

# Kalcifikovaná aortální stenóza – zánětlivé onemocnění

Ivo Šteiner

Fingerlandův ústav patologie LF UK a FN, Hradec Králové

## SOUHRN

Kalcifikovaná aortální stenóza (KAS) je v rozvinutých zemích nejčastější chlopenní vadou a indikací k náhradě chlopně protézou. U osob nad 75 roků je její prevalence více než 5 % populace. Jsou dva základní typy KAS – typ postihující normální třícípou aortální chlopeň, tzv. stařecký („sklerotický“), obvyklý u osob nad 75 let věku, a typ na podkladě vrozně malformované, většinou dvojčipé aortální chlopně, obvyklý ve věku do 65 roků.

V tomto článku stručně shrnujeme 5 našich publikací z let 2007 – 2021, věnovaných histopatologii KAS, konkrétně vaskularizaci chlopní, složení zánětlivého infiltrátu a metaplastické osifikaci, a také topografii těchto změn v jednotlivých cípech chlopně. Uzavíráme, že KAS není pasivní degenerativní proces, ale proces aktivní, multifaktoriální, zánětlivý, řízený vlastními buňkami aortální chlopně. Patogeneze KAS je obdobná jako u aterosklerózy.

**Klíčová slova:** kalcifikovaná aortální stenóza – aortální chlopeň – patogeneze – zánět

## Calcific Aortic Stenosis – Inflammatory Disease

### SUMMARY

In developed countries, calcific aortic stenosis (CAS) has become the most common acquired valvular disease and cause for valve replacement. The prevalence of the disease increases with age, reaching over 5 % in adults over 75 years of age. The cases of CAS are classified as either of a previously normal (tricuspid) aortic valve (senile, syn. age – related, “sclerotic” type), or based on a congenitally malformed, usually bicuspid aortic valve.

This paper is a brief summary of our 5 previous publications from the years 2007 – 2021, devoted to histopathology of CAS, namely to vascularization, inflammatory infiltrate and metaplastic ossification of the valve, and also to topography of these lesions in individual valve cusps.

We conclude that calcification of the aortic valve is not a passive degenerative lesion, but an active multifactorial inflammatory process driven by cells native to the aortic valve. Pathogenesis of CAS is similar to that of atherosclerosis.

**Key words:** calcific aortic stenosis – aortic valve – pathogenesis – inflammation

*Cesk Patol 2024; 60(2): 124–128*

V rozvinutých zemích je kalcifikovaná aortální stenóza (KAS) nejčastější chlopenní vadou v dospělosti a indikací k náhradě chlopně protézou (1).

V minulých letech jsme publikovali několik prací o dílčích histologických rysech KAS (2 – 6); zde chcí podat jejich souhrn.

KAS je známa přes 250 let. Během této doby prošel názor na její etiopatogenezi řadou změn. Nejprve se uvažovalo o úloze revmatické horečky. Ta i dnes hraje roli v rozvojových zemích, v západním světě však došlo ve druhé polovině 20. století k jejímu dramatickému poklesu; odhad incidence je zde 1 případ na 100 tisíc obyvatel. Již ve čtyřicátých letech 19. století byla zaznamenána tendence dvojčipé aortální chlopně ke kalcifikaci a v roce 1904 popsal Mönckeberg KAS u starých lidí.

Pomineme-li revmatickou etiologii (zde byly hlavním mechanismem stenózy srůsty komisur), setkáváme se dnes se dvěma základními typy KAS – stařecký („sklerotický“), s normální třícípou aortální chlopní, a dále na podkladě vrozně malformace, většinou dvojčipé, vzácněji jednocípé chlopně (obr. 1). U obou

typů je stenóza způsobená rigiditou kalcifikovaných cípů a tedy omezenou dilatací ústí při systole; komisury jsou volné (nesrostlé).

Stařecký typ KAS se vyskytuje většinou u osob nad 75 roků věku a s prodlužující se délkou života jej přibývá. U osob nad 75 roků je jeho prevalence více než 5 % populace. Je častější u mužů než u žen (poměr 2 – 4:1). Dvojčipá aortální chlopeň se vyskytuje u 1 – 2 % populace, u mužů 2 – 3x častěji než u žen. Prakticky všechny dvojčipé chlopně se dříve či později komplikují fibrokalcifikací a vznikem KAS, většinou ve věku pod 65 roků.

Echokardiografisté rozlišují aortální sklerózu a aortální stenózu. Skleróza je charakterizována nepravidelným ztlustěním, drobnými kalcifikacemi a sníženou pohyblivostí cípů. Její prevalence je ve věku 65 – 74 roků 20 %, ve věku 75 – 84 r. 35 % a ve věku nad 85 r. 48 % (1). U stenózy jsou kalcifikace větší, uzlovité, typicky na aortální ploše cípů směrem do Valsalvových sinusů.

Normální průměr aortálního ústí je asi 20 mm a jeho plocha je 3 – 4 cm<sup>2</sup>. Při KAS dochází k redukcí ústí o 0,1 – 0,3 cm<sup>2</sup>/rok. Symptomy KAS se objevují při ústí menším než 1,1 cm<sup>2</sup>. Tlakový gradient je při takové stenóze i větší než 40 mm Hg (1). Zatímco symptomatické stenózy stařecké jsou operovány většinou u 8. – 9. dekádě života, stenózy na podkladě dvojčipé chlopně se vyvíjejí dříve a k operaci dochází většinou již v 6. – 7. dekádě. Příčinou časnější kalcifikace je zde zřejmě zvýšený mechanický stres, s následnou endoteliální dysfunkcí bikuspidní chlopně. Mechanismus vzniku kalcifikace je zřejmě u obou typů KAS shodný.

### ✉ Adresa pro korespondenci:

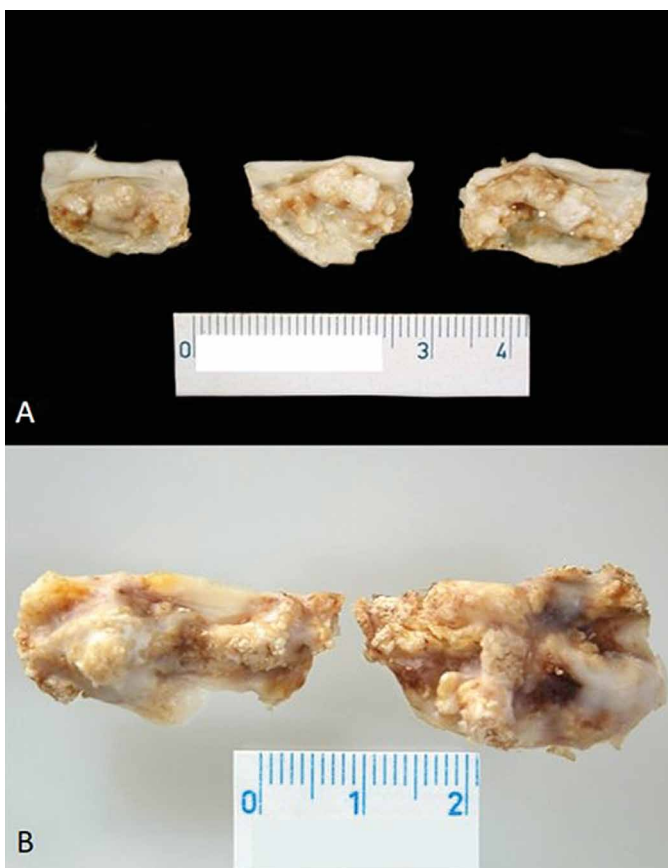
Prof. MUDr. Ivo Šteiner, CSc.

Fingerlandův ústav patologie LF UK a FN

Sokolská 581, 500 05 Hradec Králové

tel.: 495 832 611

e-mail: zakovam@lfhk.cuni.cz



**Obr. 1.** Chirurgicky resekované kalcifikované aortální chlopně: (A) trojčípá (stařecká stenóza); (B) dvojčípá.

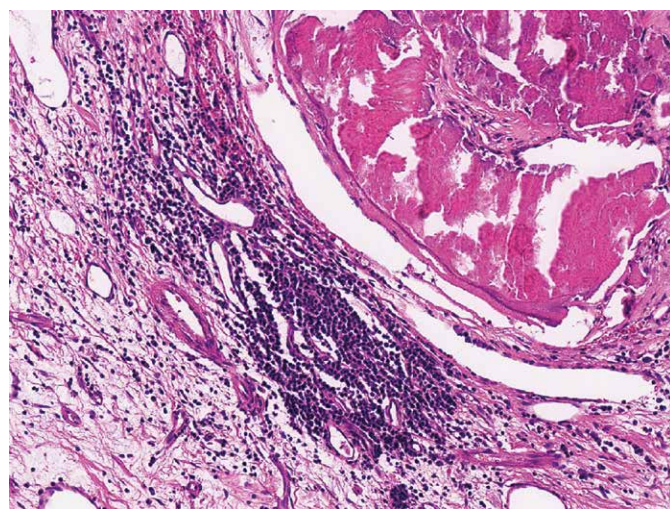
Oba typy jsou přibližně stejně časté. KAS je v naprosté většině případů vadou izolovanou, tj. ostatní chlopně nejsou postiženy.

U 30 – 50 % pacientů s KAS je současný výskyt ICHS. Obě tyto choroby mají shodné rizikové faktory (1).

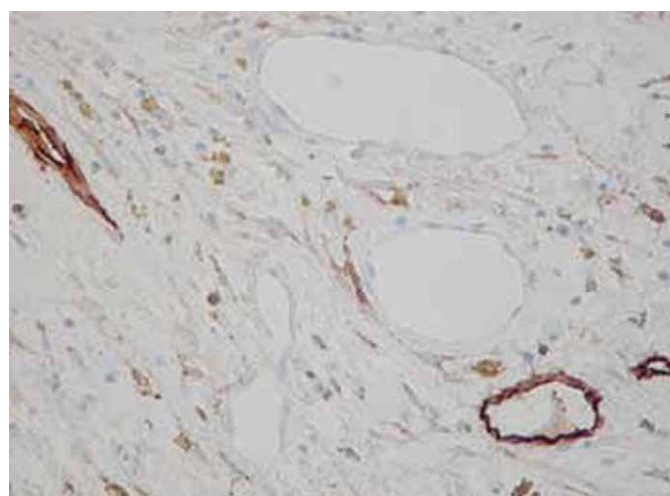
Přejdeme nyní k histologii KAS. Práci na toto téma není mnoho. Je to dáno jednak tím, že někteří chirurgové resekované „kamenné“ cípy zlikvidují, jednak praxí, že dostane-li se materiál k patologům, ti často omezí vyšetření na makroskopické – počet a uspořádání cípů a z toho určení geneze vady. V naší nemocnici je tradičně výborná spolupráce kardiologů s patologi. K vyšetření se nám dostává vše co chirurg resekoval, v daném případě aortální cípy, spolu se základními klinickými daty. My odebereme z každého poloměsíčitého cípu 1 – 2 vzorky, kolmé na jeho délku. Po důkladném odvápění jsou řezy barveny standardně HE a v případě studií i metodou elastika – Van Gieson a imunohistochemií.

Ač „kamenná“ tkáň zdánlivě žádnou zvláštní histologii neslibuje, opak je pravdou; kromě fibrózy a kalcifikací jsou zde cévy, zánětlivá celulizace a v řadě případů i metaplastická kost / chrupavka (obr. 2).

**Vaskularizace.** Normální srdeční chlopně jsou avaskulární. Zavedení IHC protilátky D2-40 umožnilo do té doby prakticky nemožné rozlišení cév krevních a lymfatických (7). V naší studii 28 případů KAS (2) jsme ve všech prokázali přítomnost CD31 pozitivních/D2-40 negativních krevních cév a ve 14 případech i D2-40 pozitivních lymfatických (obr. 3). Krevní cévy byly typicky tenkostěnné, nepravidelného tvaru, někdy až sinusoidní. Lokalizace



**Obr. 2.** Chronický zánětlivý infiltrát a vaskularizace (HE x 150).



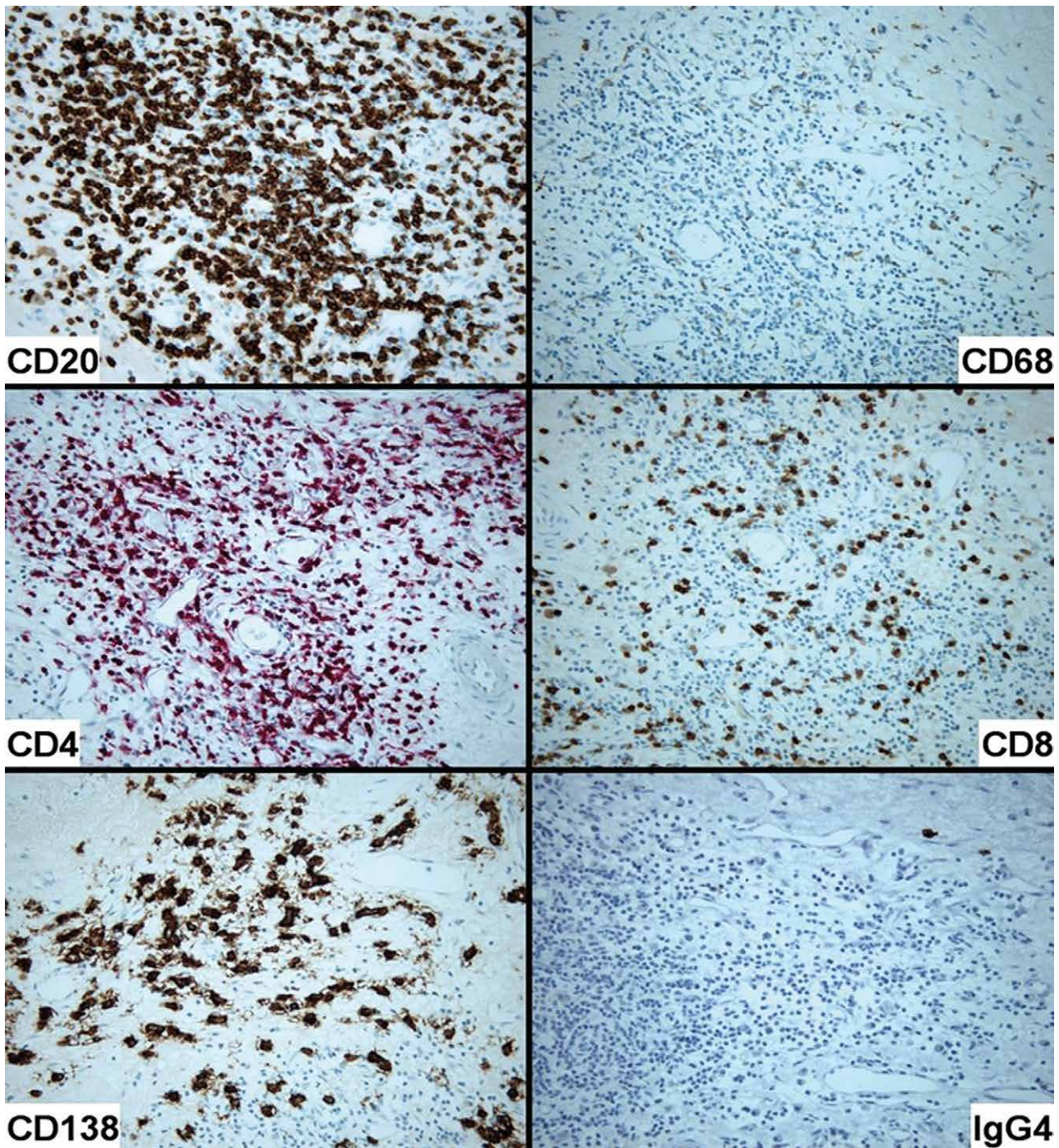
**Obr. 3.** D2-40 pozitivní lymfatické a negativní krevní cévy (x 150).

vány byly hlavně v sousedství uzlů kalcifikace a pod povrchem cípů. Lymfatické cévy byly obdobného vzhledu, nepravidelně distribuované. V četnosti a charakteru cév nebyl rozdíl mezi oběma typy KAS. Původ cév není jasný, zřejmě vznikají *in situ* (neovaskularizace).

**Zánětlivý infiltrát.** Chronická zánětlivá celulizace v cípech KAS je velmi častá; v naší sestavě 178 (3) případů byla prokázána ve 151 (84,8 %). Pro imunohistologickou studii jsme z nich vybrali 15 s intenzivním infiltrátem (>100 buněk / HPF). V 9 z nich šlo o typ o stařecký (tříčípá chlopně) s průměrným věkem 74,3 r., a v 6 o typ s dvojčípou chlopní s průměrným věkem 65,0 r. V sestavě bylo 11 mužů a 4 ženy. Ve všech případech byly chlopní cípy vaskularizované. V buněčném infiltrátu byly přítomny lymfocyty, plazmatické buňky, CD68 pozitivní histiocyty a žírné buňky (obr. 4). Jednotlivé typy buněk byly kvantifikovány / HPF.

Mezi T lymfocyty převažovaly CD4 nad CD8. Mezi B lymfocyty lehce převažovaly CD20 nad CD79a. U plazmocytozů převažovaly B<sub>1</sub>L (lambda) nad B<sub>1</sub>J (kappa). U CD138 pozitivních plazmocytozů bylo složení: 24 % IgA, 20 % IgD, 41 % IgG (včetně 11 % IgG4) a 15 % IgM. Tento nález nesplňoval kritéria pro zařazení KAS do IgG4 sklerotizujícího systémového onemocnění. Složení infiltrátu bylo obdobné u obou typů KAS (trojčípá a dvojčípá chlopně).





**Obr. 4.** Imunohistochemie buněčného infiltrátu; všechny obrázky pocházejí ze stejného místa jako obr. 2 (x 150).

**Žírné buňky.** V sestavě 56 případů KAS (39 mužů a 17 žen, prům. věku 68,7 r.) (4) byly v polymorfním infiltrátu CD117 (c-kit) pozitivní žírné buňky přítomny ve všech, v počtu 1 – 90 (medián 24). Byly lokalizovány nepravidelně, ve všech vrstvách cípů, i na jejich endoteliálním povrchu (obr. 5). V 19 z případů (33,9 %) byla v chlopní zastížena metaplastická kost / chrupavka. Statistikou byly prokázány signifikantní rozdíly v počtu žírných buněk mezi KAS trojicpé chlopně (medián 20) a dvojicpé chlopně (medián 40) a rovněž mezi chlopněmi s metaplazií (medián 42) a bez metaplazie (medián 20).

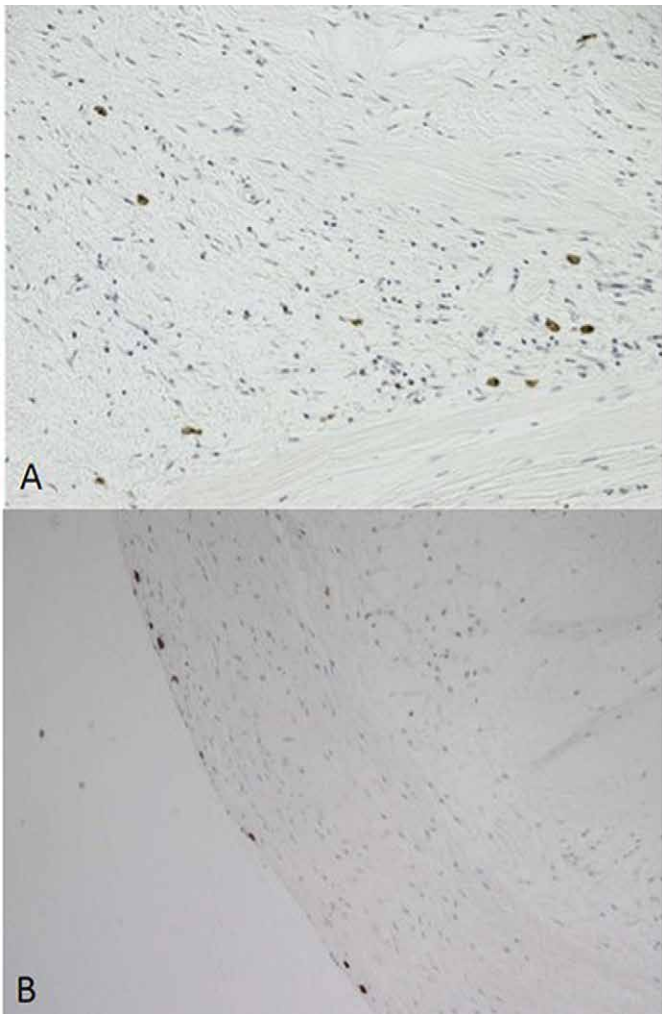
Jako kontrola bylo vyšetřeno 12 normálních aortálních chlopní z pitev osob věku 26 – 69 r. (prům. 56,2 r.). Počty žírných buněk v nich byly 4 – 21 (medián 11). Je diskutována možná účast žírných buněk v patogeneze KAS.

**Kostní metaplazie.** Během let 1999 – 2006 jsme vyšetřili celkem 1177 chirurgicky resekovanych srdečních chlopní s kalcifikovanou vadou, převážně aortálních (5). Z nich ve 128 (10,9 %) (119 aortálních a 9 mitrálních) byla zastížena metaplazie; šlo 84x jen o kost, 25x jen o chrupavku a 19x o obě, s obrazem enchondrální osifikace (obr. 6). Ložiska měla velikost většinou 1 – 2 mm, největší mělo 13 mm.

Z uvedených 119 případů KAS bylo 81 mužů (prům. věk 62,3 r.) a 38 žen (prům. věk 68,1 r.). Vada byla typu stařeckého 57x (prům. věk 68,4 r.), s malformovanou chlopní 38x (prům. věk 62,1 r.), porvematického 7x a nejasného 17x.

Uzavírali jsme, že metaplastický proces má úzký vztah k procesu kalcifikace.

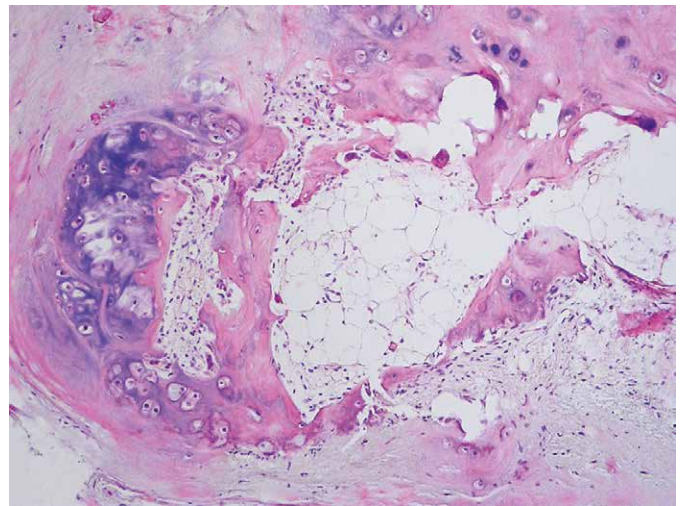




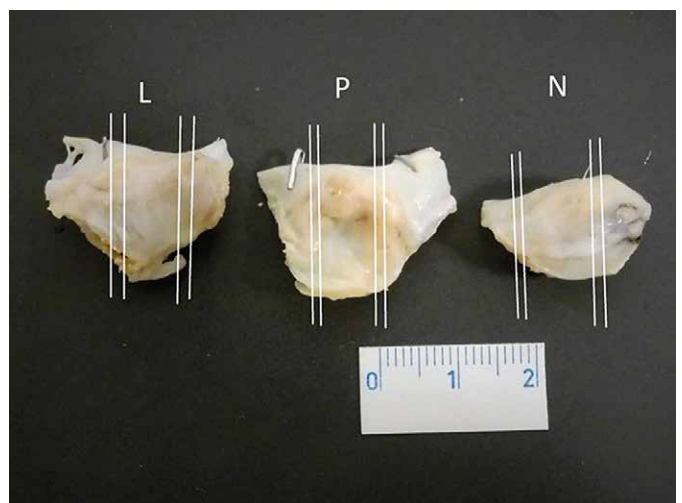
**Obr. 5.** CD117 pozitivní žírné buňky v KAS trojčipé chlopni: A) ve stromatu; B) na povrchu cípu (x 200).

*Topografie změn v cípech chlopně.* K zatím poslední práci o KAS (6) nás vedl dlouhodobý poznatek, že přítomnost, resp. intenzita změn je v jednotlivých poloměsíčitých cípech často i výrazně rozdílná. Aby bylo možno změny lokalizovat, označovali nám kardiologové resekované cípy kovovými klipy: levý cíp – 1 klip, pravý cíp – 2 klipy, nekoronární (zadní) cíp – bez klipu (obr. 7). Takto jsme v letech 2019 – 2021 vyšetřili 100 případů KAS, jen stařeckého typu – trojčipá chlopeň. Šlo o 78 mužů a 22 žen, celkem s mediánem věku 73 r. S výjimkou jediného, měli všichni pacienti alespoň jeden rizikový faktor; byli léčeni pro hypertenzi (92), dyslipidémii (85) či diabetes (51).

Ze změn jsme subjektivně semikvantitativně (0 – +++ ) hodnotili makroskopicky kalcifikaci a histologicky vaskularizaci a zánětlivý infiltrát, a dále event. přítomnost metaplastické kosti / chrupavky. Statistika prokázala, že levý cíp byl signifikantně méně kalcifikovaný ve srovnání s pravým ( $p=0,03$ ) a marginálně méně ve srovnání s nekoronárním ( $p=0,08$ ). Levý cíp, ve srovnání s pravým, byl rovněž marginálně méně vaskularizovaný ( $p=0,09$ ) a marginálně méně zánětlivě infiltrovaný ( $p=0,09$ ). Metaplastická osifikace byla prokázána v 18 cípech od 15 pacientů. Celkem překvapivě byla nejčastěji (8x) v jinak nejméně postiženém levém cípu; v pravém byla 6x a v nekoronárním 4x.



**Obr. 6.** Ložisko metaplastické enchondrální osifikace (HE x 125).



**Obr. 7.** Tři chirurgicky resekované kalcifikované cípy aortální chlopně označené kovovými klipy – levý (L): 1 klip, pravý (P): 2 klipy, nekoronární (N): bez klipu. Jsou vyznačeny roviny pro odběr vždy dvou vzorků na histologii.

Jako možná příčina nepravidelné topografie změn v cípech jsou uvažovány mechanobiologické vlivy abnormální hemodynamiky ve stenotické chlopni.

*Závěrem* trocha teorie. Kalcifikovaná aortální stenóza není pasivní degenerativní proces, ale aktivní multifaktoriální zánětlivý fibrokalcifikující proces, zprostředkovaný vlastními buňkami aortální chlopně, zejména chlopními intersticiálními buňkami, které se diferencují v myofibroblasty a osteoblasty, s neovaskularizací, depozicí lipoproteinů a zejména zánětem (8 – 10). V patogeneze KAS se účastní i mechanické vlivy, stárnutí buněk a degenerace extracelulární matrix (11, 12). Proces vzniku KAS je shodný u obou typů – na trojčipé či dvojčipé chlopni. Patogeneze KAS je obdobná jako u aterosklerózy.

## PROHLÁŠENÍ

Autor práce prohlašuje, že v souvislosti s tématem, vznikem a publikací tohoto článku není ve střetu zájmů a vznik ani publikace článku nebyly podpořeny žádnou farmaceutickou firmou.

## LITERATURA

1. **Vojáček J, Kettner J.** Klinická kardiologie (5. vyd). Maxdorf Jessenius; 2022: 588-600.
2. **Šteiner I, Krbal L, Dominik J.** Blood vessels and lymphatics in calcific aortic stenosis – in support of its inflammatory pathogenesis. *Cesk Patol* 2010; 46(2): 33-36.
3. **Šteiner I, Krbal L, Rozkoš T., Harrer J, Laco J.** Calcific aortic valve stenosis: Immunohistochemical analysis of inflammatory infiltrate. *Pathol Res Pract* 2012; 208: 231-234.
4. **Šteiner I, Stejskal V, Žáček P.** Mast cells in calcific aortic stenosis. *Pathol Res Pract* 2018; 214: 163-168.
5. **Šteiner I, Kašparová P, Kohout A, Dominik J.** Bone formation in cardiac valves: a histopathological study of 128 cases. *Virchows Arch* 2007; 450: 653-657.
6. **Šteiner I, Timbilla S, Stejskal V.** Calcific aortic valve stenosis – comparison of inflammatory lesions in the left, right, and non-coronary cusp. *Pathol Res Pract* 2021; 227, 153636.
7. **Kahn HJ, Bailey D, Marks A.** Monoclonal antibody D2-40, a new marker of lymphatic endothelium, reacts with Kaposi's sarcoma and subset of angiosarcomas. *Med Pathol* 2002; 15: 434-440.
8. **Lerman DA, Prasad S, Alotti N.** Calcific aortic valve disease: molecular mechanisms and therapeutic approaches. *Eur Cardiol* 2015; 10: 108-112.
9. **Rutkovskiy A, Malashicheva A, Sullivan G, Bogdanova M et al.** Valve interstitial cells: the key to understanding the pathophysiology of heart valve calcification. *J Am Heart Assoc* 2017; 6, e006339.
10. **Raddatz MA, Madhur MS, Marrayman WD.** Adaptive immune cells in calcific aortic valve disease. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2019; 317: H141-H155.
11. **Yip CYY, Simmons CA.** The aortic valve microenvironment and its role in calcific aortic valve disease. *Cardiovasc Pathol* 2011; 20:177-182.
12. **de Oliveira Sá MPB, Cavalcanti LRP, Perazzo AM, Gomes RAF et al.** Calcific aortic valve stenosis and atherosclerotic calcification. *Curr Atheroscler Rep* 2020; 22:2.



# MONITOR

aneb nemělo by vám uniknout, že ...

## ■ NEFROPATOLOGIE

### ... „vypnutí“ transkripčního faktoru SOX9 umožní obnovu epitelu proximálních tubulů po akutním tubulárním poškození (AKI)

V různých orgánech některá poškození regenerují bez rozvoje fibrózy nebo na druhé straně dojde k progresivní fibrotizaci, která s další progresí může způsobit dysfunkci postiženého orgánu event. jeho selhání. S postupující přeměnou/remodelací architektury tkáně (progrese fibrogenese) se můžeme setkat v mnoha orgánech a tento stav patří mezi významné příčiny morbidity a mortality. V případě ledvin se uplatňuje především fibróza intersticia, která může komplikovat akutní poškození tubulointersticia (epitelu proximálních tubulů) z nejrůznějších příčin. Je to dané anatomickou stavbou ledvin, kde arterie a arterioly nemají kolaterály a tubulointersticiem je zásobované krví, která nejprve protékla glomeruly. Proto ischemie jakéhokoli důvodu a také poškození glomerulů jsou vždy současně doprovázené postižením tubulointersticia. Navíc buňky proximálních tubulů jsou metabolicky vysoce aktivní s velkou potřebou energie a současně vzhledem k transportu nejrůznějších molekul jsou také náchylné k toxickým vlivům. Pokud je poškození proximálních tubulů významné, projeví se různým stupněm akutního selhání (AKI), které může vyžadovat dialýzu. Také hojení těchto stavů je různé, od příznivého po častější rozvoj fibrózy intersticia s progresí vedoucí chronickému onemocnění ledvin (CKD).

Autoři uvedené studie v několika cílených experimentech ukázali, že při AKI poškozené buňky proximálních tubulů expri-

muji SOX9. Po odeznění inzultu ty, které regenerují bez fibrózy, přestanou SOX9 exprimovat. Zatímco ty, které SOX9 dále exprimují, mění imunofenotyp a exprimují také profibrotické markery včetně kolagenu 1A41. Autoři dále ukázali, že SOX9 pozitivní buňky aktivují sekreci WNT4, což představuje klíčový znak navozující profibrotické prostředí. Vyjmutí sekrečního WNT aparátu z buněk exprimujících SOX9 redukovalo myofibroblasty. Také ablace SOX9 aktivity během přechodu z AKI směrem k CKD oslabovala fibrotické markery.

Autoři dále využili biopsie pacientů s ischemicko-reperfúzním poškozením po transplantaci ledvin a protokolární biopsie v 1. roce po transplantaci a doložili, že exprese SOX9 korelovala pozitivně s fibrózou intersticia a také s expresí profibrotických genů.

Další epigenetické analýzy naznačily, že buňky s přetrvávající expresí SOX9 mají progenitorový fenotyp a uspořádání chromatinu, které připomíná nefrogenезi.

Závěrem lze shrnout, že autoři těchto několika studií odhalili dynamický senzor obnovy epitelu buněk proximálních tubulů, jehož aktivity jsou propojené s regenerací směrem k fibróze. Studie ukázaly, že pokud buňky proximálních tubulů neutlumí expresi SOX9 v dalších krocích vytváří současně WNT aktivitu s následnou aktivací fibroblastů, což vede k progresi od AKI směrem k CKD.

Zdroj:

Aggarwal S, Wang Z, Pacheco D. et al. SOX9 switch links regeneration to fibrosis at the single-cell level in mammalian kidneys. *Science* 2024; 383(6685): eadd6371.

- E. Honsová -