

УДК 616.132-007.64

## Галектин-3 как маркер развития аневризмы, ассоциированной с двустворчатым аортальным клапаном

Рудой А. С., Бова А. А., Валоженич Я. И., Урываев А. М.

Учреждение образования «Белорусский государственный медицинский университет», г. Минск, Республика Беларусь

**Реферат.** Двустворчатый аортальный клапан (ДАК) один из самых распространенных и гетерогенных врожденных пороков сердца, затрагивающий примерно 0,5–2 % популяции населения, часто проявляющийся ассоциированной аортопатией. Научный интерес представляет поиск новых биомаркеров, отражающих патофизиологический процесс в сосудистой стенке и имеющих предсказательную роль для прогноза дилатации и профилактики жизнеугрожающих осложнений.

Целью исследования явилось уточнение предикторной роли галектина-3 в качестве потенциального биомаркера аневризматической трансформации ДАК-ассоциированной аортопатии. Обследовано 47 пациентов (22 пациента с ДАК, средний возраст 44 года; 25 здоровых добровольцев, средний возраст 44 года). Измерение сывороточного уровня галектина-3 проводилось с помощью иммуноферментного анализа (*Galectin 3 ELISAKit*).

Установлено, что повышенный уровень галектина-3 в сыворотке крови у пациентов с ДАК-ассоциированной аортопатией может служить серологическим маркером неблагоприятного прогноза в виде нарушения адаптационных свойств стенки аорты с увеличением размеров диаметра аорты.

**Ключевые слова:** бicuspidальный аортальный клапан, ДАК-ассоциированная аортопатия, галектин-3, аневризма аорты.

**Введение.** Двустворчатый аортальный клапан — гетерогенный врожденный порок сердца, патологические изменения при котором затрагивают не только клапанный аппарат с развитием гемодинамических нарушений, но и стенку аорты в виде последующих жизнеугрожающих аневризмы или диссекции сосуда. Аневризматическое расширение аорты выявляется от 20 до 84 % пациентов с ДАК, а у 5 % в течение жизни следует ожидать диссекцию аорты [1, 2]. В настоящее время сложным и дискуссионным вопросом остается формирование показаний к ранним профилактикоориентированным хирургическим вмешательствам в виде протезирования аорты. Своевременность диагностики, а также точность показаний для профилактики данных жизнеугрожающих состояний часто являются не простой задачей из-за практически бессимптомного течения аневризмы, вплоть до диссекции или разрыва аорты. Показания к операции основываются индивидуально на диаметре, скорости расширения аорты и данных, основанных на результатах оперативных вмешательств при взвешенном риске осложнений в ходе естественного течения болезни и плановых операций.

Увеличение шансов на своевременную донозологическую диагностику ранних проявлений и/или осложнений ДАК-ассоциированной аортопатии предполагает принятие во внимание сочетание дотестовых вероятностей, включающих не только клинические и данные визуализирующих исследований, но и лабораторные маркеры. С учетом низкой прогностической ценности применяемых на сегодняшний день «циркулирующих» биомаркеров риска развития диссекции аорты. Научный интерес представляет поиск новых молекул, отражающих нарушение компартмента соединительной ткани сосудистой стенки. В частности, в последние годы целый ряд исследований посвящены изучению таких маркеров фиброза как матриксные металлопротеиназы (MMPs), тканевые ингибиторы металлопротеиназ (TIMPs), трансформирующий фактор роста  $\beta 1$  (TGF- $\beta 1$ ). В аспекте изучаемой проблемы привлекает внимание оценка галектина-3 — белка молекулярной массой 35 кДа, выделенного из фибробластов человека еще в начале 80-х гг. XX в.

В настоящее время у человека выявляются 11 галектинов (1, 2, 3, 4, 7, 8, 9, 10, 12, 13, 14), представляющих собой семейство  $\beta$ -галактозид-связывающих лектинов с эволюционно консервативными доменами распознавания углеводов (CRD) [1]. На основе доменной организации выделяют 3 типа

галектинов: с единственным CRD; с двумя CRD; химерного типа с одним CRD, связанным с длинным гибким N-концевым доменом [3, 4]. Особый интерес представляет галектин-3, который широко экспрессируется в тканях человека, включая все типы иммунных клеток (макрофаги, моноциты, эозинофилы, тучные клетки, Т- и В-лимфоциты) [5]. Галектин-3 является единственным галектином химерного типа, кодируется одним геном LGALS3, расположенным в хромосоме 14. N-концевой домен галектина-3 необходим для его мультимеризации, чувствителен к MMPs-протеолизу и может участвовать во взаимодействии с другими внутриклеточными белками. Активность галектина-3 в тканях зависит от их дифференцировки, повышаясь в период эмбриогенеза и снижаясь с возрастом [6]. Эффекты, которые галектин-3 оказывает на клетки, зависят от локализации белка (при внутриклеточном расположении — выступает ингибитором апоптоза, внеклеточно — может потенцировать клеточную гибель). В ответ на повреждение активированные фибробласты экспрессируют белки цитоскелета: маркер внутриклеточного фиброза —  $\alpha$ -гладкомышечный актин ( $\alpha$ -smoothmuscleactin,  $\alpha$ SMA) и маркер внеклеточного фиброза — коллаген 1-го типа  $\alpha 1$  цепи (COL1A1) (так называемый галектин-3-опосредованный путь синтеза  $\alpha$ SMA и COL1A1 в фиброзных тканях) [7].

По литературным данным, галектин-3 считается наиболее изученным сердечно-сосудистым биомаркером после мозгового натрийуретического пептида в процессах ремоделирования сердца, формирования фиброза миокарда и диастолической дисфункции левого желудочка. В двух крупных метаанализах отмечено, что повышенные сывороточные уровни экспрессии галектина-3 связаны со смертностью при острой и хронической сердечной недостаточности. В проспективном когортном исследовании с 26-месячным наблюдением продемонстрирована временная вариабельность активности галектина-3, сывороточные концентрации которого являются независимым предиктором смертности у пациентов с хронической сердечной недостаточностью. Галектин-3 также связан с тяжестью сердечной недостаточности, демонстрируя динамические изменения (уменьшение активности) во время механической разгрузки.

Таким образом, биологические эффекты галектина-3, играют важную роль в воспалительной реакции и развитии фиброза, что может сказаться на роли данного белка и в процессах «аневризматической трансформации» стенки аорты. К примеру, в консенсусном документе, представленном в 2015 г., рассматривается роль галектина-3 в генезе воспалительной атеросклеротической аневризмы (ВАА). Объяснением динамических изменений галектина-3 в сыворотке крови выступают гистологическое сочетание при ВАА признаков тяжелого атеросклероза и адвентициального воспаления, характеризующегося накоплением лимфоцитов и плазматических клеток.

Рассматривая современный патоморфогенез наследственно-обусловленных аортопатий, можно предполагать, что изменения соединительной ткани в стенке сосуда в виде ламинарного некроза, апоптоза гладкомышечных клеток на фоне хронического воздействия гемодинамического фактора («аномальный стресс» при ДАК) потенцируют эффект «вымывания» данной молекулы.

**Цель работы** — исследование с целью уточнения предикторной роли галектина-3 в качестве потенциального биомаркера аневризматической трансформации ДАК-ассоциированной аортопатии.

В задачи исследования входили сравнительная оценка сывороточного уровня галектина-3 у пациентов с ДАК-ассоциированной аортопатией и без, исследование корреляционных связей концентраций галектина-3 с размерами восходящей аорты.

**Материалы и методы.** Исследование являлось одномоментным по типу «случай—контроль», с применением направленного отбора пациентов с ДАК. Обследовано 47 пациентов, основную группу которых составили 22 пациента с ДАК (среди которых, 7 пациентов с дилатацией грудной аорты — подгруппа с ДАК-ассоциированной аортопатией), группу контроля — 25 здоровых добровольцев в возрасте от 18 до 45 лет.

Клиническая характеристика пациентов представлена в таблице 1. Всем испытуемым выполнено ЭхоКС-исследование по стандартному протоколу на оборудовании Vivid 9 (GE). Частью стандартного протокола ультразвукового исследования была оценка диастолической функции:  $e$  — максимальные скорости раннего диастолического движения колец митрального и трикуспидального клапанов (см/с) —  $e_{МК}$  и  $e_{ТК}$ ;  $a$  — максимальные скорости позднего диастолического движения колец (см/с) —  $a_{МК}$  и  $a_{ТК}$ ;  $ivrt$  — время изоволюметрического миокардиального расслабления (мс) (от конца пика  $s$  до начала пика —  $ivrt_{МК}$  и  $ivrt_{ТК}$ ).

Размеры корня аорты измерялись из парастернальной позиции по длинной оси с использованием подхода «от переднего края до переднего края» (*leading edge-to-leading edge*) на уровнях: 1-й — фиброзного кольца аортального клапан (ФК АК); 2-й — синусов Вальсальвы; 3-й — синотубулярного

соединения; 4-й — тубулярной части (проксимального отдела) восходящей аорты. Измерение диаметра ФКАК проводили по методике «от внутреннего края — до внутреннего края» (*inner edge-to-inner edge*) во время систолы, в левой — парастернальной позиции по длинной оси.

Расширение аорты устанавливали при увеличении диаметра корня аорты >40 мм и >37 мм тубулярного отдела восходящей аорты вне зависимости от площади поверхности тела. Учитывая неопределенность в дефиниции дилатации аорты, которая как неспецифический термин может включать в себя как эктазию, так и аневризматическую трансформацию, за «истинную» аневризму аорты принимали 50%-е увеличение размера диаметра аорты по сравнению с должным. Диагноз аневризмы был установлен в 1-м случае.

Критерии исключения: пациенты с инфекционным эндокардитом, хронической ревматической болезнью сердца, воспалительными дегенеративными заболеваниями аорты, новообразованиями, с системным воспалительным ответом (ОРВИ и др.).

Для определения сывороточного уровня галектина-3 производился забор венозной крови с подготовкой сыворотки по стандартной методике. Применялся набор для иммуноферментной диагностики фирмы Elabscience Human GAL3 (Galectin 3 ELISA Kit). Измерение сывороточного уровня галектина-3 для группы исследования и контроля проводилось в одной лаборатории с использованием идентичного набора.

Всем пациентам выполнялись общеклинические, биохимические анализы крови, включая анализ липидного состава крови и качественное определение содержания С-реактивного белка (СРБ).

Полученные данные анализировались с использованием программного пакета прикладных программ Statistica 10.0 (Statsoft Inc., США). Данные в таблицах в случае нормального распределения представлены в виде  $M(SO)$ , где  $M$  — среднее арифметическое значение,  $SO$  — стандартное отклонение. Для подтверждения гипотезы о наличии различий между двумя независимыми выборками использовался двухвыборочный тест Стьюдента (при нормальном распределении величин).

Оценка взаимосвязи признаков проводилась при помощи корреляционного анализа с помощью метода Пирсона (при нормальном распределении признаков) и с помощью метода Спирмена (в случае несоответствия распределения изучаемых данных нормальному закону).

**Результаты и их обсуждение.** Одной из важных задач исследования явилось исключение влияния традиционных факторов риска сердечно-сосудистых заболеваний (возраст, пол) на сывороточный уровень изучаемого биомаркера. Данное положение обусловлено противоречивыми литературными данными ранних исследований, где указывалось, что галектин-3 является стабильным биомаркером не связанным с возрастом, индексом массы тела или полом и не имеет циркадных ритмов, лишь незначительно увеличиваясь после физической нагрузки, возвращаясь к нормальному уровню через 1–3 ч. По результатам нашего исследования основная и контрольная группы были сопоставимы по возрасту и полу, что исключало их определяющую роль при изучении сывороточного уровня галектина-3 (таблица 1).

Таблица 1 — Основные клинические характеристики исследуемых групп, значения показателей гемодинамики и результаты лабораторных исследований.

Показатель	Контроль, $n = 25$ среднее (СО)	ДАК, $n = 22$ среднее (СО)	$t$ -критерий; $p$
Возраст, годы	44,7 (6,4)	44,5 (8,9)	0,07; $p = 0,94$
Пол, м	39 (86,6 %)	40 (85 %)	$p = 0,83$
ППТ, м <sup>2</sup>	1,59 (0,19)	1,57 (0,16)	0,52; $p = 0,6$
САД, мм рт. ст.	122,7 (14,9)	117,3 (18,0)	1,1; $p = 0,27$
ДАД, мм рт. ст.	75,34 (8,2)	75,36 (11,8)	0,007; $p = 0,99$
СОЭ, мм/ч	2,6 (0,77)	3,1 (0,96)	0,01; $p = 0,09$
Лейкоциты, $\times 10^9$ /л	6,17 (1,4)	6,7 (1,8)	1,0; $p = 0,27$
Холестерин общий, ммоль/л	3,7 (1,2)	3,6 (1,3)	0,12; $p = 0,9$
ХСЛНП, ммоль/л	2,0 (1,09)	1,96 (1,19)	0,18; $p = 0,85$
Галектин-3, нг/мл	10,3 (8,3–12,2)	10,4 (8,3–13,1)	—

*Примечание.* ППТ — площадь поверхности тела; САД — систолическое артериальное давление; ДАД — диастолическое артериальное давление; СОЭ скорость оседания эритроцитов; ХСЛНП холестерина липопротеинов низкой плотности.

По литературным данным, наличие системного воспалительного ответа (СВО) доказано оказывает влияние на сывороточные уровни галектина-3, в связи с чем в нашей работе наличие воспалительных процессов было исключено данными лабораторных методов исследования. Показатели уровня лейкоцитов, СОЭ, СРБ находились пределах референсных значений.

Для исключения возможного влияния бессимптомных атеросклеротических (воспалительных) процессов на уровень сывороточного галектина-3, учитывая известный факт замедления прогрессирования объема атеросклеротического поражения при инактивации данной молекулы, проведено сравнение показателей общего холестерина и холестерина липопротеинов низкой плотности (ХСЛНП) в исследуемых группах. Изучаемые показатели статистически значимых различий не имелись находились в пределах нормальных значений: 3,7 (1,2) против 3,6 (1,3),  $t = 0,12$ ;  $p = 0,9$  и 2,0 (1,09) против 1,96 (1,19),  $t = 0,18$ ;  $p = 0,85$  соответственно.

В связи с доказанным влиянием ХСН на уровень галектина-3 особый интерес представляло исключение диастолической дисфункции миокарда в исследуемых группах.

Оценка результатов показателей диастолической функции левого и правого желудочков методом импульсно-волнового тканевого доплеровского исследования колец митрального и трикуспидального клапанов у группы практически здоровых лиц и у пациентов с ДАК представлены в таблице 2.

Таблица 2 — Основные показатели ЭхоКГ исследуемых групп

Показатель	Контроль, $n = 25$ среднее (СО)	ДАК, $n = 22$ среднее (СО)	$t$ -критерий; $p$
ФВ, %	63,7 (4,8)	61,05 (5,6)	1,77; $p = 0,08$
Е/А	0,75 (0,49)	1,04 (0,23)	0,8, $p = 0,15$
DT	170 (18)	172 (19)	0,5; $p = 0,1$
$e_{МК}$ , см/с	17,0 (14,3–20,0)	16,8 (14,6–19,0)	$p = 0,09$
$e_{ТК}$ , см/с	18,0 (17,0–20,3)	17,5 (16,0–18,8)	$p = 0,18$
$a_{МК}$ , см/с	8,0 (6,8–8,2)	7,8 (6,8–7,2)	$p = 0,23$
$a_{ТК}$ , см/с	11,0 (8,7–13,0)	10,4 (9,7–12,0)	$p = 0,07$
$ivrt_{МК}$ , мс	50,5 (44,2–61,5)	50,0 (44,0–60,0)	$p = 0,32$
$ivrt_{ТК}$ , мс	74,0 (70,5–92,8)	72,0 (69,5–88,4)	$p = 0,1$
Фиброзное кольцо, мм	31,6 (4,4)	30,8 (3,5)	0,7; $p = 0,1$
Синусы Вальсальвы, мм	27,4 (4,4)	31,5 (4,1)	3,18; $p = 0,002$
Синотубулярное соединение, мм	26,1 (3,97)	29,7 (5,38)	2,68; $p = 0,01$
Восходящий отдел, мм	29,1 (3,1)	34,5 (7,1)	3,39; $p = 0,001$
Растяжимость, $10^{-6}$ см <sup>2</sup> дин <sup>-1</sup> (DIS)	13,6 (5,5)	9,8 (5,3)	2,39; $p = 0,02$
Жесткость, ед. (SI)	4,8 (1,9)	9,5 (6,4)	3,5; $p = 0,001$
Глобальная циркулярная деформация, % (ГЦД)	9,8 (1,7)	7,64 (3,9)	2,48; $p = 0,01$

*Примечание.* ФВ — фракция выброса; Е/А — отношение максимальной скорости потока крови в фазу быстрого наполнения к максимальной скорости потока в систолу предсердий;  $e_{МК}$  и  $e_{ТК}$  — максимальные скорости раннего диастолического движения колец;  $a_{МК}$  и  $a_{ТК}$  — максимальные скорости позднего диастолического движения колец;  $ivrt_{МК}$  и  $ivrt_{ТК}$  — время изоволюметрического миокардиального расслабления; DT — время замедления кровотока раннего диастолического наполнения ЛЖ; DIS — distensibility; SI — stiffness index.

Полученные результаты демонстрируют, что показатели диастолического движения фиброзных колец, показатель  $ivrt$ , параметров трансмитрального диастолического потока в исследуемых группах не отличались и находились в пределах нормальных значений.

При оценке насосной функции левого желудочка установлено, что ни в одной из групп фракция выброса достоверно не менялась, сохраняясь в пределах нормальных величин.

В процессе сравнительного анализа сывороточного уровня галектина-3 в исследуемых группах установлено, что медианные значения уровня галектина-3 в сыворотке крови у пациентов основной группы с ДАК и контрольной с ТАК не отличались (10,4 (8,3–13,1) нг/мл и 10,3 (8,3–12,2) нг/мл соответственно). Одновременно аналогичные показатели в подгруппе с ДАК-ассоциированной аортальной патологией статистически значимо превышали показатели оппозитных групп — 17,2 (15,3–18,2) нг/мл;  $p < 0,05$  (рисунок 1).

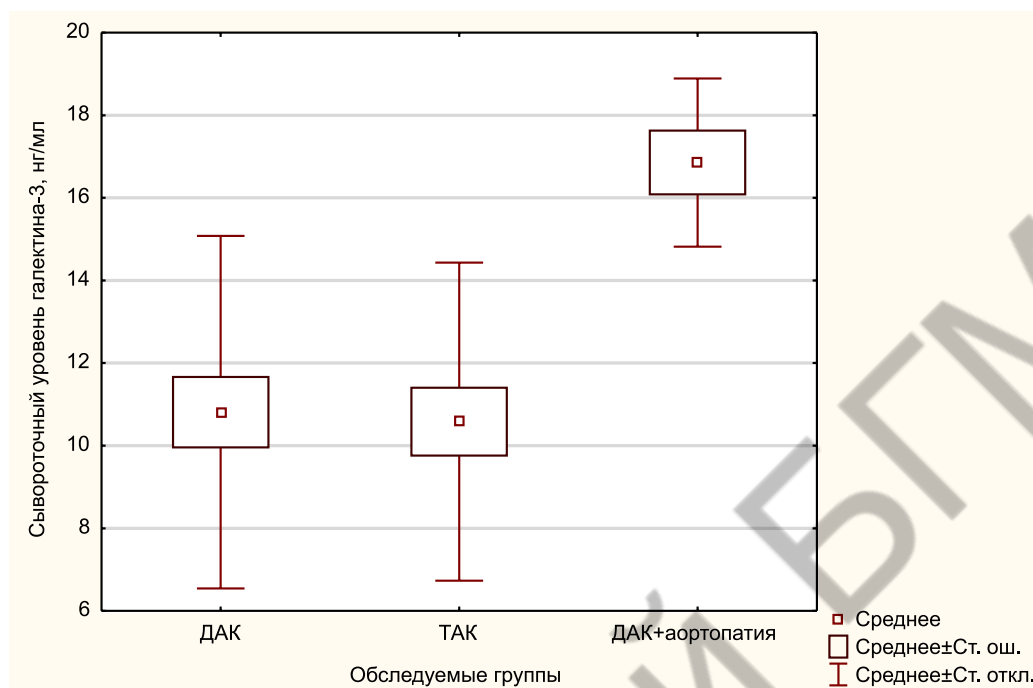


Рисунок 1 — Среднее и стандартная ошибка среднего галектина-3 в сыворотке крови в исследуемых группах,  $p = 0,01$

Можно, полагать, что с увеличением размеров диаметра аорты («аневризматической трансформацией») у пациентов с ДАК выявляется нарастание концентрации галектина-3 в сыворотке крови. Вместе с тем на ранних этапах формирования ДАК-ассоциированной аортопатии, т. е. в группе с пограничными размерами аорты, еще сохраняется нормальная физиологическая реакция сосудистой стенки на гемодинамическую абнормальную нагрузку, которая еще не оказывает значимого влияния на сывороточный уровень галектина-3.

В предыдущих результатах нами убедительно было продемонстрировано, что метод спекл-трекинг эхокардиографии может использоваться в качестве раннего маркера развития ДАК-ассоциированной аортопатии. В связи с этим представлял интерес взаимосвязи галектина-3 с показателями биомеханики сосудистой стенки. В целом при оценке зависимости между сывороточным уровнем галектина-3 и ГЦД в исследуемых группах была установлена достоверная умеренная отрицательная корреляция  $r = 0,71$   $p = 0,05$  (рисунок 2).

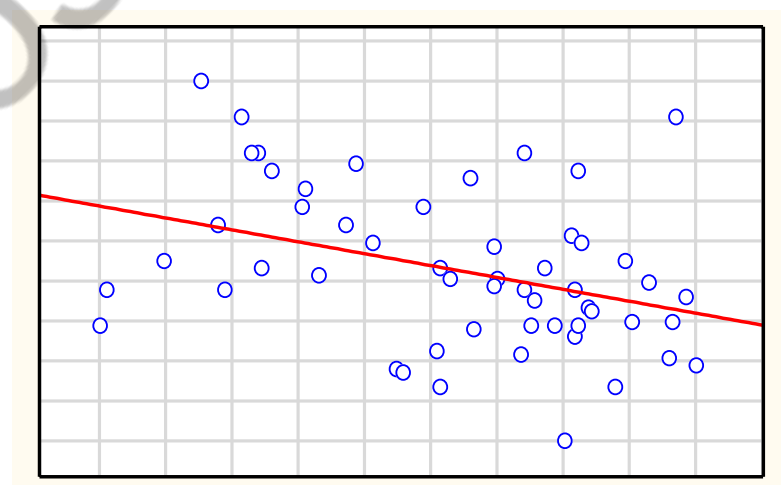


Рисунок 2 — Взаимосвязь между сывороточным уровнем галектина-3 и глобальной циркулярной деформацией в исследуемых группах

Изменения створок при ДАК приводят к асимметрии профиля потока крови в аорте и одностороннего действия напряжения сдвига к сосудистой стенке. Под действием потока крови эндотелий изменяет свою морфологию и приобретает эллипсоидную форму, что потенцирует запуск системных регуляторных воздействий и активизирует синтез биологически активных веществ. Длительно протекающие патологические процессы приводят к «локальному» нарушению в стенке аорты (количество и структурная организация эластина отличается по сравнению с дистальными областями не подверженными влиянию эксцентриситета потока крови). Полученные результаты позволяют предположить, что повышение сыровоточного уровня галектина-3 является локальным отражением нарушения адаптационных свойств стенки аорты (ГЦД) у пациентов ДАК-ассоциированной аортопатией.

**Заключение.** 1. Повышенный уровень галектина-3 в сыворотке крови у пациентов с ДАК-ассоциированной аортопатией может служить серологическим маркером, свидетельствующем о неблагоприятном прогнозе, сопровождающимся увеличением относительных размеров диаметра аорты («аневризматической трансформацией»).

2. В целом, галектин 3 может потенциально рассматриваться в качестве маркера нарушения адаптационных свойств стенки аорты у пациентов ДАК-ассоциированной аортопатией и критерия эффективности профилактических терапевтических вмешательств.

### Литература

1. Ward, C. Clinical significance of the bicuspid aortic valve / C. Ward // Heart. — 2000. — № 83(1). — P. 81–85.
2. Nistri, S. Aortic root dilatation in young men with normally functioning bicuspid aortic valves / S. Nistri, M. D. Sorbo, M. Marin // Heart. — 1999. — № 82(1). — P. 19–22.
3. Role of galectin-3 in autoimmune and non-autoimmune nephropathies / F. Saccon // Autoimmun Rev. — 2017. — № 16. — P. 34–47.
4. Newlaczyl, A. U. Galectin-3-a jack-of-all-trades in cancer / A. U. Newlaczyl, L. G. Yu // Cancer Lett. — 2011. — № 313. — P. 123–128.
5. Galectin-3 in autoimmunity and autoimmune diseases / F. L. Oliveira [et al.] // Exp. Biol. Med. (Maywood). — 2015. — № 240. — P. 1019–1028.
6. Galectin-3 in diabetic patients / G. Pugliese [et al.] // Clin. Chem. Lab. Med. — 2014. — № 52. — P. 1413–1423.
7. ESC guidelines for the diagnosis treatment of acute, chronic heart failure 2008. The task force for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure 2008 of the European Society of Cardiology. Developed in collaboration with the Heart Failure Association of the ESC (HFA) and endorsed by the European Society of Intensive Care Medicine (ESICM) / K. Dickstein [et al.] // Eur. J. Heart. Fail. — 2008. — № 10. — P. 933–89.

## Galectin-3 is a marker of aneurysmal bav-associated transformation

*Rudoy A. S., Bova A. A., Valiuzhenich Y. I., Uryvaev A. M.*

*Belarusian State Medical University, Minsk, Republic of Belarus*

Bicuspid aortic valve (BAV) is one of the most common and heterogeneous congenital heart diseases, affecting approximately 0,5–2 % of the population, often manifested by associated aortopathy. Of scientific interest is the search for new biomarkers reflecting the pathophysiological process in the vascular wall as a prediction of its dilatation in order to prevent a life-threatening condition.

The aim of the study was to clarify the predictive role of galectin-3 as a potential biomarker of the aneurysmal transformation of BAV-associated aortopathy.

47 patients were examined (22 patients with BAV, mean age 44 years; 25 volunteers, mean age 44 years). The measurement of the serum level of galectin-3 was carried out using an ELISA kit (Galectin 3 ELISA Kit).

It has been established that an increased serum level of galectin-3 in patients with BAV-associated aortopathy may serve as a serological marker indicating a poor prognosis, accompanied by an increase in the size of the aorta diameter.

**Keyword:** bicuspid aortic valve, DAC-associated aortopathy, galectin-3, aortic aneurysm.

*Поступила 10.11.2020*

