



Edīte Vārtiņa

**Labā priekškambara
audu morfoloģisks raksturojums
pacientiem ar koronāro sirds slimību
un deģeneratīvu aortālā
vārstuļa stenozi**

Promocijas darba kopsavilkums zinātniskā doktora grāda
“zinātnes doktors (*Ph.D.*)” iegūšanai

Nozare – medicīnas bāzes zinātnes,
tai skaitā farmācija
Apakšnozare – histoloģija un citoloģija

Rīga, 2021



RĪGAS STRADIŅA
UNIVERSITĀTE

Edīte Vārīņa

ORCID 0000-0002-9639-2883

Labā priekškambara audu morfoloģisks
raksturojums pacientiem ar koronāro sirds
slimību un deģeneratīvu aortālā vārstuļa stenozi

Promocijas darba kopsavilkums zinātniskā doktora grāda
“zinātnes doktors (*Ph.D.*)” iegūšanai

Nozare – medicīnas bāzes zinātnes, tai skaitā farmācija
Apakšnozare – histoloģija un citoloģija

Rīga, 2021

Promocijas darbs izstrādāts Rīgas Stradiņa universitātes Anatomijas un antropoloģijas institūta Morfoloģijas katedrā, Latvijā

Promocijas darba vadītāji:

Dr. med., Dr. habil. med. profesore **Māra Pilmane**,
Rīgas Stradiņa universitāte, Anatomijas un antropoloģijas institūts, Latvija

Dr. med., Dr. habil. med. profesors **Romans Lācis**,
Rīgas Stradiņa universitāte, Ķirurģijas katedra, Latvija

Oficiālie recenzenti:

Dr. med. vet. profesore **Marina Aunapuu**,
Tartu universitāte, Igaunija

Dr. med. profesors **Oskars Kalējs**,
Rīgas Stradiņa universitāte, Latvija

Dr. med. vet. profesors **Ilmārs Dūrītis**,
Latvijas Lauksaimniecības universitāte

Promocijas darbs tiks aizstāvēts Medicīnas bāzes zinātnes, tai skaitā farmācijas promocijas padomes atklātā sēdē 2021. gada 18. oktobrī plkst 12.00, attālināti, tiešsaistes platformā *Zoom*.

Ar promocijas darbu var iepazīties RSU bibliotēkā un RSU tīmekļa vietnē:
<https://www.rsu.lv/promocijas-darbi>

Promocijas padomes sekretārs:

Dr. biol. profesors **Pēteris Tretjakovs**

Saturs

Darbā lietotie saīsinājumi	5
Ievads	7
1. Materiāls un metodes	12
1.1. Pētījuma pacientu raksturojums	12
1.2. Kontroles grupas pacientu raksturojums	13
1.3. Audu griezumumu iegūšana un sagatavošana krāsošanai	14
1.4. Rutīnas gaismas mikroskopija	15
1.5. Imūnhistoķīmija	15
1.6. TUNEL metode	17
1.7. Datu statistiskā analīze	18
2. Rezultāti	19
2.1. Pārskata mikroskopija	19
2.2. Apoptoze	20
2.3. PGP 9.5 saturoša invāzija	21
2.4. Audu faktori	23
2.4.1. Ātriju nātrijurētiskais peptīds (ANUP)	23
2.4.2. Asinsvadu endotēlija augšanas faktors (VEGF)	25
2.4.3. Hromogranīns A (ChgA)	27
2.4.4. Endotelīns 1 (ET-1)	28
2.5. Iekaisuma faktori	32
2.5.1. Interleikīns 1 α (IL-1 α)	32
2.5.2. Interleikīns 10 (IL-10)	34
2.6. Antimikrobiē peptīdi	39
2.6.1. Beta defensīns 2 (β D2)	39
2.6.2. Beta defensīns 3 (β D3)	44
2.6.3. Beta defensīns 4 (β D4)	49
2.6.4. Datu statistiskās korelācijas	49
3. Diskusija	53
3.1. Endokarda endotēlijs	54
3.2. Invāzija	56
3.3. Ātriju nātrijurētiskais peptīds (ANUP)	58
3.4. Asinsvadu endotēlija augšanas faktors (VEGF)	59
3.5. Hromogranīns A (ChgA)	60
3.6. Endotelīns 1 (ET-1)	62
3.7. Iekaisums	64
3.7.1. Iekaisuma šūnu infiltrācija	64
3.7.2. Interleikīns 1 α	65
3.7.3. Interleikīns 10	67
3.8. Beta defensīni	69

Secinājumi	74
Publikācijas un ziņojumi par promocijas darba tēmu	76
Literatūras saraksts	78
Pateicības	92

Darbā lietotie saīsinājumi

Saīsināj.	Nosaukums latviešu valodā	Nosaukums angļu valodā
ABLH	Augsta blīvuma holesterīns	<i>High-density lipoprotein</i>
ANUP	Ātriju nātrijurētiskais peptīds	<i>Atrial natriuretic peptide</i>
AoV	Aortālais vārstulis	<i>Aortic valve</i>
BNP	Smadzeņu nātrijurētiskais peptīds	<i>Brain natriuretic peptide</i>
ChgA	Hromogranīns A	<i>Chromogranin A</i>
DNS	Dezoksiribonukleīnskābe	<i>Deoxyribonucleic acid</i>
ET-1	Endotelīns 1	<i>Endothelin 1</i>
Il-10	Interleikīns 10	<i>Interleukin 10</i>
Il-1 α	Interleikīns 1 α	<i>Interleukin 1α</i>
KG	Koronarogrāfija	<i>Coronary angiogram</i>
KKEF	Kreisā kambara izsviedes frakcija	<i>Left ventricular ejection fraction</i>
KSS	Koronāra sirds slimība	<i>Coronary heart disease</i>
LKSS	Labā kambara sistoliskais spiediens	<i>Right ventricular systolic pressure</i>
mRNS	Matrices ribonukleīnskābes	<i>Messenger ribonucleic acid</i>
PGP 9.5	Proteīna gēna produkts 9.5	<i>Protein gene producēt 9.5</i>
RAA	Labā priekškambara laukums	<i>Right atrial area</i>
TG	Triglicerīdi	<i>Triglycerides</i>
TNF α	Tumora nekrozes faktors α	<i>Tumor necrosis factor α</i>
VEGF	Asinsvadu endotēlija augšanas faktors	<i>Vascular endothelial growth factor</i>
ZBLH	Zema blīvuma holesterīns	<i>Low-density lipoprotein</i>
β D	Beta defensīns 1	<i>Beta defensin 1</i>

β D2	Beta defensīns 2	<i>Beta defensin 2</i>
β D3	Beta defensīns 3	<i>Beta defensin 3</i>
β D4	Beta defensīns 4	<i>Beta defensin 4</i>

Ievads

Kaut arī mirstība no sirds un asinsvadu slimībām pēdējos gados lielākajā daļā Eiropas valstu mazinās, tā joprojām ir viena no galvenajām sabiedrības veselības problēmām visā pasaulē, katru gadu izraisot 3,9 miljonu Eiropas iedzīvotāju nāvi (Wilkins et al., 2017). Pēc Pasaules Veselības organizācijas datiem, 2016. gadā visā pasaulē no sirds un asinsvadu slimībām miruši 17,9 miljoni cilvēku, kas ir aptuveni trešā daļa no visiem nāves gadījumiem (World Health Organization, 2017). Arī Latvijā gan biežākais nāves iemesls, gan biežākais priekšlaicīgas mirstības iemesls joprojām ir asinsrites sistēmas slimības (Skrule, 2018). Turklāt sirds un asinsvadu sistēmas slimības ir nāves cēlonis, kura īpatsvars Latvijas iedzīvotāju nāves cēloņu struktūrā simt gadu griezumā ir pieaudzis visbūtiskāk (Štāle, Skrule and Rožkalne, 2018).

Vienas no biežāk sastopamajām iegūtajām sirdskaitēm ir koronārā sirds slimība (KSS) un sirds vārstuļu kaites, no kurām biežākā izolētā sirdskaitē pieaugušajiem ir deģeneratīva aortālā vārstuļa (AoV) stenoze (Baumgartner et al., 2017). Gan KSS, gan deģeneratīvai AoV stenozei ir kopīgi attīstības riska faktori – vecums, paaugstināts zema blīvuma holesterīna līmenis asinīs, cukura diabēts, smēķēšana, paaugstināts asinsspiediens, iekaisums un metaboliskais sindroms (Stewart et al., 1997). Ne tikai riska faktori, bet arī patofizioloģiskās izmaiņas, it īpaši deģeneratīvas aortālā vārstuļa stenozes sākuma stadijās, ir līdzīgas aterosklerozei – endotēlija bojājums, lipīdu izgulsnēšanās, fokāla skleroze, iekaisuma šūnu infiltrācija, citokīnu atbrīvošanās un kalcifikācija (Milin et al., 2014). Tomēr ne vienmēr šīs slimības tiek novērotas abas reizē – KSS konstatēta 60 % pacientu, kam veikta ķirurģiska aortālā vārstuļa protezēšana, un 65 % pacientu, kam veikta transkatetra AoV protēzes implantācija (Sabbagh and Nishimura, 2017). Tas apstiprina katrai slimībai specifiskus riska un patoģenēzes faktoros (Henein et al., 2015). Tā kā abas šīs slimības progresē līdz ar vecumu, tad, sabiedrībai novecojot, to izplatība pieaug.

Lai gan šīs sirds saslimšanas ir zināmas jau sen un tiek intensīvi pētītas, joprojām trūkst ticamu marķieru, kas varētu palīdzēt paredzēt slimības progresēšanu, turpmāko operācijas nepieciešamību un mirstību, tādēļ būtu jāpārvērtē slimību patoģenēzē iesaistītie patofizioloģiskie procesi. Izmaiņas audos šo slimību gadījumos ir komplikētas un ietver šūnu nāvi, sirds inervācijas, audu išēmijas rādītāju, metabolismu un homeostāzi regulējošo faktoru, iekaisuma un pretiekaisuma marķieru un citas pārmaiņas, kas joprojām nav pilnībā izziņātas. Būtisks uzdevums zinātniekiem ir izdalīt un noteikt tos biomarķierus, kuriem būtu nozīme agrīnā diagnostikā, terapijas izvēlē un kuri ļautu prognozēt slimības gaitu un iznākumu.

Darba mērķis

Noteikt apoptozes, homeostāzi regulējošo faktoru, inervācijas, išēmijas un iekaisuma marķieru izplatību labā priekškambara audos koronāras sirds slimības un deģeneratīva aortālā vārstuļa atveres stenozes gadījumos.

Darba hipotēze

Koronāras sirds slimības un aortālā vārstuļa deģeneratīvas stenozes gadījumos ir mainīta un atšķirīga homeostāzi regulējošo faktoru, išēmijas, inervācijas un iekaisuma marķieru ekspresija labā priekškambara audos.

Darba uzdevumi

1. Izvērtēt labā priekškambara audu struktūru rutīnā mikroskopijā pēc krāsošanas ar hematoksilīnu un eozīnu pacientiem ar koronāru sirds slimību, deģeneratīvu aortālā vārstuļa stenozi un kontroles audos, kā arī statistiski analizēt iegūtos datus.

2. Noteikt apoptozes indeksu un apoptotisko šūnu skaitu labā priekškambara audos koronāras sirds slimības, aortālā vārstuļa stenozes gadījumos un kontroles audos, kā arī statistiski analizēt iegūtos datus.
3. Noteikt homeostāzi regulējošā faktora ātriju nātrijurētiskā peptīda ekspresiju labā priekškambara audos koronāras sirds slimības, aortālā vārstuļa stenozes gadījumos un kontroles audos, kā arī statistiski analizēt iegūtos datus.
4. Noteikt išēmijas marķiera asinsvadu endotēlija augšanas faktora ekspresiju labā priekškambara audos koronāras sirds slimības, aortālā vārstuļa stenozes gadījumos un kontroles audos, kā arī statistiski analizēt iegūtos datus.
5. Noteikt vazokonstriktora endotelīna 1 ekspresiju labā priekškambara audos koronāras sirds slimības, aortālā vārstuļa stenozes gadījumos un kontroles audos, kā arī statistiski analizēt iegūtos datus.
6. Izvērtēt intervācijas izmaiņas labā priekškambara audos pacientiem ar koronāru sirds slimību, deģeneratīvu aortālā vārstuļa stenozi un kontroles audos, kā arī statistiski analizēt iegūtos datus.
7. Izvērtēt neiroendokrīnās sistēmas iesaisti, nosakot hromogranīnu A labā priekškambara audos pacientiem ar koronāru sirds slimību, deģeneratīvu aortālā vārstuļa stenozi un kontroles audos, kā arī statistiski analizēt iegūtos datus.
8. Izvērtēt iekaisuma un pretiekaisuma procesus, nosakot interleikīnu 1 α un interleikīnu 10 labā priekškambara audos koronāras sirds slimības, aortālā vārstuļa stenozes gadījumos un kontroles audos, kā arī statistiski analizēt iegūtos datus.

9. Noteikt antibakteriālo peptīdu (beta defensīnu 2, 3 un 4) ekspresiju labā priekškambara audos koronāras sirds slimības, aortālā vārsta stenozes gadījumos un kontroles audos, kā arī statistiski analizēt iegūtos datus.

Darba novitāte

Šajā pētījumā ar imūnhistoķīmijas metodi noteicām dažādus audu, inervācijas, iekaisuma, pretiekaisuma faktorus un antimikrobos peptīdus labā priekškambara audos pacientiem ar KSS un deģeneratīvu AoV stenozi, kā kontroles grupu izmantojot labā priekškambara audu paraugus no pacientiem ar iedzimtām sirdskaitēm, kas operēti agrīnā vecumā. Pozitīvo struktūru daudzumu analizējām 4 dažādās labā priekškambara audu grupās – kardiomiocītos, saistaudu šūnās, asinsvadu un endokarda endotēlija šūnās. Kopumā noteicām 11 dažādus marķierus: apoptozi, ANUP, VEGF, PGP 9.5 saturošu inervāciju, ChgA, ET-1, Il-1 α , Il-10, β D2, β D3 un β D4. Līdz šim šādā kombinācijā tie vēl nav pētīti, un, tā kā daži no šiem marķieriem jau ir sen zināmi un plaši pētīti, saliekot tos kopā ar mazāk zināmiem, gūstam plašāku ieskatu par morfoloģiskajām norisēm labā priekškambara audos pacientiem ar KSS un deģeneratīvu AoV stenozi, kas uzskatāma par darba novitāti.

Personīgais ieguldījums

Darba autore ir ieguvusi pētījuma audu paraugus un analizējusi katru audu paraugu gaismas mikroskopā, kā arī veikusi iegūto datu statistisko analīzi. Kopā analizēti 492 audu labā priekškambara audu paraugi. Autore ir sarakstījusi šo darbu un ir visu darbā iekļauto mikrofotogrāfiju autore.

Promocijas darba struktūra un apjoms

Promocijas darbs ir uzrakstīts latviešu valodā. Tas sastāv no 4 nodaļām: literatūras apskata, materiāla un metožu apraksta, rezultātiem un diskusijas. Promocijas darba apjoms ir 136 lappuses, tajā ir 24 tabulas un 63 mikrofotogrāfijas. Literatūras sarakstā ir 353 avoti.

1. Materiāli un metodes

Pētījumā izmantotais audu materiāls – labā priekškambara austiņas fragmenti no 36 unikāliem pacientiem – iegūts Paula Stradiņa Klīniskās universitātes slimnīcas Sirds ķirurģijas centrā plānveida sirds operāciju laikā no 2014. līdz 2017. gadam. Pētījums veikts atbilstoši Helsinku deklarācijai un Rīgas Stradiņa universitātes ētikas prasībām (Ētikas komitejas sēdes datums 29.05.2014.). Visi paraugi ņemti ar pacientu rakstisku piekrišanu.

Pirms operācijas visiem pacientiem veikti rutīnas izmeklējumi, kā parasti pirms plānveida sirds operācijām, tostarp ehokardiogrāfija un koronarogrāfija (KG), asins analīzēs noteikts C reaktīvais olbaltums (CRO), holesterīna frakcijas, tai skaitā triglicerīdi, kopējais holesterīns, augsta un zema blīvuma holesterīns, atsevišķiem pacientiem arī smadzeņu nātrijurētiskais peptīds (BNP). No pacientu slimības vēsturēm apkopoti anamnēzes dati par cukura diabētu, mirdzaritmiju un stafīnu lietošanu. Visiem pacientiem pirms operācijas veikta ehokardiogrāfija, kur noteikts labā priekškambara laukums (RAA), kreisā kambara izsviedes frakcija procentos (KKEF), labā kambara sistoliskais spiediens (LKSS).

1.1. Pētījuma pacientu raksturojums

Kopā pētījumā iekļauti 36 pacienti ar iegūtām sirdskaitēm – 24 pacienti ar koronāru sirds slimību un 12 pacienti ar deģeneratīvu aortālā vārstuļa stenozi. Pacientu pirmsoperācijas dati apkopoti 1.1. tabulā. KSS grupā vidējais pacienta vecums (vidējais \pm SD) bija $65 \pm 8,6$ gadi (no 52 līdz 80 gadiem), bet AoV stenozes grupā $69 \pm 10,1$ gads (no 52 līdz 83 gadiem), turklāt starp šiem rādītājiem nav statistiski ticamas atšķirības ($p > 0,653$).

Pētījuma pacientu raksturojums

Diagonoze	Nosakāmie lielumi	KSS	Deģeneratīva AoV stenozē
		n(%), n = 24	n(%), n = 12
Vīrieši		18 (75,0)	4 (33,3)
Cukura diabēts		5 (20,8)	4 (33,3)
Statīnu lietošana		19 (79,2)	9 (75,0)
Mirdzaritmija		1 (4,2)	3 (25,0)
TG, mmol/L		n = 23	–
	< 1,7	15 (62,5)	8 (66,7)
	≥ 1,7	8 (33,3)	4 (33,3)
ZBLH, mmol/L		n = 22	–
	< 1,8	11 (45,8)	4 (33,3)
	1,81–2,5	5 (20,8)	4 (33,3)
	2,51–3,0	0 (0)	2 (16,7)
	> 3,0	6 (25,0)	2 (16,7)
ABLH, mmol/L		n = 23	–
	≥ 1,2	4 (16,7)	10 (83,3)
	< 1,2	19 (79,2)	2 (16,7)
CRO, mg/l		–	–
	≤ 5,0	19 (79,2)	11 (91,7)
	> 5,0	5 (20,8)	1 (8,3)
KKEF, %		–	–
	> 52	16 (66,7)	12 (100)
	41–51	5 (20,8)	0 (0)
	30–41	3 (12,5)	0 (0)
	< 30	0 (0)	0 (0)
RAA, cm²		–	–
	≤ 18	20 (83,3)	9 (75,0)
	> 18	4 (16,7)	3 (25,0)
LKSS, mmHg		–	–
	< 40	22 (91,7)	9 (75,0)
	41–55	1 (4,2)	2 (16,7)
	56–70	1 (4,2)	1 (8,3)
	> 70	0 (0)	0 (0)

* Apzīmējumi: KSS – koronāra sirds slimība, AoV – aortālais vārstulis, TG – triglicerīdi, ZBLH – zema blīvuma holesterīns, ABLH – augsta blīvuma holesterīns, CRO – C-reaktīvais olbaltums, LKSS – labā kambara sistoliskais spiediens, KKEF – kreisā kambara izviedes frakcija, RAA – labā priekškambara laukums.

1.2. Kontroles grupas pacientu raksturojums

Kā pētījuma kontroles grupa izmantoti Rīgas Stradiņa universitātes Anatomijas un antropoloģijas institūta arhīvā esoši labā priekškambara audu paraugi no 5 pacientiem ar iedzimtām sirdskaitēm, kas operēti agrīnā vecumā. Pētījums veikts atbilstoši Helsinku deklarācijai un Rīgas Stradiņa universitātes ētikas prasībām (Ētikas komitejas sēdes datums 30.04.2015.).

Kontroles grupas pacientu dati apkopoti 1.2. tabulā. Šajā grupā pacienti bija vecumā no 16 dienām līdz 1 gadam un 2 mēnešiem.

1.2. tabula

Kontroles grupas pacientu raksturojums

Nr.	Dzimums	Vecums operācijas dienā	Diagnoze
1.	Zēns	16 dienas	Plaušu artērijas un trikuspidālā vārstuļa atrēzija. Hipoplastisks labais kambaris. Koronāras fistulas. Atvērts arteriālais vads.
2.	Meitene	6 mēneši	Kambaru starpsienas defekts. Atvērts arteriālais vads.
3.	Meitene	6 mēneši	Fallo tetrāde.
4.	Zēns	1 gads 2 mēneši	Kambaru starpsienas defekts.
5.	Zēns	4 mēneši	Kambaru starpsienas defekts.

1.3. Audu griezumu iegūšana un sagatavošana krāsošanai

Sirds operācijas veiktas pilnā intubācijas narkozē ar gareniskas sternotomijas pieeju. ~2 mm² lieli audu fragmenti ņemti no iegriezuma vietas labajā priekškambarī, kas paredzēta venozās kanīles ievietošanai. Pacientiem netika veikti papildu iegriezumi, līdz ar to netika nodarīts nekāds papildu kaitējums. Audu fragmenti ņemti pirms mākslīgās asinsrites uzsākšanas un nekavējoties ievietoti iepriekš sagatavotās Eendorfa tipa mēģenēs ar piesātinātu pikrīnskābes šķīdumu jeb Stefanini šķīdumu. Tālāk audu fragmentus transportēja uz Rīgas Stradiņa universitātes Anatomijas un antropoloģijas institūta Morfoloģijas laboratoriju, kur veica audu dehidratāciju. Pēc tam materiālu

ieguldīja parafinā un ar Leica RM 2245 mikrotomu pagatavoja 3 μm plānus griezumus. Griezumus izlīdzināja silta ūdens peldē, pārnesa uz priekšmetstikliņiem un izžāvēja. Tālāk griezumus sagatavoja krāsošanai – deparafinizēja un rehidratēja. Pēc tam audus krāsoja ar hematoksilīnu un eozīnu rutīnas gaismas mikroskopijai, apstrādāja pēc biotīna–streptavidīna metodes imūnhistoķīmiskai audu marķieru noteikšanai un pēc TUNEL metodes apoptotisku šūnu noteikšanai.

1.4. Rutīnas gaismas mikroskopija

Rutīnas gaismas mikroskopijai preparātus krāsoja ar hematoksilīnu un eozīnu (Fischer et al., 2008). Pēc rehidratācijas audus skaloja destilētā ūdenī un krāsoja ar hematoksilīnu (ab143166, *Abcam*, ASV), lai vizualizētu šūnu kodolus. Tālāk audus skaloja tekošā ūdenī un krāsoja ar eozīnu (05B1003, *Bio-Optica*, Itālija), lai vizualizētu citoplazmu. Pēc tam audus atkārtoti skaloja tekošā ūdenī, dehidratēja ar augošas koncentrācijas spirta šķīdumu un pārklāja ar karboksilolu un ksilolu. Tālāk preparātu fiksēja ar histoloģisko līmi (00811, *HistoLab*, Zviedrija) un pārklāja ar segstikliņu. Visus preparātus izvērtēja Leica VM 6000B gaismas mikroskopā.

1.5. Imūnhistoķīmija

Ar imūnhistoķīmijas metodi labā priekškambara audos noteikti šādi marķieri: ātriju nātrijurētiskais peptīds (ANUP), PGP 9.5 saturoša inervācija, asinsvadu endotēlija augšanas faktors (VEGF), hromogranīns A (ChgA), endotelīns 1 (ET-1), interleikīns 1α (IL-1α), interleikīns 10 (IL-10), β defensīni 2, 3 un 4 (attiecīgi βD2, βD3 un βD4). Audu griezumus krāsoja pēc biotīna–streptavidīna metodes (Hsu, Raine and Fanger, 1981). Pēc rehidratācijas audus skaloja ar TRIS bufera šķīdumu (15-M106, *Bio-Optica*, Itālija) un vārīja EDTA bufera šķīdumā (T0103, *Diapath*, Itālija). Pēc tam audu paraugus apstrādāja ar

3 % peroksīdu, lai bloķētu endogēno peroksidāzi, un atkārtoti skaloja ar TRIS bufera šķīdumu. Tālāk apstrādāja ar šādām primārām antivielām:

- ANUP – 8515/6, darba atšķaidījums 1:10, *Dako*, Dānija;
- PGP – 9.5 439273A, darba atšķaidījums 1:200, *Invitrogen*, ASV;
- VEGF – SC7269, darba atšķaidījums 1:50, *Santa Cruz Biotechnology, Inc.*, ASV;
- ChgA – 910216A, darba atšķaidījums 1:100, *Invitrogen*, ASV;
- ET-1 – ab2786, darba atšķaidījums 1:250, *Abcam*, Lielbritānija;
- II-1 α – sc-9983, darba atšķaidījums 1:50, *Santa Cruz Biotechnology, Inc.*, ASV;
- II-10 – ab34843, darba atšķaidījums 1:400, *Abcam*, Lielbritānija;
- β D2 – AF2758, darba atšķaidījums 1:100, *R&D Systems*, Vācija;
- β D3 – orb183268, darba atšķaidījums 1:100, *Biorbyt*, Lielbritānija;
- β D4 – sc-59496, darba atšķaidījums 1:50, *Santa Cruz Biotechnology, Inc.*, ASV.

Antivielu atšķaidīšanai lietoja antivielu atšķaidītāju (ab64211, *Abcam*, ASV). Pēc inkubācijas ar primārām antivielām paraugus skaloja ar TRIS bufera šķīdumu, uzklāja *HiDef Detection* reakcijas amplifikatoru (954D-31, *Sigma-Aldrich*, ASV), vēlreiz skaloja ar TRIS bufera šķīdumu un uzklāja *HiDef Detection* HRP polimēra iezīmētāju (954D-32, *Sigma-Aldrich*, ASV). Tālāk paraugus atkārtoti skaloja ar TRIS bufera šķīdumu un krāsoja ar hematoksilīnu (ab143166, *Abcam*, ASV), lai vizualizētu šūnu kodolus. Pēc tam audus atkārtoti skaloja tekošā ūdenī, dehidratēja ar augošas koncentrācijas spirta šķīdumu, pārklāja ar karboksilolu un ksilolu. Tālāk preparātus fiksēja ar histoloģisko līmi (00811, *HistoLab*, Zviedrija) un pārklāja ar segstikliņu. Audu griezumiem pagatavoja arī negatīvās un pozitīvās kontroles. Visi preparāti tika izvērtēti Leica VM 6000B gaismas mikroskopā. Imūnhistoķīmiski pozitīvo struktūru relatīvais daudzums tika izvērtēts ar puskvantitatīvo skaitīšanas metodi piecos nejauši

izvēlētos redzes laukos katram audu griezumam (Pilmane et al., 1998). Imūnhistoķīmiski pozitīvo struktūru relatīvā biežuma izvērtēšanas kritēriji attēloti 1.3. tabulā.

1.3. tabula

**Imūnhistoķīmiski pozitīvo struktūru relatīvā biežuma
vērtēšanas kritēriji**

Apzīmējumi	Skaidrojums
0	Redzes laukā netika konstatēta neviena pozitīva struktūra
0/+	Redzes laukā retas pozitīvas struktūras
+	Redzes laukā maz pozitīvu struktūru
+/++	Redzes laukā maz līdz vidēji daudz pozitīvu struktūru
++	Redzes laukā vidēji daudz pozitīvu struktūru
++/+++	Redzes laukā vidēji daudz līdz daudz pozitīvu struktūru
+++	Redzes laukā daudz pozitīvu struktūru
+++/++++	Redzes laukā daudz līdz ļoti daudz pozitīvu struktūru
++++	Redzes laukā ļoti daudz pozitīvu struktūru

1.6. TUNEL metode

Programmētu šūnu nāvi jeb apoptozi noteica ar deoksikinukleotidiltransferāzes dUTP iezīmētā gala marķēšanu jeb TUNEL metodi (Negoescu et al., 1996). Krāsošanai pēc TUNEL metodes audus sagatavoja līdzīgi imūnhistoķīmijai – pēc rehidratācijas audus skaloja destilētā ūdenī un TRIS bufera šķīdumā (15-M106, *Bio-Optica*, Itālija). Pēc tam audu paraugus apstrādāja ar 3 % peroksīdu, lai bloķētu endogēno peroksidāzi, un atkārtoti skaloja ar TRIS bufera šķīdumu. Pēc tam vārīja EDTA bufera šķīdumā (T0103, *Diapath*, Itālija), atdzesēja, atkārtoti skaloja TRIS bufera šķīdumā un atstāja 0,1 % govus seruma albumīna fosfāta buferšķīdumā. Tālāk audu paraugus pārklāja ar TUNEL mix (11684817910, *Roche Diagnostics*, Vācija) enzīmu šķīdumu, pēc tam skaloja TRIS bufera šķīdumā un inkubēja ar mārtruku peroksidāzi saturošu reaģentu. Pēc inkubācijas paraugus skaloja ar TRIS bufera šķīdumu un pārklāja ar DAB šķīdumu peroksidāzes noteikšanai. Tālāk paraugus

atkārtoti skaloja ar TRIS bufera šķīdumu un krāsoja ar hematoksilīnu (ab143166, *Abcam*, ASV), lai vizualizētu šūnu kodolus. Pēc tam audus atkārtoti skaloja tekošā ūdenī, dehidratēja ar augošas koncentrācijas spirta šķīdumu, pārklāja ar karboksilolu un ksilolu. Tālāk preparātus fiksēja ar histoloģisko līmi (00811, *HistoLab*, Zviedrija) un pārklāja ar segstikliņu.

Visi preparāti tika izvērtēti Leica VM 6000B gaismas mikroskopā. Trīs nejauši izvēlētos redzes laukos, kas nepārklājas, saskaitīja visus TUNEL pozitīvos kardiomiocītus, pēc tam noteica apoptotisko indeksu, kas ir apoptotisko kardiomiocītu skaits procentos no visiem kardiomiocītiem vienā redzes laukā (Soini, Paakko and Lehto, 1998).

1.7. Datu statistiskā analīze

Visas statistiskās analīzes tika veiktas, izmantojot *IBM SPSS Statistics 22*. Tā kā lielākā daļa datu bija rangu skala, to apstrādei izmantojām neparametriskās statistikas metodes. Lai noteiktu atšķirības sadalījumā starp diviem dažādiem mainīgajiem, izmantojām *Mann–Whitney* U-testu, bet, lai noteiktu atšķirības starp trim un vairāk mainīgajiem, izmantojām *Kruskal–Wallis* H-testu. Lai noteiktu sakarības starp mainīgajiem lielumiem, tika izmantota Spīrmana (*Spearman*) rangu secības korelācija, kuru interpretēja šādi: r_s (Spīrmana rangu korelācijas koeficients) 0–0,3 – vāja jeb maznozīmīga korelācija, r_s 0,31 – 0,69 – vidēji cieša korelācija, r_s 0,7–0,99 cieša korelācija, 0 līdz –0,3 – vāja jeb maznozīmīga negatīva korelācija, r_s no –0,31 līdz –0,69 – vidēji cieša negatīva korelācija, r_s no –0,7 līdz –0,99 – cieša negatīva korelācija. Rezultātus uzskatīja par statistiski nozīmīgiem, ja p vērtība bija $< 0,05$.

2. Rezultāti

2.1. Pārskata mikroskopija

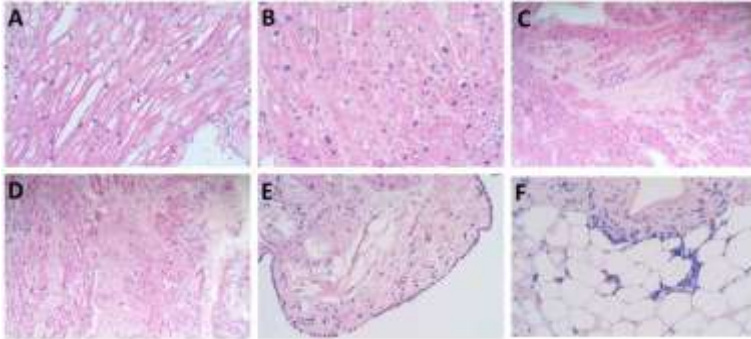
Gandrīz visos preparātos novēroja miokarda deģenerāciju ar difūzu kardiomiocītu vakuolizāciju (skatīt 2.1.A attēlu). Izteikta difūza vakuolizācija bija vairāk raksturīga pacientiem ar KSS – sešiem pacientiem, bet pacientiem ar AoV stenozi kardiomiocītu vakuolizācija bija mērena – trim pacientiem – vai maz izteikta deviņiem pacientiem.

28 preparātos (18 preparātos pacientiem ar KSS un 10 preparātos pacientiem ar deģeneratīvu AoV stenozi) novēroja dažādu izmēru kardiomiocītus un to kodolus, no tiem pieciem pacientiem ar KSS (skatīt 2.1.B attēlu) un trim pacientiem ar AoV stenozi novēroja ļoti lielus kardiomiocītu kodolus.

Trim pacientiem ar KSS un vienam pacientam ar deģeneratīvu AoV stenozi novēroja nozīmīgu saistaudu ieaugšanu labā priekškambara miokardā (skatīt 2.1.C attēlu). Nozīmīgu asinsvadu sklerozi novēroja trim pacientiem ar deģeneratīvu AoV (skatīt 2.1.D attēlu) un diviem pacientiem ar KSS.

Lielā daļā preparātu novēroja mainījušos epikarda un/vai endokarda epitēlija šūnu formu. Kubiskas formas epikarda epitēlija šūnas novēroja 17 pacientiem ar KSS (skatīt 2.1.E attēlu) un pieciem pacientiem ar deģeneratīvu AoV stenozi. Kubiskas formas endokarda endotēlija šūnas novēroja 15 pacientiem ar KSS un septiņiem pacientiem ar AoV stenozi.

Trim pacientiem ar KSS un vienam pacientam ar deģeneratīvu AoV stenozi novēroja fokālu iekaisuma šūnu infiltrāciju epikardā (skatīt 2.1.F attēlu).



2.1. attēls. **A** – kardiomiocītu vakuolizācija zonās ap kodoliem labā priekškambara audos 63 gadus vecam pacientam ar KSS (He/Eo, $\times 200$). **B** – dažāda lieluma, tai skaitā lieli, kodoli labā priekškambara kardiomiocītos 78 gadus vecam pacientam ar KSS (He/Eo, $\times 200$). **C** – saistaudu ieaugšana labā priekškambara miokardā 63 gadus vecam pacientam ar KSS (He/Eo, $\times 100$). **D** – sklerotiski asinsvadi labā priekškambara audos 74 gadus vecam pacientam ar deģeneratīvu AoV stenozi (He/Eo, $\times 100$). **E** – kubiskas formas epikarda epitēlija šūnas labā priekškambara audos 55 gadus vecam pacientam ar KSS (He/Eo, $\times 200$). **F** – iekaisuma šūnu infiltrācija epikardā labā priekškambara audos 52 gadus vecam pacientam ar deģeneratīvu AoV stenozi (He/Eo, $\times 200$)

2.2. Apoptoze

No 24 labā priekškambara audu paraugiem, kas ņemti no pacientiem ar KSS, tikai diviem netika konstatēti apoptotiski kardiomiocīti (skatīt 2.2.A attēlu); septiņos paraugos tādu bija vidēji daudz (++) (skatīt 2.2.B attēlu); deviņos paraugos bija vidēji daudz līdz daudz (+++/+++) un sešos paraugos bija daudz (+++) apoptotisku kardiomiocītu (skatīt 2.2.C attēlu). Apoptotiskais indekss pacientiem ar KSS bija $60,93 \pm 21,68 \%$, un tas variēja no 0 līdz 83,82 %.

Pilnīgi visos labā priekškambara paraugos, kas ņemti no pacientiem ar deģeneratīvu AoV stenozi, konstatēja vairāk vai mazāk izteiktu kardiomiocītu apoptozi. Maz līdz vidēji daudz (+/++) apoptotisku kardiomiocītu konstatēja vienam pacientam ar deģeneratīvu AoV stenozi, bet ļoti

daudz (++++) apoptotisku kardiomiocītu novēroja trim pacientiem. Lielākajai daļai – pieciem pacientiem ar AoV stenozi – labā priekškambara audos konstatēja vidēji daudz līdz daudz (++/+++)
apoptotisku kardiomiocītu. Apoptotiskais indekss pacientiem ar deģeneratīvu AoV stenozi bija $70,55 \pm 15,51$ %, un tas variēja no 36,00 līdz 87,50 %.

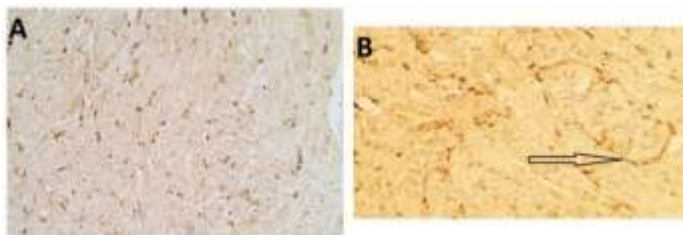
Salīdzinot apoptotisko kardiomiocītu daudzumu paraugos un apoptotisko indeksu pacientiem ar KSS un pacientiem ar deģeneratīvu AoV stenozi, netika atrasta statistiski ticama atšķirība starp abām grupām (p 0,115 un p 0,136).



2.2. attēls. A – apoptotisku kardiomiocītu trūkums labā priekškambara miokardā 77 gadus vecam pacientam ar KSS (TUNEL, $\times 200$). B – vidēji daudz apoptotisku kardiomiocītu labā priekškambara miokardā 62 gadus vecam pacientam ar KSS (TUNEL, $\times 200$). C – daudz apoptotisku kardiomiocītu labā priekškambara miokardā 66 gadus vecam pacientam ar KSS (TUNEL, $\times 200$)

2.3. PGP 9.5 saturoša inervācija

Visās pētītajās grupās lielākajai daļai pacientu labā priekškambara audos bija vismaz daudz līdz ļoti daudz (+++ /++++) PGP 9.5 saturošu nervu šķiedru (skatīt 2.3.A attēlu), attiecīgi KSS grupā 83,3 % pacientu, AoV stenozes grupā 100 % un kontroles grupā jeb pacientiem ar iedzimtām sirdskaitēm 80 % pacientu. KSS pacientu grupā diviem pacientiem labā priekškambara audos bija maz līdz vidēji daudz (+/++) un vienam pacientam vidēji daudz (++) PGP 9.5 saturošu nervu šķiedru (skatīt 2.1. tabulu). Visos preparātos vairāk PGP 9.5 saturošu nervu šķiedru novēroja zonās ap asinsvadiem (skatīt 2.3.B attēlu).



2.3. attēls. A – daudz PGP 9.5 saturošu nervu šķiedru labā priekškambara audos 66 gadus vecam pacientam ar KSS (PGP 9.5 IMH, $\times 200$). B – daudz PGP 9.5 saturošu nervu šķiedru ap asinsvadiem labā priekškambara audos 64 gadus vecam pacientam ar KSS (bultiņa, PGP 9.5 IMH, $\times 200$)

2.1. tabula

PGP 9.5 saturošas inervācijas relatīvais daudzums labā priekškambara audos un tā statistiskais izvērtējums

	KSS n = 24	AoV n = 12	Kontroles grupa n = 5
Pozitīvo struktūru relatīvā daudzuma mediāna	+++ /++++	+++ /++++	++++
<i>Kruskal–Wallis</i> H-tests	p 0,385		
<i>Mann–Whitney</i> U-tests	p 0,558		

* Apzīmējumi: AoV – deģeneratīva aortālā vārstuļa stenoze grupa, KSS – koronāras sirds slimības grupa, PGP 9.5 – proteīna gēna produkts 9.5. Pozitīvo struktūru relatīvā daudzuma apzīmējumi: 0 redzes laukā netika konstatēta neviens pozitīva struktūra; 0/+ redzes laukā retas pozitīvas struktūras; + redzes laukā maz pozitīvu struktūru; +/++ redzes laukā maz līdz vidēji daudz pozitīvu struktūru; ++ redzes laukā vidēji daudz pozitīvu struktūru; +++/+++ redzes laukā vidēji daudz līdz daudz pozitīvu struktūru; +++ redzes laukā daudz pozitīvu struktūru; +++/++++ redzes laukā daudz līdz ļoti daudz pozitīvu struktūru; ++++ redzes laukā ļoti daudz pozitīvu struktūru.

Salīdzinot PGP 9.5 saturošo nervu šķiedru daudzumu labā priekškambara audos, starp trim pētāmajām grupām netika konstatēta statistiski ticami nozīmīga atšķirība (p 0,385). Nozīmīga atšķirība netika konstatēta arī starp pacientiem ar KSS un pacientiem ar deģeneratīvu AoV stenozi (p 0,558). KSS grupā PGP 9.5 saturošu nervu šķiedru relatīvais daudzums uzrādīja vidēji ciešu negatīvu korelāciju ar labā kambara sistolisko spiedienu ($r_s -0,477$; p 0,018).

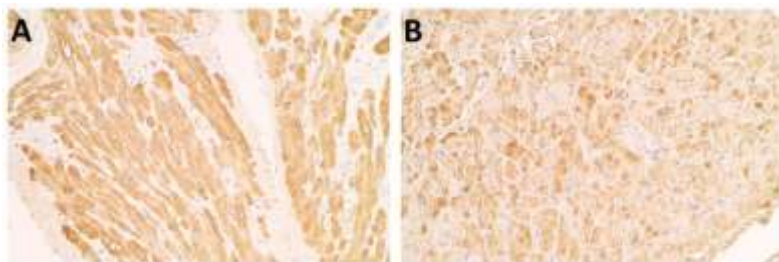
2.4. Audu faktori

2.4.1. Ātriju nātrijurētiskais peptīds (ANUP)

Gan paraugos, kas tika ņemti no pacientiem ar KSS, gan paraugos no pacientiem ar deģeneratīvu AoV stenozi lielākajā daļā gadījumu novēroja daudz (+++) ANUP pozitīvu kardiomiocītu, attiecīgi 14 (skatīt 2.4.A attēlu) un sešiem pacientiem (skatīt 2.2. tabulu). Trim pacientiem KSS grupā (skatīt 2.4.B attēlu) un vienam pacientam AoV stenozes grupā bija vidēji daudz (++) ANUP pozitīvu miokarda šūnu, septiņiem pacientiem KSS grupā un četriem pacientiem AoV stenozes grupā vidēji daudz līdz daudz (++)/ (++++) pozitīvu kardiomiocītu. AoV stenozes grupā bija viens patients, kuram labā priekškambara audu paraugā konstatēja daudz līdz ļoti daudz (++)/ (++++) ANUP pozitīvu kardiomiocītu.

Kontroles grupā labā priekškambara audu paraugos novēroja šādu ANUP pozitīvu kardiomiocītu daudzumu – vienam pacientam bija maz (+), vienam pacientam bija maz līdz vidēji daudz (+/++), diviem pacientiem bija vidēji daudz (++) un vienam pacientam bija daudz (+++) ANUP pozitīvu kardiomiocītu.

Labā priekškambara audos tika konstatēta statistiski ticama atšķirība ANUP pozitīvu kardiomiocītu relatīvajā daudzumā starp visām trim grupām (p 0,029), taču starp pacientiem ar KSS un pacientiem ar deģeneratīvu AoV stenozi statistiski ticamu atšķirību nekonstatēja (p 0,721).



2.4. attēls. A – daudz ANUP pozitīvu kardiomiocītu labā priekškambara audos 56 gadus vecam pacientam ar KSS (ANUP IMH, $\times 200$). B – vidēji daudz ANUP pozitīvu kardiomiocītu labā priekškambara audos 52 gadus vecam pacientam ar KSS (ANUP IMH, $\times 200$)

2.2. tabula

ANUP pozitīvo kardiomiocītu relatīvais daudzums labā priekškambara audos un tā statistiskais izvērtējums

	KSS n = 24	AoV n = 12	Kontroles grupa n = 5
Pozitīvo struktūru relatīvā daudzuma mediāna	+++	+++	++
<i>Kruskal–Wallis</i> H-tests	p 0,029		
<i>Mann–Whitney</i> U-tests	p 0,721		

* Apzīmējumi: ANUP – ātriju nātrijurētiskais peptīds, AoV – deģeneratīva aortālā vārstuļa stenozes grupa, KSS – koronāras sirds slimības grupa.

Pozitīvo struktūru relatīvā daudzuma apzīmējumi: 0 redzes laukā netika konstatēta neviena pozitīva struktūra; 0/+ redzes laukā retas pozitīvas struktūras; + redzes laukā maz pozitīvu struktūru; +/+ redzes laukā maz līdz vidēji daudz pozitīvu struktūru; ++ redzes laukā vidēji daudz pozitīvu struktūru; +++ redzes laukā daudz pozitīvu struktūru; +++/+ redzes laukā daudz līdz ļoti daudz pozitīvu struktūru; ++++ redzes laukā ļoti daudz pozitīvu struktūru.

ANUP pozitīvo struktūru daudzums KSS grupā uzrādīja vidēji ciešu pozitīvu korelāciju (skatīt 2.3. tabulu) ar pacientu vecumu (r_s 0,428; p 0,037) un ciešu pozitīvu korelāciju ar BNP līmeni asinīs (r_s 0,867; p 0,002).

ANUP pozitīvo kardiomiocītu relatīvā daudzuma korelācijas ar pacientu pirmsoperācijas klīniskajiem datiem

Markieris1	Grupa	Markieris2	r _s	p
ANUP	KSS	Vecums	0,428	0,037
		BNP	0,867	0,002

* Apzīmējumi: ANUP – ātriju nātrijurētiskais peptīds, AoV – aortālā vārstuļa stenoze, BNP – smadzeņu nātrijurētiskais peptīds, KSS – koronāra sirds slimība, r_s – Spīrmana rangu korelācijas koeficients.

2.4.2. Asinsvadu endotēlija augšanas faktors (VEGF)

VEGF pozitīvo endotēlija šūnu daudzums labā priekškambara asinsvados (skatīt 2.4. tabulu) pacientiem ar KSS variēja no to trūkuma (viens patients) līdz ļoti daudz (++++) pozitīvām šūnām redzes laukā (viens patients), bet pacientiem ar AoV stenozi – no nevienas pozitīvas struktūras (viens patients) līdz daudz līdz ļoti daudz pozitīvām struktūrām redzes laukā (+++/++++) (viens patients). Diviem pacientiem KSS grupā un vienam pacientam AoV stenozes grupā konstatēja retas (0/+) VEGF pozitīvas asinsvadu endotēlija šūnas redzes laukā, sešiem pacientiem KSS grupā un diviem AoV stenozes grupā bija maz (+), un pa četriem pacientiem katrā grupā bija vidēji daudz (++) VEGF pozitīvu asinsvadu šūnu. Diviem pacientiem KSS grupā bija vidēji daudz līdz daudz (++/++++), sešiem pacientiem KSS grupā un trim pacientiem AoV stenozes grupā bija daudz (+++) VEGF pozitīvu asinsvadu endotēlija šūnu (skatīt 2.5.A attēlu).

Gan pacientiem ar KSS, gan ar AoV stenozi VEGF ekspresiju novēroja ne tikai labā priekškambara asinsvados, bet arī epikarda epitēlija (skatīt 2.5.B attēlu) un endokarda endotēlija šūnās (skatīt 2.5.C attēlu). Tikai diviem pacientiem ar KSS un vienam pacientam ar AoV stenozi pētāmajos paraugos nebija VEGF pozitīvu šūnu ne epikardā, ne endokardā. 62,5 % pacientu KSS grupā un 41,6 % pacientu AoV stenozes grupā bija daudz līdz ļoti daudz (+++/++++) VEGF pozitīvu šūnu epikardā un endokardā.

Lai arī vizuāli KSS grupā VEGF pozitīvo endotēlija šūnu daudzums labā priekškambara asinsvados un endokardā vai epikardā bija lielāks nekā AoV stenozes grupā, statistiski ticamas atšķirības starp šīm grupām netika konstatētas (p 0,745 un p 0,719).

2.4. tabula

VEGF pozitīvo struktūru relatīvais daudzums labā priekškambara audos un tā statistiskais izvērtējums

	Asinsvadu endotēlijs			Endokarda endotēlijs	
	KSS n = 24	AoV n = 12	Kontroles grupa n = 5	KSS n = 24	AoV n = 12
Pozitīvo struktūru relatīvā daudzuma mediāna	++	++	++/+++	+++	++ līdz ++/+++
<i>Kruskal–Wallis</i> H-tests	p 0,779			–	
<i>Mann–Whitney</i> U-tests	p 0,745			p 0,719	

* Apzīmējumi: AoV – deģeneratīva aortālā vārstuļa stenozes grupa, KSS – koronāras sirds slimības grupa, VEGF – asinsvadu endotēlija augšanas faktors.

Pozitīvo struktūru relatīvā daudzuma apzīmējumi: 0 redzes laukā netika konstatēta neviena pozitīva struktūra; 0/+ redzes laukā retas pozitīvas struktūras; + redzes laukā maz pozitīvu struktūru; +/+ redzes laukā maz līdz vidēji daudz pozitīvu struktūru; ++ redzes laukā vidēji daudz pozitīvu struktūru; +++/+++ redzes laukā vidēji daudz līdz daudz pozitīvu struktūru; +++ redzes laukā daudz pozitīvu struktūru; +++/++++ redzes laukā daudz līdz ļoti daudz pozitīvu struktūru; ++++ redzes laukā ļoti daudz pozitīvu struktūru.

Iedzimtu sirdskaišu grupā labā priekškambara asinsvados vienā paraugā bija retas (0/+) VEGF pozitīvas endotēlija šūnas, vienā paraugā bija maz (+) VEGF pozitīvu endotēlija šūnu, vienā paraugā bija vidēji daudz līdz daudz (++/+++), bet divos paraugos bija ļoti daudz (++++) VEGF pozitīvu endoteliocītu (skatīt 2.4. tabulu).



2.5. attēls. A – vidēji daudz VEGF pozitīvu endotēlija šūnu labā priekškambara asinsvadā 53 gadus vecam pacientam ar AoV stenozī (bultiņa, VEGF IMH, ×200). B – daudz vāji iekrāsotas VEGF pozitīvu kubiskas formas epikarda epitēlija šūnu labā priekškambara audos 63 gadus vecam pacientam ar KSS (VEGF IMH, ×200). C – daudz VEGF pozitīvu plakanas formas endokarda endotēlija šūnu labā priekškambara audos 78 gadus vecam pacientam ar AoV stenozī (VEGF IMH, ×100)

Salīdzinot VEGF pozitīvo šūnu relatīvo daudzumu labā priekškambara asinsvados visās trijās grupās, netika konstatēta statistiski ticama atšķirība ($p\ 0,779$). KSS grupā pacientiem ar kubiskas formas endokarda endotēlija šūnām bija pārliecinoši vairāk VEGF pozitīvo endokarda endotēlija šūnu nekā pacientiem, kam endokarda endotēlija šūnas bija plakanas ($p\ 0,007$). VEGF pozitīvo endokarda endotēlija šūnu relatīvais daudzums KSS grupā uzrādīja statistiski ticamu negatīvu vidēji ciešu korelāciju ar pulmonālas hipertensijas smaguma pakāpi ($r_s\ -0,429$; $p\ 0,036$).

2.4.3. Hromogranīns A (ChgA)

Abās iegūto sirdskaišu grupās ChgA pozitīvo endotēlija šūnu daudzums labā priekškambara asinsvados (skatīt 2.5. tabulu) variēja no nevienas pozitīvas šūnas redzes laukā (četriem pacientiem KSS grupā un diviem pacientiem AoV stenozes grupā) līdz daudz (+++) pozitīvām šūnām redzes laukā (trim pacientiem KSS grupā (skatīt 2.6.A attēlu) un vienam pacientam AoV stenozes grupā). Tomēr AoV stenozes grupā bija viens pacients, kura labā priekškambara asinsvados bija ļoti daudz (++++) ChgA pozitīvu endotēlija šūnu.

ChgA pozitīvo struktūru relatīvais daudzums labā priekškambara audos un tā statistiskais izvērtējums

	Asinsvadu endotēlijs			Endokarda endotēlijs	
	KSS n = 24	AoV n = 12	Kontroles grupa n = 5	KSS n = 24	AoV n = 12
Pozitīvo struktūru relatīvā daudzuma mediāna	+ / ++	+ / ++	+++	++ / +++	+++
Kruskal–Wallis H-tests	p 0,017			-	
Mann–Whitney U-tests	p 0,647			p 0,779	

* Apzīmējumi: AoV – deģeneratīva aortālā vārstuļa stenozes grupa, ChgA – hromogranīns A, KSS – koronāras sirds slimības grupa.

Pozitīvo struktūru relatīvā daudzuma apzīmējumi: 0 redzes laukā netika konstatēta neviena pozitīva struktūra; 0/+ redzes laukā retas pozitīvas struktūras; + redzes laukā maz pozitīvu struktūru; + / ++ redzes laukā maz līdz vidēji daudz pozitīvu struktūru; ++ redzes laukā vidēji daudz pozitīvu struktūru; ++ / +++ redzes laukā vidēji daudz līdz daudz pozitīvu struktūru; +++ redzes laukā daudz pozitīvu struktūru; +++ / ++++ redzes laukā daudz līdz ļoti daudz pozitīvu struktūru; ++++ redzes laukā ļoti daudz pozitīvu struktūru.

Lielai daļai iegūto sirdskaišu pacientu novēroja ChgA ekspresiju arī labā priekškambara endokarda endotēlijā (skatīt 2.6.B attēlu) un epikarda epitēlija šūnās (skatīt 2.6.C attēlu). KSS grupā diviem pacientiem bija maz (+), trim pacientiem bija vidēji daudz (++) , sešiem pacientiem bija vidēji daudz līdz daudz (++ / +++), astoņiem pacientiem daudz (+++) un diviem pacientiem daudz līdz ļoti daudz (+++ / ++++) pozitīvu endokarda vai epikarda epitēlija šūnu. AoV stenozes grupā vienam pacientam atradām retas pozitīvas šūnas redzes laukā (0/+), vienam pacientam maz (+), vienam pacientam vidēji daudz (++) , vienam pacientam vidēji daudz līdz daudz (++ / +++) un septiņiem pacientiem daudz (+++) pozitīvu endokarda vai epikarda šūnu redzes laukā.

Savukārt kontroles grupā jeb pacientiem ar iedzimtām sirdskaitēm ChgA pozitīvo endotēlija šūnu daudzums labā priekškambara asinsvados (skatīt 2.5. tabulu) variēja: no vidēji daudz līdz daudz (++) pozitīvu struktūru redzes laukā vienam pacientam līdz daudz (+++) ChgA pozitīvu struktūru redzes laukā četriem pacientiem. Turklāt ChgA pozitīvo asinsvadu endotēlija šūnu relatīvais daudzums bija statistiski nozīmīgi atšķirīgs starp visām trim pētījumā iesaistītajām grupām ($p < 0,017$).



2.6. attēls. A – vidēji daudz ChgA pozitīvu endotēlija šūnu labā priekškambara asinsvados 63 gadus vecam pacientam ar KSS (bultiņas, ChgA IMH, $\times 200$). B – vidēji daudz ChgA pozitīvu plakanas formas endokarda endotēlija šūnu labā priekškambara audos 63 gadus vecam pacientam ar KSS (ChgA IMH, $\times 200$). C – daudz ChgA pozitīvu epikarda epitēlija šūnu labā priekškambara audos 63 gadus vecam pacientam ar KSS (ChgA IMH, $\times 200$)

2.4.4. Endotelīns 1 (ET-1)

Lielākajai daļai pacientu ar iegūtām sirdskaitēm (37,5% KSS grupā un 33,3% AoV stenozes grupā) bija vidēji daudz (++) ET-1 pozitīvu endotēlija šūnu labā priekškambara asinsvados (skatīt 2.6. tabulu). KSS grupā ET-1 pozitīvu endotēlija šūnu daudzums labā priekškambara asinsvados variēja no to trūkuma diviem pacientiem līdz daudz pozitīvām struktūrām redzes laukā (+++) arī diviem pacientiem (skatīt 2.7.A attēlu), bet deģeneratīvas AoV stenozes grupā no nevienas pozitīvas šūnas redzes laukā vienam pacientam līdz daudz līdz ļoti daudz (+++/++++) ET-1 pozitīvu struktūru redzes laukā diviem pacientiem. Iedzimtu sirdskaišu jeb kontroles grupā lielākajā daļā preparātu (60%) bija

atrodamas vien retas (0/+) ET-1 pozitīvas endotēlija šūnas asinsvados, vienā preparātā ET-1 pozitīvas endotēlija šūnas asinsvados netika konstatētas nemaz, un vienā preparātā bija vidēji daudz (++) ET-1 pozitīvu endotēlija šūnu asinsvados. Statistiski ticamu atšķirību ET-1 pozitīvu asinsvadu endotēlija šūnu relatīvajā daudzumā nekonstatēja ne starp visām trim pētījumā apskatītajām grupām (p 0,109), ne arī atsevišķi starp pacientiem ar KSS un pacientiem ar deģeneratīvu AoV stenozi (p 0,666). Apskatot kopā pacientus ar iegūtām sirdskaitēm, ET-1 pozitīvo endotēlija šūnu relatīvais daudzums labā priekškambara asinsvados uzrādīja vāju negatīvu korelāciju ar labā kambara sistolisko spiedienu ($r_s -0,345$; p 0,039).

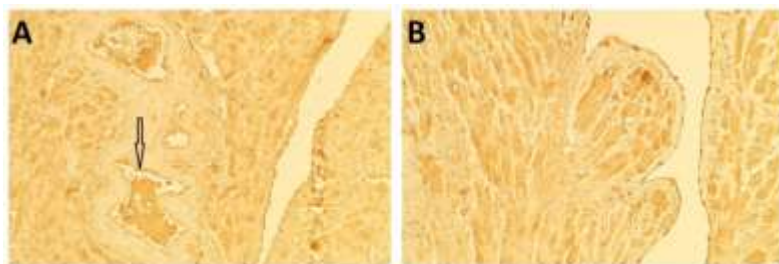
Gandrīz visos paraugos, izņemot vienu labā priekškambara paraugu, kas ņemts no pacienta ar deģeneratīvu AoV stenozi, konstatēja ET-1 pozitīvas endokarda endotēlija šūnas (skatīt 2.6. tabulu). ET-1 ekspresiju endokardā konstatēja gan vietās ar plakanām endotēlija šūnām (skatīt 2.7.B attēlu), gan vietās ar kubiskas formas endotēliju. Lai arī ET-1 pozitīvo endokarda endotēlija šūnu relatīvā daudzuma mediāna KSS grupā bija vidēji daudz līdz daudz (++/+++), bet deģeneratīvas AoV stenozes grupā vidēji daudz (++) , statistiski ticamu atšķirību starp šīm grupām nekonstatējām (p 0,174). Pacientiem ar AoV stenozi, kas pastāvīgi lietoja statīnus, bija statistiski ticami mazāk ET-1 pozitīvu endotēlija šūnu labā priekškambara endokardā nekā pacientiem, kas statīnus nelietoja (p 0,047).

ET-1 pozitīvo struktūru relatīvais daudzums labā priekškambara audos un tā statistiskais izvērtējums

	Asinsvadu endotēlijs			Endokarda endotēlijs	
	KSS n = 24	AoV n = 12	Kontroles grupa n = 5	KSS n = 24	AoV n = 12
Pozitīvo struktūru relatīvā daudzuma mediāna	++	+ / ++ līdz ++	0/+	++ / +++	++
<i>Kruskal–Wallis</i> H-tests	p 0,109			-	
<i>Mann–Whitney</i> U-tests	p 0,666			p 0,174	

* Apzīmējumi: AoV – deģeneratīva aortālā vārsta stenoze grupa, KSS – koronāras sirds slimības grupa, ET-1 – endotēlijs 1.

Pozitīvo struktūru relatīvā daudzuma apzīmējumi: 0 redzes laukā netika konstatēta neviena pozitīva struktūra; 0/+ redzes laukā retas pozitīvas struktūras; + redzes laukā maz pozitīvu struktūru; + / ++ redzes laukā maz līdz vidēji daudz pozitīvu struktūru; ++ redzes laukā vidēji daudz pozitīvu struktūru; ++ / +++ redzes laukā vidēji daudz līdz daudz pozitīvu struktūru; +++ redzes laukā daudz pozitīvu struktūru; +++ / ++++ redzes laukā daudz līdz ļoti daudz pozitīvu struktūru; ++++ redzes laukā ļoti daudz pozitīvu struktūru.



2.7. attēls. A – vidēji daudz ET-1 pozitīvu endotēlija šūnu labā priekškambara asinsvados 66 gadus vecam pacientam ar KSS (bultiņa, ET-1 IMH, $\times 200$). B – daudz ET-1 pozitīvu plakanas formas endokarda endotēlija šūnu labā priekškambara audos 78 gadus vecam pacientam ar deģeneratīvu AoV stenozi (ET-1 IMH, $\times 200$)

2.5. Iekaisuma faktori

2.5.1. Interleikīns 1 α (Il-1 α)

Pētījumā iekļautajos audu paraugos Il-1 α pozitīvas bija galvenokārt saistaudu un endokarda endotēlija (skatīt 2.7. tabulu) vai epikarda epitēlija šūnas (skatīt 2.8.A attēlu). Deviņiem pacientiem KSS grupā un četriem pacientiem deģeneratīvas AoV stenozes grupā nebija Il-1 α pozitīvu saistaudu šūnu labā priekškambara audos, deviņiem pacientiem KSS grupā un četriem pacientiem AoV stenozes grupā bija retas (0/+) Il-1 α pozitīvas saistaudu šūnas, pieciem pacientiem KSS un trim pacientiem AoV stenozes grupā bija maz (+) Il-1 α pozitīvu saistaudu šūnu, bet vienam pacientam KSS grupā bija maz līdz vidēji daudz (+/++) Il-1 α pozitīvu saistaudu šūnu (skatīt 2.8.B attēlu) un vienam pacientam AoV stenozes grupā bija vidēji daudz līdz daudz (+/+++) Il-1 α pozitīvu saistaudu šūnu. Arī kontroles audos Il-1 α pozitīvu saistaudu šūnu bija samērā maz – diviem pacientiem netika konstatētas Il-1 α pozitīvas saistaudu šūnas, diviem pacientiem bija retas (0/+) Il-1 α pozitīvas saistaudu šūnas un tikai vienam pacientam konstatēja vidēji daudz (++) Il-1 α pozitīvu saistaudu šūnu. Il-1 α pozitīvo saistaudu šūnu relatīvā daudzuma mediāna visās trijās grupās bija retas pozitīvas struktūras redzes laukā (0/+), un netika konstatēta statistiski ticama atšķirība starp visām pētījumā apskatītajām grupām (p 0,883).

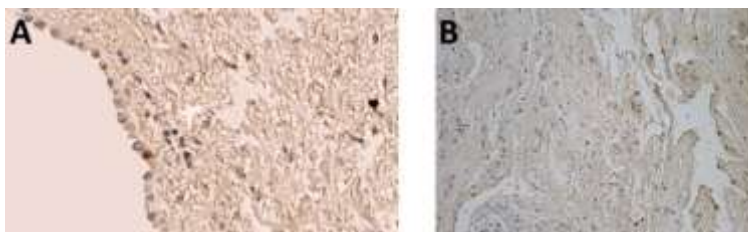
II-1α pozitīvo struktūru relatīvais daudzums labā priekškambara audos un tā statistiskais izvērtējums

	Saistaudu šūnas			Endokarda endotēlijs	
	KSS n = 24	AoV n = 12	Kontroles grupa n = 5	KSS n = 24	AoV n = 12
Pozitīvo struktūru relatīvā daudzuma mediāna	0/+	0/+	0/+	+/>++	+
<i>Kruskal–Wallis</i> H-tests	p 0,883			-	
<i>Mann–Whitney</i> U-tests	p 0,632			p 0,461	

* Apzīmējumi: AoV – deģeneratīva aortālā vārstuļa stenozes grupa, II-1α – interleikīns 1α, KSS – koronāras sirds slimības grupa.

Pozitīvo struktūru relatīvā daudzuma apzīmējumi: 0 redzes laukā netika konstatēta neviena pozitīva struktūra; 0/+ redzes laukā retas pozitīvas struktūras; + redzes laukā maz pozitīvu struktūru; +/>++ redzes laukā maz līdz vidēji daudz pozitīvu struktūru; ++ redzes laukā vidēji daudz pozitīvu struktūru; +/>+++ redzes laukā vidēji daudz līdz daudz pozitīvu struktūru; +++ redzes laukā daudz pozitīvu struktūru; +/>++++ redzes laukā daudz līdz ļoti daudz pozitīvu struktūru; +/>++++ redzes laukā ļoti daudz pozitīvu struktūru.

II-1α pozitīvu endokarda endotēlija šūnu daudzums abās iegūto sirdskaišu grupās variēja no to trūkuma (KSS grupā 29,2 %, AoV stenozes grupā 33,3 %) līdz daudz (+/>++) pozitīvām struktūrām redzes laukā (KSS grupā 4,2%, AoV stenozes grupā 8,3%) un statistiski neatšķīrās starp abām grupām (p 0,461). AoV stenozes grupā II-1α pozitīvo endokarda endotēlija šūnu relatīvais daudzums uzrādīja vidēji ciešu negatīvu korelāciju ar labā kambars sistolisko spiedienu (r_s -0,606; p 0,037).



2.8. attēls. A – retas **IL-1 α** pozitīvas kubiskas formas epikarda epitēlija šūnas labā priekškambara audos 69 gadus vecam pacientam ar deģeneratīvu AoV stenozi (**IL-1 α** IMH, $\times 200$). B – maz līdz vidēji daudz **IL-1 α** pozitīvu saistaudu šūnu labā priekškambara audos 80 gadu vecam pacientam ar KSS (**IL-1 α** IMH, $\times 200$)

2.5.2. Interleikīns 10 (IL-10)

Pretiekaisuma citokīna IL-10 ekspresija bija vērojama visās labā priekškambara audu paraugos esošajās audu grupās (skatīt 2.8. un 2.9. tabulu) – kardiomiocītos, saistaudos, asinsvadu un endokarda endotēlijā, kā arī epikarda epitēlijā. No 24 labā priekškambara audu paraugiem, kas ņemti no pacientiem ar KSS, 10 paraugos bija vidēji daudz līdz daudz (++) IL-10 pozitīvu kardiomiocītu un 12 paraugos daudz (+++) IL-10 pozitīvu kardiomiocītu (skatīt 2.9.A attēlu), bet vienam pacientam maz līdz vidēji daudz (+/++) un vienam pacientam vidēji daudz (++) IL-10 pozitīvu kardiomiocītu (skatīt 2.9.B attēlu). Turklāt IL-10 pozitīvo kardiomiocītu relatīvais daudzums uzrādīja vidēji ciešu pozitīvu korelāciju ar pacientu vecumu (r_s 0,596; p 0,002) (skatīt 2.10. tabulu). Šīs pašas grupas pacientiem IL-10 ekspresija saistaudu šūnās bija mazāka nekā kardiomiocītos un variēja no retām (0/+) IL-10 pozitīvām saistaudu šūnām redzes laukā četriem pacientiem līdz daudz (+++) pozitīvām saistaudu šūnām redzes laukā pieciem pacientiem. IL-10 pozitīvu saistaudu šūnu relatīvā daudzuma mediāna bija vidēji daudz (++) . IL-10 ekspresija bija vērojama arī labā priekškambara asinsvadu un endokarda endotēlijā. KSS grupā tikai vienam pacientam netika konstatētas IL-10 pozitīvas endotēlija šūnas labā priekškambara asinsvados, bet vienam pacientam bija maz (+), trim pacientiem maz līdz vidēji

daudz (+/+), septiņiem pacientiem vidēji daudz (++) (skatīt 2.9.C attēlu), četriem pacientiem vidēji daudz līdz daudz (++/+++), sešiem pacientiem daudz (+++), vienam pacientam daudz līdz ļoti daudz (+++/++++) un vienam pacientam bija ļoti daudz (++++) pozitīvu asinsvadu endotēlija šūnu. Turklāt pacientiem ar KSS un CRO asinīs lielāku par 5 mg/L bija statistiski ticami mazāk II-10 pozitīvu endotēlija šūnu labā priekškambara asinsvados (p 0,018). Lielākajai daļai pacientu (66,7 %) ar KSS bija daudz (+++) II-10 pozitīvu endokarda endotēlija šūnu labā priekškambara audos (skatīt 2.9.D attēlu), un to relatīvais daudzums uzrādīja vidēji ciešu negatīvu korelāciju ar kreisā kambara izsviedes frakciju (r_s -0,441; p 0,031) (skatīt 2.10. tabulu).

AoV stenozes grupā lielākajai daļai pacientu (58,3 %) labā priekškambara audos bija vidēji daudz līdz daudz (++/+++) II-10 pozitīvu kardiomiocītu, bet II-10 pozitīvo saistaudu šūnu daudzums variēja no retām pozitīvām šūnām redzes laukā (0/+) 16,7 % līdz daudz pozitīvām šūnām redzes laukā (+++) 20,8 % un II-10 pozitīvo saistaudu šūnu relatīvā daudzuma mediāna bija vidēji daudz (++) . Šajā pašā grupā no 12 paraugiem divos bija maz līdz vidēji daudz (+/+), piecos vidēji daudz (++) , vienā vidēji daudz līdz daudz (++/+++) un četros daudz (+++) II-10 pozitīvu asinsvadu endotēlija šūnu. 91,7 % pacientu AoV stenozes grupā labā priekškambara audos bija vismaz vidēji daudz (++) II-10 pozitīvu endokarda endotēlija šūnu (skatīt 2.9.E attēlu).

II-10 pozitīvo kardiomiocītu un saistaudu šūnu relatīvais daudzums labā priekškambara audos un tā statistiskais izvērtējums

	Kardiomiocīti			Saistaudu šūnas		
	KSS n = 24	AoV n = 12	Kontroles grupa n = 5	KSS n = 24	AoV n = 12	Kontroles grupa n = 5
Pozitīvo struktūru relatīvā daudzuma mediāna	++/+++ līdz +++	++/+++	++/+++	++	+ / ++	0/+
Kruskal–Wallis H-tests	p 0,008			p 0,045		
Mann–Whitney U-tests	p 0,010			p 0,290		

* Apzīmējumi: AoV – deģeneratīva aortālā vārsta stenozes grupa, II-10 – interleikīns 10, KSS – koronāras sirds slimības grupa.

Pozitīvo struktūru relatīvā daudzuma apzīmējumi: 0 redzes laukā netika konstatēta neviena pozitīva struktūra; 0/+ redzes laukā retas pozitīvas struktūras; + redzes laukā maz pozitīvu struktūru; +/+ redzes laukā maz līdz vidēji daudz pozitīvu struktūru; ++ redzes laukā vidēji daudz pozitīvu struktūru; +++/+++ redzes laukā vidēji daudz līdz daudz pozitīvu struktūru; +++ redzes laukā daudz pozitīvu struktūru; +++/++++ redzes laukā daudz līdz ļoti daudz pozitīvu struktūru; ++++ redzes laukā ļoti daudz pozitīvu struktūru.

Iedzimtu sirdskaišu (kontroles) grupā diviem pacientiem bija vidēji daudz (++) un trim pacientiem vidēji daudz līdz daudz (++++) II-10 pozitīvu kardiomiocītu (skatīt 2.9.F attēlu), bet 80 % paraugu konstatēja retas (0/+) II-10 pozitīvas saistaudu šūnas. Salīdzinoši maz II-10 pozitīvu endotēlija šūnu kontroles grupas pacientiem bija arī labā priekškambara asinsvados un endokardā. 40 % pacientu bija maz (+) un 60 % retas (0/+) II-10 pozitīvas asinsvadu endotēlija šūnas. Diviem pacientiem netika konstatētas II-10 pozitīvas endokarda endotēlija šūnas labā priekškambara audu paraugos.

II-10 pozitīvo asinsvadu un endokarda endotēlija šūnu relatīvais daudzums labā priekškambara audos un tā statistiskais izvērtējums

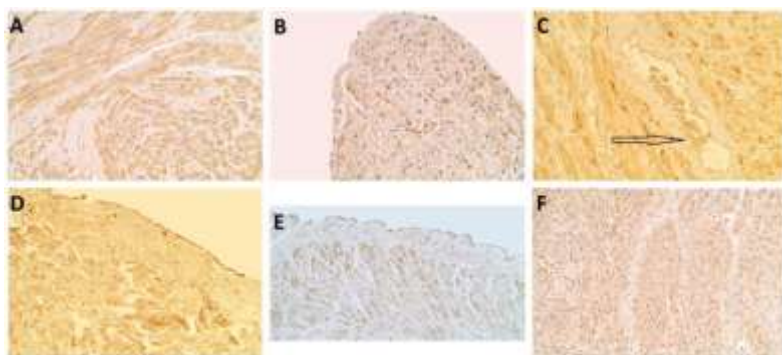
	Asinsvadu endotēlijs			Endokarda endotēlijs		
	KSS n = 24	AoV n = 12	Kontroles grupa n = 5	KSS n = 24	AoV n = 12	Kontroles grupa n = 5
Pozitīvo struktūru relatīvā daudzuma mediāna	++ līdz ++/+++	++	0/+	+++	+++/>+++	0/+
<i>Kruskal–Wallis</i> H-tests	p 0,003			p 0,001		
<i>Mann–Whitney</i> U-tests	p 0,876			p 0,017		

* Apzīmējumi: AoV – deģeneratīva aortālā vārstuļa stenozes grupa, II-10 – interleikīns 10, KSS – koronāras sirds slimības grupa.

Pozitīvo struktūru relatīvā daudzuma apzīmējumi: 0 redzes laukā netika konstatēta neviena pozitīva struktūra; 0/+ redzes laukā retas pozitīvas struktūras; + redzes laukā maz pozitīvu struktūru; +/+ redzes laukā maz līdz vidēji daudz pozitīvu struktūru; ++ redzes laukā vidēji daudz pozitīvu struktūru; +++ redzes laukā vidēji daudz līdz daudz pozitīvu struktūru; ++++ redzes laukā daudz pozitīvu struktūru; ++++/++++ redzes laukā daudz līdz ļoti daudz pozitīvu struktūru; ++++ redzes laukā ļoti daudz pozitīvu struktūru.

KSS grupā bija statistiski ticami vairāk II-10 pozitīvu kardiomiocītu un endokarda endotēlija šūnu nekā AoV stenozes grupā (attiecīgi p 0,010 un p 0,017). Salīdzinot visas trīs grupas, statistiski ticama atšķirības bija gan II-10 pozitīvu kardiomiocītu relatīvajā daudzumā (p 0,008), gan II-10 pozitīvu saistaudu šūnu relatīvajā daudzumā (p 0,045), gan II-10 pozitīvu asinsvadu un endokarda endotēlija šūnu relatīvajā daudzumā (p 0,003 un p < 0,001). Apskatot kopā visus pacientus ar iegūtām sirdskaitēm, to II-10 pozitīvo endotēlija šūnu skaits labā priekškambara asinsvados uzrādīja vāju negatīvu korelāciju ar CRO līmeni asinīs ($r_s -0,354$; p 0,034) (skatīt 2.10. tabulu).

Pacientiem ar KSS un iekaisuma šūnu infiltrāciju epikardā bija statistiski ticami vairāk Il-10 pozitīvu endotēlija šūnu labā priekškambara asinsvados ($p < 0,023$) nekā pacientiem ar KSS bez iekaisuma šūnu infiltrācijas. Arī, apskatot kopā visus pacientus ar iegūtām sirdskaitēm un iekaisuma šūnu infiltrāciju, novēroja tādu pašu tendenci – vairāk Il-10 pozitīvu endotēlija šūnu labā priekškambara asinsvados ($p < 0,006$) nekā pacientiem ar iegūtām sirdskaitēm bez iekaisuma šūnu infiltrācijas labā priekškambara epikardā.



2.9. attēls. A – daudz Il-10 pozitīvu kardiomiocītu labā priekškambara audos 63 gadus vecam pacientam ar KSS (Il-10 IMH, $\times 200$). B – vidēji daudz Il-10 pozitīvu kardiomiocītu labā priekškambara audos 67 gadus vecam pacientam ar KSS (Il-10 IMH, $\times 200$). C – vidēji daudz Il-10 pozitīvas endotēlija šūnas labā priekškambara asinsvadā pacientam ar KSS (bultiņa, Il-10 IMH, $\times 200$). D – daudz Il-10 pozitīvu kubiskas formas endokarda endotēlija šūnu labā priekškambara audos 57 gadus vecam pacientam ar KSS (IMH, $\times 200$). E – vidēji daudz Il-10 pozitīvu plakanas formas endokarda endotēlija šūnu labā priekškambara audos 74 gadus vecam pacientam ar AoV stenozi (Il-10 IMH, $\times 200$). F – vidēji daudz līdz daudz Il-10 pozitīvu kardiomiocītu labā priekškambara audos 4 mēnešus vecam pacientam ar kambaru starpsienas defektu (Il-10 IMH, $\times 200$)

II-10 pozitīvo struktūru relatīvā daudzuma korelācijas ar pacientu pirmsoperācijas klīniskajiem datiem

Markieris1	Grupa	Markieris2	r _s	p
II-10 kardiomiocītos	KSS	Vecums	0,596	0,002
II-10 asinsvadu endotēlijā	KSS	CRO	-0,474	0,019
		LKSS	0,470	0,021
II-10 endokarda endotēlijā	KSS	KKEF grupas	-0,441	0,031

* Apzīmējumi: CRO – c reaktīvais olbaltums, II-10 –interleikīns 10, KSS – koronārā sirds slimība, LKSS – labā kambara sistoliskais spiediens, KKEF – kreisā kambara izsviedes frakcija (grupas: normāla KKEF EF 52–72 %, viegli samazināta KKEF 41–51 %, mēreni samazināta 30–40 %, izteikti samazināta KKEF < 30 %), r_s – Spīrmana rangu korelācijas koeficients.

2.6. Antimikrobie peptīdi

2.6.1. Beta defensīns 2 (βD2)

βD2 ekspresija bija vērojama visās pētījumā apskatītajās labā priekškambara audu grupās (skatīt 2.11. un 2.12. tabulu). Lai arī vairāk βD2 pozitīvu šūnu bija paraugos, kas ņemti no pacientiem ar iegūtām sirdskaitēm, statistiski ticama atšķirība starp visām grupām bija tikai βD2 pozitīvu endokarda endotēlija šūnu relatīvajā daudzumā (p 0,005).

KSS grupā visiem pacientiem labā priekškambara audu paraugos bija vismaz vidēji daudz (++) βD2 pozitīvu kardiomiocītu, no kuriem vidēji daudz (++) tika novērots trim pacientiem, vidēji daudz līdz daudz (+/++) sešiem pacientiem un daudz (+++) 15 pacientiem (skatīt 2.10.A attēlu). AoV stenozes grupā tieši 50 % pacientu bija daudz βD2 pozitīvu kardiomiocītu, pārējiem 41,7 % vidēji daudz līdz daudz (+/++) un 8,3 % maz līdz vidēji daudz (+) βD2 pozitīvu kardiomiocītu (skatīt 2.10.B attēlu). Līdzīgi pacientiem ar iegūtām sirdskaitēm, arī kontroles grupā βD2 pozitīvu kardiomiocītu bija vidēji daudz līdz daudz (+/++) četriem pacientiem un daudz (++) vienam pacientam (skatīt 2.10.C attēlu).

βD2 pozitīvo kardiomiocītu un saistaudu šūnu relatīvais daudzums labā priekškambara audos un tā statistiskais izvērtējums

	Kardiomiocīti			Saistaudu šūnas		
	KSS n = 24	AoV n = 12	Kontroles grupa n = 5	KSS n = 24	AoV n = 12	Kontroles grupa n = 5
Pozitīvo struktūru relatīvā daudzuma mediāna	+++	++/+++ līdz +++	++/+++	++	++/+++	+
Kruskal–Wallis H-tests	p 0,425			p 0,328		
Mann–Whitney U-tests	p 0,567			p 0,573		

* Apzīmējumi: AoV – deģeneratīva aortālā vārstuļa stenozes grupa, KSS – koronāras sirds slimības grupa, βD2 – beta defensīns 2.

Pozitīvo struktūru relatīvā daudzuma apzīmējumi: 0 redzes laukā netika konstatēta neviena pozitīva struktūra; 0/+ redzes laukā retas pozitīvas struktūras; + redzes laukā maz pozitīvu struktūru; ++ redzes laukā maz līdz vidēji daudz pozitīvu struktūru; +++ redzes laukā vidēji daudz pozitīvu struktūru; +++/+++ redzes laukā vidēji daudz līdz daudz pozitīvu struktūru; +++/++++ redzes laukā daudz līdz ļoti daudz pozitīvu struktūru; ++++ redzes laukā ļoti daudz pozitīvu struktūru.

βD2 pozitīvo saistaudu šūnu relatīvais daudzums paraugos KSS grupā variēja no to trūkuma septiņiem pacientiem līdz daudz (+++) 10 pacientiem, AoV stenozes grupā no nevienas diviem pacientiem līdz daudz (+++) pozitīvām šūnām pieciem pacientiem, bet kontroles grupā no retām pozitīvām struktūrām redzes laukā (0/+) diviem pacientiem līdz vidēji daudz pozitīvām struktūrām redzes laukā (++) vienam pacientam. βD2 pozitīvo saistaudu šūnu relatīvā daudzuma mediāna KSS grupā bija vidēji daudz (++) , AoV stenozes grupā vidēji daudz līdz daudz (++/+++), bet kontroles grupā maz (+).

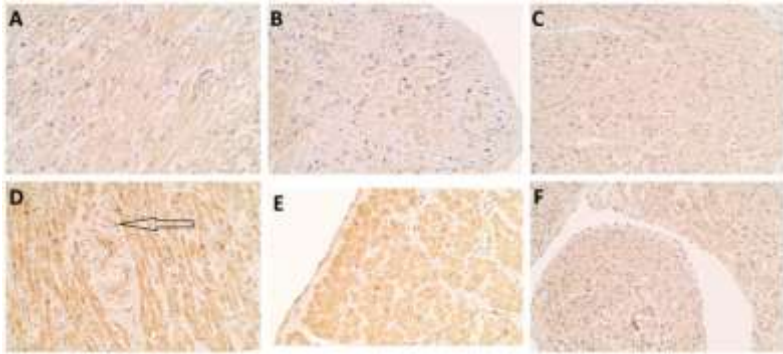
βD2 pozitīvo asinsvadu un endokarda endotēlija šūnu relatīvais daudzums labā priekškambara audos un tā statistiskais izvērtējums

	Asinsvadu endotēlijs			Endokarda endotēlijs		
	KSS n = 24	AoV n = 12	Kontroles grupa n = 5	KSS n = 24	AoV n = 12	Kontroles grupa n = 5
Pozitīvo struktūru relatīvā daudzuma mediāna	++	++ līdz ++/+++	+	+++	+++	0
<i>Kruskal–Wallis</i> H-tests	p 0,352			p 0,005		
<i>Mann–Whitney</i> U-tests	p 0,583			p 0,781		

* Apzīmējumi: AoV – deģeneratīva aortālā vārstuļa stenozes grupa, KSS – koronāras sirds slimības grupa, βD2 – beta defensīns 2.

Pozitīvo struktūru relatīvā daudzuma apzīmējumi: 0 redzes laukā netika konstatēta neviena pozitīva struktūra; 0/+ redzes laukā retas pozitīvas struktūras; + redzes laukā maz pozitīvu struktūru; +/+ redzes laukā maz līdz vidēji daudz pozitīvu struktūru; ++ redzes laukā vidēji daudz pozitīvu struktūru; ++/+ redzes laukā vidēji daudz līdz daudz pozitīvu struktūru; +++ redzes laukā daudz pozitīvu struktūru; +++/+ redzes laukā daudz līdz ļoti daudz pozitīvu struktūru; ++++ redzes laukā ļoti daudz pozitīvu struktūru.

Vismaz retas βD2 pozitīvas endotēlija šūnas labā priekškambara asinsvados bija atrodamas pilnīgi visos pētījumā iekļautos paraugos. KSS grupā trešdaļā paraugu (33,3 %) bija vidēji daudz (++) βD2 pozitīvu asinsvadu endotēlija šūnu (skatīt 2.10.D attēlu). AoV stenozes grupā diviem pacientiem bija ļoti daudz (++++), bet kontroles grupā vairumam pacientu (60 %) bija maz (+) βD2 pozitīvu endotēlija šūnu labā priekškambara asinsvados.



2.10. attēls. A – daudz βD2 pozitīvu kardiomiocītu labā priekškambara audos 66 gadus vecam pacientam ar KSS (βD2 IMH, ×200). B – maz līdz vidēji daudz βD2 pozitīvu kardiomiocītu labā priekškambara audos 53 gadus vecam pacientam ar AoV stenozī (βD2 IMH, ×200). C – daudz βD2 vāji iekrāsotu pozitīvu kardiomiocītu labā priekškambara audos 16 dienu vecam pacientam ar kombinētu iedzīmtu sirdskaiti (βD2 IMH, ×200). D – vidēji daudz βD2 pozitīvu endotēlija šūnu labā priekškambara asinsvadā 77 gadus vecam pacientam ar KSS (bultiņas, βD2 IMH, ×200). E – vidēji daudz βD2 pozitīvu plakanas formas endotēlija šūnu labā priekškambara endokardā 83 gadus vecam pacientam ar AoV stenozī (βD2 IMH, ×200). F – maz līdz vidēji daudz βD2 pozitīvu plakanas formas endotēlija šūnu labā priekškambara endokardā 16 dienu vecam pacientam ar kombinētu iedzīmtu sirdskaiti (βD2 IMH, ×200)

Vienam pacientam KSS grupā labā priekškambara audu paraugos bija maz (+) βD2 pozitīvu endokarda endotēlija šūnu, četriem pacientiem vidēji daudz (++), deviņiem pacientiem daudz (+++), vienam pacientam daudz līdz ļoti daudz (+++/++++), bet sešiem pacientiem ļoti daudz (++++) un trim pacientiem nebija atrodamas βD2 pozitīvas endokarda endotēlija šūnas labā priekškambara audu paraugos. Savukārt AoV stenozes grupā vienam pacientam bija retas (0/+) βD2 pozitīvas endokarda endotēlija šūnas redzes laukā, diviem pacientiem tādu bija maz (+), vienam pacientam vidēji daudz līdz daudz (+/+++), (skatīt 2.10.E attēlu), četriem pacientiem daudz (+++) un četriem pacientiem ļoti daudz (++++). Iedzīmtu sirdskaišu (kontroles) grupā tikai vienam pacientam labā priekškambara audu paraugā konstatēja maz (+) βD2 pozitīvu endokarda

endotēlija šūnu (skatīt 2.10.F attēlu), bet pārējiem β D2 pozitīvas endokarda endotēlija šūnas netika konstatētas.

2.13. tabula

β D2 pozitīvo kardiomiocītu un saistaudu šūnu relatīvā daudzuma statistiski nozīmīgās korelācijas ar pacientu datiem

Markieris1	Grupa	Markieris2	r_s	p
β D2 kardiomiocītos	KSS	Vecums	0,465	0,437
		ZBLH grupas	-0,478	0,025
		BNP	0,779	0,013
	AoV	Vecums	0,579	0,049
		Kopējais holesterīns	-0,685	0,014
		ZBLH	-0,619	0,032
LKSS grupas		-0,630	0,028	
β D2 saistaudos	KSS	Vecums	0,437	0,033
		ZBLH grupas	-0,548	0,008
	AoV	Kopējais holesterīns	-0,736	0,006
		ABLH	-0,629	0,028
		LKSS grupas	-0,630	0,028

* Apzīmējumi: ABLH – augsta blīvuma holesterīns, AoV – aortālā vārstuļa stenoze, BNP – smadzeņu nātrijurētiskais peptīds, β D2 – beta defenzīns 2, KSS – koronāra sirds slimība, LKSS – labā kambara sistoliskais spiediens (grupas: normāls LKSS < 40 mmHg, viegli paaugstināts LKSS 41–55 mmHg, mēreni paaugstināts 55–70 mmHg un izteikti paaugstināts LKSS > 70 mmHg), r_s – Spīrmana rangu korelācijas koeficients, ZBLH – zema blīvuma holesterīns (grupas: < 1,8mmol/L; 1,81–2,5 mmol/L; 2,5– 3 mmol/L un > 3 mmol/L).

β D2 pozitīvo struktūru relatīvā daudzuma statistiski ticamās korelācijas ar pacientu anamnēzes datiem attēlotas 2.13. un 2.14. tabulā. Statistiski nozīmīgas ciešas pozitīvas korelācijas KSS grupā tika konstatētas starp β D2 pozitīvo kardiomiocītu un asinsvadu endotēlija šūnu relatīvo daudzumu un BNP līmeni (r_s 0,779; p 0,013 un r_s 0,787; p 0,012). AoV stenozes grupā β D2 pozitīvo kardiomiocītu relatīvais daudzums uzrādīja vidēji ciešu negatīvu korelāciju ar kopējā holesterīna un ZBLH līmeni, kā arī ar LKSS grupām (r_s -0,685; p 0,014; r_s -0,619; p 0,032 un r_s -0,630; p 0,028). Šajā pašā grupā līdzīgas ciešas un vidēji

ciešas negatīvas korelācijas tika novērotas arī starp β D2 pozitīvo saistaudu un kopējā holesterīna un ABLH līmeni, kā arī ar LKSS grupām (r_s $-0,736$; p $0,006$; r_s $-0,629$; p $0,028$ un r_s $-0,630$; p $0,028$).

2.14. tabula

β D2 pozitīvo asinsvadu un endokarda endotēlija šūnu relatīvā daudzuma korelācijas ar pacientu pirmsoperācijas klīniskajiem datiem

Marķieris1	Grupa	Marķieris2	r_s	p
β D2 asinsvadu endotēlijā	KSS	Kopējais holesterīns	-0,493	0,017
		ZBLH grupas	-0,437	0,042
		BNP	0,787	0,012
		LKSS grupas	0,426	0,038
	AoV	Vecums	0,590	0,043
β D2 endokarda endotēlijā	KSS	Kopējais holesterīns	-0,474	0,022
		ZBLH grupas	-0,459	0,031
	AoV	LKSS	-0,760	0,004

* Apzīmējumi: AoV – aortālā vārstuļa stenoze, β D2 – beta defensīns 2, BNP – smadzeņu nātrijurētiskais peptīds, KSS – koronāra sirds slimība, LKSS – labā kambara sistoliskais spiediens (grupas: normāls LKSS < 40 mmHg, viegli paaugstināts LKSS 41–55 mmHg, mēreni paaugstināts 55–70 mmHg un izteikti paaugstināts LKSS > 70 mmHg), r_s – Spīrmana rangu korelācijas koeficients, ZBLH – zema blīvuma holesterīns (grupas: < 1,8 mmol/L; 1,81–2,5 mmol/L; 2,5–3 mmol/L un > 3 mmol/L).

2.6.2. Beta defensīns 3 (β D3)

Līdzīgi kā β D2, arī β D3 pozitīvo kardiomiocītu daudzums labā priekškambara audos visiem pacientiem ar KSS bija vismaz vidēji daudz (++) vai vairāk (skatīt 2.15. tabulu), respektīvi, vidēji daudz (++) trim pacientiem, vidēji daudz līdz daudz (++++) sešiem pacientiem, daudz (+++) 14 pacientiem un daudz līdz ļoti daudz (++++) vienam pacientam (skatīt 2.11.A attēlu). Pacienti ar AoV stenozi β D3 pozitīvo kardiomiocītu relatīvais daudzums redzes laukā bija šāds (skatīt 2.15. tabulu): maz (+) vienam pacientam, vidēji daudz (++) pieciem pacientiem, vidēji daudz līdz daudz (++++) trim pacientiem un pa vienam pacientam bija daudz (+++), daudz līdz ļoti daudz (++++) un ļoti daudz (++++). Visiem pacientiem kontroles grupā (skatīt

2.15. tabulu) labā priekškambara audu paraugos bija vidēji daudz līdz daudz (++)/+++ βD3 pozitīvu kardiomiocītu.

2.15. tabula

βD3 pozitīvo kardiomiocītu un saistaudu šūnu relatīvais daudzums labā priekškambara audos un tā statistiskais izvērtējums

	Kardiomiocīti			Saistaudu šūnas		
	KSS n = 24	AoV n = 12	Kontroles grupa n = 5	KSS n = 24	AoV n = 12	Kontroles grupa n = 5
Pozitīvo struktūru relatīvā daudzuma mediāna	+++	++ līdz ++/+++	++/+++	++	+	+/++
<i>Kruskal–Wallis</i> H-tests	p 0,061			p 0,216		
<i>Mann–Whitney</i> U-tests	p 0,052			p 0,178		

* Apzīmējumi: AoV – deģeneratīva aortālā vārstuļa stenozes grupa, KSS – koronāras sirds slimības grupa, βD3 – beta defensīns 3.

Pozitīvo struktūru relatīvā daudzuma apzīmējumi: 0 redzes laukā netika konstatēta neviena pozitīva struktūra; 0/+ redzes laukā retas pozitīvas struktūras; + redzes laukā maz pozitīvu struktūru; +/++ redzes laukā maz līdz vidēji daudz pozitīvu struktūru; ++ redzes laukā vidēji daudz pozitīvu struktūru; ++/+++ redzes laukā vidēji daudz līdz daudz pozitīvu struktūru; +++ redzes laukā daudz pozitīvu struktūru; +++/++++ redzes laukā daudz līdz ļoti daudz pozitīvu struktūru; ++++ redzes laukā ļoti daudz pozitīvu struktūru.

Statistiski ticamas atšķirības βD3 pozitīvo kardiomiocītu relatīvajā daudzumā nebija ne starp visām trim grupām (p 0,061), ne atsevišķi starp pacientiem ar KSS un pacientiem ar deģeneratīvu AoV stenozi (p 0,052). Pacientiem ar iegūtām sirdskaitēm un iekaisuma šūnu infiltrāciju epikardā bija statistiski ticami vairāk βD3 pozitīvu kardiomiocītu labā priekškambara audos (p 0,034) nekā pacientiem bez iekaisuma šūnu infiltrācijas.

Arī β D3 pozitīvo saistaudu šūnu relatīvajā daudzumā (skatīt 2.15. tabulu) nebija statistiski ticamas atšķirības ne starp visām trim grupām (p 0,216), ne atsevišķi starp iegūto sirdskaišu grupām (p 0,178). KSS grupā β D3 pozitīvo saistaudu šūnu relatīvais daudzums variēja no retām pozitīvām šūnām (0/+) pieciem pacientiem līdz daudz pozitīvām šūnām redzes laukā (+++) diviem pacientiem, bet mediāna bija vidēji daudz (++) . Savukārt AoV stenozes grupā β D3 pozitīvo saistaudu šūnu relatīvais daudzums variēja no nevienas diviem pacientiem līdz daudz (+++) pozitīvām šūnām redzes laukā diviem pacientiem un mediāna bija maz (+) pozitīvu šūnu redzes laukā. Kontroles grupā diviem pacientiem bija atrodamas retas β D3 pozitīvas saistaudu šūnas, diviem pacientiem bija maz līdz vidēji daudz (+/++) un vienam pacientam bija vidēji daudz (++) β D3 pozitīvu saistaudu šūnu.



2.11. attēls. **A – daudz līdz ļoti daudz β D3 pozitīvu kardiomiocītu labā priekškambara audos 70 gadu vecam pacientam ar KSS (β D3 IMH, $\times 250$).**

B – vidēji daudz β D3 pozitīvu endotēlija šūnu labā priekškambara asinsvadā 57 gadus vecam pacientam ar KSS (bultiņa, β D3 IMH, $\times 200$).

C – vidēji daudz β D3 pozitīvu endokarda endotēlija šūnu labā priekškambara audos 78 gadus vecam pacientam ar KSS (β D3 IMH, $\times 200$)

βD3 pozitīvo asinsvadu un endokarda endotēlija šūnu relatīvais daudzums labā priekškambara audos un tā statistiskais izvērtējums

	Asinsvadu endotēlijs			Endokarda endotēlijs		
	KSS n = 24	AoV n = 12	Kontroles grupa n = 5	KSS n = 24	AoV n = 12	Kontroles grupa n = 5
Pozitīvo struktūru relatīvā daudzuma mediāna	++	+ / ++ līdz ++	+ / ++	+++	+++	0 / +
<i>Kruskal–Wallis</i> H-tests	p 0,064			p 0,017		
<i>Mann–Whitney</i> U-tests	p 0,147			p 0,785		

* Apzīmējumi: AoV – deģeneratīva aortālā vārstuļa stenozes grupa, KSS – koronāras sirds slimības grupa, βD3 – beta defensīns 3.

Pozitīvo struktūru relatīvā daudzuma apzīmējumi: 0 redzes laukā netika konstatēta neviena pozitīva struktūra; 0/+ redzes laukā retas pozitīvas struktūras; + redzes laukā maz pozitīvu struktūru; + / ++ redzes laukā maz līdz vidēji daudz pozitīvu struktūru; ++ redzes laukā vidēji daudz pozitīvu struktūru; ++ / +++ redzes laukā vidēji daudz līdz daudz pozitīvu struktūru; +++ redzes laukā daudz pozitīvu struktūru; +++ / ++++ redzes laukā daudz līdz ļoti daudz pozitīvu struktūru; ++++ redzes laukā ļoti daudz pozitīvu struktūru.

Gan KSS grupā (skatīt 2.11.B attēlu), gan AoV stenozes grupā visvairāk bija pacientu ar vidēji daudz (++) βD3 pozitīvām endotēlija šūnām labā priekškambara asinsvados, attiecīgi 45,8 % un 33,3 % (skatīt 2.16. tabulu). Iedzimtu sirdskaišu grupā vienam pacientam bija maz (+), bet pārējiem četriem bija maz līdz vidēji daudz (+ / ++) βD3 pozitīvu endotēlija šūnu labā priekškambara asinsvados.

βD3 ekspresija tika novērota gan endokarda endotēlija šūnās, gan epikarda epitēlija šūnās. Līdzīgi βD2 ekspresijai vienīgā statistiski nozīmīgā atšķirība starp visām trim grupām tika novērota βD3 pozitīvo endokarda endotēlija šūnu daudzumā (p 0,017), kur mediāna gan KSS grupā, gan AoV stenozes grupā bija daudz pozitīvas šūnas redzes laukā (+++), bet kontroles grupā – retas pozitīvas šūnas redzes laukā (0 / +) (skatīt 2.16. tabulu). KSS grupā

tikai 16,6 % pacientu bija mazāk nekā vidēji daudz līdz daudz (++)/+++ pozitīvu endokarda endotēlija šūnu (skatīt 2.11.C attēlu). AoV stenozes grupā pa vienam pacientam nebija nevienas retas pozitīvas šūnas (0/+) un maz (+) βD3 pozitīvu endokarda endotēlija šūnu redzes laukā, pa diviem pacientiem bija vidēji daudz (++) , daudz (+++) un daudz līdz ļoti daudz (+++/++++), bet trim pacientiem ļoti daudz βD3 pozitīvu endokarda endotēlija šūnu. Savukārt kontroles grupā vienam pacientam netika atrastas βD3 pozitīvas endotēlija šūnas, diviem pacientiem bija retas (0/+) βD3 pozitīvas endokarda endotēlija šūnas, bet diviem pacientiem bija maz līdz vidēji daudz (+/++) βD3 pozitīvu endokarda endotēlija šūnu.

βD3 pozitīvo struktūru relatīvā daudzuma korelācijas ar pacientu anamnēzes datiem attēlotas 2.17. tabulā. KSS grupā βD3 pozitīvo kardiomiocītu relatīvais daudzums labā priekškambara audos uzrādīja ciešu pozitīvu korelāciju ar BNP līmeni asinīs (r_s 0,745; p 0,021), bet βD3 pozitīvo saistaudu un asinsvadu endotēlija šūnu relatīvais daudzums uzrādīja vidēji ciešu pozitīvu korelāciju ar ehokardiogrāfiski izmērītu LKSS un LKSS grupām (r_s 0,431; p 0,036 un r_s 0,477; p 0,018). βD3 pozitīvo saistaudu šūnu relatīvais daudzums AoV stenozes grupā uzrādīja vidēji ciešu negatīvu korelāciju ar kopējo holesterīna līmeni (r_s -0,627; p 0,029).

2.17. tabula

βD3 pozitīvo struktūru relatīvā daudzuma korelācijas ar pacientu datiem

Markieris1	Grupa	Markieris2	r_s	p
βD3 kardiomiocītos	KSS	BNP	0,745	0,021
βD3 saistaudos	KSS	LKSS grupas	0,431	0,036
	AoV	Kopējais holesterīns	-0,627	0,029

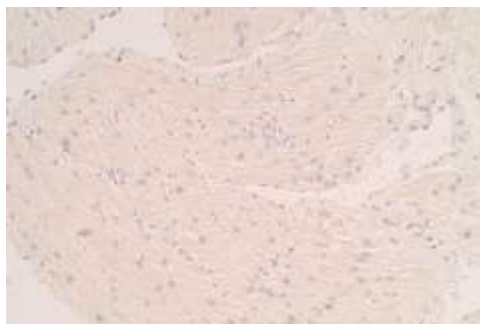
2.17. tabulas turpinājums

Marķieris1	Grupa	Marķieris2	r _s	p
βD3 asinsvadu endotēlijā	KSS	LKSS	0,477	0,018
βD3 endokarda endotēlijā	KSS	Kopējais holesterīns	-0,553	0,006

* Apzīmējumi: AoV - aortālā vārstuļa stenoze, βD3- beta defensīns 3, BNP - smadzeņu nātrijurētiskais peptīds, CRO – c reaktīvais olbaltums, KSS – koronāra sirds slimība, LKSS – labā kambara sistoliskais spiediens (grupas: normāls LKSS <40 mmHg, viegli paaugstināts LKSS 41–55 mmHg, mēreni paaugstināts 55–70 mmHg un izteikti paaugstināts LKSS >70 mmHg), r_s – Spīrmana rangu korelācijas koeficients, ZBLH – zema blīvuma holesterīns.

2.6.3. Beta defensīns 4 (βD4)

βD4 pozitīvas struktūras netika konstatētas nevienā no preparātiem (skatīt 2.12. attēlu).



2.12. attēls. βD4 trūkums labā priekškambara audos 80 gadu vecam pacientam ar KSS (βD4 IMH, ×200)

2.6.4. Datu statistiskās korelācijas

KSS grupā statistiski nozīmīga cieša pozitīva korelācija tika konstatēta starp βD2 pozitīvo kardiomiocītu relatīvo daudzumu un βD2 pozitīvo asinsvadu endotēlija šūnu relatīvo daudzumu labā priekškambara audos (r_s 0,710, p < 0,001).

Pētījumā apskatīto audu marķieru relatīvo daudzumu statistiski nozīmīgās vidēji ciešās pozitīvās un negatīvās korelācijas KSS grupā attēlotas 2.18. un 2.19. tabulā.

2.18. tabula

Audu marķieru savstarpējās statistiski nozīmīgās vidēji ciešās pozitīvās korelācijas koronāras sirds slimības grupā

Marķieris 1	Marķieris 2	r_s	p
Apoptoze	Il-10 kardiomiocītos	0,438	0,032
ANUP	ET-1 asinsvados	0,448	0,028
	βD2 asinsvados	0,407	0,048
ChgA endokardā	VEGF endokardā	0,645	0,001
	Il-1α endokardā	0,490	0,015
	Il-10 endokardā	0,522	0,009
	βD2 endokardā	0,431	0,036
	βD2 asinsvados	0,405	0,049
	βD3 saistaudos	0,472	0,020
	βD3 endokardā	0,557	0,005
ET-1 asinsvados	ET-1 endokardā	0,486	0,016
VEGF endokardā	Il-10 endokardā	0,468	0,021
	βD3 endokardā	0,431	0,036
Il-1α endokardā	Il-10 saistaudos	0,417	0,043
	βD3 kardiomiocītos	0,509	0,011
	βD3 saistaudos	0,528	0,008
Il-10 kardiomiocītos	βD2 kardiomiocītos	0,425	0,038
	βD2 saistaudos	0,571	0,004
Il-10 saistaudos	βD2 kardiomiocītos	0,512	0,011
	βD2 saistaudos	0,522	0,009
	βD2 asinsvados	0,464	0,022
	βD3 kardiomiocītos	0,521	0,009
	βD3 saistaudos	0,483	0,017
Il-10 asinsvados	βD3 asinsvados	0,435	0,034
Il-10 endokardā	βD2 kardiomiocītos	0,498	0,013
	βD2 asinsvados	0,452	0,026
βD2 kardiomiocītos	βD2 endokardā	0,603	0,002
	βD3 saistaudos	0,553	0,005
βD2 endokardā	βD2 saistaudos	0,644	0,001
	βD2 asinsvados	0,664	< 0,001
	βD3 saistaudos	0,408	0,048
	βD3 endokardā	0,688	< 0,001

2.18. tabulas turpinājums

Marķieris 1	Marķieris 2	r_s	p
βD2 saistaudos	βD2 asinsvados	0,622	0,001
	βD3 kardiomiocītos	0,420	0,041
	βD3 saistaudos	0,554	0,005
	βD3 endokardā	0,495	0,014
βD2 asinsvados	βD3 saistaudos	0,498	0,013
βD3 kardiomiocītos	βD3 saistaudos	0,421	0,040
βD3 saistaudos	βD3 endokardā	0,410	0,047

* Apzīmējumi: ChgA – hromogranīns A, ET-1 – endotelīns 1, Il-10 – interleikīns 10, Il-1α – interleikīns 1α, PGP 9.5 – proteīna gēna produkts 9.5, VEGF – asinsvadu endotēlija augšanas faktors, βD2 – beta defensīns 2, βD3 – beta defensīns 3.

2.19. tabula

Audu marķieru savstarpējās statistiski nozīmīgās vidēji ciešās negatīvās korelācijas koronāras sirds slimības grupā

Marķieris 1	Marķieris 2	r_s	p
ET-1 asinsvados	βD3 endokardā	-0,417	0,043
PGP 9.5 saturoša inervācija	Il-10 kardiomiocītos	-0,456	0,025
	βD2 kardiomiocītos	-0,553	0,005
	βD2 endokardā	-0,438	0,032
	βD2 saistaudos	-0,610	0,002
	βD2 asinsvados	-0,525	0,008
	βD3 saistaudos	-0,501	0,013

* Apzīmējumi: ET-1 – endotelīns 1, Il-10 – interleikīns 10, PGP 9.5 – proteīna gēna produkts 9.5, βD2 – beta defensīns 2, βD3 – beta defensīns 3.

Degeneratīvas AoV stenozes grupā nozīmīga vidēji cieša negatīva korelācija tika konstatēta starp apoptotisko kardiomiocītu relatīvo daudzumu un ChgA pozitīvo endokarda endotēlija šūnu relatīvo daudzumu labā priekškambara audos (r_s -0,633, p 0,027).

Pētījumā apskatīto audu marķieru relatīvo daudzumu statistiski nozīmīgās ciešās un vidēji ciešās pozitīvās korelācijas AoV stenozes grupā attēlotas 2.20. un 2.21. tabulā.

Audu marķieru savstarpējās statistiski ticamās ciešās pozitīvās korelācijas aortālā vārstuļa stenoze grupā

Marķieris 1	Marķieris 2	r_s	p
ET-1 asinsvados	Il-10 asinsvados	0,777	0,003
ET-1 endokardā	VEGF endokardā	0,732	0,010
Il-10 saistaudos	β D3 asinsvados	0,746	0,005
β D2 kardiomiocītos	β D2 saistaudos	0,901	< 0,001
	β D2 asinsvados	0,711	0,009
	β D3 saistaudos	0,715	0,009
β D2 endokardā	β D2 saistaudos	0,713	0,009
β D2 saistaudos	β D2 asinsvados	0,707	0,010
	β D3 saistaudos	0,719	0,008
β D3 saistaudos	β D3 endokardā	0,769	0,003

* Apzīmējumi: ET-1 – endotelīns 1, Il-10 – interleikīns 10, VEGF – asinsvadu endotēlija augšanas faktors, β D2 – beta defensīns 2, β D3 – beta defensīns 3.

Audu marķieru savstarpējās statistiski ticamās vidēji ciešās pozitīvās korelācijas aortālā vārstuļa stenoze grupā

Marķieris 1	Marķieris 2	r_s	p
Apoptoze	Il-1 α saistaudos	0,591	0,043
	β D2 kardiomiocītos	0,597	0,041
	β D2 saistaudos	0,613	0,034
	β D3 endokardā	0,628	0,029
Apoptotiskais indekss	VEGF asinsvados	0,695	0,018
β D2 kardiomiocītos	β D2 endokardā	0,667	0,018
	β D3 endokardā	0,632	0,027
β D2 endokardā	β D2 asinsvados	0,640	0,025
	β D3 saistaudos	0,654	0,021
β D2 asinsvados	β D3 endokardā	0,646	0,023
	β D3 asinsvados	0,690	0,013

* Apzīmējumi: Il-10 – interleikīns 10, Il-1 α – interleikīns 1 α , PGP 9.5 – proteīna gēna produkts 9.5, VEGF – asinsvadu endotēlija augšanas faktors, β D2 – beta defensīns 2, β D3 – beta defensīns 3.

3. Diskusija

Šajā pētījumā noteicām dažādus audu, inervācijas, iekaisuma, pretiekaisuma faktoros un antimikrobos peptīdus labā priekškambara audos pacientiem ar KSS un deģeneratīvu AoV stenozi, kā kontroles grupu izmantojot labā priekškambara audu paraugus no pacientiem ar iedzimtām sirdskaitēm, kas operēti agrīnā vecumā. KSS un deģeneratīvai AoV stenozai ir līdzīgi etioloģiskie faktori un lokāli patoģenētiskie procesi, taču ne vienmēr tās novēro abas reizē. Kopumā noteicām 10 dažādus marķierus: apoptozi, ANUP, VEGF, PGP 9.5 saturošu inervāciju, ChgA, ET-1, Il-1 α , Il-10, β D2, β D3 un β D4. Līdz šim šādā kombinācijā tie vēl nav pētīti, un, tā kā daži no šiem marķieriem jau ir sen zināmi un plaši pētīti, saliekot tos kopā ar mazāk zināmiem, gūstam plašāku ieskatu par morfoloģiskajām norisēm labā priekškambara audos pacientiem ar KSS un deģeneratīvu AoV stenozi, kas uzskatāma par darba novitāti.

Nevienā no paraugiem netika konstatēti morfoloģiski veseli labā priekškambara audi – ne paraugos, kas ņemti no pacientiem ar KSS, ne paraugos no pacientiem ar deģeneratīvu AoV stenozi, ne no pacientiem ar iedzimtām sirdskaitēm jeb kontroles grupas. Gandrīz visos paraugos konstatēja miokarda deģenerāciju ar vairāk vai mazāk izteiktu kardiomiocītu vakuolizāciju. Vakuolizācija var būt atgriezeniska, to novēro kaitīgā aģenta iedarbības laikā, un šūnas struktūra atjaunojas, kad šī iedarbība tiek novērsta (Cohen et al., 1979). Taču vakuolizācija var būt arī neatgriezeniska, tādā gadījumā tā ir nespecifiska pazīme, kas iezīmē patoloģiskus apstākļus, kuri noved pie šūnu nāves (Shubin et al., 2016). Šīs izmaiņas sakrīt ar pētījuma paraugos konstatēto lielo apoptotisko indeksu, lai arī statistiski ticamu korelāciju starp šīm pazīmēm nekonstatējām. Jāpiebilst, ka arī mūsu pētījumā novērotās kardiomiocītu kodolu formas izmaiņas netieši apliecina apoptozes sākšanos, kuras pamatā ir DNS fragmentācija. Kā viens no iespējamiem iemesliem neatgriezeniskai šūnu vakuolizācijai un apoptozei literatūrā minēts baktēriju vai vīrusu patogēnā iedarbība uz šūnu,

piemēram, B hepatīta vīrusa virsmas proteīns izraisa akūtu aknu šūnu vakuolizāciju ar sekojošu apoptozi (Foo et al., 2002).

3.1. Endokarda endotēlijs

Vēl viena raksturīga pazīme, ko konstatējam lielā daļā pētījuma audu, kas ņemti no pacientiem ar iegūtām sirdskaitēm, bija endokarda endotēlija šūnu formas izmaiņas. Endokarda endotēlija šūnas normā ir vienkārtains plakanā epitēlija šūnu slānis, kas izklāj sirds dobumus, veidojot barjeru starp cirkulējošām asinīm un miokardu, tajā pašā laikā tieši mijiedarbojoties ar blakus esošajiem kardiomiocītiem. Tās tāpat kā asinsvadu endotēlija šūnas producē un izdala dažādas vielas, piemēram, slāpekļa oksīdu, ET-1, prostaglandīnu I₂ un angiotenzīnu II, ar auto un parakrīnu funkciju, tādā veidā regulējot arī miokarda metabolismu, augšanu un kontraktilitāti (Brutsaert et al., 1988; Brutsaert, 2003). Atšķirībā no asinsvadiem, kur endotēlijs mijiedarbojas ar paša asinsvada gludo muskulatūru, regulējot asins apgādi, endokarda endotēlijs atrodas tuvu blakus esošajiem kardiomiocītiem, nodrošinot tiešu signālu pārvadi un komunikāciju. Lielā daļā audu paraugu gan no pacientiem ar KSS, gan no pacientiem ar deģeneratīvu AoV stenozi konstatēja endokarda fragmentus ar kubiskas formas endoteliocītiem, kas vairumā gadījumu uzrādīja pozitīvu reakciju uz visiem pārbaudītajiem audu faktoriem. Jāatzīmē, ka šādas izmaiņas netika konstatētas kontroles grupā – audu paraugos, kas ņemti no pacientiem ar iedzimtām sirdskaitēm. Pētījumi rāda, ka, piemēram, iedzimtas hipertrofiskās kardiomiopātijas gadījumā endokarda endotēlija hipertrofija attīstās jau pirms miokarda hipertrofijas, turklāt palielināts endotēlija šūnu apjoms saglabājās visu hipertrofiskās kardiomiopātijas attīstības laiku (Jacques and Bkaily, 2019). Mūsu pētījumā pacientiem ar KSS un kubiskas formas endokardu bija pārliecinoši vairāk VEGF pozitīvu endokarda endotēlija šūnu nekā pacientiem ar KSS un plakanas formas endokarda endoteliocītiem, kas varētu norādīt uz išēmijas

iespējamo ietekmi endokarda endoteliocītu formas maiņai, tāpat kā tas notiek acs tīklenes kapilāros (Hofman et al., 2001). Gan ģenētiski ieprogrammēta, gan hipoksijas inducēta VEGF produkcija ir kritiski svarīga arī sākotnējā endokarda endotēlija diferenciācijā un proliferācijā (Dor et al., 2003).

Gan KSS, gan AoV stenozes grupā vairumā paraugu endokarda endotēlija šūnas uzrādīja pozitīvu reakciju arī uz ChgA, ET-1, Il-1 α , Il-10, β D2 un β D3. Iedzimtu sirdskaišu jeb kontroles grupā labā priekškambara endokarda endotēlijā konstatējām tikai pretiekaisuma citokīnu Il-10 un antimikrobus peptīdus β D2 un β D3.

No pētījumiem par asinsvadu endotēliju zināms, ka ChgA inhibē proinflatora citokīna tumora nekrozes faktora alfa (TNF α) izraisītu endotēlija šūnu citoskeleta reorganizāciju, novēršot palielinātu asinsvadu caurlaidību (Ferrero et al., 2004). TNF α ir nozīmīgs patoģenēzes faktors gan pacientiem ar KSS, gan pacientiem ar deģeneratīvu AoV stenozi (Galeone et al., 2013; Carlsson et al., 2018), turklāt tas izraisa pārmērīgu iekaisuma reakciju, izjaucot homeostāzi un potencējot sirds mazspēju (Schumacher and Naga Prasad, 2018). Kā viens no galvenajiem TNF α darbības mehānismiem ir asinsvadu caurlaidības palielināšanās (Ferrero et al., 2001); līdz ar to endokarda endotēlijā esošais ChgA varētu no tās pasargāt endokarda endotēliju.

Sirdī ET-1 sekretē galvenokārt intramiokardiālo kapilāru endotēlija šūnas, bet ET ekspresija konstatēta arī endokarda endotēlija šūnās, kardiomiocītos, asinsvadu gludās muskulatūras šūnās, makrofāgos u.c. (Miyachi and Sakai, 2019). Mūsu pētījuma paraugos gan KSS, gan AoV stenozes pacientiem vairāk bija ET-1 pozitīvu endokarda endotēlija šūnu. Tāpat kā pētījumos par ET-1 ekspresiju dažādos sirds audos sirds mazspējas pacientiem (Fukuchi and Giaid, 1998), mūsu pētījumā pilnīgi visos paraugos no pacientiem ar iegūtām sirdskaitēm, izņemot vienu paraugu no pacienta ar deģeneratīvu AoV stenozi, labā priekškambara endokarda endotēlijā tika konstatēta ET-1 klātbūtne. Pretēji kā pētījumos par asins plazmā esošo ET-1 (Cody et al., 1993) mūsu

pētījumā netika konstatēta korelācija starp ET-1 pozitīvo labā priekškambara endokarda endotēlija šūnu relatīvo daudzumu un pulmonālu hipertensiju. Jāatzīmē, ka pacientiem ar AoV stenozi, kas pastāvīgi lietoja statīnus, bija statistiski ticami mazāk ET-1 pozitīvu endotēlija šūnu labā priekškambara endokardā nekā pacientiem, kas statīnus nelietoja. Šo atradni pamato fakts, ka statīni inhibē preproendotēlina-1 gēna transkripciju endotēlija šūnās, tādā veidā reducējot ET-1 sintēzi (Hernández-Perera et al., 2000). Turklāt statīni ne tikai samazina ET-1 sintēzi endotēlija šūnās, bet arī inhibē ET-1 izraisītu vazokonstrikciju (Mraiche et al., 2005).

Minētais liecina, ka KSS un deģeneratīvas AoV stenozes gadījumā notiek labā priekškambara endokarda endotēlija šūnu aktivācija, līdz ar to endokarda endotēlijs ir mērķa audi arī kompleksā šo slimību ārstēšanā.

3.2. Inervācija

Vesela sirds ir bagātīgi inervēta ar simpātiskām un parasimpātiskām nervu šķiedrām, kas nodrošina elektrofizioloģisko stabilitāti gan miera stāvoklī, gan palielinātas slodzes apstākļos (Mitchell, 1953). Sirds inervācijas izmaiņas palielina ļaundabīgu aritmiju un pēkšņas kardiālas nāves risku, tādēļ šobrīd ir ļoti aktuāli atrast sirds inervācijas vizualizācijas metodes, ko varētu izmantot klīniskajā praksē, lai paredzētu aritmiju risku un izvēlētos atbilstošu ārstēšanas metodi (Huang, Boyle and Vaseghi, 2017; Travin, 2017). Lai izvērtētu klīniskajā praksē pieejamās sirds inervācijas vizualizācijas metodes, ir svarīgi izprast izmaiņas dažādu sirds slimību gadījumos. Lielākajā daļā mūsu pētījuma labā priekškambara audu paraugu novērojām bagātīgu inervāciju – daudz līdz ļoti daudz PGP 9.5 saturošu nervu šķiedru. Lai arī to relatīvais daudzums statistiski neatšķīrās starp grupām, tomēr atsevišķiem KSS pacientiem labā priekškambara audu paraugos bija tikai maz līdz vidēji daudz PGP 9.5 saturošu nervu šķiedru. Ņemot vērā literatūras datus, tas varētu būt saistīts ar hronisku išēmiju, taču,

salīdzinot pacientus grupās ar labās koronārās artērijas bojājumu un bez tā, nozīmīgu atšķirību PGP 9.5 saturošu nervu šķiedru daudzumā nenovērojām (Dae et al., 1995). Jāpiebilst, ka tieši šajā grupā arī konstatējām vidēji ciešu negatīvu korelāciju starp LKSS un PGP 9.5 saturošu nervšķiedru daudzumu labā priekškambara audos, bet starp pacientiem ar palielinātu un normālu labā priekškambara izmēru nozīmīgas atšķirības PGP 9.5 saturošu nervšķiedru daudzumā nebija.

Viena no biežāk sastopamajām aritmijām ar ievērojamu sasilstības un mirstības risku ir priekškambaru fibrilācija jeb mirdzaritmija (Hindricks et al., 2020). Kā viens no mirdzaritmiju izraisošiem un ietekmējošiem faktoriem literatūrā minētas sirds inervācijas izmaiņas, piemēram, pacientiem ar mirdzaritmiju novēro lielāku simpātisko nervu šķiedru blīvumu nekā pacientiem ar sinusa ritmu (Nguyen et al., 2009; Scridon, Șerban and Chevalier, 2018). Mūsu pētījumā neatradām PGP 9.5 saturošas labā priekškambara audu inervācijas atšķirības starp pacientiem ar mirdzaritmiju un pacientiem, kuriem to nekonstatēja.

Mūsu pētījuma pacientiem ar KSS novērojām statistiski nozīmīgu vidēji ciešu negatīvu korelāciju starp PGP 9.5 saturošu nervu šķiedru relatīvo daudzumu un Il-10, β D2 un β D3 pozitīvo šūnu relatīvo daudzumu labā priekškambara audos. Il-10 ir spēcīgs pretiekaisuma citokīns, bet β D2 un β D3 antimikrobie peptīdi, tādēļ jādomā, ka PGP 9.5 saturošās inervācijas blīvumu ietekmē iekaisuma process labā priekškambara audos. Dzīvnieku pētījumos novērots, ka lokāla simpātiska denervācija samazina iekaisuma šūnu (makrofāgi, neitrofile un T šūnas) infiltrāciju pēc miokarda infarkta, pasargājot no miokarda hipertrofijas un saglabājot sirds muskuļa funkciju (Ziegler et al., 2018).

3.3. Ātriju nātrijurētiskais peptīds (ANUP)

Ātriju nātrijurētiskais peptīds (ANUP) ir labi zināms sirds mazspējas marķieris, kura līmenis asinīs gan korelē ar simptomātiskas sirds mazspējas smaguma pakāpi, gan arī ir paaugstināts asimptomātiskas kreisā kambara disfunkcijas gadījumā (Volpe, Carnovali and Mastromarino, 2016; Cannone et al., 2019). Visiem mūsu pētījuma iegūto sirdskaišu pacientiem novērojām sastrēguma pazīmes – vismaz vidēji daudz ANUP pozitīvu kardiomiocītu labā priekškambara audos. Turklāt, tā kā mūsu pētījumā pacientiem ar iegūtām sirdskaitēm bija statistiski nozīmīgi vairāk ANUP pozitīvu kardiomiocītu labā priekškambara audos nekā kontroles grupai jeb pacientiem ar iedzimtām sirdskaitēm, varam spriest, ka pacienti ar iedzimtām sirdskaitēm operēti labāk kompensētā stāvoklī.

Tā kā ANUP un smadzeņu jeb B tipa nātrijurētisko peptīdu (BNP) kardiomiocīti sintezē un izdala līdzīgos apstākļos – atbildot uz miokarda iestiepumu (Nakagawa, Nishikimi and Kuwahara, 2019), likumsakarīgi, ka novērojām ciešu pozitīvu korelāciju starp ANUP pozitīvo kardiomiocītu relatīvo daudzumu labā priekškambara audu paraugos un pacientu BNP līmeni asinīs.

Vēl viens nozīmīgs faktors, kas potencē ANUP izdalīšanos, ir hipoksija (Baertschi et al., 1986). Gan hipoksijas, gan mehāniska iestiepuma izraisītu ANUP sekrēciju nodrošina un pastiprina lokāli producēts endotelīns (ET-1) (Skvorak, Nazian and Dietz, 1995; Skvorak et al., 1996). KSS grupā novērojām vidēji ciešu pozitīvu korelāciju starp ET-1 pozitīvo endotēlija šūnu relatīvo daudzumu labā priekškambara asinsvados un ANUP pozitīvo kardiomiocītu daudzumu. Tā kā ANUP un ET-1 piemīt pretēji darbības efekti – ANUP izraisa vazodilatāciju, bet ET-1 ir spēcīgs vazokonstriktors –, ANUP nodrošina homeostāzi, izraisot sirds asinsvadu paplašināšanos un uzlabojot skābekļa piegādi (Barton and Yanagisawa, 2008; Cannone et al., 2019).

Pacientiem ar KSS, bet ne pacientiem ar AoV stenozi novērojām vidēji ciešu pozitīvu korelāciju starp vecumu un ANUP pozitīvo kardiomiocītu daudzumu sirds labajā priekškambarī. Līdzīga tendence novērota arī veseliem cilvēkiem un pacientiem ar sirds mazspēju, taču, tā kā izmaiņas nav pietiekami lielas, referento intervālu indeksācija pēc vecuma klīniskajā praksē netiek lietota (Clerico et al., 2002; Hogenhuis et al., 2005).

3.4. Asinsvadu endotēlija augšanas faktors (VEGF)

VEGF organismā nepieciešams normāliem fizioloģiskiem procesiem, kur tas piedalās endotēlija funkcijas uzturēšanā, taču izmainīta VEGF sekrēcija novērojama dažādu saslimšanu patoģenēzē (Laakkonen et al., 2019). Galvenais faktors, kas pastiprina VEGF sekrēciju endotēlija šūnās, ir hipoksija (Namiki et al., 1995). Mūsu pētījumā VEGF pozitīvo endotēlija šūnu relatīvais daudzums visās pētījuma grupās bija ļoti variabls – sākot no to trūkuma un beidzot ar ļoti daudz VEGF pozitīvām endotēlija šūnām, turklāt nebija statistiski nozīmīgas atšķirības starp grupām. Tātad VEGF sekrēcija labā priekškambara endotēlija šūnās nav specifiski raksturīga nevienai no pētījumā apskatītajām saslimšanām, bet gan variē pacientiem individuāli.

KSS grupā konstatējām vidēji ciešas pozitīvas korelācijas starp VEGF pozitīvo endokarda endotēlija šūnu relatīvo daudzumu un Il-10 un β D3 pozitīvo endokarda endotēlija šūnu daudzumu. Ir labi zināms, ka hipoksija izraisa iekaisuma reakciju, taču arī iekaisuma process var izraisīt lokālu hipoksiju, ja, palielinoties metabolai aktivitātei, tiek pārsniegta skābekļa pieejamība (Ramakrishnan, Anand and Roy, 2014; Takahashi, 2015). Turklāt, piemēram, audzēju gadījumos VEGF izraisa Il-10 produkciju, tādā veidā nomācot iekaisuma procesu (Shin et al., 2009).

Interesanti, ka pacientiem ar AoV stenozi un lielāku VEGF pozitīvo endotēlija šūnu relatīvo daudzumu labā priekškambara asinsvados novērojām arī

lielāku labā priekškambara kardiomiocītu apoptozes indeksu. Pretēju situāciju novēroja līdzīgā dzīvnieku modelī – miokarda hipertrofijas gadījumā VEGF pasargā no kardiomiocītu apoptozes, saglabājos sirds kontraktilo funkciju (Friehs et al., 2006). Arī no citiem pētījumiem zināms, ka VEGF pasargā endotēlija šūnas no apoptozes un veicina angiogēnēzi, kā arī pasargā no išēmijas/reperfūzijas radītā bojājuma, kavējot kardiomiocītu apoptozi (Mabeta, 2013; Chen et al., 2016).

3.5. Hromogranīns A (ChgA)

ChgA ir neuroendokrīnās sistēmas marķieris, kas ir paaugstināts neuroendokrīno audzēju un citu saslimšanu, tai skaitā sirds mazspējas un hipertensijas, gadījumos (Mahata and Corti, 2019). Sirds mazspējas gadījumā neuroendokrīnās sistēmas aktivācija ir aizsargmehānisms, kas izraisa vazokonstrikciju, uzturot asinsspiedienu, un palīdz saglabāt sirds izsviedi, palielinot miokarda saraušanās spēku un ātrumu (Kjær and Hesse, 2001). Sākotnēji šādas izmaiņas palīdz saglabāt organismam svarīgās vitālās funkcijas, bet ilgtermiņā izraisa dekompensāciju. Mūsu pētījumā statistiski nozīmīgi vairāk ChgA pozitīvu šūnu bija kontroles grupā jeb paraugos no pacientiem ar agrīni operētām iedzimtām sirdskaitēm. Arī lielā daļā paraugu no pacientiem ar iegūtām sirdskaitēm bija atrodamas ChgA pozitīvas šūnas, taču to relatīvais daudzums paraugos bija ļoti variabls un nozīmīgu atšķirību starp KSS un AoV stenozes grupu nekonstatējām.

Sirdī ChgA tiek uzglabāts kopā ar nātrijurētiskajiem peptīdiem, un, tāpat kā paaugstināts nātrijurētisko peptīdu līmenis asinīs, arī paaugstināts ChgA līmenis ir saistīts ar palielinātu mirstību un atkārtotām hospitalizācijām sirds mazspējas dekompensācijas un miokarda infarkta dēļ (Goetze et al., 2013). Jāatzīmē, ka mūsu pētījumā statistiski nozīmīgas korelācijas starp

nātrijurētiskajiem peptīdiem, kreisā kambara izsviedes frakciju un ChgA pozitīvo šūnu relatīvo daudzumu labā priekškambara audos nenovērojām.

Palielināts ChgA līmenis asinīs ir saistīts ar augstu mirstību arī kritiski slimiem intensīvās terapijas un septiskiem pacientiem (Zhang et al., 2009; Hsu et al., 2015). Lai arī vienam no ChgA šķelšanas galaproduktiem catestatīnam piemīt pretiekaisuma darbība, tomēr pārējiem bioloģiski aktīviem peptīdiem, ko iegūst, šķeļot ChgA, ir iekaisumu veicinoša iedarbība (Muntjewerff et al., 2018). KSS grupā novērojām vidēji ciešu pozitīvu korelāciju gan starp ChgA pozitīvo šūnu relatīvo daudzumu un iekaisuma citokīna Il-1 α pozitīvo šūnu relatīvo daudzumu, gan starp ChgA pozitīvo šūnu relatīvo daudzumu un pretiekaisuma citokīna Il-10 pozitīvo šūnu relatīvo daudzumu. Turklāt vidēji cieša pozitīva korelācija šajā grupā bija arī starp ChgA un beta defensīnu pozitīvo šūnu relatīvo daudzumu. Tā varam spriest, ka pacientiem ar KSS un lielāku pretiekaisuma procesu ir izteiktāka neuroendokrīnās sistēmas aktivācija.

Vēl viena tendence, ko novērojām KSS grupas pacientiem, bija vidēji cieša pozitīva korelācija starp VEGF pozitīvo un ChgA pozitīvo endokarda endotēlija šūnu relatīvo daudzumu. ChgA fragments vazostatīns var nomākt TNF α un VEGF izraisītas endotēlija šūnu formas un barjeras funkcijas izmaiņas, novēršot asinsvadu caurlaidības palielināšanos, kas ir svarīgi audzēju patoģenēzē un terapijas efektivitātē (Ferrero et al., 2004). Palielināts ChgA līmenis asinīs kavē medikamentu iekļūšanu audzēju audos (Loh et al., 2012).

AoV stenozes grupā konstatējām vidēji ciešu negatīvu korelāciju starp apoptozes skarto kardiomiocītu relatīvo daudzumu un ChgA pozitīvo šūnu relatīvo daudzumu labā priekškambara audos. Lai arī ChgA var stimulēt dažādu šūnu apoptozi, piemēram, prostatas karcinomas šūnu apoptozi vai mikroglijas un neironu apoptozi Alcheimera slimības pacientiem (Kingham and Pocock, 2000; Yu, Hsieh and Chang, 2003), tomēr no citiem pētījumiem zināms, ka ChgA pasargā kardiomiocītus no ķīmijterapijas preparāta doksorubicīna izraisītas kardiomiocītu apoptozes (Rocca et al., 2019), bet ChgA fragments catestatīns

pasargā hipertrofētu miokardu no išēmijas/reperfūzijas izraisītas kardiomiocītu apoptozes (Penna et al., 2014). Ņemot vērā mūsu pētījuma rezultātus un literatūrā pieejamos datus par ChgA ietekmi uz kardiomiocītu apoptozi, varam secināt, ka ChgA un tā derivātiem piemīt kardioprotektīva iedarbība.

3.6. Endotēliņš 1 (ET-1)

Palielināta spēcīgā vazokonstriktora ET-1 produkcija ir raksturīga endotēlija disfunkcijas pazīme, savukārt endotēlija disfunkcija ir pamatmehānisms aterosklerozes, kā arī iesaistīta deģeneratīva AoV stenozes patoģenēzē (Akahori et al., 2018; Persic et al., 2018; Miyauchi and Sakai, 2019). Mūsu pētījumā KSS un AoV stenozes grupās novērojām dažādu ET-1 pozitīvu endotēlija šūnu relatīvo daudzumu, taču, lai arī atšķirība nerasniedza statistisku nozīmību, kontroles grupas audos bija mazāk ET-1 pozitīvu endotēlija šūnu. ET-1 uz kardiomiocītiem darbojas parakrīnā ceļā, tūlītēji palielinot asinsvadu gludās muskulatūras un miokarda kontraktilitāti, kas ilgtermiņā izraisa kardiomiocītu bojājumu un veicina sirds mazspējas progresu (Meyer et al., 1996; Miyauchi and Sakai, 2019). Interesanti, ka tieši labajā priekškambarī ET-1 vispirms izraisa pārejošu negatīvu inotropu efektu, kam seko ilgstoša pozitīva inotropā reakcija (Dhein et al., 2000). Vēl viens nozīmīgs ET-1 efekts uz miokardu ir pārmērīga kardiomiocītu hipertrofija (Ito et al., 1994). Tātad palielināta ET-1 produkcija sākotnēji palīdz saglabāt organismam svarīgās vitālās funkcijas, bet ilgtermiņā izraisa dekompensāciju.

Pacientiem ar AoV stenozī novērojām ciešu pozitīvu korelāciju starp ET-1 pozitīvu un VEGF pozitīvu labā priekškambara endokarda endotēlija šūnu relatīvo daudzumu. VEGF un ET-1 stimulē viens otra sekrēciju, bet VEGF inhibēšana audzēju ārstēšanas procesā izraisa ET-1 līmeņa paaugstināšanos un arteriālu hipertensiju (Matsuura et al., 1998; Lankhorst, Danser and Meiracker, 2016). Turklāt ET-1 izraisītā izteiktā vazokonstrikcija miokarda asinsvados var

samazināt skābekļa piegādi, kam seko VEGF produkcijas palielināšanās. Savukārt hipoksija līdzīgi VEGF var izraisīt arī ET-1 pastiprinātu veidošanos ar hipoksiju izraisošā faktora starpniecību (Heyman, Khamaisi and Abassi, 2018).

Mūsdienās nevienam nav šaubu par ET-1 nozīmi pulmonālas hipertensijas patoģenēzē (Shao, Park and Wort, 2011), tāpēc interesanti, ka šajā pētījumā novērojām pretēju tendenci – statistiski nozīmīgu vidēji ciešu negatīvu korelāciju starp ET-1 pozitīvo endotēlija šūnu relatīvo daudzumu labā priekškambara audos pacientiem ar iegūtām sirdskaitēm ar palielinātu labā kambara sistolisko spiedienu (LKSS). Līdzīga aina konstatēta arī iepriekš – pacientiem ar primāru pulmonālu hipertensiju bija daudz ET-1 pozitīvu šūnu plaušu asinsvados, bet maz vai nemaz miokardā (Giaid et al., 1993). Turklāt šajā pašā pētījumā novēroja, ka pacientiem ar primāru pulmonālu hipertensiju bija vairāk ET-1 pozitīvu šūnu plaušu asinsvados nekā pacientiem ar sekundāru pulmonālu hipertensiju un to daudzums korelēja ar slimības smaguma pakāpi. Tātad ET-1 produkcijai labā priekškambara audos nav pārliecinošas saistības ar pulmonālu hipertensiju, bet gan ar pamatsaslimšanu.

Vairāki eksperimentāli pētījumi ir saistījuši ET-1 arī ar iekaisuma procesiem, piemēram, pelēm ar lielāku ET-1 līmeni novēroja smagākas pakāpes encefalomiēlītu un augstāku iekaisuma citokīnu interleikīnu 6 un 17, interferona γ un TNF α līmeni (Guo et al., 2014). Savukārt multiplās sklerozes pacientiem netika novērota korelācija starp ET-1 līmeni un plazmas citokīnu (interleikīni 1 β , 2, 4, 5, 6, 10, 12, 13 un TNF α) līmeni (Rocha et al., 2019). Līdz ar to šobrīd pārliecinošu pierādījumu ET-1 saistībai ar iekaisuma procesiem nav. Mūsu pētījumā pacientiem ar KSS novērojām vidēji ciešu pozitīvu korelāciju starp ET-1 un β D3 pozitīvo šūnu daudzumu, bet AoV stenozes grupā bija cieša pozitīva korelācija starp ET-1 un Il-10 pozitīvo šūnu relatīvo daudzumu labā priekškambara audos. Šeit jāpiebilst, ka Il-10 pasargā asinsvadus no ET-1 izraisītas vazokonstrikcijas (Giachini et al., 2009).

KSS un AoV stenozes gadījumā ET-1 produkcija vairāk raksturīga labā priekškambara endokarda endotēlija šūnās un nav specifiska kādai no pētījumā apskatītajām saslimšanām.

3.7. Iekaisums

Iekaisums ir bioloģiska aizsargreakcija uz audu bojājumu un tam ir svarīga loma sirds un asinsvadu sistēmas slimību patoģenēzē, tādēļ iekaisuma novēršana ir viena no galvenajām stratēģijām, gan lai novērstu kardiovaskulāro slimību riska faktorus, gan lai ārstētu jau esošas saslimšanas. Lai tas būtu iespējams, ir maksimāli jāizprot visi iesaistītie patoģenēzes faktori. Šajā pētījumā mēs noteicām iekaisuma citokīnu interleikīnu 1 α , pretiekaisuma citokīnu interleikīnu 10, kā arī antimikrobus peptīdus – beta defensīns 2, 3 un 4 labā priekškambara audos pacientiem ar KSS, deģeneratīvu AoV stenozi un iedzimtām sirdskaitēm (kontroles grupa).

3.7.1. Iekaisuma šūnu infiltrācija

Atsevišķiem pacientiem – trim pacientiem ar KSS un vienam pacientam ar deģeneratīvu AoV stenozi – labā priekškambara epikardā novērojām fokālu iekaisuma šūnu infiltrāciju. *Andersen et al.* 2016. gadā publicēja pētījumu, kurā 60 % pacientu ar KSS un bez citām zināmām iekaisīgām slimībām labā priekškambara audu paraugos, kas ņemti koronāro artēriju šuntēšanas operāciju laikā, arī konstatēja fokālu iekaisuma šūnu infiltrāciju (Andersen et al., 2016). Tāpat kā šajā pētījumā, arī mūsu pētījumā, lai gan atšķirība nerasniedza statistisku nozīmīgumu, tomēr pacienti ar iekaisuma šūnu infiltrāciju labā priekškambara epikardā bija vidēji par deviņiem gadiem jaunāki nekā pacienti bez iekaisuma šūnu infiltrācijas. Tā kā literatūrā nav daudz datu par iekaisuma šūnu infiltrāciju epikardā, ir grūti spriest par tās klīnisko nozīmīgumu un saistību ar KSS vai deģeneratīvas AoV stenozes patoģenēzi. Iekaisuma šūnu infiltrācija

gados jaunākiem pacientiem varētu liecināt par agresīvāku slimības formu, ņemot vērā, ka ķirurģiska iejaukšanās bijusi nepieciešama agrīnākā vecumā.

No citiem pētījumiem zināms, ka iekaisuma šūnu infiltrācija kambaru miokardā raksturīga pacientiem ar dilatācijas un hipertrofisku kardiomiopātiju, aortālā vārstuļa stenozi, pēc miokarda infarkta, bet nav raksturīga fizioloģiskas kreisā kambara hipertrofijas gadījumā (Hofmann et al., 2012; Laroumanie et al., 2014; Patel et al., 2018). Nesenā dzīvnieku pētījumā tika identificētas iekaisuma šūnas, kas infiltrē sirds audus pēc aortas daļējas ligēšanas (modelis atbilst AoV stenozes situācijai), un tika konstatēts, ka miokardu infiltrē makrofāgi, CD8+ un CD4+ T šūnas, B šūnas, dabīgās galētājšūnas, tuklās šūnas, neitrofile leukocīti un regulatorās T šūnas, bet epikardā novēroja tikai tuklo šūnu infiltrāciju (Martini et al., 2019). Turklāt līdzīgā dzīvnieku modelī patoloģiskas kreisā kambara hipertrofijas gadījumā T šūnu aktivācijas nomākšana gan agrīni, gan uzsakta vēlākā laikā, kad slimība jau ir progresējusi, izraisīja pretiekaisuma citokīna Il-10 līmeņa pieaugumu un ievērojami samazināja sirds mazspējas progresu (Kallikourdis et al., 2017). Lai arī mūsu pētījuma audu paraugos fokālus iekaisuma šūnu infiltrācijas perēkļus miokardā nenovērojām, tomēr jāatzīmē, ka paraugos ar iekaisuma šūnu infiltrāciju epikardā bija statistiski nozīmīgi vairāk Il-10 pozitīvu endotēlija šūnu labā priekškambara asinsvados nekā paraugos bez iekaisuma šūnu infiltrācijas.

3.7.2. Interleikīns 1 α

Citokīns Il-1 α ir svarīgs elements iekaisuma procesos, taču par tā ekspresiju cilvēka sirds audos ir zināms samērā maz. Sirds un asinsvadu sistēmas slimību gadījumos pārsvarā pētīts tā blokādes terapeitiskais efekts (Szekely and Arbel, 2018). Zināms, ka Il-1 α atrodams aterosklerotiskās plātnēs, taču literatūrā neatrodam pārliecinošus datus par Il-1 α klātbūtni deģeneratīva AoV virās (Jiang et al., 2019). Mūsu pētījumā visās pacientu grupās apmēram trešdaļai pacientu

labā priekškambara audu paraugos II-1 α pozitīvas šūnas nekonstatējām vispār, bet pārējiem novērojām pārsvarā retas II-1 α pozitīvas saistaudu šūnas un maz līdz vidēji daudz II-1 α pozitīvu endokarda endotēlija šūnu. II-1 α daudzums šūnās stabilā stāvoklī variē atkarībā no to veida, bet šūnās, kas organismā veido barjeras, piemēram, epitēlija un endotēlija šūnās, II-1 α daudzums ir ievērojami lielāks (Di Paolo and Shayakhmetov, 2016). Arī mūsu pētījuma labā priekškambara audu paraugos novērojām vairāk II-1 α pozitīvu endokarda endotēlija šūnu nekā II-1 α pozitīvu saistaudu šūnu.

Vairākos pētījumos II-1 α mRNS nav atrasts ne veselās, ne arī dilatācijas kardiomiopātijas un vīrusu izraisīta iekaisuma skartās pieauguša cilvēka sirds muskuļa šūnās, bet dzīvnieku pētījumos II-1 α atrodams arī kardiomiocītos (Han et al., 1991; Westphal et al., 2007). Pēc miokarda infarkta vērojams palielināts II-1 α daudzums kardiomiocītu nekrozes zonā, kur tas iniciē sterilu iekaisuma procesu, līdz ar to tā blokāde samazina infarkta apjomu, kā arī pasargā kreisā kambara funkciju (Timmers et al., 2008; Lugin et al., 2015; Mauro et al., 2017).

Mūsu pētījumā AoV stenozes grupā konstatējām vidēji ciešu negatīvu korelāciju starp II-1 α pozitīvo labā priekškambara endokarda endotēlija šūnu relatīvo daudzumu un labā kambara sistolisko spiedienu (LKSS). LKSS atspoguļo pulmonālas hipertensijas pakāpi un pieaug, pakāpeniski dekompensējoties AoV stenozei, tādēļ pacientiem ar palielinātu LKSS ir lielāks AoV stenozes ķirurģiskās ārstēšanas risks (Lancellotti et al., 2012; Cavender and Kolarczyk, 2019). Pacientiem ar plaušu artēriju hipertensiju ir novērots palielināts iekaisuma citokīnu līmenis asinīs, turklāt tieši lielāks II-1 α līmenis ir saistīts ar palielinātu mirstību (Cracowski et al., 2014; Rabinovitch et al., 2014). Tā kā KSS grupā šādu saistību nenovērojām un abās iegūto sirdskaišu grupās bija maz pacientu ar palielinātu LKSS, iespējams, nepieciešami papildu pētījumi ar lielāku pacientu skaitu, lai noskaidrotu labā kambara palielināta spiediena ietekmi uz II-1 α ekspresiju labā priekškambara audos pacientiem ar dekompensētu AoV stenozī.

3.7.3. Interleikīns 10

Mūsu pētījumā labā priekškambara audu paraugos Il-10 pozitīvo kardiomiocītu un endokarda endotēlija šūnu bija pārlicinoši vairāk KSS grupā, bet, salīdzinot abas iegūto sirdskaišu grupas ar kontroles grupu, bija atšķirīgs visu apskatīto Il-10 pozitīvo šūnu grupu relatīvais daudzums. Tas norāda, ka palielināta Il-10 produkcija labā priekškambara audos vairāk raksturīga pacientiem ar KSS.

Il-10 ir galvenais pretiekaisuma citokīns, kas nodrošina organisma aizsardzību pārmērīgai iekaisuma reakcijai, galvenokārt inhibējot iekaisuma citokīnu produkciju (Saraiva et al., 2020). Dzīvnieku modeļos Il-10 gēna delēcija palielina iekaisuma citokīnu līmeni miokardā, kā arī palielina infarkta lielumu un mirstību (Yang, Zingarelli and Szabó, 2000; Meador *et al.*, 2008). Tomēr Il-1 α izraisītu citu iekaisuma citokīnu, piemēram, interleikīna 1 β , TNF α un interleikīna 6, produkciju sirds miofibroblastos tas neietekmē (Turner et al., 2009). Mūsu pētījuma labā priekškambara audu paraugos Il-10 pozitīvo šūnu bija pārlicinoši vairāk nekā Il-1 α pozitīvo šūnu, norādot uz pretiekaisuma procesu pārkūkumu.

Taču Il-10 ietekme nav viennozīmīga, tādēļ jāpiemin arī Il-10 negatīvais efekts uz miokardu – Il-10 veicina osteopontīna un augšanas faktora beta produkciju sirds makrofāgos, kas savukārt aktivē kolagēna sintēzi fibroblastos, kā rezultātā attīstās fibroze un diastoliska mazspēja (Hulsmans et al., 2018). Šajā pētījumā diastoliskās mazspējas parametrus neizvērtējām, taču jāatzīmē, ka konstatējām vidēji ciešu pozitīvu korelāciju starp Il-10 pozitīvo endotēlija šūnu relatīvo daudzumu un labā kambara sistolisko spiedienu, kā arī vidēji ciešu negatīvu korelāciju starp Il-10 pozitīvo endokarda endotēlija šūnu relatīvo daudzumu un kreisā kambara izsviedes frakciju. Tas nozīmē vairāk Il-10 pozitīvu endotēlija šūnu pacientiem ar sliktāku pirmsoperācijas stāvokli – zemāku kreisā kambara izsviedes frakciju un lielāku pulmonālo spiedienu. Lai arī pētījumā par

kreisā kambara remodelāciju pacientiem pēc miokarda infarkta II-10 līmenis asinīs nekorelēja ar izviedes frakcijas izmaiņām, tomēr tika konstatēta nozīmīga negatīva korelācija starp II-10 līmeni un kreisā kambara beigu diastoles diametru 30 dienas pēc miokarda infarkta (Zarrouk-Mahjoub et al., 2016), kas liecina par II-10 pozitīvo saistību ar kreisā kambara atjaunošanos pēc miokarda infarkta. Savukārt citā pētījumā pacientiem ar sistolisku sirds mazspēju un paaugstinātu II-10 līmeni asinīs tika novērota lielāka mirstība (Amir et al., 2010).

Vecums ir neatkarīgs riska faktors gan KSS, gan deģeneratīvas AoV stenozes patoģenēzē (Baumgartner et al., 2017; Knuuti et al., 2019). Mūsu pētījuma KSS grupā novērojām vidēji ciešu pozitīvu korelāciju starp II-10 pozitīvu kardiomiocītu relatīvo daudzumu un pacientu vecumu. Pētījumi par vecuma ietekmi uz II-10 produkciju ir pretrunīgi (Kelly et al., 2007; Zhang et al., 2015), taču zināms, ka II-10 pasargā asinsvadus no vecuma izraisītas endotēlija disfunkcijas, kas savukārt ir viens no galvenajiem patoģenēzes elementiem KSS attīstībā (Kinzenbaw et al., 2013; Rajendran et al., 2013).

Vēl viens būtisks sirds asinsvadu slimību riska faktors ir mainīta holesterīna vielmaiņa. Lai arī paaugstinātam triglicerīdu līmenim ir vājāka saistība ar sirds slimību risku nekā hiperholesterinēmijai, tas tomēr ir nozīmīgs neatkarīgs kardiovaskulāro slimību riska faktors (Piepoli et al., 2016). Šajā pētījumā konstatējām vidēji ciešu negatīvu korelāciju starp II-10 pozitīvu kardiomiocītu relatīvo daudzumu labā priekškambara audos un triglicerīdu līmeni. Citas būtiskas saistības starp II-10 pozitīvo šūnu relatīvo daudzumu un citām holesterīna frakcijām nekonstatējām. Lai gan II-10 nav būtiskas ietekmes uz holesterīna līmeni asins cirkulācijā, tas ietekmē makrofāgu holesterīna metabolismu, stimulējot holesterīna uzņemšanu no lipoproteīniem, kā arī holesterīna izvadi no makrofāgiem (Han et al., 2010). Tomēr pārlietu liels II-10 līmenis, piemēram, atsevišķu limfoproliferatīvu slimību gadījumā, var izraisīt augsta un zema blīvuma holesterīna līmeņa pazemināšanos un triglicerīdu līmeņa paaugstināšanos (Moraitis et al., 2015; Lucero et al., 2020).

Šajā pētījumā konstatējām vidēji ciešu statistiski nozīmīgu negatīvu korelāciju starp Il-10 pozitīvo endotēlija šūnu relatīvo daudzumu labā priekškambara asinsvados un C reaktīvā olbaltuma (CRO) līmeni asinīs. CRO ir akūtās fāzes proteīns, kura līmenis paaugstinās, reaģējot uz iekaisumu (Pepys and Hirschfield, 2003). Līdzīga situācija – samazināts Il-10 līmenis un palielināts CRO līmenis – novērota pacientiem ar akūtu koronāru sindromu un sirds mazspēju (Stumpf et al., 2003; van Haelst et al., 2004). Šo atradni izskaidro fakts, ka CRO samazina gan Il-10 mRNS, gan intracelulāro Il-10, gan arī Il-10 sekrēciju makrofāgos, inhibējot adenilātciklāzes aktivitāti (Singh et al., 2006).

3.8. Beta defensīni

Vispārsteidzošākais atklājums mūsu pētījumā bija bagātīgā antimikrobo peptīdu atradne labā priekškambara audos gan pacientiem ar KSS, gan pacientiem ar deģeneratīvu AoV stenozi, gan pacientiem ar iedzimtām sirdskaitēm jeb kontroles grupā.

Beta defensīni ir antimikrobie peptīdi, kas ir daļa no aizsardzības mehānisma pret bakteriālām infekcijām. β D2 un β D3 produkciju šūnās var stimulēt bakteriāla infekcija un iekaisuma citokīni, piemēram, Il-1 α , Il-1 β , TNF α , interferons γ un citi (Harder et al., 1997, 2001; Hiratsuka et al., 1998; Singh et al., 1998; O'Neil et al., 1999; Liu et al., 2002; Pazgier et al., 2006). Turklāt, piemēram, β D2 koncentrācija ir atkarīga no infekcijas stadijas – aktīvajā fāzē ir augsta β D2 koncentrācija, kas pakāpeniski normalizējas atveseļošanās procesa laikā (Yanagi et al., 2007). Literatūrā atrodami vairāki pētījumi par baktēriju un vīrusu lomu gan aterosklerotisku pangu veidošanas procesā, gan tās nestabilitātē (McKechnie and Rubenfire, 2002). Lai arī aterosklerozes skartu asinsvadu sienās ir atrastas baktērijas un vīrusi, tiešu pierādījumu, ka infekcija izraisa aterosklerozi, nav, taču nozīme varētu būt hroniskas infekcijas izraisītai iekaisuma reakcijai (Kuo et al., 1993; Chiu et al., 1997). Par to liecina arī vairāki

pētījumi, kuros konstatēta palielināta iekaisuma akūtās fāzes marķiera CRO saistība ar kardiovaskulāriem notikumiem (Koenig et al., 1999; Kaptoge et al., 2012). Turklāt pacientiem ar periodontālu infekciju vai palielinātu antivielu līmeni dažādām hroniskām infekcijām, piemēram, 1. tipa *herpes simplex* vīrusu un *Chlamydia pneumoniae*, ir lielāks KSS attīstības risks (Roivainen et al., 2000; Dietrich et al., 2008). Jāatzīmē, ka līdzīgi aterosklerozei stenotisku aortālo vārstuļu virās ir atrastas *Chlamydia pneumoniae* un pacientiem ar augstu antivielu titru pret *Chlamydia pneumoniae* deģeneratīvu AoV stenozi novēro biežāk un tā ir smagākas pakāpes (Pierrri et al., 2006; Turgeman et al., 2006). Par infekcijas iespējamo nozīmi KSS un deģeneratīva AoV stenozes attīstībā varētu liecināt arī bagātīgā β D2 un β D3 pozitīvo šūnu atradne visos mūsu pētījuma paraugos un tas, ka konstatējam statistiski nozīmīgu vidēji ciešu pozitīvu korelāciju starp β D3 pozitīvo kardiomiocītu relatīvo daudzumu paraugos, kas ņemti no pacientiem ar iegūtām sirdskaitēm, un CRO līmeni asinīs. KSS grupā novērojām vidēji ciešu pozitīvu korelāciju starp Il-1 α pozitīvo endokarda endotēlija šūnu un β D3 pozitīvo kardiomiocītu un saistaudu šūnu relatīvo daudzumu labā priekškambara audos, kas parāda iekaisuma procesu lokāli labā priekškambara audos un, iespējams, saistīts ar Il-1 α spēju stimulēt šūnas producēt beta defensīnus.

Jāpiebilst, ka β D2 inducē iekaisuma citokīna interleikīna 6 un hemokīna 8, kā arī pretiekaisuma citokīna Il-10 produkciju (Boniotto et al., 2006). Šajā pašā pētījumā β D3 šāda īpašība netika novērota. Mūsu pētījumā novērojām vidēji ciešu un ciešu korelāciju starp Il-10 pozitīvo saistaudu šūnu un β D2 un β D3 pozitīvo kardiomiocītu un saistaudu relatīvo daudzumu labā priekškambara audos.

Interesanti, ka visās pētījuma grupās novērojām statistiski ticamu vidēji ciešu korelāciju starp β D2 pozitīvo šūnu skaitu un pacientu vecumu, bet ar β D3 pozitīvo šūnu skaitu šādu saistību nenovērojām. Tas varētu liecināt par KSS un deģeneratīva AoV stenozes pacientu vecuma ietekmi uz šūnu spēju producēt

β D2, bet ne β D3. Novērojot gados vecākus veselus cilvēkus, secināts, ka šūnu spēja producēt β D2 ir līdzīga jauniem cilvēkiem, bet, piemēram, novecojošā ādā novērots samazināts β D3 daudzums (Castañeda-Delgado et al., 2013; Pilkington et al., 2018).

Vēl viens sirds un asinsvadu sistēmas slimību riska faktors ir dislipidēmija (Mach et al., 2020). Abās iegūto sirdskaišu grupās – gan pacientiem ar KSS, gan pacientiem ar deģeneratīvu AoV stenozi – novērojām vidēji ciešu vai ciešu negatīvu korelāciju starp β D2 un β D3 pozitīvo šūnu daudzumu labā priekškambara audos un kopējā vai zema blīvuma holesterīna (ZBLH) līmeni asinīs. Līdzīga tendence novērota starp alfa defensīniem un seruma kopējo un zema blīvuma holesterīnu (López-Bermejo et al., 2007). Kā viens no skaidrojošiem mehānismiem varētu būt alfa defensīnu spēja saistīties ar ZBLH receptoriem, tādā veidā konkurējot un kavējot ZBLH saistīšanos (Higazi et al., 2000). Par beta defensīniem literatūrā šādus datus neatrodam, tādēļ nepieciešami papildu pētījumi, lai izvērtētu beta defensīnu un holesterīna frakciju saistību.

Šajā pētījumā KSS grupā konstatējām statistiski nozīmīgu ciešu korelāciju starp β D2 un β D3 pozitīvo kardiomiocītu daudzumu un smadzeņu nātrijurētiskā peptīda (BNP) līmeni asinīs, kā arī nozīmīgu vidēji ciešu korelāciju starp β D2 pozitīvo endotēlija šūnu daudzumu un ANUP pozitīvo kardiomiocītu daudzumu. BNP un ANUP ir peptīdi, ko producē kardiomiocīti, reaģējot uz palielinātu mehānisko slodzi un sienas iestiepumu (Nakagawa, Nishikimi and Kuwahara, 2019). Klīniskajā praksē BNP līmeni asinīs izmanto, lai izvērtētu sirds mazspējas dekompensāciju un lietotās terapijas efektivitāti (Ponikowski et al., 2016).

Rādītājs, kas tiešā veidā parāda palielinātu spiedienu sirds labajā kambarī un atspoguļo spiedienu plaušu artērijās, ir labā kambara sistoliskais spiediens (LKSS) (Thibodeau and Drazner, 2018). Interesanti, ka pacientiem ar KSS novērojām statistiski nozīmīgu vidēji ciešu pozitīvu korelāciju starp LKSS un II- 10, β D2 un β D3 pozitīvo šūnu relatīvo daudzumu labā priekškambara audos

un vidēji ciešu negatīvu korelāciju starp LKSS un PGP 9.5 pozitīvo nervšķiedru un VEGF pozitīvo endotēlija šūnu relatīvo daudzumu labā priekškambara audos. Savukārt AoV stenozes grupā novērojām šādu tendenci – vidēji ciešu negatīvu korelāciju starp LKSS un Il-1 α un β D2 pozitīvo šūnu relatīvo daudzumu labā priekškambara audos. Palielināts spiediens sirds labās puses dobumos pacientiem ar AoV stenozi parasti ir sekundārs un ir saistīts ar kreisās puses dekompensāciju (Généreux et al., 2017), tādēļ morfoloģiskās izmaiņas labā priekškambara audos, visdrīzāk, saistītas ar palielinātu spiedienu. Savukārt KSS gadījumā, ja nav izteikta kreisās puses mazspēja, pulmonālai hipertensijai var būt dažādi iemesli, visbiežāk tā ir primāra (Shimony et al., 2011), tādēļ izmaiņas labā priekškambara morfoloģijā var būt saistītas gan ar KSS, gan ar pulmonālas hipertensijas patoģenēzes mehānismiem. Tāpat pacientiem ar KSS un pulmonālas hipertensijas pazīmēm labā priekškambara audos raksturīga lielāka pretiekaisuma citokīna Il-10 un antimikrobo peptīdu produkcija, bet samazināta inervācija un VEGF produkcija.

Nobeigumā varam teikt, ka labā priekškambara audos gan KSS, gan deģeneratīvas AoV stenozes gadījumā raksturo nespecifiskas deģeneratīvas morfoloģiskas pārmaiņas – izteikta vakuolizācija, kā arī kardiomiocītu un to kodolu formas un izmēra maiņa. Turklāt šiem pacientiem raksturīgs arī liels apoptotisko kardiomiocītu īpatsvars. Kaut gan AoV stenozes pacientiem nebija nozīmīgu bojājumu koronārajās artērijās, atsevišķiem pacientiem abās pētītajās grupās novērojām saistaudu icaugšanu un asinsvadu sklerozi.

KSS un deģeneratīvas AoV stenozes gadījumā notiek labā priekškambara endokarda endotēlija šūnu aktivācija, kam raksturīga formas maiņa no plakanas uz kubisku un bagātīga ChgA, ET-1, Il-1 α , Il-10, β D2 un β D3 izdale.

Pacientiem ar KSS un AoV stenozi labā priekškambara audos bija statistiski nozīmīgi vairāk ANUP pozitīvu kardiomiocītu, visu veidu Il-10 pozitīvu šūnu un β D2 un β D3 pozitīvu endokarda endotēlija šūnu, bet mazāk ChgA pozitīvu šūnu nekā kontroles grupā jeb pacientiem ar iedzimtām

sirdskaitēm. Tātad abu pētīto iegūto sirdskaišu gadījumā labā priekškambara audos prevalē pretiekaisuma reakcija, bet palielināta neuroendokrīnās sistēmas aktivitāte vairāk raksturīga pacientiem ar iedzimtām sirdskaitēm agrīnā vecumā.

Lai arī novērojām atsevišķas tendences, piemēram, KSS grupā labā priekškambara audos bija nedaudz vairāk VEGF, ET-1, Il-1 α pozitīvu endokarda endotēlija šūnu, Il-10 pozitīvu kardiomiocītu, saistaudu un endotēlija šūnu, bet AoV stenozes grupā – ChgA pozitīvu endokarda endotēlija šūnu, tomēr statistisku nozīmīgumu šīs atšķirības nerasniedza.

Vispārsteidzošākais atklājums mūsu pētījumā bija bagātīgā antimikrobo peptīdu atradne labā priekškambara audos gan pacientiem ar KSS, gan pacientiem ar deģeneratīvu AoV stenozi, gan pacientiem ar iedzimtām sirdskaitēm jeb kontroles grupā.

Secinājumi

1. Gan KSS, gan AoV stenozes pacientu labā priekškambara audus raksturo nespecifiskas morfoloģiskas pārmaiņas: kodolu formas maiņa un vakuolizācija, kas korelē ar apoptozes atradni kardiomiocītos. Savukārt fokāli iekaisuma perēkļi raksturīgi gados jauniem iegūtu sirdskaišu pacientiem, un to korelācija ar Il-10 izdali ir specifisks šīs grupas pacientu intensificējošs pretiekaisuma reakcijas piemērs.
2. KSS un deģeneratīvas AoV stenozes gadījumā labā priekškambara endokarda endotelociāti maina formu no plakanas uz kubisku un bagātīgi izdala ChgA, ET-1, Il-1 α , Il-10, β D2 un β D3, tas liecina par izteiktu šo šūnu plasticitāti nevienmērīgas išēmijas apstākļos (VEGF variabla palielināšanās).
3. Gan KSS, gan AoV stenozes pacientiem kopumā raksturīga bagātīga labā priekškambara neuropeptīdus saturošo nervšķiedru inervācija. Tās samazināšanās KSS pacientiem ar izteiktāku pretiekaisuma citokīna Il-10 un antimikrobo peptīdu β D2 un β D3 produkciju liecina par kompensatoru nervšķiedru veidošanās bloķēšanu iekaisuma apstākļos.
4. KSS pacientiem ar palielinātu ET-1 produkciju labā priekškambara audos raksturīga arī lielāka ANUP sekrēcija, kas nodrošina miokarda aizsardzību pret ET-1 nelabvēlīgo ietekmi.
5. Kopumā iegūto sirdskaišu gadījumā VEGF pozitīvo struktūru daudzums labā priekškambara audos variē individuāli. AoV stenozes pacientiem palielinātais VEGF pozitīvo šūnu daudzums korelē ar apoptozes intensifikāciju, bet KSS pacientiem VEGF uzturētā išēmija stimulē lokālo pretiekaisuma faktoru Il-10 un β D3 pozitīvo struktūru pieaugumu.
6. Palielināta ChgA produkcija labā priekškambara audos un līdz ar to arī neiroendokrīnās sistēmas aktivitāte vairāk raksturīga pacientiem ar iedzimtām sirdskaitēm agrīnā vecumā. Iegūto sirdskaišu gadījumā variablais ChgA pozitīvo šūnu daudzums korelē galvenokārt ar Il-10, β D2 un β D3,

norādot uz pretiekaisuma reakcijas stimulāciju, ko veicina išēmija (korelācija ar VEGF saturošo šūnu skaitu), bet ChgA negatīvā korelācija ar apoptozi pamato faktora kardioprotektīvo lomu.

7. ET-1 saturošo šūnu daudzums KSS un AoV stenozes pacientiem ir individuāli variabls, bet lielāks nekā iedzimto sirdskaišu pacientiem. ET-1 izdala galvenokārt endokarda endoteliocīti, liecinot tieši par šo šūnu intensīvāku iesaisti faktora ekspresijā.
8. KSS un AoV stenozes pacientu labā priekškambara audus raksturo neizteikta Il-1 α un izteiktāka Il-10 saturošo šūnu klātbūtne, liecinot par korektu iekaisuma/pretikaisuma citokīnu attiecību īpaši KSS pacientiem.
9. Iegūto sirdskaišu pacientu labā priekškambara audos novēro palielinātu β D2 un β D3 saturošo šūnu daudzumu, kas korelē ar palielinātu Il-10 un CRO līmeni, liecinot, ka tiek intensificēta visa lokālā aizsardzības sistēma un tā ir saistīta ar atbildes iekaisuma reakciju. Novecošanai piemīt selektīva spēja stimulēt β D2 saturošo šūnu skaita palielināšanos, akcentējot arī deģeneratīvo procesu nozīmi atsevišķu defensīnu izdalē. Palielināts LKSS ir papildu faktors, kas veicina lokālās pretmikrobās sistēmas aktivāciju.

Publikācijas un ziņojumi par promocijas darba tēmu

Zinātniskās publikācijas izdevumos, kas iekļauti starptautiskajās datubāzēs (*Web of Science, SCOPUS, ERIH PLUS*)

1. **Edīte Vārtaņa**, Māra Pilmane, Romans Lācis. *Homeostasis Regulating Factors, Innervation, Ischemia and Inflammatory Markers in the Right Atrial Tissue from Patients with Degenerative Aortic Valve Stenosis and Coronary Heart Disease. Proceedings of the Latvian Academy of Sciences. Section B.* 2021; 75(3): 186.–193. doi: 10.2478/prolas-2021-0028.
2. **Edīte Vārtaņa**, Māra Pilmane, Romans Lācis. Inflammatory cytokines and antimicrobial peptides in acquired heart diseases. *Histol Histopathol.* 2019; 34(8):889–897. doi: 10.14670/HH-18-091.

Zinātniski raksti Latvijā izdotos recenzējamās izdevumos

1. **Edīte Kulmane**, Māra Pilmane, Romans Lācis. Apoptosis, ANUP, Chromogranin A, PGP 9.5, Endothelins and VEGF in Acquired Heart Diseases: Review of Literature. *Acta Chirurgica Latviensis*, 2015; 15(1): 63–72.
2. **Edīte Kulmane**, Māra Pilmane, Romans Lācis. Right Atrial Tissue Morphology in Different Acquired Heart Diseases: a Pilot Study. *RSU Research Articles in Medicine and Pharmacy* 2014: 70–79.

Uzstāšanās starptautiskās zinātniskajās konferencēs

1. **Edīte Vārtaņa**, Māra Pilmane, Romans Lācis. Common and Different Tissue Factors in the Right Atrial Tissue from Patients with and without Atrial Fibrillation. Rīga Stradiņš University International Conference on Medical and Health Care Sciences. *Tēžu grāmata*, 2021: 406. (Stenda referāts).
2. **Edīte Vārtaņa**, Māra Pilmane, Romans Lācis. Common and Different Homeostasis Regulating Factors, Innervation, Ischemia and Inflammatory Markers in the Right Atrial Tissue from Patients with Degenerative Aortic Valve Stenosis and Coronary Heart Disease. Rīga Stradiņš University International Conference on Medical and Health Care Sciences. *Tēžu grāmata*, 2019: 581. (Stenda referāts).
3. **Edīte Vārtaņa**, Māra Pilmane, Emīls Šmitiņš, Romans Lācis. Homeostasis Regulating Factors, Innervation and Ischemia Markers in the Right Atrial Tissue from Different Acquired and Congenital Heart Diseases. 9th Baltic Morphology Conference, Tartu, Igaunija. *Tēžu grāmata*, 2017: 93. (Mutiska prezentācija).
4. **Edīte Vārtaņa**, Māra Pilmane, Romans Lācis. Distribution of PGP 9.5 Immunoreactive Nerves in Right Atrial Tissue from Patients with Coronary Heart Disease. 26th Nordic-Baltic Congress of Cardiology, 2017, Viļņa, Lietuva. *Medicina*, 2017; 53(1):67 (Stenda referāts).

5. **Edīte Vārīņa**, Māra Pilmane, Romans Lācis. Morphology of Right Atrial Endocardial Endothelial Cells in Different Acquired Heart Diseases. 12th International Congress of Cell Biology, Prāga, Čehija. *Tēžu grāmata*, 2016:288. (Stenda referāts).
6. **Edīte Kulmane**, Māra Pilmane, Romans Lācis. Antiinflammatory Cytokines and Antimicrobial Peptides in Acquired Heart Diseases. 8th Baltic Morphology Scientific Conference, 2015. Viļņa, Lietuva. *Tēžu grāmata*, 2015: 53. (Balva par labāko mutisko prezentāciju).
7. **Edīte Kulmane**, Māra Pilmane, Romans Lācis. Right Atrial Tissue Morphology in Acquired Heart Diseases. International Conference on Microscopic and Macroscopic Anatomy, Barselona, Spānija. *Tēžu grāmata*, 2015: 1335. (Mutiska prezentācija).
8. **Edīte Kulmane**, Māra Pilmane, Romans Lācis. Chromogranin A Expression in Right Atrial Tissue in Patients with Severe Aortic Valve Stenosis. 25th Nordic-Baltic Congress of Cardiology, Tallina, Igaunija. *Cardiology*, 2015; 131 (1): 33. (Stenda referāts).
9. **Edīte Kulmane**, Māra Pilmane, Romans Lācis. Right Atrial Tissue Morphology in Different Acquired Heart Diseases: a Pilot Study. The 64th International Congress of the European Society of Cardiovascular and Endovascular Surgery, Stambula, Turcija. *The Journal of Cardiovascular Surgery*, 2015; 46(1–2): 222–223. (Stenda referāts).

Uzstāšanās vietējās nozīmes zinātniskajās konferencēs

1. **Edīte Vārīņa**, Māra Pilmane, Emīls Šmitiņš, Romans Lācis. Homeostāzi regulējošie faktori, inervācijas un išēmijas marķieri labā priekškambara audos iegūtu un iedzimu sirdskaišu gadījumos. *RSU zinātniskās konferences tēzes*. 2018: 148. (Stenda referāts).
2. **Edīte Vārīņa**, Māra Pilmane, Romans Lācis. PGP 9.5 saturošu nervu šķiedru izplatība labā priekškambara audos koronāras sirds slimības pacientiem. *RSU zinātniskās konferences tēzes*. 2018: 149. (Mutiska prezentācija).
3. **Edīte Vārīņa**, Māra Pilmane, Romans Lācis. Labā priekškambara endokarda endotēlija šūnu morfoloģija dažādu iegūtu sirdskaišu gadījumos. *RSU zinātniskās konferences tēzes*. 2017: 187. (Mutiska prezentācija).
4. **Edīte Kulmane**, Māra Pilmane, Romans Lācis. Antibakteriālie peptīdi un pretiekaisuma citokīni dažādu iegūtu sirdskaišu gadījumos. *RSU zinātniskās konferences tēzes*. 2016: 12. (Stenda referāts).
5. **Edīte Kulmane**, Māra Pilmane, Romans Lācis. Labā priekškambara audu strukturālās izmaiņas dažādu iegūtu sirdskaišu gadījumos. *RSU zinātniskās konferences tēzes*. 2015: 46. (Stenda referāts).

Literatūras saraksts

1. Akahori, H., Tsujino, T., Masuyama, T. and Ishihara, M. 2018. Mechanisms of aortic stenosis. *Journal of Cardiology*, 71(3), 215–220.
2. Amir, O., Rogowski, O., David, M., Lahat, N., Wolff, R. and Lewis, B. S. 2010. Circulating interleukin-10: Association with higher mortality in systolic heart failure patients with elevated tumor necrosis factor- α . *Israel Medical Association Journal*, 12(3), 158–162.
3. Andersen, J. K., Oma, I., Prayson, R. A., Kvelstad, I. L., Almdahl, S. M., Fagerland, M. W. and Hollan, I. 2016. Inflammatory cell infiltrates in the heart of patients with coronary artery disease with and without inflammatory rheumatic disease: A biopsy study. *Arthritis Research and Therapy*, 18(1), 1– 10.
4. Baertschi, A. J., Hausmaninger, C., Walsh, R. S., Mentzer, R. M., Wyatt, D. A. and Pence, R. A. 1986. Hypoxia-induced release of atrial natriuretic factor (ANF) from the isolated rat and rabbit heart. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 140(1), 427–433.
5. Barton, M. and Yanagisawa, M. 2008. Endothelin: 20 Years from discovery to therapy. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*, 86(8), 485–498.
6. 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., Tornos Mas, P., Vahanian, A., Walther, T., Wendler, O., Windecker, S., Zamorano, J. L., Roffi, M., Aboyans, V. 2017. 2017 ESC/EACTS Guidelines for the management of valvular heart disease. *European Heart Journal*, 38(36), 2739–2786.
7. Boniotto, M., Jordan, W. J., Eskdale, J., Tossi, A., Antcheva, N., Crovella, S., Connell, N. D. and Gallagher, G. 2006. Human β -defensin 2 induces a vigorous cytokine response in peripheral blood mononuclear cells. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 50(4), 1433–1441.
8. Brutsaert, D. L., Meulemans, A. L., Sipido, K. R. and Sys, S. U. 1988. Effects of damaging the endocardial surface on the mechanical performance of isolated cardiac muscle. *Circulation Research*, 62(2), 358–366.
9. Brutsaert, D. L. 2003. Cardiac endothelial-myocardial signaling: Its role in cardiac growth, contractile performance, and rhythmicity. *Physiological Reviews*, 83(1), 59–115.
10. Cannone, V., Cabassi, A., Volpi, R. and Burnett, J. C. 2019. Atrial natriuretic peptide: A molecular target of novel therapeutic approaches to cardio-metabolic disease. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(13), 1–11.

11. Carlsson, A. C., Ruge, T., Kjølner, E., Hilden, J., Kolmos, H. J., Sajadieh, A., Kastrup, J., Jensen, G. B., Larsson, A., Nowak, C., Jakobsen, J. C., Winkel, P., Gluud, C. and Ärnlov, J. 2018. 10-Year associations between tumor necrosis factor receptors 1 and 2 and cardiovascular events in patients with stable coronary heart disease: A CLARICOR (Effect of Clarithromycin on Mortality and Morbidity in Patients with Ischemic Heart Disease) trial s. *Journal of the American Heart Association*, 7(9), 1–11.
12. Castañeda-Delgado, J. E., Miranda-Castro, N. Y., González-Amaro, R., González-Curiel, I., Montoya-Rosales, A., Rivas-Calderon, B. and Rivas-Santiago, B. 2013. Production of antimicrobial peptides is preserved in aging. *Clinical Immunology*, 148(2), 198–205.
13. Cavender, M. A. and Kolarczyk, L. 2019. Pulmonary Hypertension and Aortic Stenosis: Further Evidence That TAVR Is Not SAVR. *JACC: Cardiovascular Imaging*, 12(4), 602–604.
14. Chen, X., Guang, L. Y. xia, Zhao, D., Zhang, L., Zheng, F., Yang, J. Y., Li, X. lin, Wang, L., Guo, L. Y., Pan, Y. mu, Yan, Y. wen, Chen, S. Y., Wang, J. N., Tang, J. M. and Wan, Y. 2016. Vascular endothelial growth factor-C protects heart from ischemia/reperfusion injury by inhibiting cardiomyocyte apoptosis. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 413(1–2), 9–23.
15. Chiu, B., Viira, E., Tucker, W. and Fong, I. W. 1997. Chlamydia pneumoniae, cytomegalovirus, and herpes simplex virus in atherosclerosis of the carotid artery. *Circulation*, 96(7), 2144–2148.
16. Clerico, A., del Ry, S., Maffei, S., Prontera, C., Emdin, M. and Giannessi, D. 2002. The circulating levels of cardiac natriuretic hormones in healthy adults: Effects of age and sex. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*, 40(4), 371–377.
17. Cody, R. J., Haas, G. J., Binkley, P. F., Capers, Q. and Kelly, R. 1993. Plasma endothelin correlates with the extent of pulmonary hypertension in patients with chronic congestive heart failure. *Circulation*, 87(3), 1064.
18. Cohen, K. L., van Horn, D. L., Edelhauser, H. F. and Schultz, R. O. 1979. Effect of phenylephrine on normal and regenerated endothelial cells in cat cornea. *Investigative Ophthalmology and Visual Science*, 18(3), 242–249.
19. Cracowski, J. L., Chabot, F., Labarère, J., Faure, P., Degano, B., Schwebel, C., Chaouat, A., Reynaud-Gaubert, M., Cracowski, C., Sitbon, O., Yaici, A., Simonneau, G. and Humbert, M. 2014. Proinflammatory cytokine levels are linked to death in pulmonary arterial hypertension. *European Respiratory Journal*, 43(3), 915–917.
20. Dae, M. W., O’Connell, J. W., Botvinick, E. H. and Chin, M. C. 1995. Acute and chronic effects of transient myocardial ischemia on sympathetic nerve activity, density, and norepinephrine content. *Cardiovasc Res*, 30(2), 270–280.

21. Dhein, S., Giessler, C., Wangemann, T., Silber, R. E., Zerkowski, H. R. and Brodde, O. E. 2000. Differential pattern of endothelin-1-induced inotropic effects in right atria and left ventricles of the human heart. *Journal of Cardiovascular Pharmacology*, 36(5), 564–569.
22. Di Paolo, N. C. and Shayakhmetov, D. M. 2016. Interleukin 1 α and the inflammatory process. *Nature Immunology*, 17(8), 906–913.
23. Dietrich, T., Jimenez, M., Kaye, E. A. K., Vokonas, P. S. and Garcia, R. I. 2008. Age-dependent associations between chronic periodontitis/ edentulism and risk of coronary heart disease. *Circulation*, 117(13), 1668–1674.
24. Dor, Y., Klewer, S. E., McDonald, J. A., Keshet, E. and Camenisch, T. D. 2003. VEGF modulates early heart valve formation. *Anatomical Record – Part A Discoveries in Molecular, Cellular, and Evolutionary Biology*, 271(1), 202–208.
25. Ferrero, E., Scabini, S., Magni, E., Foglieni, C., Belloni, D., Colombo, B., Curnis, F., Villa, A., Ferrero, M. E. and Corti, A. 2004. Chromogranin A protects vessels against tumor necrosis factor alpha-induced vascular leakage. *The FASEB Journal : Official Publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*, 18(3), 554–556.
26. Ferrero, E., Zocchi, M. R., Magni, E., Panzeri, M. C., Curnis, F., Rugarli, C., Ferrero, M. E. and Corti, A. 2001. Roles of tumor necrosis factor p55 and p75 receptors in TNF- α -induced vascular permeability. *American Journal of Physiology – Cell Physiology*, 281(4 50-4), 1173–1179.
27. Fischer, A. H., Jacobson, K. A., Rose, J. and Zeller, R. 2008. Hematoxylin and eosin staining of tissue and cell sections. *Cold Spring Harbor Protocols*, 3(5), 21356829.
28. Foo, N. C., Ahn, Y. B., Ma, X., Hyun, W. and Yen, T. S. B. 2002. Cellular vacuolization and apoptosis induced by hepatitis B virus large surface protein. *Hepatology*, 36(6), 1400–1407.
29. Friehs, I., Barillas, R., Vasilyev, N. V., Roy, N., McGowan, F. X. and Nido, P. J. del. 2006. Vascular Endothelial Growth Factor Prevents Apoptosis and Preserves Contractile Function in Hypertrophied Infant Heart. *Circulation*, 114(1), 1290–1295.
30. Fukuchi, M. and Giaid, A. 1998. Expression of endothelin-1 and endothelin-converting enzyme-1 mRNAs and proteins in failing human hearts. *Journal of Cardiovascular Pharmacology*, 31(1), 7–13.
31. Galeone, A., Paparella, D., Colucci, S., Grano, M. and Brunetti, G. 2013. The role of TNF- α and TNF superfamily members in the pathogenesis of calcific aortic valvular disease. *The Scientific World Journal*, 2013, 1–10.

32. Génèreux, P., Pibarot, P., Redfors, B., Mack, M. J., Makkar, R. R., Jaber, W. A., Svensson, L. G., Kapadia, S., Tuzcu, E. M., Thourani, V. H., Babaliaros, V., Herrmann, H. C., Szeto, W. Y., Cohen, D. J., Lindman, B. R., McAndrew, T., Alu, M. C., Douglas, P. S., Hahn, R. T., Leon, M. B. 2017. Staging classification of aortic stenosis based on the extent of cardiac damage. *European Heart Journal*, 38(45), 3351–3358.
33. Giachini, F. R. C., Zemse, S. M., Carneiro, F. S., Lima, V. V., Carneiro, Z. N., Callera, G. E., Ergul, A., Webb, R. C. and Tostes, R. C. 2009. Interleukin-10 attenuates vascular responses to endothelin-1 via effects on ERK1/2-dependent pathway. *American Journal of Physiology – Heart and Circulatory Physiology*, 296(2), 1–17.
34. Giaid, A., Yanagisawa, M., Langleben, D., Michel, R. P., Levy, R., Shennib, H., Kimura, S., Masaki, T., Duguid, W. P. and Stewart, D. J. 1993. Expression of Endothelin-1 in the Lungs of Patients with Pulmonary Hypertension. *The New England Journal of Medicine*, 328, 1732–1739.
35. Goetze, J. P., Alehagen, U., Flyvbjerg, A. and Rehfeld, J. F. 2013. Making sense of chromogranin A in heart disease. *The Lancet Diabetes and Endocrinology*, 1(1), 7–8.
36. Guo, Y., Chung, S. K., Siu, C. W., Kwan, S. C., Ho, P. W. L., Yeung, P. K. K. and Chan, K. H. 2014. Endothelin-1 overexpression exacerbate experimental allergic encephalomyelitis. *Journal of Neuroimmunology*, 276(1–2), 64–70.
37. Han, R. O., Ray, P. E., Baughmann, K. L. and Feldman, A. M. 1991. Detection of interleukin and interleukin-receptor mRNA in human heart by polymerase chain reaction. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 181(2), 520–523.
38. Han, X., Kitamoto, S., Wang, H. and Boisvert, W. A. 2010. Interleukin-10 overexpression in macrophages suppresses atherosclerosis in hyperlipidemic mice. *The FASEB Journal*, 24(8), 2869–2880.
39. Harder, J., Bartels, J., Christophers, E. and Schroder, J. M. 1997. A peptide antibiotic from human skin [6]. *Nature*, 387(6636), 861.
40. Harder, Jürgen, Bartels, J., Christophers, E. and Schröder, J. M. 2001. Isolation and Characterization of Human β -Defensin-3, a Novel Human Inducible Peptide Antibiotic. *Journal of Biological Chemistry*, 276(8), 5707–5713.
41. Henein, M., Hällgren, P., Holmgren, A., Sörensen, K., Ibrahim, P., Kofoed, K. F., Larsen, L. H. and Hassager, C. 2015. Aortic root, not valve, calcification correlates with coronary artery calcification in patients with severe aortic stenosis: A two-center study. *Atherosclerosis*, 243(2), 631–637.
42. Hernández-Perera, O., Pérez-Sala, D., Soria, E. and Lamas, S. 2000. Involvement of Rho GTPases in the transcriptional inhibition of preproendothelin-1 gene expression by simvastatin in vascular endothelial cells. *Circulation Research*, 87(7), 616–622.

43. Heyman, S. N., Khamaisi, M. and Abassi, Z. 2018. Interacting hypoxia and endothelin in the diabetic kidney: Therapeutic options. *American Journal of Physiology – Renal Physiology*, 314(5), 669–701.
44. Higazi, A. A. R., Nassar, T., Ganz, T., Rader, D. J., Udassin, R., Bdeir, K., Hiss, E., Sachais, B. S., Williams, K. J., Leitersdorf, E. and Cines, D. B. 2000. The α -defensins stimulate proteoglycan-dependent catabolism of low-density lipoprotein by vascular cells: A new class of inflammatory apolipoprotein and a possible contributor to atherogenesis. *Blood*, 96(4), 1393–1398.
45. Hindricks, G., Potpara, T., Dagres, N., Arbelo, E., Bax, J. J., Blomström-Lundqvist, C., Boriani, G., Castella, M., Dan, G.-A., Dilaveris, P. E., Fauchier, L., Filippatos, G., Kalman, J. M., La Meir, M., Lane, D. A., Lebeau, J.-P., Lettino, M., Lip, G. Y. H., Pinto, F. J., Watkins, C. L. 2020. 2020 ESC Guidelines for the diagnosis and management of atrial fibrillation developed in collaboration with the European Association of Cardio-Thoracic Surgery (EACTS). *European Heart Journal*, 1–126.
46. Hiratsuka, T., Nakazato, M., Date, Y., Ashitani, J., Minematsu, T., Chino, N. and Matsukur, S. 1998. Identification of Human β -Defensin-2 in Respiratory Tract and Plasma and Its Increase in Bacterial Pneumonia. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 249(3), 943–947.
47. Hofman, P., van Blijswijk, B. C., Gaillard, P. J., Vrensen, G. F. J. M. and Schlingemann, R. O. 2001. Endothelial cell hypertrophy induced by vascular endothelial growth factor in the retina: New insights into the pathogenesis of capillary nonperfusion. *Archives of Ophthalmology*, 119(6), 861–866.
48. Hofmann, U., Beyersdorf, N., Weirather, J., Podolskaya, A., Bauersachs, J., Ertl, G., Kerkau, T. and Frantz, S. 2012. Activation of CD4 + T lymphocytes improves wound healing and survival after experimental myocardial infarction in mice. *Circulation*, 125(13), 1652–1663.
49. Hogenhuis, J., Voors, A. A., Jaarsma, T., Hillege, H. L., Boomsma, F. and van Veldhuisen, D. J. 2005. Influence of age on natriuretic peptides in patients with chronic heart failure: A comparison between ANP/NT-ANP and BNP/NT-proBNP. *European Journal of Heart Failure*, 7(1), 81–86.
50. Hsu, C.-H., Reyes, L. F., Orihuela, C. J., Buitrago, R., Anzueto, A., Soni, N. J., Levine, S., Peters, J., Hinojosa, C. A., Aliberti, S., Sibila, O., Rodriguez, A., Chalmers, J. D., MartinLoeches, I., Bordon, O., Blanquer, J., Sanz, F., Marcos, P. J., Rello, J., Restrepo, M. I. 2015. Chromogranin A levels and mortality in patients with severe sepsis. *Biomarkers*, 20(3), 171–176.
51. Hsu, S., Raine, L. and Fanger, H. 1981. The Use of Antiavidin Antibody and Avidin-Biotin-Peroxidase Complex in Immunoperoxidase Technics. *American Journal of Clinical Pathology*, 75(6), 816–821.
52. Huang, W., Boyle, N. and Vaseghi, M. 2017. Cardiac innervation and the autonomic nervous system in SCD. *Card Electrophysiol Clin*, 9(4), 665–679.

53. Hulsmans, M., Sager, H. B., Roh, J. D., Valero-Muñoz, M., Houstis, N. E., Iwamoto, Y., Sun, Y., Wilson, R. M., Wojtkiewicz, G., Tricot, B., Osborne, M. T., Hung, J., Vinegoni, C., Naxerova, K., Sosnovik, D. E., Zile, M. R., Bradshaw, A. D., Liao, R., Tawakol, A., Nahrendorf, M. 2018. Cardiac macrophages promote diastolic dysfunction. *The Journal of Experimental Medicine*, 215(2), 423–440.
54. Ito, H., Hiroe, M., Hirata, Y., Fujisaki, H., Adachi, S., Akimoto, H., Ohta, Y. and Marumo, F. 1994. Endothelin ETA receptor antagonist blocks cardiac hypertrophy provoked by hemodynamic overload. *Circulation*, 89(5), 2198–2203.
55. Jacques, D. and Bkaily, G. 2019. Endocardial endothelial cell hypertrophy takes place during the development of hereditary cardiomyopathy. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 453(1–2), 157–161.
56. Jiang, X., Wang, F., Wang, Y., Gisterå, A., Roy, J., Paulsson-Berne, G., Hedin, U., Lerman, A., Hansson, G. K., Herrmann, J. and Yan, Z. qun. 2019. Inflammation-Driven Interleukin-1 α and Interleukin-1 β Production in Atherosclerotic Plaques Relates to Hyperlipidemia and Plaque Complexity. *JACC: Basic to Translational Science*, 4(3), 304–317.
57. Kallikourdis, M., Martini, E., Carullo, P., Sardi, C., Roselli, G., Greco, C. M., Vignali, D., Riva, F., Ormestad Berre, A. M., Stølen, T. O., Fumero, A., Faggian, G., di Pasquale, E., Elia, L., Rumio, C., Catalucci, D., Papait, R. and Condorelli, G. 2017. T cell costimulation blockade blunts pressure overload-induced heart failure. *Nature Communications*, 8, 1–14.
58. Kaptoge, S., di Angelantonio, E., Pennells, L. and Wood, A. M., White, I. R., Gao, P., Walker, M., Thompson, A., Sarwar, N., Caslake, M., Butterworth, A. S., Amouyel, P., Assmann, G., Bakker, S. J., Barr, E. L., Barrett-Connor, E., Benjamin, E. J., Björkelund, C., Brenner, H., Brunner, E., Clarke, R., Cooper, J. A., Cremer, P., Cushman, M., Dagenais, G. R., D’Agos, D. J. 2012. C- Reactive Protein, Fibrinogen, and Cardiovascular Disease Prediction. *New England Journal of Medicine*, 367(14), 1310–1320.
59. Kelly, J., Khan, A. A., Yin, J., Ferguson, T. A. and Apte, R. S. 2007. Senescence regulates macrophage activation and angiogenic fate at sites of tissue injury in mice. *Journal of Clinical Investigation*, 117(11), 3421–3426.
60. Kingham, P. J. and Pocock, J. M. 2000. Microglial apoptosis induced by chromogranin A is mediated by mitochondrial depolarisation and the permeability transition but not by cytochrome c release. *Journal of Neurochemistry*, 74(4), 1452–1462.
61. Kinzenbaw, D. A., Chu, Y., Peña Silva, R. A., Didion, S. P. and Faraci, F. M. 2013. Interleukin-10 protects against aging-induced endothelial dysfunction. *Physiological Reports*, 1(6), 1–8.
62. Kjær, A. and Hesse, B. 2001. Heart failure and neuroendocrine activation: Diagnostic, prognostic and therapeutic perspectives. *Clinical Physiology*, 21(6), 661–672.

63. Knuuti, J., Wijns, W., Chairperson, I., Capodanno, D., France, C. F., Denmark, E. P., Storey, R. F., Kingdom, U., Deaton, C., Kingdom, U., France, T. C., Gersh, B. J., States, U., Svitil, P., Republic, C., France, M. G., Israel, D. H., Hatala, R., Republic, S., Bax, J. 2019. 2019 ESC Guidelines for the diagnosis and management of chronic coronary syndromes The Task Force for the diagnosis and management of chronic. *European Heart Journal*, 1–71.
64. Koenig, W., Sund, M., Fröhlich, M., Fischer, H., Döring, A., Hutchinson, W. L. and Pepys, M. B. 1999. C-Reactive Protein, a Sensitive Marker of Inflammation, Predicts Future Risk of Coronary Heart Disease in Initially Healthy Middle-Aged Men. *Circulation*, 99, 237–243.
65. Kuo, C., Shor, A., Campbell, L. A., Fukushi, H., Patton, D. L. and Grayston, J. T. 1993. Demonstration of Chlamydia pneumoniae in Atherosclerotic Lesions of Coronary Arteries. *The Journal of Infectious Diseases*, 167(4), 841–849.
66. Laakkonen, J. P., Lähteenvu, J., Jauhiainen, S., Heikura, T. and Ylä-Herttua, S. 2019. Beyond endothelial cells: Vascular endothelial growth factors in heart, vascular anomalies and placenta. *Vascular Pharmacology*, 112(October 2018), 91–101.
67. Lancellotti, P., Magne, J., Donal, E., O'Connor, K., Dulgheru, R., Rosca, M. and Pierard, L. A. 2012. Determinants and prognostic significance of exercise pulmonary hypertension in asymptomatic severe aortic stenosis. *Circulation*, 126(7), 851–859.
68. Lankhorst, S., Danser, A. H. J. and Meiracker, A. H. van den. 2016. Endothelin-1 and antiangiogenesis. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 310, 230–234.
69. Laroumanie, F., Douin-Echinard, V., Pozzo, J., Lairez, O., Tortosa, F., Vinel, C., Delage, C., Calise, D., Dutaur, M., Parini, A. and Pizzinat, N. 2014. CD4+ T cells promote the transition from hypertrophy to heart failure during chronic pressure overload. *Circulation*, 129(21), 2111–2124.
70. Liu, A. Y., Destoumieux, D., Wong, A. V., Park, C. H., Valore, E. V., Liu, L. and Ganz, T. 2002. Human β -defensin-2 production in keratinocytes is regulated by interleukin-1, bacteria, and the state of differentiation. *Journal of Investigative Dermatology*, 118(2), 275–281.
71. Loh, Y. P., Cheng, Y., Mahata, S. K., Corti, A. and Tota, B. 2012. Chromogranin A and derived peptides in health and disease. *Journal of Molecular Neuroscience*, 48(2), 347–356.
72. López-Bermejo, A., Chico-Julà, B., Castro, A., Recasens, M., Esteve, E., Biarnés, J., Casamitjana, R., Ricart, W. and Fernández-Real, J. M. 2007. Alpha defensins 1, 2, and 3: Potential roles in dyslipidemia and vascular dysfunction in humans. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 27(5), 1166–1171.
73. Lucero, D., Islam, P., Freeman, L. A., Jin, X., Pryor, M., Tang, J., Kruth, H. S. and Remaley, A. T. 2020. Interleukin 10 promotes macrophage uptake of HDL and LDL by stimulating fluid-phase endocytosis. *Biochimica et Biophysica Acta – Molecular and Cell Biology of Lipids*, 1865(2), 158537.

74. Lugin, J., Parapanov, R., Rosenblatt-Velin, N., Rignault-Clerc, S., Feihl, F., Waeber, B., Müller, O., Vergely, C., Zeller, M., Tardivel, A., Schneider, P., Pacher, P. and Liaudet, L. 2015. Interleukin-1 alpha is a crucial danger signal triggering acute myocardial inflammation during myocardial infarction. *The Journal of Immunology*, 194(2), 499–503.
75. Mabeta, P. 2013. Decreased secretion of vascular endothelial growth factor is associated with increased apoptosis in vascular tumor derived endothelial cells. *Journal of Physiology and Pharmacology*, 64(4), 473–477.
76. Mach, F., Baigent, C., Catapano, A. L., Koskinas, K. C., Casula, M., Badimon, L., Chapman, M. J., de Backer, G. G., Delgado, V., Ference, B. A., Graham, I. M., Halliday, A., Landmesser, U., Mihaylova, B., Pedersen, T. R., Riccardi, G., Richter, D. J., Sabatine, M. S., Taskinen, M. R., Patel, R. S. 2020. 2019 ESC/EAS Guidelines for the management of dyslipidaemias: Lipid modification to reduce cardiovascular risk. *European Heart Journal*, 41(1), 111–188.
77. Mahata, S. K. and Corti, A. 2019. Chromogranin a and its fragments in cardiovascular, immunometabolic, and cancer regulation. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1455(1), 34–58.
78. Martini, E., Kunderfranco, P., Peano, C., Carullo, P., Cremonesi, M., Schorn, T., Carriero, R., Termanini, A., Colombo, F. S., Jachetti, E., Panico, C., Faggian, G., Fumero, A., Torracca, L., Molgora, M., Cibella, J., Pagiatakis, C., Brummelman, J., Alvisi, G., Kallikourdis, M. 2019. Single-Cell Sequencing of Mouse Heart Immune Infiltrate in Pressure Overload-Driven Heart Failure Reveals Extent of Immune Activation. *Circulation*, 140(25), 2089–2107.
79. Matsuura, A., Yamochi, W., Hirata, K. I., Kawashima, S. and Yokoyama, M. 1998. Stimulatory interaction between vascular endothelial growth factor and endothelin-1 on each gene expression. *Hypertension*, 32(1), 89–95.
80. Mauro, A. G., Mezzaroma, E., Torrado, J., Kundur, P., Joshi, P., Stroud, K., Quaini, F., Lagrasta, C. A., Abbate, A. and Toldo, S. 2017. Reduction of Myocardial Ischemia-Reperfusion Injury by Inhibiting Interleukin-1 Alpha. *Journal of Cardiovascular Pharmacology*, 69(3), 156–160.
81. McKechnie, R. S. and Rubenfire, M. 2002. The role of inflammation and infection in coronary artery Disease: A clinical perspective. *ACC Current Journal Review*, 11(1), 32–34.
82. Meador, B. M., Krzyzstos, C. P., Johnson, R. W. and Huey, K. A. 2008. Effects of IL-10 and age on IL-6, IL-1 β , and TNF- α responses in mouse skeletal and cardiac muscle to an acute inflammatory insult. *Journal of Applied Physiology*, 104(4), 991–997.
83. Meyer, M., Lehnart, S., Pieske, B., Schlottauer, K., Munk, S., Holubarsch, C., Just, H. and Hasenfuss, G. 1996. Influence of endothelin 1 on human atrial myocardium – Myocardial function and subcellular pathways. *Basic Research in Cardiology*, 91(1), 86–93.

84. Milin, A. C., Vorobiof, G., Aksoy, O. and Ardehali, R. 2014. Insights Into Aortic Sclerosis and Its Relationship With Coronary Artery Disease. *Journal of the American Heart Association*, 3(5), 1–12.
85. Mitchell, G. A. 1953. The innervation of the heart. *British Heart Journal*, 15(2), 159–171.
86. Miyauchi, T. and Sakai, S. 2019. Endothelin and the heart in health and diseases. *Peptides*, 111(June 2018), 77–88.
87. Moraitis, A. G., Freeman, L. A., Shamburek, R. D., Wesley, R., Wilson, W., Grant, C. M., Price, S., Demosky, S., Thacker, S. G., Zarzour, A., Hornung, R. L., Pucino, F., Csako, G., Yarboro, C., McInnes, I. B., Kuroiwa, T., Boumpas, D., Rao, V. K., Illei, G. G. and Remaley, A. T. 2015. Elevated Interleukin-10: A New Cause of Dyslipidemia Leading to Severe HDL Deficiency. *J Clin Lipidol*, 9(1), 81–90.
88. Mraiche, F., Cena, J., Das, D. and Vollrath, B. 2005. Effects of statins on vascular function of endothelin-1. *British Journal of Pharmacology*, 144(5), 715–726.
89. Muntjewerff, E. M., Dunkel, G., Nicolassen, M. J. T., Mahata, S. K. and van den Bogaart, G. 2018. Catestatin as a target for treatment of inflammatory diseases. *Frontiers in Immunology*, 9, 1–10.
90. Nakagawa, Y., Nishikimi, T. and Kuwahara, K. 2019. Atrial and brain natriuretic peptides: Hormones secreted from the heart. *Peptides*, 111(February 2018), 18–25.
91. Namiki, A., Brogi, E., Kearney, M., Kim, E. A., Wu, T., Couffinhal, T., Varticovski, L. and Isner, J. M. 1995. Hypoxia induces vascular endothelial growth factor in cultured human endothelial cells. *Journal of Biological Chemistry*, 270(52), 31189–31195.
92. Negoescu, A., Lorimier, P., Labat-Moleur, F., Drouet, C., Robert, C., Guillermet, C., Brambilla, C. and Brambilla, E. 1996. In situ apoptotic cell labeling by the TUNEL method: Improvement and evaluation on cell preparations. *Journal of Histochemistry and Cytochemistry*, 44(9), 959–968.
93. Nguyen, B. L., Fishbein, M. C., Chen, L. S., Chen, P. S. and Masroor, S. 2009. Histopathological substrate for chronic atrial fibrillation in humans. *Heart Rhythm*, 6(4), 454–460.
94. O’Neil, D. A., Porter, E. M., Elewaut, D., Anderson, G. M., Eckmann, L., Ganz, T. and Kagnoff, M. F. 1999. Expression and regulation of the human beta-defensins hBD-1 and hBD-2 in intestinal epithelium. *Journal of Immunology* (Baltimore, Md. : 1950), 163(12), 6718–6724.
95. Patel, B., Bansal, S. S., Ismahil, M. A., Hamid, T., Rokosh, G., Mack, M. and Prabhu, S. D. 2018. CCR2+ Monocyte-Derived Infiltrating Macrophages Are Required for Adverse Cardiac Remodeling During Pressure Overload. *JACC: Basic to Translational Science*, 3(2), 230–244.
96. Pazgier, M., Hoover, D. M., Yang, D., Lu, W. and Lubkowski, J. 2006. Human β -defensins. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 63(11), 1294–1313.

97. Penna, C., Pasqua, T., Amelio, D., Perrelli, M. G., Angotti, C., Tullio, F., Mahata, S. K., Tota, B., Pagliaro, P., Cerra, M. C. and Angelone, T. 2014. Catestatin increases the expression of anti-apoptotic and pro-angiogenic factors in the post-ischemic hypertrophied heart of SHR. *PLoS ONE*, 9(8), 1– 11.
98. Pepys, M. B. and Hirschfield, G. M. 2003. C-reactive protein: a critical update. *Journal of Clinical Investigation*, 112(2), 299–299.
99. Persic, V., Bastiancic, A. L., Rosovic, I., Rajevic, D., Samsa, D. T., Bastiancic, L., Miskulin, R., Boban, M. and Laskarin, G. 2018. Correlation between immunological-inflammatory markers and endothelial dysfunction in the early stage of coronary heart disease. *Medical Hypotheses*, 115(April), 72– 76.
100. Piepoli, M. F., Hoes, A. W., Agewall, S., Albus, C., Brotons, C., Catapano, A. L., Cooney, M. T., Corrà, U., Cosyns, B., Deaton, C., Graham, I., Hall, M. S., Hobbs, F. D. R., Løchen, M. L., Löllgen, H., Marques-Vidal, P., Perk, J., Prescott, E., Redon, J., Gale, C. 2016. 2016 European Guidelines on cardiovascular disease prevention in clinical practice. *European Heart Journal*, 37(29), 2315–2381.
101. Pierri, H., Higuchi-Dos-Santos, M. H., Higuchi, M. D. L., Palomino, S., Sambiasi, N. V., Demarchi, L. M. M., Rodrigues, G. H. D. P., Nussbacher, A., Ramires, J. A. F. and Wajngarten, M. 2006. Density of Chlamydia pneumoniae is increased in fibrotic and calcified areas of degenerative aortic stenosis. *International Journal of Cardiology*, 108(1), 43–47.
102. Pilkington, S. M., Dearman, R. J., Kimber, I. and Griffiths, C. E. M. 2018. Langerhans cells express human β -defensin 3: relevance for immunity during skin ageing. *British Journal of Dermatology*, 179(5), 1170–1171.
103. Pilmane, M., Rumba, I., Sundler, F. L. A. 1998. Patterns of distribution and occurrence of neuroendocrine elements in lungs of humans with chronic lung diseases. *The Journal of Latvian Academy of Sciences*, 52, 144–152.
104. Ponikowski, P., Voors, A. A., Anker, S. D., Bueno, H., Cleland, J. G. F., Coats, A. J. S., Falk, V., González-Juanatey, J. R., Harjola, V. P., Jankowska, E. A., Jessup, M., Linde, C., Nihoyannopoulos, P., Parissis, J. T., Pieske, B., Riley, J. P., Rosano, G. M. C., Ruilope, L. M., Ruschitzka, F., Davies, C. 2016. 2016 ESC Guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure. *European Heart Journal*, 37(27), 2129–2200.
105. Rabinovitch, M., Guignabert, C., Humbert, M. and Nicolls, M. R. 2014. Inflammation and Immunity in the Pathogenesis of Pulmonary Arterial Hypertension. *Circ Res*, 115(1), 165–175.
106. Rajendran, P., Rengarajan, T., Thangavel, J., Nishigaki, Y., Sakthisekaran, D., Sethi, G. and Nishigaki, I. 2013. The vascular endothelium and human diseases. *International Journal of Biological Sciences*, 9(10), 1057–1069.
107. Ramakrishnan, S., Anand, V. and Roy, S. 2014. Vascular endothelial growth factor signaling in hypoxia and inflammation. *Journal of Neuroimmune Pharmacology*, 9(2), 142–160.

108. Rocca, C., Scavello, F., Colombo, B., Gasparri, A. M., Dallatomasina, A., Granieri, M. C., Amelio, D., Pasqua, T., Cerra, M. C., Tota, B., Corti, A. and Angelone, T. 2019. Physiological levels of chromogranin A prevent doxorubicin-induced cardiotoxicity without impairing its anticancer activity. *FASEB Journal*, 33(6), 7734–7747.
109. Rocha, N. P., Colpo, G. D., Bravo-Alegria, J., Lincoln, J. A., Wolinsky, J. S., Lindsey, J. W., Teixeira, A. L. and Freeman, L. 2019. Exploring the relationship between Endothelin-1 and peripheral inflammation in multiple sclerosis. *Journal of Neuroimmunology*, 326(August 2018), 45–48.
110. Roivainen, M., Viik-Kajander, M., Palosuo, T., Toivanen, P., Leinonen, M., Saikku, P., Tenkanen, L., Manninen, V., Hovi, T. and Maantaari, M. 2000. Infections, Inflammation, and the Risk of Coronary Heart Disease. *Circulation*, 101, 252–257.
111. Sabbagh, A. El and Nishimura, R. A. 2017. Clinical conundrum of coronary artery disease and aortic valve stenosis. *Journal of the American Heart Association*, 6(2), 1–3.
112. Saraiva, M., Vieira, P., O’Garra, A. and O’Garra, A. 2020. Biology and therapeutic potential of interleukin-10. *Journal of Experimental Medicine*, 217(1), 1–19.
113. Schumacher, S. M. and Prasad, S. V. N. 2018. Tumor Necrosis Factor- α in Heart Failure: an Updated Review. *Current Cardiology Reports*, 20(11), 1–20.
114. Scridon, A., Şerban, R. C. and Chevalier, P. 2018. Atrial fibrillation: Neurogenic or myogenic? *Archives of Cardiovascular Diseases*, 111(1), 59–69.
115. Shao, D., Park, J. E. S. and Wort, S. J. 2011. The role of endothelin-1 in the pathogenesis of pulmonary arterial hypertension. *Pharmacological Research*, 63(6), 504–511.
116. Shimony, A., Eisenberg, M. J., Rudski, L. G., Schlesinger, R., Afilalo, J., Joyal, D., Dragatakis, L., Hirsch, A., Boutet, K., Fox, B. D. and Langleben, D. 2011. Prevalence and impact of coronary artery disease in patients with pulmonary arterial hypertension. *American Journal of Cardiology*, 108(3), 460–464.
117. Shin, J. Y., Yoon, I. H., Kim, J. S., Kim, B. and Park, C. G. 2009. Vascular endothelial growth factor-induced chemotaxis and IL-10 from T cells. *Cellular Immunology*, 256(1–2), 72–78.
118. Shubin, A. V., Demidyuk, I. V., Komissarov, A. A., Rafieva, L. M. and Kostrov, S. V. 2016. Cytoplasmic vacuolization in cell death and survival. *Oncotarget*, 7(34), 55863–55889.
119. Singh, P. K., Jia, H. P., Wiles, K., Hesselberth, J., Liu, L., Conway, B. A. D., Greenberg, E. P., Valore, E. V., Welsh, M. J., Ganz, T., Tack, B. F. and McCray, P. B. 1998. Production of β -defensins by human airway epithelia. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 95(25), 14961–14966.

120. Singh, U., Devaraj, S., Dasu, M. R., Ciobanu, D., Reusch, J. and Jialal, I. 2006. C-Reactive protein decreases interleukin-10 secretion in activated human monocyte-derived macrophages via inhibition of cyclic AMP production. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 26(11), 2469–2475.
121. Skrule, J. 2018. *Potenciāli zaudētie mūža gadi Latvijā 2017. gadā*. Slimību profilakses un kontroles centrs.
122. Skvorak, J. P., Nazian, S. J. and Dietz, J. R. 1995. Endothelin acts as a paracrine regulator of stretch-induced atrial natriuretic peptide release. *Am J Physiol*, 269(5), 1093–1098.
123. Skvorak, J. P., Sutton, E. T., Rao, P. S. and Dietz, J. R. 1996. Therefore, we have concluded that the anoxia-induced ANP response is mediated by locally produced ET, which, in turn, stimulates the production of prostaglandins. Prostaglandins appear to be responsible for the increased ANP secretion rate. *Am J Physiol*, 271(1), 237–243.
124. Soini, Y., Paakko, P. and Lehto, V. P. 1998. Histopathological evaluation of apoptosis in cancer. *American Journal of Pathology*, 153(4), 1041–1053.
125. Štāle, M., Skrule, J. and Rožkalne, G. 2018. *Pārskats par Latvijas iedzīvotāju veselību 100 gadu periodā*. Slimību profilakses un kontroles centrs.
126. Stewart, B. F., Siscovick, D., Lind, B. K., Gardin, J. M., Gottdiener, J. S., Smith, V. E., Kitzman, D. W. and Otto, C. M. 1997. Clinical factors associated with calcific aortic valve disease. *Journal of the American College of Cardiology*, 29(3), 630–634.
127. Stumpf, C., Lehner, C., Yilmaz, A., Daniel, W. G. and Garlichs, C. D. 2003. Decrease of serum levels of the anti-inflammatory cytokine interleukin-10 in patients with advanced chronic heart failure. *Clinical Science*, 105(1), 45–50.
128. Szekely, Y. and Arbel, Y. 2018. A Review of Interleukin-1 in Heart Disease: Where Do We Stand Today? *Cardiology and Therapy*, 7(1), 25–44.
129. Takahashi, M. 2015. Role of Innate Immune System in Inflammation and Cardiac Remodeling After Myocardial Infarction. *Current Vascular Pharmacology*, 13(1), 20–25.
130. Thibodeau, J. T. and Drazner, M. H. 2018. The Role of the Clinical Examination in Patients With Heart Failure. *JACC: Heart Failure*, 6(7), 543–551.
131. Timmers, L., Sluijter, J. P. G., van Keulen, J. K., Hoefler, I. E., Nederhoff, M. G. J., Goumans, M. J., Doevendans, P. A., van Echteld, C. J. A., Joles, J. A., Quax, P. H., Piek, J. J., Pasterkamp, G. and de Kleijn, D. P. V. 2008. Toll-like receptor 4 mediates maladaptive left ventricular remodeling and impairs cardiac function after myocardial infarction. *Circulation Research*, 102(2), 257–264.
132. Travin, M. I. 2017. Current Clinical Applications and Next Steps for Cardiac Innervation Imaging. *Current Cardiology Reports*, 19(1), 28084596.

133. Turgeman, Y., Levahar, P., Lavi, I., Shneor, A., Colodner, R., Samra, Z., Bloch, L. and Rosenfeld, T. 2006. Adult calcific aortic stenosis and Chlamydia pneumoniae: The role of Chlamydia infection in valvular calcification. *Israel Medical Association Journal*, 8(7), 464–468.
134. Turner, N. A., Das, A., Warburton, P., O'Regan, D. J., Ball, S. G. and Porter, K. E. 2009. Interleukin-1 α stimulates proinflammatory cytokine expression in human cardiac myofibroblasts. *American Journal of Physiology – Heart and Circulatory Physiology*, 297(3), 1117–1127.
135. Van Haelst, P. L., Cohen Tervaert, J. W., Bijzet, J., Baljé-Volkers, C., May, J. F., Langeveld, B. and Gans, R. O. B. 2004. Circulating monocytes in patients with acute coronary syndromes lack sufficient interleukin-10 production after lipopolysaccharide stimulation. *Clinical and Experimental Immunology*, 138(2), 364–368.
136. Volpe, M., Carnovali, M. and Mastromarino, V. 2016. The natriuretic peptides system in the pathophysiology of heart failure: From molecular basis to treatment. *Clinical Science*, 130(2), 57–77.
137. Westphal, E., Chen, L., Pilowski, C., Koch, S., Ebelt, H., Müller-Werdan, U., Werdan, K. and Loppnow, H. 2007. Endotoxin-activated cultured neonatal rat cardiomyocytes express functional surface-associated interleukin-1 α . *Journal of Endotoxin Research*, 13(1), 25–34.
138. Wilkins, E., Wilson, L., Wickramasinghe, K., Bhatnagar, P., Leal, J., Luengo-Fernandez, R., Burns, R., Rayner, M. and Townsend, N. 2017. European Cardiovascular Disease Statistics 2017 edition. *European Heart Network*, Brussels, 192.
139. World Health Organization. 2017. Cardiovascular diseases (CVDs). *Key Facts What Are the Risk Factors for Cardiovascular Disease?*
140. Yanagi, S., Ashitani, J., Imai, K., Kyoraku, Y., Sano, A., Matsumoto, N. and Nakazato, M. 2007. Significance of human β -defensins in the epithelial lining fluid of patients with chronic lower respiratory tract infections. *Clinical Microbiology and Infection*, 13(1), 63–69.
141. Yang, Z., Zingarelli, B. and Szabó, C. 2000. Crucial role of endogenous interleukin-10 production in myocardial ischemia / reperfusion injury. *Circulation*, 101(9), 1019–1026.
142. Yu, D. S., Hsieh, D. S. and Chang, S. Y. 2003. Modulation of prostate carcinoma cell growth and apoptosis by chromogranin A. *Journal of Urology*, 170(5), 2031–2035.
143. Zarrouk-Mahjoub, S., Zaghdoudi, M., Amira, Z., Chebi, H., Khabouchi, N., Finsterer, J., Mechmeche, R. and Ghazouani, E. 2016. Pro- and anti-inflammatory cytokines in post-infarction left ventricular remodeling. *International Journal of Cardiology*, 221, 632–636.

144. Zhang, B., Bailey, W. M., Braun, K. J. and Gensel, J. C. 2015. Age decreases macrophage IL-10 expression: implications for functional recovery and tissue repair in spinal cord injury. *Exp Neurol*, 273, 83–91.
145. Zhang, D., Lavaux, T., Sapin, R., Lavigne, T., Castelain, V., Aunis, D., Metz-Boutigue, M. H. and Schneider, F. 2009. Serum concentration of chromogranin A at admission: An early biomarker of severity in critically ill patients. *Annals of Medicine*, 41(1), 38–44.
146. Ziegler, K. A., Ahles, A., Wille, T., Kerler, J., Ramanujam, D. and Engelhardt, S. 2018. Local sympathetic denervation attenuates myocardial inflammation and improves cardiac function after myocardial infarction in mice. *Cardiovascular Research*, 114(2), 291–299.

Pateicības

Vislielākā pateicība manai darba vadītājai *Dr. habil. med.* profesorei **Mārai Pilmanei** par iedrošinājumu, ārkārtīgi lielo atbalstu, ieguldīto laiku un vērtīgajiem padomiem visa pētniecības procesa un darba rakstīšanas gaitā.

Ļoti pateicos otram darba vadītājam *Dr. habil. med.* profesoram **Romanam Lācim** par atbalstu un padomiem studiju laikā.

Vēlos izteikt lielu pateicību Rīgas Stradiņa universitātes Anatomijas un antropoloģijas institūta Morfoloģijas laboratorijas laborantei **Natālijai Morozai** par ieguldīto darbu preparātu sagatavošanā. Paldies arī Anatomijas un antropoloģijas institūta inženieriem **Jānim Krievam** un **Pēterim Ronim** par palīdzību mikrofotogrāfiju sagatavošanā, Anatomijas un antropoloģijas institūta biroja vadītājām **Elitai Jakovickai** un **Daigai Enkuzenai**, RSU Ķirurģijas katedras sekretārei **Valentīnai Soboļevai** par sadarbības koordinēšanu, kā arī citiem RSU darbiniekiem par pozitīvo attieksmi un praktisko palīdzību studiju laikā.

Pateicos dr. **Emīlam Šmitiņam** par laipni atvēlēto iedzimto sirdskaišu audu materiālu.

No sirds pateicos *Dr. med.* asociētajam profesoram **Uldim Strazdiņam** par uzmundrinājumu, padomiem un praktisko atbalstu studiju procesā. Liels paldies Paula Stradiņa Klīniskās universitātes slimnīcas agrākās **16. nodaļas personālam** un **1. operāciju bloka operāciju māsām** par atsaucību un palīdzību pētījuma materiāla iegūšanā.

Pateicos **Rīgas Stradiņa universitātei** par iespēju studēt un **Doktorantūras nodaļai** par atsaucību un palīdzību studiju procesā. Pateicos arī mana promocijas darba **recenzentiem** par tā izvērtēšanu, sniegtajiem ieteikumiem, ieguldīto darbu un laiku.

Sirsnīgs paldies vīram **Robertam** un dēlam **Viesturam** par pacietību un sapratni, par atbalstu visā studiju un promocijas darba tapšanas gaitā, kā arī lūdzu piedošanu par atņemto kopā būšanas laiku.

Visbeidzot sirsnīgi pateicos visiem saviem draugiem un kolēģiem, īpaši **Ievai Grudzinskai-Elsbergai, Baibai Vernerei, Indrai Bojkovskai, Gitai Tauriņai, Andrim Finkam** un **Indrai Viļumsoni**, par psiholoģisko atbalstu un uzmundrinājumu.