

Иртюга Ольга Борисовна

**КЛИНИКО-ПАТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ФОРМИРОВАНИЯ АОРТАЛЬНОГО
СТЕНОЗА И РАСШИРЕНИЯ АОРТЫ У ПАЦИЕНТОВ С БИКУСПИДАЛЬНЫМ
АОРТАЛЬНЫМ КЛАПАНОМ**

3.1.20. Кардиология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
доктора медицинских наук

Санкт-Петербург
2023 год

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном учреждении «Национальный медицинский исследовательский центр имени В.А. Алмазова» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Научный консультант: Моисеева Ольга Михайловна, доктор медицинских наук, профессор

Официальные оппоненты:

Барбараш Ольга Леонидовна, доктор медицинских наук, профессор, академик РАН, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний» Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, администрация, директор:

Хубулава Геннадий Григорьевич, доктор медицинских наук, профессор, академик РАН, Федеральное государственное бюджетное военное образовательное учреждение высшего образования «Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова» Министерства обороны Российской Федерации, 1 кафедра и клиника (хирургии усовершенствования врачей), заведующий:

Гендлин Геннадий Ефимович, доктор медицинских наук, профессор, Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования "Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова" Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедра госпитальной терапии имени академика Г.И. Сторожакова лечебного факультета, профессор.

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр сердечно-сосудистой хирургии имени А. Н. Бакулева» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Защита состоится «26» февраля 2024г. в 13:15 на заседании диссертационного совета 21.1.028.02 (Д 208.054.04) на базе Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр имени В.А. Алмазова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (197341, Санкт-Петербург, ул. Аккуратова, д. 2).

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр имени В.А. Алмазова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (197341, Санкт-Петербург, ул. Аккуратова, д.2) и на сайте <http://www.almazovcentre.ru>.

Автореферат разослан « _____ » _____ 202 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета 21.1.028.02 (Д 208.054.04)
доктор медицинских наук, профессор



Недошвин Александр Олегович

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования

Бикуспидальный аортальный клапан (БАК) – один из самых распространенных врожденных пороков сердца (ВПС), встречаемость которого, по различным оценкам, варьирует от 0,5 до 2% (S.Y. Shah et al., 2018; H.I. Michelena et al., 2020; I. Tessler et al., 2021). В настоящее время распространенность БАК в РФ не оценена (Л.А. Бокерия и соавт., 2021).

Риск развития неблагоприятных сердечно-сосудистых событий у пациентов с БАК значительно выше, чем в общей популяции (H.I. Michelena et al., 2020; I., Tessler et al., 2021). По результатам немногочисленных когортных исследований, наиболее частыми сердечно-сосудистыми осложнениями у пациентов с БАК являются аортальный стеноз (АС) и расширение аорты (N.W.S. Chew et al., 2021; A. Théron et al., 2022;). Ранее было показано, что БАК остается основной причиной АС у лиц моложе 60 лет (59%), тогда как у пациентов с АС старше 75 лет данная патология диагностируется в 35% случаев (Ward C., 2000). По данным других когортных исследований, у 13,5–50% пациентов с БАК диагностируется дилатация синуса Вальсальвы и/или восходящей части аорты, которая в 7–15% случаев осложняется диссекцией (C., Ward 2000; R.R. Davies et al., 2007; H.I. Michelena et al., 2008; S. Verma et al., 2014). Несмотря на широкую распространенность БАК, его влияние на развитие дилатации восходящего отдела аорты (ДВОА) и АС по-прежнему противоречивы. Кроме того, практически отсутствуют данные о частоте сочетанной патологии аортального клапана (АК) и аорты у пациентов с БАК.

Актуальность изучения патогенеза АС связана не только с широкой его распространенностью, но и высокой частотой фатальных осложнений в случае поздней диагностики порока или отказа пациента с тяжелым стенозом от оперативного вмешательства (C.M Otto. et al., 2014; A.B. Kvaslerud et al., 2021; S. Badiani et al., 2021). В свою очередь, диссекция и разрыв, осложняющие течение аневризмы аорты, по частоте летальных исходов опережают смертность при СПИД (M.H. Guo et al., 2018, A. Gulati et al., 2022).

Таким образом, изучение особенностей клинического течения и патогенетических процессов формирования АС и расширения аорты, в том числе с применением современных методов генетического тестирования, является актуальным с научной и практической точек зрения.

Степень разработанности темы исследования

Большинство гистологических и молекулярно-биологических исследований последнего десятилетия подтверждают гипотезу о развитии кальциноза АК и расширении аорты в рамках иммуновоспалительного процесса. При АС одним из возможных звеньев патогенеза кальциноза АК служит активация системы остеопротегерин (ОПГ)/лиганд рецептора - активатора ядерного транскрипционного фактора каппа-В (RANKL)/ рецептор - активатор ядерного транскрипционного фактора каппа-В (RANK) (M.K. Davis et al., 2013; R. Kawakami et al., 2016; B.L. Loudon et al., 2018; S. Kraler et al., 2022), тогда как при дилатации аорты в патологическое ремоделирование внеклеточного матрикса вовлечена система матриксных металлопротеиназ (ММП) (J.M., Ruddy 2017; L.L. Guo et al., 2020). Особый интерес представляет изучение фетуина-А, участие которого в патогенезе АС вызывает много вопросов. В отношении диагностической и прогностической ценности фетуина-А у пациентов с АС в настоящее время существуют взаимоисключающие данные (R. Koos et al., 2009, A. Kapelouzou et

al., 2015, S. Elmariah et al., 2018). Кроме того, в недавнем исследовании альфа-2-НС-гликопротеин был определен как возможный биомаркер, ассоциирующийся с аневризмой грудного отдела аорты (A. Prystupa et al., 2023). До конца не изучены возможные механизмы активации системы ОПГ/RANKL/RANK и ее роль в формировании АС. До настоящего времени не изучались патогенетические механизмы формирования сочетанной патологии АС и ДВОА. Открытым остается вопрос о связи между структурными изменениями восходящего отдела аорты, активностью ММП и этиологией ДВОА.

Роль генетических факторов в формировании БАК в последние годы активно изучается (V. Garg 2005; B.G. Bruneau 2008; Т.Н. Татарина и соавт., 2015). Существует гипотеза генетически детерминированных изменений в стенке аорты, возникающих в процессе эмбриогенеза выходного тракта левого желудочка (ЛЖ), влияющих на функциональное состояние гладкомышечных клеток аорты и способствующих формированию дилатации аорты [L.F. Hiratzka et al., 2010, M. Kluppel et al., 2005]. Моногенные заболевания соединительной ткани, в том числе и синдром Марфана, диагностируются в 5% случаев расслоения восходящего отдела аорты. В остальных 95% случаев значение генетической предрасположенности в формировании аневризм восходящего отдела аорты, а также сочетанной патологии АС и ДВОА у больных с БАК остается малоизученной.

Противоречивые данные исследования сигнальной системы ОПГ/RANKL/RANK, а также отсутствие эффекта от приема бисфосфонатов у пациентов с АС требуют более детальной оценки роли данной системы в процессах кальцификации. Изменение концентрации фетуина-А, реализующего свой эффект через систему ОПГ/RANKL/RANK, у пациентов с АС нуждается в дополнительном исследовании.

Несмотря на важные открытия и значительный прогресс в понимании патогенеза АС и ДВОА в течение последних 10–15 лет, до сих пор основными механизмами формирования ДВОА и/или АС у пациентов с БАК и ТАК считаются гемодинамические и генетические факторы. Остаются нерешенными многочисленные вопросы, связанные с профилактикой, диагностикой и лечением АС и ДВОА. Единственным доступным и эффективным методом лечения пациентов с тяжелым АС и патологической дилатацией аорты остается хирургический. Актуальность обсуждаемой проблемы подчеркивает и тот факт, что более 70% хирургических вмешательств по поводу протезирования АК в РФ выполнено по поводу дегенеративного АС. Ежегодно в РФ проводится более двух тысяч операций с искусственным кровообращением по причине аневризмы восходящего отдела аорты (Л.А. Бокерия и соавт., 2021). По данным американских исследователей, АС и ДВОА ассоциированы не только с высокой потребностью в кардиохирургических вмешательствах, но и с высокой летальностью (P. Faggiano et al., 2006, A. Evangelista et al., 2018). До сих пор неясны основные механизмы формирования АС, ДВОА или их сочетания у пациентов с БАК. Известно, что риск диссекции аорты у пациентов с ДВОА и БАК в несколько раз выше, чем у пациентов с ДВОА и ТАК (R. R. Davies et al., 2007; H. I. Michelena et al., 2011; С.М. Otto et al., 2014;).

Таким образом, исследование механизмов АС и ДВОА, а также сочетанной патологии актуально с фундаментальной и практической точек зрения, что позволило сформулировать цель настоящей работы и задачи для ее решения.

Цель исследования

Выявить клинико-патогенетические особенности формирования аортального стеноза и/или расширения восходящего отдела аорты в зависимости от типа аортального клапана для разработки персонализированного подхода к ведению пациентов.

Задачи исследования

1. Провести анализ встречаемости аортального стеноза и расширения восходящего отдела аорты у пациентов с бicuspidальным и трикуспидальным аортальным клапаном.
2. Изучить вклад модифицируемых и немодифицируемых факторов в развитие кальциноза аортального клапана и расширение восходящего отдела аорты у пациентов в зависимости от наличия бicuspidального или трикуспидального аортального клапана.
3. Оценить потенциальное значение сигнального пути остеопротегерин/RANKL/RANK и фетуина-А в развитии кальциноза аортального клапана и патологии аорты в зависимости от типа аортального клапана.
4. Проанализировать изменения в системе матриксных металлопротеиназ 2 и 9 типов у пациентов с дилатацией восходящего отдела аорты и аортального стеноза в зависимости от наличия бicuspidального аортального клапана.
5. Определить клиническое значение биомаркеров кальцификации и матриксных металлопротеиназ 2, 9 типов у пациентов с аортальным стенозом и дилатацией восходящего отдела аорты.
6. Разработать шкалу стратификации риска развития аортального стеноза и/или дилатации восходящего отдела аорты у пациентов с бicuspidальным аортальным клапаном.
7. Оценить возможные ассоциации патогенных вариантов в гене *NOTCH1* с наличием аортального стеноза и/или дилатации восходящего отдела аорты у пациентов с бicuspidальным аортальным клапаном.

Научная новизна исследования

1. Продемонстрирована высокая значимость бicuspidального аортального клапана в формировании сочетанной патологии аорты и аортального клапана – дилатации восходящего отдела аорты и аортального стеноза. Показано, что наличие бicuspidального аортального клапана повышает риск развития аортального стеноза в 5 раз, а сочетанной патологии: аортального стеноза и дилатации восходящего отдела аорты - в 13 раз.
2. Продемонстрирована низкая выявляемость бicuspidального аортального клапана и инфекционного эндокардита у пациентов с аортальным стенозом на дооперационном этапе. Описан латентный вариант течения инфекционного эндокардита у пациентов с аортальным стенозом.
3. Доказана прогностическая значимость маркеров кальцификации и воспаления в формировании аортального стеноза и дилатации восходящего отдела аорты. Выявлены изменения сигнального пути остеопротегерин/RANKL/RANK и фетуина-А при формировании аортального стеноза. Определены пороговые значения остеопротегерина, sRANKL, фетуина-А, повышающие риск развития аортального стеноза.
4. Выявлены два новых варианта неопределённой значимости в гене *NOTCH1* (E1305K и D1267N) у пациентов с аортальным стенозом, а также новый вариант неопределённой значимости

S2449R у пациентов с дилатацией восходящего отдела аорты, которые могут вносить вклад в патогенез заболеваний аорты и аортального клапана.

5. Выявлены редкие ($MAF\% \leq 0,002$) варианты неопределённой значимости в генах Notch сигнального пути, ассоциированные с сочетанием аортального стеноза и дилатации восходящего отдела аорты у пациентов с бicuspidальным аортальным клапаном. Показан протективный эффект rs3812603 в отношении аортального стеноза вне зависимости от типа аортального клапана.

Теоретическая и практическая значимость

Уточнены факторы риска развития аортального стеноза и дилатации восходящего отдела аорты, определены пороговые значения наиболее существенных из них. Подтверждена важная роль бicuspidального аортального клапана в развитии аортального стеноза и его менее существенная роль в развитии дилатации восходящего отдела аорты. Установлено, что пациенты с бicuspidальным аортальным клапаном относятся к группе высокого риска формирования сочетанной патологии аорты и аортального клапана – дилатации восходящего отдела аорты и аортального стеноза. Это позволяет включать в диспансерное наблюдение оценку диаметра аорты при выявлении аортального стеноза у пациентов с подтвержденным бicuspidальным аортальным клапаном и планировать объем использования визуализирующих методов исследования (мультиспиральной компьютерной томографии или эхокардиографии).

Диагностированы низкие специфичность и чувствительность анализа концентрации матриксных металлопротеиназ 2 типа и матриксных металлопротеиназ 9 типа в сыворотке крови, что позволяет не рекомендовать их определение в сыворотке для оценки риска развития аортального стеноза и/или дилатации восходящего отдела аорты, независимо от типа аортального клапана.

Выявленные новые механизмы развития аневризмы аорты и аортального стеноза, которые существенно расширяют представление о патогенезе данных заболеваний у пациентов с бicuspidальным аортальным клапаном, позволяют обсуждать новые подходы к назначению таргетной терапии аортального стеноза путем воздействия на систему остеопротегерин/RANKL/RANK и фетuin-A.

Определена перспектива проведения генетического скрининга генов Notch сигнального пути (*NOTCH1*, *DTX4*, *DTX1*, *DVL2*, *DTX3L*, *DVL3*) для прогнозирования риска развития аортального стеноза и дилатации восходящего отдела аорты у пациентов с бicuspidальным аортальным клапаном.

Методология и методы исследования

Диссертационное исследование, выполненное на базе федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр имени В.А. Алмазова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБУ «НМИЦ им. В.А. Алмазова» Минздрава России) состояло из двух этапов. На первом этапе для решения первой задачи по оценке встречаемости бicuspidального аортального клапана проанализированы результаты трансторакальных эхокардиографических (ЭХО-КГ) исследований 145454 пациентов за период с 2010 г. по 2018 г. Для решения последующих задач вторым этапом в исследовании проведен анализ данных 526 пациентов: с БАК($n=296$) и с ТАК($n=230$), наблюдавшихся в ФГБУ «НМИЦ им. В.А. Алмазова» Минздрава России в период с 2013 г. по 2017 г. Всем включенным во второй этап пациентам проведен стандартный комплекс обследований, который дополнен анкетированием и запланированными

лабораторными исследованиями. У 171 пациента во время проведения оперативного вмешательства проводился забор биологического материала для дальнейшего анализа маркеров кальцификации и матриксных металлопротеиназ 2, 9 типов в тканях. Используемые методы статистической обработки данных отвечают поставленной цели и задачам исследования.

Основные положения, выносимые на защиту

1. Наличие бicuspidального аортального клапана увеличивает риск развития аортального стеноза в пять раз и риск развития сочетанной патологии: аортального стеноза и дилатации восходящего отдела аорты в тринадцать раз по сравнению с группой пациентов с трикуспидальным клапаном. Своевременное выявление модифицируемых факторов риска (артериальной гипертензии и повышенного уровня креатинина) может оказывать протективный эффект на течение патологии аорты и аортального клапана, в особенности у мужчин старше 40 лет.

2. Дисбаланс в системе остеопротегерин/RANKL/RANK, проявляющийся повышением остеопротегерина и sRANKL в сыворотке крови, имеет важное значение в формировании аортального стеноза вне зависимости от типа аортального клапана. В отличие от циркулирующих биомаркеров кальцификации содержание RANKL в тканях аортального клапана было повышено при всех типах клапана, тогда как содержание остеопротегерина снижалось только у пациентов с бicuspidальным клапаном. Развитие дилатации восходящего отдела аорты не ассоциировано с нарушениями в системе остеопротегерин/RANKL/RANK.

3. Система матриксных металлопротеиназ 2 и 9 типов потенцирует формирование не только дилатации восходящего отдела аорты, но и кальцификации аортального клапана. Профиль тканевых матриксных металлопротеиназ у пациентов с аортальным стенозом и дилатацией восходящего отдела аорты различается в зависимости от наличия бicuspidального или трикуспидального аортального клапана.

4. Предикторами развития аортального стеноза у пациентов с бicuspidальным аортальным клапаном и дилатацией восходящего отдела аорты с положительной предсказательной ценностью являются мужской пол, аортальная недостаточность, повышение концентрации креатинина, общего холестерина, сывороточных уровней остеопротегерина и sRANKL. У пациентов с бicuspidальным аортальным клапаном и аортальным стенозом высокую положительную прогностическую значимость в развитии дилатации восходящего отдела аорты имеют курение, артериальная гипертензия и снижение уровня фетуина-А.

5. Полиморфные варианты в генах-участниках сигнального каскада Notch (NOTCH1, DTX4, DTX1, DVL2, DTX3L, DVL3) ассоциированы с развитием аортального стеноза и дилатацией восходящего отдела аорты, максимально представлены у пациентов с бicuspidальным аортальным клапаном и могут оказывать протективный эффект в отношении заболеваний аорты и аортального клапана.

Степень достоверности и апробация результатов исследования

Степень достоверности диссертационной работы определяется количеством включенных пациентов и современными методами исследований, соответствующими поставленной цели и задачам. Для решения первой задачи было проанализировано более 145 тысяч результатов эхокардиографических исследований. Для решения остальных задач в анализ было включено более 600 пациентов.

Исследование одобрено Этическим комитетом ФГБУ «НМИЦ им. В.А. Алмазова» Минздрава России (протокол № 181 от 16 октября 2013 г). Все пациенты подписали информированное согласие. Для статистического анализа, в зависимости от поставленной задачи, были использованы различные программы статистической обработки. Степень достоверности результатов исследования подтверждена протоколом проверки первичных материалов на заседании комиссии ФГБУ «НМИЦ им. В.А. Алмазова» Минздрава России от 15.08.2022 г.

Основные результаты и положения настоящей диссертационной работы были представлены и доложены в разные годы на Российском национальном конгрессе кардиологов 2013 г. (Санкт-Петербург), 2014 г. (Казань), 2015 г. (Москва), 2017 г. (Санкт-Петербург), 2018 г. (Москва), 2019 г. (Екатеринбург), 2020 г. (онлайн), 2021 г. (Санкт-Петербург), 2022 г. (Казань), 2023г. (Москва), на конференции «Оптимальная медикаментозная терапия в кардиологии» 2014 г. (Санкт-Петербург), на конгрессе «Артериальная гипертензия — от Короткова до наших дней» 2015 г., Всероссийской молодежной медицинской конференции с международным участием «Алмазовские чтения – 2018» 2018 г. (Санкт-Петербург), II Международном Конгрессе по Эхокардиографии «ЭХО белых ночей-2018» 2018 г. (Санкт-Петербург), Региональном конгрессе Российского кардиологического общества 2020 г. (онлайн), Всероссийской конференции с международным участием «Каспийские встречи: диалоги специалистов о наджелудочковых нарушениях ритма сердца» и Форуме молодых кардиологов РКО 2019 г. (Астрахань), Форуме Молодых Кардиологов РКО 2020 г. (онлайн), Форуме молодых кардиологов РКО 2022 г. (Санкт-Петербург), Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Современные технологии функциональной и ультразвуковой диагностики в клинической медицине – 2017» 2017 г. (Санкт-Петербург), 23 Европейской встрече Артериальной гипертензии и Кардиоваскулярной профилактики 2013 г. (Милан, Италия). Научных сессиях Американской Ассоциации Сердца 2015 г., 2016 г. (Новый Орлеан, США), Научной конференции Общества клапанной патологии 2017 г. (Монако), Конгрессах Европейского кардиологического общества 2013 г. (Амстердам, Нидерланды), 2014 г. (Барселона, Испания), 2015 г. (Лондон, Великобритания), 2017 г. (Барселона, Испания), 2018 г. (Мюнхен, Германия), 2019 г. (Париж, Франция), 2021 г. (онлайн), VI Инновационном петербургском медицинском форуме 2023 г. (Санкт-Петербург).

Публикации

По теме диссертации опубликовано 67 печатных работ, из них 15 статей – в англоязычных журналах, входящих в международные реферативные системы цитирования и базы данных: Scopus и/или Web of Science и 23 статьи – в журналах, включенных в Перечень рецензируемых научных изданий, утвержденных Высшей аттестационной комиссией при Министерстве науки и высшего образования Российской Федерации. Автор является членом рабочей группы экспертов Российского кардиологического общества Клинических рекомендаций, одобренных научно-практическим советом Министерства здравоохранения, по инфекционному эндокардиту и инфекции внутрисердечных устройств. Получены два свидетельства о регистрации баз данных для ЭВМ (№ 2015620910 и №2016620912) опубликованы 2 монографии. Подан патент, заявка (№ W230333998 принята 19.06.2023).

Внедрение результатов исследования в практику

Результаты диссертационной работы внедрены в педагогическую деятельность кафедры кардиологии (обучение клинических ординаторов, аспирантов, врачей в рамках постдипломного образования) и в лечебную работу кардиологических отделений ФГБУ «НМИЦ им. В.А. Алмазова» Минздрава России. Также результаты внедрены в учебный процесс кафедры терапии факультетской с курсом эндокринологии, кардиологии с клиникой им. акад. Г. Ф. Ланга федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации. Основные результаты, полученные в диссертационной работе, включены в проекты клинических рекомендаций Минздрава России.

Личный вклад автора

Автор лично участвовала на всех этапах выполнения работы, в формулировании цели и задач настоящего исследования, разрабатывала и планировала этапы настоящего исследования, охарактеризовала особенности формирования групп. Разработка анкет, формирование базы данных, разработка алгоритма обследования пациентов, отбор пациентов и их дальнейшее включение в исследование, анкетирование, физикальный осмотр, дальнейшее наблюдение проводились автором. Публикация основных результатов исследования, научное обоснование, обобщение полученных результатов, написание, оформление диссертации и автореферата также проводились лично автором.

Структура и объем диссертации

Диссертация изложена на 302 страницах машинописного текста, состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов, результатов собственных исследований, обсуждения, выводов, практических рекомендаций, перспективах дальнейшей разработки темы, списка сокращений, списка литературы, включающего 472 наименования, в том числе 460 на иностранных языках. Работа иллюстрирована 38 таблицами и 117 рисунками.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

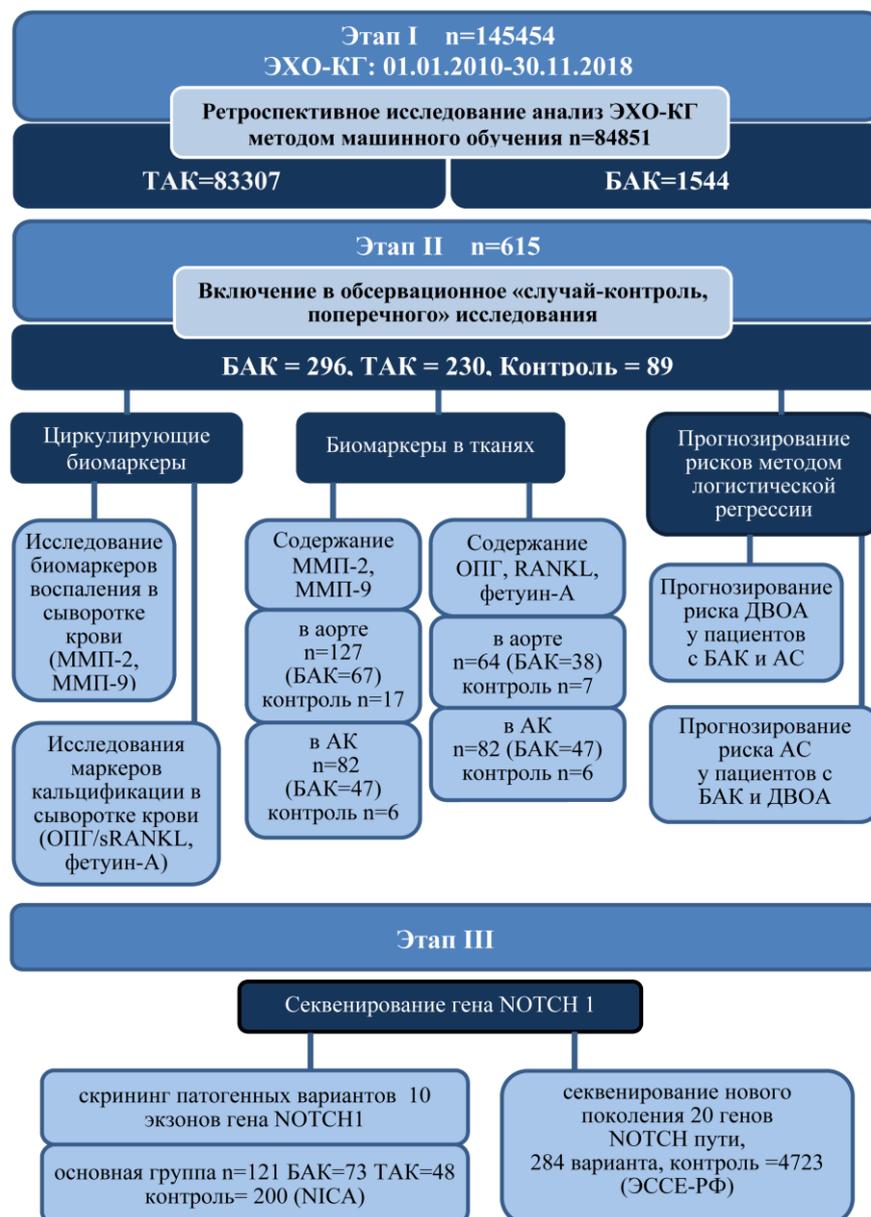
Материалы и методы исследования

Общий дизайн исследования представлен на Рисунке 1. Для анализа типа аортального клапана и встречаемости бicuspidального аортального клапана среди пациентов с аортальным стенозом и расширением восходящего отдела аорты ретроспективно была проанализирована база данных ЭХО-КГ исследований ФГБУ «НМИЦ им. В.А. Алмазова» Минздрава России. Обработка данных проходила с применением методов распознавания естественного языка и дата майнинга. Оригинальные методы обработки были использованы для извлечения характеристик БАК и ТАК из электронных медицинских карт, включая анамнез, эпикриз и результаты инструментальных тестов.

На первом этапе ретроспективного исследования определены следующие критерии включения: наличие отметки в электронной базе данных о наличии подписанного информированного согласия на обработку персональных данных, возраст ≥ 18 лет, диаметр аорты в области синусов Вальсальвы и/или восходящем отделе ≥ 40 мм и/или скорость потока на аортальном клапане ≥ 2 м/с по результатам ЭХО-КГ. В качестве критериев невключения выступали истории болезни с данными

ЭХО-КГ вне анализируемого периода до 01.01.2010 г. или после 30.11.2018 г., повторные исследования, а также отсутствие полного набора данных в электронной базе.

На втором этапе поперечного исследования «случай-контроль» критериями включения служили: наличие письменного информированного согласия пациента на участие в исследовании, возраст от 40 до 70 лет, диаметр аорты в области синусов Вальсальвы и/или восходящем отделе ≥ 40 мм и/или скорость потока на аортальном клапане ≥ 2 м/с по результатам ЭХО-КГ. Не включались в исследование пациенты с воспалительной этиологией клапанных пороков сердца: инфекционным эндокардитом (ИЭ) и хронической ревматической болезнью сердца (ХРБС), с указанием на онкологические заболевания, расслоением аорты, синдромными формами аневризмы, с почечной и/или печеночной недостаточностью, после хирургического лечения аорты и АК, во время беременности или в раннем послеродовом периоде с сохраненной лактацией.



АК – аортальный клапан, АС – аортальный стеноз, БАК – бicuspidальный аортальный клапан, ДВОА – дилатация восходящего отдела аорты, ММП – матриксная металлопротеиназа, ОПГ – остеопротегерин, ТАК – трикуспидальный аортальный клапан

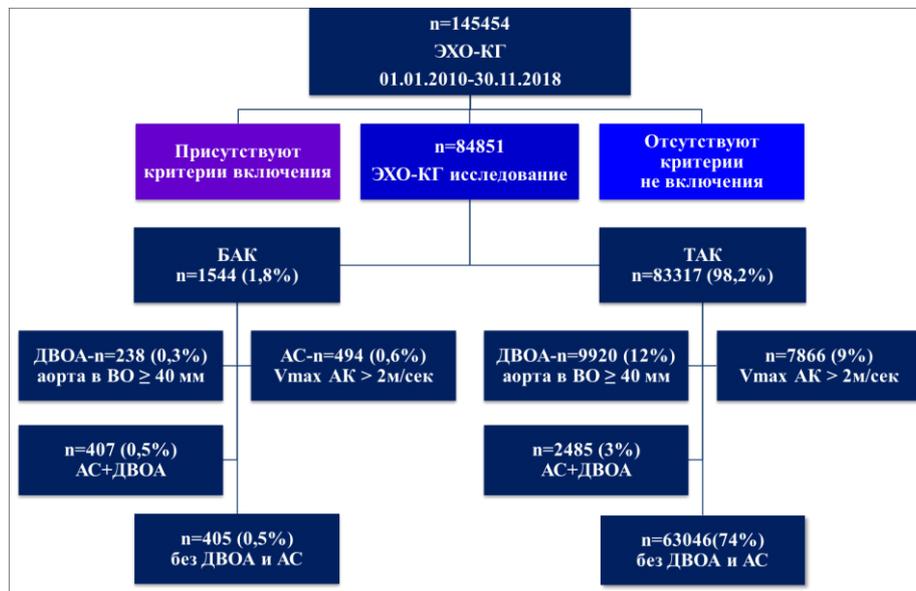
Рисунок 1 – Общий дизайн исследования

На первом этапе проводился анализ следующих данных: возраст, пол, наличие или отсутствие сопутствующей патологии (сахарного диабета (СД), артериальной гипертензии (АГ), ишемической болезни сердца (ИБС), ожирения, анемии, перенесенного острого нарушения мозгового кровообращения, атеросклероза, аритмии, фибрилляции предсердий (ФП), гиперлипидемии (ГЛП)), хронической сердечной недостаточности (ХСН), язвенной болезни, хронической обструктивной болезни легких (ХОБЛ), наличие вредных привычек (курение, злоупотребление алкоголем), также были внесены показатели ЭХО-КГ. В результате для ретроспективного анализа использовали 84851 клинических случаев, которые соответствовали критериям включения и невключения, проанализированы 26 предикторов. Дизайн исследования первого этапа включения пациентов в анализ представлен на Рисунке 2.

Данные были разделены на обучающую и тестовую выборку для кросс-валидации, каждый эксперимент проводился в условиях стратифицированной 5-кратной перекрестной проверки-валидации (т.е. случайным образом 80% пациентов использовались для обучения и 20% для тестирования, соотношения целевых классов в сгибах сохранялись). Для расчета важности признака применен алгоритм случайного леса (random forest). Алгоритм реализован с использованием Python 3.6.3 и библиотеки scikit-learn 0.19.1 (<https://scikit-learn.org/stable/> (по состоянию на 12 мая 2022 г.)). В качестве дополнительной оценки производительности использовали площадь под ROC-кривой (AUC). Все измерения проводились отдельно для каждого набора данных и для каждого значения параметра модели, чтобы определить лучшие параметры для классификаторов, а также оптимальную предварительную обработку данных. Выполнена оптимизация гиперпараметров и получены результаты на основе настройки гиперпараметров. Применялась техника автобалансировки весов, которая обычно применяется в выборках с разным количеством наблюдений в классах. Эксперименты проводились с пакетами Python 3: scikit-learn (Prettenhofer P et al., 2011) и Catboost (Prokhorenkova L et al., 2018) для реализации моделей машинного обучения, seaborn (Waskom, M.L et al., 2021) и matplotlib (Hunter, J.D. 2007) для визуализации данных, smote (Chawla, N.V. 2002) для балансировки набора данных.

На втором этапе поперечного исследования обследованы 296 пациентов с БАК, в том числе пациенты с сочетанной патологией АС и ДВОА (n = 153), с АС (n = 89), с ДВОА (n = 54); также 230 пациентов с ТАК, из них: 45 больных с сочетанной патологией АС и ДВОА, n=91 с АС, n=94 с ДВОА. Контрольную группу без АС и ДВОА составили 62 человека и 27 доноров. За время исследования 327 пациентам, согласно существующим рекомендациям, было выполнено протезирование аортального клапана, протезирование аорты, либо их сочетание. У 180 пациентов в процессе оперативного вмешательства проводился забор биологического материала для дальнейшего анализа содержания маркеров кальцификации и матриксных металлопротеиназ 2, 9 типов в тканях, впоследствии был проанализирован 171 образец биопсийного материала пациентов и 27 доноров, из них 6 образцов клапанного материала. У пациентов, включенных в первую группу, все сопутствующие заболевания анализировались согласно диагнозам, указанным в электронной истории болезни. Пациентам второй подгруппы все сопутствующие заболевания кодировались на основании действующих клинических рекомендаций как Европейского, так и Российского общества кардиологов на момент включения пациентов (с коррекцией в случае изменений в действующих клинических рекомендациях, одобренных Научно-практическим советом Минздрава России от 2020 г. к моменту заключительного анализа настоящей работы).

Лабораторные исследования с оценкой модифицируемых факторов риска развития ДВОА и АС, проводились в условиях клинично-диагностической лаборатории ФГБУ «НМИЦ им. В.А. Алмазова» Минздрава России. Для этих целей в сыворотке крови анализировались следующие показатели: липидный спектр, глюкоза, С-реактивный белок (СРБ), ММП 9 и 2 типов, тканевой ингибитор матриксных металлопротеиназ 1 типа (TIMP-1), ОПГ, растворимый лиганд рецептора-активатора ядерного транскрипционного фактора каппа –В (sRANKL), фетуин-А.



АР – аортальная регургитация, АК – аортальный клапан, АС – аортальный стеноз, БАК – бicuspidальный аортальный клапан, ДВОА – дилатация восходящего отдела аорты, ТАК – трикуспидальный аортальный клапан

Рисунок 2 – Дизайн исследования первого этапа включения пациентов в анализ

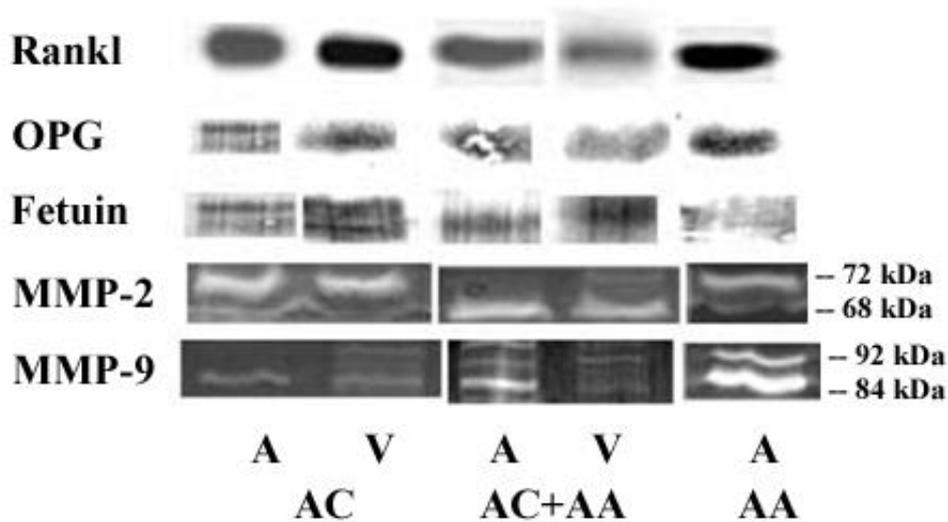
На втором этапе обсервационного исследования проводился забор периферической венозной крови утром натощак у пациентов основной и контрольной групп во время первого визита после подписания информированного согласия. Через 30 минут после взятия крови пробирки для получения сыворотки центрифугировались при 2000g в течение 10 минут, отделяемая сыворотка замораживалась и хранилась при температуре -70°C .

В сыворотке крови при помощи наборов для иммуноферментного анализа (ИФА) определялись концентрации ММП-9 типа («Quantikine®», R&D Systems, США), ММП-2 типа (SEA100Hu ELISA «Cloud-Clone Corp», США), TIMP-1 («Quantikine®», R&D Systems, США), концентрация ОПГ (BI-20403 Biomedica Osteoprotegerin), концентрация sRANKL (BI-20462 Biomedica sRANKL), концентрация фетуина-А (RD191037100 Human Fetuin-A ELISA BioVendor). Все показатели определены методом ручного планшетного ИФА с детекцией на планшетном ридере «BioRad 690».

Для определения активности и содержания ММП-2 и ММП-9, ОПГ, фетуина-А и RANKL в тканях биопсийный материал до проведения исследования помещался в жидкий азот. В гомогенатах ткани аортального клапана и аорты содержание ОПГ, RANKL, фетуина-А, ММП-2 и -9 в биоптатах определяли методом вестерн блоттинга (Рисунок 3).

Активность ММП в супернатанте определяли методом зимографии на желатине в собственной модификации (Воронкина Т.В. и соавт., 2002). Концентрация анализируемых белков выражалась в условных единицах (у.е.). В качестве первых антител использовали моноклональные антитела к остеопротегерину (98A1071, Thermo Fisher Scientific, USA) и моноклональные антитела к RANKL (sc-

377079, Santa Cruz Biotechnology, Europe), антитела к фетуину-А человека, каталожный номер sc-133146, производитель Santa Cruz, антитела к ММП-2 (Millipore, MAB13407) и к ММП-9 (Millipore, MAB13416), в качестве вторых – антитела, меченные щелочной фосфатазой (Sigma, A3562 или Sigma, A3687). Применяемые антитела для нормализации: антитела к GAPDH, каталожный номер sc-47724, производитель Santa Cruz.



А – аорта, АА – пациенты с диагнозом аневризма аорты, АС – пациенты с диагнозом аортальный стеноз, АС + АА – пациенты с сочетанием аневризмы аорты и аортальным стенозом, ММП-2 – матриксная металлопротеиназа 2 типа, ММП-9 – матриксная металлопротеиназа 9 типа, OPG – остеопротегерин, RANKL – лиганд рецептора-активатора ядерного транскрипционного фактора каппа – В, V – аортальный клапан

Рисунок 3 – Исследование содержания матриксной металлопротеиназы-2 типа и матриксной металлопротеиназы-9 типа, остеопротегерина, фетуина-А и RANKL в стенке аорты и аортальном клапане методом иммуноблотинга

Для скрининга патогенных вариантов в гене *NOTCH1* на первом этапе генетического анализа применялась стратегия целевого скрининга, исследованы 10 из 34 экзонов гена *NOTCH1* (10, 11, 12, 13, 20, 23, 24, 29, 30 и 34), варианты в которых ранее ассоциировались с ВПС, дилатацией восходящего отдела аорты и аортальным стенозом (Garg V. et al., 2005, McBride K.L. et al., 2008; McKellar S.H. et al., 2007; Mohamed S.A. et al., 2006). Геномная ДНК выделялась из периферической крови с использованием набора реагентов FlexiGene DNA purification Kit (Qiagen, GmbH, Hilden, Germany). Скрининг мутаций в исследуемой и контрольной группах проводился путем прямого секвенирования на секвенаторе ABI (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA) с использованием BigDye Terminator v3.1 mix (Applied Biosystems).

В контрольную группу для генетического анализа включены 200 человек, не имевших структурных внутрисердечных аномалий по данным ЭХО-КГ, в том числе без ВПС:БАК, аортального стеноза и /или дилатации аорты (Konradi A.O. et al., 2011).

Вторым этапом генетического анализа выполнялось секвенирование нового поколения с включением в анализ кодирующих и некодирующих последовательностей генов, вовлеченных в сигнальный каскад NOTCH (*DVL2*, *DTX2*, *MFNG*, *NUMBL*, *LFNG*, *DVLI*, *DTX4*, *APH1A*, *DTX1*, *APH1B*, *NOTCH1*, *ADAM17*, *DVL3*, *NCSTN*, *DTX3L*, *ILK*, *RFNG*, *DTX3*, *NOTCH4*, *PSENEN*). Последовательности белков и доменная организация были получены из базы данных Uniprot. Прогнозирование эффекта и функциональной значимости миссенс-вариантов оценивали на основе

значений патогенности трех методов (REVEL, VEST4, ClinPred) dbNSFP. Трехмерные структуры белковых доменов были взяты из банка данных Protein Data Bank (PDB).

Список генов, включенных в целевую панель для анализа генетических вариантов методом секвенирования нового поколения, представлен в Таблице 1.

Таблица 1 – Локализация и показатели покрытия генов, включенных в генетическую панель анализа секвенирования нового поколения

Ген	Номенклатура гена	GRCh19. Локализация	GRCh38.p14 Хромосомная позиция	Размер	Покрытие гена (%)
DVL2	ENSG00000004975.7	chr17:7128660 – 7140414	chr17:7225341 – 7237095	11755	99,57
DTX2	ENSG000000091073.15	chr7:76088443 – 76135312	chr7:76459126 – 76505995	46870	93,30
MFNG	ENSG00000100060.13	chr22:37865101 – 37884989	chr22:37469063 – 37488951	19889	99,09
NUMBL	ENSG00000105245.5	chr19:41172596 – 41199427	chr19:40666691 – 40693522	26832	95,74
LFNG	ENSG00000106003.8	chr7:2549613 – 2568811	chr7:2509979 – 529177	19199	97,09
DVL1	ENSG00000107404.13	chr1:1270656 – 1287280	chr1:1335276 – 351900	16625	88,60
DTX4	ENSG00000110042.3	chr11:58936353 – 58976060	chr11:59168880 – 59208587	39708	99,86
APH1A	ENSG00000117362.8	chr1:150237804 – 150244530	chr1:150265404 – 150272127	6727	95,69
DTX1	ENSG00000135144.3	chr12:113491964 – 113535833	chr12:113054159 – 113098028	43870	98,79
APH1B	ENSG00000138613.9	chr15:63565667 – 63601325	chr15:63273468 – 63309126	35659	97,57
NOTCH1	ENSG00000148400.9	chr9:139388896 – 139442864	chr9:136494444 – 136548412	53969	98,83
ADAM17	ENSG00000151694.8	chr2:9628615 – 9698471	chr2:9488486 – 9558342	69857	94,63
DVL3	ENSG00000161202.13	chr3:183870626 – 183891398	chr3:184152838 – 184173610	20773	97,75
NCSTN	ENSG00000162736.11	chr1:160310512 – 160328742	chr1:160340722 – 160358952	18231	99,81
DTX3L	ENSG00000163840.5	chr3:122280535 – 122294050	chr3:122561688 – 122575203	13516	96,85
ILK	ENSG00000166333.9	chr11:6622411 – 6632102	chr11:6601181 – 6610871	6013	99,95
RFNG	ENSG00000169733.7	chr17:80005778 – 80012257	chr17:82047902 – 82054381	6480	99,94
DTX3	ENSG00000178498.11	chr12:57995855 – 58003587	chr12:57602072 – 57609804	7733	99,62
NOTCH4	ENSG00000204301.5	chr6:32162620 – 32194394	chr6:32194843 – 32226617	31775	92,53
PSENN1	ENSG00000205155.3	chr19:36233465 – 36237911	chr19:35742564 – 35747010	4447	93,55

Статистический анализ, включающий обработку клинической характеристики групп пациентов проведен с использованием статистического пакета STATISTICA 10 (StatSoft Inc.). Поскольку распределение практически всех количественных показателей оказалось далеким от нормального, в подавляющем большинстве случаев характеристики подгрупп представлены в виде медианы Me и квартилей (25 и 75 процентиля, $Q1-Q3$). Для выявления различий между подгруппами по количественным показателям использовались непараметрические критерии U-тест по методу Манна-Уитни и H-тест по Краскелу-Уоллису. В случае нормального распределения признака дескриптивные статистики были представлены как $M \pm m$, где M – среднее и m – средняя арифметическая ошибка. В данном случае для выявления статистической значимости различий между подгруппами по количественным показателям использован t-критерий Стьюдента. Для качественных показателей использовался метод хи-квадрат и точный критерий Фишера. Для оценки корреляций между количественными показателями использовался коэффициент корреляции Спирмена. С помощью машинного обучения и сверточных нейронных сетей (CNN) из медицинской информационной системы (МИС) ФГБУ «НМИЦ им. В.А. Алмазова» Минздрава России были извлечены и факторизированы необходимые медицинские данные пациентов с ДВОА и АС. Данные из МИС были преобразованы алгоритмом в парадигме MapReduce для моделей факторизации и обучения. С помощью машинного обучения методом случайного леса (random forest) отобраны наиболее важные признаки (feature importance), ассоциирующиеся с АС и ДВОА.

В связи со значимыми возрастными различиями в изучаемых группах проведен дополнительный анализ данных с использованием Python и библиотек pandas и statsmodels для коррекции анализируемых факторов по возрасту, применена модель регрессии методом наименьших квадратов (OLS), исключая возраст как независимую переменную.

В ряде случаев использована программа PAST версия 4.11, в которую включены наиболее современные непараметрические методы статистического анализа и наиболее значимые методы перестановочно-рандомизационных алгоритмов бутстрепа и Монте-Карло для проверки статистической значимости наблюдаемых эффектов (Hammer D.A. et al., 2001). При проведении ROC-анализа и интерпретации результатов использовался стандарт ГОСТР 53022.3-2008, для построения ROC-кривых для выявления наиболее информативных признаков были использованы программы EasyROC, MetaboAnalyst и электронная таблица ROCanalysis.xls. В качестве отправной метрики для оценки качества модели выбрана площадь под ROC-кривой (AUC). Для точечных и интервальных оценок основных показателей информативности проверяемого диагностического теста, таких как чувствительность (Se), специфичность (Sp), отношения правдоподобий для положительных (LR [+]) и отрицательных (LR [-]) результатов теста и для нахождения точек отсечения (COP – cut-off points), максимизирующих предсказательные вероятности (PPV – предсказательная ценность положительного результата (вероятность заболевания), PLR – коэффициент положительного правдоподобия), использовали программу DiagStat.xls. Для оценки размера эффекта и построения диаграмм «дождевые облака» использовались программы JASP (<https://jasp-stats.org/>) и Effect Size Calculators (<https://effect-size-calculator.herokuapp.com>). Для создания шкал прогнозирования развития дилатации восходящего отдела аорты у пациентов с БАК и аортальным стенозом, а также развития аортального стеноза у пациентов с БАК и дилатации восходящего отдела аорты в качестве регрессионной модели выбрана регрессия с оптимальным шкалированием (Regression with Optimal Scaling (CATREG)), которая была выполнена в статистическом пакете SPSS.

Результаты собственных исследований

В Таблице 2 представлена клинико-демографическая характеристика пациентов первого этапа исследования. Согласно результатам анализа более выраженная дилатация аорты наблюдалась в группе с БАК. АС и аортальная регургитация (АР) у пациентов с БАК верифицировались в пять раз чаще по сравнению с пациентами без ВПС. Пациенты с БАК были моложе и у них чаще регистрировалась сердечная недостаточность ($p < 0,0001$). АГ, ИБС, ожирение, ГЛП, СД чаще выявлялись у пациентов с ТАК ($p < 0,0001$).

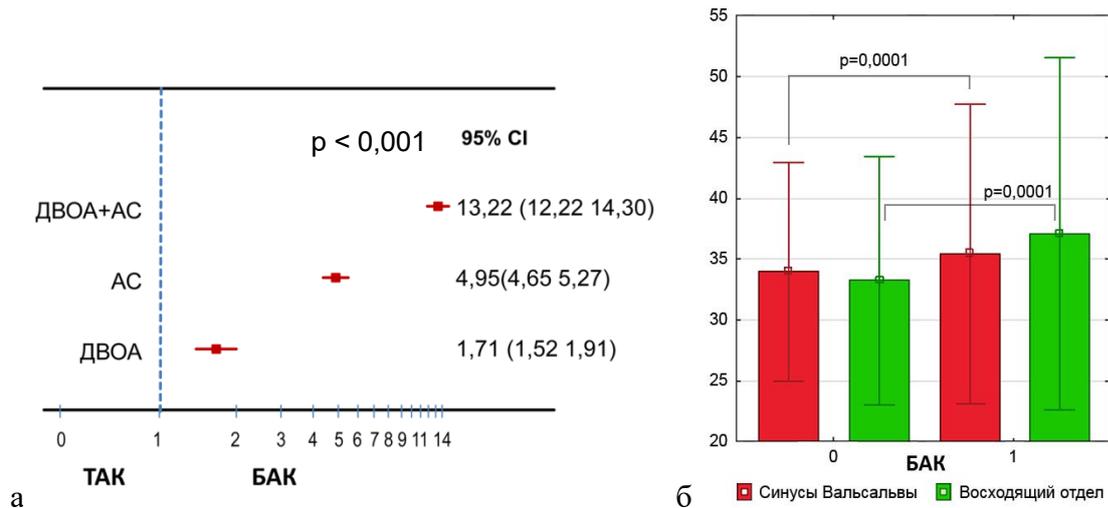
Таблица 2 – Клинико-демографическая характеристика пациентов, выполнивших эхокардиографическое исследование в ФГБУ «НМИЦ им. В.А. Алмазова» Минздрава России и включенных в ретроспективный анализ в зависимости от типа клапана

Показатели	БАК, n=1544	ТАК, n=83317	p
Возраст, лет, Ме [Q1;Q3]	40,5 [18; 104]	59 [18; 88]	<0,0001
Диаметр аорты на уровне синусов Вальсальвы, мм, Ме [Q1;Q3]	35 [32; 39]	34 [31; 37]	<0,0001
Диаметр аорты на уровне восходящего отдела, мм, Ме [Q1;Q3]	36 [32; 42]	33 [30; 36]	<0,0001
ИМТ, кг/м ² , Ме [Q1;Q3]	25,5 [22,8; 28,6]	27,3 [24,2;31,1]	<0,0001
Макс. градиент на АК, мм рт.ст., Ме [Q1;Q3]	18 [11; 34]	7 [5; 10]	<0,0001
ФВ ЛЖ [%], Ме [Q1;Q3]	65,0 [59,7; 70,1]	63,9 [56,9;68,9]	<0,0001
САД офис, мм рт.ст., Ме [Q1;Q3]	130 [120; 140]	130 [120; 143]	0,008
ДАД офис, мм рт.ст., Ме [Q1;Q3]	80 [73,5; 83,5]	80 [80; 88]	0,0006
АР, n (%)	333 (21,72)	4127 (5,0)	<0,0001
АС, n (%)	901 (58,8)	10351 (12,4)	<0,0001
СД, n (%)	77 (5,0)	8349 (10,0)	<0,0001
АГ, n (%)	861 (56,1)	58850 (70,6)	<0,0001
ИБС, n (%)	249 (16,2)	28191 (33,8)	<0,0001
ХОБЛ, n (%)	101 (6,6)	6717 (8,1)	0,03
Астма, n (%)	46 (3,0)	2161 (2,6)	0,32
Ожирение, n (%)	133 (8,6)	8287 (9,9)	<0,0001
ГЛП, n (%)	305 (19,9)	20782 (24,9)	<0,0001
ХСН, n (%)	750 (48,9)	34444 (41,3)	<0,0001

Примечание: АГ – артериальная гипертензия, АК – аортальный клапан, АР – аортальная регургитация, АС – аортальный стеноз, ГЛП – гиперлипидемия, ДАД – диастолическое артериальное давление, ИБС – ишемическая болезнь сердца, ИМТ – индекс массы тела, ЛЖ – левый желудочек, САД – систолическое артериальное давление, СД – сахарный диабет, ФВ – фракция выброса, ХОБЛ – хроническая обструктивная болезнь легких, ХСН – хроническая сердечная недостаточность

Относительный риск развития АС, ДВОА и сочетанной патологии в зависимости от типа АК продемонстрировал высокую значимость БАК. Наличие БАК увеличивало риск формирования АС и ДВОА в пятнадцать раз и АС в пять раз (Рисунок 4.а). В меньшей степени наличие БАК повышало

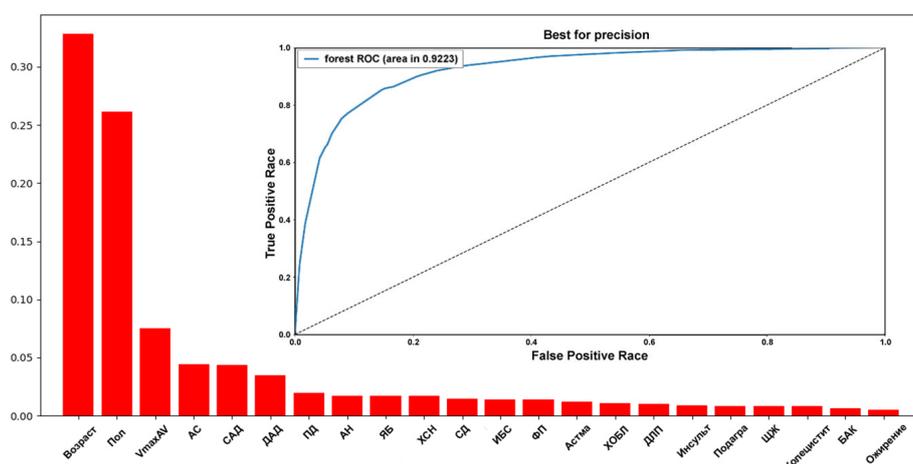
риск развития ДВОА, однако у пациентов с БАК регистрировалась более значимая дилатация (Рисунок 4.б).



1 – пациенты с БАК; 0 – пациенты с ТАК, АС – аортальный стеноз, БАК – бicuspidальный аортальный клапан, ДВОА – дилатация восходящего отдела аорты, ТАК – трикуспидальный аортальный клапан

Рисунок 4 – а) Относительный риск формирования аортального стеноза и дилатации восходящего отдела аорты в зависимости от типа аортального клапана; б) дилатация восходящего отдела аорты в зависимости от типа аортального клапана

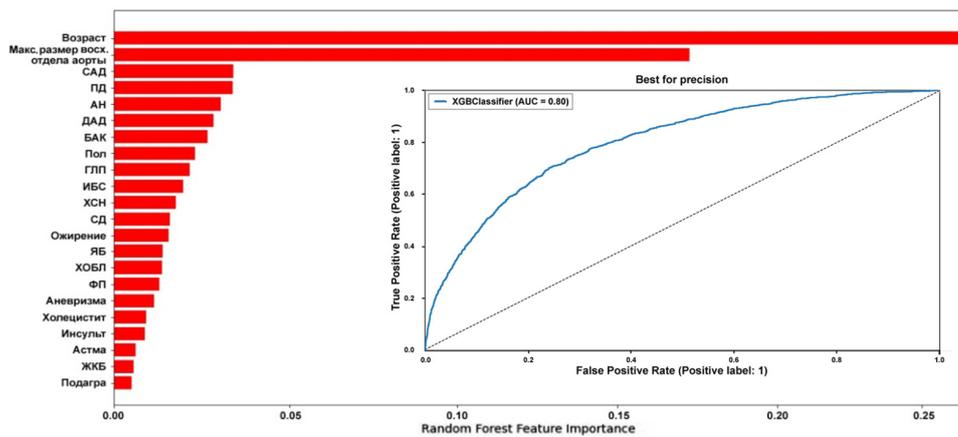
С помощью машинного обучения методом случайного леса (random forest) у пациентов первого этапа исследования определены пять наиболее важных признаков и заболеваний (feature importance), ассоциированных с ДВОА, и шесть менее значимых (Рисунок 5). Более значимые: возраст, мужской пол, скорость на АК, АС, артериальное давление (АД). Менее значимые: аортальная недостаточность (АН), ХСН, СД, АГ, ИБС и ФП. БАК, наравне с ГЛП, заболеваниями щитовидной железы, астмой, обструктивными заболеваниями легких и ожирением, был определен как важный признак, однако все они менее значимые, чем предыдущие шесть заболеваний (Рисунок 5).



АН – аортальная недостаточность, АС – аортальный стеноз, БАК – бicuspidальный аортальный клапан, ДАД – диастолическое артериальное давление, ДЛП – дислипидемия, ИБС – ишемическая болезнь сердца, ПД – пульсовое давление, САД – систолическое артериальное давление, СД – сахарный диабет, ФП – фибрилляция предсердий, ХОБЛ – хроническая обструктивная болезнь легких, ХСН – хроническая сердечная недостаточность, ЩЖ – заболевания щитовидной железы, ЯБ – язвенная болезнь, $V_{\max}AV$ – скорость на аортальном клапане

Рисунок 5 – Результаты анализа признаков и заболеваний (feature importance), ассоциированных с дилатацией восходящего отдела аорты, с ROC-кривой

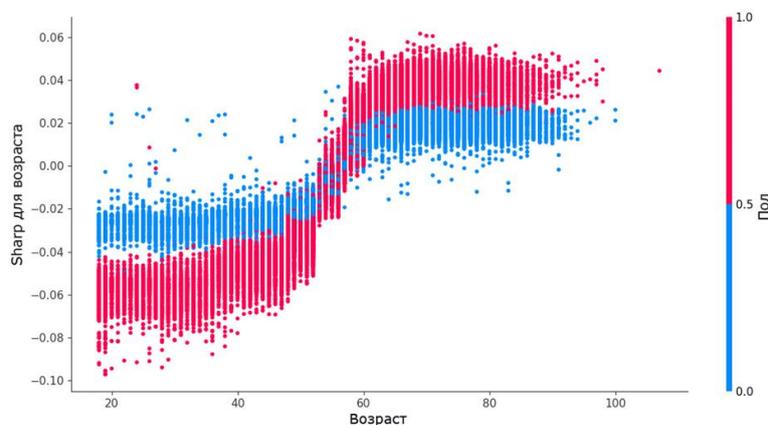
Определены пять наиболее важных признаков и заболеваний (feature importance), ассоциированных с аортальным стенозом. Так же, как у пациентов с ДВОА, этими признаками были пожилой возраст, повышение АД (Рисунок 6). В отличие от пациентов с ДВОА, важными признаками, ассоциированными с АС, были увеличение размеров восходящего отдела аорты и АН. Наличие БАК и ГЛП у пациентов с АС были более значимыми факторами, чем у пациентов с ДВОА. Напротив, мужской пол был менее значим. Вклад таких факторов, как ИБС и ХСН, был сопоставим как у пациентов с АС, так и ДВОА. Наименее значимыми факторами у пациентов с АС были диабет и ожирение. Диагнозы АГ, язвенная болезнь, ХОБЛ, холецистит, ФП, заболевания щитовидной железы, астма, обструктивные заболевания легких, ожирение также были определены как важные ассоциированные состояния. Однако их значимость была существенно ниже предыдущих шести нозологий (Рисунок 6).



АН – аортальная недостаточность, БАК – бикуспидальный аортальный клапан, ГЛП – гиперлипидемия, ДАД – диастолическое артериальное давление, ИБС – ишемическая болезнь сердца, ЖКБ – желчекаменная болезнь, ПД – пульсовое давление, САД – систолическое артериальное давление, СД – сахарный диабет, ФП – фибрилляция предсердий, ХОБЛ – хроническая обструктивная болезнь легких, ХСН – хроническая сердечная недостаточность, ЯБ – язвенная болезнь

Рисунок 6 – Результаты анализа признаков и заболеваний (feature importance), ассоциированных с аортальным стенозом, с ROC кривой

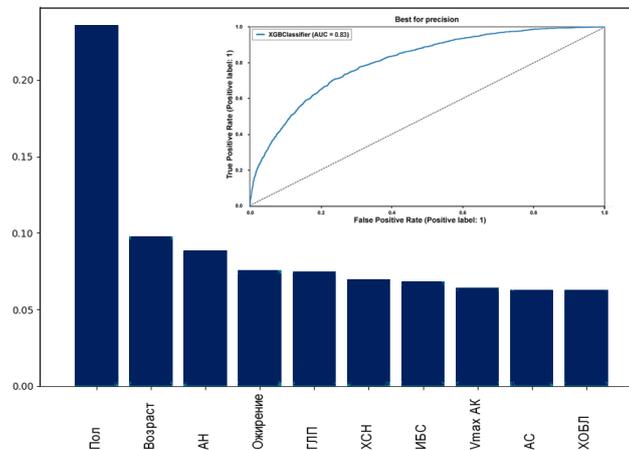
У пациентов без ВПС влияние возраста на формирование АС различалось для мужчин и женщин: у женщин АС формировался в более молодом возрасте, а пожилой возраст был значим именно для мужчин, точка пересечения находилась на границе 60 лет (Рисунок 7).



0 – женщины, 1 – мужчины

Рисунок 7 – Результаты анализа влияния возраста на риск формирования аортального стеноза в зависимости от пола

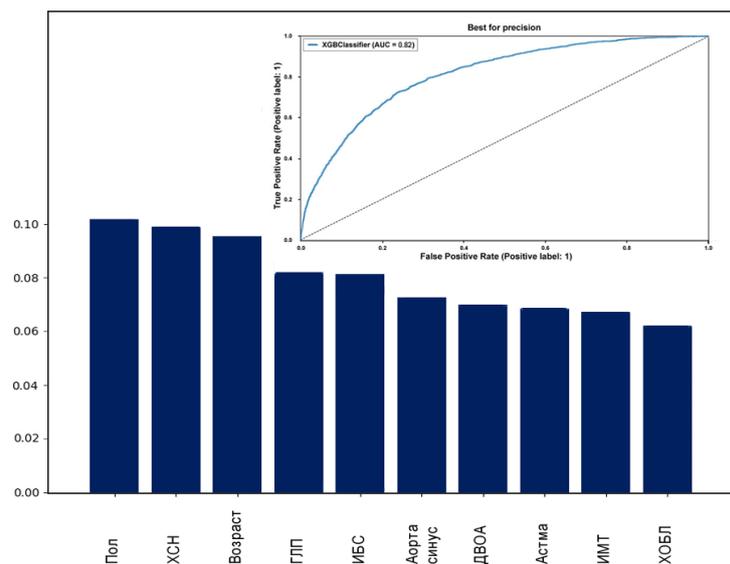
С помощью машинного обучения методом случайного леса (random forest) у пациентов с БАК первого этапа исследования определены наиболее важные признаки и заболевания (feature importance), ассоциированные с дилатацией восходящего отдела аорты (Рисунок 8). Пол, возраст также оказались наиболее значимыми факторами, ассоциированными с ДВОА, но наравне с ними более значимой оказалась АН и менее значимой скорость на АК.



АС – аортальный стеноз, АН – аортальная недостаточность, ГЛП – гиперлипидемия, ИБС – ишемическая болезнь сердца, ХОБЛ – хроническая обструктивная болезнь легких, ХСН – хроническая сердечная недостаточность, $V_{\max}AV$ – скорость на аортальном клапане

Рисунок 8 – Результаты анализа признаков и заболеваний (feature importance), ассоциированных с дилатацией восходящего отдела аорты у пациентов с бicuspidальным аортальным клапаном

При определении наиболее важных признаков и заболеваний (feature importance), ассоциированных с аортальным стенозом у пациентов с БАК (Рисунок 9), также отмечалась связь с полом, ХСН, возрастом и ГЛП. При этом АД, СД не являлись значимыми факторами, ассоциированными как с АС, так и с ДВОА у пациентов с БАК.



ДВОА – дилатация восходящего отдела аорты, ГЛП – гиперлипидемия, ИБС – ишемическая болезнь сердца, ИМТ – индекс массы тела, ХОБЛ – хроническая обструктивная болезнь легких, ХСН – хроническая сердечная недостаточность

Рисунок 9 – Результаты анализа признаков и заболеваний (feature importance), ассоциированных с аортальным стенозом у пациентов с бicuspidальным аортальным клапаном, с ROC-кривой

По результатам анализа клинико-демографической характеристики пациентов с АС и БАК, независимо от пола, пациенты с БАК были значимо старше, у них чаще регистрировались избыточная масса тела, ГЛП и ХСН различного ФК. В дополнение у мужчин с БАК и АС чаще фигурировали в диагнозах ХОБЛ и ИБС (Таблица 3).

Таблица 3 – Клиническая характеристика пациентов с бicuspidальным аортальным клапаном и аортальным стенозом

Показатели	Мужчины, БАК			Женщины, БАК		
	АС n=536	Без АС, n=447	p	АС, n=365	Без АС, n=185	p
Возраст, лет, Ме [Q1;Q3]	50 [34; 60]	29 [21;46]	<0,001	49 [31; 61]	31 [26; 49]	<0,001
ИМТ, кг/м ² , Ме [Q1;Q3]	26,3 [23,9; 30]	24,8 [21,8;27,8]	<0,001	25,6 [22,6;29,9]	24,6 [21,7;26,9]	0,01
ИБС, n (%)	127 (23,69)	46 (10,29)	<0,001	58 (15,89)	18 (9,73)	0,05
ХОБЛ, n (%)	58 (10,82)	23 (5,15)	<0,001	15 (4,11)	5 (2,70)	0,4
ГЛП, n (%)	135 (25,19)	56 (12,53)	<0,001	94 (25,75)	19 (10,27)	<0,001
ХСН, n (%)	320 (59,7)	156 (34,90)	<0,001	213 (58,36)	60 (32,43)	<0,001

Примечание: АС – аортальный стеноз, БАК – бicuspidальный аортальный клапан, ГЛП – гиперлипидемия, ИБС – ишемическая болезнь сердца, ИМТ – индекс массы тела, ТАК – трикуспидальный аортальный клапан, ХОБЛ – хроническая обструктивная болезнь легких, ХСН – хроническая сердечная недостаточность

При сравнении клинико-демографических характеристик пациентов выявлено, что мужчины и женщины из группы БАК с ДВОА были старше, у них был выше ИМТ, чаще регистрировались ГЛП, ХСН, чем у пациентов без ДВОА (Таблица 4). Кроме того, у мужчин с БАК и ДВОА значимо чаще регистрировали АС, ИБС, ХОБЛ по сравнению с пациентами без ДВОА

Таблица 4 – Клиническая характеристика пациентов с бicuspidальным аортальным клапаном и дилатацией восходящего отдела аорты

Показатели	Мужчины, БАК			Женщины, БАК		
	ДВОА n=495	без ДВОА, n=499	p	ДВОА, n=150	без ДВОА, n=400	p
Возраст, лет, Ме [Q1;Q3]	50 [18; 86]	29 [18; 80]	<0,001	54,5[18; 84]	35[18; 88]	<0,001
ИМТ, кг/м ² , Ме [Q1;Q3]	27,1 [24,6; 29,7]	24,3 [21,7; 27,4]	<0,001	26,7 [24,5; 32,1]	24,5 [21,5; 27,5]	<0,001
Макс. градиент на АК, мм.рт.ст., Ме [Q1;Q3]	20 [12;39]	14,5 [9;26]	<0,001	22 [14; 44]	22 [12; 42,5]	0,40
АС, n (%)	302 (62,27)	234 (46,99)	<0,001	105 (70,0)	260 (65,0)	0,27
ИБС, n (%)	119 (24,54)	54 (10,82)	<0,001	25 (16,67)	51 (12,75)	0,24
ХОБЛ, n (%)	52 (10,72)	29 (5,81)	0,005	5 (3,33)	15 (3,75)	0,82
ГЛП, n (%)	122 (25,15)	70 (14,03)	<0,001	51 (34,0)	62 (15,50)	<0,001
ХСН, n (%)	282 (58,14)	195 (39,08)	<0,001	94 (62,67)	179 (44,75)	0,001

Примечание: АК – аортальный клапан, АС – аортальный стеноз, БАК – бicuspidальный аортальный клапан, ГЛП – гиперлипидемия, ДВОА – дилатация восходящего отдела аорты, ИБС – ишемическая болезнь сердца, ИМТ – индекс массы тела, ТАК – трикуспидальный аортальный клапан, ХСН – хроническая сердечная недостаточность, ХОБЛ – хроническая обструктивная болезнь легких

На втором этапе поперечного исследования проведен анализ данных 526 пациентов. В процессе проспективного наблюдения данной группы были прооперированы 327 пациентов, диагноз БАК подтверждался интраоперационно и по результатам гистологического анализа. Впервые в послеоперационном периоде диагноз БАК стал фигурировать у 64 пациентов с сопутствующим аортальным стенозом и 16 пациентов с ДВОА. Учитывая критерии исключения, исходно не включались пациенты с ИЭ и ХРБС. Однако по результатам патоморфологического исследования

гистологического материала в послеоперационном периоде диагноз ИЭ различной степени активности был впервые верифицирован у 54 пациентов, обозначенный как латентный ИЭ.

По результатам анализа клинико-демографической характеристики, пациенты с ТАК были старше, с более высокой массой тела, и у них чаще регистрировался СД ($p < 0,02$). В анамнезе у 89% больных с ТАК присутствовала АГ, в то время как в подгруппе БАК анамнестические указания на АГ фигурировали у 75% больных. В контрольной группе также в 21% случаев была верифицирована АГ. Максимальные цифры АД, а также цифры офисного АД были значительно выше у пациентов с ТАК в сравнении с пациентами с БАК и контрольной группой (Таблица 5).

Несмотря на то, что в изучаемых группах ГЛП регистрировалась одинаково часто по сравнению с контрольной группой, атеросклеротическое поражение коронарных артерий и, как следствие, ИБС, постинфарктный кардиосклероз регистрировались существенно чаще в группе пациентов с ТАК. Соответственно, им чаще выполнялось аорто-коронарное шунтирование ($p < 0,02$). У пациентов с БАК отмечались более значимое увеличение аорты в восходящем отделе и более выраженный АС ($p < 0,02$). Подавляющее количество пациентов в изучаемых подгруппах получали различную кардиотропную терапию, в том числе липидснижающую и антигипертензивную.

Таблица 5 – Клиническая характеристики пациентов, включенных в поперечную часть исследования

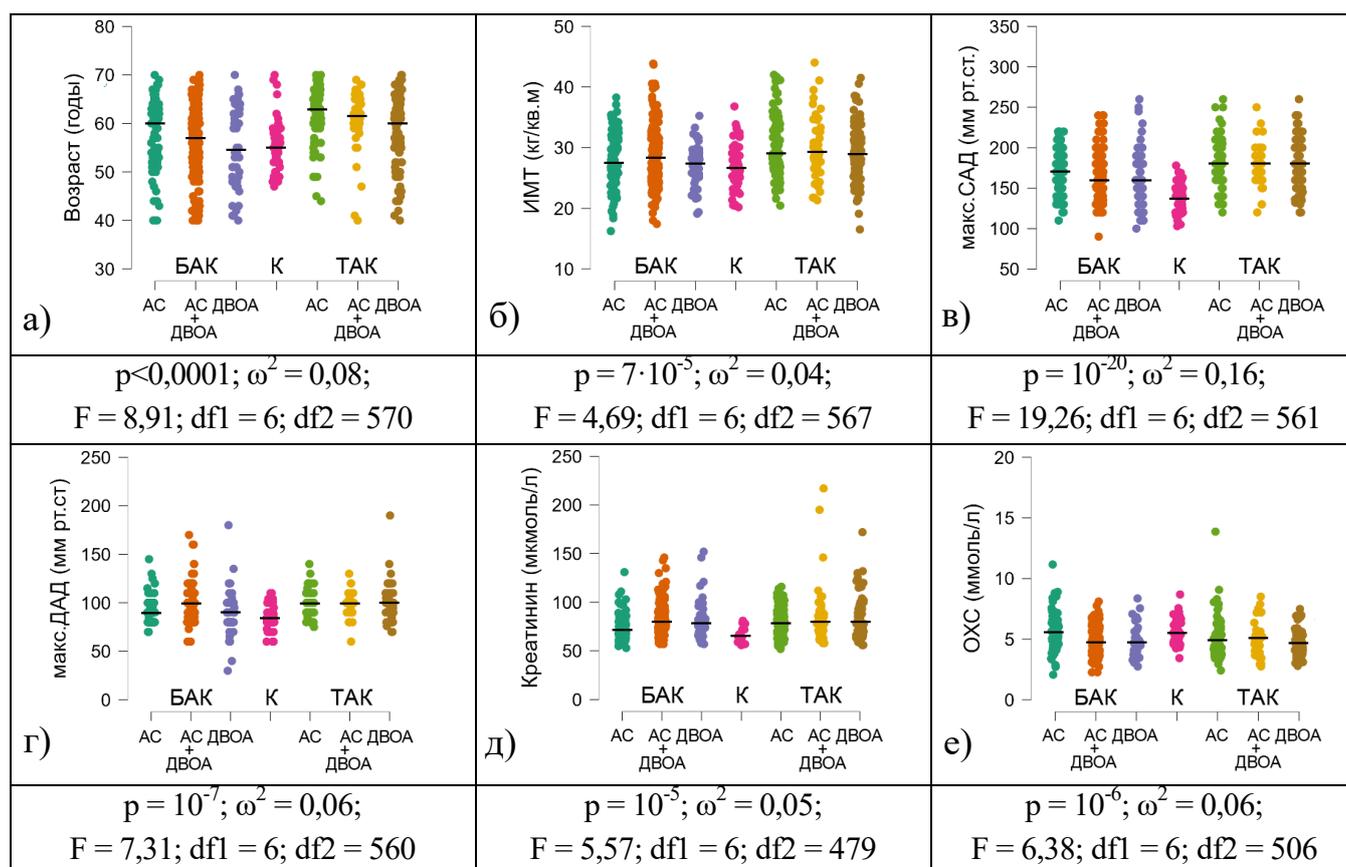
Показатель	БАК (0) n=296	ТАК (1) n=230	Контроль (2) n=62	p012	p01	p12	p02
Пол, м, n (%)	185 (62,5)	144 (62,6)	29 (46,7)	0,101	0,980	0,045	0,041
Возраст, лет, Ме [Q1;Q3]	57,5 [52; 62]	61 [56; 65]	55 [53; 58]	0,000	0,000	0,000	0,100
ИМТ, кг/м ² , Ме [Q1;Q3]	27,8 [25;31,2]	29,1[26;32,7]	26,6[24,6;29,8]	0,000	0,001	0,000	0,087
САД _{max} мм рт.ст., Ме [Q1;Q3]	160 [140; 185]	180 [160;200]	137,5[120; 150]	0,000	0,000	0,000	0,000
ДАД _{max} мм рт.ст., Ме [Q1;Q3]	90 [80; 100]	100 [90; 110]	85 [80; 90]	0,000	0,000	0,000	0,000
САД _{оф} , мм рт.ст., Ме [Q1;Q3]	130 [120; 140]	130 [120;145]	124 [120; 130]	0,000	0,000	0,003	0,317
ДАД _{оф} , мм рт. ст. , Ме [Q1;Q3]	80 [70; 81]	80 [70; 85]	80 [77; 90]	0,180	0,175	0,372	0,135
Аорта синус, мм, Ме [Q1;Q3]	37 [34; 42]	38 [34; 44]	32,5 [31; 35,5]	0,000	0,569	0,000	0,000
Аорта восх., мм, Ме [Q1;Q3]	44 [38; 49]	40 [35; 48]	33 [30; 36,5]	0,000	0,004	0,000	0,000
Аорта макс., мм, Ме [Q1;Q3]	45 [39; 50]	43 [36; 49]	34,5 [31; 36]	0,000	0,089	0,000	0,000
Средний градиент на АК, мм рт.ст., Ме [Q1;Q3]	43 [22; 57]	40 [20; 54]	-	-	0,345	-	-
Максимальная скорость на АК, м/сек., Ме [Q1;Q3]	3,9 [2,4; 4,7]	2,6 [1,45; 4,3]	1,26 [1,13; 1,4]	0,000	0,000	0,000	0,000
ФВ ЛЖ, [%], Ме [Q1;Q3]	64 [59; 68]	64 [58; 68]	65 [61; 68]	0,096	0,720	0,033	0,07
ИММ Ме [Q1;Q3]	158 [123;197]	150[120; 179]	86,5 [75;104]	0,000	0,153	0,000	0,000
КДР, мм, Ме [Q1;Q3]	51[47; 56]	52[47; 56]	47[45; 50]	0,000	0,891	0,000	0,000
КСР, мм, Ме [Q1;Q3]	33[29; 37]	32[28; 37]	32[27; 31,5]	0,000	0,691	0,000	0,000
Курение, n (%)	106 (35,8)	79 (34,3)	4 (6,5)	0,081	0,860	0,002	0,005
АГ, n (%)	223 (75,3)	204 (88,7)	13 (20,9)	0,000	0,000	0,000	0,000
ХСН, n (%)	140 (47,3)	119 (51,7)	-	-	0,200	-	-
ХСНнФВ, n (%)	11 (3,7)	7 (3)	-	-	0,911	-	-
ХСНунФВ, n (%)	16 (5,4)	14 (6,1)	-	-	0,886	-	-
ХСНсФВ, n (%)	113 (38,2)	98 (42,6)	-	-	0,384	-	-
ОНМК, n (%)	6 (2,02)	9 (3,9)	-	-	0,228	-	-
ИБС, n (%)	101 (34,1)	118 (51,3)	-	-	0,000	-	-
ПИКС, n (%)	23 (8,21)	36 (16,5)	-	-	0,004	-	-
АЗ КА, n (%)	54 (18,2)	69 (30)	-	-	0,000	-	-
Стентирование, n (%)	17 (5,88)	18 (8,22)	-	-	0,303	-	-
АКШ, n (%)	40 (13,5)	50 (21,7)	-	-	0,011	-	-
ХОБЛ, n (%)	38 (12,8)	29 (12,6)	-	-	0,992	-	-

Показатель	БАК (0) n=296	ТАК (1) n=230	Контроль (2) n=62	p012	p01	p12	p02
ГЛП, n (%)	183 (61,8)	144 (62,6)	15 (16,9)	0,022	0,854	0,007	0,008
ФП, n (%)	43 (14,5)	49 (22,7)	-	-	0,041	-	-
СД, n (%)	41 (13,9)	57 (24,7)	3 (3,37)	0,000	0,001	0,001	0,006

Примечание: АГ – артериальная гипертензия, АЗ КА – атеросклеротическое поражение коронарных артерий, АКШ – аорто-коронарное шунтирование, ГЛП – гиперлипидемия, ДАД_{max} – максимальное диастолическое АД, ДАД_{оф} – офисное диастолическое АД, ИБС – ишемическая болезнь сердца, ИМТ – индекс массы тела, КДР – конечно-диастолический размер левого желудочка, КСР – конечно-систолический размер левого желудочка, ОНМК – острое нарушение мозгового кровообращения, ПИКС – постинфарктный кардиосклероз, САД_{max} – максимальное систолическое АД, САД_{оф} – офисное систолическое АД, СД – сахарный диабет 2 типа, ФВ ЛЖ – фракция выброса левого желудочка, ФП – фибрилляция предсердий, ХОБЛ – хроническая обструктивная болезнь легких, ХСН – хроническая сердечная недостаточность, ХСН_{нФВ} – ХСН с низкой ФВ (менее 40%), ХСН_{пФВ} – ХСН с промежуточной ФВ (от 40% до 49%), ХСН_{сФВ} – ХСН с сохраненной ФВ (50% и более)

При анализе немодифицируемых факторов риска пациентов, включенных в поперечную часть исследования развития АС и ДВОА, несомненным фактором риска являлся возраст (Рисунок 10 а, $p < 0,0001$).

При анализе модифицируемых факторов риска АД (как САД, так и ДАД) существенно отличалось в сравниваемых подгруппах и было клинически значимым для развития ДВОА и АС (Рисунок 10 в, г; $p = 10^{-20}$ и $p = 10^{-7}$). То же самое касалось ИМТ (Рисунок 10 б; $p = 7 \cdot 10^{-5}$), показателей липидограммы: ОХС (Рисунок 10 е; $p = 10^{-6}$) и креатинина (Рисунок 10 д; $p = 10^{-5}$).



АД – артериальное давление, АС – аортальный стеноз, БАК – бicuspidальный аортальный клапан, ДВОА – дилатация восходящего отдела аорты, ИМТ – индекс массы тела, К – контроль, макс. ДАД – максимальное диастолическое артериальное давление, макс. САД – максимальное систолическое артериальное давление,

ОХС – общий холестерин, ТАК – трикуспидальный аортальный клапан

Рисунок 10 а, б, в, г, д, е – Анализ модифицируемых факторов риска, влияющих на развитие аортального стеноза и дилатации восходящего отдела аорты у пациентов с бicuspidальным аортальным клапаном и без врожденного порока сердца

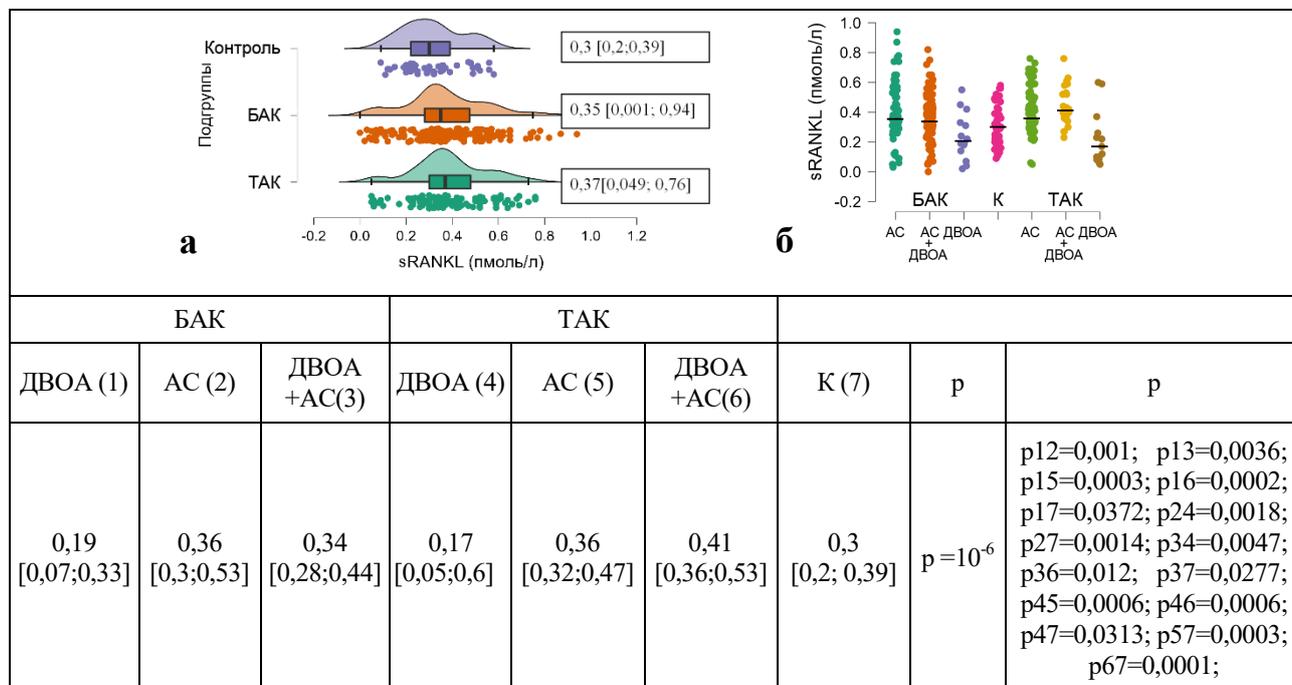
Для оценки клинической информативности модифицируемых факторов риска был проведен ROC-анализ. Полученный показатель AUC позволяет говорить об очень хорошей информативности САД во всех изучаемых подгруппах. Клиническая информативность для ДАД были ниже, но полученный показатель AUC также позволяет говорить о хорошей информативности. Он был практически одинаковым как для пациентов с АС, ДВОА, так и для пациентов с сочетанием АС и ДВОА, составил 0,73 для пациентов с АС, 0,70 для пациентов с ДВОА и 0,70 для пациентов с АС и ДВОА ($p=10^{-9}$, $p=10^{-7}$ и $p=10^{-7}$ соответственно). Для всех изучаемых подгрупп пациентов диагностическое пороговое значение уровня САД составило $> 178-179$ мм рт.ст., с высокой предсказательной ценностью развития АС и ДВОА 98% и их сочетания 97%, с высоким положительным коэффициентом правдоподобия, 10, 46 и 37 соответственно.

При этом диагностическое пороговое значение для САД не отличалось в зависимости от наличия или отсутствия ВПС и составило как у пациентов с БАК, так и ТАК 178,5 мм рт.ст., с высокой предсказательной ценностью 97% у пациентов без ВПС и 96% у пациентов с БАК, с положительным коэффициентом правдоподобия 36 и 24 соответственно.

Хорошая клиническая информативность для креатинина одинакова для пациентов с АС и с ДВОА, и очень хорошая информативность определения креатинина была продемонстрирована для пациентов с сочетанием АС и ДВОА. Показатель AUC составил 0,72 для пациентов с АС, 0,79 для пациентов с ДВОА и 0,82 для пациентов с АС и ДВОА ($p=10^{-9}$, $p=10^{-7}$ и $p=10^{-7}$ соответственно). Диагностическое пороговое значение концентрации креатинина у пациентов с АС составило > 81 мкмоль/л, у пациентов с ДВОА > 83 мкмоль/л, у пациентов с сочетанием АС и ДВОА > 82 мкмоль/л, с высокой предсказательной ценностью риска развития заболеваний 95% для АС, 96% для АО и сочетания ДВОА и АС, с положительным коэффициентом правдоподобия 18, 22 и 24 соответственно.

При анализе диагностических пороговых значений ХС-ЛПНП у пациентов с АС СОР не определился, что ставит под сомнение значимость концентрации ЛПНП в риске развития АС. Однако у пациентов с АС в сочетании с ДВОА, а также изолированным ДВОА были продемонстрированы диагностические концентрации ХС-ЛПНП $> 5,12$ ммоль/л и $> 5,01$ ммоль/л соответственно, с положительным коэффициентом правдоподобия 1, 8 и 1,4 соответственно.

Для оценки изменений в системе ОПГ/RANKL/RANK проанализированы результаты у пациентов с АС, ДВОА и их сочетанием как у пациентов с БАК, так и без ВПС, а также в контрольной группе пациентов без патологии аорты и аортального клапана. У пациентов изучаемых подгрупп отмечалось увеличение концентрации RANKL по сравнению с контрольной группой, независимо от наличия или отсутствия БАК (Рисунок 11а, $p = 0,036$). Однако при анализе концентрации RANKL в зависимости от наличия анализируемой сопутствующей патологии наименьшие значения RANKL в сыворотке крови выявлены у пациентов с ДВОА, независимо от типа клапана. Полученные значения у пациентов с ДВОА оказались значимо ниже, чем в контрольной группе. Наибольшие значения sRANKL регистрировались в подгруппах пациентов с АС, также независимо от типа клапана (Рисунок 11б). Таким образом, повышение sRANKL является значимым у пациентов как с изолированным АС, так и при сочетании АС и ДВОА, независимо от наличия БАК, по сравнению с контрольной группой и пациентами без АС (Рисунок 11б, $p = 10^{-7}$).



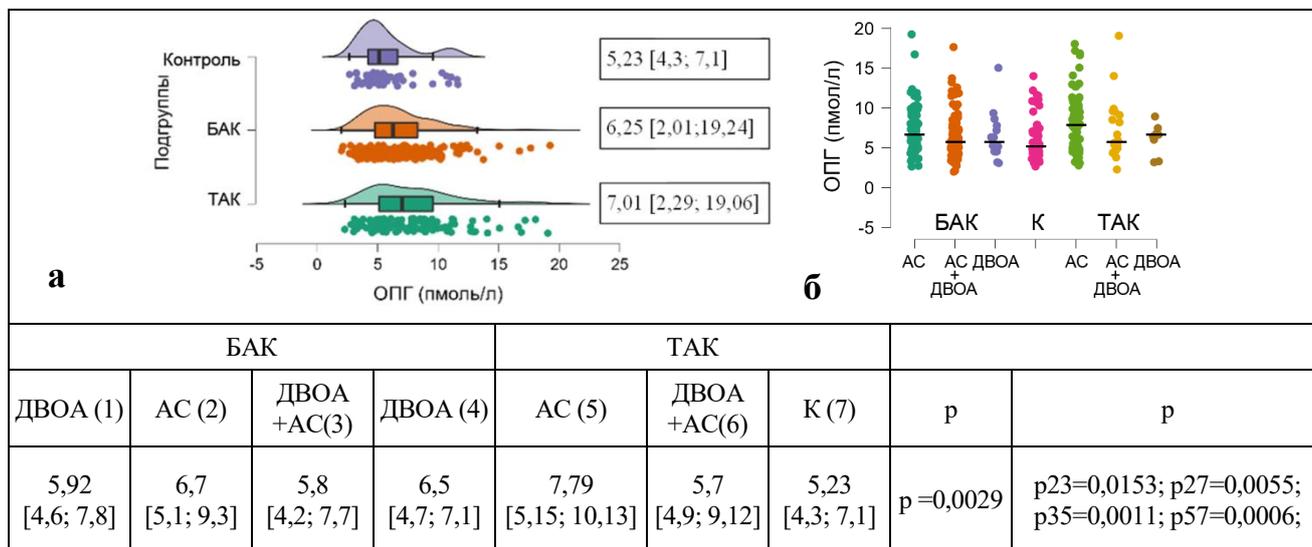
а) ТАК vs БАК $p=0,169$, ТАК vs контроль $p=0,001$, БАК vs контроль $p=0,015$

АС – аортальный стеноз, БАК – бicuspidальный аортальный клапан, ДВОА – дилатация восходящего отдела аорты, К – контроль, ТАК – трикуспидальный аортальный клапан, sRANKL - растворимый лиганд рецептора-активатора ядерного транскрипционного фактора каппа – В

Рисунок 11 – Концентрация sRANKL в сыворотке крови у пациентов в зависимости от типа аортального клапана (а) и по подгруппам (б)

Ингибитор sRANKL – ОПГ – также был повышен в исследуемых группах пациентов по сравнению с контрольной группой, но более значимо у пациентов с ТАК ($p=0,002$, Рисунок 12а). Однако при анализе концентрации ОПГ в зависимости от наличия АС, ДВОА или их сочетания наибольшие значения ОПГ в сыворотке крови были выявлены у пациентов с АС. При этом в группе пациентов с АС без БАК отмечались наиболее высокие значения ОПГ, но полученные результаты были статистически незначимы. Независимо от типа клапана, концентрация ОПГ была значимо выше у пациентов с АС, чем в контрольной группе (Рисунок 12б). Таким образом, повышение ОПГ является значимым у пациентов с изолированным АС, независимо от наличия БАК, по сравнению с контрольной группой (Рисунок 12б, $p=10^{-7}$).

У пациентов с БАК, независимо от патологии, отмечалась слабая ассоциативная связь между повышением ОПГ и скоростью на АК ($r=0,17$; $p=0,017$). Обращает на себя внимание, что только у пациентов контрольной группы, не имеющих БАК, АС или ДВОА, продемонстрированы характерные для физиологического процесса изменения соотношения ОПГ/sRANKL: концентрация ОПГ увеличивалась при увеличении скорости на АК ($r=0,36$; $p=0,04$), блокируя взаимодействие RANKL с собственным рецептором, в связи с чем снижалась концентрация sRANKL ($r=-0,38$; $p=0,03$). В отличие от пациентов с АС, в контрольной группе прослеживалась отрицательная корреляционная зависимость между концентрацией ОПГ и sRANKL ($r=-0,43$; $p=0,0009$).



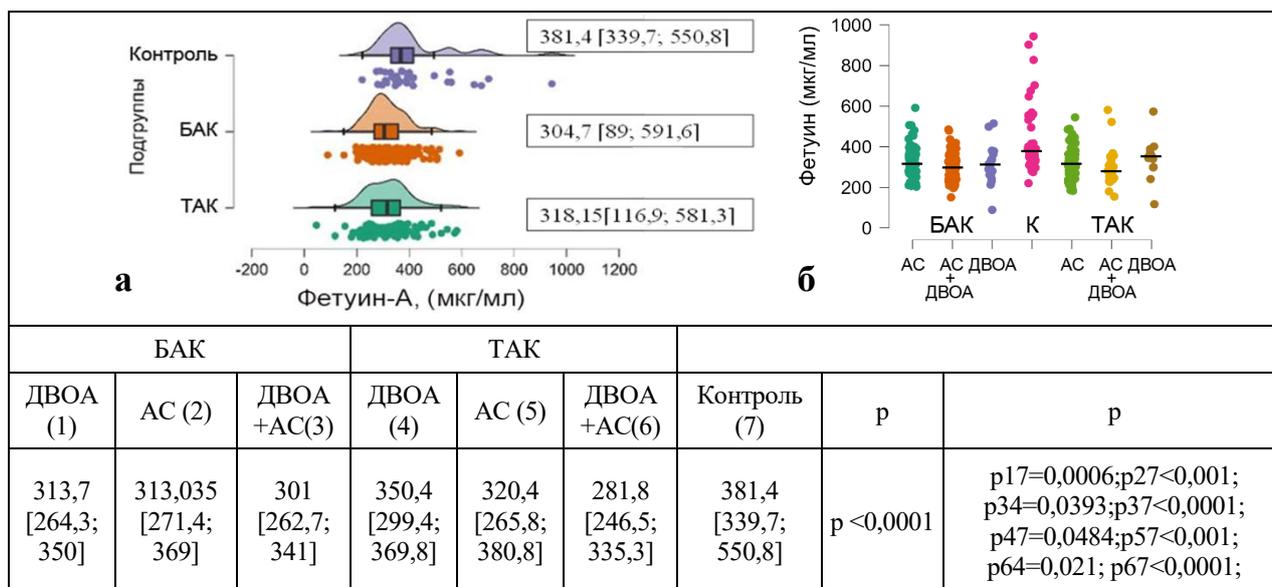
а. ТАК vs БАК $p=0,028$, ТАК vs контроль $p=0,002$, БАК vs контроль $p=0,057$

АС – аортальный стеноз, БАК – бicuspidальный аортальный клапан, ДВОА – дилатация восходящего отдела аорты,

К-контроль, ОПГ – остеопротегерин, ТАК – трикуспидальный аортальный клапан

Рисунок 12 – Оценка концентрации маркера кальцификации остеопротегерина в сыворотке крови в зависимости от типа аортального клапана (а) и по подгруппам (б)

Наибольшая концентрация фетуина-А, регистрировалась в контрольной группе, независимо от наличия или отсутствия БАК (Рисунок 13а). Наименьшие значения фетуина-А в сыворотке крови также выявлены у всех пациентов по сравнению с контрольной группой, исключение составила группа пациентов без БАК с изолированной ДВОА (Рисунок 13б). Таким образом, снижение концентрации фетуина-А в сыворотке крови продемонстрировало клиническую значимость для формирования как ДВОА, так и АС у подавляющего большинства пациентов, независимо от наличия БАК ($p = 10^{-8}$).



а. ТАК vs БАК $p=0,554$, ТАК vs контроль $p<0,0001$ БАК vs контроль $p<0,0001$

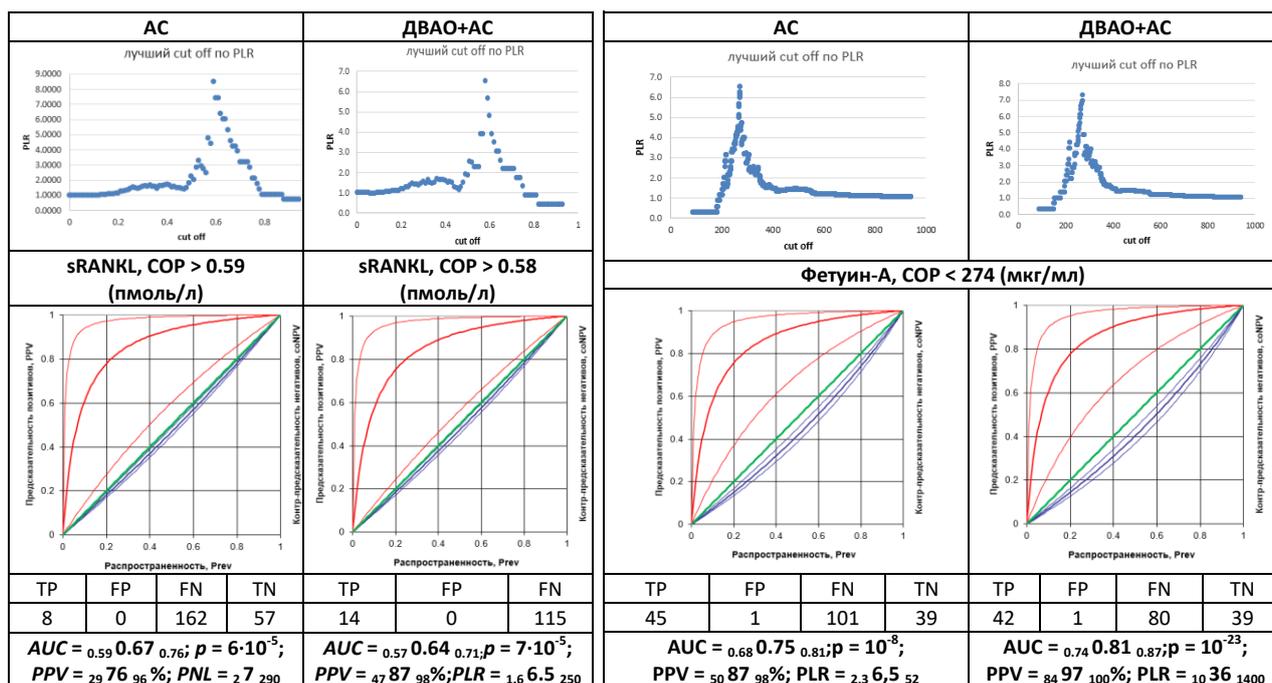
АС – аортальный стеноз, БАК – бicuspidальный аортальный клапан, ДВОА – дилатация восходящего отдела аорты,

К-контроль, ТАК – трикуспидальный аортальный клапан

Рисунок 13 – Оценка концентрации маркера кальцификации фетуина-А в сыворотке крови в зависимости от типа аортального клапана (а) и по подгруппам (б)

Для оценки клинической информативности маркеров кальцификации был проведен ROC-анализ: клиническое значение AUC для ОПГ в сыворотке крови продемонстрировало очень хорошую информативность только в группе пациентов с АС, при этом концентрация ОПГ $> 7,9$ пмоль/л являлась статистически значимой, и показатель AUC составил $0,76$ ($p = 4 \cdot 10^{-4}$).

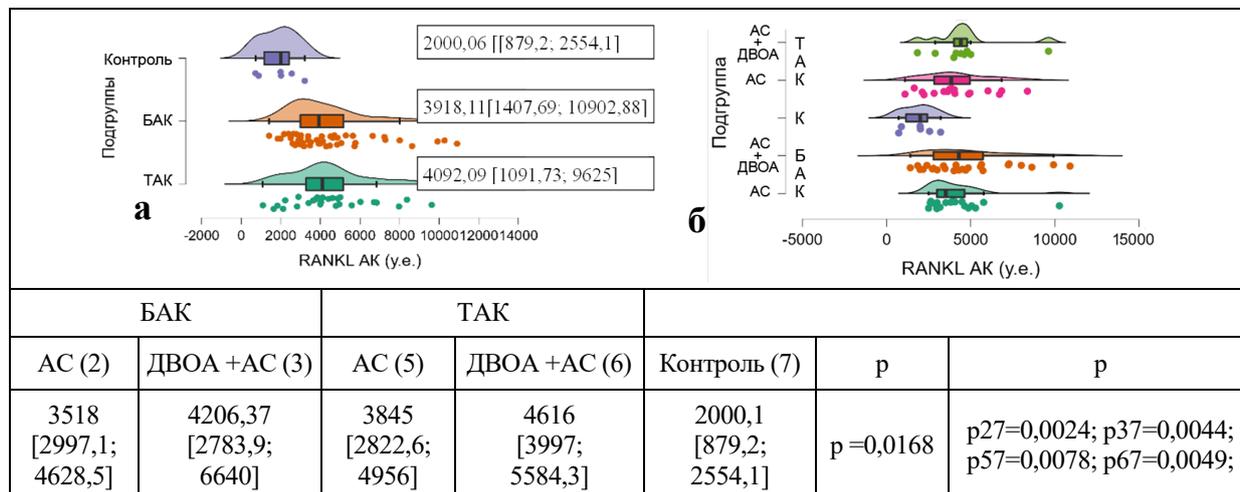
Численное значение клинической информативности AUC для sRANKL в сыворотке крови было практически одинаковым как для пациентов с АС, так и для пациентов с сочетанием АС и ДВОА. Оно составило $0,67$ для пациентов с АС и $0,64$ для пациентов с АС и ДВОА ($p = 6 \cdot 10^{-5}$ и $p = 7 \cdot 10^{-5}$ соответственно). У пациентов с АС пороговым значением для sRANKL было $> 0,59$ пмоль/л с хорошей предсказательной ценностью для развития АС 76% , с положительным коэффициентом правдоподобия $7,0$ (Рисунок 14). Особый интерес по результатам проведенного анализа представляет фетуин-А в сыворотке крови, который продемонстрировал хорошую информативность для пациентов с АС и очень хорошую информативность для пациентов с АС и ДВОА, AUC для фетуина-А $0,75$ и $0,81$ соответственно ($p = 10^{-8}$ и $p = 10^{-23}$). У пациентов с изолированным АС и сочетанием АС с ДВОА пороговым значением для фетуина-А было < 274 мкг/мл с высокой предсказательной ценностью для развития АС – 87% , с положительным коэффициентом правдоподобия $6,5$. У пациентов с АС и ДВОА также с высокой предсказательной ценностью – 97% , с положительным коэффициентом правдоподобия 36 (Рисунок 14).



АС – аортальный стеноз, ДВОА – дилатация восходящего отдела аорты, AUC – площадь под кривой, COP – пороговое значение, PLR – Коэффициент положительного правдоподобия, PPV – Предсказательная ценность положительного результата (вероятность заболевания)

Рисунок 14 – Клиническая информативность, прогностическая ценность и значимость sRANKL и фетуина-А в изучаемых подгруппах для прогнозирования риска развития аортального стеноза и сочетания аортального стеноза с дилатацией восходящего отдела аорты

Содержание RANKL в тканях АК было ниже у пациентов в контрольной группе доноров как в сравнении с общей группой АС, так и в подгруппах у пациентов с ТАК или БАК ($p=0,003$ и $p=0,002$ соответственно, Рисунок 15).

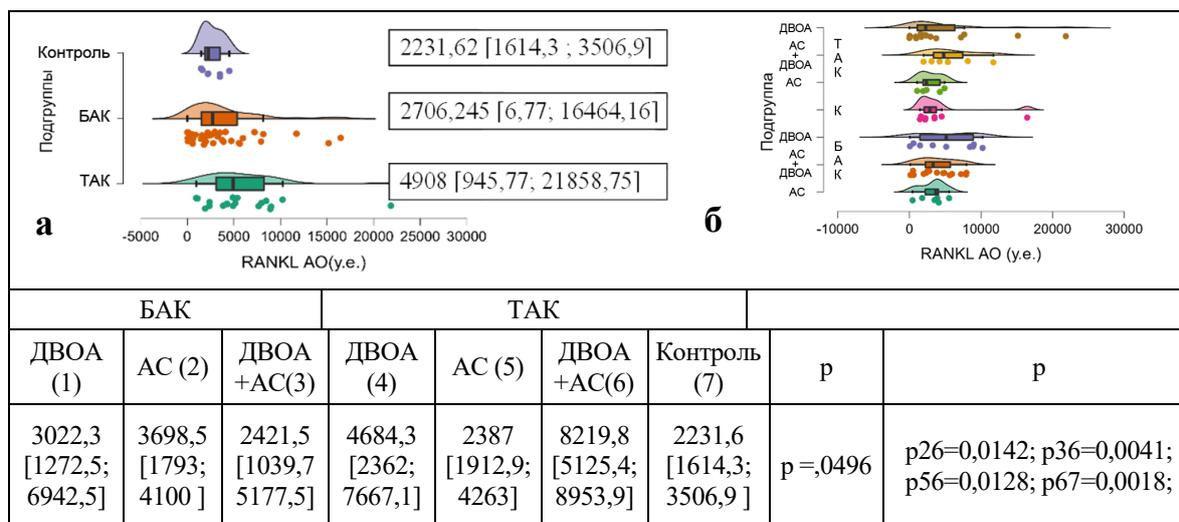


ТАК vs БАК $p=0,693$, ТАК vs контроль $p=0,003$, БАК vs контроль $p=0,002$

АК – аортальный клапан, АС – аортальный стеноз, БАК – бicuspidальный аортальный клапан, ДВОА – дилатация восходящего отдела аорты, К – контроль, ТАК – трикуспидальный аортальный клапан, у.е. – условные единицы, RANKL – лиганд рецептора-активатора ядерного транскрипционного фактора каппа – В

Рисунок 15 – Оценка содержания RANKL в тканях аортального клапана в зависимости от типа аортального клапана (а) и по подгруппам (б)

Содержание RANKL в тканях аорты было выше у пациентов без БАК в сравнении как с контрольной группой доноров, так и с группой пациентов с наличием БАК ($p=0,026$ и $p=0,018$ соответственно, Рисунок 16).

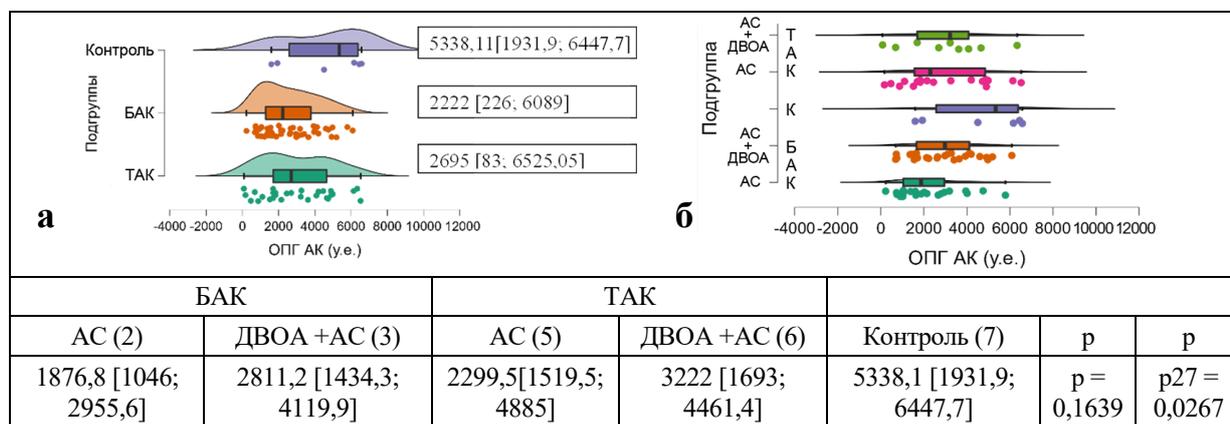


а. ТАК vs БАК $p=0,018$, ТАК vs контроль $p=0,026$, БАК vs контроль $p=0,802$

АО – аорта, АК – аортальный клапан, АС – аортальный стеноз, БАК – бicuspidальный аортальный клапан, ДВОА – дилатация восходящего отдела аорты, К – контроль, ТАК – трикуспидальный аортальный клапан, у.е. – условные единицы, RANKL – лиганд рецептора-активатора ядерного транскрипционного фактора каппа – В

Рисунок 16 – Оценка содержания RANKL в тканях аорты в зависимости от типа аортального клапана (а) и по подгруппам (б)

Содержание ОПГ в тканях аортального клапана было выше в контрольной группе в сравнении с подгруппой БАК ($p=0,017$, Рисунок 17а). При анализе содержания ОПГ в зависимости от наличия изолированного АС или его сочетания с ДВОА наименьшее содержание ОПГ отмечалось у пациентов с БАК и изолированным АС (Рисунок 17б).



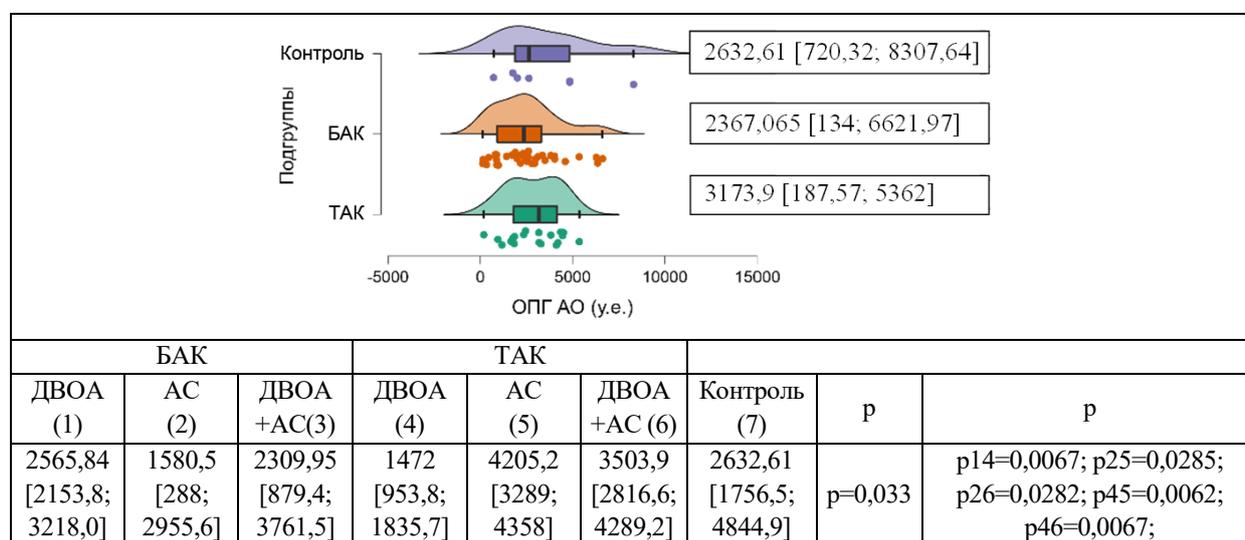
ТАК vs БАК $p=0,339$, ТАК vs контроль $p=0,105$, БАК vs контроль $p=0,017$

АК – аортальный клапан, АС – аортальный стеноз, БАК – бicuspidальный аортальный клапан, ДВОА – дилатация восходящего отдела аорты, К – контроль, ОПГ-остеопротегерин, ТАК – трикуспидальный аортальный клапан, у.е. – условные единицы

Рисунок 17 – Содержание остеопротегерина в тканях аортального клапана в зависимости от типа аортального клапана (а) и по подгруппам (б)

Наибольшее содержание ОПГ было у пациентов с ТАК. Возможно, это обусловлено тем, что именно в этой группе было наибольшее количество пациентов с сопутствующим атеросклерозом. Полученные значения содержания ОПГ в тканях аорты не отличались в изучаемых группах (Рисунок 18).

При распределении по группам содержание ОПГ в тканях аорты было выше у пациентов с ТАК в подгруппе с АС и сочетанной дилатацией аорты и АС, в сравнении с пациентами с БАК. Значимых отличий с контрольной группой доноров получено не было (Рисунок 18).

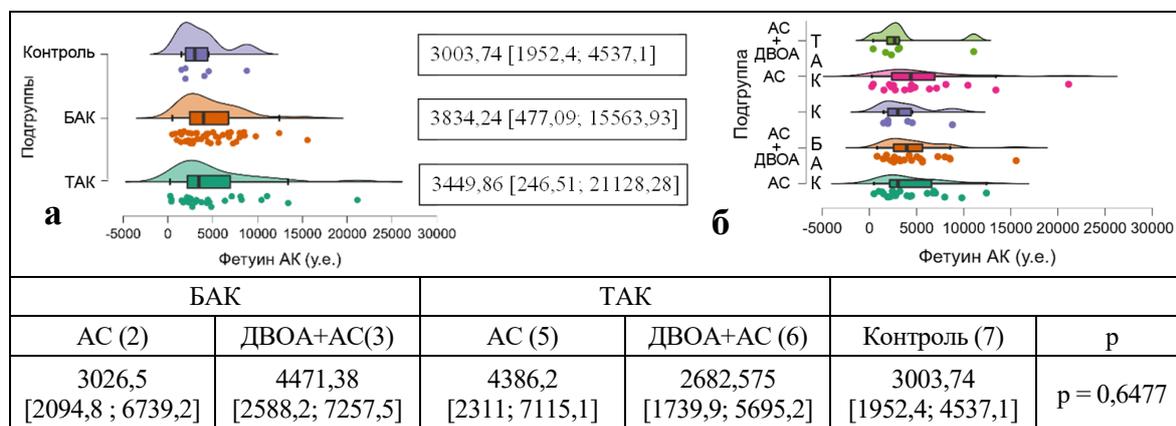


ТАК vs БАК $p=0,271$, ТАК vs контроль $p=0,583$, БАК vs контроль $p=0,348$

АО – аорта, АС – аортальный стеноз, БАК – бicuspidальный аортальный клапан, ДВОА – дилатация восходящего отдела аорты, ОПГ – остеопротегерин, ТАК – трикуспидальный аортальный клапан, у.е. – условные единицы

Рисунок 18 – Содержание остеопротегерина в тканях аорты в зависимости от типа аортального клапана и по подгруппам

Содержание фетуина-А в тканях аортального клапана в изучаемых группах не отличалось (Рисунок 19 а). При анализе содержания фетуина-А в зависимости от наличия изолированного АС или его сочетания с ДВОА значимых отличий выявлено также не было (Рисунок 19 б).

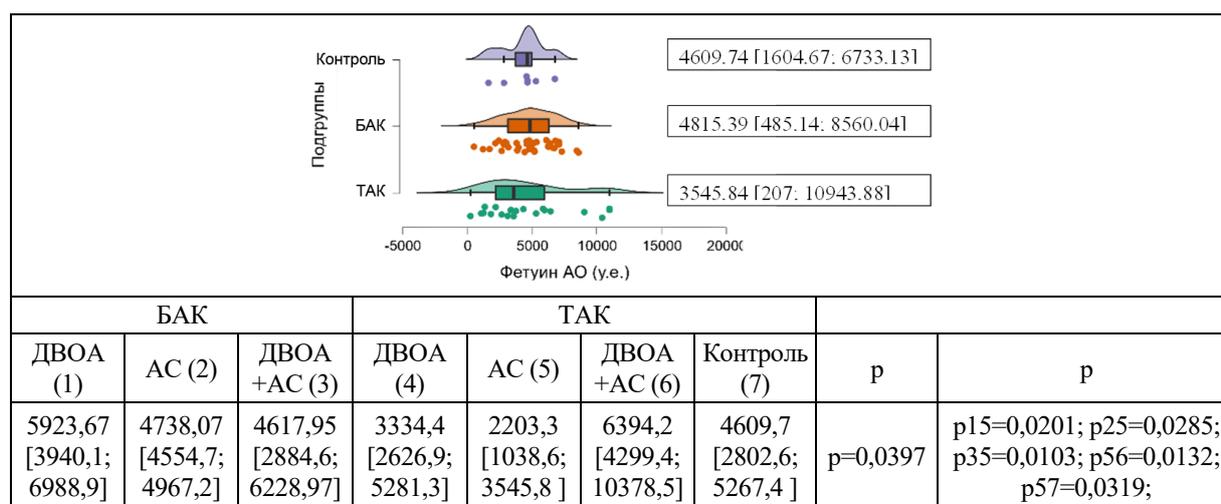


ТАК vs БАК p=0,842, ТАК vs контроль p=0,595, БАК vs контроль p=0,529

АК – аортальный клапан, АС – аортальный стеноз, БАК – бicuspidальный аортальный клапан, ДВОА – дилатация восходящего отдела аорты, К – контроль, ТАК – трикуспидальный аортальный клапан, у.е. – условные единицы

Рисунок 19 – Содержание фетуина-А в тканях аортального клапана в зависимости от типа аортального клапана (а) и по подгруппам (б)

Наименьшее содержание фетуина-А было у пациентов без ВПС, наибольшее – у пациентов с БАК. Как и содержание ОПГ в тканях аорты, оно не различалось в изучаемых группах (Рисунок 20). При распределении по группам содержание фетуина-А в тканях аорты было ниже у пациентов с ТАК в подгруппе с АС в сравнении с пациентами с БАК и донорами контрольной группы (Рисунок 20).



ТАК vs БАК p=0,339, ТАК vs контроль p=0,730, БАК vs контроль p=0,530

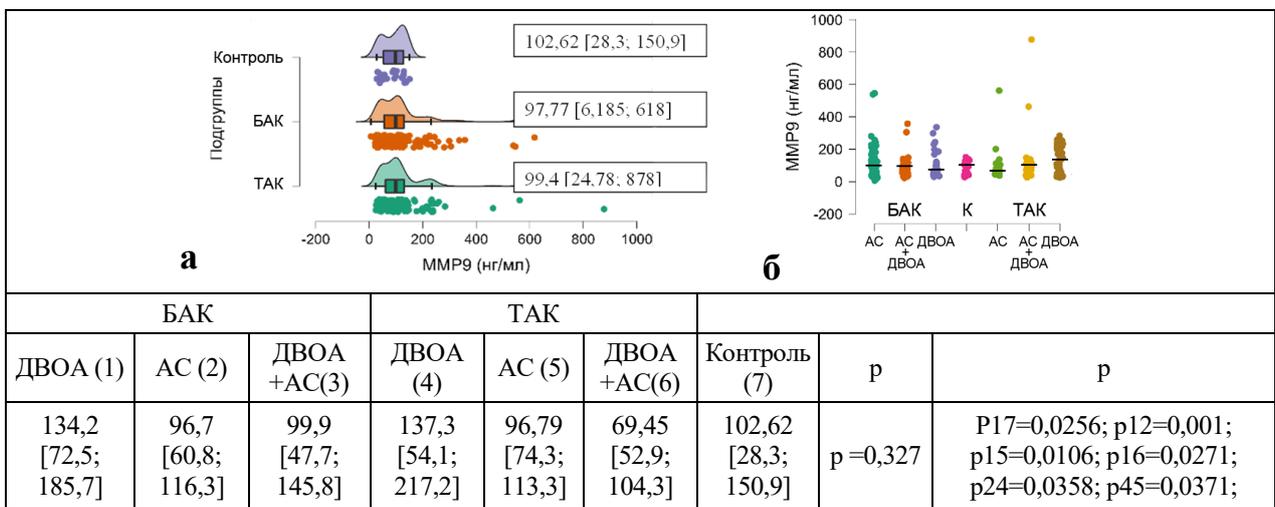
АО – аорта, АС – аортальный стеноз, БАК – бicuspidальный аортальный клапан, ДВОА – дилатация восходящего отдела аорты, ТАК – трикуспидальный аортальный клапан, у.е. – условные единицы

Рисунок 20 – Содержание фетуина-А в тканях аорты в зависимости от типа аортального клапана и по подгруппам

Для оценки клинической информативности содержания белков кальцификации в тканях также был проведен ROC-анализ: численное значение клинической информативности AUC для RANKL в клапанах было сопоставимым, у пациентов с АС показатель AUC составил 0,908, в группе пациентов с АС и ДВОА показатель AUC составил 0,89 (для пациентов с АС $p = 10^{-9}$, для пациентов с АС и ДВОА $p = 10^{-16}$). Несмотря на клиническую информативность, оценка содержания RANKL не может быть использована в рутинной клинической практике как диагностический тест, но подтверждает значимость повышенного содержания данного белка для формирования тяжелого АС.

Содержание ММП-9 в сыворотке крови у всех анализируемых пациентов, в том числе в зависимости от наличия или отсутствия БАК, существенно не отличалось от значений данного

показателя в группе сравнения (Рисунок 21а). Однако при анализе концентрации ММП-9 в зависимости от патологии выявлено повышение ММП-9 в группе пациентов с дилатацией аорты, более значимо в группе пациентов с БАК 134,2 (72,5;185,7) нг/мл и 102,6 (56,6;129,5) нг/мл соответственно, $p=0,0256$ (Рисунок 21 б). При этом наиболее низкие значения ММП-9 регистрировались у пациентов с изолированным АС, независимо от типа клапана. Кроме того, повышение ММП-9 у пациентов с БАК тесно коррелировало с диаметром синусов Вальсальвы ($r = 0,45$; $p = 0,02$). Содержание ММП-2 в сыворотке крови во всех анализируемых группах, в том числе в зависимости от типа АК, существенно не отличалось от значений данного показателя в группе сравнения (Рисунок 22 а). После разбивки пациентов на группы в зависимости от патологии анализ концентрации ММП-2 не выявил значимых отличий с группой сравнения (Рисунок 22 б). У пациентов с расширением аорты выявлены тенденции к снижению ММП-2 независимо от типа клапана, особенно у пациентов с изолированной дилатацией аорты с ТАК.

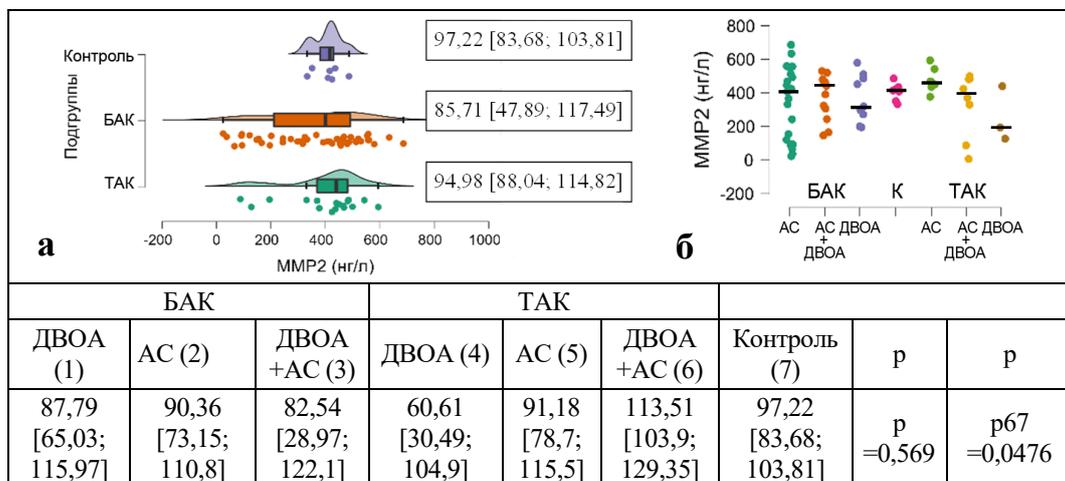


ТАК vs БАК $p=0,424$, ТАК vs контроль $p=0,858$, БАК vs контроль $p=0,810$

АС – аортальный стеноз, БАК – бicuspidальный аортальный клапан, ДВОА – дилатация восходящего отдела аорты,

К – контроль, ММП-9 – матриксная металлопротеиназа 9 типа, ТАК – трикуспидальный аортальный клапан

Рисунок 21 – Оценка концентрации матриксной металлопротеиназы-9 в сыворотке крови в зависимости от типа аортального клапана (а) и по подгруппам (б)



ТАК vs БАК $p=0,509$, ТАК vs контроль $p=0,465$, БАК vs контроль $p=0,787$

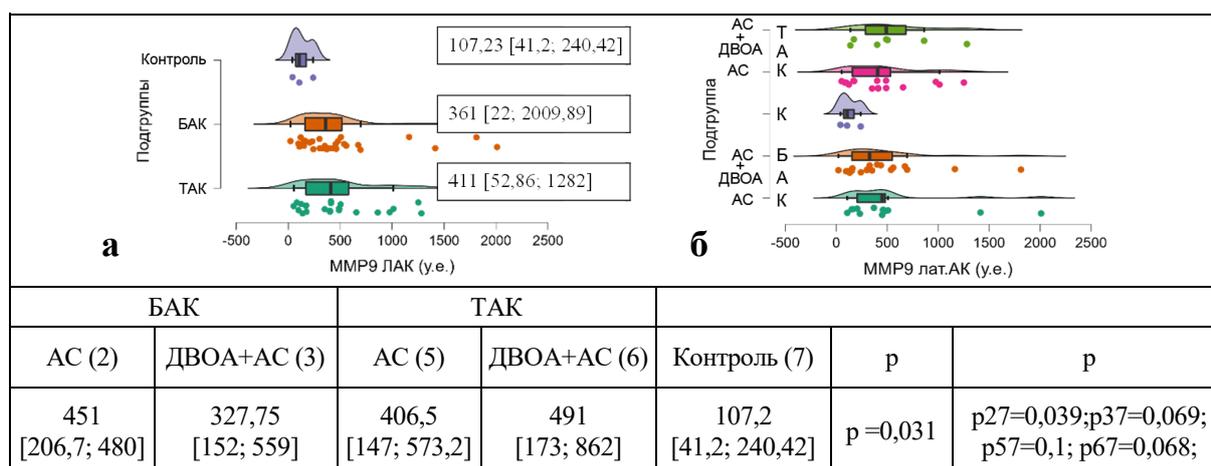
АС – аортальный стеноз, БАК – бicuspidальный аортальный клапан, ДВОА – дилатация восходящего отдела аорты,

К-контроль, ММП-2- матриксная металлопротеиназа 2 типа, ТАК – трикуспидальный аортальный клапан

Рисунок 22 – Оценка концентрации матриксной металлопротеиназы-2 в сыворотке крови в зависимости от типа аортального клапана (а) и по подгруппам (б)

Концентрация TIMP-1 в сыворотке крови у всех обследованных пациентов, в том числе в зависимости от наличия или отсутствия БАК, существенно не отличалась от значений данного показателя в группе сравнения ($p > 0,05$). После разбивки пациентов на группы в зависимости от патологии анализ концентрации TIMP-1 не выявил значимых отличий с группой сравнения. Наиболее высокие значения TIMP-1 оказались в группе пациентов с наименее низкими ММП-9. В группе пациентов с БАК и изолированным АС значения TIMP-1 были заметно ниже, чем в группе с БАК и изолированной дилатацией аорты ($p = 0,0146$).

При анализе содержания общей ММП-9 в АК различий в подгруппах в зависимости от типа клапана и в сравнении с контрольной группой выявлено не было ($p = 0,4$). Однако после разделения ММП-9 на активную и латентную формы было показано, что содержание именно латентной формы ММП-9 в АК было выше у пациентов с БАК по сравнению с контрольной группой. У пациентов с ТАК также отмечались тенденции к повышению латентной формы ММП-9 по сравнению с контрольной группой (Рисунок 23а). После разделения пациентов на группы в зависимости от патологии выявлены более высокие значения содержания латентной ММП-9 в группе пациентов с БАК и АС (Рисунок 23 б). При этом содержание активной ММП-9 в АК, как и содержание общей ММП-9, в исследуемых группах не различалось ($p = 0,87$).



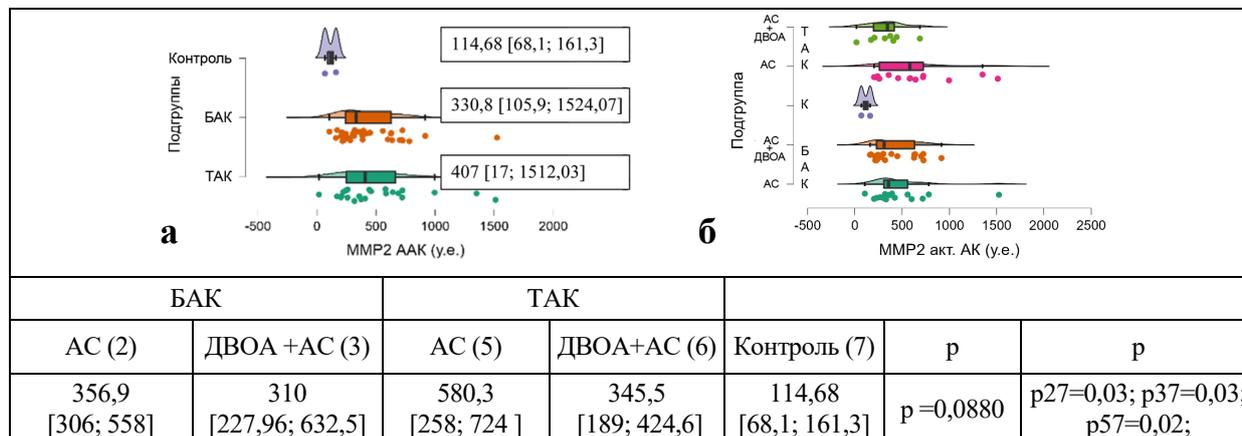
ТАК vs БАК $p=0,739$, ТАК vs контроль $p=0,059$, БАК vs контроль $p=0,043$

АК – аортальный клапан, АС – аортальный стеноз, БАК – бicuspidальный аортальный клапан, ДВОА – дилатация восходящего отдела аорты, К – контроль, ММП 9 лат. – латентная форма матричной металлопротеиназы 9 типа,

ТАК – трикуспидальный аортальный клапан, у.е. – условные единицы

Рисунок 23 – Оценка содержания матричной металлопротеиназы-9 в аортальном клапане в зависимости от типа аортального клапана (а) и по подгруппам (б)

При анализе содержания ММП-2 в АК наблюдались противоположные тенденции. В изучаемых подгруппах именно активная форма ММП-2 была выше, чем в контрольной группе, при этом содержание латентной формы ММП-2 не различалось в группах (Рисунок 24 а). Однако при анализе содержания активной формы ММП-2 в зависимости от патологии в сравнении с контрольной группой было выявлено повышение ММП-2 во всех группах пациентов с АС, но более значимо в группе пациентов с ТАК 580,3 (258;724) у.е. и 114,68 (68,1;161,3) у.е. в контрольной группе, $p = 0,0253$ (Рисунок 24 б).



ТАК vs БАК $p=0,595$, ТАК vs контроль $p=0,035$, БАК vs контроль $p=0,026$

АК – аортальный клапан, АС – аортальный стеноз, БАК – бicuspidальный аортальный клапан, ДВОА – дилатация восходящего отдела аорты, К – контроль, MMP-2 ААК – активная форма матриксной металлопротеиназы 2 типа, ТАК – трикуспидальный аортальный клапан, у.е. – условные единицы

Рисунок 24 – Оценка содержания матриксной металлопротеиназы-2 в аортальном клапане в зависимости от типа аортального клапана (а) и по подгруппам (б)

При анализе содержания общей ММП-9 в тканях аорты, как и в АК, различий в подгруппах в зависимости от типа клапана и в сравнении с контрольной группой получено не было ($p = 0,82$). Однако после разделения ММП-9 на активную и латентную форму показано, что содержание именно латентной формы ММП-9 в тканях аорты, как и в АК, было выше у пациентов с БАК 374 (44,32; 1662,81) у.е. по сравнению с контрольной группой 212,145 (106,7; 331,81) у.е., соответственно $p = 0,038$ не только у этой группы, но и у пациентов без ВПС 426 (934,22; 4486,71) у.е., соответственно $p = 0,023$.

После разбивки пациентов на группы в зависимости от патологии наименьшее содержание общей и активной ММП-9 в тканях аорты, независимо от типа клапана и в сравнении с контрольной группой, как и ожидалось, наблюдалось именно в группе пациентов с изолированным АС, но достоверно только у пациентов с БАК ($p = 0,016$). При этом содержание латентной ММП-9 в аорте, в отличие от ее содержания в АК, было выше в группе пациентов с сочетанной патологией АС у пациентов с БАК 423,4 (199,5; 1027,3) у.е. и дилатацией аорты у пациентов с ТАК 458,5 (9163,7; 352) у.е. по сравнению с контрольной группой 212,145 (106,7; 331,81) у.е., $p = 0,0144$ и $p = 0,0173$ соответственно.

При анализе содержания общей ММП-2 в тканях аорты в зависимости от типа клапана значимых отличий между группами не выявлено ($p = 0,289$), в том числе после сравнения с контрольной группой и после разбивки по подгруппам в зависимости от патологии: АС, ДВОА или их сочетания ($p = 0,47$). Отмечалось повышенное содержание в тканях аорты латентной формы ММП-2 в обеих изучаемых группах как у пациентов с ТАК 1543,82 (118; 5460,65) у.е., так и у пациентов с БАК 1421,335 (199; 7268,93) у.е., в сравнении с контрольной группой 462,737 (146; 2113) у.е., $p = 0,024$ и $p = 0,020$, соответственно. В подгруппах с сочетанной патологией АС и ДВОА латентная форма ММП-2 была выше как у пациентов с БАК 1494 (1326; 1461), так и без ВПС 2642,765 (1232; 4193,2), в сравнении с контрольной группой 462,737 (146; 2113) у.е. ($p = 0,03$ и $p = 0,01$ соответственно).

Так же, как и в АК, в тканях аорты наблюдалось повышение содержания активной формы ММП-2 в изучаемых подгруппах в сравнении с контрольной группой, но, в отличие от значений в тканях клапана, только у пациентов с БАК (416,675 (25; 1968) у.е. и 271,532 (52,78; 1712,3) у.е. в

контрольной группе, $p = 0,017$). По результатам дополнительного анализа в подгруппах было выявлено, что наибольшее содержание активной ММП-2 регистрировалось в подгруппе с БАК с сочетанной патологией как АС, так и ДВОА, по сравнению с контрольной группой (464 (236,8; 1299,2) у.е. и 271,532 (52,78; 1712,3) у.е. соответственно $p = 0,015$).

Для оценки клинической информативности содержания ММП в тканях проведен ROC-анализ: численное значение клинической информативности и значимости AUC для активной формы ММП-2 в клапанах было отличным, у пациентов с АС показатель AUC составил 0,98 ($p=10^{-6}$). Численные значения клинической информативности AUC для активной и латентной форм ММП-9 в клапанах у пациентов с сочетанной патологией ДВОА и АС составили 0,77 ($p=10^{-4}$) и 0,86, ($p=10^{-8}$) соответственно.

При помощи машинного обучения показано, что группа пациентов с БАК представляет наибольший интерес для изучения развития сочетанной патологии АС и дилатации аорты, так как повышает риск сочетанной патологии в тринадцать раз. Для построения логистических уравнений использованы качественные и количественные предикторы в различных сочетаниях. В результате проведенного анализа получено около 30 уравнений логистической регрессии, из которых производился отбор уравнений, имеющих самые высокие значения верного предсказания – более 70%. В результате, было получено уравнение регрессии с наибольшей предсказательной ценностью совокупности предикторов.

Принимался пошаговый порядок включения отобранных предикторов в уравнение с указанием процента верного предсказания на каждом шаге и коэффициентов регрессии. Уровень значимости для включения предикторов в уравнение регрессии задавался таким, чтобы достигнутый уровень значимости критерия Вальда χ^2 для каждого предиктора по окончании пошаговой процедуры не превышал 10%. Пошаговый порядок (Step) включения отобранных предикторов (Variable) в уравнение с указанием процента верного предсказания на каждом шаге и коэффициентов регрессии отражен в Таблице 6, по которой можно проследить динамику предсказательной ценности предикторов и далее их совокупности при оценке уравнения логистической регрессии в целом. Для пациентов с БАК и АС предикторами развития ДВОА было сочетание факторов: курения, высокого САД и низкого фетуина-А в сыворотке крови.

Таблица 6 – Результаты пошаговой процедуры логистической регрессии

Step	Variable	Статистика Вальда χ^2	Стандартизованный коэффициент Регрессии	Процент верного предсказания	p
1	Курение	8,4947	0,3753	44,4	<0,0001
2	САД офис.	5,2590	0,4089	74,6	<0,0001
3	Фетуин А	9,4045	-0,3385	78,9	<0,0001

Примечание: САД офис – систолическое артериальное давление офисное

Для оценки качества полученной модели, кроме процента верных отнесений, использовалось построение ROC-кривой. Оценивалась площадь под ROC-кривой, которая составила 0,7894. Полученные значения площади указывают на высокое качество данной математической модели для прогнозирования риска дилатации аорты у пациентов с БАК и аортальным стенозом.

Для прогноза развития АС у пациентов с БАК и ДВОА также построены логистические уравнения, в которых использовались количественные и качественные предикторы в различных сочетаниях, а также пошаговый алгоритм включения.

Пошаговый порядок (Step) включения отобранных предикторов (Variable) в уравнение с указанием процента верного предсказания на каждом шаге и коэффициентов регрессии отражен в Таблице 7. У пациентов с БАК и ДВОА наиболее неблагоприятной совокупностью факторов риска развития АС являются: мужской пол, АН, повышение в сыворотке крови креатинина, ОХС, ОПГ и sRANKL.

Площадь под ROC-кривой составила 0,8556. Полученные значения указывают на высокое качество данной математической модели для прогнозирования риска АС у пациентов с БАК и дилатацией аорты.

Для удобства и простоты практического применения предлагаемой математической модели созданы вероятностные калькуляторы развития дилатации аорты у пациентов с БАК и АС и риска развития АС у пациентов с БАК и ДВОА на базе табличного Excel в составе стандартного пакета программ MS Office 2010.

Таблица 7 – Результаты пошаговой процедуры логистической регрессии

Step	Variable	Статистика Вальда Chi ²	Стандартизованный коэффициент Регрессии	Процент верного предсказания (%)	p
1	Пол	6,3447	0,3490	51,7	<0,0001
2	sRANKL	4,9560	0,3077	77,8	<0,0001
3	ОХС	3,9834	0,3224	80,2	<0,0001
4	АН	6,5269	0,3649	82,3	<0,0001
5	ОПГ	5,7998	0,3195	84,3	<0,0001
6	Креатинин	5,2356	0,3237	85,6	<0,0001

Примечание: АН – аортальная недостаточность, ОПГ – остеопротегерин, ОХС – общий холестерин, sRANKL – растворимый лиганд рецептора-активатора ядерного транскрипционного фактора каппа – В

В результате проведенного анализа у больных с АС выявлены шесть генетических вариантов в кодирующей области гена *NOTCH1*, три из которых приводят к аминокислотной замене. Были обнаружены два новых, вероятно патогенных, гетерозиготных варианта: E1305K, расположенный в экзоне 24, и D1267N, расположенный в экзоне 23. Как в исследуемой, так и в контрольной группах идентифицирован один несинонимичный гетерозиготный вариант R1279H. Все три миссенс варианта D1267N, R1279H и E1305K найдены в сайте связывания белка Notch1 с DLL4, которые являются высокопатогенными и могут влиять на белок-белковые взаимодействия Notch1 с DLL4 путем нарушения эндотелиально-мезинхимального перехода, приводя к изменению типа створок и формированию АС (Рисунок 25).

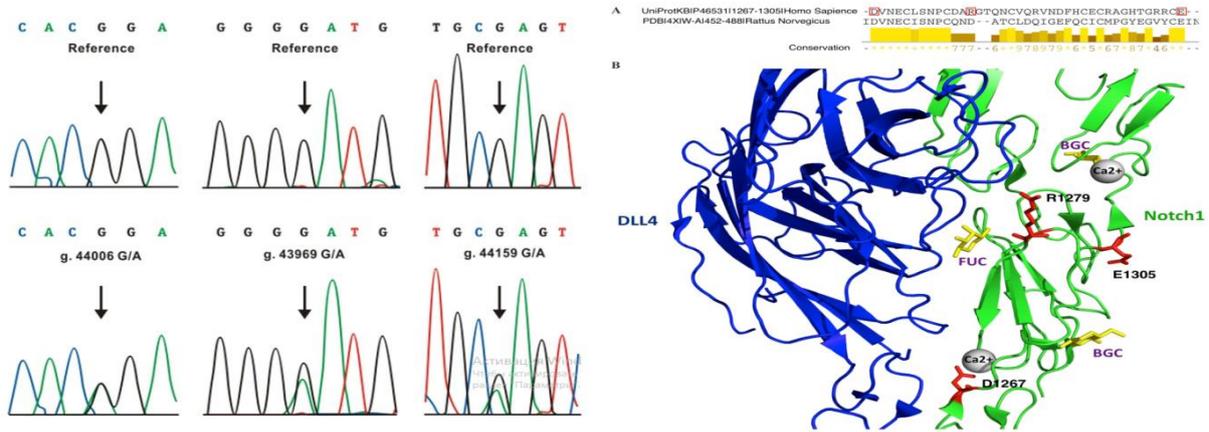


Рисунок 25 – Локализация миссенс-вариантов в гене *NOTCH1*.

CA – связывающий домен EGF NOTCH1

Такой же анализ проведен у пациентов с ДВОА, в том числе при сочетании ДВОА с АС. В результате выявлены пять новых и редких несинонимичных генетических вариантов (Рисунок 26). Варианты P1227S, E1305K, D1267N являются высокопатогенными и могут приводить к изменению функций белка, тогда как варианты S2449R, R1279H и E694K являются доброкачественными. Среди патогенных вариантов P1227S, E1305K и D1267N находятся во внеклеточных кальций-связывающих доменах белка Notch1 и, как в случае с АС, влияют на взаимодействие с лигандом DLL4.

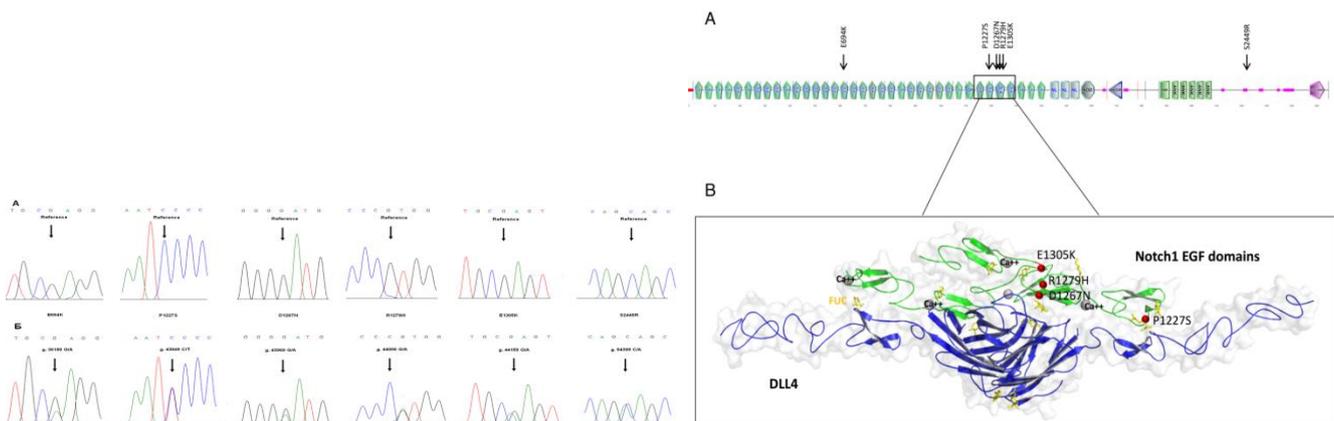


Рисунок 26 – Локализация миссенс-вариантов в гене *NOTCH1*.

Структура домена EGF CA в белке Notch1

С учетом выявленных новых вариантов при анализе гена *NOTCH1*, преимущественно у пациентов с АС или его сочетанием с ДВОА, дополнительно этой категории пациентов выполнено секвенирование нового поколения с использованием панели из 20 генов, кодирующих белки-компоненты Notch-сигнального пути. У шести пациентов были выявлены новые и редкие ранее описанные генетические варианты в генах сигнального каскада Notch1 (*DTX4*, *NOTCH1*, *DTX1*, *DVL2*, *DTX3L*, *DVL3*). Все эти пациенты были с БАК, у четырех из них были сопутствующие заболевания АС и ДВОА на момент включения в исследование (Таблица 8).

Таблица 8 – Варианты генов неизвестной клинической значимости сигнального пути Notch1 у пациентов с изолированным аортальным стенозом или сочетанием с дилатацией восходящего отдела аорты

Пациент	Классификация согласно ACMG	Ген	Позиция (GRCh38) и номенклатура	rs	MAF% GnomAd	Предсказанный эффект SIFT	Предсказанный эффект FATHM
М 61 год АС+ДВОА ДА = 46	ВП	DTX4 АГ/ИБС-1 XCH-0	chr11: 59204760: G>A NM_015177.2:c.1711G>A (V571I)	rs376862310 NM_015177.2	0.002	П	П
М 53 года Изолированный АС ДА = 35	ВП	NOTCH1	chr9: 136513042:T>C NM_017617.5:c.2446A>G (p.N816D)	rs1589064290	-	В	П
	ВП	DTX1	chr12: 113058440:G>A NM_004416.3:c.248G>A (p.R83H)	rs772474000	0.002	П	П
М 52 года АС+ДВОА ДА = 40	ВП	DVL2	chr17: 7116041:G>A NM_004422.3:c.2035C>T (p.P679S)	rs147610025	0.006	В	П
Ж 53 года Изолированный АС ДА = 38	ВП	NOTCH1	chr9: 1365082375: G>A NM_017617.5:c.3322C>T (p.Q1108X)	-	-	П	П
М 49 лет АС+ДВОА, ДА = 46,	ВП	DTX3L	chr3: 122568647: A>C NM_138287.3: c.558A>C (p.Q186H)	-	-	В	В
Ж 61 год АС+ДВОА ДА=41	ВП	DVL3	chr3: 184166219: C>A NM_004423.4: c.857C>A (p.A286D)	-	-	П	П

Примечание: АС – аортальный стеноз, В – доброкачественный вариант, ВП – вероятно-патогенный вариант в соответствии с классификацией ACMG, ДА – диаметр аорты в восходящем отделе, ДВОА – дилатация восходящего отдела аорты, П – патогенный вариант

Вариант p.Asn816Asp в комплексе NOTCH1/DLL4 локализован в месте контакта двух белков и может играть важную роль в их связывании (Рисунок 27 а В, С). Терминирующая замена в положении 1108 (p.Gln1108Ter) может быть важна для связывания с белком POFUT1 и иметь решающее значение в формировании альфа-спирали в 29 EGF домене (Рисунок 27 б С, D).

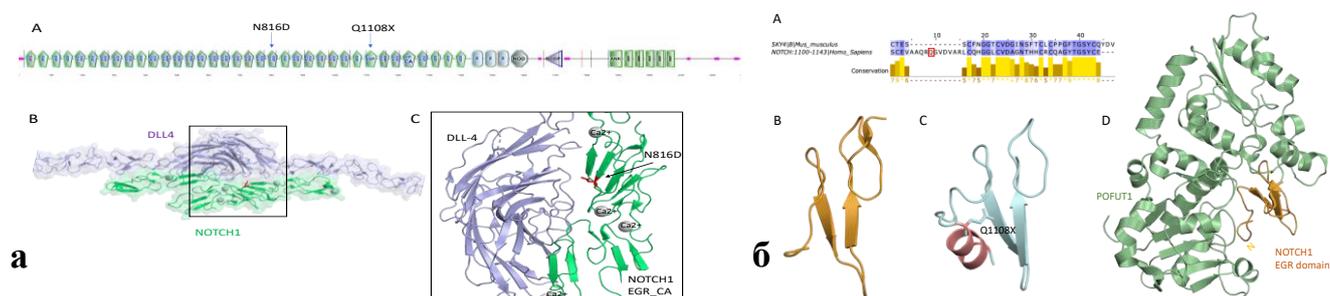


Рисунок 27 – Структура домена EGF CA в белке Notch1. EGR-подобный домен NOTCH1

В дополнение проведенный анализ генетических ассоциаций полиморфных вариантов выявил повышенную частоту аллеля С интронного варианта rs3812603 в контрольной группе по сравнению с группой пациентов с АС, что может свидетельствовать о протективной роли данного аллеля в отношении аортального стеноза, вне зависимости от типа аортального клапана.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты настоящего исследования продемонстрировали роль бicuspidального аортального клапана как в формировании аортального стеноза, дилатации восходящего отдела аорты, так и их сочетания. Достаточно невысокая частота бicuspidального аортального клапана в 5 раз повышает риск развития аортального стеноза, но при этом не является значимым фактором риска развития дилатации восходящего отдела аорты. Одной из возможных причин формирования аортального стеноза является нарушение в системе остеопротегерин/RANKL/RANK, отвечающей за кальцификацию с учетом данных генетического анализа, в том числе за счет наличия патогенных вариантов в сигнальном пути Notch, преимущественно у пациентов с бicuspidальным аортальным клапаном. Определение матричных металлопротеиназ 2 и 9 типов не рекомендовано к использованию в рутинной практике для оценки риска развития дилатации восходящего отдела аорты, так как они не обладают достаточной специфичностью и чувствительностью, в то время как для остеопротегерина, sRANKL, фетуина-А в настоящем исследовании определены пороговые концентрации риска развития аортального стеноза как в общей популяции, так и у пациентов с бicuspidальным аортальным клапаном при наличии дилатации восходящего отдела аорты (эти показатели вошли в калькулятор расчета риска развития аортального стеноза). Также продемонстрирована роль не только гена *NOTCH1*, но и всего сигнального пути Notch, преимущественно у пациентов с бicuspidальным аортальным клапаном, что доказывает различный патогенез формирования аортального стеноза и дилатации восходящего отдела аорты у пациентов в зависимости от типа аортального клапана, в связи с чем требует различных подходов в диагностике и показаниях к хирургическому лечению.

ВЫВОДЫ

1. По данным базы медицинской информационной системы Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр имени В.А. Алмазова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, частота выявления бicuspidального аортального клапана в изучаемой группе составляет 1,8%, у пациентов с аортальным стенозом – 8%, с дилатацией восходящего отдела аорты – 5%. Бicuspidальный аортальный клапан ассоциирован с повышением риска развития аортального стеноза в пять раз, сочетанной патологии: аортального стеноза и дилатации восходящего отдела аорты - в тринадцать раз.

2. Наиболее важными модифицируемыми и немодифицируемыми факторами риска развития дилатации восходящего отдела аорты являются: возраст, мужской пол, ускорение кровотока на аортальном клапане, аортальный стеноз и уровень артериального давления. Факторами риска развития аортального стеноза являются: возраст, уровень артериального давления, дилатация восходящего отдела аорты, аортальная недостаточность и бicuspidальный аортальный клапан

3. У пациентов с бicuspidальным аортальным клапаном факторами риска дилатации восходящего отдела аорты и аортального стеноза являются: пол, возраст, избыточная масса тела и гиперлипидемия. Дополнительным фактором риска дилатации аорты является аортальная недостаточность.

4. Содержание матричных металлопротеиназ 2 и 9 типов в тканях различаются у пациентов с бicuspidальным аортальным клапаном и трикуспидальным аортальным клапаном. У пациентов с бicuspidальным аортальным клапаном развитие дилатации восходящего отдела аорты связано с

повышением концентрации циркулирующей матриксной металлопротеиназы 9 типа в сыворотке крови. Отсутствие диагностической ценности исследования матриксных металлопротеиназ 2 и 9 типов в сыворотке крови, несмотря на значимые изменения содержания активной и латентной форм матриксной металлопротеиназы 9 типа в тканях, является ограничением к их использованию в клинической практике.

5. Биомаркеры кальцификации в сыворотке крови с пороговым значением для фетуина-А ниже 271 мкг/мл, для остеопротегерина выше 7,9 пмоль/л и для sRANKL выше 0,58 пмоль/л могут быть использованы у пациентов старше 40 лет как дополнительные предикторы риска развития аортального стеноза, независимо от типа клапана.

6. Совокупность предикторов: курение, артериальная гипертензия и снижение фетуина-А – позволяет прогнозировать риск развития дилатации восходящего отдела аорты у пациентов с бicuspidальным аортальным клапаном и аортальным стенозом с предсказательной ценностью 78,9%. Совокупность предикторов: пол, креатинин, общий холестерин, аортальная недостаточность, остеопротегерин и sRANKL – позволяет прогнозировать у пациентов с бicuspidальным аортальным клапаном риск развития аортального стеноза и дилатации восходящего отдела аорты с предсказательной ценностью 85,6%.

7. Развитие аортального стеноза и дилатации восходящего отдела аорты связано с редкими и уникальными функционально значимыми вариантами в генах *Notch1* сигнального пути (*NOTCH1*, *DVL3*).

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. У пациентов с аортальным стенозом и/или дилатацией восходящего отдела аорты, независимо от типа аортального клапана, в процессе динамического наблюдения целесообразно контролировать модифицируемые факторы риска, такие как артериальное давление, функция почек, дислипидемия.

2. С учетом бессимптомности и высокой частоты случайного выявления дилатации восходящего отдела аорты при наличии факторов риска (возраст старше 40 лет, мужской пол, курение, повышение креатинина) следует рассмотреть возможность скринингового выполнения трансторакального эхокардиографического исследования.

3. Низкая выявляемость инфекционного эндокардита у пациентов с аортальным стенозом на дооперационном этапе требует более тщательного сбора жалоб и анамнеза. У пациентов с кальцинозом аортального клапана и лихорадкой неясного генеза в случае отсутствия вегетаций на аортальном клапане по данным трансторакального эхокардиографического исследования и при отрицательном бактериологическом исследовании необходимо проведение чреспищеводного эхокардиографического исследования для исключения вторичного инфекционного эндокардита.

4. Оценку риска развития аортального стеноза целесообразно проводить с помощью определения концентрации остеопротегерина, sRANKL, фетуина-А в сыворотке крови в качестве дополнительных предикторов у пациентов старше 40 лет, независимо от наличия или отсутствия бicuspidального аортального клапана. Пороговые значения: остеопротегерин выше 7,9 пмоль/л, sRANKL выше 0,58 пмоль/л, фетуин-А ниже 274 мкг/мл.

5. Уточнение риска развития аортального стеноза и дилатации восходящего отдела аорты у пациентов с бicuspidальным аортальным клапаном возможно проводить с использованием разработанных калькуляторов риска. У пациентов с бicuspidальным аортальным клапаном и

аортальным стенозом для прогнозирования риска дилатации аорты целесообразно использовать предиктивную шкалу, содержащую совокупность факторов: курение, артериальная гипертензия и снижение фетуина-А. С целью прогнозирования риска развития аортального стеноза у пациентов с бicuspidальным аортальным клапаном и дилатацией восходящего отдела аорты рекомендовано использовать предиктивную шкалу, содержащую совокупность предикторов: пол, креатинин, общий холестерин, аортальная недостаточность, остеопротегерин и sRANKL.

6. Проведение секвенирования по методу Сэнгера, а также проведение полноэкзомного секвенирования в качестве диагностического метода первой линии для верификация причины аортального стеноза и/или дилатации восходящего отдела аорты у пациентов, независимо от типа аортального клапана, не рекомендуется.

ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ

Поиск мишеней для лекарственной терапии у пациентов с аортальным стенозом и дилатацией аорты в целях остановки прогрессирования заболеваний и освобождения их от хирургического лечения является актуальной задачей в настоящее время. Результаты проведенного исследования, доказывающего роль системы остеопротегерин/RANKL/RANK, могут рассматриваться как дополнительные подходы к таргетной терапии прогрессирования аортального стеноза. Необходимой является дальнейшая оценка всех полученных результатов в процессе проспективного наблюдения для выявления новых факторов риска быстрого прогрессирования дилатации восходящего отдела аорты или аортального стеноза у пациентов в зависимости от типа аортального клапана, что позволит определить дополнительные критерии при принятии решения об объеме хирургического вмешательства.

СПИСОК ОСНОВНЫХ ПУБЛИКАЦИЙ АВТОРА ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО ИССЛЕДОВАНИЯ

1. **Kostina, D. Functional properties of smooth muscle cells in ascending aortic aneurysm / Kostina D., Voronkina I., Smagina L., Gavriliuk N., Moiseeva O., Irtiuga O., Uspensky V., Kostareva A., Malashicheva A. // Cell and Tissue Biology.- 2014.- Vol. 8. -№ 1. - P. 61-67.**
2. **Kostina, A. Notch-dependent EMT is attenuated in patients with aortic aneurysm and bicuspid aortic valve / Kostina, A., Uspensky V., Irtiuga O., Ignatieva E., Freylikhman O., Gavriliuk N., Moiseeva O., Zhuk S., Tomilin A., Kostareva A., Malashicheva A. // Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease. – 2016. – Vol. 1862. – №. 4. – P. 733-740.**
3. **Irtiuga, O. NOTCH1 mutations in aortic stenosis association with osteoprotegerin/RANK/RANKL / Irtiuga O., Malashicheva A., Zhiduleva E. [et al.] // BioMed research international. – 2017. – Vol. 2017. – P.6917907.**
4. **Ignatieva, E. Mechanisms of Smooth Muscle Cell Differentiation Are Distinctly Altered in Thoracic Aortic Aneurysms Associated with Bicuspid or Tricuspid Aortic Valves / Ignatieva E., Kostina D., Irtiuga O. [et al.] // Frontiers in physiology. – 2017. – Vol. 8. – P. 536.**
5. **Zhiduleva, E. Cellular mechanisms of aortic valve calcification / Zhiduleva E., Irtiuga O., Shishkova A. [et al.] // Bulletin of Experimental Biology and Medicine. – 2018. – Vol. 164. – №. 3. – P. 371-375.**
6. **Kostina, A. Different Notch signaling in cells from calcified bicuspid and tricuspid aortic valves / Kostina A., Shishkova A., Ignatieva E., Irtiuga O., Bogdanova M., Levchuk K., Golovkin A.,**

Zhiduleva E., Uspenskiy V., Moiseeva O., Faggian G., Vaage J., Kostareva A., Rutkovskiy A., Malashicheva A. // *Journal of molecular and cellular cardiology*. – 2018. – Vol. 114. – P.211 - 219.

7. Malashicheva A. Osteogenic potential of adipose mesenchymal stem cells is not correlated with aortic valve calcification / Malashicheva A., Irtyuga O. Kostina A. [et al.] // *Biological Communications*.- 2018. - Vol. 63. -№ 2. - P. 117-122.

8. Voronkina, I. Expression of osteoprotegerin and soluble ligand of receptor of kappa-B transcription factor activator in the calcification of aortic valve / Voronkina I., Irtyuga O., Smagina L. [et al.] // *Biomeditsinskaya khimiya*. – 2019. – Vol. 65. – №. 1. – P. 57-62.

9. Malashicheva A. Notch signaling in the pathogenesis of thoracic aortic aneurysms: A bridge between embryonic and adult states / Malashicheva A., Kostina A., Kostareva A., Irtyuga O., Uspenskiy V. // *Biochimica Et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease*. – 2020. – Vol. 1866. – №. 3. – P. 165631.

10. Metsker O. Dynamic Aortic Aneurism Risk Factors / Metsker O., Kopanitsa G., Irtyuga O. [et al.] // *Studies in Health Technology and Informatics*. 2021. – P. 130-135.

11. Irtyuga, O. Application of Machine Learning Methods to Analyze Occurrence and Clinical Features of Ascending Aortic Dilatation in Patients with and without Bicuspid Aortic Valve / Irtyuga O., Kopanitsa G., Kostareva A. [et al.] // *Journal of Personalized Medicine*. – 2022. – Vol. 12. – №. 5. – P. 794.

12. Иртюга, О. Б. Активность матриксных металлопротеиназ у больных с аневризмой восходящего отдела аорты различной этиологии / Иртюга О.Б., Воронкина И.В., Смагина Л.В. [и др.] // *Артериальная гипертензия*. – 2010. – Т. 16. – №. 6. – С. 587-591.

13. Иртюга, О. Б. Механизмы формирования аневризмы восходящего отдела аорты различной этиологии / Иртюга О.Б., Гаврилюк Н.Д., Воронкина И.В. [и др.] // *Российский кардиологический журнал*. – 2013. – Т. 99. - №. 1. – С. 14-18.

14. Иртюга, О. Б. Особенности патогенеза аортального стеноза у пациентов с артериальной гипертензией / Иртюга О.Б., Жидулева Е.В., Казакова Е.Е. [и др.] // *Артериальная гипертензия*. – 2013. – Т. 19. – №. 6. – С. 495-501.

15. Иртюга, О. Б. / Концентрация остеопротегерина и растворимого лиганда рецептора активатора фактора транскрипции каппа В в сыворотке крови у пациентов с аортальным стенозом // Иртюга О.Б., Жидулева Е.В., Дубровская О.Б. [и др.] // *Кардиология*. – 2014. – Т. 54. – №. 6. – С. 44-48.

16. Иртюга, О. Б. Роль остеопонтинина и матриксной металлопротеиназы -9 в формирование аневризмы грудного отдела аорты / Иртюга О.Б., Дружкова Т.А., Гаврилюк Н.Д. [и др.] // *Российский кардиологический журнал*. – 2015. – Т. 123. - №. 7. – С. 73-77.

17. Татаринова, Т.Н. Роль мутаций гена *NOTCH* в развитии пороков сердца и сосудов / Татаринова Т.Н., Фрейлихман О.А., Костарева А.А., Иртюга О.Б., Малашичева А.Б., Моисеева О.М. // *Трансляционная медицина*. – 2015. Т.31-32, № 2-3. - С.84-89.

18. Гаврилюк, Н. Д. Аневризма восходящего отдела аорты: от молекулярно-генетических особенностей патогенеза до выбора метода лечения. *Трансляционная медицина* / Гаврилюк Н.Д., Успенский В.Е., Малашичева А.Б., Иртюга О.Б., Дружкова Т.А., Костина Д.А., Воронкина И.В., Жлоба А.А., Жуков В.А., Жернаков А.И., Ибрагимов А.Н., Моисеева О.М., Гордеев М.Л. // *Трансляционная медицина*. – 2016. – Т. 3. – №. 1. – С. 6-20.

19. Иртюга, О.Б. Патогенетические механизмы кальцификации аортального клапана: анализ собственных данных / Иртюга О.Б., Жидулева Е.В., Малашичева А.Б. [и др.] // Трансляционная медицина. – 2016. – Т. 3. – №. 1. – С. 21-28.
20. Жидулева, Е. В. Биомаркеры костного метаболизма при аортальном стенозе: роль дефицита витамина D / Жидулева Е.В., Иртюга О.Б., Муртазалиева П.М. [и др.] // Российский кардиологический журнал. – 2016. – Т. 139. - №. 11. – С. 54-59.
21. Гордеев, М. Л. Хирургическое лечение аневризм восходящего отдела аорты / Гордеев М. Л., Успенский В. Е., Ибрагимов А. Н., Щербинин Т. С., Баканов А. Ю., Иртюга О. Б., Гаврилюк Н. Д., Моисеева О. М. // Кардиология и сердечно-сосудистая хирургия. – 2016. – Т. 9. – №. 3. – С. 42-50.
22. Жидулева, Е.В. Клеточные механизмы кальцификации аортального клапана / Жидулева Е.В, Иртюга О.Б., Шишкова А.А. [и др.] // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2017. – Т. 164. – №. 9. – С. 356-360.
23. Иртюга, О. Б. Роль системы остеопротегерина /Rank1/Rank в патогенезе аортального стеноза / Иртюга О.Б., Жидулева Е.В., Муртазалиева П.М. [и др.] // Российский кардиологический журнал. – 2018. – №. 2. – С. 39-43.
24. Иртюга, О. Б. Роль гена *NOTCH1* в формировании аневризмы аорты / Иртюга О.Б., Фрейлихман О.А., Кривоносов Д.С. [и др.] // Российский кардиологический журнал. – 2018. – №. 7. – С. 53-59.
25. Иртюга, О. Б. Частота выявления и клиническая значимость латентного инфекционного эндокардита у пациентов с аортальным стенозом / Иртюга О.Б., Чистякова В.И., Тенчурина А.О. [и др.] // Российский кардиологический журнал. – 2019. – №. 11. – С. 10-15.
26. Костина, Д.А. Молекулярные механизмы сосудистой кальцификации / Костина Д.А., Успенский В.Е., Семенова Д.С., Костина А.С., Боярская Н.В., Иртюга О.Б., Малашичева А.Б. // Трансляционная медицина. – 2020. – Т. 7. – №. 1. – С. 6-21.
27. Иртюга, О. Б. Ведение пациентов с приобретенными клапанными пороками сердца при некардиохирургических вмешательствах / Иртюга О.Б., Малев Э.Г., Гордеев М.Л. // Российский кардиологический журнал. – 2021. – №. 8. – С. 133-138.
28. Пугина, М.Ю. Патоморфологические особенности осложнений у пациентов с бicuspidальным аортальным клапаном. / Пугина М.Ю., Гареев Д.А., Коржова М.А., Антонова И.В., Шадрина У.М., Бабакехян М.В., Воронкина И.В., Успенский В.Е., Гордеев М.Л., Митрофанова Л.Б., Иртюга О.Б. // Южно-Российский журнал терапевтической практики. – 2023. – Т.4 – №3. – С.62-69.

СПИСОК ЗАРЕГИСТРИРОВАННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ ДЕЯТЕЛЬНОСТИ АВТОРА ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО ИССЛЕДОВАНИЯ

1. Иртюга, О.Б. Регистрация пациентов с различной степенью тяжести аортального стеноза (РАС). / Иртюга О.Б., Муртазалиева П.М., Жидулева Е.В. [и др.] // Свидетельство о регистрации базы данных 2015620910 заявка №2015620240 от 20.03.2015г. дата регистрации 11.06.2015
2. Иртюга, О.Б. Регистрация пациентов с дилатацией восходящего отдела аорты (РАВОА). /Иртюга О.Б., Гордеев М.Л., Козленок А.В. [и др.] // Свидетельство о регистрации базы данных 2016611200. Заявка №2016620912 от 05.07.2016 дата регистрации от 01.09.2016

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ СОКРАЩЕНИЙ

АГ – артериальная гипертензия	СРБ – С-реактивный белок
АД – артериальное давление	ТАК – трикуспидальный аортальный клапан
АК – аортальный клапан	у.е. – условные единицы
АН – аортальная недостаточность	ФВ – фракция выброса
АР – аортальная регургитация	ФП – фибрилляция предсердий
АС – аортальный стеноз	ХРБС – хроническая ревматическая болезнь сердца
БАК – бicuspidальный аортальный клапан	ХОБЛ – хроническая обструктивная болезнь легких
ВПС – врожденный порок сердца	ХС-ЛПНП – холестерин липопротеидов низкой плотности,
ГЛП – гиперлипидемия	ХС-ЛПВП – холестерин липопротеидов высокой плотности
ДАД – диастолическое артериальное давление	ХСН – хроническая сердечная недостаточность
ДВОА – дилатация восходящего отдела аорты	ЭХО-КГ – эхокардиография
ИБС – ишемическая болезнь сердца	RANK - рецептор - активатор ядерного транскрипционного фактора каппа - В
ИМТ – индекс массы тела	RANKL - лиганд рецептора - активатора ядерного транскрипционного фактора каппа - В
ИФА – иммуноферментный анализ	sRANKL - растворимый лиганд рецептора-активатора ядерного транскрипционного фактора каппа – В
ИЭ – инфекционный эндокардит	ТИМР-1 – тканевой ингибитор матриксных металлопротеиназ 1 типа
К – контроль	
ЛЖ – левый желудочек	
ММП-9 – матриксная металлопротеиназа 9 типа	
ММП-2 – матриксная металлопротеиназа 2 типа	
ОПГ – остеопротегерин	
ОХС – общий холестерин	
ПД – пульсовое давление	
САД – систолическое артериальное давление	
СД – сахарный диабет	