugiem tika iegūta plazma un serums. Asinis seruma iegūšanai tika savāktas vakutaineros bez antikoagulantā ar speciālu asins sarecinātāju. Vienas stundas jeb 60 min laikā pēc asins paņemšanas brīža ieguva serumu, centrifugējot asins paraugus vakutaineros 10 minūtes ar ātrumu $\sim 1000\text{--}2000 \times g$. Plazmas iegūšanai tika izmantoti

vakutaineri ar EDTA. Šūnas tika atdalītas no plazmas, centrifugējot 15 minūtes ar ātrumu $1000\text{--}2000 \times g$, izmantojot atdzesētu centrifūgu un tika savākts centrifugāta virsējais slānis – plazma.

Iegūto serumu un plazmu sadalīja pa koniskiem Ependorfa stobriņiem (to tilpums 1,5ml). Katrai pētījuma personai tika sagatavoti 7 Ependorfa stobriņi pa 200 μ L seruma un 5 Ependorfa stobriņi pa 200 μ L plazmas. Ependorfa stobriņus ielika speciālā Ependorfa kastītē un sasaldēja uzreiz pēc materiāla iegūšanas -20°C (Ependorfa stobriņus marķēja ar „īsu-precīzu identifikāciju” – katram pacientam specifisku un atšķirīgu kontroles un aortas stenozes grupām, vienlaikus izveidojot indentifikācijas atšifrējumu – sarakstu papīra un elektroniskā formātā. Iegūtie seruma un plazmas paraugi tika uzglabāti ledusskapī ar temperatūras kontroli pie -80°C (Rīgas Stradiņa universitātes Cilvēka fizioloģijas un bioķīmijas katedras laboratorijā).

2.6. Klīniski laboratorisko rādītāju noteikšana

Visām pētījumā iesaistītajām personām VSIA “Paula Stradiņa klīniskā universitātes slimnīca” sertificētā laboratorijā tika noteikta asins aina (eritrocītu skaits, hemoglobīna līmenis, trombocītu skaits, leukocītu skaits, hematokrīts, eritrocītu grimšanas ātrums (EGĀ)) un veiktas asins bioķīmiskās analīzes (glikoze, fibrinogēns, holesterīns ar frakcijām, C-reaktīvais proteīns), pielietojot standarta laboratoriskās noteikšanas metodes; skatīt 2.2. tabulu.

Kopējo holesterīnu (KH) noteica, izmantojot komerciāli pieejamu testu (CHOL_2, *Siemens Healthcare Diagnostics Inc., Tarrytown, ASV*), kam pamatā ir enzimatiska metode. Triglicerīdus (TG) noteica, izmantojot komerciāli pieejamu testu (TRIG_2, *Siemens Healthcare Diagnostics Inc., Tarrytown, ASV*), kas balstīts uz Fossati trīspakāpju enzimatisku reakciju ar Trinder parametru. Augsta blīvuma lipoproteīnu holesterīnu (ABL-H) un zema blīvuma lipoproteīnu holesterīnu (ZBL-H) noteica, izmantojot komerciāli pieejamus testus (D-HDL un DLDL, *Siemens Healthcare Diagnostics Inc., Tarrytown, ASV*), izmantojot tiešo metodi. Kopējo holesterīnu, triglicerīdus, ABL-H un ZBL-H noteica, izmantojot *Siemens Advia 1800* analizatoru (*Siemens Healthcare Diagnostics Inc., Tarrytown, NY, ASV*) saskaņā ar ražotāja protokolu.

C-reaktīvais proteīns tika noteikts, izmantojot daļiņu uzlaboto turbidimetrisko metodi. Cilvēka CRP tika noteikts, izmantojot komerciāli pieejamo testu, kur CRP tika aglutinēts ar lateksa daļiņām, kas pārklātas ar monoklonālām anti-CRP antivielām (CRPLX, *Roche Diagnostics*, Bāzele, Šveice). Nogulsnes noteica turbidimetriski pie 552 nm. Metode tika

veikta, izmantojot Roche Cobas Integra 400 Plus analizatoru (*Roche Diagnostics*, Bāzele, Šveice) saskaņā ar ražotāja protokolu.

2.2. tabula

Noteikto laboratorisko rādītāju referentie intervāli

Nosakāmais rādītājs	Testēšanas metode	Referentais intervāls/ mērvienība
eritrocītu skaits	Šūnu skaita noteikšana ar hidrodinamiskās fokusēšanas DC (tiešās strāvas) metodi	vīriešiem $4,50\text{--}5,90 \times 10^{12}/\text{L}$ sievietēm $3,90\text{--}5,00 \times 10^{12}/\text{L}$
hemoglobīna līmenis	SLS-Hb metode	vīriešiem $13,5\text{--}17,5 \text{ g/dL}$ sievietēm $12,0\text{--}16,0 \text{ g/dL}$
hematokrīts	Aprēķins ar RBC impulsa augstuma noteikšanas metodi	vīriešiem $39\text{--}50\%$ sievietēm $35\text{--}45\%$
leikocītu skaits	plūsmas citometrijas metode	$4,0\text{--}10,0 \times 10^9/\text{L}$
trombocītu skaits	Šūnu skaita noteikšana ar hidrodinamiskās fokusēšanas DC (tiešās strāvas) metodi	$150\text{--}400 \times 10^9/\text{L}$
EGĀ	kapilārās fotometrijas metode	$1\text{--}30 \text{ mm/h}$
glikoze	heksokināzes metode	$4,1\text{--}5,9 \text{ mmol/l}$
CRP	turbidimetrijas metode	$0\text{--}5,0 \text{ mg/l}$
triglicerīdi	Fossati trīspakāpju enzimatiska reakcija	$< 1,7 \text{ mmol/l}$
kopējais holsterīns	enzimātiskā metode	$< 5,0 \text{ mmol/l}$
ABL-H	tiešā metode	$\geq 1,2 \text{ mmol/l}$ sievietēm $\geq 1,0 \text{ mmol/l}$ vīriešiem
ZBL-H	tiešā metode	$< 1,8 \text{ mmol/l}$, ja ļoti augsts risks $< 2,5 \text{ mmol/l}$, ja augsts risks $< 3,0 \text{ mmol/l}$, ja zems vai mērens risks
fibrinogēns	Klausa metodes modifikācija	$1,8\text{--}3,6 \text{ g/l}$

Rezultātu izmaiņas ārpus šiem referentajiem intervāliem tika interpretētas attiecīgi kā samazināts vai paaugstināts līmenis.

2.7. Šūnu producēto regulējošo molekulu (citokīnu) noteikšana

Analīzes tika noteiktas Rīgas Stradiņa Universitātes Cilvēka fizioloģijas un bioķīmijas katedras laboratorijā un Rīgas Stradiņa Universitātes Mikrobioloģijas un virusoloģijas institūta laboratorijā. Hemerīnu (ng/ml), FGF-21 (pg/ml), MMP-1 (pg/ml), MMP-3 (ng/ml), MMP-9 (pg/ml), TIMP-1 (pg/ml), TIMP-3 (pg/ml), TGF (pg/ml) noteica pētījuma personu asins serumā un MPO (ng/ml), TrxR1 (ng/ml) noteica asins plazmā, izmantojot enzīmu imūnsorbcijas testu (ELISA), bet hs-CRP (mg/l) noteica asins serumā, izmantojot *Luminex xMAP* tehnoloģiju.

MMP-1 noteikšanai asins serumā tika pielietots cilvēka MMP-1 ELISA analīžu veikšanas komplekts, Kat. #EHMMP1, *Pierce (Thermo Fisher Scientific)*, ASV; MMP-3 noteikšanai asins serumā tika pielietots cilvēka MMP-3 ELISA analīžu veikšanas komplekts, Kat. #ELH-MMP3, *RayBiotech*, ASV; MMP-9 noteikšanai asins serumā tika pielietots cilvēka MMP-9 ELISA analīžu veikšanas komplekts, Kat. #KHC3061, *Invitrogen (Thermo Fisher Scientific)*, ASV; TIMP-1 noteikšanai asins serumā tika pielietots cilvēka TIMP-1 ELISA analīžu veikšanas komplekts, Kat. #ab100651, *Abcam*, Apvienotā Karaliste; TIMP-3 noteikšanai asins serumā tika pielietots cilvēka TIMP-3 ELISA analīžu veikšanas komplekts, Kat. #ab119608, *Abcam*, Apvienotā Karaliste; Hemerīna noteikšanai asins serumā tika pielietots cilvēka hemerīna ELISA analīžu veikšanas komplekts, Kat. #EZHCMRN-57 K, *Merck Millipore*, ASV; FGF-21 noteikšanai asins serumā tika pielietots cilvēka FGF-21 ELISA analīžu veikšanas komplekts, Kat. #EZHFGF21-19k, *Merck Millipore*, ASV; TrxR1 noteikšanai asins plazmā tika pielietots cilvēka tioredoksīna-1 ELISA analīžu veikšanas komplekts, prod. #RAB1756/Lot #0522F2032, *Sigma-Aldrich, Inc.*, ASV; MPO noteikšanai asins plazmā tika pielietots cilvēka mieloperoksidāzes ELISA analīžu veikšanas komplekts Item. No. 501410, *Cayman chemical*, ASV; hs-CRP noteikšanai asins serumā tika izmantota *Luminex xMAP* tehnoloģija (*Luminex TM 200; Austin, Texas*, ASV) un analīžu veikšanas komplekts, Kat # HCVD3MAG-67K, *Milliplex MAP*, ASV).

Rezultāti tika iegūti, izmantojot *Infinite 200 PRO multimode* lasītāju (*Tecan* grupa, Mannedorfa, Šveice) un *Multiskan Ascent* mikroplašu lasītāju (*Thermo Labsystems*, Helsinki, Somija). Procedūras tika veikta saskaņā ar ELISA komplekta ražotāja protokolu.

2.8. Pētījumā iegūto datu statistiskā analīze

Visi pētījumā ietvertie grafiskie attēli, aprēķini un statistiskās analīzes tika veiktas, izmantojot *IBM SPSS (Statistical Package for the Social Sciences) Statistics 23 (IBM Corp., Armonk, NY, ASV)* un *GraphPad Prism 7.0 software (GraphPad Software, San Diego, CA, ASV)*, kā arī *Microsoft Excel 2013 (Microsoft, Redmond, WA, ASV)*.

Datu normālsadalījums tika pārbaudīts ar *Brown–Forsythe* un *Bartlett* testiem vai Kolmogorova–Smirnova vienas izlases testu. Ja datu izlases izkliede atbilda normālsadalījumam, tie tika attēloti kā vidējā vērtība (M) un standartnovirze ($\pm$ SD). Pretējā gadījumā dati attēloti kā mediāna un starpkvartiļu diapazons (IQR).

Normālsadalījuma datu (parametriskie dati) statistiskā analīze: vidējās vērtības starp divām atsevišķām grupām tika salīdzinātas, izmantojot Stjūdenta testu jeb t-testu; vidējās vērtības starp 3 un vairāk atsevišķām grupām tika salīdzinātas, izmantojot vienfaktora divvirzienu dispersijas analīzi (ANOVA).

Datu, kuru vērtības neatbilda normālsadalījumam (neparametrisko datu) statistiskā analīze: vidējās vērtības starp divām atsevišķām grupām tika salīdzinātas, izmantojot Manna–Vitnija (*Mann-Whitney*) U-testu; vidējās vērtības starp 3 un vairāk atsevišķām grupām tika salīdzinātas, izmantojot Kraskela–Volesa (*Kruskal-Wallis*) H-testu.

Visos gadījumos kā pēcanalīze (*post-hoc*) tika pielietota Bendžamina–Kriģera–Jekutieli (*Benjamin, Krieger and Yekutieli*) divpakāpju procedūra.

Rezultātu un datu uzskatāmākai atspoguļošanai, kas pēc sava sadalījumu vairāk atbilda logaritmiskajam datu sadalījumam, izmantoja ģeometrisku vidējo un ģeometrisku standarta novirzi.

P vērtība mazāka par 0,05 ($p < 0,05$) tika uzskatīta par statistiski nozīmīgu visiem pielietotajiem statistikas testiem. Kvantitatīvo mainīgo attiecību pētīšanai tika izmantota korelācijas analīzes metode. Atkarībā no datu sadalījuma mēs izmantojām parametrisko Pīrsona (*Pearson*) vai neparametrisko Spīrmena (*Spearman*) korelācijas analīzi.

AV stenozes diagnostisko marķieru raksturojumam tika lietoti šādi rādītāji: ROC līkne, laukums zem ROC līknes, no tām iegūtā robežvērtība, testa jutīgums un specifiskums, pozitīvā un negatīvā prognostiskā vērtība, sasniedzot attiecīgās robežvērtības. Diagnostikas testa precizitāte tika novērtēta pēc laukuma zem ROC līknes vērtībām, atbilstoši šai klasifikācijai: 0,90–1 = lieliska; 0,80–0,90 = laba; 0,70–0,80 = apmierinoša; 0,60–0,70 = slikta; un $< 0,60$ = nav diagnostiskās vērtības.

3. REZULTĀTI

3.1. Pētījuma pacientu un kontroles grupas indivīdu pamatdatu raksturojums

Pētījumā iekļauto personu pamatdati ir atspoguļoti 3.1. tabulā. Kopumā 102 cilvēki tika iekļauti pētījumā – 50 personas bez AVS kontroles grupā un 52 pacienti AVS grupā. AVS grupas pacienti tika sadalīti trijās AV stenozes smaguma grupās: 18 pacienti ar vieglu AVS, 19 ar vidēji smagu AVS un 15 pacienti ar smagu AVS. Koncentrēšanās uz stingriem klīniskajiem un ehokardiogrāfijas izslēgšanas kritērijiem ļāva mums izvēlēties vispiemērotākās pētījumu grupas. Lai gan pacientu skaits apakšgrupās bija ierobežots, datu statistiskās analīzes rezultāti atklāja nozīmīgas p vērtības robežās no $p < 0,05$ – $p < 0,0001$.

Vidējais pacientu vecums visās aortas stenozes pakāpēs un kontroles grupā ir līdzīgs, un vidējais ķermeņa masas indekss (KMI) starp grupām neatšķiras. Triglicerīdu un zema blīvuma lipoproteīnu holesterīna (ZBL-H) vidējās vērtības nav būtiski atšķirīgas starp stenozes grupām un kontroles grupu. Grupas ir līdzīgas attiecībā uz izsviedes frakcijas (EF) vidējām vērtībām, kas tika noteiktas pēc Simpsona metodes un izsviedes tilpuma (SV), kas tika mērīts pēc kreisā kambara izplūdes trakta metodes, kā arī saskaņā ar iekļaušanas un izslēgšanas kritērijiem.

3.1. tabula

Kontroles grupas indivīdu un AVS grupas pacientu pamatdati

		Kontrole, n = 50	AV viegla stenoze, n = 18	AV vidēja stenoze, n = 19	AV smaga stenoze, n = 15
Dzimums, (%)	Vīrieši Sievietes	11 (22,0) 39 (78,0)	2 (11,1) 16 (88,9)	8 (42,1) 11 (57,9)	7 (46,7) 8 (53,3)
Vecums, gadi	<i>Mdn</i> (<i>IQR</i>)	62 (57–75)	71 (65–75)	74 (65–79)	65 (60–74)
^a KMI	<i>M</i> ($\pm$ <i>SD</i>)	26,04 (4,31)	27,39 (3,10)	25,81 (4,58)	27,40 (3,18)
	<i>p</i> vērtība vs kontrole		<i>p</i> = 0,399	<i>p</i> = 0,682	<i>p</i> = 0,869
^b ZBL-H, mmol/l	<i>M</i> ($\pm$ <i>SD</i>)	3,28 (1,18)	3,05 (0,97)	2,59 (0,92)	3,10 (1,12)
	<i>p</i> vērtība vs kontrole		<i>p</i> > 0,999	<i>p</i> = 0,057	<i>p</i> > 0,999

	Kontrole, n = 50	AV viegla stenoze, n = 18	AV vidēja stenoze, n = 19	AV smaga stenoze, n = 15
^c TG, mmol/l <i>M (± SD)</i>	1,47 (0,71)	1,64 (0,84)	1,11 (0,56)	1,27 (0,57)
<i>p vērtība vs kontrole</i>		<i>p</i> = 0,406	<i>p</i> = 0,178	<i>p</i> = 0,406
^d KH, mmol/l <i>M (± SD)</i>	5,49 (1,28)	5,01 (1,34)	4,21 (1,18)	4,68 (1,08)
<i>p vērtība vs kontrole</i>		<i>p</i> = 0,056	<i>p</i> = 0,001	<i>p</i> = 0,016
^e CRP, mg/l <i>Mdn (IQR)</i>	0,95 (0,50–2,55)	3,00 (1,50–3,70)	1,75 (0,37–2,97)	1,2 (0,70–5,00)
<i>p vērtība vs kontrole</i>		<i>p</i> = 0,016	<i>p</i> = 0,37	<i>p</i> = 0,17
^f SV, ml <i>Mdn (IQR)</i>	96,5 (90,0–106,3)	100,0 (90,0–110,0)	96,0 (88,0–100,0)	90,0 (88,0–95,0)
<i>p vērtība vs kontrole</i>		<i>p</i> = 0,716	<i>p</i> = 0,375	<i>p</i> = 0,103
^g EF %, <i>Mdn (IQR)</i>	63,5 (57,7–68,0)	60,0 (57,5–63,5)	61,0 (58,0–66,0)	60,0 (57,0–64,0)
<i>p vērtība vs kontrole</i>		<i>p</i> = 0,347	<i>p</i> = 0,981	<i>p</i> = 0,347
^h SVI, ml/m ² <i>Mdn (IQR)</i>	52,2 (46,3–59,1)	53,6 (49,6–60,2)	49,4 (47,4–52,1)	49,7 (42,9–52,7)
<i>p vērtība vs kontrole</i>		<i>p</i> = 0,767	<i>p</i> = 0,288	<i>p</i> = 0,157

^a KMI (ķermeņa masas indekss), rādītājs, ko izsaka kā svara un kvadrātā kāpināta auguma garuma attiecību (kg/m²);

^b ZBL-H - zema blīvuma lipoproteīnu holesterīns;

^c TG – triglicerīdi;

^d KH – kopējais holesterīns;

^e CRP – C-reaktīvais proteīns;

^f SV – izsviedes tilpums, aprēķināts pēc kreisā kambara izplūdes trakta metodes;

^g EF – izsviedes frakcija, aprēķināta pēc Simsona metodes;

^h SVI (izsviedes tilpuma indekss), rādītājs, ko izsaka kā SV un ķermeņa virsmas laukuma attiecību (ml/m²).

3.2. Šūnu producēto regulējošo molekulu (citokīnu) analīžu rezultāti

3.2.1. Hemerīns

Cirkulējošos biomarķierus plaši izmanto, lai noteiktu daudzu slimību, tai skaitā kardiovaskulāro, risku. Ņemot vērā, ka hemerīns var ietekmēt iekaisuma un kalcifikācijas procesus, mēs pētījām tā nozīmi un potenciālo diagnostisko vērtību, salīdzinot kontroles grupas cilvēkus ar AVS dažādas smaguma pakāpes pacientiem.

3.1. attēls. Hemerīna līmenis serumā kontroles un AVS grupā

Salīdzinot kontroles grupas cilvēkus ar visiem AVS pacientiem, konstatē būtiski augstāku hemerīna līmeni AVS pacientu grupā ($p < 0,0001$); skatīt 3.1. attēlu.

Analizējot hemerīna līmeni visas trijās AVS smaguma pakāpēs, iegūst statistiski nozīmīgas atšķirības salīdzinot ar kontroles grupu; skatīt 3.2. attēlu. Viegļai stenozei iegūst visaugstāko hemerīna līmeni ($p = 0,0001$), bet smagai stenozei viszemāko hemerīna līmeni ($p = 0,042$), salīdzinot ar kontroles grupas indivīdiem. Hemerīna līmenis samazinās, pieaugot stenozes smaguma pakāpei un smagas stenozes pacientiem novēro zemāko hemerīna līmeni asins serumā. Novēro būtisku atšķirību ($p < 0,05$) starp hemerīna līmeni vieglas un smagas AV stenozes pacientiem.

3.2. attēls. Hemerīna seruma līmenis kontroles grupā un pacientiem visās AVS smaguma pakāpēs

3.3. attēls. Hemerīna seruma līmeņa regresijas līkne, saistība ar AVS smaguma pakāpēm

Veicot lineārās regresijas analīzi, vēro būtisku hemerīna līmeņa samazināšanos, pieaugot AVS smaguma pakāpei ($p = 0,047$); skatīt 3.3. attēlu.

Izvērtējot hemerīna kā biomarkiera patenciālo nozīmi, tika veikta ROC līkņu (*Receiver-Operating Characteristic Curves*) analīze. No sākuma tika vērtēta seruma hemerīna diagnostiskā precizitāte visu smaguma pakāpju aortas stenozes pacientu grupā pret kontroles grupas indivīdiem; skatīt 3.2. tabulu un 3.4. attēlu.

3.2. tabula

Hemerīna (ng/ml) jutīgums un specifiskums visu smaguma pakāpju (vieglas, vidējas, smagas) aortas vārstuļa stenozes pacientiem

^a AUC (95% CI)	p vērtība	Robež vērtība	^b Sp %	^c Se %	^d NPV %	^e PPV %	Precizitāte %
0.76 (0.67–0.85)	< 0,001	38,60	55	80	72,2	63,6	67,5

^a AUC, laukums zem ROC līknes; ^b Sp, specifiskums; ^c Se, jutīgums; ^d NPV, negatīvā prognostiskā vērtība; ^e PPV, pozitīvā prognostiskā vērtība

3.4. attēls. Hemerīna un FGF-21 kā diagnostisko marķieru ROC analīze AVS diagnostikā (iekļauti visu smaguma pakāpju pacienti) pret kontroles grupu

Tika izvērtēta seruma hemerīna kā iespējamā biomarķiera prognostiskā vērtība vieglas pakāpes AVS pacientiem pret kontroles grupas indivīdiem; skatīt 3.3. tabulu un 3.5. attēlu.

3.3. tabula

Hemerīna (ng/ml) jutīgums un specifiskums vieglas pakāpes aortas vārstuļa stenozes pacientiem

^a AUC (95% CI)	^p vērtība	Robež vērtība	^b Sp %	^c Se %	^d NPV %	^e PPV %	Precizitāte %
0,82 (0,70-0,95)	< 0,001	43,12	69	87	75,5	71,9	78

^a AUC, laukums zem ROC līknes; ^b Sp, specifiskums; ^c Se, jutīgums; ^d NPV, negatīvā prognostiskā vērtība; ^e PPV, pozitīvā prognostiskā vērtība

3.5. attēls. Hemerīna un FGF-21 kā diagnostisko marķieru ROC analīze vieglas AVS diagnostikā pret kontroles grupu

Izvērtējot hemerīna kā biomarkiera potenciālo nozīmi visai AVS pacientu grupai, (iekļaujot visas smaguma pakāpes) ieguvām rezultātus, ka hemerīns ir vidējs diagnostiskais marķieris: $AUC = 0,76$; $0,70-0,80 = \text{vidējs}$; $p < 0,001$; $Sp - 55\%$ un $Se - 80\%$. Tajā pašā laikā ROC analīze parādīja, ka seruma hemerīns ir pietiekami specifisks un jutīgs biomarkieris vieglas aortas stenozes diagnostikai: $AUC = 0,82$; $0,80-0,90 = \text{labs}$; $p < 0,001$; jutīgums ir 87% un specifiskums ir 69% .

3.2.2. Fibroblastu augšanas faktors-21

Visām pētījumā iesaistītajām personām tika noteikts FGF-21 asins serumā. Tika pētīta tā nozīme un potenciālā diagnostiskā vērtība, salīdzinot kontroles grupas cilvēkus ar AVS dažādas smaguma pakāpes pacientiem.

3.6. attēls. FGF-21 līmenis serumā kontroles un AVS grupā

Pacientiem ar aortas vārstuļa stenozi ir augstāks FGF-21 līmenis nekā kontroles grupas cilvēkiem ($p = 0,011$); skatīt 3.6. attēlu.

Salīdzinot FGF-21 seruma līmeni pacientiem katrā smaguma pakāpē ar kontroles grupas indivīdiem, vēro statistiski nozīmīgu FGF-21 pieaugumu, progresējot aortas vārstuļa stenozei: vieglas pakāpes AVS ($p = 0,013$), vidēji smagas pakāpes AVS ($p = 0,015$) un smagas pakāpes AvS ($p = 0,003$); skatīt 3.7. attēlu.

Veicot lineārās regresijas analīzi, novēro būtisku FGF-21 seruma līmeņa pieaugumu no vieglas līdz smagai AVS pakāpei ($p = 0,0103$). FGF-21 pieaugums visās AVS pakāpēs apliecina, ka FGF-21 atspoguļo oksidatīvo stresu, audu bojājumu. Smagā AVS pakāpē, kad ir visizteiktākās vārstuļa audu pārmaiņas, atrod arī augstāko FGF-21 līmeni; skatīt 3.8. attēlu.

3.7. attēls. FGF-21 seruma līmenis kontrolēs grupā un pacientiem visās AVS smaguma pakāpēs

3.8. attēls. FGF-21 seruma līmeņa regresijas līkne, saistība ar AVS smaguma pakāpēm

Izvērtējot FGF-21 kā biomarkiera potenciālo nozīmi, tika veikta ROC līkņu analīze. No sākuma tika vērtēta seruma FGF-21 diagnostiskā precizitāte visu smaguma pakāpju aortas stenozes pacientu grupā pret kontrolēs grupas indivīdiem; skatīt 3.4. tabulu un 3.4. attēlu.

FGF-21 (pg/ml) jutīgums un specifiskums visu smaguma pakāpju (viegla, vidēja, smaga) aortas vārstuļa stenozes pacientiem

^a AUC (95% CI)	p vērtība	Robež vērtība	^b Sp %	^c Se %	^d NPV %	^e PPV %	Precizitāte %
0,67 (0,56–0,77)	0,003	309,83	67	61,5	61,5	66,6	64,2

^a AUC, laukums zem ROC līknes; ^b Sp, specifiskums; ^c Se, jutīgums; ^d NPV, negatīvā prognostiskā vērtība; ^e PPV, pozitīvā prognostiskā vērtība

Tika izvērtēta seruma FGF-21 kā iespējamā biomarkķiera prognostiskā vērtība vieglas pakāpes AVS pacientiem pret kontroles grupas indivīdiem; skatīt 3.5. tabulu un 3.5. attēlu.

FGF-21 (pg/ml) jutīgums un specifiskums vieglas pakāpes AVS pacientiem

^a AUC (95% CI)	p vērtība	Robež vērtība	^b Sp %	^c Se %	^d NPV %	^e PPV %	Precizitāte %
0,66 (0,51–0,81)	0,04	283,78	61	75	64,4	65,4	68

^a AUC, laukums zem ROC līknes; ^b Sp, specifiskums; ^c Se, jutīgums; ^d NPV, negatīvā prognostiskā vērtība; ^e PPV, pozitīvā prognostiskā vērtība

Izvērtējot FGF-21 kā biomarkķiera potenciālo nozīmi visai AVS pacientu grupai kopā (iekļaujot visas smaguma pakāpes) ieguvām rezultātus, ka FGF-21 ir slikts diagnostiskais marķieris: AUC = 0,67 (0,56–0,77); p = 0.003; Sp – 67% un Se – 61,5%. ROC analīze arī parādīja, ka seruma FGF-21 ir slikts diagnostiskais marķieris vieglas aortas stenozes noteikšanai: AUC = 0,66 (0,51–0,81); p = 0,04; jutīgums ir 61%, un specifiskums ir 75%. Kopumā FGF-21 vērtējams kā vājš AVS biomarkķieris.

Analizējot saistības starp hemerīnu, FGF-21 un ABL-H:

- kontroles grupā atrod, ka augstāks FGF-21 līmenis ir saistīts ar augstāku hemerīna līmeni (p = 0,019; r_p = 0,337); nav saistības starp hemerīnu un ABL-H; skatīt 3.9.A attēlu;
- aortas vārstuļa stenozes pacientu grupā arī atrod līdzīgu saistību, ka augstāks FGF-21 līmenis ir saistīts ar augstāku hemerīna līmeni (p = 0,012; r_p = 0,348), nav saistības starp hemerīnu un ABL-H; skatīt 3.9.B attēlu.

A

B

3.9. attēls. Korelatīvā sakarība starp seruma FGF-21 un hemerīna, hemerīna un ABL-H koncentrācijām kontroles grupai (A) un AVS grupai (B)

3.2.3. C reaktīvais proteīns

Mūsu pētījumā, analizējot CRP vērtības starp kontroles grupu un AVS grupas visām trim smaguma pakāpēm, tika iegūta statistiski nozīmīga atšķirība starp kontroles grupu un vieglas AVS grupu ($p = 0,016$); skatīt 3.10. attēlu.

Vieglas AVS grupā CRP seruma līmenis ir paaugstināts, salīdzinot ar kontroles grupu, kā arī vidēju un smagu AVS grupu. Kaut arī mūsu pētījumā, cik vien varējām, tika izslēgti visi iespējamie cēloņi, kas var izraisīt paaugstinātu CRP līmeni, mēs nenovērojam CRP pieaugumu, progresējot AVS pakāpēm.

3.10. attēls. CRP seruma līmenis kontrolē grupā un pacientiem visās AVS smaguma pakāpēs

3.2.4. Matrices metaloproteināzes un to audu inhibitori

Līdz šim AVS pacientiem MMP un TIMP ir pētīts audu histoloģiskajos materiālos pēc veiktas aortas vārstuļa protezēšanas operācijas.

Mēs noteicām MMP-1, MMP-3, MMP-9 un atbilstoši TIMP-1 un TIMP-3 asins serumā. Mēs varam novērtēt ne tikai kontrolē grupu pret smagu AVS, bet analizēt arī MMP un TIMP līmeni visās aortas vārstuļa stenozes pakāpēs.

Salīdzinot MMP-1 līmeni kontrolē grupā un AVS grupā, konstatē būtiski augstāku ($p = 0,0043$) MMP-1 līmeni aortas vārstuļa stenozes pacientu grupā, bet vēro multimodālu iegūto rezultātu sadalījumu; skatīt 3.11. un 3.12. attēlu.

3.11. attēls. Seruma MMP-1 līmenis kontroles un AVS pacientu grupā, ar elipsēm iezīmēti iespējamie klasteri

3.12. attēls. Seruma MMP-1 līmenis kontroles grupā un AVS pacientu grupā, ar elipsēm iezīmēti iespējamie klasteri

Lai precīzāk noteiktu, kā atšķiras AVS un kontroles grupas rezultāti, tos analizēja, izmantojot datu sadalījuma histogrammas; skatīt 3.13. un 3.14. attēlu.

3.13. attēls. MMP-1 datu sadalījuma histogramma, ar riņķa līnijām apvilktas modas

Ar datu sadalījuma histogrammu palīdzību noteica, ka MMP-1 rezultātu sadalījums AVS pacientu grupā ir trimodāls, bet kontroles indivīdu grupā – monomodāls.

3.14. attēls. Salīdzinošais MMP-1 datu sadalījums starp kontroles indivīdu un AVS pacientu grupām

80% pacientu aortas vārstuļa stenozes grupā ir būtiski ($p < 0,0001$) augstāks MMP-1 līmenis nekā kontroles grupā, bet 20% pacientu ar aortas vārstuļa stenozi MMP-1 līmenis ir kontroles grupas līmenī; skatīt 3.15. attēlu.

3.15. attēls. **Seruma MMP-1** (augšējais klusters, kas atbilst 80% pacientu, skatīt 3.11. attēlu) **līmenis kontroles un AVS pacientu grupā**

Analizējot MMP-1 līmeņa atšķirības starp kontroles grupu un trīs aortas vārstuļa stenozes smaguma pakāpēm, visaugstākais MMP-1 līmenis ir vidējās AVS pakāpē ($p < 0,0001$), zemāks MMP-1 seruma līmenis ir smagas AVS pakāpē ($p = 0,012$) un vēl zemāks līmenis ir vieglas aortas vārstuļa stenozes pakāpē ($p = 0,031$); skatīt 3.16. attēlu.

3.16. attēls. **MMP-1 seruma līmenis kontroles grupā un pacientiem visās AVS smaguma pakāpēs**

Pētījuma gaitā kontroles grupai un AVS grupas pacientiem asins serumā tika noteiktas un analizētas tādas matricas metaloproteināzes kā MMP-3 un MMP-9. Kā arī tika analizētas šīm matricas metaloproteināzēm atbilstošie audu inhibitori – attiecīgie TIMP-1 un TIMP-3.

3.17. attēls. **MMP-3 seruma līmeņi kontroles un AVS pacientu grupā**

3.18. attēls. **MMP-9 seruma līmeņi kontroles un AVS pacientu grupā**

Analizējot MMP-3 seruma līmeni kontroles grupā un aortas vārstuļa stenozes grupā, netika atrastas būtiskas atšķirības; skatīt 3.17. attēlu. Tāpat netika atrastas statistiski nozīmīgas atšķirības starp kontroles grupas indivīdiem un aortas vārstuļa stenozes pacientiem, pētījumā analizējot MMP-9 rezultātus; skatīt 3.18. attēlu.

Analizējot matricas metaloproteināzēm atbilstošo audu inhibitoru – TIMP-1 un TIMP-3 seruma līmeņus kontroles grupā un aortas vārstuļa stenozes grupā, netika iegūtas būtiskas atšķirības starp pētījuma grupām; skatīt 3.19. un 3.20. attēlu.

3.19. attēls. TIMP-1 seruma līmeņi kontroles un AVS pacientu grupā

3.20. attēls. TIMP-3 seruma līmeņi kontroles un AVS pacientu grupā

Pētījuma gaitā tika meklētas un analizētas iespējamās saistības starp MMP-1 un TIMP-1, kā arī MMP-3, MMP-9 un TIMP-3. Lai noteiktu iespējamās saistības starp matricē metaloproteināzēm, matricē metaloproteināžu audu inhibitoriem, tika veiktas korelācijas analīzes; skatīt 3.21. attēlu.

3.21. attēls. Korelatīvā sakarība starp MMP-1 un MMP-9 koncentrāciju AVS pacientu grupā

Veicot korelācijas analīzi starp MMP-1 un MMP-9, mēs ieguvām sakarību ($p = 0,017$; $r_p = 0,37$): pieaugot MMP-1 līmenim aortas vārstuļa stenozes pacientiem, paaugstinās arī MMP-9 seruma līmeņi.

Pētījuma gaitā tika analizēta sakarība starp MMP-1 un MMP-3, kā arī MMP-1 un TIMP-1. Neatrod sakarību starp MMP-1 un MMP-3, kā arī starp MMP-1 un TIMP-1; skatīt 3.22. un 3.23. attēlu.

3.22. attēls. Korelatīvā sakarība starp MMP-1 un MMP-3 koncentrāciju AVS pacientu grupā

3.23. attēls. Korelatīvā sakarība starp MMP-1 un TIMP-1 koncentrāciju AVS pacientu grupā

Pētījumā netika iegūta sakarība starp asins serumā esošo MMP-9 un TIMP-1 koncentrāciju; skatīt 3.24. attēlu.

3.24. attēls. Korelatīvā sakarība starp TIMP-1 un MMP-9 koncentrāciju AVS pacientu grupā

Tika veikta arī korelācijas analīze starp MMP-9, MMP-3, MMP-1 un hemerīnu; skatīt 3.25., 3.26. un 3.27. attēlu.

Novēroja sakarību ($p = 0,0084$; $r_p = 0,362$), ka augstāks hemerīna seruma līmenis ir saistīts ar augstāku MMP-9 seruma līmeni. Tas vēl vairāk pamato MMP-9 lomu un klātbūtni aortas vārstuļa stenoze procesā.

3.25. attēls. Korelatīvā sakarība starp hemerīna un MMP-9 koncentrāciju AVS pacientu grupā

3.26. attēls. Korelatīvā sakarība starp hemerīna un MMP-3 koncentrāciju AVS pacientu grupā

3.27. attēls. Korelatīvā sakarība starp hemerīna un MMP-1 koncentrāciju AVS pacientu grupā

3.2.5. Tioredoksīna reduktāze-1 (TrxR1)

Mēs analizējām asins plazmā antioksidantu tioredoksīna reduktāzi-1 (TrxR1). Nosakot TrxR1 līmeni plazmā kontroles grupas indivīdiem un aortas vārstuļa stenoze pacientiem, tika konstatēts būtiski augstāks tā līmenis AVS grupā ($p = 0,0016$); skatīt 3.28. attēlu.

3.28. attēls. **TrxR1 plazmas līmenis kontroles un AVS pacientu grupā**

Analizējot TrxR1 līmeņa atšķirības starp kontroles grupu un trim aortas vārstuļa stenozes smaguma pakāpēm, iegūstam būtiski ($p = 0,0001$) augstāku TrxR1 līmeni vieglas aortas stenozes pakāpē un pacientiem ar smagu aortas vārstuļa stenozi ($p = 0,039$); skatīt 3.29. attēlu.

3.29. attēls. **TrxR1 plazmas līmenis kontroles grupā un pacientiem visās AVS smaguma pakāpēs**

Tika veikta korelācijas analīze ar regresijas līknes izveidi, lai analizētu un meklētu iespējamās sakarības starp TrxR1 un pārējiem biomarkšiem.

Aortas vārstuļa stenozes grupā ieguvām vidēji izteiktu, bet statistiski nozīmīgu pozitīvu korelāciju starp TrxR1 un MMP-3 ($p = 0,013$; $r_p = 0,37$); skatīt 3.30. attēlu.

3.30. attēls. Korelatīvā sakarība starp TrxR1 un MMP-3 koncentrāciju kontrols grupas indivīdiem un AVS pacientiem

Turpretī tā izpalika starp TrxR1 un MMP-9, vai bija nebūtiska starp TrxR1 un MMP-9. Tomēr TrxR1 un MMP-1 gadījumā tika konstatēta būtiska atšķirība starp korelāciju raksturojošo līkņu slīpumiem ($p = 0,0216$), ja salīdzina kontroli ar AV stenozes grupu; turklāt pie AV stenozes korelācijai, salīdzinot ar kontroles grupu, kur novēro negatīvu virzienu ($r = -0,27$), ir pozitīva tendence ($r = 0,24$) un starpība starp abu grupu korelācijas koeficientiem, Δr , sasniedz 0,51 jeb $[0,24 - (-0,27)]$, t. i., paaugstinoties TrxR1 līmenim, pieaug arī MMP-1 līmenis; skatīt 3.31. attēlu.

3.31. attēls. Korelatīvā sakarība starp TrxR1 un MMP-1 koncentrāciju kontrols grupas indivīdiem un AVS pacientiem

Analizējot sakarību starp TrxR1 un hemerīnu, ar korelācijas metodi un regresijas līknes palīdzību tika noteikta būtiska ($p = 0,006$; $r_p = 0,32$) pozitīva saistība salīdzinot ar kontroli; skatīt 3.32. attēlu.

3.32. attēls. Korelatīvā sakarība starp TrxR1 un hemerīna koncentrāciju kontroles grupas indivīdiem un AVS pacientiem

Analizējot sakarību starp TrxR1 un FGF-21, arī noteikta būtiska pozitīva saistība ($p = 0,031$; $r_p = 0,25$); skatīt 3.33. attēlu.

3.33. attēls. Korelatīvā sakarība starp TrxR1 un FGF-21 koncentrāciju kontroles grupas indivīdiem un AVS pacientiem

3.2.6. Mieloperoksidāze (MPO)

Tika noteikts MPO līmenis kontroles grupā un aortas vārstuļa stenozes pacientiem visās trīs aortas vārstuļa stenozes smaguma pakāpēs. Mēs ieguvām statistiski nozīmīgu rezultātu, ka aortas vārstuļa stenozes pacientiem plazmas mieloperoksidāzes līmenis ir augstāks, salīdzinot ar kontroles grupu ($p < 0,00003$). Veicot izvērstu analīzi un salīdzinot mielopertoksidāzes plazmas līmeņus starp aortas vārstuļa stenozes smaguma pakāpēm, mēs ieguvām būtiskas atšķirības visās smaguma pakāpēs no kontroles grupas ($p < 0,02$ viegla stenoze; $p < 0,001$ vidēji smaga stenoze; $p < 0,0007$ smaga stenoze); skatīt 3.34. attēlu. Rezultāti liecina, ka mieloperoksidāzes līmenis palielinās līdz ar aortas vārstuļa stenozes smaguma pieaugumu un visaugstākais ir smagas stenozes pacientu grupā.

3.34. attēls. MPO plazmas līmenis kontroles grupai un AVS pacientiem

Ar korelācijas analīzes un regresijas līknes palīdzību tika izpētīta sakarība starp mieloperoksidāzi (MPO) un tioredoksīna reduktāzi-1(TrxR1) un iegūta vidēji izteikta, bet būtiska pozitīva saistība ($p = 0,008$; $r_p = 0,304$) – pieaugot mieloperoksidāzes līmenim plazmā, palielinās tioredoksīna reduktāzes-1 līmenis; skatīt 3.35. attēlu.

3.35. attēls. **Korelatīvā sakarība starp MPO un TrxR1 koncentrācijām kontroles grupas indivīdiem un AVS pacientiem**

Tāpat, izpētot sakarību starp MPO un hemerīnu, tika noteikta statistiski nozīmīga pozitīva ($p = 0,0057$; $r_p = 0,316$) saistība – pieaugot hemerīna līmenim serumā, palielinās mieloperoksidāzes līmenis; skatīt 3.36. attēlu.

3.36. attēls. **Korelatīvā sakarība starp MPO un hemerīna koncentrācijām kontroles grupas indivīdiem un AVS pacientiem**

Analizējot iespējamo saistību starp MPO un FGF-21, netika iegūtas statistiski nozīmīgas sakarības ($p < 0,05$) starp šiem biomarķieriem ne kontroles grupas indivīdiem, ne aortas vārstuļa stenozes pacientiem; skatīt 3.37. attēlu.

3.37. attēls. **Korelatīvā sakarība starp MPO un FGF-21 koncentrāciju kontroles grupas indivīdiem un AVS pacientiem**

Vērtējot sakarības starp mieloperoksidāzi un matricas metaloproteināzēm, mēs ieguvām būtisku pozitīvu ($p = 0,007$; $r_p = 0,37$) sakarību starp MPO un MMP-9 – palielinoties mieloperoksidāzes plazmas līmenim aortas vārstuļa stenozes pacientiem, pieaug arī MMP-9 līmenis; skatīt 3.38. attēlu.

3.38. attēls. **Korelatīvā sakarība starp MPO un MMP-9 koncentrāciju kontroles un AVS pacientiem**

Korelācijas un regresijas analīze norādīja uz negatīvu sakarību ($r_p = -0,28$; $p = 0,047$) starp MPO un ABL-H plazmas koncentrācijām AVS pacientu grupā: jo augstāks ir MPO līmenis, jo zemāks ir ABL-H līmenis; skatīt 3.39. attēlu.

3.39. attēls. Korelatīvā sakarība starp MPO un ABL-H kontrols grupas indivīdiem un AVS pacientiem

4. DISKUSIJA

Pētījuma izstrādes laikā tika pieņemtas 2017. gada Eiropas Kardiologu biedrības un Eiropas Sirds un Torakālo Ķirurģu asociācijas darba grupas sirds vārstuļu slimību ārstēšanas vadlīnijas (*Baumgartner et al., 2017*). Salīdzinot ar iepriekšējām 2012. gada vadlīnijām, Ehokg joprojām ir galvenā diagnostikas metode, kas apstiprina AVS esamību, novērtē AV kalcifikācijas pakāpi, kreisā kambara funkciju un sieniņu biezumu, atklāj citu vārstuļu iespējamu pavadošu patoloģiju un aortas patoloģiju.

Mūsu pētījumā iekļauti smagas pakāpes AVS pacienti bija ar augsta gradienta AVS, jo izslēgšanas kritēriji bija izmainīta kreisā kambara funkcija (gan AVS, gan kontroles grupā iekļauti indivīdi ar $EF > 50\%$ un $SVI > 35 \text{ ml/m}^2$).

Pēc 2017. gada augstākminētajām vadlīnijām, izgulsnētā kalcija daudzuma (*calcium score*) noteikšana ar daudzslāņu DT palīdzību ir pirmās rindas papildizmeklējums pacientiem ar PG vid. $< 40 \text{ mm/Hg}$, $AVA \leq 1,0 \text{ cm}^2$ un $SVI \leq 35 \text{ ml/m}^2$. Mūsu pētījumā tādu pacientu nebija, tādēļ arī *kalcija score* noteikšana nebija indicēta, jo jau sākotnēji tika iekļauti pacienti ar normālu kreisā kambara funkciju, lai izvairītos no izmeklējuma, kura pieejamība ir ierobežota un pacientu grupu veidošanas laikā vēl nepietiekami attīstīta precīzai izgulsnētā kalcija daudzuma noteikšanai.

Kalcificējošas AVS etiopatogēnēze, salīdzinot vadlīnijas un analizējot jaunāko zinātnisko rakstu atklājumus, vēl aizvien ir līdz galam neizzināta un neatklāta.

Tas, ka seruma hemerīna līmenis, pieaugot AVS smaguma pakāpei, samazinās un ir visaugstākais vieglas AVS pacientiem, liek domāt, ka darbība vairāk notiek, hemerīnam saistoties ar Chem23 receptoru. Ja hemerīns saistītos ar GPR-1, tad tā līmenim būtu jāpieaug līdz ar AVS smaguma pakāpi un tad hemerīna līmenis serumā varētu liecināt par kalcifikācijas pakāpi; jo smagāka AVS, jo izteiktāka kalcifikācija.

Nosakot MMP-9 seruma līmeni, netika noteiktas būtiskas atšķirības starp kontroles grupu un AVS grupu, bet tika konstatēta saistība starp hemerīnu un MMP-9: augstāks MMP-9 līmenis ir saistīts ar augstāku hemerīna līmeni. Ir zināms, ka hemerīns veicina MMP-2,9,7 izdali. Veiktajos eksperimentos iegūtie rezultāti vēl vairāk pamato saistību ar iekaisuma procesu AVS pacientiem un norāda uz ekstracelulārās telpas remodelāciju jau vieglā aortas vārstuļa stenozes pakāpē, kad ir visaugstākais hemerīna līmenis. Vēl šī saistība varētu norādīt, ka hemerīns darbojas kā iekaisuma veicinātājs.

Tika noteikta arī pozitīva saistība starp hemerīnu un antioksidantu tioredoksīna reduktāzi 1 (TrxR1): jo augstāks hemerīna līmenis, jo augstāks TrxR1 līmenis. TrxR1 galvenā loma ir aizsargāt no oksidatīvā stresa, tioredoksīns (Trx) tieši inhibē apoptozi veicinošās

kināzes. Mūsu iegūtā saistība starp hemerīnu un TrxR1 norāda, ka jau no sākuma AVS attīstībā ir gan oksidatīvais stress, gan iekaisums.

Analizējot prooksidanta fermentu mieloperoksidāzi (MPO), tika iegūta pozitīvu korelatīva sakarība starp hemerīnu un MPO: pieaugot hemerīna līmenim, pieaug MPO līmenis.

Hemerīnam un MPO ir zināma kopīga īpašība ietekmēt NO: hemerīns samazina NO izdali; MPO samazina NO biopieejamību un, piesaistot NO, veido ROS.

Gan hemerīns, gan MPO veicina MMP izdali un ekstracelulārās telpas remodelāciju. Tas varētu norādīt, ka hemerīns aortas vārstuļa stenozei pacientiem ir iekaisumu veicinošs.

Hemerīns var tikt izmantots par vieglas AVS labu diagnostisko marķieri. Turpmāk varētu veidot pacientu grupu ar AV sklerozi bez stenozei, lai noteiktu, vai hemerīns var prognozēt AVS attīstību.

Pēc seruma FGF-21 izmaiņām nevar viennozīmīgi spriest par šī biomarkiera lomu AVS attīstībā.

FGF-21 rezultāti ļauj pieņemt, ka FGF-21 var būt sargājoša loma AVS patoģenēzē. Tas pamato oksidatīvā stresa klātbūtni visa AVS attīstības procesā. Fakti par FGF-21 lomu saistaudu veidošanās procesā (*Schumacher et al.*, 2016) un mūsu pētījumā iegūtie dati par visaugstāko FGF-21 līmeni pacientiem ar smagu AVS var arī norādīt uz progresējošu kalcifikāciju. FGF-21 ir arī atgriezenisks efekts uz miokarda hipertrofiju, kas ir bieži sastopama AVS pacientiem. Arī šis var būt viens no izskaidrojumiem, kāpēc FGF-21 pieaug līdz ar AVS smagumu. Jāmeklē citi oksidatīvā stresa biomarkieri un jāsalīdzina rezultāti, lai precīzāk izteiktos par FGF-21 nozīmi AVS attīstībā.

FGF-21 un TrxR1 ir saistīti ar oksidatīvo stresu: uzlabo oksidatīvo kapacitāti, samazina ROS iedarbību, samazina šūnu apoptozi, piedalās audu atjaunošanā. Starp abiem faktoriem atrod pozitīvu korelatīvu saistību: jo augstāks FGF-21 līmenis, jo augstāks TrxR1 līmenis. Tas parāda abu šo faktoru mijiedarbību un oksidatīvā stresa un iekaisuma saistību. Tika atrasta arī pozitīva saistība starp FGF-21 un hemerīnu. Ņemot vērā to, ka visaugstākais FGF-21 līmenis ir smagā aortas vārstuļa stenozei pakāpē un tam ir korelatīvs ciešums gan ar TrxR1, gan ar hemerīnu, varētu pieņemt, ka hemerīns darbojas kā iekaisuma faktors, bet FGF-21 aortas vārstuļa stenozei attīstības sākumā ir saistīts ar pretiekaisuma darbību. Visaugstākais FGF-21 līmenis smagā AVS pakāpē var būt saistīts gan ar progresējošu kalcifikāciju, gan darbību, kas vērsta pret miokarda hipertrofiju.

Par FGF-21 vairāk varētu uzzināt, nosakot IL-6 un TNF- α līmeni asins serumā, jo šie biomarkieri atbild par iekaisuma procesu un ir atkarīgi no FGF-21.

C-reaktīvā proteīna statistisko datu rezultāts ļauj teikt, ka augsts CRP līmenis var liecināt par sākotnēju kalcificējošu AVS. Pēc mūsu pētījuma datiem CRP nevar izmantot, lai paredzētu AVS progresēšanas ātrumu. Mūsu dati ir līdzīgi datiem no pētījuma, kur vērtēja hs-CRP saistību ar AVS (*Cho et al.*, 2016).

Darbā analizētie MMP (MMP-3, MMP-9) un TIMP (TIMP-1, TIMP-3) līmeņi asins serumā neuzrādīja statistiski būtiskas atšķirības starp kontroles grupas indivīdiem un AVS pacientiem.

Analizējot MMP-1, tika noteikts būtiski augstāks tā līmenis AVS grupā, turklāt ar trimodālu rezultātu sadalījumu. 80% iegūto vērtību AVS grupā ir būtiski augstākas nekā kontroles grupā. Visaugstākais MMP-1 līmenis ir vidējā AVS pakāpē.

Iegūtie dati par visaugstāko MMP-1 līmeni vidējā aortas vārstuļa stenozes pakāpē var norādīt uz to, ka šajā aortas vārstuļa stenozes pakāpē ir visizteiktākā ekstracelulārās telpas remodelācija ar kolagēna šķiedru degradāciju un osteoblastu diferenciāciju un kalcifikāciju.

Mūsu pētījumā 20% aortas vārstuļa stenozes pacientiem MMP-1 līmenis nepieauga un palika kontroles grupas līmenī. Analizējot šos pacientus, izrādījās, ka visiem šiem pacientiem ir viegla aortas vārstuļa stenoze. Mēs domājam, ka to var izskaidrot ar aprakstīto MMP-1 polimorfismu. 1G alēlei ir aizsargājoša darbība pret kalcija nogulsņēšanos, bet 2G alēles nesējiem (gan homozigotiem, gan heterozigotiem) ir izteiktāka aortas vārstuļa kalcinoze (neatkarīgi no vecuma, dzimuma un nieru funkcijas) (*Solache-Berrocal et al.*, 2016).

Būtu izzinoši turpmāk apsekot un regulāri novērot šos 20% vieglas pakāpes aortas stenozes pacientus, kam nebija paaugstināts MMP-1 līmenis, jo teorētiski šiem pacientiem varētu prognozēt lēnu aortas vārstuļa stenozes progresēšanu.

Mūsu pētījumā iegūtie dati par MMP-1 līmeņa izmaiņām dažādās aortas vārstuļa stenozes pakāpēs (skatīt 3.16. attēlu), zemākais MMP-1 līmenis smagas aortas vārstuļa stenozes pacientiem, atbilst citu pētījumu rezultātiem no operāciju laikā iegūtā histoloģiskā materiāla. Zemāks MMP-1 līmenis smagas AVS pacientiem var liecināt, ka šajā slimības pakāpē iekaisuma process ir neaktīvs vai zemas aktivitātes, un ir izveidojusies kalcinoze.

Mēs neatradām sakarību starp MMP-1 un TIMP-1 seruma līmeņiem. Tas liek domāt, ka aortas vārstuļa stenozes ekstracelulārās telpas remodelācijā iesaistītās MMP-1 līmenis un darbība netiek regulēta ar TIMP-1 palīdzību.

Mēs pētījumā neatradām statistiski nozīmīgas atšķirības TIMP-1 seruma līmenī starp aortas vārstuļa stenozes pacientiem un kontroles grupu. Arī citos pētījumos konstatēja nebūtisku individuāli mainīgu TIMP-1 līmeni gan stenotiskajos, gan kontroles grupas vārstuļos (*Kaden et al.*, 2005).

Veicot korelācijas analīzi starp MMP-1 un MMP-9, mēs ieguvām sakarību, ka pieaugot MMP-1 līmenim aortas vārstuļa stenozes pacientiem, pieaug arī MMP-9 seruma līmenis. Salīdzinot mūsu rezultātus ar citu pētnieku publicētajiem datiem, var pieņemt, ka MMP-9 funkcionē lokāli šūnu līmenī.

MMP-9 tiek uzskatīts par nozīmīgu aterosklerozes biomarkieri, bet mūsu pētījumā netika konstatētas būtiskas šī faktora koncentrācijas atšķirības starp AVS pacientu un kontroles indivīdu grupām, un šis fakts tikai atkārtoti apliecina to, ka aortas vārstuļa stenoze, acīmredzot, ir atšķirīgs process no aterosklerozes.

Ir pētīta MMP un TIMP ekspresija nereimatisks aortas vārstuļa stenozes gadījumā. Arī šajos histoloģiskajos pētījumos atrada disproporciju starp MMP-9 un TIMP-1. Tika novērota MMP-9 lokalizācija ap kalcifikācijas mezgļiņiem.

Ieguvām sakarību, ka augstāks hemerīna seruma līmenis ir saistīts ar augstāku MMP-9 seruma līmeni. Tas vēl vairāk pamato MMP-9 lomu un klātbūtni aortas vārstuļa stenozes procesā.

Tioredoksīna reduktāzes 1 analīzes rezultāti parāda, ka oksidatīvais stress ir saistīts ar kalcificējošu aortas vārstuļa stenozi. Visaugstāks TrxR1 līmenis pacientiem ar vieglu AVS un pozitīva sakarība ar hemerīnu un FGF-21 parāda, ka TrxR1 labi atspoguļo oksidatīvā stresa augstu izteiktību vieglā aortas stenozes pakāpē.

Atšķirībā no FGF-21, kura līmenis pieauga līdz ar aortas vārstuļa stenozes smagumu, TrxR1 līmenis ir mainīgs – visaugstākais vieglas aortas vārstuļa stenozes pakāpē un zemāks smagas aortas vārstuļa stenozes pakāpē, viszemākais vidējas stenozes pakāpē. To varētu izskaidrot ar to, ka smagā AVS pakāpē ir vērojama kreisā kambara hipertrofija, ko sastop daudziem smagas aortas vārstuļa stenozes pacientiem. Ir pierādīts, ka miokarda hipertrofija veicina TrxR1 ekspresiju (*Yamamoto et al.*, 2003). Otrs iemesls varētu būt sirds mazspēja, jo ir pierādīts, ka jo izteiktāka sirds mazspēja, jo augstāks tioredoksīna līmenis (*Jekell et al.*, 2004).

Aortas vārstuļa stenozes pacientiem atradām pozitīvu saistību starp TrxR1 un MMP-1: augstāks TrxR1 līmenis ir saistīts ar augstāku MMP-1 līmeni. Tā kā MMP-1 atrod gan ekstracelulāri, gan intracelulāri, tad jādomā, ka tas saistīts ar oksidatīvo stresu un ekstracelulārās telpas remodelāciju.

Iepriekš, pētot MMP-1, MMP-3, MMP-9, mēs neatradām korelācijas, kas pierādītu MMP-3 lomu aortas vārstuļa stenozes procesā. Tas, ka mēs atrodam AVS pacientiem būtisku pozitīvu korelāciju starp tioredoksīna reduktāzi-1 un MMP-3, ļauj teikt, ka arī MMP-3 ir nozīme aortas vārstuļa stenozes procesā.

Starp TrxR1 un MMP-9 atradām nelielu saistību, un to var izskaidrot ar jau iepriekš iegūtajiem rezultātiem un citu pētnieku publicētajiem datiem, kas parāda, ka MMP-9 vairāk lokalizēta ap kalcifikācijas zonām.

Nosakot MPO līmeni plazmā, tika konstatēts, ka tā koncentrācija, salīdzinot ar kontroles indivīdiem, bija būtiski augstāka aortas vārstuļa stenozei pacientiem, piekam, pieaugot no vieglas līdz smagai aortas vārstuļa stenozei pakāpei. MPO ir pozitīva saistība ar TrxR1, hemerīnu un MMP-9.

MPO darbību vajadzētu izskaidrot dažādi:

a) pozitīvo saistību ar TrxR1 un hemerīnu varētu izskaidrot ar endotēlija disfunkciju, ROS veidošanu un aktīvu līdzdalību iekaisuma un oksidatīvā stresa procesos

b) pozitīvā saistība ar MMP-9 no vienas puses pierāda MMP-9 lomu aortas vārstuļa stenozei procesā, bet zinot, ka MMP-9 pamatā atrod lokāli ap kalcifikācijas zonām, un MPO satur kalcija saistīšanās vietu, var izteikt domu, ka MPO varētu piedalīties kalcifikācijas procesā.

Tomēr to nevar viennozīmīgi apgalvot, jo MPO, iedarbojoties caur ROS un ox-ZBL, var aktivēt MMP.

Saistība starp MPO un ABL-H līmeņiem atbilst MPO nelabvēlīgajai iedarbībai, paaugstinot ox-ZBL-H līmeni, radot ABL-H disfunkciju un ox-ABL-H veidošanos, līdz ar to vēl vairāk mazinot ABL-H aizsardzību. Tas notiek arī MPO veidotās hipohlorskābes ietekmē, kura oksidē apoA-1 un samazina ABL-H aizsargājošo darbību. Tā kā augstākais MPO līmenis ir smagas aortas vārstuļa stenozei pacientiem, tad attiecīgi zemākā ABL-H aizsardzība arī ir šajā AVS pakāpē. Mums nav iespēju tieši ietekmēt MPO darbību, bet, jo augstāks būs ABL-H līmenis pacientiem, jo labāka būs ABL-H aizsargājošā loma (*Perrot et al., 2018*).

Ja TrxR1 pieaugumu smagā AVS pakāpē mēs skaidrojam ar sirds mazspēju, kreisā kambara hipertrofiju, tad MPO un ABL-H saistība pamato oksidatīvo stresu smagā aortas vārstuļa stenozei pakāpē.

MPO līmenis, tāpat kā FGF-21 līmenis, pieaug, progresējot stenozē. Tas norāda uz oksidatīvā stresa esamību aortas vārstuļa stenozei attīstībā. Ne MPO, ne TrxR1, ne FGF-21 līmenis smagas aortas vārstuļa stenozei pacientiem nav zemākā līmenī kā vidēji smagas stenozei pacientiem, bet ar tendenci būt augstākam, kas liecina, ka oksidatīvais stress ir visās AVS smaguma pakāpēs. Atšķirīgi no hemerīna, kas ir labs vieglas aortas vārstuļa stenozei biomarķieris un tā līmenis samazinās, progresējot AVS, iegūtie rezultāti ar MPO un TrxR1 liek domāt, ka vidēji smagā un smagā aortas stenozei pakāpē prevalē jau minētais oksidatīvais stress un progresējoša kalcifikācija.

Analizējot oksidatīvā stresa marķieru (MPO un TrxR1) iespējamo saistību ar pārējām šūnu producētām regulējošām molekulām (citokīniem), atrodam pozitīvu sakarību starp MPO un MMP-9, kā arī MMP-3. Tas varētu norādīt, ka gan MMP-9, gan MMP-3 ir saistīti ar aortas vārstuļa stenozes attīstību un varbūt piedalās oksidatīvā stresa izraisītā ekstracelulārās telpas remodelācijā.

Tas, ka oksidatīvā stresa līmenis ir relatīvi lielāks smagā aortas stenozes pakāpē nekā vidējā, varētu tikt izskaidrots ar izmaiņām, kas radušās AVS progresēšanas rezultātā: sirds mazspēju, kreisā kambara hipertrofiju un zemu koronārās plūsmas rezervi.

5. SECINĀJUMI

1. Aortas vārstuļa stenoze grupas pacientu sadalījums trijās smaguma pakāpēs un izvērtējums attiecībā pret kontroles grupu ļauj precīzāk un pilnvērtīgāk spriest par slimības patoģenēzi.
2. Hemerīns ir labs diagnostisks biomarkieris vieglai aortas stenozei.
3. Ekstracelulārās telpas remodelācija sākas vieglā aortas vārstuļa stenozei un visizteiktākā ir vidējā aortas stenozei smaguma pakāpē. Noteikts būtisks MMP-1 koncentrācijas pieaugums gan vieglā AVS pakāpē, gan izteiktāk vidējā AVS pakāpē. Noteikta pozitīva asociācija starp MMP-1 un MMP-9, hemerīnu un MMP-9.
4. Iegūtie rezultāti pamato iekaisuma un oksidatīvā stresa klātbūtni visā trijās AVS smaguma pakāpēs. Visaktīvākais iekaisuma process ir vieglā AVS pakāpē, kur hemerīna līmenis ir būtiski visaugstākais, bet sakarības starp biomarkieriem parāda, ka jau vieglā AVS pakāpē sākas oksidatīvais stress – visbūtiskākais TrxR1 līmeņa palielinājums ir vieglā AVS pakāpē, savukārt MPO līmenis būtiski (salīdzinot ar kontroli) pieaug līdz ar AVS smagumu, sasniedzot visaugstāko līmeni smagā AVS pakāpē. Lielāku oksidatīvā stresa līmeni smagā AVS pakāpē mēs saistām ar to, ka turpinās gan oksidatīvais stress, gan to, ka lielākajai daļai smagas pakāpes AVS pacientu ir attīstījušās komplikācijas kā kreisā kambara hipertrofija, hroniska sirds mazspēja.
5. Oksidatīvais stress un iekaisums ir savstarpēji saistīti procesi, ko pamato hemerīna pozitīvā korelatīvā sakarība ar TrxR1 un MPO.
6. Pirmās hipotēzes daļu par iekaisuma faktoru un citokīnu lomu AVS attīstībā pierāda: hemerīna, FGF-21, CRP, MMP-1, TrxR1, MPO statistiskās analīzes rezultāti; korelatīvās sakarības starp MMP-1 un MMP-9 un hemerīnu, arī starp TrxR1 un MMP-3. To, vai šie faktori un citokīni nosaka AVS prognozi, vēl nevar spriest. Tam nepieciešami ģenētiski pētījumi.
7. Ir apstiprināta otrā hipotēze: noteikta ABL-H būtiska nozīme AVS pacientiem - konstatēta negatīva korelatīvā sakarība starp MPO un ABL-H, kur augstāks MPO līmenis ir saistīts ar zemāku ABL-H līmeni. Smagas AVS pacientiem ir augstākais MPO līmenis, ko var izskaidrot ar MPO darbību, veidojot ox-ABL-H un mazinot ABL-H aizsargājošo darbību, tādējādi, jo augstāks būs ABL-H līmenis pacientiem, jo labāka būs ABL-H aizsargājošā loma.
8. Ir noteikts, ka oksidatīvais stress ir visās AVS smaguma pakāpēs un tam ir saistība ar iekaisuma procesu, apstiprinot arī trešo hipotēzi.

6. PRAKTISKĀS REKOMENDĀCIJAS

1. Hemerīns un tā noteikšana asins serumā ir labs diagnostiskais marķieris vieglas AVS pacientiem. To varētu rekomendēt noteikt pacientiem, kam izklausās sirds trokšņus līdz laikam, kamēr nav veikta ehokardiogrāfija. Tāpat varētu veikt hemerīna noteikšanu pacientiem, kuriem samazinātas kreisā kambara sistoliskās funkcijas dēļ ir grūti izšķirties starp vieglas un vidējas stenozes pakāpēm, vadoties pēc maksimālā plūsmas ātruma un vidējā spiediena gradienta. Hemerīna noteikšanu asins serumā teorētiski varētu izmantot pacientiem ar vizuālu AV sklerozi un pacientiem ar paaugstinātu spiediena gradientu uz AV un bez AVA, indeksētā AVA samazinājuma dinamiskai novērošanai.
2. Būtu iespējams veidot vieglas AVS pacientu novērošanas un dinamiskas izmeklēšanas programmu, lai noteiktu AVS progresēšanas ātrumu un saistību ar MMP-1 1G alēli, kuras nesējiem teorētiski būtu jānovēro lēna slimības progresēšana. Tas varētu parādīt ģenētisko faktoru lomu AVS pacientiem.
3. Laboratorisko rezultātu saistība ar oksidatīvo stresu un iekaisumu un zināmais par AVS patogēnēzi liek pievērst īpašu uzmanību vieglas AVS pacientiem, jo šajā pakāpē no patogēnēzes viedokļa ir iespējams novērst vai kavēt slimības progresēšanu. Varētu veikt pētījumus ar medikamentiem, kas ietekmē iekaisuma procesu. Jau iepriekš bijuši mēģinājumi lietot citostātiskus medikamentus, bet to radītās blaknes neatsvēra klīnisko ieguvumu.
4. Lai arī lipīdiem un statīnu terapijai nav tiešas saistības ar AVS procesu, ko pamato arī mūsu veiktās analīzes, tomēr gan ox-ZBL-H, gan ABL-H ir saistīti ar AVS. Jācenšas maksimāli palielināt ABL-H līmeni visu AVS pakāpju pacientiem, lai saglabātu un uzlabotu ABL-H aizsargājošo lomu oksidatīvā stresa apstākļos. Tā kā nav sevišķu iespēju tieši ietekmēt MPO darbību, jāpievērš īpaša uzmanība ABL-H līmenim pacientu asinīs – jo tas būs augstāks, jo spēcīgāka būs tā aizsargājošā loma.

LITERATŪRAS SARAKSTS

1. Aboyans V., Criqui M.H., Abraham P., Allison M.A., Creager M.A., Diehm C., Fowkes F.G., Hiatt W.R., Jönsson B., Lacroix P., Marin B., McDermott M.M., Norgren L., Pande R.L., Preux P.M., Stoffers H.E., Treat-Jacobson D. 2012. American Heart Association Council on Peripheral Vascular Disease; Council on Epidemiology and Prevention; Council on Clinical Cardiology; Council on Cardiovascular Nursing; Council on Cardiovascular Radiology and Intervention, and Council on Cardiovascular Surgery and Anesthesia. Measurement and interpretation of the ankle-brachial index: a scientific statement from the American Heart Association. *Circulation*. 126(24), 2890–909. doi: 10.1161/CIR.0b013e318276fbcf. Epub 2012 Nov 16
2. Baumgartner H., Falk V., Bax J.J., De Bonis M., Hamm C., Holm P.J., Iung B., Lancellotti P., Lansac E., Muñoz D.R., Rosenhek R., Sjögren J., Mas P.T., Vahanian A., Walther T., Wendler O., Windecker S., Zamorano J.L. 2017. ESC Scientific Document Group, ESC/EACTS Guidelines for the management of valvular heart disease. *European Heart Journal*. 38(36), 2739–2791. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehx391>
3. Bonow R., Greenland P. 2015. Population-Wide Trends in Aortic Stenosis Incidence and Outcomes. *Circulation*. 131(11), 969–971. doi: <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.115.014846>
4. Boström, K. 2019. The Shifting Nature of Endothelial Progenitor Cells in Aortic Stenosis. *Mayo Clinic Proceedings*. 94(4), 567 – 569. doi: 10.1016/j.mayocp.2019.02.013
5. Cheng, P., Zhang, F., Yu, L. et al. 2016. Physiological and Pharmacological Roles of FGF21 in Cardiovascular Diseases. *Journal of Diabetes Research*. 2016(2), 1–8. doi: <https://doi.org/10.1155/2016/1540267>
6. Chester, A. 2011. Molecular and cellular mechanisms of valve calcification. *Aswan Heart Centre Science & Practice Series*. 2011(4). doi: 10.5339/ahcsps.2011.4
7. Cho, K.I., Cho, S.H., Her, A-Y., Singh, G.B., Shin, E-S. 2016. Prognostic Utility of Neutrophil-to-Lymphocyte Ratio on Adverse Clinical Outcomes in Patients with Severe Calcific Aortic Stenosis. *PLoS One*. 11(8):e0161530. doi: 10.1371/journal.pone.0161530. eCollection 2016
8. Chong, C.R., Chan, W.P.A., Nguyen, T.H., Liu, S., Procter, N.E.K., Ngo, D.T., Sverdllov, A.L., Chirkov, Y.Y., Horovitz, J.D. *Cardiovasc Drugs Ther* 2014. 28(4), 347–360. doi: <https://doi.org/10.1007/s10557-014-6538-5>
9. Chow, W.S., Xu, A., Woo, Y.C., Tso, A.W.K., Cheung, S.C.W., Fong, C.H.Y., Tse, H.F., Chau, M.T., Cheung, B.M.Y., Lam, K.S.L. 2013. Serum Fibroblast Growth Factor-21 Levels Are Associated With Carotid Atherosclerosis Independent of Established Cardiovascular Risk Factors. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*. 33, 2454–2459 doi: <https://doi.org/10.1161/ATVBAHA.113.301599>
10. Clavel, M-A., Malouf, J., Miller, J.D., Michelena, H Jaffe, A., Sarano, M. 2014. Activation and usefulness of plasma C-reactive protein in calcified aortic valve disease. *Journal of the American College of Cardiology*. 63(12). doi: 10.1016/S0735-1097(14)61953-7
11. de Maat, M.P., Jukema, J.W., Ye, S., Zwinderman, A.H., Moghaddam, P.H., Beekman, M., Kastelein, J.J., van Boven, A.J., Bruschke, A.V., Humphries, S.E., Kluft, C., Henney, A.M. 1999. Effect of the stromelysin-1 promoter on efficacy of pravastatin in coronary atherosclerosis and restenosis. *The American Journal of Cardiology*. 83(6), 852–6. doi:10.1016/S0002-9149(98)01073-X
12. Docke, S., Lock, J.F., Birkenfeld, A.L., Hoppe, S., Lieske, S., Rieger, A., et al. 2013. Elevated hepatic chemerin mRNA expression in human non-alcoholic fatty liver disease. *European Journal of Endocrinology*. 169(5), 547–57. doi: <https://dx.doi.org/10.1530/EJE-13-0112>
13. Eguchi, T., Kubota, S., Kawata, K., Mukudai, Y., Uehara, J., Ohgawara, T., Ibaragi, S., Sasaki, A., Kuboki, T., Takigawa, M. 2008. Novel transcription-factor-like function of human matrix metalloproteinase 3 regulating the CTGF/CCN2 gene. *Molecular and Cellular Biology*. 28 (7), 2391–413. doi:10.1128/MCB.01288-07
14. Eisinger, K., Krautbauer, S., Wiest, R., Weiss, T.S., Buechler, C. 2015. Reduced serum chemerin in patients with more severe liver cirrhosis. *Experimental and Molecular Pathology*. 98(2), 208–13. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.yexmp.2015.01.010>

15. Er, L-K., Wu, S., Hsu, L-A., Teng, M-S., Sun, Y-C., Ko, Y-L. 2018. Pleiotropic Associations of RARRES2 Gene Variants and Circulating Chemerin Levels: Potential Roles of Chemerin Involved in the Metabolic and Inflammation-Related Diseases. *Mediators of Inflammation*. 2018:4670521. doi: <https://doi.org/10.1155/2018/4670521>
16. Eveborn G.W., Schirmer H., Heggelund G., et al. 2013. The evolving epidemiology of valvular aortic stenosis. The Tromsø study. *Heart*. 99(6), 396–400. doi: 10.1136/heartjnl-2012-302265
17. Farrar, E.J., Huntley, G.D., Butcher, J. 2015. Endothelial-Derived Oxidative Stress Drives Myofibroblastic Activation and Calcification of the Aortic Valve. *PLOS ONE* 10(5), e0128850. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0128850>
18. Ferland, D.J., Watts, S.W. 2015. Chemerin: A Comprehensive Review Elucidating the Need for Cardiovascular Research. *Pharmacol Res*. 99, 351–361. doi: 10.1016/j.phrs.2015.07.018
19. Ferrer-Curriu, G., Redondo-Angulo, I., Guitart-Mampel, M., Ruperez, C., Mas-Stachurska, A., Sitges, M., Garrabou, G., Villarroja, F., Fernández-Solà, J., Planavila, A. 2018. Fibroblast growth factor-21 protects against fibrosis in hypertensive heart disease. *The Journal of Pathology*. doi: <https://doi.org/10.1002/path.5226>
20. Fondard, O., Detaint, D., Iung, B., Choqueux, C., Adle-Biasette, H., Jarraya, M., Hvass, U., Couetil, J.P., Henin, D., Michel, J.B., Vahanian, A., Jacob, M.P. 2005 Extracellular matrix remodelling in human aortic valve disease: the role of matrix metalloproteinases and their tissue inhibitors. *Eur Heart J*. 26(13), 1333–41. doi: 10.1093/eurheartj/ehi248
21. Freeman, R.V., Otto, C.M. 2005. Spectrum of Calcific Aortic Valve Disease. Pathogenesis, Disease Progression, and Treatment Strategies. *Circulation*. 111, 3316–3326. doi: <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.104.486738>
22. Gao, X., Zhang, L., Gu, G., Wu, P.H., Jin, S., Hu, W., Zhan, C., Li, J., Li, Y. 2015. The effect of oxLDL on aortic valve calcification via the Wnt/ β -catenin signaling pathway: an important molecular mechanism. *The Journal of Heart Valve Disease*. 24(2), 190–6.
23. Garg, S. 2016. Aortic Valve Anatomy. Drugs and Diseases. Ali, J.S. (EIC). *Medscape eMedicine*. <https://emedicine.medscape.com/article/1922899-overview>
24. Gómez-Sámano, M.A., Grajales-Gómez, M., Zuarth-Vázquez, J.M., Navarro-Flores, Ma.F., Martínez-Saavedra, M., Juárez-León, O.A., Morales-García, M.G., Enriquez-Estrada, V.M., Gómez-Pérez, F.J., Cuevas-Ramos, D. 2017. Fibroblast growth factor 21 and its novel association with oxidative stress. *Redox Biol*. 11, 335–341. doi: 10.1016/j.redox.2016.12.024
25. Goralski, K.B., McCarthy, T.C., Hanniman, E.A., Zabel, B.A., Butcher, E.C., Parlee, S.D. et al. 2007. Chemerin, a novel adipokine that regulates adipogenesis and adipocyte metabolism. *Journal of Biological Chemistry*. 282(38), 28175–88. doi: <https://dx.doi.org/10.1074/jbc.M700793200>
26. Gu, P., Jiang, W.M., Lu, B., Shi, Z.R. 2014. Chemerin is associated with inflammatory markers and metabolic syndrome phenotypes in hypertension patients. *Clinical and Experimental Hypertension*. 36(5), 326–32. doi: <https://dx.doi.org/10.3109/10641963.2013.827697>
27. Heistad, D.D., Wakisaka, Y., Miller, J., Chu, Y., Pena-Silva, R. 2009. Novel Aspects of Oxidative Stress in Cardiovascular Diseases. *Circ J*. 73(2), 201–7. doi: <https://doi.org/10.1253/circj.CJ-08-1082>
28. Helfer, G., Wu, Q-F. 2018. Chemerin: a multifaceted adipokine involved in metabolic disorders. *J. of Endocrin*. 238(2), R79–R94. doi: <https://doi.org/10.1530/JOE-18-0174>
29. Hinton, R.B., Yutzey, K.E. 2014. Heart Valve Structure and Function in Development and Disease. *Annu Rev Physiol*. 73, 29–46. doi: 10.1146/annurev-physiol-012110-142145
30. Hulin, A., Hego, A., Lancellotti, P., Oury, C. 2018. Advances in Pathophysiology of Calcific Aortic Valve Disease Propose Novel Molecular Therapeutic Targets. *Front. Cardiovasc. Med*. doi: 10.3389/fcvm.2018.00021. eCollection 2018.
31. Humphries, S.E., Luong, L.A., Talmud, P.J., Frick, M.H., Kesäniemi, Y.A., Pasternack, A., Taskinen, M.R., Syväne, M. 1998. The 5A/6A polymorphism in the promoter of the stromelysin-1 (MMP-3) gene predicts progression of angiographically determined coronary artery disease in men in the LOCAT gemfibrozil study. Lipid Coronary Angiography Trial. *Atherosclerosis*. 139 (1), 49–56. doi:10.1016/S0021-9150(98)00053-7
32. Yamamoto, M., Yang, G., Hong, C., Liu, J., Holle, E., Yu, X., Wagner, T., Vatner, S.F., Sadoshima, J. 2003. Inhibition of endogenous thioredoxin in the heart increases oxidative stress and cardiac hypertrophy. *J. Clin. Investig*. 112, 1395–1406. doi: 10.1172/JCI200317700

33. Ye, S., Eriksson, P., Hamsten, A., Kurkinen, M., Humphries, S.E., Henney, A.M. 1996. Progression of coronary atherosclerosis is associated with a common genetic variant of the human stromelysin-1 promoter which results in reduced gene expression. *The Journal of Biological Chemistry*. 271 (22), 13055–60. doi:10.1074/jbc.271.22.13055
34. Yoon, S., Tromp, G., Vongpunsawad, S., Ronkainen, A., Juvonen, T., Kuivaniemi, H. 1999. Genetic analysis of MMP3, MMP9, and PAI-1 in Finnish patients with abdominal aortic or intracranial aneurysms. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 265 (2), 563–8. doi:10.1006/bbrc.1999.1721
35. Jekell, A., Hossain, A., Alehagen, U., Dahlström, U. and Rosén, A. 2004. Elevated circulating levels of thioredoxin and stress in chronic heart failure. *European Journal of Heart Failure*, 6, 883–890. doi:10.1016/j.ejheart.2004.03.003
36. Kaden, J.J., Dempfle, C.E., Grobholz, R. et al. 2005. Inflammatory regulation of extracellular matrix remodeling in calcific aortic valve stenosis. *Cardiovascular Pathology*. 14(2), 80–87. doi: 10.1016/j.carpath.2005.01.002
37. Kanwar, A., Thaden, J.J., Nkomo, V.T. 2018. Management of Patients With Aortic Valve Stenosis. *Mayo Clinic Proceedings*. 93(4), 488–508. doi: https://doi.org/10.1016/j.mayocp.2018.01.020
38. Kleinauskienė, R., Jonkaitienė, R. 2018. Degenerative Aortic Stenosis, Dyslipidemia and Possibilities of Medical Treatment. *Medicina* 54(2), 24. doi: 10.3390/medicina54020024
39. Kostopoulos, C.G., Spiroglou, S.G., Varakis, J.N., Apostolakis, E., Papadaki, H.H. 2014. Chemerin and CMKLR1 expression in human arteries and periaortic fat: a possible role for local chemerin in atherosclerosis? *Bmc Cardiovascular Disorders*. 14:56. doi: https://dx.doi.org/10.1186/1471-2261-14-56
40. Lee, S., Kim, S.M., Lee, R.T. 2013. Thioredoxin and Thioredoxin Target Proteins: From Molecular Mechanisms to Functional Significance. *Antioxid Redox Signal*. 18(10), 1165–1207. doi: 10.1089/ars.2011.4322
41. Lerman, D.A., Prasad, S., Alotti, N. 2015. Calcific Aortic Valve Disease: Molecular Mechanisms And Therapeutic Approaches. *European Cardiology Review*. 10(2), 108–12. doi: https://doi.org/10.15420/ecr.2015.10.2.108
42. Lindman, B.R., Clavel, M.A., Mathieu, P., Iung, B., Lancellotti, P., Otto, C.M., Pibarot, P. 2016. Calcific aortic stenosis. *Nat Rev Dis Primers*. 3;2:16006. doi: 10.1038/nrdp.2016.6
43. Loria, V., Dato, I., Graziani, F., Biasucci, L.M. Myeloperoxidase: 2008. A New Biomarker of Inflammation in Ischemic Heart Disease and Acute Coronary Syndromes. *Mediators of Inflammation*. 2008, ID 135625, doi: http://dx.doi.org/10.1155/2008/135625
44. Mathieu, P., Arsenault, B.J., Boulanger, M.C., Bossé, Y., Koschinsky, M.L. 2017. Pathobiology of Lp(a) in calcific aortic valve disease. *Expert Review of Cardiovascular Therapy*. 15(10), 797–807. doi: https://doi.org/10.1080/14779072.2017.1367286
45. Matsushita, T., Matsumura, Y., Nomura, N., Nakatsuji, K., Kagawa, S., Matsuo, M., Nakagawa, M., Shimeno, K., Matsumoto, R., Abe, Y., Haze, K., Naruko, T., Yoshiyama, M., Ueda, M. 2018. Plasma Myeloperoxidase Levels are Inversely Correlated with Serum High-Density Lipoprotein-Associated Paraoxonase-1 Levels in Patients with Aortic Valve Stenosis. *The 82nd Annual Scientific Meeting of the Japanese Circulation Society*. https://www.micenavi.jp/jcs2018/search/detail_program/id:1629
46. Miller, J.D., Chu, Y., Brooks, R.M., Richenbacher, W.E., Peña-Silva, R., Heistad, D.D. 2008. Dysregulation of Antioxidant Mechanisms Contributes to Increased Oxidative Stress in Calcific Aortic Valvular Stenosis in Humans. *Journal of the American College of Cardiology*. 52 (10), 843–850. doi: 10.1016/j.jacc.2008.05.043
47. Misfeld, M., Sievers, H.H. 2007. Heart valve macro – and microstructure. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*. 362(1484), 1421–1436. doi: 10.1098/rstb.2007.2125
48. Nagase, H., Visse, R., Murphy, G. 2006. Structure and function of matrix metalloproteinases and TIMPs. *Cardiovascular Research*. 69(3), 562–573. doi: https://doi.org/10.1016/j.cardiores.2005.12.002
49. Otto, C.M., Prendergast, B. 2014. Aortic Valve Stenosis - From Patients at Risk to Severe Valve Obstruction. *The New England Journal of Medicine*. 371, 744–56. doi: 10.1056/NEJMr1313875

50. Oury, C., Nchimi, A., & Lancellotti, P. 2019. Editorial: From Biology to Clinical Management: An Update on Aortic Valve Disease. *Frontiers in Cardiovascular Medicine*. 6, 4. doi:10.3389/fcvm.2019.00004
51. Pan, X., Shao, Y., Wu, F., Xu, A., Du, J., Lin, Z. 2018. FGF21 Prevents Angiotensin II-Induced Hypertension and Vascular Dysfunction by Activation of ACE2/Angiotensin-(1-7) Axis in Mice. *Cell Metabolism*. 27(6), 1323-1337. doi: <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2018.04.002>
52. Parmentier, M. 2013. Chapter 88 – Chemerin. In: *Handbook of Biologically Active Peptides* (Second Edition). Kastin, A. (Ed.), Elsevier Inc., St. Louis, Missouri, pp649–655. doi: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-385095-9.00088-9>
53. Pawade, T.A., Newby, D.E., Dweck, M.R. 2015. Calcification in Aortic Stenosis. The Skeleton Key. *Journal of the American College of Cardiology*. 66(5), 561–77. doi: [10.1016/j.jacc.2015.05.066](https://doi.org/10.1016/j.jacc.2015.05.066)
54. Peeters, F.E.C.M., Meex, S.J.R., Dweck, M.R., Harry, Aikawa, E., Crijns, H.J.G.M., Schurgers, L.J., Kietseleer, B.L.J.H. 2018. Calcific aortic valve stenosis: hard disease in the heart: A biomolecular approach towards diagnosis and treatment. *European Heart Journal*. 39(28), 2618–2624. doi: <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehx653>
55. Pena Silva, R.A. 2012. Cardiovascular oxidative stress: recent findings on ACE2 And MAO. *PhD (Doctor of Philosophy) thesis, University of Iowa*. <https://doi.org/10.17077/etd.109quuf9>
56. Perera, S., Wijesinghe, N., Ly, E., Devlin, G., Pasupati, S. 2011. Outcomes of patients with untreated severe aortic stenosis in real-world practice. *The New Zealand Medical Journal*. 124(1345), 40–48.
57. Perrot, N., Boekholdt, S.M., Mathieu, P., Wareham, N.J., Khaw, K-T., Arsenault, B.J. 2018. Life's simple 7 and calcific aortic valve stenosis incidence in apparently healthy men and women et al. *International Journal of Cardiology*. 269, 226 – 228. doi: [10.1016/j.ijcard.2018.07.107](https://doi.org/10.1016/j.ijcard.2018.07.107)
58. Perrotta, I., Sciangula, A., Aquila, S., Mazzulla, S. 2016. Matrix Metalloproteinase-9 Expression in Calcified Human Aortic Valves: A Histopathologic, Immunohistochemical, and Ultrastructural Study. *Appl Immunohistochem Mol Morphol*. 24(2), 128–37. doi: [10.1097/PAI.0000000000000144](https://doi.org/10.1097/PAI.0000000000000144)
59. Planavila, A., Redondo-Angulo, I., Villarroja, F. 2015. FGF21 and cardiac physiopathology. *Front. Endocrinol*. 6(133). doi: [10.3389/fendo.2015.00133](https://doi.org/10.3389/fendo.2015.00133)
60. Rajamannan, N.M, Evans, F.J, Aikawa, E., et al. 2011. Calcific aortic valve disease: not simply a degenerative process: A review and agenda for research from the National Heart and Lung and Blood Institute Aortic Stenosis Working Group. Executive summary: Calcific aortic valve disease - 2011 update. *Circulation*. 124:1783–91. doi: [10.1161/CIRCULATIONAHA.110.006767](https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.110.006767)
61. Rajamannan, N.M. 2008. Update on the pathophysiology of aortic stenosis. *European Heart Journal Supplements*. 10(SupplE), E4–E10. doi: <https://doi.org/10.1093/eurheartj/sun013>
62. Ren, XM. 2017. Etiology. Aortic stenosis. Drugs and Diseases. O'Brien, T.X. (EIC). *Medscape eMedicine*. <https://emedicine.medscape.com/article/150638-guidelines>
63. Roh, S-g., Song, S-H., Choi, K-C., Katoh, K., Wittamer, V., Parmentier, M., et al. 2007. Chemerin - A new adipokine that modulates adipogenesis via its own receptor. *Biochemical & Biophysical Research Communications*. 362(4), 1013–1018. doi: <https://dx.doi.org/10.1016/j.bbrc.2007.08.104>
64. Rourke, J.L., Dranse, H.J., Sinal, C.J. 2013. Towards an integrative approach to understanding the role of chemerin in human health and disease. *Obesity Reviews*. 14(3), 245–62. doi: <https://dx.doi.org/10.1111/obr.12009>
65. Schindhelm, R.K., van der Zwan, L.P., Teerlink, T., Scheffer, P.G. 2009. Myeloperoxidase: A Useful Biomarker for Cardiovascular Disease Risk Stratification? *Clinical Chemistry*. 55(8), 1462–1470. doi: <https://doi.org/10.1373/clinchem.2009.126029>
66. Schlein, C., Talukdar, S., Heine, M., Brenner, M.B., Heeren, J., Scheja, L. 2016. FGF21 Lowers Plasma Triglycerides by Accelerating Lipoprotein Catabolism in White and Brown Adipose Tissues. *Cell metabolism*. 23(3), 441–453. doi: <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2016.01.006>
67. Schumacher, J.D., Guo, G.L. 2016. Regulation of Hepatic Stellate Cells and Fibrogenesis by Fibroblast Growth Factors. *Biomed Res Int*. 2016(8323747). doi: <http://dx.doi.org/10.1155/2016/8323747>
68. Singh, A., Chan, D.C., Greenwood, J.P., Dawson, D.K., Sonecki, P., Hogrefe K., Kelly, D.J., Dhakshinamurthy, V., Lang, C.C., Khoo, J.P., Sprigings, D., Steeds, R.P., Zhang, R., Ford, I.,

- Jerosch-Herold, M., Yang, J., Li, Z., Ng, L.L., McCann, G.P. 2019. Symptom Onset in Aortic Stenosis: Relation to Sex Differences in Left Ventricular Remodeling. *JACC Cardiovasc Imaging*. 12(1), 96–105. doi: 10.1016/j.jcmg.2017.09.019
69. Solache-Berrocal, G., Barral, A., Martín, M., Román-García, P., Llosa, J.C., Naves-Díaz, M., Cannata-Andía, J.B., Rodríguez, I. 2016. The association of MMP1 1G>2G polymorphism with aortic valve. *Rev Osteoporos Metab Miner* 8(4), 115–120. http://scielo.isciii.es/pdf/romm/v8n4/en_original2.pdf
 70. Spinale, F.G. 2007. Myocardial Matrix Remodeling and the Matrix Metalloproteinases: Influence on Cardiac Form and Function. *Physiol Rev*. 87(4), 1285–342. doi: 10.1152/physrev.00012.2007
 71. Strzepa, A., Pritchard, K.A., Dittel, B.N. 2017. Myeloperoxidase: A new player in autoimmunity. *Cell Immunol*. 317, 1–8. doi: 10.1016/j.cellimm.2017.05.002. Epub 2017 May 10
 72. Takata, M., Amiya, E., Watanabe, M., Shintani, Y., Sakuma, K., Saito, A., Fukayama, M., Ono, M., Komuro, I. 2016. Phenotypic differences in aortic stenosis according to calcification grade. *Int J Cardiol*. 216, 118–20. doi: 10.1016/j.ijcard.2016.04.137
 73. Terashima, M., Akita, H., Kanazawa, K., Inoue, N., Yamada, S., Ito, K., Matsuda, Y., Takai, E., Iwai, C., Kurogane, H., Yoshida, Y., Yokoyama, M. 1999. Stromelysin promoter 5A/6A polymorphism is associated with acute myocardial infarction. *Circulation*. 99 (21), 2717–9. doi:10.1161/01.cir.99.21.2717
 74. Thaden, J.J., Nkomo, V.T., Enriquez-Sarano, M. 2014. The Global Burden of Aortic Stenosis. *Progress in Cardiovascular Diseases*. 56(6), 565–571. doi: <https://doi.org/10.1016/j.pcad.2014.02.006>
 75. Thanassoulis, G. 2016. Lipoprotein (a) in calcific aortic valve disease: from genomics to novel drug target for aortic stenosis. *J. Lipid Res*. 57(6), 917–924. doi: 10.1194/jlr.R051870
 76. Torzewski, M., Ravandi, A., Yeang, C., Edel, A., Bhindi, R., Kath, S., Twardowski, L., Schmid, J., Yang, X., Franke, U.F.W., Witztum, J.L., Tsimikas, S. 2017. Lipoprotein(a)-Associated Molecules Are Prominent Components in Plasma and Valve Leaflets in Calcific Aortic Valve Stenosis. *JACC: Basic to Translational Science*. 2(3), 229–41. doi: 10.1016/j.jacbts.2017.02.004
 77. Vahanian A., Alfieri O., Andreotti F., Antunes M.J., Barón-Esquivias G., Baumgartner H., Borger M.A., Carrel T.P., De Bonis M., Evangelista A., Falk V., Lung B., Lancellotti P., Pierard L., Price S., Schäfers H.J., Schuler G., Stepinska J., Swedberg K., Takkenberg J., Von Oppell U.O., Windecker S., Zamorano J.L., Zembala M. 2012. ESC Committee for Practice Guidelines (CPG); Joint Task Force on the Management of Valvular Heart Disease of the European Society of Cardiology (ESC); European Association for Cardio-Thoracic Surgery (EACTS). *Eur J Cardiothorac Surg*. 42(4), S1–44. doi: 10.1093/ejcts/ezs455
 78. Vassiliou, V.S., Flynn, P.D., Raphael, C.E., Newsome, S., Khan, T., Ali, A., Halliday, B., Bruengger, A.S. et al. 2017. Lipoprotein(a) in patients with aortic stenosis: Insights from cardiovascular magnetic resonance. *PLoS One*. 12(7), e0181077. doi: 10.1371/journal.pone.0181077
 79. Weigert, J., Neumeier, M., Wanninger, J., Filarsky, M., Bauer, S., Wiest, R., et al. 2010. Systemic chemerin is related to inflammation rather than obesity in type 2 diabetes. *Clinical Endocrinology*. 72(3), 342–8. doi: <https://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2265.2009.03664.x>
 80. Wittamer, V., Franssen, J.-D., Vulcano, M., Mirjolet, J.-F., Le Poul, E., Migeotte, I., et al. 2003. Specific recruitment of antigen-presenting cells by chemerin, a novel processed ligand from human inflammatory fluids. *The Journal Of Experimental Medicine*. 198(7), 977–85. doi: <https://dx.doi.org/10.1084/jem.20030382>
 81. Wypasek, E., Potaczek, D.P., Lamplmayr, M., Sadowski, J., Undas, A. 2014. Interleukin-6 receptor Asp358Ala gene polymorphism is associated with plasma C-reactive protein levels and severity of aortic valve stenosis. *Clin Chem Lab Med*. 52(7), 1049–56. doi: 10.1515/cclm-2013-0606
 82. Wypasek, E., Potaczek, D.P., Undas A. 2015. Association of the C-Reactive Protein Gene (CRP) rs1205 C>T Polymorphism with Aortic Valve Calcification in Patients with Aortic Stenosis. *Int J Mol Sci*. 16(10), 23745–59. doi: 10.3390/ijms161023745
 83. Zabel, B.A., Kwitniewski, M., Banas, M., Zabieglo, K., Murzyn, K., Cichy, J. 2014. Chemerin regulation and role in host defense. *Am J Clin Exp Immunol*. 3(1), 1–19. doi: 10.1016/j.phrs.2015.07.018

84. Zeng, Y., Sun, R., Li, X., Liu, M., Chen, S., Zhang, P. 2016. Pathophysiology of valvular heart disease (Review). *Exp Ther Med.* 11(4), 1184–1188. doi: <https://doi.org/10.3892/etm.2016.3048>
85. Zeng, Q., Song, R., Fullerton, D.A., Ao, L., Zhai, Y., Li, S., Ballak, D.B., Cleveland, J.C., Reece, T.B., McKinsey, T.A., Xu, D., Dinarello, C.A., Menga, X. 2017. Interleukin-37 suppresses the osteogenic responses of human aortic valve interstitial cells in vitro and alleviates valve lesions in mice. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 114(7), 1631–1636. doi: [10.1073/pnas.1619667114](https://doi.org/10.1073/pnas.1619667114)
86. Zhang, X., Hu, Y., Zeng, H., Li, L., Zhao, J., Zhao, J., Liu, F., Bao, T., Jia, W. 2015. Serum fibroblast growth factor 21 levels is associated with lower extremity atherosclerotic disease in Chinese female diabetic patients. *Cardiovascular Diabetology.* 14:32. doi: [10.1186/s12933-015-0190-7](https://doi.org/10.1186/s12933-015-0190-7)
87. Zheng, K.H., Tsimikas, S., Pawade, T., Kroon, J., Jenkins, W.S.A., Doris, M.K., White, A.C., Timmers, N.K.L.M., Hjortnaes, J., Rogers, M.A., Aikawa, E., Arsenault, B.J., Witztum, J.L., Newby, D.E. et al. 2019. Lipoprotein(a) and Oxidized Phospholipids Promote Valve Calcification in Patients With Aortic Stenosis. *Journal of the American College of Cardiology.* (17), 2150-2162. doi: [10.1016/j.jacc.2019.01.070](https://doi.org/10.1016/j.jacc.2019.01.070)

PUBLICĒTIE RAKSTI, MUTISKIE ZIŅOJUMI UN TĒZES

Publikācijas recenzētos medicīniskajos izdevumos par darba tēmu

1. Hofmanis, J., Hofmane, D., Svirskis, S., Mackevics, V., Tretjakovs, P., Lejnieks, A., Signorelli, S.S. HDL-C Role in Acquired Aortic Valve Stenosis Patients and Its Relationship with Oxidative Stress. *Medicina*. 2019; 55(8), 416. doi: 10.3390/medicina55080416
2. Tretjakovs, P., Hofmanis, J., Hofmane, D., Krieviņa, G., Blumfelds, L., Mackēvičs, V., Lejnieks, A., Bahs, G. 2019. Prognostic Utility Of Novel Biomarkers In Aortic Valve Stenosis. *Proceedings of the Latvian Academy of Sciences, Section B: Natural, Exact, and Applied Sciences*. 73(2019), No. 2. doi: 10.2478/prolas-2019-0016
3. Lurins, J., Lurina, D., Svirskis, S., Nora-krukle, Z., Tretjakovs, P., Mackevics, V., Lejnieks, A., Rapisarda, V., Baylon, V. Impact of several proinflammatory and cell degradation factors in patients with aortic valve stenosis. *Experimental And Therapeutic Medicine*. 2019; 17, 2433–2442. doi: 10.3892/etm.2019.7254
4. Lurins, J., Lurina, D., Tretjakovs, P., Mackevics, V., Lejnieks, A., Rapisarda, V., Baylon, V. Increased serum chemerin level to predict early onset of aortic valve stenosis. *Biomed Rep*. 2018; 8(1), 31–36. doi: 10.3892/br.2017.1010
5. Lūriņš, J., Mackēvičs, V., Tretjakovs, P., Zeidlers, I. Aortas vārstuļa stenoze saistība ar bioķīmiskiem marķieriem. *RSU Zinātniskie raksti. Internā medicīna*. 2014, 47–56.
6. Lūriņš, J., Veinberga, L., Lūriņa, D., Tretjakovs, P., Mackēvičs, V. Augsta blīvuma lipoproteīna nozīme un saistība ar iekaisuma faktoriem un iegūtu aortas vārstuļa stenozi. *RSU Zinātniskie raksti. Internā medicīna*. 2017, 16–26.
7. Lurins, J., Visocka, A., Mackevics, V., Tretjakovs, P. Kalcificējošas aortas vārstuļa stenoze biomarkieru – hemeīna un FGF-21 – diagnostiskais novērtējums. *RSU Zinātniskie raksti. Internā medicīna*. 2016, 72–81.

Mutiskie ziņojumi kongresos un konferencēs par darba tēmu

1. Plasma thioredoxin reductase and myeloperoxidase levels in acquired aortic valve stenosis patients. J. Lurins, D. Lurina, G. Krievina, V. Mackevics, P. Tretjakovs, A. Lejnieks, S.S. Signorelli (15'). *23rd World Congress on Advances in Oncology and 22nd International Symposium on Molecular Medicine*. Athens, Greece, 2018, September 20–22
2. Impact of several proinflammatory and degeneration factors in aortic valve stenosis. J. Lurins, D. Lurina, P. Tretjakovs, V. Mackevics, A. Lejnieks, V. Rapisarda, V. Baylon (20'). *22nd World Congress on Advances in Oncology and 20th International Symposium on Molecular Medicine*. Athens, Greece, 2017, October 5–7

Tēzes kongresos un konferencēs par darba tēmu

1. Hofmanis, J., Hofmane, D., Gersone, G., Svirskis, S., Mackevics, V., Tretjakovs, P., Lejnieks, A. The role of oxidative stress in calcific aortic valve stenosis patients. Abstract. *International conference knowledge for use in practice*. Rīga Stradiņš University, Riga, Latvia, 2019, April 1–3
2. Lurins, J., Lurina, D., Krievina, D., Mackevics, V., Tretjakovs, P., Lejnieks, A., Signorelli, S.S. Plasma thioredoxin reductase and myeloperoxidase levels in acquired aortic valve stenosis patients. Abstract. *23rd World Congress on Advances in Oncology and 22nd International Symposium on Molecular Medicine*. Athens, Greece, 2018, September 20–22

3. Lurins, J., Lurina, D., Tretjakovs, P., Mackevics, V., Lejnieks, A., Rapisarda, V., Baylon, V. Impact of several proinflammatory and degeneration factors in aortic valve stenosis. Abstract. *22nd World Congress on Advances in Oncology and 20th International Symposium on Molecular Medicine*. Athens, Greece, 2017, October 5–7
4. Lurins, J., Lurina, D., Tretjakovs, P., Mackevics, V. Increased serum chemerin level predicts the early onset of aortic valve stenosis. Abstract. *The 40th Scientific meeting of the ELC*. Tutzing, Germany, 2017, September 04–07
5. Lurins, J., Visocka, A., Krievina, G., Mackevics, V., Tretjakovs, P. Serum chemerin and fibroblast growth factor-21 levels in acquired aortic valve stenosis patients. Abstract. *The 85th EAS Congress*. Prague, Czech Republic, 2017, April 23–26.
6. Lurins, J., Visocka, A., Mackevics, V., Tretjakovs, P. Aortic valve stenosis in association with inflammatory process and biochemical markers. *The 84th EAS Congress*. Innsbruck, Austria, 2016, May 29–June 1
7. Lurins, J., Visocka, A., Mackevics, V., Tretjakovs, P. Bioķīmiskie marķieri iegūtas aortas vārstuļa stenozes patoģenēzē. *RSU zinātniskās konferences tēzes*. Rīga, 2016. gada 17.–18. marts. 45. lpp.
8. Lūriņš, J., Mackēvičs, V., Tretjakovs, P. Bioķīmisko parametru novērtējums pacientiem ar aortālā vārstuļa stenozi. *RSU zinātniskā konferences tēzes*. Rīga, 2015. gada 26. un 27. marts. 125. lpp.
9. Lurins, J., Tretjakovs, P., Mackēvičs, V. Aortic valve stenosis relation with biochemical markers. Abstract. *Atherosclerosis*. 2015, 241(Issue 1), e142. doi: <https://doi.org/10.1016/j.atherosclerosis.2015.04.491>
10. Lūriņš, J., Mackēvičs, V., Tretjakovs, P., Zeidlers, I. Iegūta aortas vārstuļa stenoze: etiopatoģenēzes aspekti. *RSU zinātniskā konferences tēzes*. Rīga, 2014. gada 10. un 11. aprīlis. 170. lpp.

PATEICĪBAS

Izsaku vislielāko pateicību mana promocijas darba vadītājiem asociētam profesoram *Vitoldam Mackēvičam* un profesoram *Pēterim Tretjakovam* par padomiem, veltīto laiku un atbalstu visā doktorantūras studiju un promocijas darba tapšanas laikā.

Liels paldies RSU Doktorantūras nodaļas vadītājai profesorei *Sandrai Lejniecei* par ieteikumiem promocijas darba precīzai izstrādei.

Liels paldies asociētai profesorei *Modrai Murovscai* un RSU Mikrobioloģijas un virusoloģijas institūta darbiniekiem par atbalstu promocijas darba izstrādē.

Izsaku lielu pateicību RSU Mikrobioloģijas un virusoloģijas institūta vadošajam pētniekam Dr. med. *Šimonam Svirskim* par palīdzību iegūto rezultātu analīzē un datu statistiskajā apstrādē.

Liels paldies kardioloģei *Indrai Viļumsonei* no P. Stradiņa KUS Sirds ķirurģijas centra par atbalstu un piedalīšanos pacientu atlases darbā.

Liels paldies manai mātai kardioloģei *Dacei Hofmanei* par līdzdalību un atbalstu promocijas darba izstrādē.

Sirsnīgs paldies manai ģimenei un draugiem par atbalstu, izturību un izpratni doktorantūras studiju un promocijas darba tapšanas laikā.

PIELIKUMI

Pētījuma nosaukums:

Nelipīdu riska faktoru ietekme uz iegūtas aortas vārstuļa stenozes attīstību.

Informācijas lapa pacientam

Paskaidrojums

Mēs lūdzam Jūsu palīdzību pētījumā, kura mērķis ir noskaidrot, kuri no nelipīdu riska faktoriem un cik lielā mērā ietekmē aortas vārstuļa stenozes rašanos.

Mēs būtu pateicīgi, ja Jūs varētu atbildēt uz dažiem jautājumiem par savu dzīvesveidu un atļautu nomērīt Jūsu augumu, nosvērt, paņemt asins paraugus analīzēm.

Visa iegūtā informācija par Jūsu veselības stāvokli paliks augstākā mērā konfidenciāla un būs pieejama tikai Jūsu ārstējošajam ārstam, pētniekam un pētījuma vadītājam.

Nav nepieciešams piedalītais pētījumā, ja Jūs nevēlaties to darīt. Ja jūs nolemsiet nepiedalīties, Jūsu lēmums nekādā veidā neietekmēs Jūsu ārstēšanu. Jums ir tiesības izstāties no pētījuma jebkurā laikā, neminot nekādus paskaidrojumus. Tas nekādā veidā neietekmēs Jūsu turpmāko ārstēšanu.

Sīkāku informāciju Jūs varat saņemt, kontaktējoties ar

(ārsta vārds, uzvārds, telefona numurs)

Mēs ceram, ka Jūs varēsiet palīdzēt šajā pētījumā par nelipīdu riska faktoru ietekmi uz iegūtas aortas vārstuļa stenozes attīstību, kuru rezultāti tiks apkopoti zinātniskajās publikācijās.

(ārsta vārds, uzvārds, telefona numurs)

Informēta pacienta piekrišanas forma

Projekta nosaukums: Nelipīdu riska faktoru ietekme uz iegūtas aortas vārstuļa stenozes attīstību.

Pacientam jāaizpilda šī forma personīgi

(lūdzu atzīmēties atbilstošajās vietās, kas attiecas uz Jums)

Es esmu izlasījis informācijas lapu pacientam

☐

Man ir bijusi izdevība uzdot jautājumus un apspriest pētījumu

☐

Es esmu saņēmis apmierinošas atbildes uz visiem saviem jautājumiem

☐

Es esmu saņēmis pietiekami informāciju par pētījumu

☐

Pētījuma būtību man izskaidroja:

(ārsta vārds, uzvārds)

Es saprotu, ka man ir tiesības izstāties no pētījuma jebkurā laikā, neminot izstāšanās iemeslu un nekādi neiespaidojot savu medicīnisko aprūpi nākotnē

☐

Es piekrītu piedalīties šajā pētījumā

☐

Paraksts.....Datums.....

(Vārds un uzvārds

ar drukātiem burtiem).....

Pētnieka paraksts.....Datums.....

(Vārds un uzvārds

ar drukātiem burtiem).....

Pacienta aptaujas anketa.

1. Vai Jums piemīt kāds no zemāk minētajiem simptomiem:

- spiedošas, dedzinošas sāpes krūšu kurvja priekšpusē, slodzes laikā
- elpastrūkums slodzes laikā
- reibonis
- samaņas zuduma epizodes
- tūskas uz kājām

2. Vai Jums ir paaugstināts holesterīna līmenis asinīs

- nē
- ja jā, vai Jūs zināt tā lielumu _____

3. Vai Jums jebkad dzīvē ir bijis paaugstināts holesterīna un/vai zema blīvuma lipoproteīnu un/vai triglicerīdu līmenis asinīs:

- nē
- jā

4. Vai Jums ir paaugstināts asinsspiediens: jā ☐ nē ☐

5. Vai Jums ir glikozes vielmaiņas traucējumi vai cukura diabēts: jā ☐ nē ☐

• β adrenoblokatorus	• kalcija kanālu blokatorus
• α receptoru blokatorus	• AKE-I
• sirds glikozīdus	• diurētiskus
• klopidoģrelu	• aspirīnu
• holesterīnu zeminošus medikamentus	• insulīnu
• F1 kanālu blokatorus	• p/o antidiabēta medikamentus
• hormonu medikamentus vai citus	• pretiekaisuma medikamentus

6. Vai Jūs pašreiz lietojat kādu no sekojošiem medikamentiem:

7. Vai Jūs jebkad dzīvē esat lietojusi/jis kādu no holesterīnu zeminošiem medikamentiem:

- jā
- nē

8. Vai Jums pēdējo 5 gadu laikā ir veikts kāds no sekojošiem izmeklējumiem:

• koronarogrāfija	• miokarda perfūzijas scintigrāfija
• ehokardiogrāfija	• lipīdu analīzes
• glikozes analīzes	• spirogrāfija
• brahiocefālo a/v doplerogrāfija	

9. Vai pēdējo 5 gadu laikā esat ārstējies slimnīcā kādas sirds – asinsvadu slimības dēļ:

• miokarda infarkts	• paaugstināts asinsspiediens
• sirds mazspēja	• smadzeņu insults
• koronārā sirds slimība	• transitorā išēmiska lēkme (TIL)

Ētikas komitejas atļauja

Veidlapa Nr. E-9 (2)

RSU ĒTIKAS KOMITEJAS LĒMUMS

Rīga, Dzirciema iela 16, LV-1007
Tel. 67409101

Komitejas sastāvs	Kvalifikācija	Nodarbošanās
1. Asoc. prof. Olafs Brūvers	Dr.theo.	teologs
2. Profesore Vija Sīle	Dr.phil.	filozofs
3. Docente Santa Purviņa	Dr.med.	farmakologs
4. Asoc. prof. Voldemārs Arnis	Dr.biol.	rehabilitologs
5. Profesore Regīna Kleina	Dr.med.	patalogs
6. Asoc. prof. Guntars Pupelis	Dr.med.	ķirurgs
7. Asoc. prof. Viesturs Liguts	Dr.med.	toksikologs

Pieteikuma iesniedzējs: **Dr. Juris Lūriņš**
Medicīnas fakultāte

Pētījuma nosaukums: „Nelipīdu riska faktoru ietekme uz iegūtas aortas vārstuļa stenozes attīstību”

Iesniegšanas datums: 04.09.2013.

Pētījuma protokols: Izskatot augstāk minētā pētījuma pieteikuma materiālus (protokolu) ir redzams, ka pētījuma mērķis tiek sasniegts veicot ar pacientiem (bez kāda apdraudējuma veselībai) klīniski-analītisku darbu, aptauju intervijas veidā, iegūto datu apstrādi un analīzi, kā arī izsakot priekšlikumus. Personu (pacientu, dalībnieku) datu aizsardzība, brīvprātīga informēta piekrišana piedalīties pētījumā un konfidencialitāte tiek nodrošināta. Līdz ar to pieteikums atbilst pētījuma ētikas prasībām.

Izskaidrošanas formulārs: ir

Piekrišana piedalīties pētījumā: ir

Komitejas lēmums: piekrist pētījumam

Komitejas priekšsēdētājs Olafs Brūvers

Tituls: Dr. miss., asoc. prof.

Paraksts

Ētikas komitejas sēdes datums: 12.09.2013.