

Uniwersytet Jagielloński

Collegium Medicum

Wydział Lekarski

MAREK JAWIEŃ

**Wpływ statyny na biochemiczne wskaźniki kalcyfikacji
zwężenia zastawki aortalnej – ocena w odniesieniu
do zróżnicowanego stopnia zaawansowania zwężenia.**

Praca doktorska

Promotor: dr hab. med. Paweł Petkow-Dimitrow

Pracę wykonano w:

Niepublicznym Zakładzie Opieki Zdrowotnej

Poradnie Kardiologiczne Krowodrza

oraz

II Klinice Kardiologii Collegium Medicum

Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie

Kierownik Kliniki: Prof. dr hab. med. Jacek S. Dubiel

Kraków 2010

*Pracę tę poświęcam
pamięci Moich Rodziców*

SPIS TREŚCI

SPIS SKRÓTÓW UŻYTYCH W PRACY	6
I. WPROWADZENIE	7
1.1. Historia naturalna	7
1.2. Prognostyczna rola zwapnienia w SA i czynniki ryzyka szybszej progresji zwężenia	11
1.3. Zmiany strukturalne a aktywacja procesów biochemicznych	12
1.3.1. Układ OPG/sRANKL/RANK oraz osteopontyna	12
1.3.2. Szlak WnT	14
1.4. Zwężenie zastawki aortalnej a proces miażdżycowy	15
1.5. Ryzyko zdarzeń sercowo-naczyniowych a stopień zaawansowania wady	17
1.6. Potencjalne, farmakologiczne metody hamowania progresji SA	17
1.6.1. Leki hamujące układ RAA	18
1.6.2. Statyny	18
1.6.2.1. Badania eksperymentalne na modelach zwierzętach	19
1.6.2.2. Badania retrospektywne	20
1.6.2.3. Badania prospektywne	21
II. HIPOTEZA BADAWCZA I CELE PRACY	24
2.1. Cel badania	24
III. MATERIAŁ I METODYKA	26
3.1. Proces rekrutacji chorych	26
3.2. Badanie echokardiograficzne	27
3.3. Badanie USG tętnic szyjnych	28

3.4. Zasady pobierania i przechowywania krwi, ocena parametrów biochemicznych	29
3.5. Analiza statystyczna	30
IV. WYNIKI	31
4.1. Badanie wyjściowe	31
4.2. Badanie echokardiograficzne	31
4.3. Efekt leczenia hipolipemizującego	32
4.4. Wpływ atorwastatyny na poziom biomarkerów	32
4.5. USG tętnic szyjnych	34
V. DYSKUSJA	36
5.1. OPG, RANKL, OPN	36
5.2. Wpływ statyny na poziom markerów kalcyfikacji	37
5.3. Zmiany parametrów zapalnych	37
5.4. Miażdżyca w tętnicach szyjnych	39
5.5. Wyjściowy poziom lipidów w poprzednich badaniach i decyzja o braku randomizacji w aktualnym badaniu	39
5.6. Badania retrospektywne	43
5.7. Badania prospektywne	44
5.8. Zainteresowanie wczesnym etapem wady (aortic sclerosis), powrót do badań retrospektywnych	44
5.9. Ograniczenia badania	45
VI. WNIOSKI	48
VII. STRESZCZENIE	49
VIII. SUMMARY	52

IX.	PIŚMIENICTWO	53
X.	SPIS TABEL	71
XI.	SPIS RYCIN	72

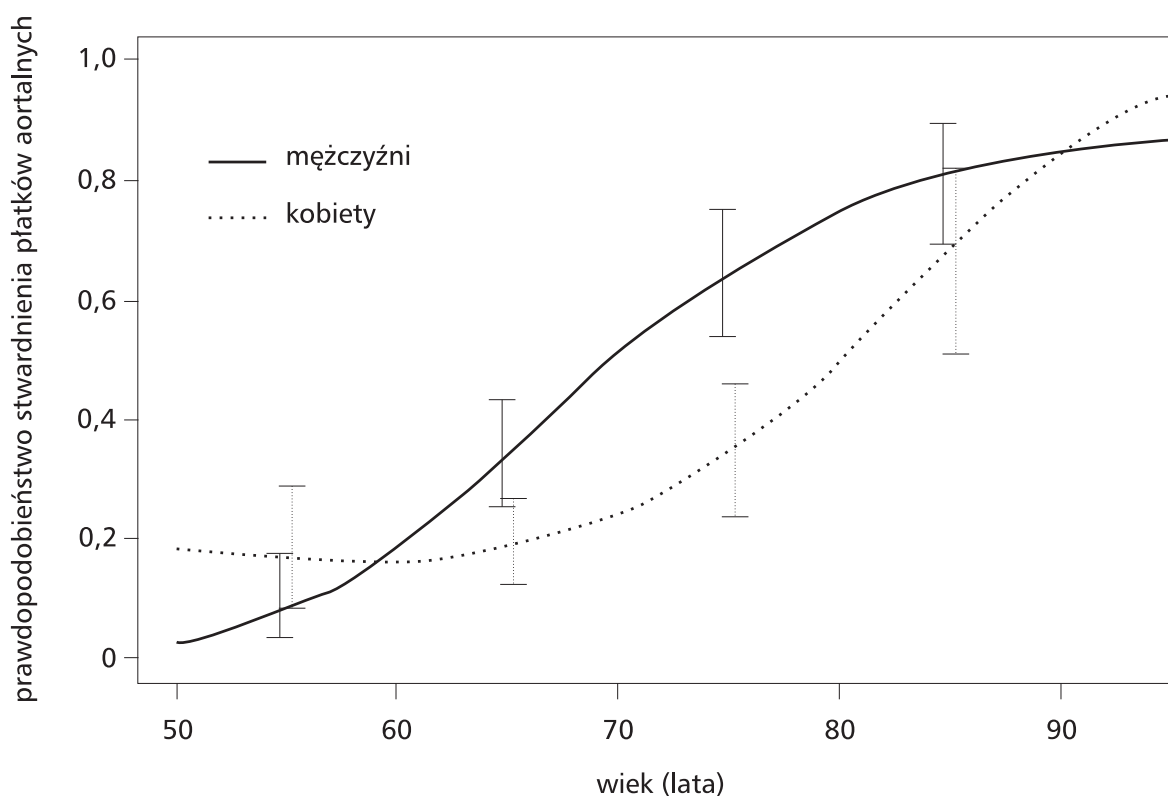
SPIS SKRÓTÓW

ACE-I	inhibitory konwertazy angiotensyny (<i>angiotensin converting enzyme inhibitors</i>)
ALAT	aminotransferaza alaninowa (<i>alanine aminotransferase</i>)
AspAT	aminotransferaza asparaginianowa (<i>aspartate aminotransferase</i>)
ASTRONOMER	badanie <i>Aortic Stenosis Progression Observation: Measuring Effects of Rosuvastatin</i>
CK	kinaza kreatynowa (<i>creatine kinase</i>)
hsCRP	białko C-reaktywne oznaczane metodą wysokiej czułości (<i>high sensitive C-reactive protein</i>)
IL-6	interleukina 6
IMT	kompleks intima-media
LRP	białko związane z receptorem LDL (<i>LDL receptor related protein</i>)
MCP-1	białko chemotaktyczne dla monocytów (<i>monocyte chemotactic protein-1</i>)
NYHA	Nowojorskie Towarzystwo Kardiologiczne (<i>New York Heart Association</i>)
OPG	osteoprotegeryna
OPN	osteopontyna
RAAVE	badanie <i>Rosuvastatin Affecting Aortic Valve Endothelium</i>
RANK	receptorowy aktywator czynnika jądrowego κ B (<i>receptor activator of nuclear factor κB</i>)
RANKL	ligand receptorowego aktywatora czynnika jądrowego κ B (<i>receptor activator of nuclear factor κB ligand</i>)
SA	zwężenie zastawki aortalnej (<i>stenosis aortalis, aortic stenosis</i>)
SALTIRE	badanie <i>Scottish Aortic Stenosis and Lipid Lowering Trial, Impact on Regression</i>
SEAS	badanie <i>Simvastatin and Ezetimibe in Aortic Stenosis</i>
Vmax	maksymalna prędkość przepływu przez zastawkę aortalną

I. WPROWADZENIE

1.1. Historia naturalna

Zwężenie zastawki aortalnej (SA) jest obecnie najczęstszą wadą zastawkową w Europie i Ameryce Północnej [29, 84]. Ze względu na przyczynę możemy wyróżnić zwężenie ujścia aorty: degeneracyjne (powiązane z podeszłym wiekiem), reumatyczne lub wrodzone. W ostatnich latach wyraźnie zmieniła się proporcja występowania poszczególnych etiologii SA. Związane jest to nie tylko z mniejszą zachorowalnością na chorobę reumatyczną, ale przede wszystkim z postępującym wydłużeniem przeżycia w populacjach europejskich i amerykańskich, zwłaszcza powyżej 60 roku życia, kiedy to dochodzi do dynamicznego rozwoju procesu stwardnienia płatków zastawkowych (rycina 1).

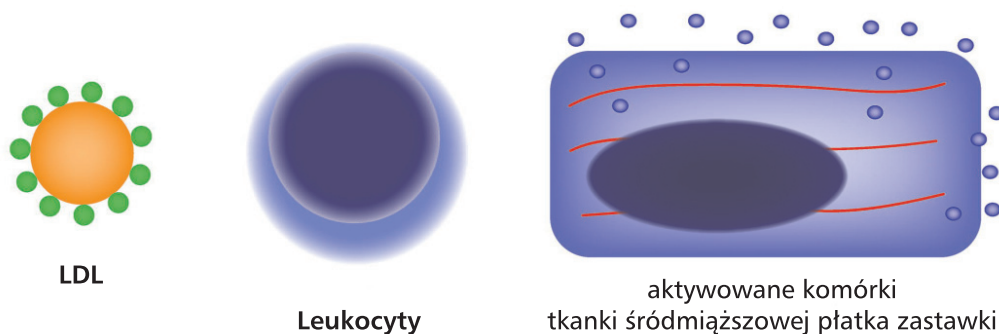


Rycina 1. Gwałtowny wzrost prawdopodobieństwa rozwoju stwardnienia płatków zastawki aortalnej w okresie pomiędzy 60 i 90 rokiem życia (porównanie między mężczyznami i kobietami) (rycina zmodyfikowana na podstawie [2]).

Obecnie u około 2–7% populacji >65 roku życia stwierdza się degeneracyjno - zwapnieniową SA, a według prognoz w następnych latach będzie coraz więcej takich przypadków [18, 46, 70, 82, 95, 112, 144, 149, 151].

Proces zmiany profilu etiologicznego SA był zaobserwowany już w latach osiemdziesiątych XX wieku. W okresie od 1981 do 1985 r. w *Mayo Clinic* przeanalizowano chorych poddawanych wymianie zastawki aortalnej. Okazało się, że w ciągu tych 5 lat spadła częstość występowania poreumatycznej wady aortalnej – z 30 do 18%, natomiast wzrosła degeneracyjnej, tzw. starczej SA – z 30 do 46%. W analizach z początku XXI wieku w *Euro Heart Survey on Valvular Heart Disease* SA była najczęściej stwierdzaną wadą zastawkową serca, przy czym u większości (81,9%) chorych była to SA degeneracyjno - zwapnieniowa, a tylko u 11,2% chorych występowała wada poreumatyczna [46].

Zwężenie zastawki aortalnej jest chorobą przewlekłą, postępującą i przez długi okres bezobjawową [98]. Po wystąpieniu objawów (omdlenia, dławica piersiowa, objawy niewydolności serca) przeciętne przeżycie wynosi 2–3 lata i towarzyszy mu wysokie ryzyko nagłego zgonu [100]. Rozwój postaci degeneracyjno - zwapnieniowej SA wiąże się z powstawaniem i kumulacją zwapnień w tkance zastawki. Do niedawna powstawanie zwapnień uważane było za łagodnie postępujący proces degeneracyjny, związany z wiekiem i nieobarczony istotnym znaczeniem klinicznym. W ostatnich latach ukazało się wiele doniesień, które przeczą tej teorii. Obecnie uznaje się, że kumulacja zwapnień w tkance zastawki jest procesem aktywnym o agresywnym charakterze zapalnym (infiltracyjno - proliferacyjnym) pogarszającym rokowanie chorych [2, 4]. Co więcej, istnieją poważne przesłanki świadczące o tym, że w procesy rozwoju miażdżycy i zwapnień zaangażowane są podobne mechanizmy immunologiczne i zapalne.

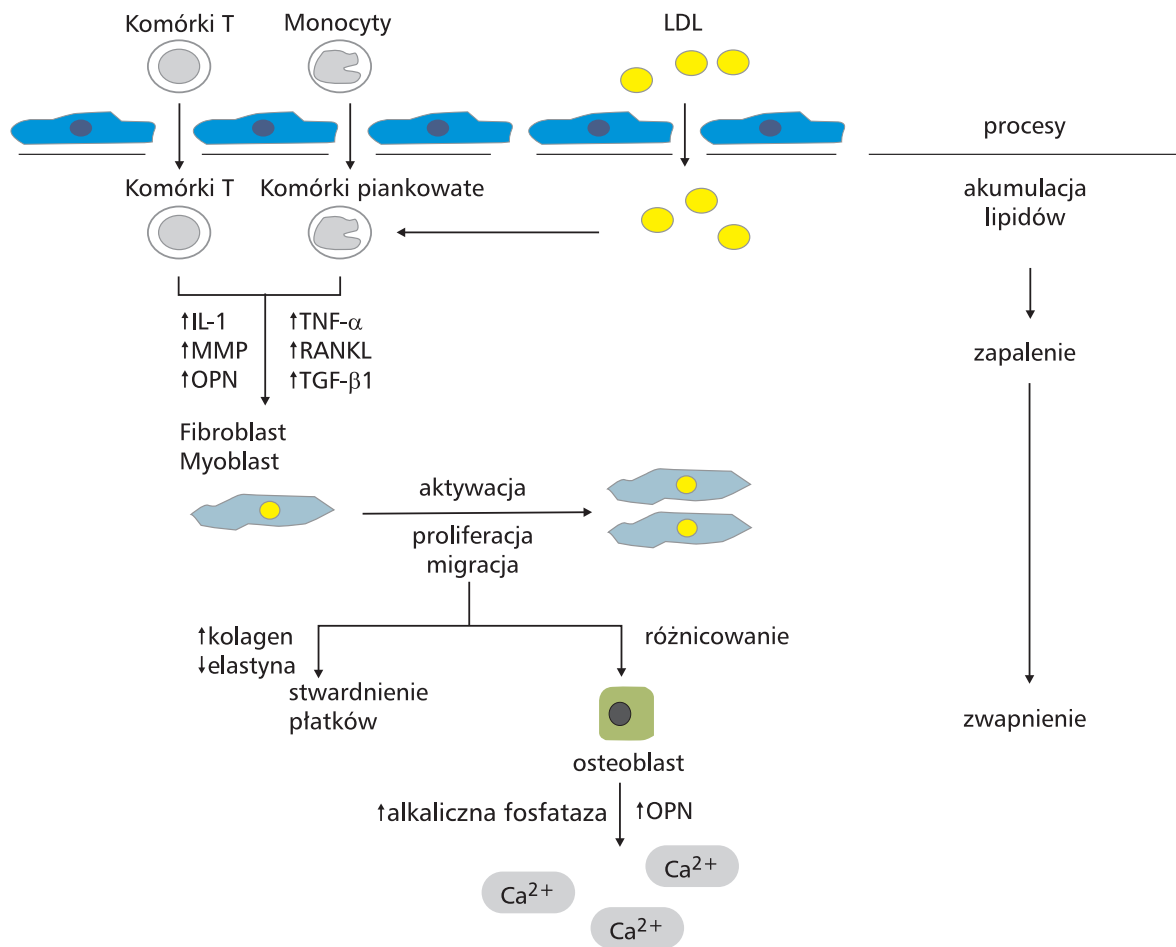


Rycina 2. Ciągłość lub etapowość patologicznych procesów w rozwoju SA (rycina zmodyfikowana na podstawie [4]).

Wstępnym etapem wady jest zeszywnienie płatków zastawki aortalnej (*aortic sclerosis*), gdzie obserwuje się proces zapalno - proliferacyjny, w którym płatki są morfologicznie zmienione, ale nie zwężają jeszcze powierzchni ujścia zastawkowego (rycina 2). Kolejne etapy to postępująca SA, charakteryzująca się narastającym gradientem ciśnień i zmniejszeniem pola powierzchni ujścia [33, 89, 135].

U podłoża rozwoju zwężenia zastawki aortalnej wymieniane są liczne procesy, do których oprócz zapalenia zalicza się: włókniejące zgrubienie zastawek oraz wapnienie tkankowe przypominające osteogenezę [5]. W konsekwencji, poznanie tych procesów zmieniło spojrzenie na tę wadę w sposób diametralny: od niemodyfikowalnej choroby degeneracyjnej aż do aktywnego procesu biologicznego regulowanego przez

skomplikowane sygnalizacyjne szlaki komórkowe [4, 89, 127] (rycina 3). Poznanie tych wielokierunkowych szlaków z kolei stworzyło możliwość przeprowadzenia próby farmakologicznej modyfikacji procesu, przynajmniej we wczesnych jego fazach.



Rycina 3. Procesy prowadzące do stwardnienia płatków aortalnych lub aktywacji osteoblastów i zwapnienia. (IL- interleukina, MMP- metaloproteinaza macierzy, TNF- czynnik martwicy guza, RANKL- ligand receptorowego aktywatora czynnika jądrowego κ B, TGF β - transformujący czynnik wzrostu, OPN- osteopontyna, LDL cząsteczki cholesterolu-LDL (rycina zmodyfikowana na podstawie [153]).

1.2. Prognostyczna rola zwapnienia w SA i czynniki ryzyka szybszej progresji zwężenia

W prospektywnej obserwacji przeprowadzonej w *Vienna General Hospital* u 128 bezobjawowych chorych z zaawansowaną SA [z maksymalną prędkością przepływu przez zastawkę (V_{max}) >4 m/s], oceniano przeżycie bez zdarzeń, takich jak: wymiana zastawki z powodu wystąpienia objawów lub zgon. Po roku obserwacji przeżycie bez powyżej wymienionych zdarzeń wynosiło 67%, po dwóch – 56%, a po czterech – tylko 33%. Okazało się, że jedynym niezależnym czynnikiem rokowniczym było nasilenie zwapnień. U chorych bez lub z niewielkimi zwapnieniami przeżycie po roku wynosiło 92%, a po czterech latach 75%, gdy tymczasem u chorych z umiarkowanymi lub dużymi zwapnieniami przeżycie było dużo niższe i odpowiednio wynosiło 60 i 20% [122].

W kolejnym badaniu z tego ośrodka *Rosenhek i wsp.* w trakcie obserwacji 176 chorych z małą lub umiarkowaną SA (z wartością V_{max} w przedziale 2,5–3,9 m/s), stwierdzili gorsze rokowanie u osób: z chorobą wieńcową, z szybszym przyrostem V_{max} oraz z umiarkowanymi i dużymi zwapnieniami [123].

Przytoczone powyżej oraz inne badania obserwacyjne świadczą o tym, że nie u wszystkich chorych postęp zwężenia zastawki aortalnej jest jednakowo szybki. W zaleceniach Europejskiego Towarzystwa Kardiologicznego dotyczących zastawkowych wad serca, do czynników przyspieszających przebieg choroby zalicza się: starszy wiek, obecność czynników ryzyka miażdżycy, (pośród których szczególnie podkreśla się hipercholesterolemię), niewydolność nerek, hiperkalcemię, chorobę Pageta, nadczynność przytarczyc i wystąpienie objawów w trakcie próby wysiłkowej. W badaniu echokardiograficznym elementami obciążającymi są: obecność zwapnień, wzrost gradientu w trakcie wysiłku oraz szybki ($\geq 0,3$ m/s przez rok) przyrost V_{max} [148].

1.3. Zmiany strukturalne a aktywacja procesów biochemicznych

Obecnie mamy coraz więcej danych świadczących o tym, że powstawanie zwapnień w tkance zastawki jest procesem o dużej aktywności infiltracyjno - proliferacyjnej. W histologicznej ocenie wczesnych zmian w płatkach zastawki aortalnej stwierdzono nacieki komórek zapalnych, głównie makrofagów i limfocytów T, odkładanie się lipidów (apolipoproteiny B, A i E) oraz włókien kolagenowych i elastynowych [92, 99] (rycina 3). W stanach zaawansowanych zwapnień wykryto depozyty tkanki kościopodobnej oraz lokalnie zwiększoną ekspresję białek odpowiedzialnych za stymulację osteoblastów uczestniczących w procesach kościotworzenia [116]. Oceniając za pomocą metod histologicznych wpływ cholesterolu na płatki zastawkowe, stwierdzono w ich tkance obecność komórek piankowatych, proliferację miofibroblastów oraz ekspresję białek macierzy kostnej [117].

1.3.1. Układ OPG/sRANKL/RANK oraz osteopontyna

W ostatnich latach XX wieku poznano istotną rolę układu sygnałowego, składającego się z trzech białek należących do nadrodziny receptora dla czynnika martwicy guza (*tumor necrosis factor* – TNF), w patogenezie chorób reumatycznych i naczyniowych (rycina 4).

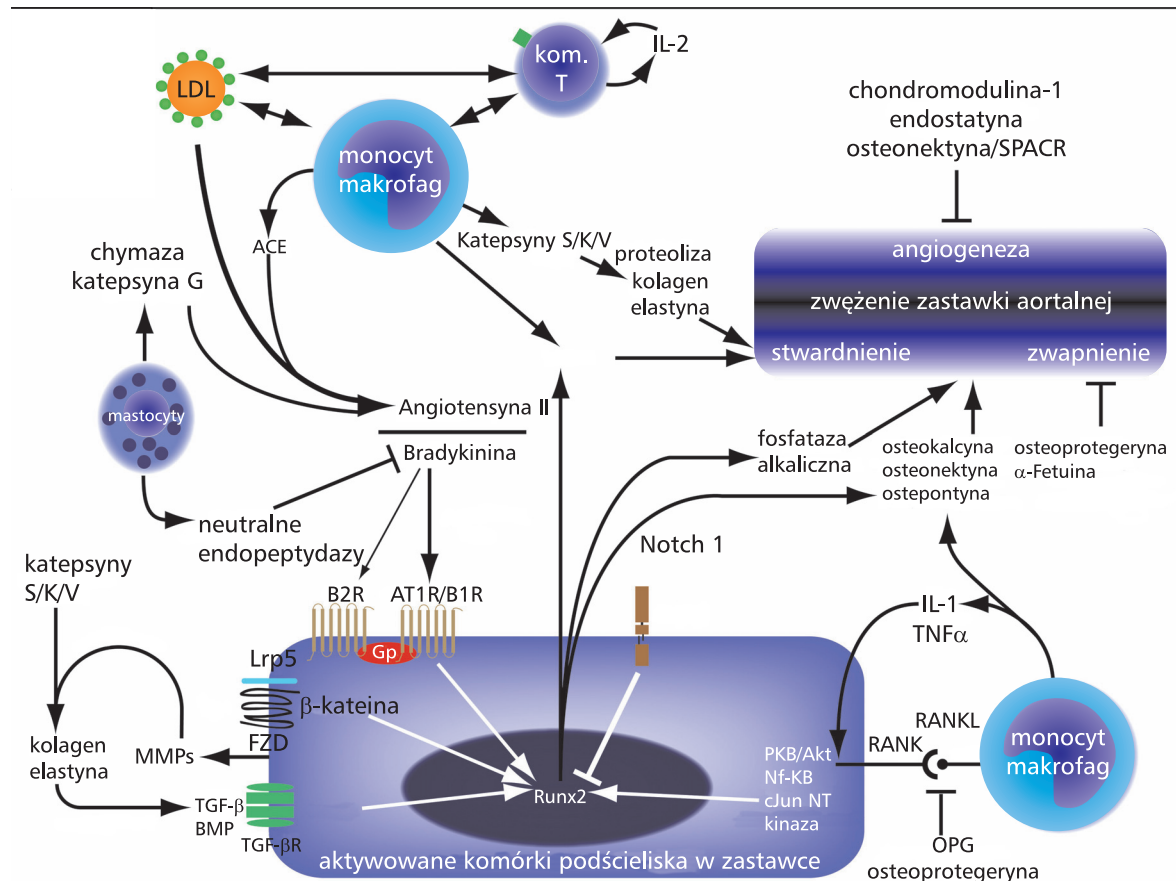
Pierwsze z tych białek to receptorowy aktywator czynnika jądrowego κB (*receptor activator of nuclear factor κB* - RANK) [3, 55]. Występuje na błonach komórkowych osteoklastów i ich prekursorów, a także limfocytów, komórek dendrytycznych i fibroblastów.

Ligand RANK czyli RANKL, to białko, które po związaniu się z receptorem RANK stymuluje dojrzewanie i pobudza aktywność osteoklastów [63, 71, 74].

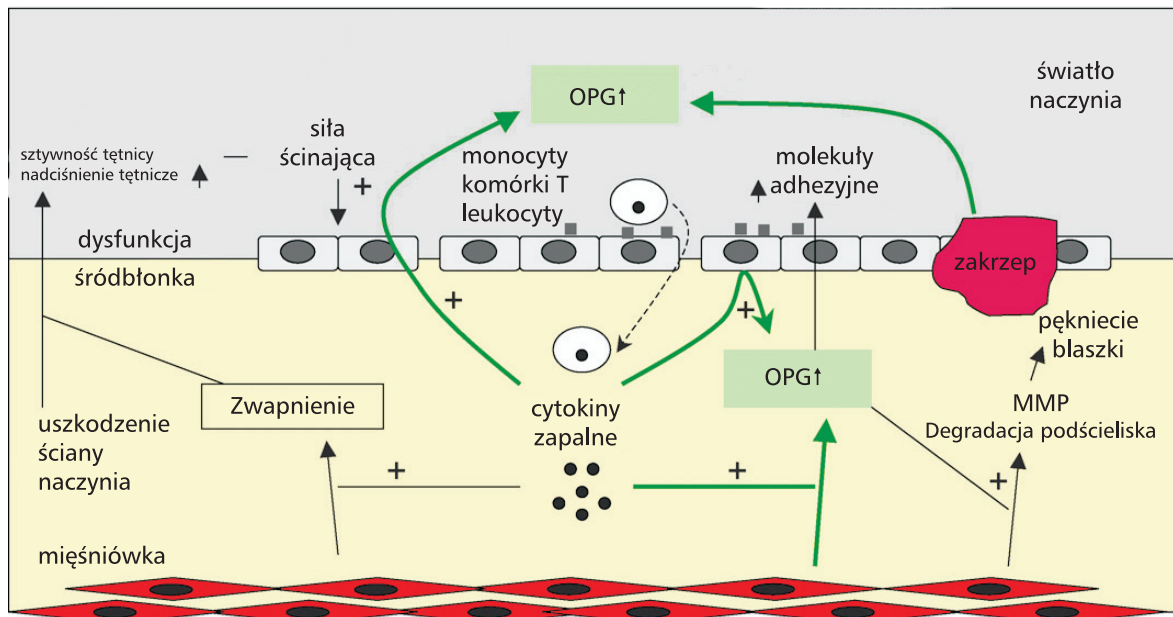
Wreszcie, osteoprotegeryna (OPG- rycina 5) – w dosłownym tłumaczeniu „ochraniacz kości”, jest rodzajem receptora przypominającego budową RANK i w ten

sposób działa jako antagonistą kompetywny dla RANKL [28, 64, 67, 96, 132]. Pełni zatem rolę inhibitora resorpcji kości [15, 52, 89, 142] (rycina 4 i 5).

Osteopontyna jest z kolei glikofosfoproteiną wiążącą wapń, biorącą udział w licznych procesach fizjologicznych i patologicznych w organizmie. W ostatnich latach okazało się, że ma ona znaczenie w schorzeniach systemu sercowo-naczyniowego [90, 131, 10, 141, 145].



Rycina 4. Procesy zaangażowane w stwardnienie i zwapnienie płatków zastawki aortalnej (rycina zmodyfikowana na podstawie [4]). Lrp5 - białko związane z receptorem LDL typu 5, FZD = „frizzled” – typ receptora 7-TM „skręconego”, związanego ze szlakiem Wnt, MMP- metaloproteinaza macierzy, TGF- β – transformujący czynnik wzrostu beta, BMP- białko morfogenetyczne kości, B2R, B1R- receptor (typu 1 lub 2) dla bradykininy, AT1R- receptor typu 1 dla angiotensyny. Runx2 – kluczowy czynnik transkrypcyjny związany z różnicowaniem komórki do osteoblastu. Notch 1 – receptor jednej ze ścieżek sygnałowych.



Rycina 5. Rola zwiększonego stężenia osteoprotegeryny (OPG) w uszkodzających procesach stwardnieniowo-zwapnieniowych (rycina zmodyfikowana na podstawie [150]).

Te właśnie układy szlaków sygnalizacyjnych u chorych w początkowym etapie SA stały się głównym celem zaprezentowanych badań [24, 38, 135, 136] (rycina 4 i 5).

1.3.2. Szlak Wnt

Szlak sygnalizacyjny Wnt tworzy szereg białek komórki, odgrywających rolę w embriogenezie i karcynogenezie, a także w fizjologicznych procesach zachodzących w prawidłowych komórkach dorosłych organizmów [68].

Skrót Wnt powstał z połączenia nazw *Wg* (wingless) i *Int* [87]. Gen *wingless* został opisany u *Drosophila melanogaster*, jako gen regulujący biegunowość segmentów ciała owada, regulującego proces segmentacji w embriogenezie [87], a także proces powstawania odnoży w trakcie przepoczwarzania. Geny *INT* zostały zidentyfikowane u kręgowców, jako geny sąsiadujące z miejscami integracji genów mysiego wirusa raka sutka (*mouse mammary tumor virus*, MMTV). *Int-1* i *wingless* zostały uznane za homologi na podstawie analizy sekwencji aminokwasowej kodowanych białek. Mutacje *wingless* u muszek powodowały powstanie bezskrzydłych mutantów, natomiast guzy

wywołane przez MMTV zawierały liczne sekwencje genetyczne wirusa, powodujące nadekspresję genów rodziny Wnt. Kolejne badania wykazały, że Wnt należą do dużej grupy morfogenów wydzielanych, zawierającej ligandy o głębokim znaczeniu w powstawaniu planu ciała u wszystkich badanych organizmów wielokomórkowych [21].

Szlak przewodnictwa sygnału wewnątrzkomórkowego białka związanego z receptorem LDL typu 5 (LRP5 = *LDL receptor related protein*) jest połączony z regulacją osteogenezy w różnych chorobach kości [110].

Dotychczas w trzech badaniach potwierdzono regulację z udziałem szlaku sygnalizacyjnego LRP5/Wnt w procesie zwapnienia w układzie sercowo-naczyniowych [22, 115, 134]. I właśnie poprzez wpływ na tą drogę przewodzenia sygnału, atorwastatyna hamowała wapnienie płatków zastawki aorty, indukowane hipercholesterolemią w modelu doświadczalnym [118] (rycina 6). Pozytywny efekt działania atorwastatyny w powyższych badaniach był przyczyną wyboru tej właśnie statyny do aktualnego badania.

Z kolei receptory NOTCH, to receptory ścieżki sygnałowej, obecne u większości organizmów wielokomórkowych [35, 36, 40, 81, 138] (rycina 4).

1.4. Zwężenie zastawki aortalnej a proces miażdżycowy

Na podstawie badań eksperymentalnych oraz danych klinicznych stwierdza się obecnie wiele podobieństw pomiędzy narastaniem zwapnień w zastawce aortalnej a procesami miażdżycowymi. Z obserwacji wynika, że u ok. 40% chorych ze zwężeniem zastawki aortalnej stwierdzone są również zmiany miażdżycowe w tętnicach wieńcowych [46]. Badanie *Cardiovascular Health Study* wykazało, że czynniki ryzyka miażdżycy, takie jak: wiek, płeć męska, palenie papierosów, nadciśnienie tętnicze w wywiadzie, podwyższony poziom lipoproteiny A i LDL-cholesterolu (LDL-C), są zbliżone również w wypadku rozwoju zwapnień w zastawce [113, 143].

Do innych znanych obecnie podobieństw obu chorób zalicza się: dysfunkcję śródbłonna płatków zastawki, zwiększoną aktywność układu renina-angiotensyna-

aldosteron (RAA), zwiększoną produkcję interleukiny 1 (IL-1) oraz tkankowego czynnika wzrostu beta (TGF- β), obecność w płatkach utlenionych lipoprotein o niskiej gęstości (oxLDL), a także zwiększoną aktywność metaloproteinaz [32, 48-50, 53, 54, 56, 76, 94, 107, 111, 130].

O tym, że procesy zapalne biorą udział w narastaniu zwapnień w zastawce aortalnej, może świadczyć podwyższony poziom markerów stanu zapalnego u osób z szybszą progresją choroby. Stosownie do tej tezy wykazano, że stężenie białka C-reaktywnego (CRP) >3 mg/l jest niezależnym czynnikiem, wpływającym na szybszą progresję zwężenia [37, 39, 128].

U osób z chorobą wieńcową obecność zespołu metabolicznego jest dodatkowym czynnikiem pogarszającym rokowanie. W badaniu przeprowadzonym przez *Briand i wsp.*, u chorych z umiarkowaną lub dużą SA zaobserwowano dwukrotnie szybsze narastanie zwężenia zastawki aortalnej oraz krótszy czas przeżycia bez takich zdarzeń, jak wymiana zastawki lub zgon, u osób ze współistniejącym zespołem metabolicznym [20].

Z kolei *Pohle i wsp.* stwierdzili pozytywną zależność pomiędzy podwyższonym poziomem LDL-C a progresją zwapnień, zarówno w zastawce aortalnej, jak i w tętnicach wieńcowych, ocenianych w tomografii wiązki elektronowej, co może świadczyć o zbliżonej etiologii obu rodzajów zwapnień [108].

Istnieją jednak także istotne różnice w przebiegu i patofizjologii obu chorób, o czym najlepiej może świadczyć fakt, że u większości osób z chorobą wieńcową nie występuje SA oraz że w przebiegu choroby wieńcowej może dochodzić do pęknięcia lub erozji blaszki miażdżycowej i w konsekwencji do ostrego zespołu wieńcowego, czego nie obserwujemy w SA.

1.5. Ryzyko zdarzeń sercowo-naczyniowych a stopień zaawansowania wady

Do niedawna uważano, że tylko chorzy z dużą i objawową SA należą do grupy podwyższonego ryzyka wystąpienia zdarzeń niepożądanych. Badacze z *Helsinki Aging Study* zaobserwowali u chorych z umiarkowaną i dużą SA zwiększone ryzyko zgonów ogółem oraz zgonów z przyczyn sercowo-naczyniowych [44, 105].

Obecnie mamy jednak dowody, że również małego i umiarkowanego stopnia SA jest związana z wyższym ryzykiem zdarzeń sercowo-naczyniowych. *Rosenhek i wsp.* wykazali, że chorzy z małą i umiarkowaną SA w obserwacji średnio 4-letniej mieli 1,8 razy wyższe ryzyko zgonu w porównaniu ze zdrową populacją [123]. Co więcej, nawet chorzy ze zwapnieniami w zastawce, ale bez istotnego gradientu (etap stwardnienia płatków zastawkowych), mieli w obserwacji prowadzonej przez *Otto i wsp.* o ok. 50% wyższe ryzyko zawału serca oraz zgonu z przyczyn sercowo-naczyniowych [100]. Zaś *Shah i wsp.* stwierdzili, że aortic sclerosis jest czynnikiem zwiększającym ryzyko zgonu u pacjentów z ostrym zawałem serca [133]. Zgodnie z powyższymi obserwacjami, *Nightingale i wsp.* podkreślali, że stwardnienie płatków zastawki jest alarmującym czynnikiem zagrożenia poważnymi zdarzeniami sercowo-naczyniowymi, a nie niegroźnym stanem klinicznym z niewinnym szmerem [82].

1.6. Potencjalne, farmakologiczne metody hamowania progresji SA

Obecnie jedyną uznaną i szeroko dostępną metodą leczenia SA jest implantacja zastawki klasyczną metodą kardiochirurgiczną lub nowatorski sposób implantacji z dostępu: przezkoniuszkowego albo przez tętnicę udową lub tętnicę podobojczykową [148,149].

Nie ma jednoznacznych dowodów wykazujących skuteczność leczenia farmakologicznego zwalniającego progresję choroby i mogącego w przyszłości zmniejszyć liczbę wykonywanych zabiegów chirurgicznych. Jednakże, uwzględniając

podobne mechanizmy biorące udział w rozwoju miażdżycy tętnic wieńcowych jak i w narastaniu zwapnień i SA, można przypuszczać, że leki stosowane obecnie w leczeniu choroby wieńcowej mogą się również okazać się skuteczne w hamowaniu progresji SA [19, 75, 77, 102-104, 106, 109].

1.6.1. Leki hamujące układ RAA

Ważną grupą leków, wykorzystywaną w leczeniu osób z chorobą wieńcową są inhibitory konwertazy angiotensyny (ACE-I). Istnieje kilka teoretycznych przesłanek, które mogą sugerować zastosowanie ACE-I u chorych ze SA.

Pierwszą z nich jest fakt, że SA prowadzi z czasem do przerostu mięśnia serca i w konsekwencji do jego niewydolności. W takich okolicznościach ACE inhibitory mogą okazać się skuteczną terapią.

Kolejnym argumentem jest fakt, że w badaniach eksperymentalnych zaobserwowano wzmożoną ekspresję ACE i angiotensyny II w tkance zastawek [43, 91, 93].

Nieliczne przeprowadzone badania oceniające wpływ tej grupy leków na przebieg choroby przynoszą jednak niejednoznaczne dane. W badaniu przeprowadzonym przez *Rosenhek i wsp.* ACE-I nie miały wpływu, w przeciwieństwie do statyn, na zwolnienie progresji choroby [124]. Z kolei *O'Brien i wsp.* wykazali, że ACE-I spowalniają progresję zwapnień, ocenianą w tomografii wiązki elektronowej [91]. W badaniach doświadczalnych na królikach także blokery receptora angiotensynowego hamowały rozwój zwapnień zastawki [10].

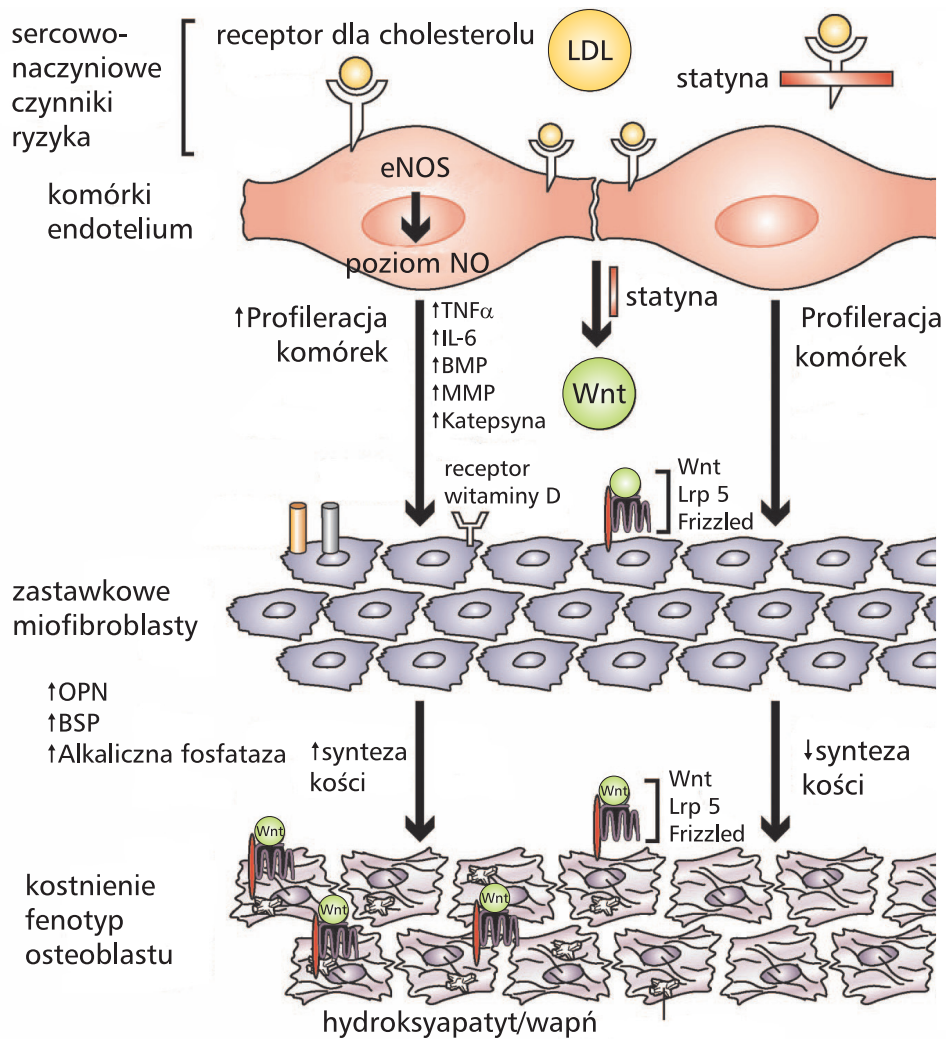
1.6.2. Statyny

Na podstawie licznych eksperymentalnych badań oceniających wpływ cholesterolu na zastawkę aortalną oraz rolę inhibitorów reduktazy 3-hydroksy-3-metylo-glutarylo-CoA (HMG-CoA) w zahamowaniu tych procesów, można wysunąć hipotezę, że jedną

z ważniejszych grup leków, które mogą znaleźć zastosowanie w hamowaniu progresji SA są statyny. Dodatkowym argumentem są doniesienia świadczące o ich wpływie na zmniejszenie objętości zwapnień w obrębie blaszki miażdżycowej oraz o możliwości ograniczaniu progresji zmian miażdżycowych w tętnicach wieńcowych [9, 23, 80, 83, 114, 119, 121, 147] (rycina 6).

1.6.2.1. Badania eksperymentalne na modelach zwierzętach

W dobie rosnącej popularności rozważań w dziedzinie medycyny translacyjnej, eksperymenty na modelach zwierzęcych okazały się ważnym ogniwem poszukiwań terapeutycznych w SA. Badając myszy zmodyfikowane genetycznie, u których można było „wyłączyć” zaprogramowaną genetycznie hipercholesterolemię, stwierdzono, że zmniejszenie poziomu lipidów może zahamować postęp wady aortalnej [72]. Z kolei w eksperymentalnych badaniach na odmiennym modelu zwierzęcym, przeprowadzonym przez *Rajamannana i wsp.* pokazano, że leczenie atorwastatyną powoduje hamowanie progresji zwapnień w zastawce aortalnej królika [115, 117].



Rycina 6. Rola statyn w hamowaniu kalcyfikacji zastawki aortalnej (*rycina zmodyfikowana na podstawie [110]*). Wnt – szlak sygnalizacyjny, Frizzled – typ receptora 7-TM „skręconego”, związanego ze szlakiem Wnt, eNOS- śródbłonkowa syntaza tlenu azotu, NO- tlenek azotu, pozostałe skróty opis jak we wcześniejszych rycinach.

1.6.2.2. Badania retrospektywne

Prześledzenie wpływu statyn na różne parametry w SA należy chronologicznie rozpocząć od analizy wyników badań retrospektywnych.

W przeprowadzonych dotąd badaniach obserwacyjnych stwierdzono szybszą progresję SA u chorych z hipercholesterolemią, szczególnie u tych z poziomem LDL-C >130 mg/dl [108]. Zaobserwowano również, że terapia statynami może zwolnić progresję

narastania zwapnień, nawet niezależnie od efektu hipolipemizującego. Pewne znaczenie mogą tu mieć plejotropowe działania statyn [85, 124, 137].

Novaro i wsp. przeprowadzili retrospektywne badanie u 174 chorych z małą i umiarkowaną SA, z których 51 (33%) otrzymywało statynę. Grupa leczona statyną była starsza, częściej miała nadciśnienie tętnicze, cukrzycę i chorobę wieńcową. Po średnio 21 miesiącach obserwacji stwierdzono wolniejszą progresję zwężenia zastawki, ocenianą w badaniu echokardiograficznym u chorych leczonych statyną [86].

Z kolei *Rosenhek i wsp.* przeprowadzili badanie na 211 chorych ze zwężeniem zastawki aortalnej, u których w latach 2000–2002 wykonano dwukrotnie badanie echokardiograficzne w odstępie przynajmniej pół roku. W grupie tej 102 osoby były leczone inhibitorami konwertazy angiotensyny (ACE-I), 50 otrzymywało statynę, a pozostałych 32 chorych oba leki. U osób otrzymujących statynę stwierdzono wolniejszą progresję zwężenia zastawki aortalnej. Efekt ten obserwowano u chorych zarówno z małą, jak i z umiarkowaną lub dużą SA. Natomiast ACE-I nie spowolniły postępu choroby oraz nie nasiliły korzystnego efektu leczenia statyną w grupie osób leczonych zarówno statyną, jak i ACE-I. Co ciekawe, nie obserwowano zależności pomiędzy poziomem cholesterolu, a progresją zwężenia zarówno w grupie leczonej statyną, jak i nie przyjmującej leku hipolipemizującego [124].

1.6.2.3. Badania prospektywne

Dotychczas przeprowadzono kilka prospektywnych badań z randomizacją, oceniających wpływ statyn na przebieg choroby.

Badanie *Scottish Aortic Stenosis and Lipid Lowering Trial, Impact on Regression* (SALTIRE) to pierwsze chronologicznie badanie z randomizacją, dotyczące leczenia statynami chorych ze zwapnieniami w tkance zastawki aortalnej. Badanie zostało przeprowadzone na pacjentach z różnym stopniem zaawansowania zwężenia zastawki aortalnej, ale dość znaczna średnia wartość Vmax wskazuje na dominację pacjentów

z zaawansowanym zwężeniem (średnia wartość V_{max} $\sim 3,4$ m/s, średnia wartość maksymalnego gradientu ~ 49 mm Hg). Chorzy otrzymywali atorwastatynę w dawce 80 mg lub placebo. Po średnio 25 miesiącach obserwacji stwierdzono, że pomimo istotnego obniżenia wartości cholesterolu w grupie leczonej statyną, nie zaobserwowano znaczących różnic w progresji zwapnień i przyroście V_{max} pomiędzy grupami. Badacze w dyskusji sugerują, że brak zahamowania progresji choroby za pomocą dużej dawki statyny mógł być spowodowany małą liczebnością grupy badanej (155 chorych) oraz jej znaczną niehomogennością, ponieważ włączono do badania zarówno chorych z małą SA i niewielkimi zwapnieniami, ale przede wszystkim pacjentów z dużą SA i masywnymi zwapnieniami. Sugerowano, że podanie statyny na wcześniejszym etapie rozwoju choroby może być bardziej korzystne oraz że u chorych z masywnymi zwapnieniami i dużą SA nie można zmodyfikować progresji zwężenia za pomocą leczenia farmakologicznego [30].

Kolejnym prospektywnym badaniem dotyczącym tego tematu było opublikowane w 2007 r. badanie *Rosuvastatin Affecting Aortic Valve Endothelium* (RAAVE). Włączono do niego 121 chorych z umiarkowaną lub dużą SA. Badanie nie było randomizowane, gdyż przydział do grupy był podyktowany poziomem LDL-cholesterolu. Pierwsza grupa chorych (61 osób) z podwyższonym poziomem LDL-C otrzymywała rosuvastatynę w dawce 20 mg, a druga grupa chorych (60 osób) z prawidłowym poziomem LDL-C otrzymywała placebo. Po średnio 18 miesiącach obserwacji stwierdzono wolniejszą progresję zwężenia, ocenianą w grupie leczonej statyną jako przyrost V_{max} oraz zmniejszenie efektywnego pola powierzchni ujścia zastawkowego [78].

W badaniu *Simvastatin and Ezetimibe in Aortic Stenosis* (SEAS) [125] ukończonym w 2008 roku, 1873 chorym w średnim wieku 68 ± 10 lat (w tym 61% mężczyzn) podawano 40 mg simwastatyny łącznie z 10 mg ezetymibu lub placebo [126]. Również w tym badaniu znaczny odsetek chorych wykazywał zaawansowaną wadę (średnia wartość $V_{max} = 3,1$ m/s, a średnia wartość gradientu maksymalnego ~ 40 mm Hg). W ciągu 52 miesięcy obserwacji pierwotne zdarzenia niepożądane (śmierć z przyczyn sercowo-

naczyniowych, wymiana zastawki aortalnej, ostry zawał serca, hospitalizacja z powodu niestabilnej dusznicy wieńcowej, niewydolność serca, pomostowanie aortalno-wieńcowe, przezskórna interwencja wieńcowa oraz udar niedokrwienny) wystąpiły u 333 pacjentów otrzymujących skojarzoną terapię oraz u 355 pacjentów z grupy placebo. Natomiast wymianę zastawki aortalnej przeprowadzono wśród 267 pacjentów z grupy leczonej simwastatyną i ezetymibem w porównaniu do 278 pacjentów w grupie placebo ($p=0,97$). Terapia ta zatem niestety nie zmniejszyła częstości występowania złożonego punktu końcowego (zdarzenia związane z wadą zastawkową + zdarzenia niedokrwienne).

Najnowszym badaniem jest *Aortic Stenosis Progression Observation: Measuring Effects of Rosuvastatin* (ASTRONOMER) [25], którego wyniki opublikowano w roku 2010 i gdzie stosowano 40 mg rosuwastatyny [26]. Lek ten nie zmniejszył progresji SA, której stopień zaawansowania w echokardiograficznym badaniu wyjściowym był bardzo podobny do badania SEAS (średnia wartość $V_{max} = 3,2$ m/s, średnia wartość gradientu maksymalnego 41 mm Hg).

Podsumowując, na podstawie dostępnych obecnie badań nie można zatem jednoznacznie zalecać lub nie leczenia statynami chorych ze SA, chyba, że stwierdzamy u nich schorzenia towarzyszące wymagające leczenia statynami według aktualnych zaleceń.

Wszyscy autorzy badań SALTIRE, SEAS, RAAVE, ASTRONOMER podkreślają, że statyna mogła być zastosowana zbyt późno (po przekroczeniu tzw. punktu bez powrotu). Podążając śladem tej sugestii, bardzo istotne merytorycznie staje się retrospektywne badanie *Antonini-Canterin i wsp.*, gdzie podawanie statyn powodowało znamienne statystycznie hamowanie progresji zwężenia zastawki aortalnej, ale wyłącznie na wczesnym etapie wady, definiowanym jako faza stwardnienia płatków (aortic sclerosis) [7].

Oceniając wyniki powyższych badań, wysunięto zatem hipotezę badawczą o potrzebie weryfikacji efektywności statyny w zmniejszaniu stężenia markerów kalcyfikacji oraz markerów zapalnych właśnie u chorych w początkowym stadium wady.

II. HIPOTEZA ROBOCZA

Zaplanowane badanie miało na celu weryfikację dwóch hipotez, wstępnie sformułowanych na podstawie 2 badań opublikowanych w 2008 roku [7, 142]:

1. W AS dochodzi do aktywacji układu OPG/RANK/RANKL, najprawdopodobniej już od wczesnego stadium wady, a więc w fazie zeszywnienia płatków [142]. Mankamentem badania *Steinmetz i wsp.* jest fakt, że ocena morfologiczna preparatów zastawkowych odbyła się bez wcześniejszej oceny hemodynamicznego zaawansowania wady [142]. Dodatkowo brakuje w tym badaniu oznaczeń poziomu stężenia OPG i RANKL w surowicy, który to pomiar wydaje się być zdecydowanie bardziej przydatny w praktyce klinicznej niż badanie preparatów zastawkowych.
2. Statyny mogą skutecznie hamować progresję wady, ale głównie we wstępnym stadium rozwoju, bez zaawansowanego zwężenia (badanie retrospektywne z wykorzystaniem różnych statyn w różnych dawkach [7]). Powyższy brak standaryzacji protokołu terapeutycznego stanowił jednak zasadniczą ułomność tego badania retrospektywnego.

Zaproponowane niżej badanie miało uzupełnić i poszerzyć powyższe dwa opracowania, gdyż zaplanowano:

- ocenę aktywacji układu OPG/RANK/RANKL i poziomu cytokin zapalnych w osoczu
- zweryfikowanie hipotezy o korzystnym wpływie wystandaryzowanego (jednakowego) leczenia statyną (atorwastatyną 20 mg) na w/w wskaźniki we wczesnym etapie zaawansowania wady

Mając na uwadze szczególnie korzystne wyniki badania eksperymentalnego *Rajamannan i wsp.* [115], spośród statyn wybrano do testowania atorwastatynę.

2.1. Cel badania

Celem badania była ocena poziomu osoczowego następujących markerów: osteoprotegeryny (OPG), osteopontyny (OPN) oraz rozpuszczalnej frakcji liganda

receptora aktywatora czynnika jądrowego NF- κ B (sRANKL) u pacjentów ze zmianami degeneracyjnymi zastawki aortalnej, klasyfikowanymi jako zeszywnienie płatków lub zwężenie niewielkiego stopnia.

Dodatkowo, ocenione zostały poziomy markerów zapalenia: białka C-reaktywnego (ocena metodą ultraczułą - hsCRP), interleukiny 6 (IL-6) i białka chemotaktycznego dla monocytów (MCP-1).

Wyjściowe badania biochemiczne zostały porównane z wynikami kontrolnych badań po 28 dniach stosowania 20 mg atorwastatyny dziennie. Ocena wpływu terapii była zasadniczym celem badania.

Dodatkowym celem było porównanie skutków terapii u pacjentów z i bez hipercholesterolemii w wyjściowym badaniu (celowy brak randomizacji względem placebo umożliwił takie właśnie porównanie, gdyż wszyscy zrekrutowani pacjenci zostali włączeni do aktywnej terapii statyną).

Drugoplanowym, uzupełniającym celem, była ocena powyższych parametrów w porównaniu do stopnia zaawansowania procesu miażdżycowego, weryfikowanego w badaniu ultrasonograficznym tętnic szyjnych.

III. MATERIAŁ I METODYKA

3.1. Proces rekrutacji chorych

W pierwszym etapie badania, 1987 pacjentów z szeregu poradni kardiologicznych w Krakowie (dzielnica Krowodrza) zostało poddanych badaniu przesiewowemu, polegającemu na weryfikacji dokumentacji medycznej pod kątem:

- wyniku echokardiografii - kryterium włączenia do badania było stwardnienie płatków zastawki aortalnej lub jej zwężenie niewielkiego stopnia ($V_{max} < 3$ m/s)
- farmakoterapii (wcześniejsze stosowanie statyny stanowiło kryterium wykluczenia z badania)
- przeciwwskazań do planowego użycia statyny - poziom enzymów ALAT, AspAT i CK
- podwyższonego poziomu kreatyniny jako czynnika wykluczenia (niezależny czynnik zwiększający ryzyko zwapnień)

Na podstawie powyższych kryteriów, 59 chorych wstępnie zakwalifikowano do kolejnego etapu badania. Po przeprowadzonej na bieżąco weryfikacji echokardiograficznej odpadło 9 chorych (z racji: 3 - brak zmian morfologicznych w zakresie zastawki aortalnej, 4 - zwężenie większe niż niewielkiego stopnia $V_{max} > 3$ m/s, 2 - zła jakość obrazu echokardiograficznego). Na uczestnictwo w badaniu nie wyraziło zgody 8 pacjentów.

Kolejnym weryfikowanym kryterium wykluczenia była obecność jednego z czynników mogących modyfikować poziom biomarkerów:

- aktualny lub przebyty ostry zespół wieńcowy,
- migotanie przedsionków,
- choroba reumatyczna,
- infekcja, gorączka, choroba nowotworowa

Ze względu na zachowanie homogenności grupy i ograniczenie roli hemodynamicznych czynników modyfikujących, dodatkowym kryterium wykluczenia była obecność:

- dwupłatkowej zastawki aortalnej,
- zmniejszonej frakcji wyrzutowej lewej komory,
- fali zwrotnej przez zastawkę aortalną powyżej II stopnia

Na tym etapie wykluczono 2 pacjentów.

Kolejnym etapem procesu rekrutacji było wykonanie bieżącej weryfikacji parametrów biochemicznych celem sprawdzenia wcześniej wymienionych kryteriów wykluczenia, wstępnie zweryfikowanych na podstawie dokumentacji chorych.

W oparciu o wyniki bieżących badań biochemicznych u 7 chorych stwierdzono przeciwwskazania do zastosowania statyny (podniesiony poziom aminotransferaz lub kinazy kreatynowej) i pacjenci ci zostali wykluczeni.

Liczne kryteria wykluczenia i w następstwie mała liczebność badanej grupy stanowi jedno z głównych ograniczeń badania (szczegółowa analiza tych mankamentów jest zamieszczona w dyskusji, w podrozdziale: ograniczenia badania).

Ostatecznie do badania zostało zakwalifikowanych 33 pacjentów (18 mężczyzn i 15 kobiet, średnia wieku 70 ± 8 lat).

3.2. Badanie echokardiograficzne

Badanie echokardiograficzne wykonano na aparacie Vivid 7, wykorzystując standardowe projekcje M-mode i 2D oraz metodę doplera, oceniającą przepływ metodą fali pulsacyjnej i ciągłej. Wartości badanych parametrów echokardiograficznych były obliczane jako średnia arytmetyczna z 5 pomiarów. Standardowymi metodami oceniany był wymiar jam lewej komory i lewego przedsionka oraz grubość ścian i przegrody międzykomorowej. Stwardnienie zastawki aorty było definiowane zgodnie z kryteriami *Otto i wsp.* [100] jako pogrubienie lub zwapnienie płatków zastawki aortalnej, przy czym

wartość Vmax nie mogła przekraczać 2,5 m/s (28 pacjentów). AS było określane jako małego stopnia w przypadku wartości Vmax pomiędzy 2,5 m/s a 3,0 m/s (5 pacjentów).

Echokardiograficzna ocena morfologiczna płatków zastawkowych została przeprowadzona według 4-stopniowej skali:

- I- bez zwapnień
- II- niewielkie zwapnienia (małe punktowate ogniska)
- III-umiarkowane zwapnienia (liczne większe ogniska zwapnień)
- IV-duże zwapnienia (znacznego stopnia zgrubienie i zwapnienie wszystkich płatków)

Korzystając z powyższej klasyfikacji, pacjenci zostali podzieleni na dwie podgrupy:

- bez zwapnień lub małe zwapnienia (20 pacjentów) –stopień I i II
- umiarkowane zwapnienia (13 pacjentów) - stopień III

U żadnego z pacjentów nie stwierdzono zaawansowanych zwapnień IV stopnia.

3.3. Badanie USG tętnic szyjnych

W czasie badania tętnic dogłowych pacjent leżał na plecach z głową maksymalnie odchyloną do tyłu. Badanie rozpoczynano w prezentacji B-mode w projekcji poprzecznej, by uwidocznic jak największe odcinki tętnic szyjnych i tętnic kręgowych. Następnie oceniano przepływ w projekcji podłużnej w prezentacji B-mode oraz analizowano charakter przepływu doplerem pulsacyjnym i kolorowym. Kompleks błony środkowej i wewnętrznej tętnicy szyjnej (*intima-media thickness* - IMT) był mierzony w celu oceny zaawansowania miażdżycy naczyniowej (pozazastawkowej). Grubość kompleksu IMT definiowano jako strukturę zawartą pomiędzy echem wewnętrznym intymy a echem na granicy błony środkowej i przydanki. Pomiarów IMT dokonywano kilkakrotnie w miejscach jej największej grubości w każdym z analizowanych segmentów (tętnica szyjna wspólna, opuszka, tętnica szyjna wewnętrzna, pomiary wykonywano po stronie prawej i lewej). Jako wynik ostateczny podawano największą zmierzoną wartość IMT u

danego chorego. Za wartość graniczną dla rozpoznania blaszki miażdżycowej przyjęto grubość IMT >1,2 mm.

Pomiar wykonano aparatem GE logic 7.

3.4. Zasady pobierania i przechowywania krwi, ocena parametrów biochemicznych

Krew żylna (20 ml) była pobrana rano 12 godzin po ostatnim posiłku. Rutynowo mierzono w osoczu stężenia cholesterolu całkowitego, cholesterolu frakcji HDL i LDL, trójglicerydów, poziom glukozy, kreatyniny, aminotransferaz, kinazy kreatynowej, a także morfologię krwi.

Po odwirowaniu krwi, próbówki zostały zamrożone w temperaturze -70°C do czasu wykonania pozostałych oznaczeń biochemicznych.

Przy użyciu komercyjnie dostępnych odczynników do wykonania ELISA zgodnie z instrukcjami wytwórców, mierzono osoczowe poziomy następujących biomarkerów: OPG (BioVendor GmbH, Heidelberg, Niemcy), OPN (R&D systems, Abingdon, UK) i sRANKL (BioVendor GmbH, Heidelberg, Niemcy). Mierzono także poziomy markerów zapalenia: hsCRP (BioVendor GmbH, Heidelberg, Niemcy), IL-6 (R&D systems, Abingdon, UK) oraz MCP-1 (R&D systems, Abingdon, UK).

Bezpośrednio po pobraniu krwi pacjenci byli kierowani na badanie echokardiograficzne.

Na podstawie wyniku wyjściowego lipidogramu, pacjentów dzielono na podgrupy:

- osoby z hipercholesterolemią (17 osób) (poziom całkowitego cholesterolu $>5,2$ mmol/l)
- osoby bez hipercholesterolemii (16 osób)

Atorwastatyna w dawce 20 mg była podawana przez 4 tygodnie wszystkim pacjentom.

Po 4 tygodniach terapii u pacjentów ponownie pobierano 20 ml krwi żyłnej rano 12 godzin po ostatnim posiłku i wykonano panel oznaczeń wymienionych w badaniu wyjściowym.

Protokół badania zaaprobowala Komisja Etyczna Uniwersytetu Jagiellońskiego (decyzja numer KBET/34/B/2009).

3.5. Analiza statystyczna

Do statystycznego opracowania wyników wykorzystano pakiet statystyczny Statistica for Windows wersja 8.0 PL. Statystyki opisowe zastosowano do wyznaczania wartości średnich, odchylenia standardowego, mediany, kwartyli oraz procentowego rozkładu zmiennych. Dane katagoryczne (jakościowe) przedstawiono jako liczby i procenty. Do porównania procentowego rozkładu zmiennych jakościowych użyto testu dokładnego Fishera, jako substytutu testu χ^2 , z racji małej liczebności w podgrupach.

Test Kołomogorova - Smirnowa został użyty do oceny normalności rozkładu. Test t-Studenta został użyty do oceny różnic przed i po terapii (test dla zmiennych zależnych). Porównanie pomiędzy podgrupami z i bez hipercholesterolemii oraz pomiędzy podgrupami z mniej lub bardziej zaawansowanymi zwapnieniami były wykonywane z użyciem t-testu dla zmiennych niezależnych. Do oceny powiązań pomiędzy oznaczanymi parametrami wykorzystano analizę korelacji Pearsona.

Wartość $p < 0,05$ została przyjęta jako wskazująca na znamienność.

IV. WYNIKI

4.1. Badanie wyjściowe

Do badania zostało zakwalifikowanych 33 pacjentów (18 mężczyzn i 15 kobiet, średnia wieku 70 ± 8 lat).

Zaawansowanie wady określono na podstawie definicji *Otto i wsp.* [100]. W podgrupie ze stwardnieniem płatków i $V_{max} < 2,5$ m/s znalazło się 28 pacjentów. AS było określane jako niewielkiego stopnia w przypadku V_{max} pomiędzy 2,5 m/s a 3,0 m/s (5 pacjentów). Niekiedy wyróżnia się jeszcze grupę z granicznie minimalną SA (gdzie V_{max} jest pomiędzy 2 a 2,5 m/s). W prezentowanym badaniu w podgrupie 28 pacjentów było 4 chorych spełniających to kryterium.

U 17 chorych stwierdzono hipercholesterolemię, aktualny nikotynizm był zadeklarowany u 12 pacjentów, a nadciśnienie tętnicze było obecne u 20 osób. Oprócz wprowadzenia atrowastatyny, żaden inny lek stosowany uprzednio nie był odstawiany lub modyfikowany (w dawkowaniu) w trakcie 28 dniowej obserwacji. Taki reżim zapewnił pełną stabilność farmakologiczną i wykluczył wpływ innych leków (inhibitorów ACE, β -blokerów lub antagonistów kanału wapniowego) na zaprezentowane wyniki.

Stosując klasyfikację NYHA oceniono, że 11 chorych było w I stopniu, 12 chorych było w II stopniu, a 10 chorych było w III stopniu zaawansowania. Wyniki morfologii krwi, mocznika, kreatyniny, enzymów wątrobowych oraz kinazy kreatynowej były w normie. Prawidłowe wyniki kreatyniny, ALAT, AspAT i kinazy kreatynowej były wymagane dla spełnienia kryteriów włączenia do badania.

4.2. Badanie echokardiograficzne

W grupie badanych pacjentów stwierdzono niepowiększoną jamę lewej komory (tabela 1 - wymiary końcowo rozkurczowy i wymiar końcowo skurczowy były w normie) z zachowaną

prawidłową kurczliwością lewej komory (tabela 1). Zgodnie z kryterium włączenia, wartości wyżej wymienionych parametrów mieściły się w zakresie prawidłowych wartości.

Tabela 1. Parametry echokardiograficzne badanych pacjentów	
LK wymiar końcowo rozkurczowy (mm)	46,06 ± 5,23
LK wymiar końcowo skurczowy (mm)	28,48 ± 5,47
Fracja wyrzutowa (%)	67,1 ± 6,2
Przegroda międzykomorowa w rozkurczu (mm)	12,51 ± 1,56
Tyłna ściana w rozkurczu (mm)	10,66 ± 1,10
Lewy przedsionek (mm)	38,71 ± 5,65

4.3. Efekt leczenia hipolipemizującego

Leczenie atorwastatyną w dawce 20 mg przebiegło bez żadnych symptomatycznych powikłań, a także bez biochemicznych zaburzeń, tj. poziom aminotransferaz oraz kinazy kreatynowej pozostawał w zakresie normy. Hipolipemiczny efekt atorwastatyny był silny, ze znamienym spadkiem poziomów cholesterolu całkowitego oraz frakcji LDL-cholesterolu (tabela 2).

Tabela 2. Wpływ atorwastatyny na lipidemię u pacjentów.			
	przed atorwastatyną	po atorwastatynie	p<
cholesterol całkowity mmol/L	5,39±1,22	3,63±0,86	0,0000001
LDL-cholesterol mmol/L	3,29±1,04	1,64±0,81	0,0000001
HDL-cholesterol mmol/L	1,32±0,29	1,37±0,35	NS
TG mmol/L	1,61±1,13	1,20±0,57	0,001

4.4. Wpływ atorwastatyny na poziom biomarkerów

Poziom wszystkich 3 biomarkerów wapnienia (OPG, sRANKL, OPN) obniżyły się po zastosowaniu atorwastatyny (tabela 3), przy czym redukcja OPN nie była istotna statystycznie. Ocena markerów zapalenia wykazała, że wszystkie trzy uległy znamiennej redukcji po terapii atorwastatyną (tabela 3).

Tabela 3. Wpływ leczenia atorwastatyną na poziom biomarkerów kalcyfikacji i zapalenia.

	przed atorwastatyną	po atorwastatynie	p<
OPG (pmol/l)	13,23±5,33	10,92±5,34	0,01
sRANKL (ng/ml)	105,36±69,47	86,74±71,36	0,05
OPN (ng/ml)	31,60±20,29	28,45±15,98	NS
hsCRP (mg/L)	4,08±3,72	2,97±3,26	0,05
IL-6 (pg/ml)	20,66±20,05	13,36±11,21	0,05
MCP-1 (pg/ml)	271,08±85,72	213,24±115,09	0,05

Według wyników wcześniejszych badań poziom CRP >3,0 mg/l jest uznawany za czynnik ryzyka szybszej progresji wady. W aktualnym badaniu u 16 pacjentów stwierdzono taki podwyższony poziom hsCRP. U 8 z tych 16 pacjentów atorwastatyna zmniejszyła ten poziom poniżej wartości 3,0 mg/l.

W porównaniu pomiędzy podgrupą bez lub z małym zwapnieniem oraz podgrupą z umiarkowanym zwapnieniem, tylko poziom OPG przed zastosowaniem atorwastatyny różnił się istotnie, tj. był statystycznie znamienne wyższy u pacjentów z drugiej grupy (tabela 4).

Tabela 4. Porównanie podgrupy bez istotnych (-) oraz z istotnymi (+) zwapnieniami

	Zwapnienia (-)	Zwapnienia (+)	p<
hsCRP przed	3,87±3,54	4,40±4,11	NS
hsCRP po	2,81±2,90	3,22±3,87	NS
IL przed	17,43±12,20	25,63±37,35	NS
IL po	11,61±10,24	16,05±12,50	NS
MCP przed	269,61±85,53	273,35±89,46	NS
MCP po	213,24±109,38	213,24±127,97	NS
RANKL przed	94,53±47,47	122,03±93,86	NS
RANKL po	72,97±37,30	107,92±102,83	NS
OPG przed	11,44±4,51	16,00±5,47	0,05
OPG po	10,31±5,14	11,85±5,68	NS
OPN przed	28,83±17,42	35,86±24,19	NS
OPN po	24,09±10,72	35,16±20,47	NS

Porównanie podgrup z hipercholesterolemią i normocholesterolemią (definiowanych na podstawie wyniku badania rekrutacyjnego) wykazało brak różnic pomiędzy tymi podgrupami (tabela 5).

Tabela 5. Porównanie podgrupy pacjentów z i bez hipercholesterolemii.			
	Hipercholesterolemia (-)	Hipercholesterolemia (+)	p<
hsCRP przed	5,07±4,49	3,15±2,63	NS
hsCRP po	3,29±3,35	2,67±3,25	NS
IL przed	24,26±33,79	17,27±12,66	NS
IL po	12,48±7,20	14,19±14,08	NS
MCP przed	258,53±86,27	282,90±86,10	NS
MCP po	188,75±117,88	236,29±110,90	NS
RANK przed	118,18±89,20	93,29±43,30	NS
RANK po	102,59±93,30	71,81±39,17	NS
OPG przed	13,76±5,83	12,74±4,94	NS
OPG po	11,15±5,60	10,70±5,22	NS
OPN przed	35,02±21,25	28,37±19,43	NS
OPN po	32,86±17,82	24,30±13,25	NS

W analizie korelacji wykazano dwie zależności występujące po terapii atorwastatyną: MCP-1 z poziomem całkowitego cholesterolu ($r=0.38$; $p<0,05$) oraz MCP-1 z poziomem LDL-cholesterolu ($r = 0,46$; $p<0,05$).

4.5. USG tętnic szyjnych

W badaniu USG tętnic szyjnych u wszystkich chorych stwierdzono podwyższoną wartość IMT $>0,8$ mm, przy czym u 20 chorych stwierdzono blaszkę/blaszki miażdżycowe. Porównanie pomiędzy chorymi z lub bez blaszki miażdżycowej zaprezentowano w tabeli 6.

Tabela 6. Porównanie wyników parametrów biochemicznych u pacjentów z i bez blaszki miażdżycowej w tętnicy szyjnej.

	Blaszka (-)	Blaszka (+)	p<
hsCRP przed	3,94±3,81	4,17±3,77	NS
hsCRP po	2,76±2,91	3,11±3,54	NS
IL przed	15,64±6,65	23,92±31,64	NS
IL po	12,05±12,11	14,21±10,51	NS
MCP przed	251,90±85,18	283,56±85,89	NS
MCP po	209,86±114,51	215,44±118,38	NS
RANK przed	89,48±34,32	115,68±84,26	NS
RANK po	81,16±39,14	90,36±87,02	NS
OPG przed	11,31±4,89	14,49±5,35	NS
OPG po	9,09±5,38	12,11±5,07	NS
OPN przed	26,20±19,90	35,10±20,26	NS
OPN po	23,46±11,42	31,69±17,88	NS

V. DYSKUSJA

5.1. OPG, RANKL, OPN

Podwyższony poziom surowiczy OPG wykryto w szeregu schorzeń układu sercowo-naczyniowego (choroba niedokrwienna serca, zwapniałe zwężenie zastawki mitralnej), co sugeruje potencjalną wartość OPG jako biomarkera podwyższonego ryzyka naczyniowego i niekorzystnego rokowania [1, 88, 150, 154].

W chorobie niedokrwiennej serca podniesiony poziom OPG jest związany z zaawansowaniem zmian miażdżycowych w krążeniu wieńcowym i wiąże się z większą dynamiką progresji procesu miażdżycowego [51, 101].

Prognostyczna rola tego biomarkera została już wcześniej udokumentowana. Według *Kiechl i wsp.* [62] wysoki surowiczy poziom OPG jest niezależnym czynnikiem ryzyka dla progresji miażdżycy i wystąpienia choroby sercowo-naczyniowej.

Według najnowszych badań, zwiększone poziomy OPN we krwi są związane z obecnością wapnienia w stenotycznej zastawce aortalnej [12, 16, 153]. *Yu i wsp.* sugerowali, że poziom surowiczy OPN mógłby odgrywać unikalną rolę funkcjonalną w patogenezie wapniejącego zwężenia aorty. Również we wczesnym etapie wady zastawkowej badanie histopatologiczne wykazało, że wysokie poziomy OPG i RANKL były obecne nie tylko w płatkach zastawki stenotycznej, ale również w zastawce sklerotycznej (będącej wczesnym etapem wady) [142].

W prospektywnych badaniach *Bruneck*, prowadzonych na przełomie 15 lat (1990-2005) wykazano, że wysoki poziom RANKL jest związany ze zwiększonym ryzykiem zdarzeń sercowo-naczyniowych [61].

Minoretti i wsp. donosili, że poziom OPN jest niezależnym wskaźnikiem przyszłych niepożądanych zdarzeń sercowych typu zawał mięśnia serca lub śmierć

z przyczyn sercowo-naczyniowych, u pacjentów z przewlekłą stabilną dusznicą bolesną. Publikacja ta jest szczególnie interesująca, gdyż przeanalizowano w niej wpływ statyny. Wykazano, że użycie statyn było związane ze zmniejszeniem stężenia OPN [73]. Ten korzystny efekt statyny koresponduje z wynikami aktualnego badania.

5.2. Wpływ statyny na poziom markerów kalcyfikacji

W powyżej cytowanym badaniu *Minorettiego i wsp.* [73] były stosowane różne statyny. W nielicznych wcześniejszych badaniach oceniano wpływ atorwastatyny na poziom biomarkerów kalcyfikacji. Wykazano, że atorwastatyna obniżała poziomy OPG i OPN, a efekt ten był zależny od dawki.

W badaniach japońskich (pacjenci z hipercholesterolemią) i greckich (pacjenci z miażdżycą w tętnicach szyjnych) stosowano szerokie spektrum dawek: 5, 10, 20, 40, 80 mg [57-60, 146].

W niniejszej pracy użyto relatywnie niskiej dawki 20 mg atorwastatyny, ponieważ blisko połowa pacjentów nie wykazywała hipercholesterolemii, a podczas terapii mogli być narażeni na ryzyko wystąpienia objawów ubocznych związanych ze stosowaniem statyny. Biorąc pod uwagę ten aspekt etyczny, zdecydowano się na użycie dawki 20 mg i pomimo dawkozależnego efektu obniżenia OPG i OPN (w badaniach japońskich i greckich) nie zaryzykowano użycia dawki 40 lub 80 mg. Jednakże dzięki temu „asekuracyjnemu” podejściu nie zaobserwowano żadnych objawów ubocznych. Prawdopodobnie przy użyciu wyższej dawki atorwastatyny różnice w stężeniach OPN osiągnęłyby znamienność statystyczną, tak jak w badaniu *Kadoglou i wsp.* [59].

5.3. Zmiany parametrów zapalnych

Degeneracyjny proces w AS jest ściśle związany z rekrutacją komórek zapalnych oraz aktywacją cytokin prozapalnych [42, 43]. W modelu eksperymentalnym [72] normalizacja osoczowego poziomu lipidów na wczesnym etapie choroby zastawki

aorty była w stanie odwrócić kaskadę zaburzeń molekularnych, sterujących procesami degeneracyjnymi i kalcyfikacyjnymi.

W prezentowanym badaniu atorwastatyna redukowała poziom wszystkich biomarkerów zapalnych u pacjentów ze stwardnieniem płatków zastawki oraz zwężeniem zastawki aortalnej niewielkiego stopnia.

W bardziej zaawansowanej AS, ocenianej w badaniu RAAVE [78], statyny redukowały poziom IL-6 i CRP w sposób korelujący z korzystnym opóźnieniem progresji zwężenia. Badanie *Sanchez i wsp.* [128] wykazało niższy poziom CRP (< 3 mg/l) u pacjentów z wolniejszym postępem choroby. W aktualnym badaniu atorwastatyna u 8 z 16 pacjentów zmniejszyła poziom CRP poniżej 3 mg/l. Prawdopodobnie wyższa dawka atorwastatyny pozwoliłaby na docelową redukcję CRP u wszystkich 16 chorych.

W badaniu *Imai i wsp.* [45], poziom wyjściowy CRP był znamienne wyższy u pacjentów z nasiloną AS niż u tych z niewielką lub średnią wadą. Używając analizy regresji wykazano, że CRP jest niezależnym wskaźnikiem rokowniczym ciężkiej AS. Dodatkowo, poziom CRP był znamienne wyższy w grupie z szybką progresją choroby niż w grupie z wolną progresją. Ponadto, przeżycie długoterminowe było znamienne mniejsze w grupie z wysokim CRP w porównaniu z grupą z niskim CRP. *Imai i wsp.* wysnuli zatem wniosek, że CRP jest czynnikiem rokowniczym stopnia progresji wady u pacjentów z bezobjawowym AS.

Badacze z *Mayo Clinic* skupili się z kolei na porównawczej ocenie, obejmującej również wczesny etap wady. *Jeevanantham i wsp.* [47] zaprezentowali, że poziom CRP w grupie kontrolnej był znamienne niższy w porównaniu z poziomami w grupie ze stwardnieniem płatków zastawki oraz zwężeniem zastawki aortalnej. Co ważne, nie wykazano żadnej statystycznie znamiennej różnicy pomiędzy wartościami CRP u pacjentów ze stwardnieniem płatków zastawki a pacjentami ze zwężeniem zastawki aortalnej. Autorzy doszli zatem do wniosku, że CRP wydaje się mieć znamienne związki z zastawkową wadą aorty w jej wczesnych stadiach. CRP mógłby zatem odgrywać rolę

w identyfikacji chorych z wczesnymi stadiami choroby zastawki aortalnej, u których leczenie farmakologiczne mogłoby zahamować progresję do nieodwracalnego wapnienia i zwężenia zastawki.

W niniejszym badaniu stężenie parametrów zapalnych uległo także istotnemu zmniejszeniu po zastosowaniu atorwastatyny.

Białko chemotaktyczne dla monocytów (*monocyte chemotactic protein-1 - MCP-1*) jest czynnikiem zapalnym, produkowanym przez śródbłonek naczyń, komórki mięśni gładkich oraz komórki zapalne, powodującym rekrutację i dojrzewanie monocytów do makrofagów. Czynniki te są ściśle związane z procesem miażdżycowym [17, 65, 79]. W prezentowanym badaniu poziom MCP-1 spadał istotnie po podaniu statyny. Po leczeniu atorwastatyną poziom MCP-1 korelował z poziomem cholesterolu całkowitego oraz LDL-cholesterolu.

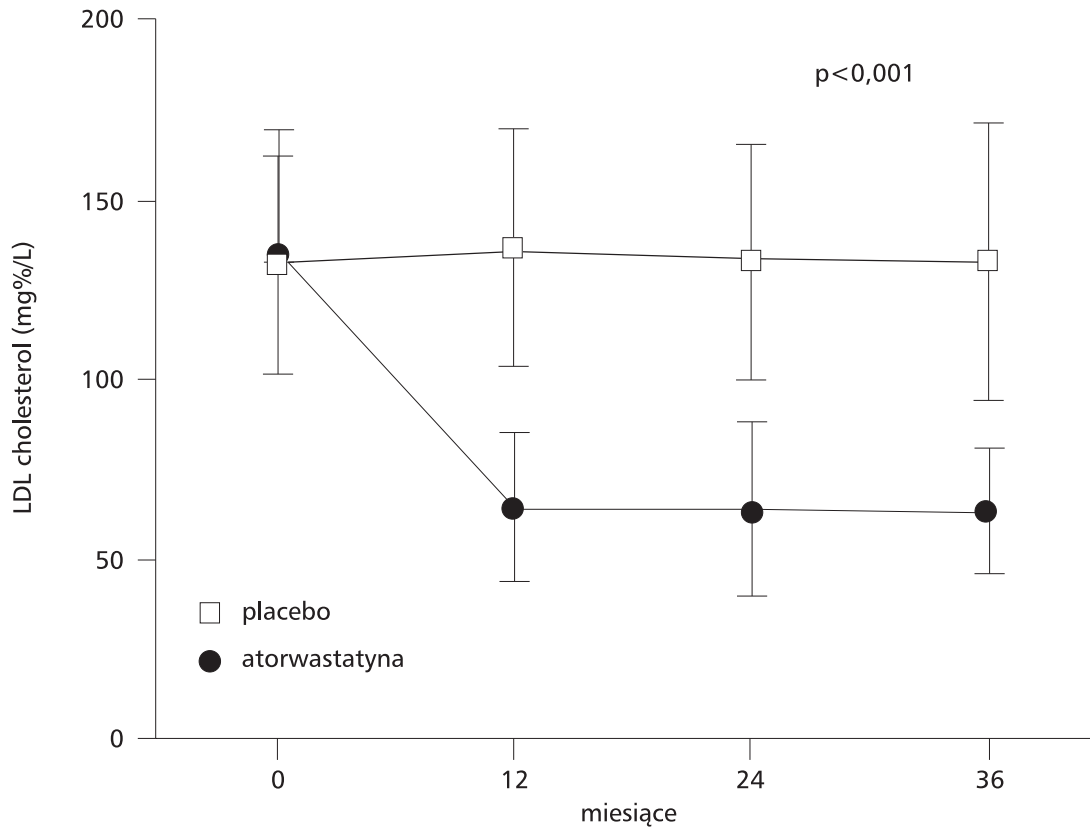
5.4. Miażdżyca w tętnicach szyjnych

Dynamiczny postęp technologiczny w dziedzinie ultrasonografii pozwolił pod koniec ubiegłego wieku na ocenę struktur ściany naczyniowej (typu kompleks IMT, wyściełający wewnętrzne światło tętnicy). W badanej grupie wszyscy chorzy charakteryzowali się zwiększoną grubością kompleksu IMT. Wynik ten dowodzi, że w badanej starszej wiekowo grupie proces miażdżycowy w układzie naczyniowym toczył się aktywnie. Co więcej, zaawansowanie tego procesu było istotne, gdyż u znacznej liczby pacjentów (20 osób) wykryto obecność co najmniej jednej blaszki miażdżycowej.

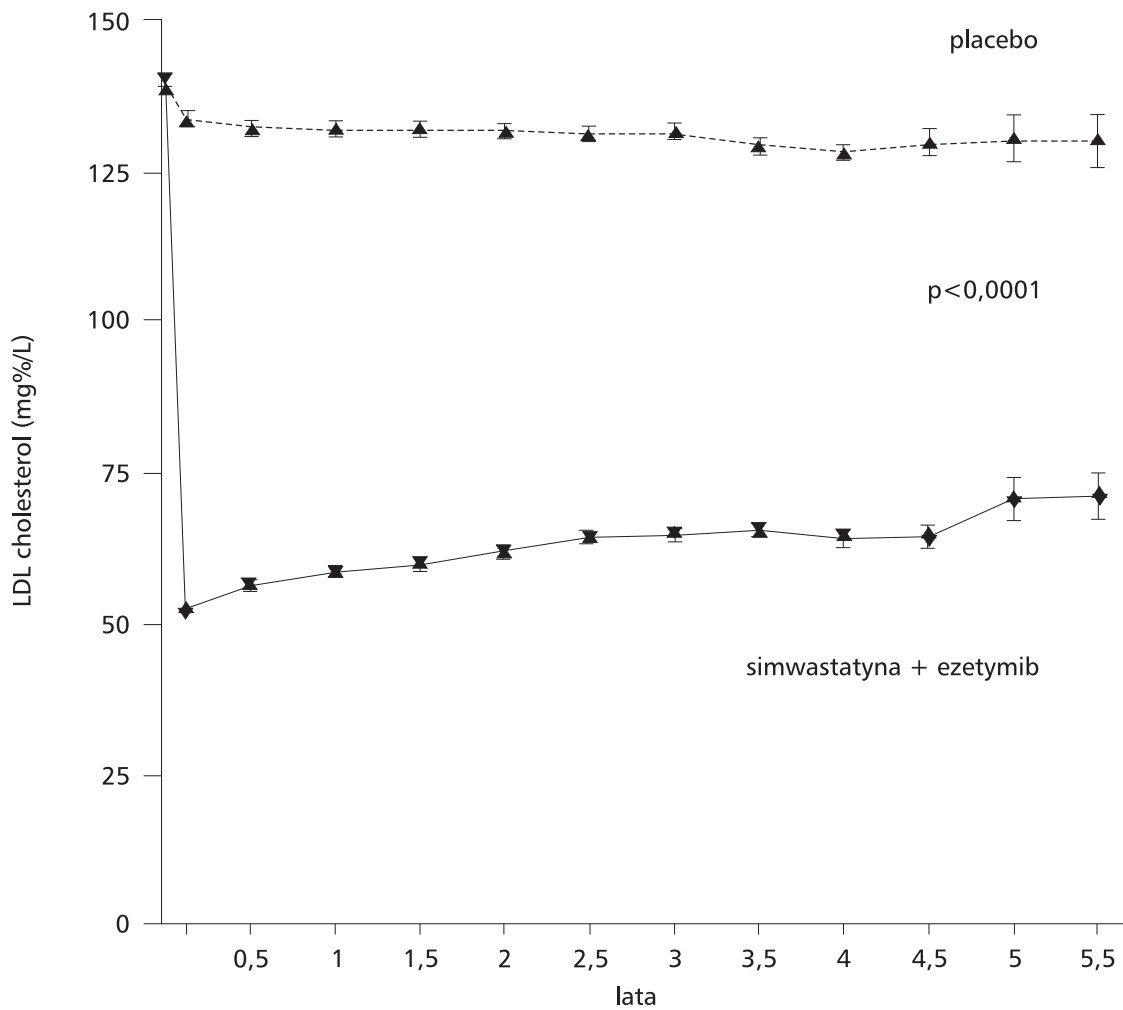
5.5 Wyjściowy poziom lipidów w poprzednich badaniach i decyzja o braku randomizacji w aktualnym badaniu

W badaniach SALTIRE i SEAS pacjenci z hipercholesterolemią (całkowity cholesterol 220 mg% i 222 mg% [średnie wartości], cholesterol frakcji LDL 137 mg%

i 139% [średnie wartości]) zostali zrandomizowani do grupy aktywnego leczenia lub grupy placebo. W konsekwencji, w grupie placebo wysoki (130-140 mg%) cholesterol frakcji LDL utrzymywał się przez kilka lat trwania badania (rycina 7 i 8).

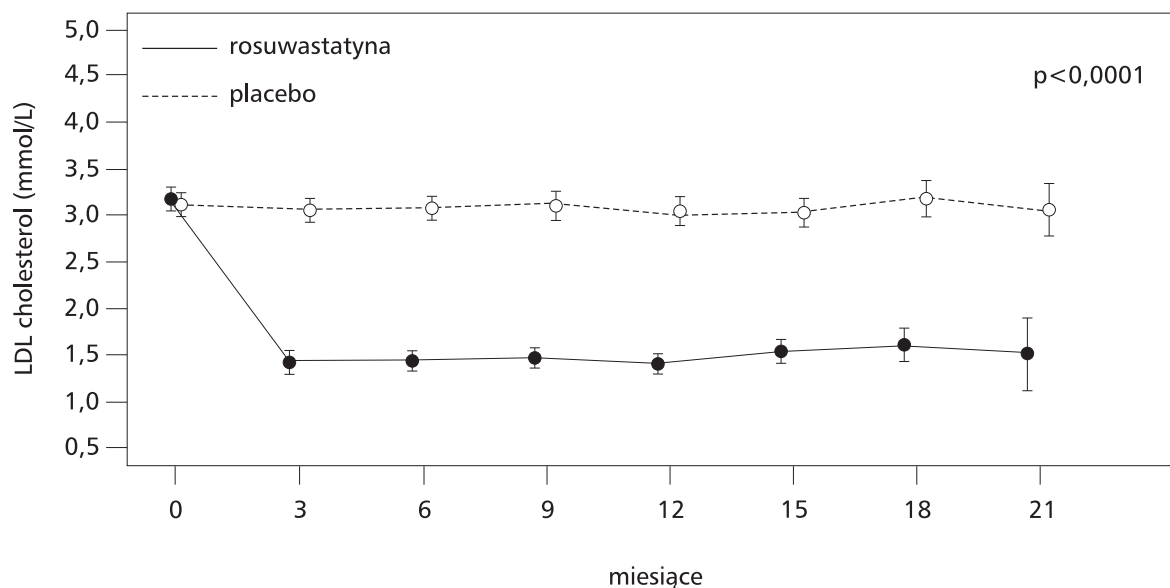


Rycina 7. Wpływ atorwastatyny 80 mg i placebo na poziom LDL-cholesterolu w badaniu SALTIRE (rycina zmodyfikowana na podstawie [30]).



Rycina 8. Wpływ simwastatyny 40 mg + ezetymibu 10 mg oraz placebo na poziom LDL-cholesterolu w badaniu SEAS (*rycina zmodyfikowana na podstawie [126]*).

W badaniu ASTRONOMER kryteria włączenia były bardziej restrykcyjne, tj. podstawowe wartości lipidów musiały być w zakresie poziomów zdefiniowanych dla poszczególnych kategorii ryzyka, zgodnie z zaleceniami kanadyjskimi (rycina 9). Niestety, również w tym badaniu w grupie placebo cholesterol frakcji LDL utrzymywał się na dość wysokim poziomie przez cały okres badania.



Rycina 9. Wpływ rosuwastatyny 40 mg i placebo na poziom LDL-cholesterolu w badaniu ASTRONOMER (*rycina zmodyfikowana na podstawie [26]*).

W prezentowanym badaniu strategia włączenia pacjentów była odmienna, gdyż nie prowadzono randomizacji. Każdy pacjent ze stwardnieniem zastawki aorty lub niewielkiego stopnia SA był włączany do aktywnego leczenia statyną, niezależnie od jego wyniku lipidogramu [27].

W metodyce badania RAAVE przyjęto pośrednie rozwiązanie etyczno-proceduralne, pomiędzy niniejszym badaniem a badaniami SALTIRE, SEAS i ASTRONOMER. W badaniu RAAVE bowiem, w otwartym protokole, pacjentów z hipercholesterolemią kierowano do leczenia statyną, a bez hipercholesterolemii do leczenia placebo.

W prezentowanym badaniu rekrutowano pacjentów tylko ze stwardnieniem zastawki aorty oraz zwężeniem zastawki aortalnej (AS) niewielkiego stopnia, ponieważ *Antonini-Canterin i wsp.* [7, 8] sugerowali, że terapia statynami może odgrywać potencjalną rolę u pacjentów we wczesnym stadium tej choroby, zwalniając progresję w kierunku zaawansowanej SA.

Helske i wsp. oraz *Otto i wsp.* [41, 97] także sugerowali, że hipolipemizująca terapia statyną powinna być wykonywana w bardzo wczesnym stadium choroby, najlepiej

w momencie rozpoczęcia się stwardnienia zastawki aorty bez istotnego gradientu przez zastawkowego. Podkreślano prawdopodobne istnienie „punktu bez powrotu”, po przekroczeniu którego terapia statyną staje się nieskuteczna.

5.6. Badania retrospektywne

W badaniach *Aronow i wsp.* [11], *Novaro i wsp.* [86], *Bellamy i wsp.* [14], *Shavelle i wsp.* [137] oraz *Rosenhek i wsp.* [124] podawanie statyn powodowało znamienne statystycznie hamowanie progresji SA (tabela 7).

Jedynie w badaniu *Pohle i wsp.* [108] nie osiągnięto znamienności statystycznej. Liczebność uczestników w wyżej wymienionych badaniach z reguły wahała się pomiędzy 100-200 osób, a czas obserwacji oscylował około 2-3 lat (tabela 7). Na podstawie tych parametrów można wnioskować, że wiarygodność tych wstępnych studiów (oczywiście w kategorii badań retrospektywnych) jest zadawalająca.

Tabela 7. Retrospektywne badania z użyciem statyny w SA.

Autor	Całkowita liczba pacjentów (% biorących statyny)	średni okres obserwacji	metoda oceny	Korzystny efekt statyny na zahamowanie progresji wady	p
Aronow i wsp.	180 (34%)	>2 lata	Echo	TAK	0,001
Novaro i wsp.	174 (33%)	21 miesięcy	Echo	TAK	0,03
Pohle i wsp.	104 (52%)	15 miesięcy	EBCT	NIE	NS
Bellamy i wsp.	156 (24%)	3,7±2,3 roku	Echo	TAK	0,04
Shavelle i wsp.	65 (43%)	2,5±1,6 roku	EBCT	TAK	0,006
Rosenhek i wsp.	211 (39%)	2,0±1,5 roku	Echo	TAK	< 0,0001

EBCT - tomografia komputerowa wiązki elektronowej

5.7. Badania prospektywne

Po zachęcających wynikach w serii badań retrospektywnych, rozpoczęto testowanie statyn względem placebo w badaniach prospektywnych. Wyniki badań SEAS oraz SALTIRE, gdzie leczono pacjentów z hipercholesterolemią, były rozczarowujące [69, 97, 126]. Również najnowsze badanie ASTRONOMER nie wykazało wyższości statyny nad placebo.

Jednakże badanie prospektywne RAAVE, w którym leczono statyną pacjentów z hipercholesterolemią, wykazało korzystny efekt tej grupy leków na rozwój SA [78].

Pomimo zróżnicowanej ilości pacjentów, zastosowania różnorodnych preparatów i dawek statyny, ważnym wspólnym elementem tych badań jest względnie zaawansowany stopień wady, o czym świadczą wysokie średnie wartości V_{max} (tabela 8).

Tabela 8. Porównanie badań prospektywnych nad wpływem statyn na SA.

	RAAVE	SALTIRE	SEAS	ASTRONOMER
statyna	rosuwastatyna 20 mg	atorwastatyna 80 mg	simwastatyna 40 mg + ezetymib 10 mg	rosuwastatyna 40 mg
V_{max} (m/s)	3,63±0,62	3,39±0,62	3,09±0,54	3,18±0,42

Aktualne badanie było z kolei zogniskowane na pacjentach z wcześniejszym etapem wady.

5.8. Zainteresowanie wczesnym etapem wady (aortic sclerosis), powrót do badań retrospektywnych

Zgodnie z twierdzeniem *Nightingale i wsp.* [82], wczesne stadium degeneracji zastawki aortalnej nie powinno być rozpatrywane jako niegroźny stan kliniczny z niewinnym szmerem, ale raczej jako alarmujący marker zwiększonego ryzyka sercowo-naczyniowego.

Hipotetycznie jednak, istotny może okazać się stopień zaawansowania zmian, przy których rozpoczęto leczenie. Badanie retrospektywne wykazało bowiem skuteczność statyn, zwłaszcza u chorych z małym gradientem [7].

W badaniu retrospektywnym obejmującym 1046 pacjentów badacze postulowali, że statyny mogą mieć działanie ochronne w AS, przeciwdziałające progresji do bardziej zaawansowanego AS [7]. W ocenie klinicznej prowadzonej w badaniach *Shah i wsp.*, statyny w AS mogą również poprawiać niekorzystny przebieg schorzenia [133].

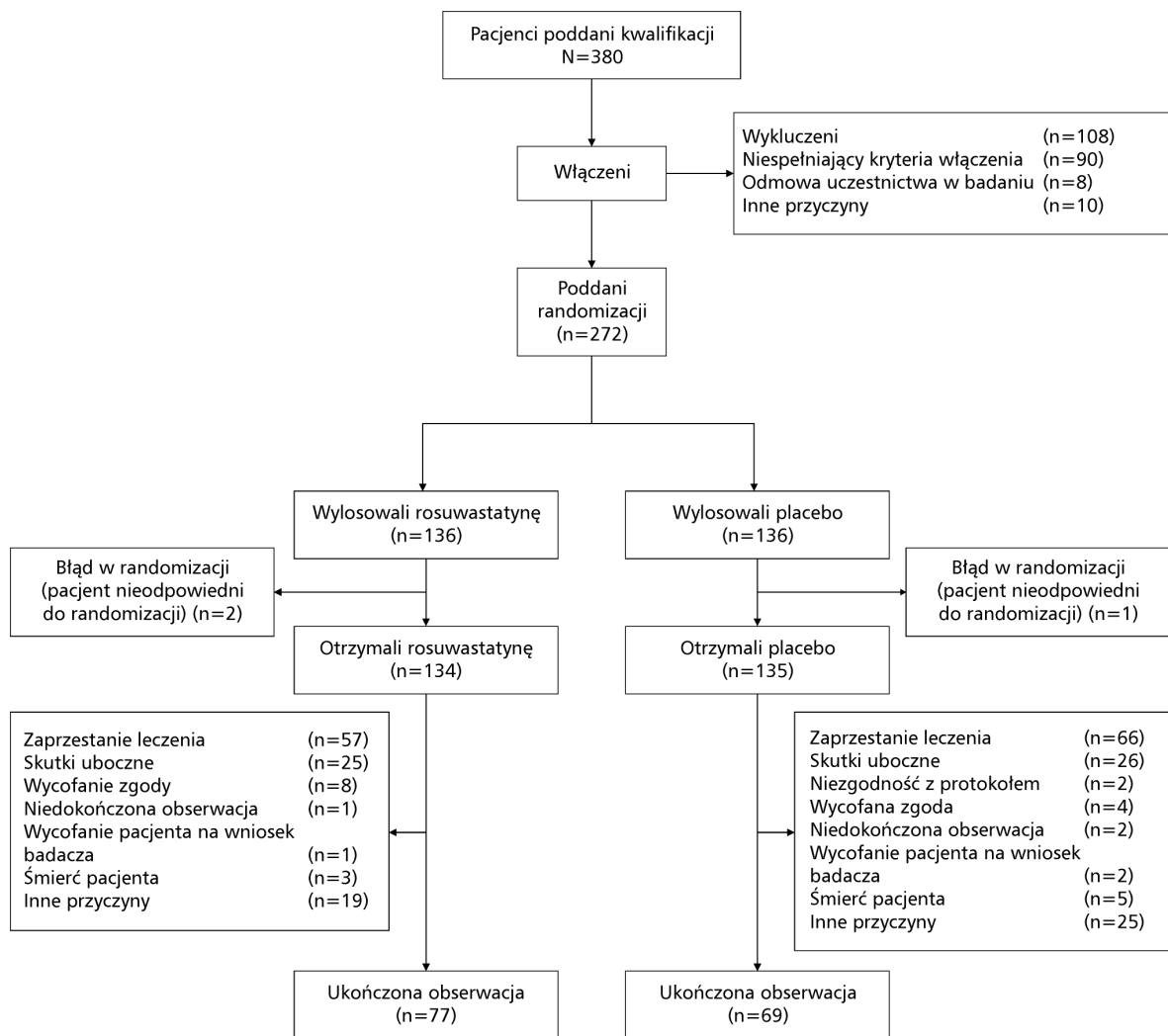
Badania histopatologiczne [34] wyraźnie wykazały, że rozwój zwapniałej SA jest oparty na aktywnym procesie, w skład którego wchodzi zapalenie, infiltracja lipidowa, dystroficzna kalcyfikacja i kostnienie. We wczesnym stadium choroby zastawki aortalnej zaobserwowano ogniska mikrokalcyfikacji. Zatem transformacja osteoblastyczna jest ważnym procesem i głównym podłożem stwardnienia zastawkowego, które zaczyna się wcześniej podczas procesu chorobowego i wykazuje histologiczne podobieństwa do tworzenia kości blaszkowatej. Pośród najbardziej prawdopodobnych dróg sygnalizacyjnych w tym procesie znajduje się system OPG/RANKL/RANK [142], który dokładnie badano w prezentowanej pracy.

5.9. Ograniczenia badania

1. Pomimo badania przesiewowego, obejmującego we wstępnej fazie blisko 2000 pacjentów, w badaniu finalnie uczestniczyła niewielka liczba chorych, co było pochodną licznych i restrykcyjnych kryteriów włączenia i wyłączenia. Bardzo drastyczny spadek liczby (zarówno na poziomie rekrutacji jak i obserwacji) wystąpił także w badaniu ASTRONOMER. Na rycinie 10 przedstawiono różnorodne okoliczności, znacznie ograniczające liczebność grupy.
2. W badaniu brali udział chory o dość zróżnicowanym zaawansowaniu wady (hemodynamicznie - V_{max} do 3 m/s, morfologicznie - do umiarkowanego stopnia zwapnienia). Ponieważ we wcześniejszych badaniach (ASTRONOMER, SEAS,

SALTIRE) u chorych z SA >3 m/s nie wykazano skuteczności statyn, w aktualnym badaniu nie rekrutowano chorych z bardziej zaawansowanym stopniem SA.

3. Zastosowano jednakową (sztywną) dawkę atorwastatyny. Przy umiarkowanej dawce 20 mg tylko u części chorych udało się zmniejszyć poziom hsCRP poniżej kluczowej wartości 3 mg/l.
4. Dawka atorwastatyny była umiarkowana, co wynikało z chęci zminimalizowania ryzyka skutków ubocznych.
5. Zaprezentowane badanie wymagałoby ewentualnej kontynuacji na większej grupie chorych (ze względu na restrykcyjny charakter kryteriów włączenia konieczna może okazać się aranżacja badania wieloośrodkowego), z kilkuletnią obserwacją progresji echokardiograficznej wady. Niestety nie można wykluczyć, że nawet kilkuletnia obserwacja może okazać się zbyt krótka, gdyż w badaniu *Kuusisto i wsp.* wykazano, że wczesny etap wady zastawki aortalnej może zaczynać się już po 20 roku życia i być bardzo wydłużony w czasie [66].



Rycina 10. Schemat procesu rekrutacji w badaniu ASTRONOMER (*zmodyfikowane na podstawie [26]*).

VI. WNIOSKI

U pacjentów ze stwardnieniem zastawki aorty lub zwężeniem zastawki aortalnej niewielkiego stopnia, atorwastatyna w dawce 20 mg:

1. Powodowała redukcję poziomów biomarkerów, zarówno kalcyfikacji jak i zapalenia (przy czym u części chorych udało się uzyskać zmniejszenie wartości hsCRP <3 mg/l)
2. Stopień uzyskanej redukcji był porównywalny u chorych z i bez hipercholesterolemii
3. Zaawansowana miażdżyca wyrażona obecnością blaszki/blaszek miażdżycowych w tętnicach szyjnych nie miała wpływu na oceniane parametry biochemiczne

VII. STRESZCZENIE

Zwężenie zastawki aortalnej (SA) jest obecnie najczęstszą wadą zastawkową w Europie i Ameryce Północnej. U około 2–7% populacji >65 roku życia stwierdza się degeneracyjno - zwapnieniową SA. Powstawanie zwapnień w tkance zastawki jest obecnie uważane za aktywny proces infiltracyjno – proliferacyjny.

W ostatnich latach w patogenezie SA poznano istotną rolę układu sygnałowego, składającego się z: receptorowego aktywatora czynnika jądrowego κB (*receptor activator of nuclear factor κB* - RANK), liganda RANK czyli RANKL oraz osteoprotegeryny (OPG).

Innym ważnym czynnikiem jest także osteopontyna (OPN) - glikofosfoproteina wiążąca wapń. Te właśnie układy u chorych w początkowym etapie SA stały się głównym celem zaprezentowanych badań.

Zaplanowane badanie miało na celu weryfikację dwóch hipotez badawczych:

1. W AS dochodzi do aktywacji układu OPG/RANK/RANKL, najprawdopodobniej już od wczesnego stadium wady, a więc w fazie zeszywnienia płatków.
2. Statyny mogą skutecznie hamować progresję wady, ale głównie we wstępnym stadium rozwoju, bez zaawansowanego zwężenia.

Celem badania była ocena poziomu osoczowego następujących markerów: osteoprotegeryny (OPG), osteopontyny (OPN) oraz rozpuszczalnego liganda receptora aktywatora czynnika jądrowego NF- κB (sRANKL) u pacjentów z małymi zmianami degeneracyjnymi zastawki aortalnej, klasyfikowanymi jako zeszywnienie płatków lub zwężenie niewielkiego stopnia.

Dodatkowo ocenione zostały poziomy markerów zapalenia: białka C-reaktywnego (CRP), interleukiny 6 (IL-6) i białka chemotaktycznego dla monocytów (MCP-1).

W pierwszym etapie badania, 1987 pacjentów z szeregu poradni kardiologicznych w Krakowie zostało poddanych badaniu przesiewowemu, polegającemu na weryfikacji dokumentacji medycznej pod kątem: wyniku echokardiografii, prowadzonej

farmakoterapii statyną, przeciwwskazań do planowego użycia statyny, podwyższonego poziomu kreatyniny.

Na podstawie powyższych kryteriów 59 chorych wstępnie zakwalifikowano do kolejnego etapu badania. Po przeprowadzonej na bieżąco weryfikacji echokardiograficznej odpadło 9 chorych. Na uczestnictwo badaniu nie wyraziło zgody kolejnych 8 pacjentów.

Kolejnym kryterium wykluczenia była obecność jednego z czynników: aktualnego lub przebytego ostrego zespołu wieńcowego, migotania przedsionków, choroby reumatycznej, infekcji, gorączki, choroby nowotworowej. Dodatkowym kryterium wykluczenia była obecność: dwupłatkowej zastawki aortalnej, zmniejszonej frakcji wyrzutowej lewej komory oraz fali zwrotnej przez zastawkę aortalną powyżej II stopnia. Na tym etapie wykluczono 2 pacjentów.

W oparciu o wyniki bieżących badań biochemicznych u 7 chorych stwierdzono przeciwwskazania do zastosowania statyny i pacjenci ci zostali wykluczeni.

Ostatecznie do badania zostało zakwalifikowanych 33 pacjentów (18 mężczyzn i 15 kobiet, średnia wieku 70 ± 8 lat).

Mierzono osoczowe poziomy następujących biomarkerów: OPG, OPN i sRANKL. Mierzono także wskaźniki zapalenia: hsCRP, IL-6 oraz MCP-1. Bezpośrednio po pobraniu krwi pacjenci byli kierowani na badanie echokardiograficzne.

Na podstawie wyniku wyjściowego lipidogramu, pacjentów dzielono na podgrupy: osoby z hipercholesterolemią (17 osób) oraz osoby bez hipercholesterolemii (16 osób). Atorwastatyna w dawce 20 mg była podawana przez 4 tygodnie wszystkim pacjentom.

Po 4 tygodniach terapii u pacjentów ponownie pobierano krew żylną i wykonano panel oznaczeń wymienionych w badaniu wyjściowym.

Poziom wszystkich 3 biomarkerów wapnienia (OPG, sRANKL, OPN) obniżył się po zastosowaniu atorwastatyny, przy czym redukcja OPN nie była istotna statystycznie.

Ocena markerów zapalenia wykazała, że wszystkie trzy uległy znamiennej redukcji po terapii atorwastatyną.

Z powyższych wyników wyciągnięto wniosek, że u pacjentów ze stwardnieniem zastawki aorty oraz zwężeniem zastawki aortalnej niewielkiego stopnia, atorwastatyna w dawce 20 mg:

1. Powodowała redukcję poziomów biomarkerów, zarówno kalcyfikacji jak i zapalenia (przy czym u części chorych udało się uzyskać zmniejszenie wartości hsCRP <3 mg/l)
2. Stopień uzyskanej redukcji był porównywalny u chorych z i bez hipercholesterolemii
3. Zaawansowana miażdżyca wyrażona obecnością blaszki/blaszek miażdżycowych w tętnicach szyjnych nie miała wpływu na oceniane parametry biochemiczne

VIII. SUMMARY

Nowadays, aortic stenosis is the most frequent valvular failure in Europe and in the United States. In 2-7% of population above 65 years of age there is degenerative-calcific aortic stenosis. Currently, aortic stenosis is considered as an active infiltrative-proliferative process.

Recently, in SA pathogenesis receptor activator of nuclear factor κ B – RANK, its ligand RANKL, as well as osteoprotegerin are considered as important factors. Moreover, osteopontin – glycoprotein binding calcium – is important in SA. These factors are the main aim of the presented research.

The experiment's aim was to verify two working hypotheses:

1. In AS there is an activation of OPG/RANK/RANKL system, most probably in the early phase, i.e. in arterial sclerosis.
2. Statins are able to inhibit AS, but mostly in the early phase of failure.

The aim of the research was to estimate plasma level of osteoprotegerin, osteopontin as well as soluble ligand of receptor activator of nuclear factor κ B – sRANKL in patients with small degenerative changes of aortic valve – aortic sclerosis or aortic stenosis of a low degree.

Moreover, the level of inflammatory markers: C-reactive protein (CRP), interleukin 6 (IL-6) and monocyte chemotactic protein – 1 (MCP-1) were measured.

Firstly, 1987 patients from several outpatient's clinics in Krakow were screened. The criteria were: echocardiography, statin treatment, contraindication for statin treatment and increased creatinine level.

59 patients were preliminarily included to the next phase of experiment. After current echocardiography 9 patients were excluded. 8 patients did not agree for experiment.

Next exclusion criterion was the presence of one of the following: acute coronary syndrome or coronary syndrome in the history, atrial fibrillation, rheumatic disease, infection, neoplastic disease. Additional exclusion criterion was: bicuspid aortic valve,

decreased left ventricle ejection fraction or recurrent wave through aortic valve (greater than II degree). Two patients were excluded due to these criteria.

Seven patients were excluded because of contraindications for statin treatment.

Finally, 33 patients were included to the experiment (18 men and 15 women, mean age: 70 ± 8). Plasma levels of OPG, OPN and sRANKL were measured. Inflammatory markers: hsCRP, IL-6 and MCP-1. After blood taking, echocardiography was performed in all examined patients.

Due to cholesterol initial level, patients were divided into 2 subgroups: hypercholesterolemic (17) and non-hypercholesterolemic (16). Atorvastatin in a dose of 20 mg were given to patients for 4 weeks.

After 4 weeks of therapy, blood samples were taken once again from the patients and the same markers were measured.

The plasma level of 3 calcification markers (OPG, sRANKL, OPN) were decreased after atorvastatin, however, OPN reduction did not reach statistical significance. The estimation of inflammatory markers revealed that all three (hsCRP, IL-6 and MCP-1) were significantly decreased after therapy.

From the above results, the following conclusions were given:

In patients with aortic sclerosis or small aortic stenosis 20 mg of atorvastatin:

1. reduces levels of calcification and inflammation biomarkers
2. this reduction is comparable between patients with and without hypercholesterolemia
3. the presence of atherosclerotic plaque/plaques in carotid artery does not influence assessed biomarkers

IX. PIŚMIENICTWO

1. Abedin M, Omland T, Ueland T, Khera A, Aukrust P, Murphy SA, Jain T, Gruntmanis U, McGuire DK, de Lemos JA. Relation of osteoprotegerin to coronary calcium and aortic plaque (from the Dallas Heart Study). *Am J Cardiol* 2007; 99: 513-518.
2. Agmon Y, Khandheria BK, Meissner I, Sicks JD, O'Fallon WM, Wiebers DO, Seward JB, Tajik AJ. Aortic valve sclerosis and aortic atherosclerosis: different manifestation of the same disease? *J Am Coll Cardiol* 2001; 38: 827-834.
3. Aikawa E, Nahrendorf M, Sosnovik D, Lok VM, Jaffer FA, Aikawa M, Weissleder R. Multimodality molecular imaging identifies proteolytic and osteogenic activities in early aortic valve disease. *Circulation* 2007; 115: 377-386.
4. Akat K, Borggrefe M, Kaden JJ. Aortic valve calcification – basic science to clinical practice. *Heart* 2009; 95: 616-623.
5. Anger T, Carson W, Weyand M, Daniel WG, Hoehner M, Garlich CD. Atherosclerotic inflammation triggers osteogenic bone transformation in calcified and stenotic human aortic valves: still a matter of debate. *Exp Mol Pathol* 2009; 86: 10-17.
6. Antonini-Canterin F, Di Bello V, Di Salvo G, La Carrubba S, Bellieni G, Benedetto F, Perticone F, Maio R, Giannini D, Balbarini A, Nicolosi GL, Pezzano A, Carerj S; Research Group of the Italian Society of Cardiovascular Echography (SIEC). *Research Group of the Italian Society of Cardiovascular Echography (SIEC)*. Relation of carotid intima-media thickness and aortic valve sclerosis (from the ISMIR study [“*Ispessimento Medio Intimale e Rischio Cardiovascolare*”] of the Italian Society of Cardiovascular Echography). *Am J Cardiol* 2009; 103: 1556-1561.
7. Antonini-Canterin F, Hirsu M, Popescu BA, Leiballi E, Piazza R, Pavan D, Ginghamă C, Nicolosi GL. Stage-related effect of statin treatment on the progression of aortic valve sclerosis and stenosis. *Am J Cardiol* 2008; 102: 738-742.
8. Antonini-Canterin F, Popescu BA, Huang G, Korcova-Miertusova R, Rivaben D, Faggiano P, Pavan D, Piazza R, Bolis A, Ciavattone A, Ruggiero A, Nicolosi GL. Progression of aortic valve sclerosis and aortic valve stenosis: what is the role of statin treatment? *Ital Heart J* 2005; 6: 119-124.

9. Antonini-Canterin F, Zuppiroli A, Baldessin F, Popescu BA, Nicolosi GL. Is there a role of statins in the prevention of aortic biological prostheses degeneration. *Cardiovascular Ultrasound* 2006; 4: 26.
10. Arishiro K, Hoshiga M, Negoro N, Jin D, Takai S, Miyazaki M, Ishihara T, Hanafusa T. Angiotensin receptor-1 blocker inhibits atherosclerotic changes and endothelial disruption of the aortic valve in hypercholesterolemic rabbits. *J Am Coll Cardiol* 2007; 49: 1482-1489.
11. Aronow WS, Ahn C, Kronzon I, Goldman ME. Association of coronary risk factors and use of statins with progression of mild valvular aortic stenosis in older persons. *Am J Cardiol* 2001; 88: 693-695.
12. Atalar E, Ozturk E, Ozer N, Haznedaroglu IC, Kepez A, Coskun S, Aksoyek S, Ovunc K, Kes S, Kirazli S, Ozmen F. Plasma soluble osteopontin concentrations are increased in patients with rheumatic mitral stenosis and associated with the severity of mitral valve calcium. *Am J Cardiol* 2006; 98: 817-820.
13. Baldassarre D, De Jong A, Amato M, Werba JP, Castelnuovo S, Frigerio B, Veglia F, Tremoli E, Sirtori CR. Carotid intima-media thickness and markers of inflammation, endothelial damage and hemostasis. *Ann Med* 2008; 40: 21-44.
14. Bellamy MF, Pellikka PA, Klarich KW, Tajik AJ, Enriquez-Sarano M. Association of cholesterol levels, hydroxymethylglutaryl coenzyme-A reductase inhibitor treatment, and progression of aortic stenosis in the community. *J Am Coll Cardiol* 2002; 40: 1723-1730.
15. Bennett BJ, Scatena M, Kirk EA, Rattazzi M, Varon RM, Averill M, Schwartz SM, Giachelli CM, Rosenfeld ME. Osteoprotegerin inactivation accelerates advanced aortic lesion progression and calcification in older apoE ^{-/-} mice. *Arterioscl Thromb Vasc Biol* 2006; 26: 2117-2124.
16. Bergler-Klein J, Klaar U, Heger M, Rosenhek R, Mundigler G, Gabriel H, Binder T, Pacher R, Maurer G, Baumgartner H. Natriuretic peptides predict symptom-free survival and postoperative outcome in severe aortic stenosis. *Circulation* 2004; 109: 2302-2308.

17. Blanco-Colio LM, Martín-Ventura JL, de Teresa E, Farsang C, Gaw A, Gensini G, Leiter LA, Langer A, Martineau P, Egido J; ACTFAST investigators. Elevated ICAM-1 and MCP-1 plasma levels in subjects at high cardiovascular risk are diminished by atorvastatin treatment. Atorvastatin on Inflammatory Markers study: a substudy of Achieve Cholesterol Targets Fast with Atorvastatin Stratified Titration. *Am Heart J* 2007; 153: 881-888.
18. *American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines; Society of Cardiovascular Anesthesiologists; Society for Cardiovascular Angiography and Interventions; Society of Thoracic Surgeons.* Bonow RO, Carabello BA, Kanu C, de Leon AC Jr, Faxon DP, Freed MD, Gaasch WH, Lytle BW, Nishimura RA, O’Gara PT, O’Rourke RA, Otto CM, Shah PM, Shanewise JS, Smith SC Jr, Jacobs AK, Adams CD, Anderson JL, Antman EM, Faxon DP, Fuster V, Halperin JL, Hiratzka LF, Hunt SA, Lytle BW, Nishimura R, Page RL, Riegel B. ACC/AHA 2006 guidelines for the management of patients with valvular heart disease: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines. *Circulation* 2006; 114: e84–e231.
19. Borowiec-Kocańda A, Dabrowski R. Zwężenie zastawki aortalnej - nie tylko leczenie chirurgiczne ? *Kardiologia Polska* 2008; 66: 443-446.
20. Briand M, Lemieux I, Dumesnil JG, Mathieu P, Cartier A, Després JP, Arsenault M, Couet J, Pibarot P. Metabolic syndrome negatively influences disease progression and prognosis in aortic stenosis. *J Am Coll Cardiol* 2006; 47: 2229-2236.
21. Cadigan KM, Peifer M. Wnt signaling from development to disease: insights from model systems. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 2009; 1: a002881.
22. Caira FC, Stock SR, Gleason TG, McGee EC, Huang J, Bonow RO, Spelsberg TC, McCarthy PM, Rahimtoola SH, Rajamannan NM. Human degenerative valve disease is associated with up-regulation of low-density lipoprotein receptor-related protein 5 receptor-mediated bone formation. *J Am Coll Cardiol* 2006; 47: 1707-1712.
23. Callister TQ, Raggi P, Cooil B, Lippolis NJ, Russo DJ. Effect of HMG-CoA reductase inhibitors on coronary artery disease as assessed by electron-beam computed tomography. *N Engl J Med* 1998; 339: 1972-1978.

24. Celińska-Löwenhoff M, Löwenhoff T, Undas A, Glusko P. Effects of hypolipemic drugs on the osteoprotegerin - sRANKL system in patients with coronary artery disease. *Thromb Haemost* 2007; 97: 868-870.
25. Chan KL, Teo K, Tam J, Dumesnil JG; *Astronomer Investigators*. Rationale, design, and baseline characteristics of a randomized trial to assess the effect of cholesterol lowering on the progression of aortic stenosis: the Aortic Stenosis Progression Observation: Measuring Effects of Rosuvastatin (ASTRONOMER) trial. *Am Heart J* 2007; 153: 925-931.
26. Chan KL, Teo K, Dumesnil JG, Ni A, Tam J; *for the ASTRONOMER Investigators*. Effect of Lipid Lowering With Rosuvastatin on Progression of Aortic Stenosis. Results of the Aortic Stenosis Progression Observation: Measuring Effects of Rosuvastatin (ASTRONOMER) Trial. *Circulation* 2010; 121: 306-314.
27. Chui MC, Newby DE, Panarelli M, Bloomfield P, Boon NA. Association between calcific aortic stenosis and hypercholesterolemia: is there a need for a randomized controlled trial of cholesterol-lowering therapy? *Clin Cardiol* 2001; 24: 52-55.
28. Collin-Osdoby P. Regulation of vascular calcification by osteoclast regulatory factors RANKL and osteoprotegerin. *Circ Res* 2004; 95: 1046-1057.
29. Cowell SJ, Newby DE, Boon NA, Elder AT. Calcific aortic stenosis: same old story? *Age Ageing* 2004; 33: 538-544.
30. Cowell SJ, Newby DE, Prescott RJ, Bloomfield P, Reid J, Northridge DB, Boon NA; *Scottish Aortic Stenosis and Lipid Lowering Trial, Impact on Regression (SALTIRE) Investigators*. A randomized trial of intensive lipid-lowering therapy in calcific aortic stenosis. *N Engl J Med* 2005; 352: 2389-2397.
31. Dubiński A, Zdrojewicz Z. Znaczenie badania kompleksu błony środkowej i wewnętrznej ściany tętnicy szyjnej dla oceny miażdżycy. *Pol Merkur Lekarski* 2007; 23: 243-245.
32. Edep ME, Shirani J, Wolf P, Brown DL. Matrix metalloproteinase expression in nonrheumatic aortic stenosis. *Cardiovasc Pathol* 2000; 9: 281-286.

33. Faggiano P, Antonini-Canterin F, Erlicher A, Romeo C, Cervesato E, Pavan D, Piazza R, Huang G, Nicolosi GL. Progression of aortic valve sclerosis to aortic stenosis. *Am J Cardiol* 2003; 91: 99-101.
34. Freeman RV, Otto CM. Spectrum of calcific aortic valve disease: pathogenesis, disease progression, and treatment strategies. *Circulation* 2005; 111: 3316-3326.
35. Garg V, Muth AN, Ransom JF, Schluterman MK, Barnes R, King IN, Grossfeld PD, Srivastava D. Mutations in NOTCH1 cause aortic valve disease. *Nature* 2005; 437: 270-274.
36. Garg V. Molecular genetics of aortic valve disease. *Curr Opin Cardiol* 2006; 21: 180-184.
37. Galante A, Pietroiusti A, Vellini M, Piccolo P, Possati G, De Bonis M, Grillo RL, Fontana C, Favalli C. C-reactive protein is increased in patients with degenerative aortic valvular stenosis. *J Am Coll Cardiol* 2001; 38: 1078-1082.
38. Goldstein RE. Bone modifiers and the quest to slow progression of aortic stenosis. *Am J Cardiol* 2009; 104: 125-127.
39. Gunduz H, Akdemir R, Binak E, Tamer A, Keser N, Uyan C. Can serum lipid and CRP levels predict the “severity” of aortic valve stenosis? *Acta Cardiol* 2003; 58: 321-326.
40. Hakuno D, Kimura N, Yoshioka M, Fukuda K. Molecular mechanisms underlying the onset of degenerative aortic valve disease. *J Mol Med* 2009; 87: 17-24.
41. Helske S, Kupari M, Lindstedt KA, Kovanen PT. Aortic valve stenosis: an active atheroinflammatory process. *Curr Opin Lipidol* 2007; 18: 483-491.
42. Helske S, Laine M, Kupari M, Lommi J, Turto H, Nurmi L, Tikkanen I, Werkkala K, Lindstedt KA, Kovanen PT. Increased expression of profibrotic neutral endopeptidase and bradykinin type 1 receptors in stenotic aortic valves. *Eur Heart J* 2007; 28: 1894-1903.
43. Helske S, Lindstedt KA, Laine M, Mäyränpää M, Werkkala K, Lommi J, Turto H, Kupari M, Kovanen PT. Induction of local angiotensin II-producing systems in stenotic aortic valves. *J Am Coll Cardiol* 2004; 44: 1859-1866.

44. Iivanainen AM, Lindroos M, Tilvis R, Heikkilä J, Kupari M. Natural history of aortic valve stenosis of varying severity in the elderly. *Am J Cardiol* 1996; 78: 97-101.
45. Imai K, Okura H, Kume T, Yamada R, Miyamoto Y, Kawamoto T, Watanabe N, Neishi Y, Toyota E, Yoshida K. C-Reactive protein predicts severity, progression, and prognosis in patients with asymptomatic AS. *Am Heart J* 2008; 156: 713-718.
46. Iung B, Baron G, Butchart EG, Delahaye F, Gohlke-Bärwolf C, Levang OW, Tornos P, Vanoverschelde JL, Vermeer F, Boersma E, Ravaud P, Vahanian A. A prospective survey of patients with valvular heart disease in Europe: The Euro Heart Survey on Valvular Heart Disease. *Eur Heart J* 2003; 24: 1231-1243.
47. Jeevanantham V, Singh N, Izuora K, D'Souza JP, Hsi DH. Correlation of high sensitivity C-reactive protein and calcific aortic valve disease. *The Mayo Clin Proc* 2007; 82: 171-174.
48. Jian B, Jones PL, Li Q, Mohler ER, Schoen FJ, Levy RJ. Matrix metalloproteinase-2 is associated with tenascin-c in calcific aortic valve stenosis. *Am J Pathol* 2001; 159, 321–327.
49. Jian B, Narula N, Li QY, Mohler ER 3rd, Levy RJ. Progression of aortic valve stenosis: TGF-beta1 is present in calcified aortic valve cusps and promotes aortic valve interstitial cell calcification via apoptosis. *Ann Thorac Surg* 2003; 75: 457-465.
50. Johnson RC, Leopold JA, Loscalzo J. Vascular calcification: pathobiological mechanisms and clinical implications. *Circ Res* 2006; 99: 1044-1059.
51. Jono S, Ikari Y, Shioi A, Mori K, Miki T, Hara K, Nishizawa Y. Serum osteoprotegerin levels are associated with the presence and severity of coronary artery disease. *Circulation* 2002; 106: 1192-1194.
52. Kaden JJ, Bickelhaupt S, Grobholz R, Vahl CF, Hagl S, Brueckmann M, Haase KK, Dempfle CE, Borggreffe M. Receptor activator of nuclear factor κ B ligand and osteoprotegerin regulate aortic valve calcification. *J Mol Cell Cardiol* 2004; 36: 57-66.
53. Kaden JJ, Dempfle CE, Grobholz R, Tran HT, Kiliç R, Sarikoç A, Brueckmann M, Vahl C, Hagl S, Haase KK, Borggreffe M. Interleukin-1 beta promotes matrix

- metalloproteinase expression and cell proliferation in calcific aortic valve stenosis. *Atherosclerosis* 2003; 170: 205-11.
54. Kaden JJ, Dempfle CE, Grobholz R, Fischer CS, Vocke DC, Kiliç R, Sarikoç A, Piñol R, Hagl S, Lang S, Brueckmann M, Borggreffe M. Inflammatory regulation of extracellular matrix remodeling in calcific aortic valve stenosis. *Cardiovasc Pathol* 2005; 14: 80-87.
55. Kaden JJ, Dempfle CE, Kiliç R, Sarikoç A, Hagl S, Lang S, Brueckmann M, Borggreffe M. Influence of receptor activator of nuclear factor kappa B on human aortic valve myofibroblasts. *Exp Mol Pathol* 2005; 78: 36-40.
56. Kaden JJ, Kilic R, Sarikoc A, Hagl S, Lang S, Hoffmann U, Brueckmann M, Borggreffe M. Tumor necrosis factor alpha promotes an osteoblast-like phenotype in human aortic valve myofibroblasts: a potential regulatory mechanism of valvular calcification. *Int J Mol Med* 2005; 16: 869-872.
57. Kadoglou NP, Gerasimidis T, Golemati S, Kapelouzou A, Karayannacos PE, Liapis CD. The relationship between serum levels of vascular calcification inhibitors and carotid plaque vulnerability. *J Vasc Surg* 2008; 47: 55-62.
58. Kadoglou NP, Gerasimidis T, Kapelouzou A, Moumtzouoglou A, Avgerinos ED, Kakisis JD, Karayannacos PE, Liapis CD. Beneficial Changes of Serum Calcification Markers and Contralateral Carotid Plaques Echogenicity after Combined Carotid Artery Stenting Plus Intensive Lipid-lowering Therapy in Patients with Bilateral Carotid Stenosis. *Eur J Vasc Endovasc Surg* 2010; 39: 258-265.
59. Kadoglou NP, Gerasimidis T, Moumtzouoglou A, Kapelouzou A, Sailer N, Fotiadis G, Vitta I, Katinios A, Koungias P, Bandios S, Voliotis K, Karayannacos PE, Liapis CD. Intensive lipid-lowering therapy ameliorates novel calcification markers and GSM score in patients with carotid stenosis. *Eur J Vasc Endovasc Surg* 2008; 35: 661-668.
60. Kadoglou NP, Sailer N, Moumtzouoglou A, Kapelouzou A, Gerasimidis T, Liapis CD. Aggressive lipid-lowering is more effective than moderate lipid-lowering treatment in carotid plaque stabilization. *J Vasc Surg* 2010; 51: 114-121.

61. Kiechl S, Schett G, Schwaiger J, Seppi K, Eder P, Egger G, Santer P, Mayr A, Xu Q, Willeit J. Soluble receptor activator of nuclear factor-kappa B ligand and risk for cardiovascular disease. *Circulation* 2007; 116: 385-391.
62. Kiechl S, Schett G, Wenning G, Redlich K, Oberhollenzer M, Mayr A, Santer P, Smolen J, Poewe W, Willeit J. Osteoprotegerin is a risk factor for progressive atherosclerosis and cardiovascular disease. *Circulation* 2004; 109: 2175-2180.
63. Kitazawa R, Mori K, Yamaguchi A, Kondo T, Kitazawa S. Modulation of mouse RANKL gene expression by Runx2 and vitamin D3. *J Cell Biochem* 2008; 105: 1289-1297.
64. Kong YY, Yoshida H, Sarosi I, Tan HL, Timms E, Capparelli C, Morony S, Oliveirados-Santos AJ, Van G, Itie A, Khoo W, Wakeham A, Dunstan CR, Lacey DL, Mak TW, Boyle WJ, Penninger JM. OPGL is a key regulator of osteoclastogenesis, lymphocyte development and lymph-node organogenesis. *Nature* 1999; 397: 315–323..
65. Kowalski J, Okopień B, Madej A, Zieliński M, Belowski D, Kalina Z, Herman ZS. Effects of atorvastatin, simvastatin, and fenofibrate therapy on monocyte chemoattractant protein-1 secretion in patients with hyperlipidemia. *Eur J Clin Pharmacol* 2003; 59: 189-193.
66. Kuusisto J, Räsänen K, Särkioja T, Alarakkola E, Kosma VM. Atherosclerosis-like lesions of the aortic valve are common in adults of all ages: a necropsy study. *Heart* 2005; 91: 576-582.
67. Lacey DL, Timms E, Tan HL, Kelley MJ, Dunstan CR, Burgess T, Elliott R, Colombero A, Elliott G, Scully S, Hsu H, Sullivan J, Hawkins N, Davy E, Capparelli C, Eli A, Qian YX, Kaufman S, Sarosi I, Shalhoub V, Senaldi G, Guo J, Delaney J, Boyle WJ. Osteoprotegerin ligand is a cytokine that regulates osteoclast differentiation and activation. *Cell* 1998; 93: 165–176.
68. Lie DC, Colamarino SA, Song HJ, Désiré L, Mira H, Consiglio A, Lein ES, Jessberger S, Lansford H, Dearie AR, Gage FH. Wnt signalling regulates adult hippocampal neurogenesis. *Nature* 2005; 437: 1370-1375.

69. Liebe V, Brueckmann M, Borggrefe M, Kaden JJ. Statin therapy of calcific aortic stenosis: hype or hope ? *Eur Heart J* 2006; 27: 773-778.
70. Lindroos M, Kupari M, Heikkila J, Tilvis R. Prevalence of aortic valve abnormalities in the elderly: an echocardiographic study of a random population sample. *J Am Coll Cardiol* 1993; 21: 1220-1225.
71. Mallat Z, Tedgui A. Unbalanced RANKL/RANK pathway in aortic valve sclerosis. *J Mol Cell Cardiol* 2004; 36: 17-19.
72. Miller JD, Weiss RM, Serrano KM, Brooks RM 2nd, Berry CJ, Zimmerman K, Young SG, Heistad DD. Lowering plasma cholesterol levels halts progression of aortic valve disease in mice. *Circulation* 2009; 119: 2693-2701.
73. Minoretti P, Falcone C, Calcagnino M, Emanuele E, Buzzi MP, Coen E, Geroldi D. Prognostic significance of plasma osteopontin levels in patients with chronic stable angina. *Eur Heart J* 2006; 27: 802-807.
74. Mohler ER 3rd, Gannon F, Reynolds C, Zimmerman R, Keane MG, Kaplan FS. Bone formation and inflammation in cardiac valves. *Circulation* 2001; 103: 1522-1528.
75. Mohler ER 3rd, Wang H, Medenilla E, Scott C. Effect of statin treatment on aortic valve and coronary artery calcification. *J Heart Valve Dis* 2007; 16: 378-386.
76. Mohty D, Pibarot P, Despres JP, Côté C, Arsenault B, Cartier A, Cosnay P, Couture C, Mathieu P. Association between plasma LDL particle size, valvular accumulation of oxidized LDL, and inflammation in patients with aortic stenosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2008; 28: 187-193.
77. Moura LM, Maganti K, Puthumana JJ, Rocha-Goncalves F, Rajamannan NM. New understanding about calcific aortic stenosis and opportunities for pharmacologic intervention. *Curr Opin Cardiol* 2007; 22: 572—577.
78. Moura LM, Ramos SF, Zamorano JL, Barros IM, Azevedo LF, Rocha-Gonçalves F, Rajamannan NM. Rosuvastatin affecting aortic valve endothelium to slow the progression of aortic stenosis. *J Am Coll Cardiol* 2007; 49: 554-561.
79. Nachtigal P, Pospisilova N, Jamborova G, Pospeschova K, Solichova D, Andrys C, Zdansky P, Micuda S, Semecky V. Atorvastatin has hypolipidemic and anti-

- inflammatory effects in apoE/LDL receptor-double-knockout mice. *Life Sci* 2008; 82: 708-717.
80. Nellesmann B, Gormsen LC, Dollerup J, Schmitz O, Mogensen CE, Rasmussen LM, Nielsen S. Simvastatin reduces plasma osteoprotegerin in type 2 diabetic patients with microalbuminuria. *Diabetes Care* 2007; 30: 3122-3124.
 81. Nigam V, Srivastava D. Notch1 represses osteogenic pathways in aortic valve cells. *J Mol Cell Cardiol* 2009; 47: 828-834.
 82. Nightingale AK, Horowitz JD. Aortic sclerosis: not an innocent murmur but a marker of increased cardiovascular risk. *Heart* 2005; 91: 1389-1393.
 83. Nissen SE, Nicholls SJ, Sipahi I, Libby P, Raichlen JS, Ballantyne CM, Davignon J, Erbel R, Fruchart JC, Tardif JC, Schoenhagen P, Crowe T, Cain V, Wolski K, Goormastic M, Tuzcu EM; *ASTEROID Investigators*. Effect of very high-intensity statin therapy on regression of coronary atherosclerosis: the ASTEROID trial. *JAMA* 2006; 295: 1556-1565.
 84. Nkomo VT, Gardin JM, Skelton TN, Gottdiener JS, Scott CG, Enriquez-Sarano M. Burden of valvular heart diseases: a population-based study. *Lancet* 2006; 368: 1005-1011.
 85. Novaro GM, Griffin BP. Calcific aortic stenosis: another face of atherosclerosis? *Cleve Clin J Med* 2003; 70: 471-477.
 86. Novaro GM, Tiong IY, Pearce GL, Lauer MS, Sprecher DL, Griffin BP. Effect of hydroxymethylglutaryl coenzyme A reductase inhibitors on the progression of calcific aortic stenosis. *Circulation* 2001; 104: 2205-2209.
 87. Nüsslein-Volhard C, Wieschaus E. Mutations affecting segment number and polarity in *Drosophila*. *Nature* 1981; 287: 795-801.
 88. Nybo M, Rasmussen LM. The capability of plasma osteoprotegerin as a predictor of cardiovascular disease: a systematic literature review. *Eur J Endocrinol* 2008; 159: 603-608.
 89. O'Brien KD. Pathogenesis of calcific aortic valve disease: a disease process comes of age (and a good deal more). *Arterioscl Thromb Vasc Biol* 2006; 26: 1721-1728.

90. O'Brien KD, Kuusisto J, Reichenbach DD, Ferguson M, Giachelli C, Alpers CE, Otto CM. Osteopontin is expressed in human aortic valvular lesions. *Circulation* 1995; 92: 2163-2168.
91. O'Brien KD, Probstfield JL, Caulfield MT, Nasir K, Takasu J, Shavelle DM, Wu AH, Zhao XQ, Budoff MJ. Angiotensin-converting enzyme inhibitors and change in aortic valve calcium. *Arch Intern Med* 2005; 165: 858-862.
92. O'Brien KD, Reichenbach DD, Marcovina SM, Kuusisto J, Alpers CE, Otto CM. Apolipoproteins B, (a), and E accumulate in the morphologically early lesion of 'degenerative' valvular aortic stenosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1996; 16: 523-532.
93. O'Brien KD, Shavelle DM, Caulfield MT, McDonald TO, Olin-Lewis K, Otto CM, Probstfield JL. Association of angiotensin-converting enzyme with low-density lipoprotein in aortic valvular lesions and in human plasma. *Circulation* 2002; 106: 2224-2230.
94. Olsson M, Thyberg J, Nilsson J. Presence of oxidized low density lipoprotein in nonrheumatic stenotic aortic valves. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1999; 19: 1218-1222.
95. Orłowska-Baranowska E, Stępińska J. Czy stenoza aortalna ma podłoże genetyczne? *Kardiologia Pol* 2007; 65: 1376-1380.
96. Ortlepp JR, Hoffmann R, Ohme F, Lauscher J, Bleckmann F, Hanrath P. The vitamin D receptor genotype predisposes to the development of calcific aortic valve stenosis. *Heart* 2001; 85: 635-638.
97. Otto CM. Calcific aortic stenosis – time to look more closely at the valve. *N Engl J Med* 2008; 359: 1395-1398.
98. Otto CM, Burwash IG, Legget ME, Munt BI, Fujioka M, Healy NL, Kraft CD, Miyake-Hull CY, Schwaegler RG. Prospective study of asymptomatic valvular aortic stenosis. Clinical, echocardiographic, and exercise predictors of outcome. *Circulation* 1997; 95: 2262-2270.

99. Otto CM, Kuusisto J, Reichenbach DD, Gown AM, O'Brien KD. Characterization of the early lesion of 'degenerative' valvular aortic stenosis. Histological and immunohistochemical studies. *Circulation* 1994; 90: 844-853.
100. Otto CM, Lind BK, Kitzman DW, Gersh BJ, Siscovick DS. Association of aortic-valve sclerosis with cardiovascular mortality and morbidity in the elderly. *N Engl J Med* 1999; 341: 142-147.
101. Ovchinnikova O, Gylfe A, Bailey L, Nordström A, Rudling M, Jung C, Bergström S, Waldenström A, Hansson GK, Nordström P. Osteoprotegerin promotes fibrous cap formation in atherosclerotic lesions of ApoE-deficient mice--brief report. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2009; 29: 1478-1480.
102. Palta S, Pai AM, Gill KS, Pai RG. New insights into the progression of aortic stenosis. Implications for secondary prevention. *Circulation* 2000; 101: 2497-2502.
103. Parolari A, Loardi C, Mussoni L, Cavallotti L, Camera M, Biglioli P, Tremoli E, Alamanni F. Nonrheumatic calcific aortic stenosis: an overview from basic science to pharmacological prevention. *Eur J Cardiothorac Surg* 2009; 35: 493-504.
104. Pedersen TR. Intensive lipid-lowering therapy for patients with aortic stenosis. *Am J Cardiol* 2008; 102: 1571-1576.
105. Peltier M, Trojette F, Sarano ME, Grigioni F, Slama MA, Tribouilloy CM. Relation between cardiovascular risk factors and nonrheumatic severe calcific aortic stenosis among patients with a three-cuspid aortic valve. *Am J Cardiol* 2003; 91: 97-99.
106. Podolec P, Kopeć G, Rubiś P, Kabłak-Ziembicka A, Rokita E, Tracz W. [Calcific and degenerative aortic stenosis--pathogenesis and new possibilities of treatment]. *Przegl Lek* 2004; 61: 604-608.
107. Poggianti E, Venneri L, Chubuchny V, Jambrik Z, Baroncini LA, Picano E. Aortic valve sclerosis is associated with systemic endothelial dysfunction. *J Am Coll Cardiol* 2003; 41: 136-141.
108. Pohle K, Maffert R, Ropers D, Moshage W, Stilianakis N, Daniel WG, Achenbach S. Progression of aortic valve calcification: association with coronary atherosclerosis and cardiovascular risk factors. *Circulation* 2001; 104: 1927-1932.

109. Rajamannan NM. Calcific aortic stenosis: medical and surgical management in the elderly. *Curr Treat Options Cardiovasc Med* 2005; 7: 437-442.
110. Rajamannan NM. Calcific aortic stenosis: lessons learned from experimental and clinical studies. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2009; 29: 162-168.
111. Rajamannan NM. Mechanisms of aortic valve calcification: the LDL-density-radius theory: a translation from cell signaling to physiology. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2010; 298: H5-15.
112. Rajamannan NM, Bonow RO, Rahimtoola SH. Calcific aortic stenosis: an update. *Nat Clin Pract Cardiovasc Med* 2007; 4: 254–262.
113. Rajamannan NM, Edwards WD, Spelsberg TC. Hypercholesterolemic aortic valve disease. *N Engl J Med* 2003; 349: 717-718.
114. Rajamannan NM, Otto CM. Targeted therapy to prevent progression of calcific aortic stenosis. *Circulation* 2004; 110: 1180-1182.
115. Rajamannan NM, Subramaniam M, Caira F, Stock SR, Spelsberg TC. Atorvastatin inhibits hypercholesterolemia-induced calcification in the aortic valves via the Lrp5 receptor pathway. *Circulation* 2005; 112(9 Suppl): I229-234.
116. Rajamannan NM, Subramaniam M, Rickard D, Stock SR, Donovan J, Springett M, Orszulak T, Fullerton DA, Tajik AJ, Bonow RO, Spelsberg T. Human aortic valve calcification is associated with an osteoblast phenotype. *Circulation* 2003; 107: 2181-2184.
117. Rajamannan NM, Subramaniam M, Springett M, Sebo TC, Niekrasz M, McConnell JP, Singh RJ, Stone NJ, Bonow RO, Spelsberg TC. Atorvastatin inhibits hypercholesterolemia-induced cellular proliferation and bone matrix production in the rabbit aortic valve. *Circulation* 2002; 105: 2660-2665.
118. Rajamannan NM, Subramaniam M, Stock SR, Stone NJ, Springett M, Ignatiev KI, McConnell JP, Singh RJ, Bonow RO, Spelsberg TC. Atorvastatin inhibits calcification and enhances nitric oxide synthase production in the hypercholesterolaemic aortic valve. *Heart* 2005; 91: 806-810.

119. Rashidi A, Adler DS, Casscells W, Madjid M. Is it time to prescribe statins to patients with calcified aortic stenosis? *Am Heart J* 2005; 150: 41-45.
120. Rijsewijk F, Schuermann M, Wagenaar E, Parren P, Weigel D, Nusse R. The *Drosophila* homolog of the mouse mammary oncogene int-1 is identical to the segment polarity gene wingless. *Cell* 1987; 50: 649-657.
121. Rosenhek R, Baumgartner H. Aortic sclerosis, aortic stenosis and lipid-lowering therapy. *Expert Rev Cardiovasc Ther* 2008; 6: 385-390.
122. Rosenhek R, Binder T, Porenta G, Lang I, Christ G, Schemper M, Maurer G, Baumgartner H. Predictors of outcome in severe, asymptomatic aortic stenosis. *N Engl J Med* 2000; 343: 611-617.
123. Rosenhek R, Klaar U, Schemper C, Scholten C, Heger M, Gabriel H, Binder T, Maurer G, Baumgartner H. Mild and moderate aortic stenosis. Natural history and risk stratification by echocardiography. *Eur Heart J* 2004; 25: 199-205.
124. Rosenhek R, Rader F, Loho N, Gabriel H, Heger M, Klaar U, Schemper M, Binder T, Maurer G, Baumgartner H. Statins but not angiotensin – converting enzyme inhibitors delay progression of aortic stenosis. *Circulation* 2004; 110: 1291-1295.
125. Rossebø AB, Pedersen TR, Allen C, Boman K, Chambers J, Egstrup K, Gerds E, Gohlke-Bärwolf C, Holme I, Kesäniemi VA, Malbecq W, Nienaber C, Ray S, Skjaerpe T, Wachtell K, Willenheimer R. Design and baseline characteristics of the simvastatin and ezetimibe in aortic stenosis (SEAS) study. *Am J Cardiol* 2007; 99: 970-973.
126. Rossebø AB, Pedersen TR, Boman K, Brudi P, Chambers JB, Egstrup K, Gerds E, Gohlke-Bärwolf C, Holme I, Kesäniemi YA, Malbecq W, Nienaber CA, Ray S, Skjaerpe T, Wachtell K, Willenheimer R; *SEAS Investigators*. Intensive lipid lowering with simvastatin and ezetimibe in aortic stenosis. *N Engl J Med* 2008; 359: 1343-1356.
127. Sanchez PL, Mazzone AM. C-reactive protein in aortic valve disease. *Cardiovascular Ultrasound* 2006; 4: 37.
128. Sánchez PL, Santos JL, Kaski JC, Cruz I, Arribas A, Villacorta E, Cascon M, Palacios IF, Martín-Luengo C; *Grupo AORTICA (Grupo de Estudio de la Estenosis Aórtica)*.

- Relation of circulating C-reactive protein to progression of aortic valve stenosis. *Am J Cardiol* 2006; 97: 90-93.
129. Satta J, Melkko J, Pöllänen R, Tuukkanen J, Pääkkö P, Ohtonen P, Mennander A, Soini Y. Progression of human aortic valve stenosis is associated with tenascin-C expression. *J Am Coll Cardiol* 2002; 39: 96-101.
 130. Satta J, Oiva J, Salo T, Eriksen H, Ohtonen P, Biancari F, Juvonen TS, Soini Y. Evidence for an altered balance between matrix metalloproteinase-9 and its inhibitors in calcific aortic stenosis. *Ann Thorac Surg* 2003; 76: 681-688.
 131. Scatena M, Liaw L, Giachelli CM. Osteopontin: a multifunctional molecule regulating chronic inflammation and vascular disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2007; 27: 2302-2309.
 132. Semb AG, Ueland T, Aukrust P, Wareham NJ, Luben R, Gullestad L, Kastelein JJ, Khaw KT, Boekholdt SM. Osteoprotegerin and soluble receptor activator of nuclear factor-kappaB ligand and risk for coronary events: a nested case-control approach in the prospective EPIC-Norfolk population study 1993-2003. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2009; 29: 975-980.
 133. Shah SJ, Ristow B, Ali S, Na BY, Schiller NB, Whooley MA. Acute myocardial infarction in patients with versus without aortic valve sclerosis and effect of statin therapy (from the Heart and Soul Study). *Am J Cardiol* 2007; 99: 1128-1133.
 134. Shao JS, Cheng SL, Pingsterhaus JM, Charlton-Kachigian N, Loewy AP, Towler DA. Msx2 promotes cardiovascular calcification by activating paracrine Wnt signals. *J Clin Invest* 2005; 115: 1210-1220.
 135. Shao JS, Cai J, Towler DA. Molecular mechanisms of vascular calcification: lessons learned from the aorta. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2006; 26: 1423-1430.
 136. Shao JS, Cheng SL, Sadhu J, Towler DA. Inflammation and the osteogenic regulation of vascular calcification: a review and perspective. *Hypertension* 2010; 55: 579-592.
 137. Shavelle DM, Takasu J, Budoff MJ, Mao S, Zhao XQ, O'Brien KD. HMG CoA reductase inhibitor (statin) and aortic valve calcium. *Lancet* 2002; 359: 1125-1126.

138. Shen Q, Christakos S. The vitamin D receptor, Runx2, and the Notch signaling pathway cooperate in the transcriptional regulation of osteopontin. *J Biol Chem* 2005; 280: 40589-40598.
139. Skolnick AH, Osranek M, Formica P, Kronzon I. Osteoporosis treatment and progression of aortic stenosis. *Am J Cardiol* 2009; 104: 122-124.
140. Soejima H, Irie A, Fukunaga T, Sugamura K, Kojima S, Sakamoto T, Yoshimura M, Kishikawa H, Nishimura Y, Ogawa H. Elevated plasma osteopontin levels were associated with osteopontin expression of CD4⁺ T cells in patients with unstable angina. *Circ J* 2006; 70: 851-856.
141. Soejima H, Irie A, Fukunaga T, Oe Y, Kojima S, Kaikita K, Kawano H, Sugiyama S, Yoshimura M, Kishikawa H, Nishimura Y, Ogawa H. Osteopontin expression of circulating T cells and plasma osteopontin levels are increased in relation to severity of heart failure. *Circ J* 2007; 71: 1879-1884.
142. Steinmetz M, Skowasch D, Wernert N, Welsch U, Preusse CJ, Welz A, Nickenig G, Bauriedel G. Differential profile of the OPG/RANKL/RANK-system in degenerative aortic native and bioprosthetic valves. *J Heart Valve Dis* 2008; 17: 187-193.
143. Stewart BF, Siscovick D, Lind BK, Gardin JM, Gottdiener JS, Smith VE, Kitzman DW, Otto CM. Clinical factors associated with calcific aortic valve disease. Cardiovascular Health Study. *J Am Coll Cardiol* 1997; 29: 630-634.
144. Stewart RA. Clinical trials in heart valve disease. *Curr Opin Cardiol* 2009; 24: 279-287.
145. Strom A, Franzen A, Wangnerud C, Knutsson AK, Heinegard D, Hultgardh-Nilsson A. Altered vascular remodeling in osteopontin-deficient atherosclerotic mice. *J Vasc Res* 2004; 41: 314-322.
146. Tanaka N, Momiyama Y, Ohmori R, Yonemura A, Ayaori M, Ogura M, Sawada S, Kusuhara M, Nakamura H, Ohsuzu F. Effect of atorvastatin on plasma osteopontin levels in patients with hypercholesterolemia. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2006; 26: e129-130.

147. Tourmousoglou CE, Lalos S, Psarros T. Do statins slow the progression of aortic valve stenosis? *Interact Cardiovasc Thorac Surg* 2008; 7: 684-689.
148. Vahanian A, Baumgartner H, Bax J, Butchart E, Dion R, Filippatos G, Flachskampf F, Hall R, Iung B, Kasprzak J, Nataf P, Tornos P, Torracca L, Wenink A; *Task Force on the Management of Valvular Heart Disease of the European Society of Cardiology; ESC Committee for Practice Guidelines*. Guidelines on the management of valvular heart disease: The Task Force on the Management of Valvular Heart Disease of the European Society of Cardiology. *Eur Heart J* 2007; 28: 230-268.
149. Vahanian A, Otto CM. Risk stratification of patients with aortic stenosis. *Eur Heart J* 2010; 31: 416-423.
150. Van Campenhout A, Golledge J. Osteoprotegerin, vascular calcification and atherosclerosis. *Atherosclerosis* 2009; 204: 321-329.
151. Weber M, Hausen M, Arnold R, Nef H, Moellman H, Berkowitsch A, Elsaesser A, Brandt R, Mitrovic V, Hamm C. Prognostic value of N-terminal pro-B-type natriuretic peptide for conservatively and surgically treated patients with aortic valve stenosis. *Heart* 2006; 92: 1639-1644.
152. Yamaura Y, Nishida T, Watanabe N, Akasaka T, Yoshida K. Relation of aortic valve sclerosis to carotid artery intima-media thickening in healthy subjects. *Am J Cardiol* 2004; 94: 837-839.
153. Yu PJ, Skolnick A, Ferrari G, Heretis K, Mignatti P, Pintucci G, Rosenzweig B, Diaz-Cartelle J, Kronzon I, Perk G, Pass HI, Galloway AC, Grossi EA, Grau JB. Correlation between plasma osteopontin levels and aortic valve calcification: potential insights into the pathogenesis of aortic valve calcification and stenosis. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2009; 138: 196-199.
154. Ziegler S, Kudlacek S, Luger A, Minar E. Osteoprotegerin plasma concentrations correlate with severity of peripheral artery disease. *Atherosclerosis* 2005; 182: 175-80.

X. SPIS TABEL

- Tabela 1.** Parametry echokardiograficzne badanych pacjentów.
- Tabela 2.** Wpływ atorwastatyny na lipidemię u pacjentów.
- Tabela 3.** Wpływ leczenia atorwastatyną na poziom biomarkerów kalcyfikacji i zapalenia.
- Tabela 4.** Porównanie podgrupy bez istotnych (-) oraz z istotnymi (+) zwapnieniami
- Tabela 5.** Porównanie podgrupy pacjentów z i bez hipercholesterolemii.
- Tabela 6.** Porównanie wyników parametrów biochemicznych u pacjentów z i bez blaszki miażdżycowej w tętnicy szyjnej.
- Tabela 7.** Retrospektywne badania z użyciem statyny w SA.
- Tabela 8.** Porównanie badań prospektywnych nad wpływem statyn na SA.

XII. SPIS RYCIN

- Rycina 1.** Gwałtowny wzrost prawdopodobieństwa rozwoju stwardnienia płatków zastawki aortalnej w okresie pomiędzy 60 i 90 rokiem życia (porównanie między mężczyznami i kobietami) (*rycina zmodyfikowana na podstawie [2]*).
- Rycina 2.** Ciągłość lub etapowość patologicznych procesów w rozwoju SA (*rycina zmodyfikowana na podstawie [4]*).
- Rycina 3.** Procesy prowadzące do stwardnienia płatków aortalnych lub aktywacji osteoblastów i zwapnienia. (IL- interleukina, MMP- metaloproteinaza macierzy, TNF- czynnik martwicy guza, RANKL- ligand receptorowego aktywatora czynnika jądrowego κ B, TGF- β - transformujący czynnik wzrostu, OPN- osteopontyna (*rycina zmodyfikowana na podstawie [153]*).
- Rycina 4.** Procesy zaangażowane w stwardnienie i zwapnienie płatków zastawki aortalnej (*rycina zmodyfikowana na podstawie [4]*). Lrp5 - białko związane z receptorem LDL typu 5, FZD = „frizzled” – typ receptora 7-TM „skręconego”, związanego ze szlakiem Wnt, MMP- metaloproteinaza macierzy, TGF- β – transformujący czynnik wzrostu, BMP- białko morfogenetyczne kości, B2R, B1R- receptor (typu 1 lub 2) dla bradykininy, AT1R- receptor typu 1 dla angiotensyny.
- Rycina 5.** Rola zwiększonego stężenia osteoprotegeryny (OPG) w uszkodzających procesach stwardnieniowo-zwapnieniowych zastawki (*rycina zmodyfikowana na podstawie [150]*).
- Rycina 6.** Rola statyn w hamowaniu kalcyfikacji zastawki aortalnej (*rycina zmodyfikowana na podstawie [110]*). Wnt – szlak sygnalizacyjny, Frizzled – typ receptora 7-TM „skręconego”, związanego ze szlakiem Wnt, pozostałe skróty opis jak we wcześniejszych rycinach.
- Rycina 7.** Wpływ atorwastatyny 80 mg i placebo na poziom LDL-cholesterolu w badaniu SALTIRE (*rycina zmodyfikowana na podstawie [30]*).
- Rycina 8.** Wpływ simwastatyny 40 mg + ezetymibu 10 mg oraz placebo na poziom LDL-cholesterolu w badaniu SEAS (*rycina zmodyfikowana na podstawie [126]*).

Rycina 9. Wpływ rosuwastatyny 40 mg i placebo na poziom LDL-cholesterolu w badaniu ASTRONOMER (*rycina zmodyfikowana na podstawie [26]*)

Rycina 10. Schemat procesu rekrutacji w badaniu ASTRONOMER (*zmodyfikowane na podstawie [26]*).