

РОЛЬ НАСЛЕДСТВЕННЫХ МЕХАНИЗМОВ В ВОЗНИКНОВЕНИИ СКЛЕРО-ДЕГЕНЕРАТИВНЫХ ПОРАЖЕНИЙ АОРТАЛЬНОГО КЛАПАНА

Парфенова Н. Н.^{1,2}, Хасанова С. И.^{1,2}, Митрофанова Л. Б.², Дубова Е. В.², Земцовский Э. В.^{1,2}

Цель. Выявить роль наследственных механизмов в возникновении склеро-дегенеративных поражений аортального клапана.

Материал и методы. Клиническое, фенотипическое и ЭхоКГ – обследование 180 лиц зрелого и пожилого возраста (средний возраст – 63,8±9 лет; м – 102, ж – 78,); 86 из них с кальцифицирующим аортальным стенозом, в том числе – 55 после протезирования аортального клапана, 61 человек – контрольная группа. Диагностика ДСиФ проводилась согласно Российским национальным рекомендациям по ННСТ (2009). Проведено гистологическое, морфологическое и иммуногистохимическое исследование с антителами к TGF-β удаленных клапанов.

Результаты. Марфаноидная внешность является одним из наиболее распространенных диспластических фенотипов. Чем больше костных признаков дисплазии соединительной ткани, тем больше степень выраженности аортального стеноза. Мезенхимальная дисплазия встречается в 36% случаев критического аортального стеноза. В большинстве удаленных аортальных клапанов обнаружена экспрессия антигена TGF-β.

Заключение. Выявленная взаимосвязь между марфаноидной внешностью и кальцифицирующим аортальным стенозом дает возможность предполагать наличие генетически обусловленной связи между ними и рассматривать этот фенотип как вероятный предиктор обызвествления аортального клапана.

Российский кардиологический журнал 2013; 1 (99): 50-53

Ключевые слова: наследственные нарушения соединительной ткани, марфаноидная внешность, кальцифицирующий аортальный стеноз.

Замена аортального клапана по поводу критического кальцифицирующего аортального стеноза (КАС) сегодня является обычной хирургической операцией. КАС характеризуется длительным бессимптомным течением и быстрым прогрессированием после манифестации клинических проявлений. В перечне известных факторов риска возникновения КАС наследственные нарушения соединительной ткани (ННСТ) практически не упоминаются. Вместе с тем, литературные данные о роли трансформирующего фактора роста бета (TGF-β) в развитии синдрома Марфана, характеризующегося как патологией восходящего отдела аорты, так и скелетными нарушениями, дают основание думать о существовании взаимосвязи между некоторыми наследственными синдромами и КАС [1, 2]. Недавние исследования клинической значимости марфаноидной внешности как фенотипа позволили выявить его роль в изменении характера вегетативной регуляции ритма сердца у лиц молодого возраста и в развитии аритмического синдрома у пациентов с ИБС [3–5]. Взаимосвязь скелетных признаков дизэмбриогенеза и марфаноидной внешности как одного из диспластических фенотипов со склеро-дегенеративными поражениями аорты (СДПА) еще не изучена. Не рассматривался также и вклад мезенхимальной дисплазии (МД), которую принято оценивать как морфологическое подтвер-

¹ ГБОУ ВПО Санкт-Петербургский государственный педиатрический Медицинский Университет МЗ и СР РФ; ² ГБУ Федеральный центр сердца, крови и эндокринологии им. В. А. Алмазова МЗ и СР РФ, Санкт-Петербург, Россия.

Парфенова Н. Н.* – вед. н. сотрудник НИЛ соединительнотканых дисплазий, доцент кафедры пропедевтики внутренних болезней с курсом ухода за терапевтическим больным, Хасанова С. И. – ст. н. сотрудник НИЛ соединительнотканых дисплазий, ассистент кафедры пропедевтики внутренних болезней с курсом ухода за терапевтическим больным, Митрофанова Л. Б. – зав. НИЛ морфологии, Дубова Е. В. – мл. н. сотрудник НИЛ соединительнотканых дисплазий, Земцовский Э. В. – д. м. н., профессор, заведующий лабораторией соединительнотканых дисплазий, зав. кафедрой пропедевтики внутренних болезней.

*Автор, ответственный за переписку (Corresponding author): 5403991@mail.ru

TGF-β (TGF-бета) – трансформирующий фактор роста β, ДСиФ – диспластические синдромы и фенотипы, КАС – кальцифицирующий аортальный стеноз, МВ – марфаноидная внешность, МД – мезенхимальная дисплазия, ННСТ – наследственные нарушения соединительной ткани, СДПА – склеро-дегенеративные поражения аортального клапана.

Рукопись получена 08.12.2012
Принята к публикации 09.01.2013

ждение ННСТ, в формирование склеро-дегенеративных поражений аортального клапана.

При некоторых ННСТ, сопровождающихся изменениями в костной и сердечно-сосудистой системах, обнаружены мутации генов рецепторов трансформирующего фактора роста бета (TGF-β). Как известно, TGF-β индуцирует апоптоз гладкомышечных клеток и способствует трансформации фибробластов в миофибробласты. При этом повышается активность матриксных металлопротеиназ и деградация внеклеточного матрикса [1]. В доступной литературе имеются публикации, посвященные исследованиям TGF-β в культурах клеток *in vitro* [6], в то время как работы, посвященные изучению TGF-β в аортальном клапане при наличии кальцифицирующего стеноза практически отсутствуют. Исходя из сказанного, целью работы стало выявление возможной роли наследственных механизмов в возникновении склеро-дегенеративных поражений аортального клапана.

Материал и методы

Исследование проводилось в два этапа. На первом этапе было обследовано 180 пациентов (102 мужчины и 78 женщин) в возрасте от 42 до 83 лет. В основную группу было включено 119 пациентов (средний возраст – 62,6±8,6 лет), среди которых 86 имели КАС (средний возраст – 63,4±9,0 лет), а у 33 пациентов

основной группы ($59,7 \pm 7,5$ лет) при ЭхоКГ-исследовании выявлялись СДПА (локальные уплотнения и наличие акустической тени от аортальных полулуний без увеличения скорости трансаортального потока). Контрольную группу 1 составили 61 человек (средний возраст — $61,3 \pm 7,6$ лет) без клинических и ЭхоКГ-признаков КАС. Проводилось клиническое, фенотипическое и ЭхоКГ-обследование по стандартной методике. Диагностика ДСиФ проводилась в соответствии с Российскими рекомендациями по ННСТ (2009) [7]. МВ диагностировалась при выявлении в процессе фенотипического обследования 3 и более малых скелетных (костных) признаков, перечисленных в пересмотренных Гентских критериях диагностики синдрома Марфана [8].

ПМК, выявленный при ЭхоКГ-обследовании, диагностировался на основании признаков пролабирования одной или обеих створок митрального клапана более чем на 2 мм за уровень митрального кольца в парастернальной продольной позиции [9]. Из 86 пациентов с КАС у 55 было выполнено протезирование аортального клапана с последующим гистологическим исследованием удаленных аортальных полулуний. Замороженные срезы заслонок окрашивались суданом III, парафиновые — гематоксилином и эозином, толуидиновым синим по Ван Гизону с докрасиванием эластических волокон фукселином по Вейгерту и без него, конго красным с последующей поляризационной микроскопией. Для иммуногистохимического исследования использовались антитела к - и - легким цепям, AA-амилоиду фирмы DAKO и к преальбумину фирмы Millipore.

На втором этапе было проведено иммуногистохимическое исследование 20 удаленных аортальных клапанов с антителами к TGF- β (фирма Novocastra), из них 10 случаев — КАС и 10 — инфекционный эндокардит (контрольная группа 2).

Статистика: все данные представлены как среднее $\pm$ стандартное отклонение. Значимость различий между количественными признаками определялась при помощи t-критерия Стьюдента, между качественными признаками — при помощи непараметрических методов (критерий Манна-Уитни, $p < 0,05$). Различия между группами по частоте изучаемого признака определялась по методу χ^2 . Статистическая обработка данных была выполнена при помощи программы Statistica 6.0 (StatSoft, Inc., США).

Результаты

Проведенное сопоставление частоты выявления отдельных скелетных признаков и МВ в сформированных группах показало, что среди лиц со склеродегенеративными поражениями аортального клапана достоверно чаще выявлялись такие признаки как удлинение костей скелета (долихостеномелия), арахнодактилия, воронкообразная или килевидная

деформации грудной клетки, сколиотическая деформация позвоночника и плоскостопие. МВ выявлялась среди лиц со СДПА в 3 раза чаще, чем среди лиц группы контроля (16,9% и 4,9%, соответственно, $p < 0,05$), а среди пациентов с КАС в 4 раза чаще, чем в контрольной группе (26,4 и 6,5% соответственно, $p < 0,001$). По данным ЭхоКГ, у пациентов с наибольшим числом костных признаков максимальный трансаортальный градиент оказался достоверно выше, чем в группе с минимальным их числом ($73,7 \pm 43,7$ и $50,5 \pm 34,2$ мм рт.ст., соответственно, $p < 0,01$). Полученные данные со всей очевидностью демонстрируют взаимосвязь между скелетными признаками, которые принято ассоциировать с синдромом Марфана, и рядом родственных ему наследственных синдромов, с одной стороны, и СДПА — с другой.

Далее мы попытались установить взаимосвязь между марфаноидной внешностью и ЭхоКГ-показателями, характеризующими морфологию и функцию сердца. Все пациенты с КАС были разделены на две группы — без МВ и с МВ. Оказалось, что в группе пациентов с МВ имели место более высокий максимальный трансаортальный градиент давления ($73,7 \pm 43,7$ vs $50,5 \pm 34,2$ мм рт.ст., $p < 0,01$), больший размер аорты на уровне синусов ($37,9 \pm 4,3$ vs $35,4 \pm 3,4$ мм, $p < 0,01$), больший размер левого предсердия ($45,3 \pm 5,0$ vs $43,6 \pm 4,6$ мм, $p < 0,01$) и большая толщина миокарда межжелудочковой перегородки (МЖП) и задней стенки (ЗС) левого желудочка (МЖП — $14,3 \pm 3,1$ vs $13,8 \pm 2,0$ мм; ЗС — $12,5 \pm 2,6$ vs $11,1 \pm 1,5$ мм, $p < 0,01$).

При фенотипическом обследовании больных, оперированных по поводу критического КАС, удалось обнаружить, что пациенты с признаками мезенхимальной дисплазии (МД) удаленных аортальных полулуний имели большее количество скелетных признаков, чем пациенты, не имевшие таковых ($3,8 \pm 0,6$ vs $2,8 \pm 1,0$ признаков, $p < 0,01$). Точно также у пациентов с признаками МД створок были выявлены те или иные диспластические фенотипы в 77,8% случаев, в то время как у лиц без МД — лишь в 18,8% случаев, $p < 0,005$.

Морфологическое исследование створок аортального клапана у пациентов, имеющих признаки МД, показало, что у последних средняя длина аортальных полулуний была достоверно больше, чем у пациентов без признаков МД ($2,9 \pm 0,2$ vs $2,0 \pm 0,5$ см, $p < 0,01$). МД створок аортального клапана, которая, как известно, сопутствует наследственным поражениям клапанного аппарата [10–12], выявилась в 36% случаев. При гистологическом исследовании в участках с МД располагались плохо дифференцируемые мезенхимальные клетки, были видны фрагментация, расщепление, спирализация, диссоциация коллагеновых и эластических волокон с их явным дефицитом.

Во всех случаях в субэндотелиальном отделе и на границе *pars spongiosa* — *pars fibrosa*, а также по краю кальцинатов выявлялись депозиты амилоида, которые окрашивались конго красным в оранжево-красный цвет и давали яблочно-зеленое свечение в поляризованном свете. Депозиты были резистентны к предварительной обработке перманганатом калия. При иммуногистохимическом исследовании с антителами к АА-амилоиду, α_2 - и α_1 -легким цепям, к преальбумину экспрессии этих антигенов выявлено не было. Кроме того, во всех случаях выявлены признаки атеросклероза в виде пенистых клеток, отложений липидов и/или кристаллов холестерина. Хрящевая метаплазия выявлена в двух клапанах, в одном из них она сопровождалась костной метаплазией.

На втором этапе было проведено иммуногистохимическое исследование створок аортальных клапанов. Анализ результатов показал, что в 8 из 10 случаев КАС обнаружена экспрессия антигена TGF- β на 2–8% фибробластов, в то время как в группе сравнения (инфекционный эндокардит) экспрессия антигена TGF- β выявлялась только в 3 из 10 случаев в таком же количестве фибробластов.

Обсуждение

Среди лиц со склеро-дегенеративными поражениями аортального клапана МВ встречается в три раза чаще, чем в контрольной группе. Сравнение частоты выявления признаков МВ в группах с различной степенью выраженности КАС, по данным ЭхоКГ, показало, что у пациентов с выраженными признаками КАС МВ выявляется достоверно чаще, чем среди лиц с легким КАС. Все сказанное дает основание рассматривать этот фенотип как предиктор развития СДПА и КАС.

Пока еще нет ответа на вопрос, является ли миксоматоз аортального клапана самостоятельной наследственной патологией соединительной ткани или он развивается в результате внешних воздействий. С одной стороны, несомненная связь СДПА с МВ подтверждают наследственную природу выявленного миксоматоза. Об этом же косвенно свидетельствует важная роль TGF- β в развитии спонтанного миксоматоза митрального клапана [13]. С другой стороны, есть данные о роли вирусной инфекции в развитии миксоматозных изменений аортальных

полулуний [11]. Очевидно, что для решения этих вопросов необходимы дальнейшие исследования.

Определенную роль в развитии СДПА, по-видимому, играет TGF- β и мутации, выявленные в генах его рецепторов [2]. Известно, что TGF- β представляет собой белок, который контролирует пролиферацию, клеточную дифференцировку, апоптоз и другие функции в большинстве клеток, участвует не только в морфогенезе костной ткани, процессах восстановления и регенерации кости, но и в развитии соединительнотканного каркаса сердца и аорты. Присутствие TGF- β обнаружено в створках аортального клапана при их неревматическом поражении. TGF- β способствует обызвествлению клеток интерстиции аортального клапана посредством повышения уровня щелочной фосфатазы, что связано с апоптозом и повышением уровня матриксных металлопротеиназ. Таким образом, можно полагать, что первичными индукторами дифференцировки миофибробластов в створках аортального клапана при КАС являются механическое напряжение и TGF- β . TGF- β 1 способствует обызвествлению интерстициальных клеток в аортальных створках [6]. Полученные нами данные об экспрессии антигена TGF- β в фибробластах удаленных аортальных клапанов дают основание для дальнейшего изучения возможности участия TGF- β в патогенезе КАС.

Заключение

Среди лиц с КАС марфаноидная внешность встречается в 4 раза чаще, чем среди лиц без признаков поражения аорты, что позволяет рассматривать этот фенотип в качестве предиктора развития СДПА. Сравнение ЭхоКГ-показателей в группах с различной степенью тяжести КАС позволило установить, что при тяжелом КАС МВ выявляется достоверно чаще. Морфологическое и иммуногистохимическое исследования удаленных аортальных клапанов позволило установить, что в тканях, удаленных по поводу КАС, МД удастся обнаружить более чем в трети случаев, а экспрессия антигена TGF- β значительно чаще выявляется при КАС, чем в группе сравнения. Последнее дает основание думать о том, что в основе развития СДПА и кальцифицирующего стеноза аорты существенную роль, помимо атеросклероза, играют мутации генов белков внеклеточного матрикса и ферментов их биосинтеза.

Литература

1. Jeffrey A.J., Spinale F.G., Ikonomidis J.S. Transforming growth factor-beta signaling in thoracic aortic aneurysm development: a paradox in pathogenesis. *J. Vasc. Res.* 2009. 46 (2):119–37.
2. Loeys B., Chen J., Neptune E. et al. A syndrome of altered cardiovascular, craniofacial, neurocognitive and skeletal development caused by mutations in TGFBR1 or TGFBR2. *Nat. Genet.* 2005. 37:275–81.
3. Davtyan K.U. Dysplastic syndromes and phenotypes as possible predictor of atrial fibrillation in ischemic heart disease. *Dis. ... kand. med. nauk. SPb.*; 2009, 146 p. Russian (Давтян К. У. Диспластические синдромы и фенотипы как возможный предиктор развития фибрилляции предсердий у больных с ишемической болезнью сердца: дис. ... канд. мед. наук. СПб. 2009. 146 с.).
4. Zemtsovsky E.V., Reeva S.V., Timofeev E.V. et al. About heart rate disorders and its variability in marfanoid habitus patients. *Vestnik of arrhythmology*, 2010, 59:47–52. Russian (Земцовский Э. В., Реева С. В., Тимофеев Е. В. и др. О частоте нарушений ритма сердца и показателях его вариабельности у лиц с марфаноидной внешностью. *Вестник аритмологии*. 2010. 59:47–52).
5. Viutrikh E.V. Diagnostic features of dysplastic syndromes and phenotypes in elderly patients. *Syn. Dis... kand. med. nauk. SPb.*; 2011, 24 p. Russian (Вютрих Е. В. Особенности диагностики диспластических синдромов и фенотипов у лиц старших возрастных групп: автореферат дисс. ... канд. мед. наук. СПб. 2011. 24 с.).

6. Cindy Ying Yin Yip, Jan-Hung Chen, Ruogang Zhao et al. Calcification by Valve Interstitial Cells Is Regulated by the Stiffness of the Extracellular Matrix. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*. 2009; 29:936–42.
7. Heritable disorders of connective tissue. Russian guidelines. Cardiovascular Therapy and Prevention 2009; 6 (suppl. 5):1–24. Russian (Наследственные нарушения соединительной ткани (Российские рекомендации). Кардиоваскулярная терапия и профилактика 2009, 6 (прил. 5.):1–24).
8. Loeys B. L., Dietz H. C., Braverman A. C. The revised Ghent nosology for the Marfan syndrome. *J. Med. Genet.* 2010, 47:476–85.
9. ACC/AHA 2006 Guidelines for the Management of Patients With Valvular Heart Disease. *Circulation*. 2006. Aug. 1: 17–27.
10. Zemtsovsky E. V. Mitral valve prolapse. Spb. "Znaniye". 2010: 1–160. Russian (Земцовский Э. В. Протопс митрального клапана: монография – СПб.: Общество "Знание" Санкт-Петербурга и Ленинградской области, 2010. 1–160).
11. Mitrofanova L. B., Karev V. E., Shlyakhto E. V. et al. Mesenchymal dysplasia of heart valves, aortic cystic medianecrosis and herpes infection. *Archives of Pathology*. 2005. 67 (5):20–22. Russian (Митрофанова Л. Б., Карев В. Е., Шляхто Е. В. и др. Мезенхимальная дисплазия клапанов сердца, кистозный медианекроз аорты и герпетическая инфекция. *Архив патологии*. М.: Медицина. 2005. 67 (5):20–22).
12. Mitrofanova L. B. Clinical and morphological features of a heart in valve disorders of different etiology. Dis. ... doct. med. nauk. SPb.; 2005:1–394. Russian (Митрофанова Л. Б. Клинико-морфологические особенности сердца при клапанных пороках различной этиологии: дисс. ... докт. мед. наук. 2005:1–394).
13. Geirsson A., Singh M., Ali R. et al. Modulation of Transforming Growth Factor- β Signaling and Extracellular Matrix Production in Myxomatous Mitral Valves by Angiotensin II Receptor Blockers. *Circulation*. 2012 Sep 11; 126 (Suppl 1): S189–97.

Hereditary mechanisms in the development of sclerotic degenerative disorders of aortic valve

Parfenova N. N.^{1,2}, Khasanova S. I.^{1,2}, Mitrofanova L. B.², Dubova E. V.², Zemtsovsky E. V.^{1,2}

Aim. To investigate the role of hereditary mechanisms in the development of sclerotic degenerative disorders of aortic valve.

Material and methods. Clinical, phenotypical, and echocardiographic examination was performed in 180 middle-aged and elderly people (mean age 63,8±9 years; 102 men, 78 women), including 86 patients with calcific aortic stenosis (55 after aortic valve surgery) and 61 controls. The diagnostic criteria of the National Guidelines on hereditary connective tissue disorders (2009) were used. The valve biopsy samples were examined using histological, morphological, and immunohistochemical (TGF- β antibodies) methods.

Results. Marfanoid habitus is one of the most prevalent signs of dysplastic phenotypes. The larger number of osteodysplastic signs was associated with the more severe aortic stenosis. Mesenchymal dysplasia was observed in 36% of the critical aortic stenosis cases. In most aortic biopsy samples, the antigen TGF- β expression was detected.

Conclusion. The association between Marfanoid habitus and calcific aortic stenosis suggests a genetic link between these two conditions and a potential role of Marfanoid phenotype as a predictor of aortic valve calcification.

Russ J Cardiol 2013; 1 (99): 50-53

Key words: hereditary connective tissue disorders, Marfanoid habitus, calcific aortic stenosis.

¹St. Petersburg State Pediatric Medical University; ²V.A. Almazov Federal Centre of Heart, Blood, and Endocrinology, St. Petersburg, Russia.