

Augsta blīvuma lipoproteīna nozīme un saistība ar iekaisuma faktoriem un iegūtu aortas vārstuļa stenozi

Juris Lūriņš¹, Laura Veinberga², Dace Lūriņa³,
Pēteris Tretjakovs⁴, Vitolds Mackēvičs⁵

jl.cardio@gmail.com

¹ Rīgas Stradiņa universitātes doktorantūra, Latvija

² Rīgas Stradiņa universitāte, Medicīnas fakultāte, Latvija

³ Zemgales veselības centrs, Latvija

⁴ Rīgas Stradiņa universitāte, Cilvēka fizioloģijas un bioķīmijas katedra, Latvija

⁵ Rīgas Stradiņa universitāte, Iekšējīgo slimību katedra, Latvija

Kopsavilkums

Aortas vārstuļa (AoV) stenoze ir trešā biežākā kardiovaskulārā slimība. AoV stenoze ir aktīvs iekaisuma process ar līdzībām un atšķirībām no aterosklerozes procesa. Darba mērķis ir izpētīt augsta blīvuma lipoproteīna (ABL) nozīmi AoV stenozes attīstībā, saistību ar hemerīnu un fibroblastu augšanas faktoru-21 (FGF-21).

Kontroles grupā iekļauti 50 pacienti, stenozes grupā 18 pacienti ar vieglu, 19 ar vidēji smagu un 15 ar smagu stenozī. Ar ehokardiogrāfijas metodi stenozes pacienti iedalīti trīs stenozes pakāpes grupās, ņemot vērā maksimālo plūsmas ātrumu, vidējo spiediena gradientu, AoV atveres laukumu un indeksēto AVA (cm²/m²). C reaktīvo proteīnu (CRP) un ABL noteica ar klīnisko laboratoriju standarta metodi. Hemerīnu un FGF-21 noteica ar ELISA metodi. Datu apstrādei izmantoja programmu *Graphpad Prism 7*.

Iegūta ABL atšķirība starp kontroles grupu un pacientiem ar vieglu (p = 0,0014), vidēji smagu (p = 0,0002) un smagu stenozī (p = 0,017). ABL atšķiras sievietēm un vīriešiem kontroles (p = 0,0024) un stenozes grupā (p = 0,027), kā arī sievietēm kontroles un AoV stenozes grupās (p = 0,0003). Hemerīns kontroles grupai atšķiras no vieglas (p = 0,0001), vidēji smagas (p = 0,007), smagas stenozes (p = 0,042) pacientiem. Hemerīna līmenis vieglas stenozes grupā atšķiras no smagas stenozes (p < 0,05) grupas. Kontroles grupā FGF-21 atšķiras no FGF-21 vieglas (p = 0,013), vidēji smagas (p = 0,015) un smagas (p = 0,003) stenozes grupā. Pastāv vidēja negatīva korelācija starp ABL un ķermeņa masas indeksu (r_s = -0,47; p = 0,001).

Pētījumā ir novērota sakarība starp pazeminātu ABL līmeni un iespējamu aortas stenozes veidošanos. Individīdiem ar zemu ABL līmeni apsverama dislipidēmijas terapija, jo perspektīvā iespējams novērst vai aizkavēt stenozes veidošanos. Vēlama primārā profilakse ar mērķi normalizēt un paaugstināt ABL. Nav saistības starp dislipidēmiju un hemerīna vai FGF-21 līmeni. Hemerīna līmeņa samazināšanās, pieaugot AoV stenozes pakāpei, liecina, ka iekaisuma process prevalē slimības sākumā. FGF-21 pieaug, progresējot AoV stenozēi un, iespējams, liecina par tā aizsargājošo darbību šūnu bojājuma gadījumā, kā arī iespējamu pastiprinātu saistaudu veidošanos.

Atslēgvārdi: aortas vārstuļa stenoze, augsta blīvuma lipoproteīns (ABL), hemerīns, fibroblastu augšanas faktors-21 (FGF-21), biomarkieri.

Ievads

Aortas vārstuļa (AoV) stenoze ir viena no biežākajām vārstuļu slimībām. Tā ir trešā biežākā kardiovaskulārā slimība pēc arteriālās hipertensijas un koronārās sirds slimības. Tās aktualitāti uzsver pētījumos iegūtie dati. Aortas vārstuļa sklerozi konstatē 20–30 % pacientu pēc 65 gadu vecuma un 48 % pacientu pēc 85 gadu vecuma. Turklāt 2 % pacientu no pirmās un 4 % no otrās grupas skleroze progresē līdz kalcifikācijas procesam [5], kas samazina gan aortas vārstuļa diametru, gan elastīgumu. Šis pārmaiņas veicina kreisā kambara spiediena gradienta palielināšanos un miokarda hipertrofijas attīstīšanos, kas var rezultēties sirds mazspējā.

Šajā pētījumā tika analizēta augsta blīvuma lipoproteīna (ABL) loma un saistība ar nelipīdu riska faktoriem AoV stenozes attīstībā. Tika iekļauti tādi nelipīdu riska faktori kā hemerīns un fibroblastu augšanas faktors-21 (FGF-21).

ABL holesterīna nozīme kalcinozes procesos. ABL pieder vienai no piecām lipoproteīnu grupām. No visām grupām tie ir visblīvākie, jo satur visaugstāko lipīdu – proteīnu – proporciju. Tie ir veidoti no Apo-AI un Apo-AII daļiņām. Savukārt katru no tām veido 80–100 lipoproteīni, kuri tiek sintezēti hepatocītos.

ABL piedalās aterosklerozes patoģenēzē un arī kalcinozes procesos. Tā lokalizācija kalcificētos un osificētos aortas vārstuļos ir pierādīta histoloģiskajos materiālos. Tā akumulēšanos var novērot jau sākotnējos aterosklerozes posmos [11].

ABL darbojas kā pretiekaisuma faktori aterosklerozes patoģenēzē. To galvenā funkcija ir veicināt holesterīna izdalīšanos no artērijas sienīšas. ABL ir arī citas funkcijas, piemēram, novērst citokīnu inducēto adhēzijas molekulu ekspresiju endoteliocītos un veicināt slāpekļa oksīda (NO) produkciju [1].

Ir noskaidrots, ka ABL veicina arī nukleārā faktora kapa B (NFκB) ligandu receptoru aktivatora (RANKL) antagonista osteoproteģerīna (OPG) sekrēciju un samazina proinflammatorā tumora nekrozes faktora-alfa (TNF-α) mRNS ekspresiju aortas vārstuļa miofibrillās *in vitro*. Tā kā OPG kavē, bet TNF-α stimulē aortas vārstuļa kalcifikāciju, var secināt, ka ABL kavēs aortas vārstuļa stenozes attīstību [11]. Zems ABL līmenis serumā ir saistīts ar lielāku restenozes risku pacientiem ar koronāro sirds slimību [14].

Hemerīna un FGF-21 funkcija iekaisuma procesos. Hemerīns ir adipokīns, kura sekrēcija adipocītos ir palielināta hronisku iekaisumu gadījumā. Ir pierādīta pozitīva korelācija starp hemerīnu un iekaisuma faktoriem [10]. Tā sekrēciju stimulē tādi iekaisuma citokīni [14] kā TNF-α, IL-β un IL-6 [13]. Ir novērota arī pozitīva korelācija ar C reaktīvā proteīna (CRP) līmeni serumā [10].

Šie iekaisuma citokīni regulē arī hemerīna receptora CMKLR1 ekspresiju endoteliocītos [13]. Iekaisuma vietā hemerīns darbojas kā hemoatraktants makrofāģiem un dendritiskajām šūnām. Citu veikto pētījumu rezultāti liek domāt, ka hemerīna līmenim nav pozitīvas korelācijas ar slimības smaguma pakāpi, piemēram, ir pierādīts, ka hemerīns negatīvi korelē ar aknu cirozes smaguma pakāpi [7]. Ir skaidrs, ka hemerīnam ir nozīme iekaisuma procesā, regulējot makrofāģu darbību, kā arī ateroģenēzē, taču zinātnieki joprojām nav vienprātis, vai tā ir proinflammatora vai antiinflammatora aktivitāte [3; 8; 2].

Fibroblastu augšanas faktors (FGF-21) ir viens no FGF dzimtas proteīniem. Tā galvenā funkcija ir lipolīzes regulācija adipocītos [17]. FGF-21 galvenokārt tiek izdalīts no tādiem audiem kā aizkuņģa dziedzeris, aknas, brūnie taukaudi un aorta. Ir pierādīta arī TGF receptoru (FGFR) ekspresija endotēlijā un gludās muskulatūras šūnās; tam varētu būt fizioloģiska nozīme aterosklerozes aizkavēšanā, jo ir pierādīta FGF-21 spēja uzlabot endotēlijas funkcijas [6]. Kreisā kambara (KK) hipertrofija ir kompensatora atbilde AoV stenozes gadījumā. Pētījumos ar dzīvniekiem FGF-21 ir atgriezenisks efekts uz miokarda hipertrofiju [12].

Darba mērķis

Izpētīt ABL holesterīna nozīmi iegūtas aortas vārstuļa stenozes attīstībā, tā iespējamo saistību ar hemerīna un FGF-21 līmeni atkarībā no aortas vārstuļa stenozes smaguma pakāpes.

Materiāls un metodes

Pētījuma populācija. Klīniski analītiskais pētījums veikts ar Rīgas Stradiņa universitātes Ētikas komitejas atļauju. Pētījuma protokols atbilst 1975. gada Helsinku deklarācijas ētikas vadlīnijām. No 2013. gada līdz 2016. gadam tika veikta pacientu atlase dažādās Latvijas slimnīcās un ambulatorajās iestādēs. Pētījums tiek turpināts. 102 pacienti tika mērķtiecīgi atlasīti pēc iekļaušanas un izslēgšanas kritērijiem un iedalīti divās pamatgrupās: kontroles grupā un AoV stenozes grupā. Kontroles grupā tika iekļauti pacienti bez AoV stenozes vecumā no 50 līdz 80 gadiem, kas atbilst AoV stenozes pacientu vidējam vecumam pēc Eiropas Kardiologu biedrības 2012. gada sirds vārstuļu slimību ārstēšanas vadlīnijām [15]. No katra pētījumā iekļautā pacienta tika iegūta rakstiska piekrišana dalībai pētījumā. Kontroles grupā tika iekļauti pacienti ar ehokardiogrāfijā apstiprinātu veselu AoV, visiem kontroles grupas pacientiem ehokardiogrāfijas laikā netika konstatēta cita veida sirds patoloģija. Izslēgšanas kritēriji abās grupās bija sistēmiskas saistaudu slimības, infekcijas slimības, onkoloģiskas slimības, koronārā sirds slimība, arteriālā hipertensija, galvas smadzeņu infarkts, pārejoša išēmiska lēkme, vairogdziedzera disfunkcija un diabēts, kā arī aptaukošanās. Kontroles grupā tika iekļauti pacienti, kuri iepriekš nebija lietojuši statīnu un fibrātu grupas medikamentus un kuriem netika konstatēta dislipidēmija. Izslēgšanas kritēriji AoV stenozes grupā bija iedzimta AoV stenozes un reimatisks AoV stenozes.

Aortas vārstuļa stenozes pakāpes izvērtēšana. Visiem pētījumā iekļautajiem pacientiem veikta ehokardiogrāfija ar datu arhivāciju, izmantojot iekārtas *GE VIVID 7 Dimension* un *Philips IE 33*. Katru ehokardiogrāfijas izmeklējumu izvērtēja divi speciālisti. Pacienti ar AoV stenozī tika iedalīti trīs grupās (1. tabula) atkarībā no stenozes pakāpes, ņemot vērā maksimālo plūsmas ātrumu – V maks. (m/s), vidējo spiediena gradientu – PG vid. (mm/Hg), AoV atveres laukumu – AVA (cm²) un indeksēto AVA (cm²/m²). Smagas AoV stenozes raksturlielumi bija: V maks > 4,0 m/s, PG vid. > 40 mm/Hg, AVA < 1,0 cm², indeksētā AVA < 0,6 cm²/m²; vidējas: V maks 3,0–4,0 m/s, PG vid. 20–40 mm/Hg, AVA 1,0–1,5 cm², indeksētā AVA 0,60–0,85 cm²/m²; vieglas: V maks 2,5–2,9 m/s, PG vid. < 20 mm/Hg, AVA > 1,5 cm², indeksētā AVA > 0,85 cm²/m².

Bioķīmiskās analīzes. Pētījumā iekļautajiem pacientiem tika paņemti venozo asiņu paraugi un izgatavots serums. Seruma paraugi tika sagatavoti 102 pacientiem un uzglabāti –80 °C temperatūrā. Kopējais holesterīns (KH) un tā frakcijas, glikoze plazmā, fibrinogēns un CRP tika noteikti P. Stradiņa Klīniskās universitātes slimnīcas laboratorijā, pārējās analīzes – iekaisuma un neiekaisuma bioķīmisko marķieru – brīvo taukskābju, CRP, hemerīna un FGF-21 – noteikšana tika veikta Rīgas Stradiņa universitātes Fizioloģijas un bioķīmijas laboratorijā. Bioķīmiskie rādītāji tika noteikti, izmantojot klīnisko laboratoriju standarta metodes: CRP (izmantots *ROSHE* analizators *Cobas Integra 400 Plus* imūnturbidimetrijas metode), holesterīns (*Siemens ADVIA 1800*; KH – fermentatīvs tests + CHOD/PAP; triglicerīdi – fermentatīva reakcija; ABL – tiešā fermentatīvā reakcija; zema blīvuma lipoproteīns (ZBL) – tiešā metode), fibrinogēns – Klausas metodes modifikācija. Hs-CRP serumā tika analizēts, izmantojot *xMAP* tehnoloģiju (*Luminex TM 200*, Austin, Texas) un atbilstošo analīžu komplektu (*Milliplex MAP Kit*, *HCVD3MAG-67K*, ASV).

Hemerīns un FGF-21 tika noteikts, izmantojot ELISA metodi, lietojot *Human Chemerin ELISA kit*, *EZHCMRN-57K*, ražotājs *EMD Millipore* un *Human FGF-21 ELISA kit*, *EZHFGF21-19K* analīžu komplektu, ražotājs *EMD Millipore*. Rezultāti tika nolasīti, izmantojot *TECAN Infinite 200 PRO* iekārtu. Procedūras tika veiktas atbilstoši ražotāja norādījumiem.

Datu statistiskā apstrāde. Statistiskajai datu apstrādei tika izmantotas programmas: *Microsoft Office Excel*, *IBM SPSS Statistics (Statistical Package for the Social Sciences)* un *Graphpad Prism 7.0 (GraphPad Software, San Diego, California, ASV)*. Tika analizēti bioķīmisko rādītāju vidējie lielumi starp dažādām grupām, izmantojot viena faktora dispersijas analīzi (ANOVA). Ar Brauna–Forsaita (*Brown–Forsythe*) un Bartleta (*Bartlett's*) testu palīdzību tika analizēts datu normālsadalījums. Parametriskie dati tika analizēti, izmantojot viena faktora dispersijas analīzi (ANOVA), bet neparametrisko datu mediānu salīdzināšanai starp dažādām grupām tika izmantota neparametriskā viena faktora dispersijas analīze (ANOVA) vai Kruskala–Vollisa (*Kruskal–Wallis*) rangu dispersijas analīze. Kā *post hoc* analīze visos gadījumos tika lietota divu posmu lineārā pastiprinātā *Benjamini–Krieger–Yekutieli* metode, lai izvērtētu un atrastu

statistiski ticamas atšķirības starp pētījuma grupām. Attēlojot pētījuma pacientu grupas raksturojošos pamatdatus (1. tabula), parametriskie dati ir raksturoti ar vidējo (M) un standartnovirzi (\pm SD), bet neparametriskie dati ar mediānu un starpkvartiļu intervālu (IQR). Datu, kas pēc sava sadalījuma vairāk atbilda logaritmiskajam sadalījumam, rezultātu attēlošanai tika izmantots ģeometriskais vidējais un ģeometriskā standartnovirze. Ticamības koeficients $p < 0,05$ tika uzskatīts par statistiski nozīmīgu.

Spīrmena (*Spearman*) neparametriskā korelāciju analīzes metode tika izmantota, lai pētītu sakarības starp kvantitatīviem lielumiem neatkarīgi no to sadalījuma. Nosacīti ir pieņemta šāda korelācijas ciešuma klasifikācija atkarībā no korelācijas koeficienta r_s lieluma:

- $r_s \leq 0,19$ – ļoti vāja korelācija;
- $0,20 < r_s < 0,39$ – vāja korelācija;
- $0,40 < r_s < 0,59$ – vidēja korelācija;
- $0,60 < r_s < 0,79$ – cieša korelācija;
- $0,80 < r_s < 1,0$ – ļoti cieša korelācija.

Rezultāti

Pacientu raksturojums. Pacientu grupu pamatrādītāji attēloti 1. tabulā. Pētījumā tika iekļauti 102 pacienti, tos nodalot kontroles grupā un trijās AoV stenozes smaguma pakāpes grupās: 18 pacienti ar vieglu, 19 pacienti ar vidēji smagu un 15 pacienti ar smagu AoV stenozī. Kontroles grupā tika iekļauti 50 pacienti. Vidējais pacientu vecums kontroles grupā un AoV stenozes grupās bija līdzīgs un statistiski ticami neatšķirās. Triglicerīdu un ZBL vidējie lielumi starp kontroles grupu un stenozes grupām statistiski ticami neatšķirās. Ķermeņa masas indeksa (ĶMI) vidējais lielums statistiski ticami neatšķirās un bija līdzīgs visās grupās.

1. tabula. Pētījuma pacientu raksturojums

Patient characteristics

Pamatrādītāji	Kontrolgrupa (n = 50)	Viegla AoV stenozē (n = 18)	Vidēja AoV stenozē (n = 19)	Smaga AoV stenozē (n = 15)
Dzimums, n (%)				
Vīrieši	11 (22,0)	2 (11,1)	8 (42,1)	7 (46,7)
Sievietes	39 (78,0)	16 (88,9)	11 (57,9)	8 (53,3)
Vecums, M (\pm SD) p vērtība pret kontrolgrupu	65,18 (9,74)	70,53 (6,08) p = 0,127	72,16 (8,20) p = 0,012	65,27 (8,13) p > 0,999
^a ĶMI, M (\pm SD) p vērtība pret kontrolgrupu	26,04 (4,31)	27,39 (3,10) p = 0,399	25,81 (4,58) p = 0,682	27,40 (3,18) p = 0,869
^b ZBL, mmol/l, M (\pm SD) p vērtība pret kontrolgrupu	3,28 (1,18)	3,05 (0,97) p > 0,999	2,59 (0,92) p = 0,057	3,10 (1,12) p > 0,999
Triglicerīdi, mmol/l, M (\pm SD) p vērtība pret kontrolgrupu	1,47 (0,71)	1,64 (0,84) p = 0,406	1,11 (0,56) p = 0,178	1,27 (0,57) p = 0,406
Kopējais holesterīns, mmol/l, M (\pm SD) p vērtība pret kontrolgrupu	5,49 (1,28)	5,01 (1,34) p = 0,056	4,21 (1,18) p = 0,001	4,68 (1,08) p = 0,016
^c SV, ml, M (\pm SD) p vērtība pret kontrolgrupu	81,86 (20,11)	73,63 (18,92) p = 0,299	77,72 (18,65) p = 0,501	75,93 (15,49) p = 0,501
^d EF %, M (\pm SD) p vērtība pret kontrolgrupu	62,22 (6,35)	57,16 (9,23) p = 0,014	61,78 (8,23) p = 0,291	56,13 (7,84) p = 0,007

^a ĶMI ir aprēķināts pēc formulas: svars (kg) / (augums (m))².

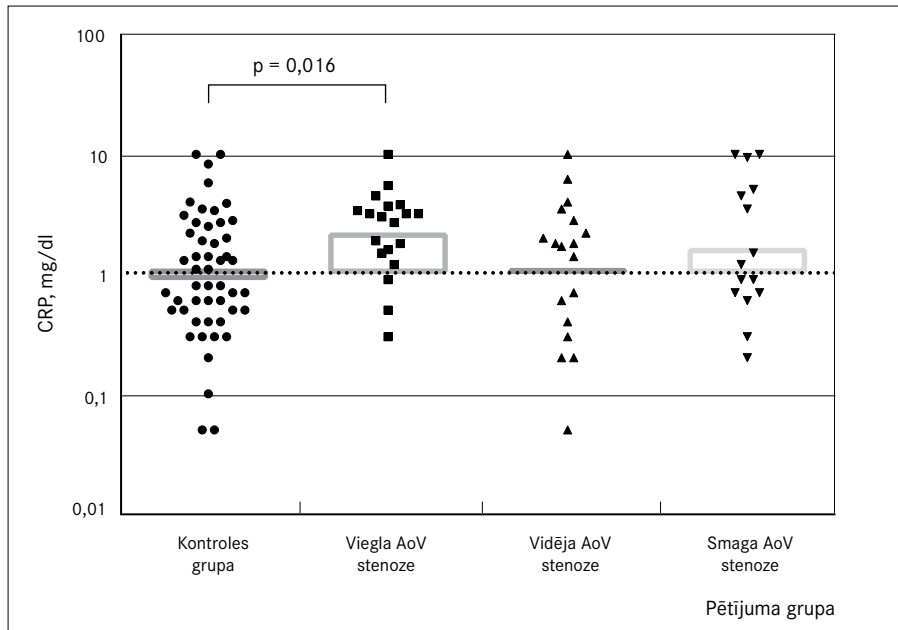
^b ZBL – zema blīvuma lipoproteīnu holesterīns.

^c SV – izsviedes tilpums; mērīts, izmantojot kreisā kambara izplūdes trakta metodi.

^d EF – izsviedes frakcija; mērīta, izmantojot Simpsona metodi.

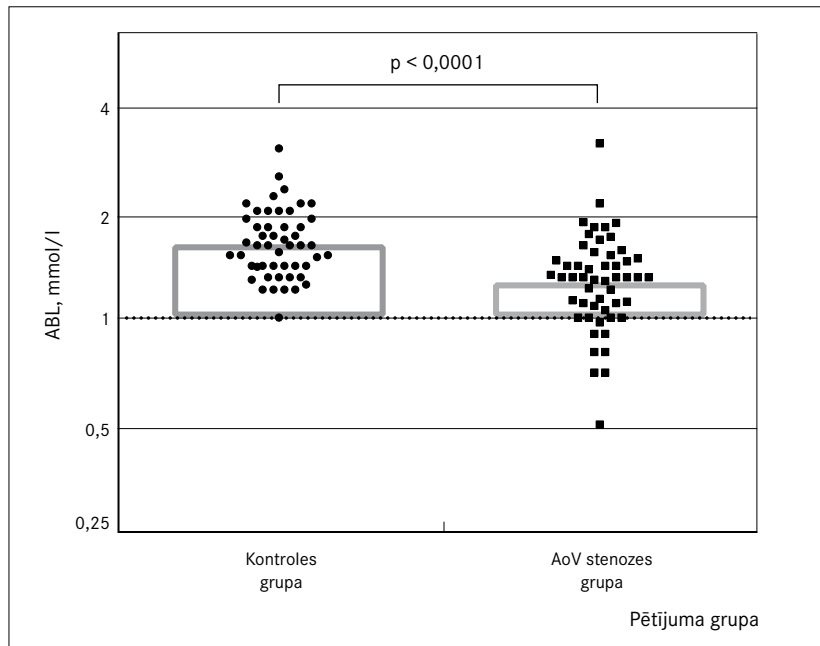
Analizējot CRP vērtības starp pētījuma grupām ar *post hoc* metodi (1. attēls), tika iegūta statistiski ticama atšķirība starp kontroles grupu un vieglas stenozes grupu ($p = 0,016$). Vieglas stenozes grupā CRP līmenis ir paaugstināts, salīdzinot ar kontroles grupu un pārējām AoV stenozes grupām.

1. attēls. C reaktīvā proteīna līmenis kontroles grupā un saistībā ar aortas vārstuļa (AoV) stenozes pakāpi
C-reactive protein levels in the control group and in relation to the degree of aortic valve (AoV) stenosis

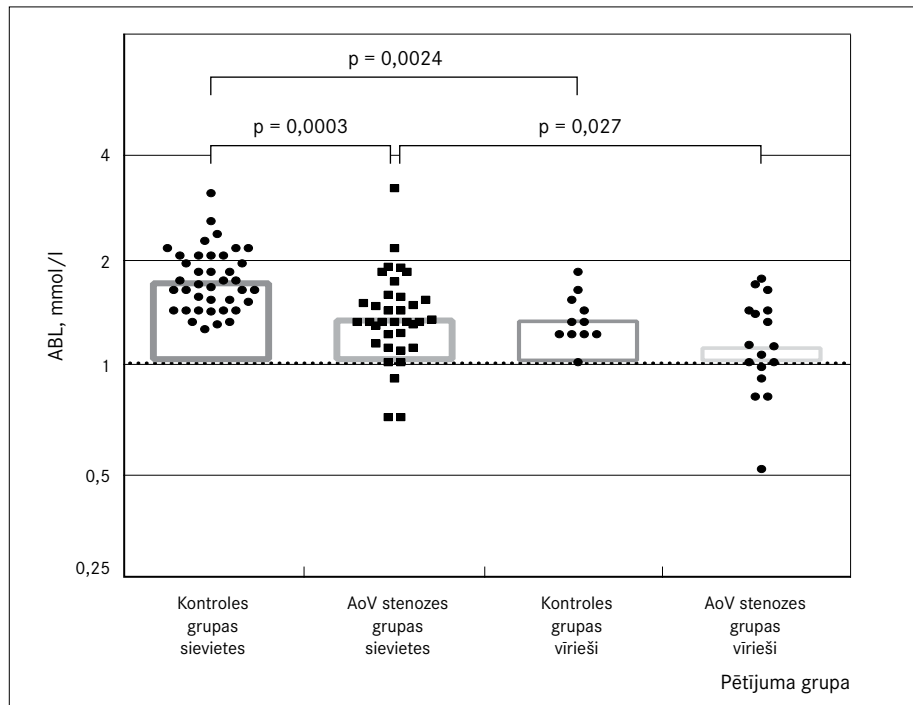


ABL līmeņa atšķirības starp pētījuma grupām (ABL kastveida diagrammas sk. 2. attēlā). Vidējās ABL vērtības statistiski ticami atšķirās starp kontroles grupu un AoV stenozes grupu (ANOVA, $p < 0,0001$, 2. attēls). Tika veikta papildu analīze, lai izvērtētu ABL līmeņa iespējamās atšķirības vīriešiem un sievietēm kontroles grupai un AoV stenozes grupai (3. attēls). Iegūtie rezultāti liecina par ABL līmeņa statistiski ticamu atšķirību starp sievietēm un vīriešiem kontroles grupā ($p = 0,0024$) un aortas stenozes grupā ($p = 0,027$). ABL līmenis statistiski ticami atšķirās arī starp sievietēm kontroles un AoV stenozes grupā ($p = 0,0003$). Lai noteiktu precīzi, starp kurām grupām ABL vērtības ir atšķirīgas, tika lietota *post hoc* analīze, izmantojot divu posmu lineāro pastiprināto *Benjamini-Krieger-Yekutieli* metodi (4. attēls). Rezultātā tika konstatēta ABL līmeņa statistiski ticama atšķirība starp kontroles grupu un vieglas stenozes ($p = 0,0014$), vidēji smagas stenozes ($p = 0,0002$) un smagas stenozes grupu ($p = 0,017$). Starp stenozes grupām savā starpā statistiski ticamas atšķirības netika iegūtas ($p > 0,05$). Rezultāti liecina, ka, salīdzinot ar kontroles grupu, ABL līmenis ir samazināts visās trijās aortas stenozes pakāpes grupās. Tika konstatēts, ka ABL līmenis pētījuma grupas sievietēm un vīriešiem atšķiras. Raksturīgi, ka gan kontroles grupā, gan stenozes grupā ABL līmenis sievietēm ir augstāks nekā vīriešiem. Rezultāti pierādīja, ka, salīdzinot ar aortas stenozes grupu, ABL līmenis ir augstāks kontroles grupas pacientiem – gan sievietēm, gan vīriešiem.

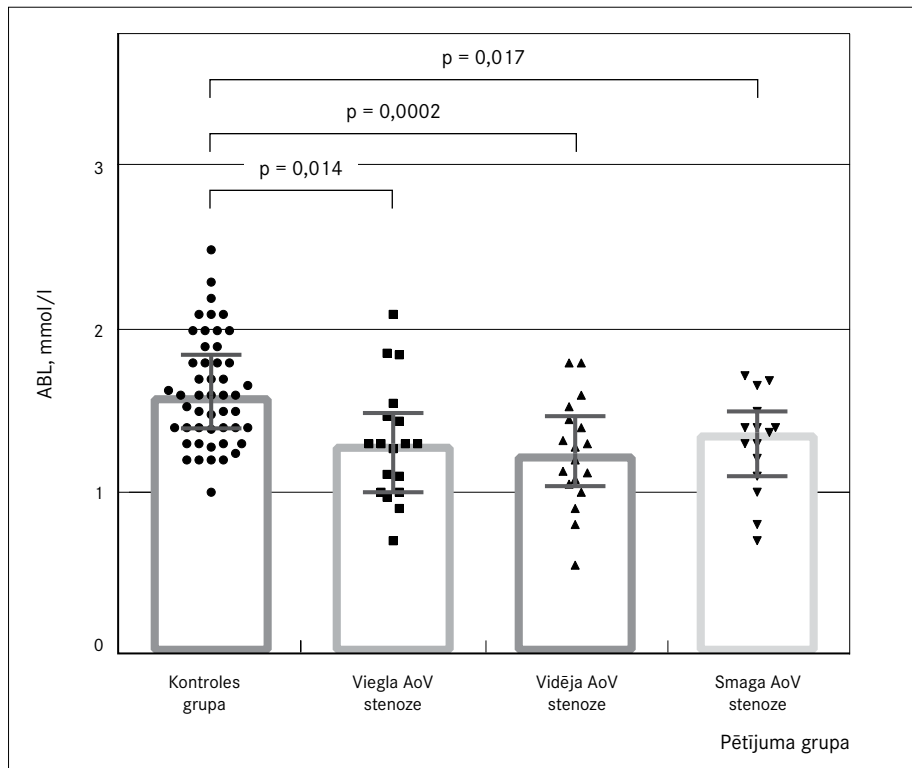
2. attēls. ABL līmenis kontroles grupai un aortas vārstuļa (AoV) stenozes grupai
 HDL level in the control group and aortic valve (AoV) stenosis group



3. attēls. ABL līmenis starp pētījuma grupām sievietēm un vīriešiem
 HDL levels between the study groups for women and men



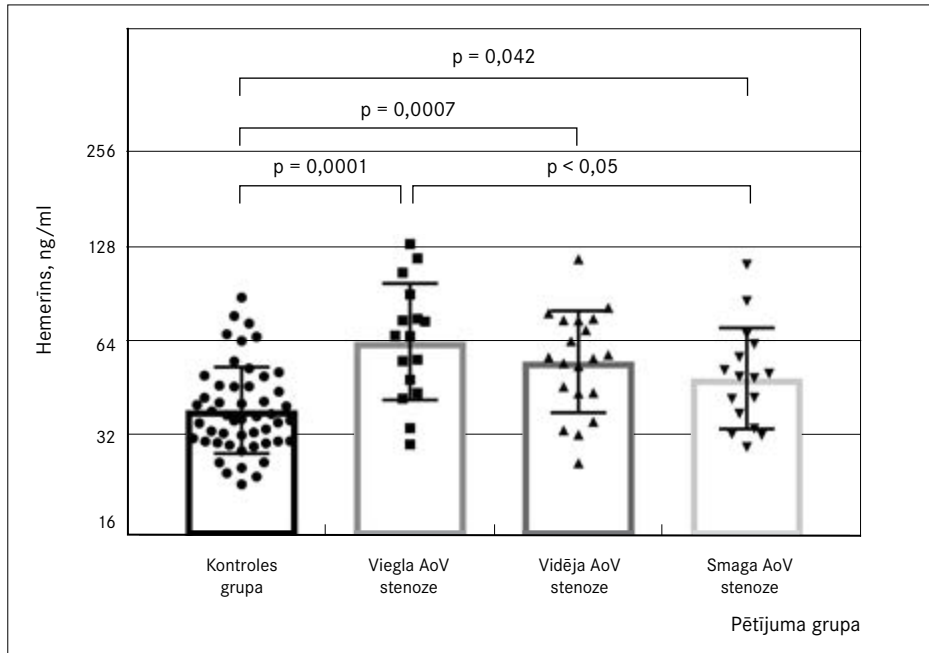
4. attēls. ABL līmenis kontrolēs grupā un saistībā ar aortas vārstuļa (AoV) stenozes pakāpi
HDL levels in the control group and in relation to the degree of aortic valve (AoV) stenosis



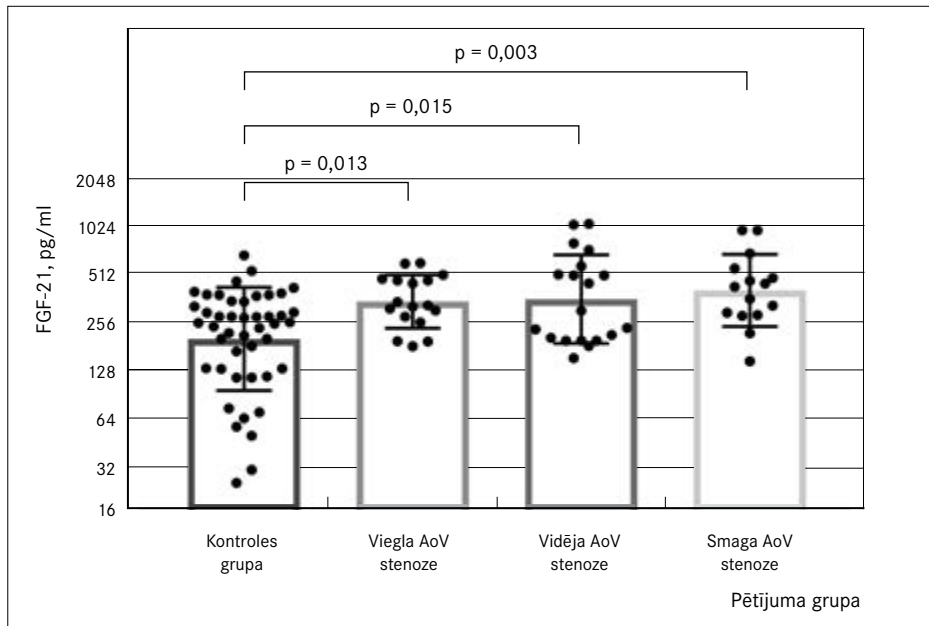
Hemerīna un FGF-21 līmeņa atšķirības starp pētījuma grupām (kastveida diagrammas kontrolēs grupai un AoV stenozes grupām sk. 5. un 6. attēlā). Vidējās hemerīna vērtības starp pētījuma grupām statistiski nozīmīgi atšķiras (ANOVA, $p < 0,001$), arī FGF-21 vidējās vērtības pētījuma grupās statistiski nozīmīgi atšķiras (ANOVA, $p < 0,0013$). Lai precīzi noteiktu, starp kurām grupām hemerīna un FGF-21 vērtības ir atšķirīgas, tika lietota *post hoc* analīze, izmantojot divu posmu lineāro pastiprināto *Benjamini-Krieger-Yekutieli* metodi. Rezultāti (5. attēlā) liecina, ka hemerīna līmenim kontrolēs grupā ir statistiski ticama atšķirība no vieglas stenozes grupas ($p = 0,0001$), no vidēji smagas stenozes grupas ($p = 0,0007$), no smagas stenozes grupas ($p = 0,042$). Hemerīna līmenis vieglas stenozes grupā statistiski ticami atšķiras no smagas stenozes grupas ($p < 0,05$). Starp vidēji smagas un smagas stenozes grupām hemerīna līmenis statistiski ticami neatšķiras ($p > 0,05$).

FGF-21 *post hoc* analīze parādīja, ka kontrolēs grupā FGF-21 līmenis statistiski ticami atšķiras no FGF-21 līmeņa vieglas ($p = 0,013$), vidēji smagas ($p = 0,015$) un smagas AoV stenozes ($p = 0,003$) grupas (6. attēls), bet starp AoV stenozes smaguma pakāpēm FGF-21 seruma līmenis statistiski ticami neatšķiras. Hemerīna līmenis ir paaugstināts visās trijās AoV stenozes grupās. Izmantojot lineārās regresijas metodi, tika konstatēts, ka statistiski ticami visaugstākais hemerīna līmenis ir vieglas stenozes pacientiem un tas samazinās līdz ar AoV stenozes pakāpi, salīdzinot ar kontrolēs grupu ($p = 0,047$), skatīt 5. un 7. attēlu. FGF-21 līmenis serumā ir paaugstināts visās AoV stenozes grupās, salīdzinot ar kontrolēs grupu. Novēro tendenci, ka FGF-21 līmenis pieaug līdz ar stenozes pakāpi, visaugstāko līmeni sasniedzot smagas stenozes gadījumā (6. attēls). Izmantojot lineārās regresijas metodi, statistiskā ticamība starp aortas stenozes grupām netika iegūta, bet ir novērojama FGF-21 līmeņa pieauguma tendence (8. attēls).

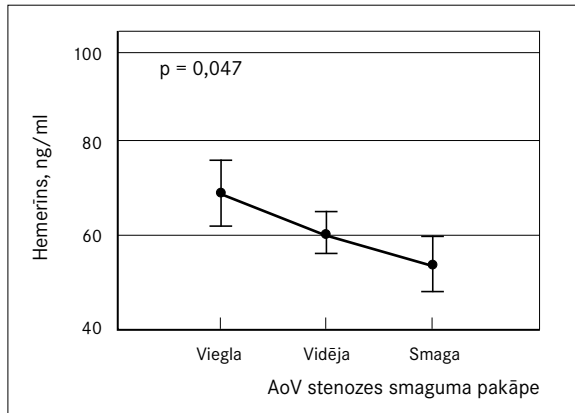
5. attēls. Hemerīna līmenis pētījuma kontrolēs grupā un saistībā ar aortas vārstuļa (AoV) stenozes pakāpi
Chemerin levels in the study control group and in relation to the degree of aortic valve (AoV) stenosis



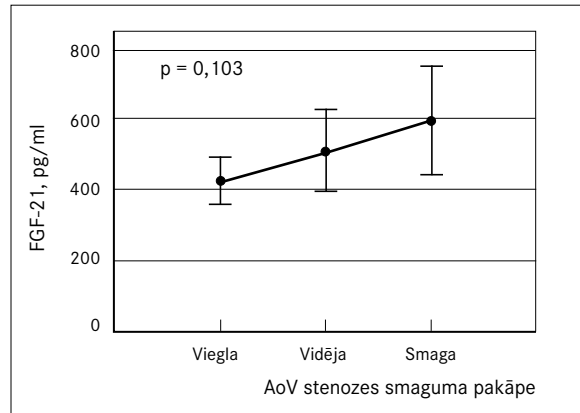
6. attēls. FGF-21 līmenis kontrolēs grupā un saistībā ar aortas vārstuļa (AoV) stenozes pakāpi
FGF-21 levels in the control group and in relation to the degree of aortic valve (AoV) stenosis



7. attēls. Hemerīna līmeņa korelācijas analīze, izmantojot lineārās regresijas metodi, starp aortas vārstuļa (AoV) stenozes pakāpēm
Chemerin level correlation analysis of the aortic valve (AoV) stenosis degrees using regression curve



8. attēls. FGF-21 līmeņa korelācijas analīze, izmantojot lineārās regresijas metodi, starp aortas vārstuļa (AoV) stenozes pakāpēm
FGF-21 level correlation analysis of the aortic valve (AoV) stenosis degrees using regression curve



ABL saistība ar CRO, hemerīnu un FGF-21. Tika atklāts, ka pastāv vidēja, negatīva un statistiski ticama korelācija starp ABL līmeni un ķermeņa masas indeksu ($r_s = -0,47$; $p = 0,001$). Tika konstatēts, ka CRO līmenis ļoti cieši un statistiski ticami korelē ar hs-CRO (augsti jutīgu CRO) līmeni ($r_s = 0,912$; $p = 0,001$). Mūsu pētījumā netika konstatēta statistiski ticama korelācija starp ABL un CRO, hemerīna un FGF-21, kā arī ZBL un triglicerīdu līmeni.

Diskusija un secinājumi

Analizējot iegūtos datus un pētot iespējamus nelipīdu biomarķierus pacientiem ar iegūtu AoV stenozi, ir novērota statistiski ticama ($p < 0,0001$) saistība starp ABL līmeni kontroles grupas indivīdiem un pacientiem ar AoV stenozi. Kontroles grupas indivīdiem ABL līmenis ir augstāks un gandrīz visiem pārsniedz 1,2 mmol/l robežu, turpretim pacientiem ar AoV stenozi ABL līmenis ir zemāks, turklāt starp stenozes pakāpēm tas statistiski ticami neatšķiras. Iegūtās saistības starp kontroles grupas indivīdiem un AoV stenozes pacientiem parāda iespējamu sakarību starp pazeminātu ABL līmeni (atbilstoši vadlīnijās noteiktajiem lielumiem) un iespējamu aortas stenozes veidošanos. Tā kā dislipidēmija (t. sk. pazemināts ABL līmenis) ir ietekmējams kardiovaskulārā riska faktors, indivīdiem ar zemu ABL līmeni ir apsverama dislipidēmijas terapija, jo perspektīvā ir iespējams novērst vai aizkavēt aortas stenozes veidošanos. Šie pieņēmumi balstās uz to, ka ABL piedalās aterosklerozes patoģenēzē un kalcinozes procesos. ABL lokalizācija kalcificētos un osificētos AoV ir pierādīta histoloģiskajos materiālos [11].

Tā kā ABL līmenis starp stenozes pakāpēm neatšķiras, tad pacientiem ar iegūtu AoV stenozi dislipidēmijas terapija jau diagnosticēta AoV bojājuma gadījumā iespaidu uz slimības gaitu neatstās. To apstiprina arī *ASTRONOMER* pētījuma dati, kurā ir secināts, ka terapija ar rosuvastatīnu nemazina vieglas un vidējas AoV stenozes progresēšanu [4], tātad sekundāra profilakse ar statīniem, runājot par AoV stenozi, nesniedz gaidāmo efektu. Iespējama un vēlama ir eventuāla primārā profilakse ar mērķi normalizēt un paaugstināt ABL līmeni.

Šajā darbā ir analizēta ABL saistība ar hemerīnu un FGF-21. Hemerīns pētīts kā iekaisuma marķieris, bet FGF-21 kā faktors, kuram varētu būt aizsargājoša iedarbība uz sirds šūnām to bojājuma gadījumā, jo ir pierādīta FGF-21 izdala no sirds endotēlija šūnām *in vitro* žurkām, kā arī FGF-21 spēja uzlabot endotēlija funkciju, kavēt tā apoptozi un novērst oksidatīvo stresu. FGF-21 varētu būt bioloģisks marķieris endotēlija šūnu stresam un bojājumam, un tam varētu būt arī fizioloģiska loma endotēlija funkcijas uzlabošanā [6].

FGF-21 ir nozīme arī saistaudu veidošanās procesā [16]. Šajā darbā nav iegūtas statistiski ticamas saistības starp ABL un hemerīnu un starp ABL un FGF-21, tātad nav saistības starp dislipidēmiju un minētajiem iekaisuma marķieriem. Analizējot hemerīna līmeni kontroles grupas indivīdiem un pacientiem ar AoV stenozī, ir iegūti dati, kas parāda, ka statistiski ticami ($p < 0,001$) hemerīns ir augstāks AoV stenozes pacientu grupā.

Tālāk analizējot hemerīna korelāciju pa AoV stenozes pakāpēm, ir iegūta statistiski ticama saistība (5. un 7. attēls) starp augstāku hemerīna līmeni vieglas AoV stenozes grupā un progresīvu samazināšanos, pieaugot stenozes pakāpei. Kontroles grupas indivīdiem hemerīna līmenis ir statistiski ticami zemāks nekā smagas stenozes grupas pacientiem. Tā kā hemerīns ir iekaisuma rādītājs, tā samazināšanās, progresējot AoV stenozī, liecina, ka slimības sākumā prevalē iekaisuma process, bet vēlāk, domājams, – kalcinoze. To, ka AoV stenozes sākumā dominē iekaisuma process, papildina arī dati par CRP – tas statistiski ticami ir augstāks vieglas stenozes grupas pacientiem (1. attēls). Analizējot FGF-21 līmeni kontroles grupas indivīdiem un AoV stenozes pacientiem, FGF-21 statistiski ticami augstāks ir AoV stenozes grupā, bet, analizējot tā korelāciju ar stenozes pakāpēm, tas statistiski ticami pieaug un ir augstāks smagas stenozes grupas pacientiem. Tā kā FGF-21 ir faktors, kas darbojas pret iekaisumu, tika sagaidīts, ka tā līmenis augstāks būs vieglas stenozes grupā un, līdzīgi hemerīnam, samazināsies, pieaugot stenozes pakāpei. Ņemot vērā FGF-21 neviennozīmīgo un multifaktoriālo darbību un saikni ar saistaudu veidošanos, var pieņemt, ka, iespējams, FGF-21 pieaug, progresējot AoV stenozes pakāpei un liecina par pastiprinātu saistaudu veidošanos. Skaidrību FGF-21 darbībā AoV stenozes pacientiem varētu ieviest to faktoru noteikšana, kas atbild par iekaisuma procesu un ir tieši atkarīgi no FGF-21 darbības (piemēram, IL-6 un TNF- α).



Role of High-density Lipoprotein Cholesterol and Relation to Inflammatory Factors and Acquired Aortic Valve Stenosis

Abstract

Aortic valve (AoV) stenosis is the third common cardiovascular disease. It is an active inflammatory process which has both similarities and differences to an atherosclerotic inflammation.

The aim of the study was to explore the role of high-density lipoprotein cholesterol (HDL) in development of AoV stenosis, its relation with chemerin and fibroblast growth factor-21 (FGF-21).

The control group included 50 patients. Stenosis group were subdivided into three groups according to the echocardiography criteria (aortic jet velocity, mean pressure gradient, aortic valve area, indexed AVA): mild – 18, moderate – 19 and severe – 15 patients. Chemerin and FGF-21 was detected by ELISA, but CRP and HDL by a standard method used in clinical laboratory. GraphPad Prism 7 was used for statistical analysis.

There was a difference between HDL and mild ($p = 0.0014$), moderate ($p = 0.0002$) and severe stenosis ($p = 0.017$). HDL is different between females and males in control ($p = 0.0024$) and stenosis group ($p = 0.027$) and between females in control and stenosis group ($p = 0.0003$). Chemerin in control group differs from mild ($p = 0.0001$), moderate ($p = 0.007$) and severe stenosis ($p = 0.042$). Chemerin in mild stenosis differs from severe ($p < 0.05$). FGF-21 in the control group differs from mild ($p = 0.013$), moderate ($p = 0.015$) and severe stenosis ($p = 0.003$). There is a moderate, negative correlation between HDL and body mass index ($r_s = -0.47$; $p = 0.001$).

There is a relation between decreased HDL and potential formation of aortic stenosis. Individuals with reduced HDL are considered to be administrated for a dyslipidemia therapy, as it is possible to prevent the formation of stenosis. Primary prophylaxis is suggested to normalise and elevate HDL. There is no correlation between dyslipidemia and chemerin, FGF-21. Decreased level of chemerin indicates that inflammatory

process prevails at the beginning of the disease. As AoV stenosis progresses, FGF-21 increases, that may indicate about FGF-21's protective effects of cell damage and the possibility of increased formation of connective tissue.

Keywords: aortic valve stenosis, high-density lipoprotein (HDL), fibroblast growth factor-21 (FGF-21), chemerin, biomarkers.

Literatūra

1. Barter, P. J., Nicholls, S., Rye, K. A., Anantharamaiah, G. M. et al. 2004. Antiinflammatory properties of HDL. *Circulation Research*. 95, 764-772.
2. Bondue, B., Henau, O. D., Luangsay, S. et al. 2012. The Chemerin / ChemR23 system does not affect the pro-inflammatory response of mouse and human macrophages ex vivo. *PLoS ONE*. 7(6), e40043.
3. Cash, J. L., Hart, R., Russ A. et al. 2008. Synthetic chemerin-derived peptides suppress inflammation through ChemR23. *The Journal of Experimental Medicine*. 205(4), 767-775.
4. Chan, K. L., Teo, K., Dumesnil, J. G. et al. 2010. Effect of lipid lowering with rosuvastatin on progression of aortic stenosis: Results of the aortic stenosis progression observation: Measuring effects of rosuvastatin (ASTRONOMER) trial. *Circulation*. 121(2), 306-314.
5. Chen, L., Songyi, X. and Avrum, I. G. 2012. The progression of calcific aortic valve disease through injury, cell dysfunction, and disruptive biologic and physical force feedback loops. *Cardiovascular Pathology*. 22(1), 1-8.
6. Domouzoglou, E. M., Naka, K. K., Vlahos, A. P., Papafaklis, M. I. et al. 2015. Fibroblast growth factors in cardiovascular disease: The emerging role of FGF21. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 309(6).
7. Eisinger, K., Krautbauer, S., Wiest, R., Weiss, T. S. and Buechler, C. 2015. Reduced serum chemerin in patients with more severe liver cirrhosis. *Experimental and Molecular Pathology*. 98(2), 208-213.
8. Ernst, M. C. and Sinal, C. J. 2010. Chemerin: at the crossroads of inflammation and obesity. *Trends in endocrinology and metabolism*. *TEM*. 21(11), 660-667.
9. Herová, M., Schmid, M., Gemperle, C., Loretz, C. and Hersberger, M. 2014. Low dose aspirin is associated with plasma chemerin levels and may reduce adipose tissue inflammation. *Atherosclerosis*. 235(2), 256-262.
10. Lehrke, M., Becker, A., Greif, M., Stark, R. et al. 2009. Chemerin is associated with markers of inflammation and components of the metabolic syndrome but does not predict coronary atherosclerosis. *Eur J Endocrinol*. 161(2), 339-344.
11. Lommi, J. I., Kovanen, P. T., Jauhiainen, M., Lee-Rueckert, M. et al. 2011. High-density lipoproteins (HDL) are present in stenotic aortic valves and may interfere with the mechanisms of valvular calcification. *Atherosclerosis*. 219, 538-544.
12. Planavila, A., Redondo, I., Hondares, E. et al. 2013. Fibroblast growth factor 21 protects against cardiac hypertrophy in mice. *Nature Communications*. 4, 2019.
13. Rhee, E. J. 2011. Chemerin: A novel link between inflammation and atherosclerosis? *Diabetes Metab Journal*. 35, 216-218.
14. Shah, P. K. and Amin, J. 1992. Low high density lipoprotein level is associated with increased restenosis rate after coronary angioplasty. *Circulation*. 85, 1279-1285.
15. Vahanian, A., Alfieri, O., Andreotti, F., Antunes, M. J., Barón-Esquivias, G., Baumgartner, H., Borger, M. A. et al. 2012. Guidelines on the management of valvular heart disease (version 2012): The Joint Task Force on the Management of Valvular Heart Disease of the European Society of Cardiology (ESC) and the European Association for Cardio-Thoracic Surgery (EACTS). *Eur Heart J*. 33(19), 2451-2496.
16. Xu, P., Zhang, Y., Liu, Y. et al. 2016. Fibroblast growth factor 21 attenuates hepatic fibrogenesis through TGF- β /smad2/3 and NF- κ B signaling pathways. *Toxicology and Applied Pharmacology*. 290, 43-53.
17. Yan, X., Chen, J., Zhang, C., Zeng, J., Zhou, S. et al. 2015. Fibroblast growth factor 21 deletion aggravates diabetes-induced pathogenic changes in the aorta in type 1 diabetic mice. *Cardiovascular Diabetology*. 14, 77.