

# Aorttaläppäahtauman eläinmallit

Biolääketieteen  
kandidaatin -tutkielma

Laatija(t):  
Nea Läpinen

10.11.2025  
Turku

Turun yliopiston laatujärjestelmän mukaisesti tämän julkaisun alkuperäisyys on tarkastettu Turnitin OriginalityCheck -järjestelmällä.

Kandidatutkielma

**Oppiaine:** Biolääketiede

**Tekijä(t):** Nea Läpinen

**Otsikko:** Aorttaläppäahtauman eläinmallit

**Ohjaaja(t):** Mia Stähle

**Sivumäärä:** 29 sivua

**Päivämäärä:** 10.11.2025

Tiivistelmän tyyli on **Abstract**.

**Avainsanat:** läppäsairaudet, aorttaläppäahtauma, eläinmallit, hiirimalli

# Tiivistelmä

Aorttaläppäahtauma on yleisin läppävika länsimaissa ja väestön ikääntyessä tautia sairastavien määrä tulee kasvamaan huomattavasti tulevina vuosikymmeninä. Suurimpana haasteena on se, että tauti on pitkään oireeton ja tällä hetkellä ei ole olemassa tehokasta lääkehoitoa, joka hidastaisi tai estäisi ahtauman kehittymisen. Hoitona on oikein ajoitettu kirurgisesti tai katetrin avulla tehtävä aorttaläppätoimenpide.

Aorttaläppä sijaitsee aorttavaltimeen ja vasemman kammion välissä. Se koostuu kolmesta puolikuun muotoisesta läppäpurjeesta, jotka estävät veren takaisinvirtauksen.

Aorttaläppäahtauma kehittyy vuosien aktiivisen tautiprosessin seurauksena, jossa aorttaläppä paksuntuu ja jäykistyy. Syntymekanismit ovat monimutkaisia eikä niitä täysin vielä tunneta. Alkuvaiheessa tilan kehittymiseen liittyy läpän pintasolukerroksen vaurio sekä lipidien että tulehdussolujen kertymistä läppään, mitä seuraa etenevä sidekudosmuodostus ja kalkkeutuminen. Tämä aiheuttaa aorttaläpän aukon merkittävän pienentymisen (virtauseste) ja ylimääräisen painekuorman sydämen vasemmalle kammiolle, mikä voi pahimmillaan johtaa sydämen vajaatoiminnan kehittymiseen.

Vaikka tutkimustieto aorttaläppäahtauman syntymekanismeista on lisääntynyt merkittävästi viime vuosina, taudin mallintamiseen on kuitenkin vielä rajoitetusti riittävän hyviä eläinmalleja saatavilla. Tämä vaikeuttaa taudin mekanismien tarkkaa selvitystä ja täten uusien diagnostisten menetelmien ja lääkehoitojen kehitystyötä.

Hiiri on yleisimmin käytetty eläinmalli aorttaläppäahtauman tutkimuksissa, ja se soveltuu moniltakin osin toimivaksi tautimalliksi. Hiiri ei kuitenkaan vastaa täysin ihmistä anatomisesti eikä ilmennä esimerkiksi spontaania kalkkeutumista läpässä, jolloin tarvitaan usein geneettisiä muutoksia ja/tai rasvapitoista dieettiä. Geneettisiä- ja dieettimalleja käytetäänkin tyypillisesti aorttaläppäahtauman mallintamisessa. Myös synnynnäistä ja kehityksellistä aorttaläpän ahtaumaa voidaan mallintaa eri tavoin. Toinen lähestymistapa on vaijerikatetrilla aiheutettu mekaaninen vaurio aorttaläppään. Lisää malleja tarvitaan kuitenkin edelleen, jotta ahtaumaa ja taudin piirteitä voidaan mallintaa ja tutkia entistä paremmin. Ihanteellinen malli kehittäisi hemodynaamisesti merkittävän ahtauman ja olisi mahdollisimman lähellä ihmistä.

**Asiasanat: läppäsairaudet, aorttaläppäahtauma, eläinmallit, hiirimalli**

# Lyhenteet

VIC= valvular interstitial cell (lähän välitilan solu)  
VEC= valvular endothelial cell (lähän endoteelisolu)  
STJ= sinotubular junction (sinotubulaarinen liitoskohta)  
EF= ejektiofraktio  
NOTCH1= neurogenic locus notch homolog protein 1 (Notch 1-proteiini)  
NOS3= nitric oxide synthase 3 (typpioksidisyntaasi 3)  
TGF $\beta$ -2= transforming growth factor beta-2 (transformoiva kasvutekijä beeta-2)  
GATA4= transcription factor GATA-4 (transkriptiotekijä GATA-4)  
LDL= low-density lipoprotein (matalatiheyksinen lipoproteiini)  
IL= interleukiini  
RANKL= receptor activator nuclear factor kappa-B-ligand (reseptoriaktivaattori NF- $\kappa$ B-ligandi)  
TNF= tumor necrosis factor (tuumorinekroositekijä)  
eNOS= endothelial nitric oxide synthase (endoteliaalinen typpioksidisyntaasi)  
NO= nitric oxide (typpioksidi)  
ACE= angiotensin-converting enzyme (angiotensiiniä konvertoiva entsyymi)  
LPA= lysophosphatidic acid (lysofosfatidihappo)  
TLR= toll-like receptor (tollin kaltainen reseptori)  
COX= cyclo-oxygenase (syklo-oksigenaasi)  
Wnt= wingless-related integration site (Wnt- signalointi)  
BMP= bone morphogenetic protein (luun morfogeneettinen proteiini)  
Runx2= runt-related transcription factor 2 (Runx2- transkriptiotekijä)  
 $\alpha$ -SMA= alpha-smooth muscle actin (alfa-sileälihasaktiini)  
-/-= knock-out (poistogeeninen)  
+/-= toinen alleeli poistogeeninen  
Smad-2= mothers against decapentaplegic homolog 2 (Smad2- proteiini)  
Madh6= mothers against decapentaplegic homolog 6 (Smad6- proteiini)  
AVCAPIR= CAVD inducing piRNA (PIWI-interacting RNA) (aorttaläppäahtaamaa indusoiva piRNA)  
piRNA= PIWI-interacting RNA (PIWI-interaktioiva RNA)  
Mgp= matrix Gla Protein (matriksin Gla- proteiini)  
Chm1= leukocyte cell-derived chemotaxin 1 (leukosyyttiperäinen kemotaksiini)  
Egfr= epidermal growth factor receptor (epidermaalisen kasvutekijän reseptori)  
IL-1Ra, IL1rn= interleukin-1 receptor antagonist protein (interleukiini-1-reseptorin antagonist)  
Postn= periostin (periostiini)  
RBPJk= suppressor of hairless homolog (RBPJk- proteiini)  
Eln= elastin (elastiini)  
Ctss= cathepsin S (katepsiini S)  
WT= wild type (villityyppi)  
NLRP3= NACHT, LRR and PYD domains-containing protein 3 (NLRP3-proteiini)  
Dooku1= Piezo1 -inhibiittori  
Piezo1= Piezo -tyyppinen mekanosensitiivinen ionikanava  
GLS1= glutaminaasi 1  
AVWI= aortic valve wire injury (aorttalähän vaijerikatetrivaurio)  
DWI= direct wire injury (suora vaijerikatetrivaurio)  
AAC= aortic arch constriction (aortan kaaren kuristus)  
CAVD= calcific aortic valve stenosis (aorttalähän kalkkeutuminen ja siitä seuraava ahtauma)  
HF= high fat (korkearasvainen)  
HC=high carbohydrate (korkeahiilihydraattinen)  
ADAMTS= ADAMTS-kaltainen proteiini 2  
Nuclear factor  $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B) = tumatekijä kappa-B, pleiotrooppinen transkriptiotekijä  
ELISA= enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA- määrittäminen)  
ROS= reactive oxygen species (reaktiiviset happiradikaalit)  
Msx= homeobox protein MSX-3 (homeobox- proteiini MSX-3)  
Mtp= microsomal triglycerid transfer protein (mikrosomaalinen triglyseridi-siirtoproteiini)  
Mx1-Cre= Mx1-Cre-siirtogeeni  
ApoB<sup>100/100</sup>= apolipoproteiini B, homotsygootti  
VLDL= very low-density lipoprotein (hyvin matalatiheyksinen lipoproteiini)  
MMP= matrix metalloproteinase (matriksin metalloproteinaasi)  
FS= fractional shortening (fraktionaalinen lyhenemä)  
Dlk1= Protein delta homolog 1 (proteiini deltamalogi 1)  
VEGF= vascular endothelial growth factor (verisuonten endoteelin kasvutekijä)  
WHHL= watanabe heritable hyperlipidemic (Watanabe periytyvä hyperlipidemia)  
Lp(a)= lipoproteiini (a)

# Sisällysluettelo

<b>1. JOHDANTO</b> .....	<b>5</b>
<b>2. AORTTALÄPÄN RAKENNE JA TOIMINTA</b> .....	<b>7</b>
2.1. AORTTALÄPÄN RAKENNE .....	7
2.2. AORTTALÄPÄN TOIMINTA.....	9
<b>3. AORTTALÄPPÄAHTAUMA</b> .....	<b>9</b>
3.1. YLEISTÄ .....	9
3.2. KLIININEN MERKITYS .....	10
3.3. ALTISTAVAT TEKIJÄT .....	10
3.4. TAUDIN KEHITTYMINEN .....	11
<b>4. ELÄINMALLIT AORTTALÄPPÄAHTAUMAN TUTKIMUKSESSA</b> .....	<b>14</b>
4.1. KÄYTETTYJÄ MALLEJA JA MENETELMIÄ .....	14
4.2. HIIRIMALLIT .....	14
4.2.1. HIIRI AORTTALÄPPÄAHTAUMAN MALLINA .....	14
4.2.2. DIEETTIMALLIT JA GENEETTISET MALLIT .....	15
4.2.3. MEKAANISEN VAURION MALLIT .....	19
4.2.4. SYNNYNNÄISET JA KEHITYKSELLISET MALLIT .....	20
4.2.5. SÄTEILYMALLIT .....	22
4.3. JÄNISMALLIT .....	22
4.4. SIKAMALLIT .....	23
<b>5. YHTEENVETO JA JOHTOPÄÄTÖKSET</b> .....	<b>24</b>
<b>6. VIITTEET</b> .....	<b>26</b>
<b>7. LIITTEET</b> .....	<b>34</b>

# 1. Johdanto

Aorttaläppäahtauma on yleisin läppävika länsimaisessa väestössä ja sen yleisyys kasvaa ikääntyvän väestön myötä [1]. On ennustettu, että potilasmäärät vähintään kaksinkertaistuvat vuoteen 2030 mennessä [2]. Tauti on hitaasti etenevä ja pitkäaikainen, alkaen läppäpurjeiden paksuuntumisella ja jäykistymisellä, edeten vakaan kalkkeutumiseen ja aorttaläpän ahtautumiseen. Tila aiheuttaa erilaisia oireita, kuten raskitushengenahdistusta, pyörtymistä ja Angina pectoris -tyyppistä rintakipua ja voi johtaa myöhemmin sydämen vajaatoimintaan [3], [4]. Taudin syynä on tyypillisesti ikääntyneiden kolmiliuskaisen läpän sidekudosmuodostus ja kalkkeutuminen, tai lapsilla ja nuorilla synnynnäinen kaksiliuskainen läppä [2], [4]. Taudin ennuste on huono ja hoitamattomana johtaa kuolemaan, mutta hidastavaa tai parantavaa lääkehoitoa ei vielä ole [5], [6]. Tällä hetkellä hoitokeinona on kirurgisesti tai katetrilla asetettu tekoläppä [3], [4].

Ikääntymisen lisäksi taudin riskitekijöitä ovat miessukupuoli, tupakointi, korkea verenpaine, korkeat lipoproteiini (a) -ja LDL-kolesterolitasot sekä ylipaino ja diabetes mellitus [6], [7]. Myös geneettinen rasite tunnetaan, ja riski kehittää aorttaläpän ahtauma on suurempi, jos sisaruksella on diagnosoitu kyseinen tauti [7]. Aorttaläppäahtauman kehittymisen ajateltiin pitkään olevan passiivista, mutta nykyään taudin mekanismeista tiedetään paremmin. Patofysiologia on monitekijäistä ja sitä säätelee myös monimutkaiset soluprosessit sekä läpän välitilan solujen toiminta. Taudilla on yhteisiä piirteitä valtimokovettumataudin (ateroskleroosi) kanssa, ja se alkaakin samaan tapaan endoteelin (pintasolukko) vaurioitumisella mekaanisen rasituksen seurauksena, jolloin lipidejä pääsee kertymään läppään, aiheuttaen immuunipuolustuksen aktivoitumisen ja tulehdusvasteita. Myöhemmissä taudin vaiheissa tapahtuu välitilan solujen aktivaatiota ja erilaistumista, jonka seurauksena muodostuu kalkkeumia ja sidekudosta, sekä soluvälitilan uudelleenmuokkausta. [3], [4]

Taudin mekanismeja ei täysin vielä tunneta, mutta erilaisilla malleilla niitä pyritään selvittämään [8]. Eläinmallit ovat välttämätön työkalu tutkimuksessa, sillä ne ottavat huomioon ihmiselimestön monimutkaisuuden [8], [9]. Hiiri on yleisimmin käytetty eläinmalli aorttaläppäahtauman tutkimuksissa sen edullisuuden, helpon saatavuuden ja nopean tuotannon takia, vaikka eroja ihmisen anatomiaan ja fysiologiaan myös löytyy jo läpän rakenteen puolesta [1]. Hiirimalleja on erilaisia, ja erityisesti geneettisiä ja ruokavalion muokkauksia tarvitaan kalkkeumien kehittymiseen [8]. Eläinmallien ohella *in vitro*-mallinnus mahdollistaa eri muuttujien tutkimisen, vaikkakin saadut havainnot eivät välttämättä toistu *in vivo*-mallissa. Ihanteellista olisi hyödyntää ihmisen läppämateriaalia, mutta sen saatavuus on rajallista. Sen sijaan esimerkiksi sian läppiä voidaan hyödyntää *in vitro*-malleissa [9].

Kalkkeutumista voidaan havainnoida värjäystekniikoilla, kuten Alizarin punaisella (Alizarin Red, 1.2-dihydroxyanthraquinone) ja Von Kossalla, mutta myös esimerkiksi elektronimikroskoopilla [1], [9]. Läpän välitilan solujen ilmiäsun muutoksia voidaan havaita Western blot-tekniikalla, immunovärjäyksellä ja ELISA-

menetelmällä (enzyme-linked immunosorbent assay) [9]. Sydämen ultraäänikuvantamisella eli Doppler-kai-  
kukuvauksella (echocardiography) pystytään määrittämään aorttaläppäahtauman vakavuusaste ja läpän toi-  
mintaa, kuten painegradienttia läpän yli, virtauksen huippunopeutta ja läppäpurjeiden jäykkyyttä [1], [2], [10].  
PET (positroniemissiotomografia)-kuvantaminen puolestaan tarjoaa työkalun tutkia solu- ja molekyyli-  
tasoon muutoksia ja havaita mikrokalkkeumia [1]. Tässä tutkielmassa esitellään aorttaläppäahtauma tautina ja sen  
mallintamiseen käytettyjä eläinmalleja, erityisesti erilaisia hiirimalleja.

## 2. Aorttaläpän rakenne ja toiminta

### 2.1. Aorttaläpän rakenne

Sydämen rakenteeseen kuuluu neljä läppää: kolmiliuskaläppä oikean eteisen -ja kammion välissä, keuhkovaltimoläppä oikean kammion ja keuhkovaltimorungon välissä, mitraaliläppä vasemman eteisen -ja kammion välissä, sekä aorttaläppä vasemman kammion ja aortan välissä [11], [12].

Aorttaläppä (*Valva aortae*) on puolikuun muotoinen, kolmesta läppäpurjeesta ja kolmesta Valsalvan sinuksesta koostuva rengasmaisen rakenne [12], [13]. Läppäpurjeet kestävät sekä hemodynaamista että mekaanista rasitusta, jota tapahtuu kussakin sydämen syklissä [11]. Hemodynamiikalla viitataan veren virtauksen toimintaan ja verenkiertoelimistöön kohdistuviin voimiin. Sitä voidaan kuvata parametreilla, kuten veren virtausnopeudella, aorttaläpän painegradientilla (paine-ero vasemman kammion ja aortan välissä systolessa) ja läpän aukon pinta-alalla. [14]

Aorttaläpän rakenteeseen lasketaan kuuluvaksi kaikki kudokset vasemman kammion ulosvirtauskanavasta nousevan aortan tyveen, johon Valsalvan sinukset päättyvät. Tätä aluetta kutsutaan tavallisesti sinotubulaariseksi liitoskohdaksi (sinotubular junction eli STJ). [12], [15] Aorttaläpän läppäpurjeet ovat kiinnittyneet aortan seinämään. Aortan tyvi voidaan määritellä kudokset vasemman kammion ulosvirtausradasta Valsalvan sinuksia ja lehtien välistä kolmion muotoista aluetta myöten sinotubulaariseen liitoskohtaan, lukuun ottamatta läppäpurjeita. [15] Aortan tyvi toimii siis eräänlaisena rajapintana vasemman kammion ja aortan välissä, mutta läppäpurjeet muodostavat hemodynaamisen rajapinnan [12]. Kullakin rakenteella aortan tyvessä on oma anatominen arkkitehtuuri ja histologia. Kruunun muotoinen rakenne (englanniksi annulus), liitokset eli komissuurat, läppien väliset kolmiot, sinukset ja läppäpurjeet vuorovaikuttavat toistensa kanssa toiminnallisesti ja aortan tyvi tukee aorttaläpän toimintaa. [12], [15]

Valsalvan sinukset ovat aortan tyven kolme lähes symmetristä pullistumaa, jotka sijaitsevat sinotubulaarisen liitoskohdan ja aortan aukon välissä aortan puolella [12], [16]. Kukin sinus liittyy yhteen aorttaläpän läppäpurjeeseen. Sinukset ovat nimeltään oikea, vasen ja sepelvaltimeen liittymätön Valsalvan sinus, ja niillä on useita fysiologisia rooleja. Veren pyörre sinuksiin on tärkeää läpän avautumiselle kokonaan, mutta myös esimerkiksi turbulenssin ja painegradientin pienentämiseen läpän yli. [12], [16] Annulus yhdistää läppäpurjeet aortan tyveen. Säikeiset komissuurat pitävät myös läppäpurjeita paikoillaan. [17]

Aorttaläpän läppäpurjeet ovat nuorella, terveellä ihmisellä noin millimetrin paksuisia. Läppäpurjeita peittävät läpän endoteelisolut (valve endothelial cells, VEC) yksikerroksisena solurakenteena. [15], [18] Endoteelisolut ylläpitävät läpän rakennetta alkionkehityksen aikana ja toimivat fyysisenä suojamuurina taudinaiheuttajille ja veren rakenneosasille [15], [19], [20]. Ne ovat herkkiä mekaaniselle ärsytykselle, ja reagoivatkin muutoksiin veressä [21]. Niillä näyttäisi olevan vaikutusta myös epäsuorasti läpän homeostaasiin (tasapainotilaan)

esimerkiksi typpioksidin signaloinnilla ja soluvälitilan muokkauksella säätelemällä aineiden läpäisevyyttä, sekä parakriinisella signaloinnilla ja tulehdussolujen tarttumisella [22]. Endoteelisolukerroksen alla havaitaan kolme ohutta kerrosta, nimiltään fibroosa-, spongioosa- ja ventrikulaarikerrokset [15].

Kukin näistä solukerroksista on omanlaisensa ja niiden soluväliaineen koostumus vaihtelee. Fibroosakerros läpän endoteelisolujen alla suuntautuu aorttaan päin ja se koostuu pääosin proteoglykaaneja sitovasta kollageenista sekä läpän välitilan soluista (valve interstitial cells, VIC). [4] Fibroosakerroksesta löytyy myös sidekudossoluja, dendriittisoluja, syöjäsoluja eli makrofageja ja valkosoluja [21]. Kollageeni mahdollistaa läpän vetolujuuden ja elastiini tarjoaa joustavuutta [7]. Keskimäinen spongioosakerros on sienimäinen rakenne, joka suuntautuu myös aorttaan [7], [15]. Se koostuu proteoglykaaneista, glykosaminoglykaaneista ja sidekudoksesta [4], [7], [23]. Spongioosakerros vastaa läpän biomekaanisista ominaisuuksista, kuten kokoonpuristuvuudesta, mutta myös läpän joustavuudesta [21]. Ventrikulaarikerros sijaitsee lähimpänä vasenta kammiota. Sen rooli on kudoksen palautumisessa venytyksen jälkeen. Tämä kerros koostuu elastiinista, kollageenista, sidekudossoluista sekä sileälihassoluista. [7], [15] Autonomisen hermoston hermosäikeitä ja imusuonia löytyy myös tästä kerroksesta [21].

Fibroosakerroksen lisäksi kukin edellä mainittu kerros koostuu soluväliainetta tukevista läpän välitilan soluista, jotka osallistuvat muun muassa myös haavan paranemiseen [4], [24]. Välitilan solut ovat runsain solutyyppejä aorttaläpässä, ja ne ovat mesenkymaalista alkuperää, kyeten erilaistumaan eri solulinjoiksi. Ne kuitenkin eroavat mesenkymaalista solutyypeistä muissa elimissä. [25], [26], [27] Läpän välitilan solut voivat erilaistua *in vitro*-olosuhteissa luuta-, rasvakudosta-, rustokudosta ja lihaskudosta muodostaviksi solulinjoiksi [26], [28].

Välitilan solupopulaatiossa voidaan tunnistaa ainakin viisi ilmiä, joista parhaiten edustavia solutyyppejä ovat endoteeli-mesenkymivälitilan solut, levossa olevat välitilan solut, esi(progenitor)välitilan solut ja luuta muodostavat (osteoblasti) välitilan solut [20], [27]. Alkion esiendoteeli-mesenkymivälitilan solut läpikäyvät endoteeli-mesenkymivälitilan solun siirtymän, mikä aloittaa läpän muotoutumisen alkioaikana. Levossa olevat välitilan solut ovat runsain solutyyppejä läpässä, ja ne huolehtivat normaalista fysiologiasta ja ovat ilmiänsä sidekudossolujen kaltaisia, kun taas aktivoituneet välitilan solut säätelevät patobiologisia prosesseja läpän vauriossa. Esi(progenitor)välitilan solut ovat monimuotoinen ryhmä, jonka roolia ei tarkkaan vielä tunneta, mutta niiden epäillään osallistuvan myös läpän korjausprosesseihin vauriotilanteissa. Luuta muodostavat välitilan solut nimittäin mukaisesti säätelevät luun- ja ruston muodostusta läpässä. [27] Välitilan soluilla on tärkeä rooli kalkkeutumisessa ja aorttaläpän ahtauman kehittymisessä [26]. Ulkoisen ärsytyksen tai vaurion yhteydessä ne aktivoituvat ja erilaistuvat myofibroblasteiksi, sileiksi lihassoluiksi ja luusoluiksi, ja kykenevät täten muokkaamaan soluvälitilaa [15].

## 2.2. Aorttaläpän toiminta

Aorttaläpän tärkein tehtävä on estää veren takaisinvirtaus vasempaan kammioon diastoleessa ja mahdollistaa hapettuneen veren kulku tehokkaasti eteenpäin kaikkialle elimistöön [17], [29]. Aorttaläppä huolehtii lisäksi sepelvaltimoiden läpivirtauksesta (perfuusio), tukee vasemman kammion toimintaa ja mahdollistaa laminaarisen systolisen veren virtauksen [15], [30]. Tärkeää läpän toiminnalle on eheä vuorovaikutus läppäkudoksen ja veren virtauksen välillä [31]. Pitkään aorttaläpän luultiin olevan passiivinen rakenne, joka avautuu ja sulkeutuu paineen ja sydänlihaksen toiminnan avulla, mutta nykyään läpän tiedetään olevan aktiivinen, monitehtijäinen rakenne [32].

Läpän toimintaan vaikuttavat jo sikiön kehityksen aikaiset tapahtumat, mutta myös ihmisen elämän aikaiset muutokset [32]. Läppä avautuu ja sulkeutuu kussakin sydämen sykliä yli 100 000 kertaa päivässä, ja syklejä on noin 3 miljoonaa ihmisen elämän aikana [21], [32]. Systoleessa, kammion paineen ylittäessä aortan paineen, läppäpurjeet avautuvat ja veri virtaa eteenpäin. Vastaavasti diastoleessa läppäpurjeet sulkeutuvat vasemman kammion paineen laskiessa pienemmäksi kuin aortan paine. [17] Tärkeää läpän toiminnalle on myös sen tarkka muoto, mikä mahdollistaa läpän reagoinnin erilaisiin voimiin ja rasitukseen sydämen syklin aikana [15], [32]. Soluväliaineen ja välisolujen yhteistyöllä on merkittävä vaikutus aorttaläpän toimintaan. Endoteeli- ja välitilan solut osallistuvat tähän vuorovaikutuksellaan [4], [15]. Endoteelisoluihin kohdistuu laajalti erilaisia voimia ja rasitusta. Nämä hemodynaamiset signaalit muuttavat läpän endoteelikerrosta ja viestejä välittyy myös alla oleviin välitilan soluihin. Endoteelisolut ovatkin vastuussa välitilan solujen ylläpidosta lepovaiheessa. [33]

## 3. Aorttaläppäahtauma

### 3.1. Yleistä

Aorttaläpän ahtauma eli aorttastenoosi (aortic stenosis) on yleisin sydämen läppävika länsimaissa, erityisesti ikääntyvässä väestössä [34]. Tauti on etenevä ja pitkäaikainen, joka alkaa läpän skleroosista, eli pienistä sidekudoksisista ja kalkkeutumisen muutoksista ilman merkittäviä hemodynaamisia muutoksia [20], [30]. Kalkkeutumisen lisääntyessä myöhemmissä vaiheissa, läpän aukko pienenee aiheuttaen virtausesteen ja muutoksia sydämeen, kuten kiihtyneen ja pyörteisen veren virtauksen vaurioittaen aortan seinämää [14], [30]. Läpän pinta-alan pienentyessä paine-ero läpän yli kasvaa eksponentiaalisesti, ja pienilläkin pinta-alan muutoksilla voi olla iso merkitys hemodynaamikkaan [14]. Läppäpurjeet jäykistyvät, eivätkä kykene avautumaan kunnolla [35]. Aortan ja vasemman kammion välisen paine-eron (painegradientti) kasvaessa, vasen kammio kuormittuu ja sen solut kasvavat kokoa (hypertrofia) korvaavana mekanismina [14], [36]. Vasen kammio kykenee huolehtimaan riittävästä paineesta, jotta sydämen minuuttitilavuus pysyy yllä, mutta sepelvaltimokierto ja diastolinen toiminta voivat heikentyä. Tila voi pahimmillaan johtaa sydämen vajaatoimintaan. [14], [36], [37]

## 3.2. Kliininen merkitys

Aorttaläppäahtaus koskettaa arviolta 12,6 miljoonaa ihmistä maailmanlaajuisesti, ja yli 10 000 ihmistä kuolee vuosittain taudin seurauksena [38]. Kliiniseen oirekuvaan kuuluu rasisushengenahdistusta, tajunnan menetystä ja Angina pectoris -tyyppistä rintakipua [39], [40]. Vasemman kammion ejektiofraktio (EF; veritilavuuden osa, joka puristetaan supistuksessa eteenpäin) on useimmilla oireisilla potilailla normaali (55–70 %), vaikkakin joillain potilailla ilmenee vasemman kammion toimintahäiriöitä ja systolisen toiminnan heikkene- mistä ennen oireiden ilmaantumista [40], [41]. Vasemman kammion toiminnan heiketessä isku- ja minuuttiti- lavuus pienenevät, ja sydämen vajaatoiminta alkaa mahdollisesti ilmetä (EF ≤ 40 %) [40], [42].

Aorttaläpän ahtauman ennuste on huono ja hoitamattomana johtaa kuolemaan [6], [43].

Tautiin ei ole tällä hetkellä olemassa hidastavaa tai estävää lääkehoitoa, vaikka kokeellisia tutkimuksia on tehty kasvavissa määrin [44], [45], [46]. Ainoa hoitokeino aorttaläpän ahtaumaan on oikein ajoitettu kirurgi- sesti tai katetrilla tehty aorttaläpän korvaaminen biologisella tai mekaanisella tekoläpällä [44], [47]. Toimen- pide tehdään oireiden ilmaannuttua ja silloin, kun ahtauman aiheuttamat hemodynamiikan muutokset ovat jo merkittäviä [48]. Lapsille ja nuorten aikuisten kalkittomaan läppään voidaan tehdä myös pallolaajennus [48].

Aorttaläpän ahtauman diagnoosi ja vakavuusaste voidaan määrittää Doppler -kaikukuvantamisella, oireiden perusteella sekä systolisen sivuäänen perusteella [37], [49]. Doppler -mittauksella voidaan arvioida potilaasta kajoamattomasti veren virtauksen nopeus (läpän yli mitattu maksimaalinen systolinen virtausnopeus), aortta- läpän pinta-ala ja paine-ero [14]. Tarvittaessa voidaan suorittaa myös läppäkatetrointi ja sydämen TT (tieto- konetomografia) -kuvaus lisätutkimuksena [49]. Ihmisillä, joilla on kaksiliuskainen läppä, hoitointerventio tarvitaan usein jo 1–2 vuosikymmentä aiemmin kuin kolmiliuskaläpän kohdalla [3].

## 3.3. Altistavat tekijät

Yleisimmät syyt aorttaläpän ahtautumiseen ovat kolmiliuskaisen läpän kalkkeutuminen ja sidekudosmuodos- tus, sekä synnynnäinen kaksiliuskainen läppä [4]. Edellisten lisäksi mainittakoon reumaattinen läppäsairaus, jota tosin ei esiinny juurikaan länsimaissa [50].

Kaksiliuskainen läppä on yleisin synnynnäinen sydänvika, jota arvioidaan esiintyvän 1–2 % väestöstä [51], [52]. Myös yksi- ja jopa nelipurjeisia läppiä on tavattu, vaikkakin harvemmin [40]. Yksi- ja kaksipurjeinen läppä on erityisen altis kehittämään jo varhaisemmassa vaiheessa aorttaläppäahtauman, sillä läpän epänor- maali geometria ja mekaaninen rasitus altistavat kalkkeutumiselle. [3], [40] Tunnettuja kaksiliuskaisen läpän aiheuttavia geenimutaatioita tunnetaan, ja niitä ovat muun muassa *NOTCH1* (neurogenic locus notch homolog protein 1), *NOS3* (nitric oxide synthase 3), *TGFβ2* (transforming growth factor beta-2) ja *GATA4* (transcription factor GATA-4) [53], [54]. Periostiinin (proteiini, jolla on rooli osteoblastien erilaistumisessa) ja endoteelin

typpioksidisyntaasin (eNOS) puutteen on osoitettu olevan yhteydessä kaksipurjeisen läpän muodostukseen. [55], [56]

Muita tunnettuja aorttaläppäahtauman riskitekijöitä ovat miessukupuoli, tupakointi, korkea verenpaine sekä korkeat lipoproteiini (a) -ja LDL-kolesterolipitoisuudet [6]. Myös ylipaino, munuaisten toimintahäiriöt, diabetes ja dyslipidemiat altistavat tutkitusti taudin kehittymiselle [20]. On havaittu, että sisaruksen diagnosoitulla aorttaläpän ahtaumalla on myötävaikutus sairastua tautiin [57].

Myös säteilyhoitojen säteilyn aiheuttama aorttaläppäahtauma tunnistetaan [58]. Jopa 81 prosenttia rintaan kohdistuvalle säteilylle altistuvista potilaista kehittää läppätaudin [58]. Säteily johtaa läppäpurjeiden paksuuntumiseen, sidekudosmuodostukseen ja kalkkeutumiseen sekä veren takaisvirtaukseen [58], [59]. Tyypillisesti läppäsairaus kehittyy, kun säteilylle on altistuttu yli 20 vuotta [59].

### 3.4. Taudin kehittyminen

Aorttaläpän ahtauman patofysiologia on monimutkainen ja tarkkoja mekanismeja ei vielä tunneta [36]. Tautiin johtavat aktiivisesti säädellyt soluprosessit, joita koordinoivat läpän välisolut [3]. Aorttaläpän ahtauman kehittyminen voidaan jakaa nykytiedon mukaan kahteen vaiheeseen: initiaatioon ja propagaatioon [3], [44]. Kuten valtimokovettumataudissa, uskotaan, että läpän endoteelivaurio, toisin sanoen pintasolukon vaurio, aloittaa prosessin lisääntyneen mekaanisen rasituksen ja pienentyneen leikkausjännityksen (shear stress) vaikutuksesta [60]. Endoteelivaurion takana on todennäköisesti hemodynaaminen rasitus läppäpurjeiden liikkeen takia, ja veren virtaus kaksiliuskaisen läpän kautta voimistaa tätä stressiä [61]. Mekaanisen stressin vaikutusta voidaan parhaiten kuvata potilailla, joilla on kaksiliuskainen läppä [3].

Endoteelivaurion myötä LDL (low density lipoprotein, matalatiheyksinen lipoproteiini) -kolesterolia ja lipoproteiini (a)-molekyylejä pääsee kertymään läppäkudokseen, tarkemmin fibroosakerrokseen [3]. Reaktiivinen happi hapettaa lipidejä ja hapettuneiden LDL-molekyyleiden muodostuminen stimuloi monosyyttien (immuunipuolustuksen solu) pääsyä läpän välitilaan, ja ne erilaistuvat syöjäsoluiksi (makrofagi) [61]. Syöjäsolut vangitsevat hapettuneita LDL- molekyylejä muodostaen vaahtosoluja, mikä tehostaa immuunipuolustuksen solujen, kuten T- ja mastosolujen, kutsumista paikalle adheesiomolekyyleiden kautta [3], [61], [62]. Vapaiden happiradikaalien muodostuminen voi lisätä lipidien hapettumista. Reaktiiviset happiradikaalit (ROS) säätelevät tulehdusta, ja niiden tasot ovat korkeammat kalkkeutuneissa läppäpurjeissa. [7] Hapettuneessa LDL-kolesterolissa ja lipoproteiini (a):ssa (hapettuneen LDL-molekyylin kuljettaja) on runsaasti myös hapettuneita fosfolipidejä, jotka ovat hyvin tulehdusta edistäviä. Välitilan solut tuottavat autotaksiinia, joka muokkaa hapettuneita fosfolipidejä lysofosfatidihapoksi (LPA), mikä tehostaa välitilan solujen kalkkeutumista. [3] Immunohistokemiallisissa tutkimuksissa on havaittu myös apolipoproteiinien B ja C esiintymistä taudin kulun aikaisissa vaiheissa [63].

Syöjäsolut vapauttavat tulehdusta edistäviä sytokiineja, eräänlaisia viestiaineita, mikä edistää soluvälitilan uudelleenmuokkausta ja sidekudoksen muodostusta sekä rekrytoi paikalle T-soluja ja aktivoi välitilan soluja. [3] Sytokiineja ovat muun muassa IL-6 (interleukiini-6), IL-1 $\beta$  (interleukiini-1 beeta), RANKL (receptor activator nuclear factor kappa-B ligand) ja TNF (tuumorinekroositekijä), joka aktivoi tumatekijää  $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B) [61], [62]. Sytokiinit vaikuttavat myös endoteelisoluihin heikentämällä sen suojaavaa roolia estämällä endoteelin typpioksidisyntaasia (eNOS) ja tuottamalla typpioksidia (NO) [62].

Aktivoituneet välitilan solut erittävät glykosaminoglykaaneja, jotka edistävät hapettuneen LDL-kolesterolin kertymistä [62]. Hapettunut LDL-kolesteroli stimuloi välitilan solujen erilaistumista luuta muodostaviksi soluiksi TLR 2 ja 4 (toll-like receptor) kautta. [3] Initiaatio painottuu tulehdusvasteisiin ja lipidikertymiin, kun taas propagaatio ennemmin sidekudosmuodostukseen ja kiihtyvään kalkkeutumiseen [64].

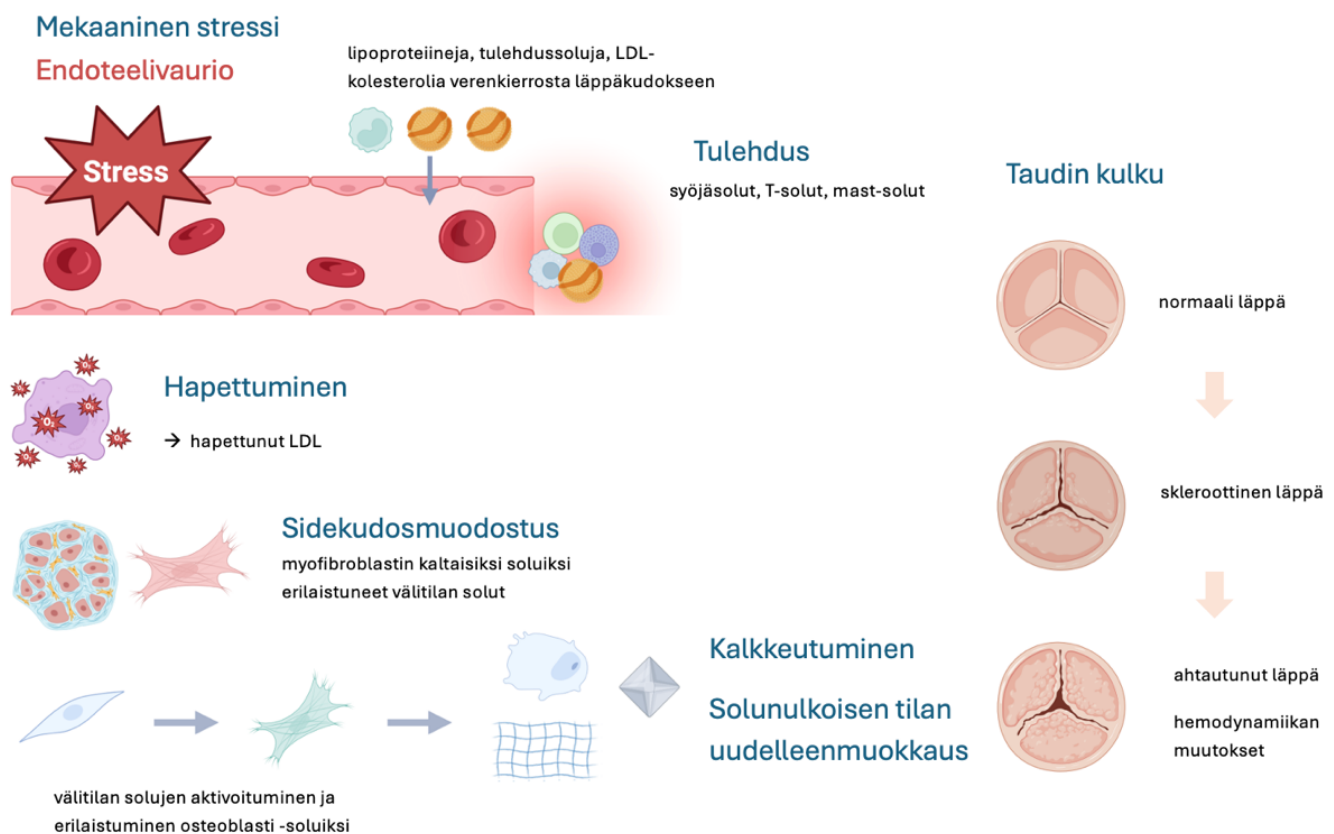
Kalkkeutumista edistää kolme merkittävää mekanismia: 1) välitilan solujen ilmiäsun muuttuminen alfa-silealihassoluaktiinia ( $\alpha$ -SMA) ilmentäväksi myofibroblasteiksi, jotka muodostavat kalkkikeräsiä, 2) ilmiäsun muuttuminen luuta muodostaviksi osteoblasteiksi ja 3) vesikkelien vapauttaminen välitilan solujen aktivoituttua. [4] Aktivoituneet välitilan solut tuottavat kollageenia ja erittävät katepsiineja, mikä muokkaa soluväliainetta [3].

Myofibroblasteiksi erilaistuneet välitilan solut erittävät matriksin metalloproteinaaseja, mikä aikaansaa sidekudosmuodostusta [61]. Katepsiinit ovat kysteiiniendoproteinaaseja, jotka ovat elastosyyttisiä entsyymejä, ja niiden on arvioitu osallistuvan elastiinin hajotukseen ja hydroksiapatiittikristallin muodostukseen [65]. Epäjärjestynyt sidekudos kertyy ja tarjoaa kalkkeutumiseen kiinnityskohdan. Syöjäsolut ja välitilan solut vapauttavat solunulkoisia vesikkeleitä, joita välittää sortiliini, mikä johtaa mikrokalkkeumien muodostumiseen. Tulehdus lisää myös solukuolemaa ja edistää kalkkeutumista apoptoottisilla kappaleilla, jotka myös toimivat alueena kalkkeutumiseen. [3] Sidekudosmuodostusta edistää myös endoteelivaurion seurauksena vähentynyt typpioksidi, reniini-angiotensiini-järjestelmän aktivoituminen ja angiotensiini II muodostus [64].

Luuta muodostaviksi soluiksi erilaistuneet välitilan solut erittävät kalkkeutumista sääteleviä proteiineja, kuten alkaliinifosfataasia, osteokalsiinia ja osteopontiinia [3]. Osteopontiini edistää luuta muodostavien solujen kiinnittymistä luun matriksiin ja sen geeni-ilmentymisen on osoitettu olevan jopa seitsenkertainen kehittyvän kalkkeutumisen alueilla. Kalkkeutumista edistävät säätelyreitit, kuten Notch, Wnt/ $\beta$ -kateniini ja RANK/RANKL/osteoprotegeriini. [60] Nämä reitit yhtyvät ja lisäävät luun muodostusta lisäävien tekijöiden kuten BMP ja Runx2 -tekijöiden ilmentymistä [3]. Kalkkeutuminen kiihtyy, kun uutta hydroksiapatiittia muodostuu, jolloin läpät jäykistyvät, mikä taas edistää mekaanisia vaurioita, ja kalkkeutumisen ja tulehdusvasteiden kierre vain pahenee [3].

Nämä monitekijäiset patologiset prosessit vaikuttavat sekä aorttaläppään että ympäröivään sydänlihaskudokseen [61]. Lämpän ahtautuminen lisää sydänlihaksen rasitusta ja johtaa vasemman kammion hemodynaamiseen kuormaan [37], [61]. Vasemman kammion tulee vastata tähän lisääntyneeseen kuormaan levossa ja rasituksessa [37]. Sydämen jälkikuorma lisääntyy ja tarvitaan suurempia kammioaineita, jotta sydämen minuuttitulavuutta voidaan ylläpitää. Korvaavana mekanismina sydänlihassolut kasvattavat kokoa ja vasemman kammion seinämä paksuuntuu, mutta itse ontelo ei kasva kokoa. [46], [61] Ejektiofraktio pysyy normaalina alkuvaiheessa, ja minuuttitulavuus sekä ejektiofraktio pahenevat vasta taudin loppupuolella [45].

Solujen liikakasvu ja sidekudos sydänlihaksessa johtavat lopulta diastoliseen toimintahäiriöön, ja sydänlihaksen hapenpuute pahenee. Vasemman kammion toimintahäiriö johtaa pahimmillaan sydämen vajaatoimintaan. [46], [61]



Kuva 1 Yksinkertaistettu kuvaus aorttaläppäahtauman synnystä ja merkittävimmistä patofysiologisista mekanismeista. Mukailten Zheng. K. H. ym. 2020. ja Shah S.M.ym. 2023. Kuva luotu BioRender -palvelulla.

## 4. Eläinmallit aorttaläppäahtauman tutkimuksessa

### 4.1. Käytettyjä malleja ja menetelmiä

Eläinmallit ovat tärkeä työkalu aorttaläppäahtauman synnyn ja etenemisen tutkimisessa, mutta myös hoitojen kehittämisessä [1], [8]. *In vivo* (elävä organismi) -malleilla voidaan mallintaa tautia niin, että otetaan huomioon eri muuttujia ja ihmiselimistön monimutkaisuus. Huomioon on otettava kuitenkin myös eroavaisuudet eläimen ja ihmisen välillä [9]. Eläinmallien lisäksi tutkimuksissa voidaan hyödyntää *in vitro* (keinotekoinen ympäristö) – ja *ex vivo* (ulkona elävästä organismista) -tutkimusta ja malleja. Vielä ei ole kehitetty mallia, joka aukottomasti mallintaisi ihmisen aorttaläpän ahtaamaa [1].

Yleisimmin käytetyt eläinmallit aorttaläppäahtauman tutkimuksissa ovat hiiri, jänis ja sika. Sika on näistä ainoa, joka kykenee kehittämään kalkkeutuneen aorttaläpän iän myötä, vaikkakin se tarvitsee usein erityistä dieettiä nopeuttamaan taudin kehittymistä. Jänikset eivät luonnostaan kehitä tautia, mutta dieetin aikaansaamalla hyperkolesterolemialla (korkeat kolesterolitasot) on saatu aikaan hyviä tuloksia. [8] Hiiret vaativat usein geneettisen muokkauksen ja/tai erityisen dieetin, jotta ne kehittävät taudin [8], [66]. Muita käytettyjä eläinmalleja ovat rotat, hamsterit, marsut, kyyhkyt, koirat, kissat ja ei-ihmisen kaltaiset kädelliset, mutta nämä mallit eivät ole tutkimuksissa tyypillisiä [8].

Tässä tutkielmassa keskitytään erityisesti hiirimalleihin aorttaläppäahtauman mallintamisessa. Yleisimmät eläinmallit on esitetty taulukossa 1 (Liitteet).

### 4.2. Hiirimallit

#### 4.2.1. Hiiri aorttaläppäahtauman mallina

Suurin osa aorttaläppäahtauman malleista on tehty hiirillä [1]. Hiiret ovat kooltaan pieniä, niitä on helppo ylläpitää ja kustannukset ovat kohtuullisia. Hiiriä pystytään myös tuottamaan lyhyessä ajassa ja geneettinen muokkaus on helppoa. Hiirimallissakin on kuitenkin rajoitteensa. Hiiren sydän ja aorttaläppä eroavat ihmisen sydäimestä ja läpistä. Sydän on kooltaan pienempi, eikä aorttaläpässä ole ihmiselle tyypillisiä solurakenteita läpässä. Niiden läppäpurjeet ovat vain noin 5–10 solukerrosta paksuja ja solukerrokset eivät ole ihmisen tapaan tarkasti eriytyneitä. [8] Erityisellä ravinnolla ja/tai geenimuutoksilla, tyypillisesti yhden geenin mutaatioilla, voidaan saada kehitettyä aorttaläppäahtauma ja taudille tyypillisiä piirteitä [1].

Toinen lähestymistapa mallintamaan aorttaläppäahtaamaa on mekaanisesti aiheutettu vaurio aorttaläppään. Tämä tarkoittaa käytännössä vajjeri- tai pallokatettrin aikaansaamaa vauriota läppäpurjeeseen, jolloin saadaan aiheutettua taudille tyypillisen endoteelivaurion aikaansaamia tulehdusreaktioita ilman geneettistä muuntelua tai ravintoa. [66], [67]

## 4.2.2. Dieettimallit ja geneettiset mallit

### 4.2.2.1 Dieettimallit

Koska hiiret eivät luontaisesti kehitä kalkkeutumista, tarvitaan kalkkeutumista edistävää ruokavaliota (dieettiä) tai geneettisiä muutoksia sen kehittämiseksi [8]. Tavallinen dieetti, jota hiirimalleissa käytetään aiheuttamaan lipidimuutoksia ja sitä kautta kalkkeumaa on ”länsimainen” dieetti, Harlan Teklad TD.88137, joka koostuu tyypillisesti 42 % rasvan kokonaiskaloreista, sekä 0.2–0.25 % kolesterolista [8]. Korkearasvainen- ja kolesterolirikas dieetti altistavat aorttaläpän ahtauman riskitekijöille, kuten hyperlipidemialle (veren lipidien runsaus), hyperkolesterolemialle (veren kolesterolin runsaus) ja ylipainolle, ja aiheuttaa ihmisen aorttaläppäahtaumalle tyypillistä tulehdusta sekä patologisia muutoksia [66], [68], [69]. Lisäksi korkeahiilihydraattipitoista- tai diabetogeenistä (diabetestä edistävää) dieettiä voidaan käyttää [68], [70]. Dieettimallien etuna ovat suhteellisen edulliset kustannukset ja helppo eläinten ylläpito sekä tutkimukseen vaadittava lyhyt eläimen elinkaari. Malli kehittää myös tyypillistä lipidikertymää ja syöjäsolujen ilmentymistä. Rajoituksena tälle mallille verrattuna ihmiseen on tosin rajoittunut kliininen merkittävyys ja pitkittynyt tutkimuksen kesto, sekä eläimen pieni koko ja merkittävän hemodynamiikan muutoksen puutteet. [66]

C57Bl/6J -hiirikanta on geneettisesti altis kehittämään dieetin aikaansaamaa ylipainoa sekä valtimokovettumataudille (ateroskleroosi) tyypillisiä vaurioita. Tätä kantaa hyödynnetäänkin aorttaläppäahtauman tutkimuksissa. [8], [68] Hyperlipidemisillä C57Bl/6J-hiirillä tavataan merkittävästi suurempia ateroskleroottisia vaurioalueita kuin esimerkiksi C3H- tai FVBN-kannoilla [8]. C57Bl/6J-hiirten haittapuolena on se, että niiden läppäpurjeissa ilmenee mustaa pigmenttiä, mikä voi viitata melanosyytteihin (väriainetta tuottava solu) tai lipofuskiinia sisältäviin jyväsiin, ja tämä havainto usein sekoitetaan kalkkeutumiseen von-Kossa-värjäyksissä [8].

Dieetillä aikaansaaduilla, villityypin C57Bl/6J-hiirimalleilla on saatu kuitenkin aikaan kalkkeutumisen merkkejä, läppäpurjeiden paksuuntumista sekä virtausaukon pienenemistä, mutta myös muita muutoksia, kuten syöjäsolu-, lipidi ja T-soluilmentymiä [68]. Myös osteopontiinin ilmentymistä on kuvattu, joka viittaa juuri kalkkeutumisprosessiin [68], [69]. Drolet ym. tutkimuksessa osoitettiin korkearasvaisella- ja korkeahiilihydraattipitoisella dieetillä olevilla villityypin hiirillä aorttaläpän ahtaumaa ilman kolesterolin merkittävää vaikutusta ja tutkimus viittaakin, että aterogeenisten (suonten kovettumaa edistävien) tekijöiden yhdistelmä, kuten lievä hyperkolesterolemia yhdistettynä muun muassa lihavuuteen ja hyperglykemiaan (korkea glukoosiarvo) voisi olla alkuunsaava prosessi aorttaläppäahtaumassa. [68]

### 4.2.2.2 LDL-reseptoripuutteiset mallit

Tavallisesti dieettiin yhdistetään geneettinen muutos tai jokin muu interventio tehostamaan kalkkeutumista [8]. Yleisimmin käytetyt hiirimallit aorttaläppäahtauman tutkimuksissa ovat yhden geenin mutaatiomallit LDL-reseptorille (low-density lipoprotein receptor) tai apolipoproteiini E:lle, mikä muuttaa lipidiainevaihduntaa [1]. LDL-reseptori säätelee kolesterolin tasapainotilaa LDL-partikkeleiden reseptorivälitteisen

endosytoosin (aineiden otto solun sisään) kautta [71]. LDL- reseptoripuutteinen hiiri kehittää valtimokovettumaa, mutta se vaatii tyypillisesti korkearasvaista- ja kolesterolipitoista dieettiä merkittävien vaurioiden aikaansaamiseksi [72]. LDL-reseptoripuutteisilla hiirillä yhdistettynä korkearasvaiseen- ja hiilihydraattipitoiseen dieettiin on havaittu mineraalien kertymistä läppäkudokseen, kuten myös osteopontiinin ja *MSX*-geenin ilmentymistä [69]. *Mx1* ja *Mx2* ovat transkriptiotekijöitä, jotka liittyvät kallon luunmuodostukseen ja sydämen läppien kehittymiseen, jonka lisäksi *MSX*-geeni on aktiivisena valtimoiden kovettumisessa [73], [74]. LDL-reseptoripuutteisella hiirimallilla on saatu kehitettyä kolesterolidieetillä tehostettuna myös läppäpurjeiden paksuuntumista, sidekudosmuodostusta ja endoteelin toimintahäiriöitä. Tällä mallilla on havaittu myös  $\alpha$ -SMA, BMP2, *Runx2* ja alkaliinifosfataasin ilmentymistä sekä superoksidimuodostusta, mikä liittyy hapettumiseen. [75]

Hemodynaamisesti merkittävän aorttaläppäahtauman mallinnus ja vasempaan kammioon kohdistuvien muutosten mallinnus olisi tärkeää ja kliinisesti merkittävää [76], [77]. Tämä onkin monen geneettisen mallin rajoitteena [78]. Muutama malli on kuitenkin kehitetty, ja yksi niistä on ikääntyneet LDL-reseptoripuutteiset ApoB<sup>100/100</sup>-hiiret [76].

Ikääntyneiden LDL-reseptoripuutteisten ApoB<sup>100/100</sup>-hiirien on todettu kehittävän kliinisesti merkittävän hyperkolesterolemian ja hemodynaamisesti merkittävän aorttaläpän ahtauman sekä sydämen vajaatoimintaa [76]. Weiss ym. tekivät mallin, jossa LDL-reseptoripuutteiset ApoB<sup>100/100</sup>-hiiret saivat tavallista ravintoa ja osalle hiiristä tehtiin katetritoimenpide. Suurin osa ahtauman kehittäneistä hiiristä läpikävi tämän katetritoimenpiteen. Systolisen aorttaläpän aukon halkaisija pieneni merkittävästi toimenpiteen hiirillä ja niillä ilmeni läpän ylittävän painegradientin kasvua. Malli osoitti superoksidien muodostusta läpässä, ja ilmensi patofysiologisia vasteita painekuormalle, kuten vasemman kammion liikakasvua ja systolisen toiminnan häiriöitä. Myös kalkin muodostusta havaittiin. [76] Varshney ym. saivat myös yli 90 prosentissa LDL-reseptoripuutteisista ApoB<sup>100/100</sup>-hiiristä aikaan aorttaläpän ahtauman korkearasvaisella dieetillä [79].

Myös hyperlipidemian vaikutusta LDL-reseptoripuutteisilla ApoB<sup>100/100</sup>-hiirillä on tutkittu niin kutsutulla ”Reversa” -mallilla (*Ldlr*<sup>-/-</sup>/*ApoB*<sup>100/100</sup>/*Mttp*<sup>fl/fl</sup>, *Mx1Cre*<sup>+/+</sup>), jossa geneettisellä ”kytkimellä” voidaan ”laittaa pois päältä” vakava hyperkolesterolemia ja kokeilla sen vaikutuksia aorttaläpän ahtautumiseen [80]. *Ldlr*<sup>-/-</sup>/*ApoB*<sup>100/100</sup>-hiiristä tehtiin Miller ym. tutkimuksessa homotsygootteja vaihtoheitoiselle knockout-alleelille *Mttp*:ssä eli mikrosomaalisessa triglyseridi -siirtoproteiinissa ja *Mx1-Cre*-siirtogeenissä (Reversa-hiiret). *Mttp*:llä on rooli apolipoproteiini B:tä sisältävien lipoproteiinien tuottamisessa, joten sen poisto vähentää merkittävästi apo-B:tä -sisältävien lipoproteiinien erittymistä plasmaan. Reversa-hiirillä osoitettiin superoksidin lisääntyvän hyperkolesterolemisisä hiirissä ja myofibroblastien aktivoituvan jo aikaisessa taudin kehittymisen vaiheessa. Myös lipidejä ja kalsiumia kertyi luutumista edistävien proteiinien lisäksi aorttaläpän alueelle. Kun kolesterolitasot palautettiin normaalitasolle aiheuttamalla *Cre*-rekombinaasin ilmentyminen,

kalsiumkertymät pienenevät, superoksiditasot normalisoituivat ja myofibroblastien aktivointi, sekä luutumista edistävät signaalintireitit vähenivät. [80] Reversa-malli osoittaa plasman kolesteritasojen vaikutuksen aorttaläpän ahtauman kehittymiseen. [80], [81] Vaikka lipiditasojen alentamisella on suotuisia vaikutuksia, ei se paranna aorttaläpän toimintaa tai solujen liikakasvua hyperkolesterolemisisä hiirissä [81].

Varshney ym. toteutti mallin, jossa kokeiltiin puolestaan verihiutaleiden TGF- $\beta$ 1 puutosta LDL-reseptoripuutteisissa hiirissä (TGF- $\beta$ 1<sup>platelet-KO</sup>-LDLr) [82]. Tämä puutos vähensi ahtauman etenemistä ja matalampia myofibroblasti -että p-Smad2 (high-phosphorylated Smad-2) -tasoja, vahvistaen teoriaa siitä, että verihiutaleperäinen TGF- $\beta$ 1 aikaansaa aorttaläpän ahtauman etenemisen endoteelisolujen signaloinnilla ja niiden erilaisumisella myofibroblasteiksi [79].

#### 4.2.2.3 ApoE-puutteiset mallit

LDL-reseptoripuutteisen hiirimallin lisäksi toinen yleisesti käytetty malli on ApoE-puutteiset hiiret [8]. Apolipoproteiini E on proteiiniligandi, joka osallistuu kylomikronien ja VLDL-jäännösten (very low-density lipoprotein) puhdistamiseen. ApoE:n puute aiheuttaa hiirillä korkeampaa plasman kolesterolia sekä vaahtosolukertymiä proksimaalisessa aortassa [83]. ApoE-proteiinilla on myös laajoja vaikutuksia puolustusjärjestelmässä, kuten T-solujen erilaistumisen säätely, syöjäsolujen säätely, lipidiantigeenien esittely, mukaan lukien hapettumisen ja tulehdustilan säätely, ja tämän takia ApoE-/-malli voi olla soveltuva tutkimaan tulehdusvasteita aorttaläpän ahtauman kehittymiseen liittyen. [8], [84] ApoE-hiiret ovat hyperlipidemisiä ja muodostavat valtimokovettumaa tavallisella ravinnolla. Erityisellä dieetillä voidaan kuitenkin nopeuttaa taudin kehittymistä. [72]

ApoE-reseptoripuutteisilla hiirillä on tehty useita malleja dieetillä ja muilla interventioilla [8]. Tavallisella ravinnolla ikääntyneet ApoE-/-hiiret ilmentävät ihmisen taudin kaltaista läpän kovettumaa, minkä lisäksi niillä havaitaan korkeampia läpän ylittäviä virtausnopeuksia suhteutettuna ikään, kalkkeumaa sekä T-solujen ja syöjäsolujen tunkeutumista läppään. Myös solukuolemaa (apoptoosi) ja kemokiinien ilmentymistä on havaittu. Malli osoittaa muuttuneen lipidiaineenvaihdunnan ja ikääntymisen olevan yhteydessä läpän kovettuman muodostumiseen, mikä voi johtaa ahtaumaan ja veren takaisinvirtaukseen. [85]

Kun ApoE-/-poistogeenisyys on yhdistetty korkearasvaiseen dieettiin ja/tai leptiinilisään, on saatu ilmennettyä myös osteopontiinia ja osteokalsiinia, alkaliinifosfataasia sekä (mikro)kalkkeumaa [65], [86]. Aikawan ym. tekemä malli osoitti myös endoteelisolujen ja syöjäsolujen aktivaatiota, sekä paksummat läppäpurjeet kontrollihiiriin verrattuna. Myös MMP-2 ja -9 (matriksin metalloproteiinaasit) sekä katepsiini B/K-entsyymiä saatiin ilmennettyä näillä hiirillä. [65]

Akroleiinin on havaittu pahentavan ateroskleroottisia vaurioita läpässä ja aortan kaareissa sekä aktivoivan läpän endoteelisoluja ApoE-puutteisissa hiirissä. Akroleiini on aldehydi, jota tavataan tietyissä ruoka-aineissa ja esimerkiksi ilmansaasteissa. [87]

Tuoreessa Yang. ym. tehdyssä tutkimuksessa ApoE<sup>-/-</sup>-hiirillä saatiin myös hemodynaamisia vaikutuksia aikaiseksi. Korkearasvaisella ravinnolla ruokitut ApoE<sup>-/-</sup>-hiiret ilmensivät pienempää virtausaukkoa, suurempia painegradienttejä läpän yli sekä virtausnopeuden kasvua, mutta myös ejektiofraktion laskua. Kyseisille hiirille annettiin myös telosyyttiperäisiä solunulkoisia vesikkeleitä, ja tämän osoitettiin pienentävän läpän kalkkeutumista ja välitilan solujen solukuolemaa. [88]

#### 4.2.2.4 Muita geneettisiä malleja

Myös interleukiineilla on tehty malleja tutkimaan aorttaläpän ahtaumaa. The E ym. teki tuoreen tutkimuksen ikääntyneillä C57BL/6-interleukiini-38-puutteisilla hiirillä [89]. IL-38 on anti-inflammatorinen sytokiini, joka estää NLRP3 -inflammasomia ja vähentää luun muodostusta edistävää ja tulehduksellista aktiivisuutta läpän välitilan soluissa. IL-38-poistogeenisyys hiirellä tehostaa inflammatoristen tulehdusvälittäjäaineiden tuotantoa aortan välitilan soluissa, kun ne altistetaan matriliini-2:lle, joka on tulehdusta edistävä stimulantti. Kun osaa hiiristä ruokittiin rasvaisella dieetillä, ei huomattu eroja villityypin hiiriin. Tutkimus osoitti IL-38 vähentävän luun muodostusta edistävää aktiivisuutta aorttaläpässä, kun NLRP3-inflammasomi ja kaspasi-1 estetään. [89]

IL-1Ra- hiirimalli on myös kehitetty. IL-1Ra on tärkeä tulehdusta hillitsevä sytokiini, joka osallistuu puolustusjärjestelmän tasapainotilan ylläpitoon. [90] Kun BALB/c -hiiristä tehtiin tälle interleukiinille puutteisia, niiden läpät paksuuntuivat ja ne kehittivät aorttaläppäahtauman ja tulehdusta [90].

Useita, ei-hyperlipidemisia malleja on myös kehitetty. Yksi lähestymistapa tutkimaan aorttaläppäahtauman molekulaarisia mekanismeja on käyttää klotho-puutteisia villityypin hiiriä. [91] Klotho on niin kutsuttu ”anti-aging” -proteiini, jota ilmentyy erityisesti munuaisissa, ja sen puute on liitetty munuaisen sairauksiin. Klotho vaikuttaa useihin signaalireitteihin ja sen ilmentyminen lisääntyy ikääntyessä. [92]

Klotho-hiirien on huomattu kehittävän myös merkittävän, ihmisen kaltaisen aorttaläpän kalkkeutumisen [93]. Wirrig ym. teki tutkimuksen Klotho-puutteisilla villityypin hiirillä, ja tällä mallilla havaittiin COX2 (syklo-oxigenaasi2/Ptsg2) ilmentymisen lisääntyminen kalkkeutuneilla aorttaläpän alueilla ja paikantumisen välitilan soluihin ennen kalkkeutumista. COX2 osallistuu prostaglandiinisynteesiin ja tulehdusreaktioiden, sekä luun muodostukseen. [91] Klotho-malli kehitettiin alun perin kuvaamaan ennenaikaista ikääntymistä, mutta malli kehittää myös muun muassa munuaistaudin, joka on yksi kalkkeutuneen aorttaläppäahtauman riskitekijä.

Kyseinen malli sopii solu- ja molekulaaristen mekanismien tutkimiseen taudin alkuvaiheessa, sekä välitilan solujen roolin tarkasteluun, sillä malli ilmentää vain vähän immuunisolujen tunkeutumista aorttaläppään. [91]

2024 julkaistussa tutkimuksessa Han ym. tekivät hiirimallin ApoE<sup>-/-</sup> -hiirillä korkearasvaisella dieetillä, jossa hiirille tehtiin myös deleetio AVCAPIR- PIWI-interaktoivalle RNA:lle [94]. Sekvensoinnilla todettiin piRNA-molekyylien (PIWI-interaktoiva RNA) osallistuvan aorttaläppäahtautuman patogeneesiin, ja AVCAPIR-molekyylin (aortic valve calcification piRNA) on todettu aktivoituvan merkittävästi kalkkeutumisessa. Tehty deleetio tälle molekyylille vähensi kalkkeutumista ja läppien paksuuntumista, sekä hemodynaamisten parametrien paranemista. AVCAPIR-molekyylin deleetio pienensi myös Rnx2 ja Osterix- biomarkkereiden ilmenemistä, osoittaen, että AVCAPIR-molekyylillä saadaan aiheutettua läpän kalkkeutumista epigeneettisin mekanismein. [94]

Muita ei-hyperlipidemisia, geneettisiä malleja ovat muun muassa Mgp<sup>-/-</sup> (matrix GLA protein) Fibulin4<sup>-/-</sup>, Eln<sup>+/-</sup> (elastin-insufficient), Chm1<sup>-/-</sup> (kondromoduliini-1) ja Madh6<sup>-/-</sup> (smad6 proteiinia koodaava mutaatio). [8] Näissä malleissa saadaan aikaan joitain taudille ominaisia piirteitä, kuten kalkkeutumista. [1] Kyseisten mallien ominaisuuksia on esitelty tarkemmin taulukossa 1.

Geneettisten mallien etuna on mahdollisuus löytää terapeuttisia kohteita ja tutkia taudin mekanismeja, ja näillä malleilla onnistutaan myös jäljittelemään kalkkeutumista ja läpän toiminnan häiriöitä [66]. Osalla geneettisistä malleista saadaan aikaiseksi myös hemodynaamisesti merkittävä aorttaläpän ahtaus [76]. Geneettisillä malleilla on kuitenkin myös rajoitteita. Ne ovat usein kalliita ja tutkimukset vievät paljon aikaa. Niiden ulottuvuudet ovat myös rajalliset. [66]

#### 4.2.3. Mekaanisen vaurion mallit

Dieetin ja geneettisten muutosten lisäksi aorttaläpän ahtaumaa ja patofysiologiaa voidaan mallintaa aiheuttamalla eläimen aorttaläppään mekaaninen vaurio ja stressitila pallo- tai vaijerikatetrilla [95], [96]. Vaijerikatetrimalleilla saadaan aikaiseksi hemodynaamisesti merkittävä ahtaus ja myös sydämen vajaatoimintaa hiirillä [96]. Aorttaläppään kohdistetaan vaurio vaijerilla sydänultraääniavusteisesti ja läppää naarmutetaan [96], [97].

Honda ym. sai tällaisella mallilla aiheutettua terveillä tavallisella ravinnolla ruokituilla C57BL/6-hiirillä aikaiseksi merkittävän aorttaläpän ahtauman ja tyypillisiä histopatologisia muutoksia, kuten BMP-2, osteokalsiinin ja Runx2 ilmentymistä. Myös tulehduksellisia sytokiineja, happiradikaaleja ja luuta muodostavia tekijöitä havaittiin. Veren virtausnopeus kasvoi ja vasemman kammion fraktionaalinen lyhenemä (FS) laski merkittävästi 4 viikkoa kirurgisen operaation jälkeen. [96]

Qian ym. toteutti vastaavanlaisen tutkimuksen, jossa C57BL/6-hiirille annettiin vaijerikatetrivaurion lisäksi D- vitamiinilisä ihonalaisesti. Tämä hybridimalli ilmensi läpän paksuuntumista ja kalkkikertymiä, mutta myös sidekudosmuodostusta ja tulehdusta. [67] Honda ym. tutkimuksen tapaan tässä mallissa hiiret saivat tavallista ruokaa. Aorttaverenvirtauksen huippunopeus ja keskiarvoinen painegradientti läpän yli kasvoivat ajasta riippuvaisesti. [67]

Vaijerikatetrioperaatioon voidaan yhdistää myös geneettinen muokkaus tai toinen operaatio.

Tuoreessa tutkimuksessa tehtiin kaksi vauriomallia aorttaläppäahtaumaan: aorttan nousevan osan kiristys ja suora vaijerikatetrivaurio [97]. Hiiret saivat tässäkin tutkimuksessa tavallista ruokaa, mutta ne saivat myös Dooku1 (Piezo1-inhibiittori) tai GLS1 (glutaminaasi 1) vatsaontelonsisäisesti. Piezo1 on mekanosensitiivinen ionikanava, jonka osoitettiin säätelevän tutkimuksessa glutaminaasi 1-välitteistä glutaminolyyasia, mikä puolestaan edistää luonmuodostusta. Piezo1-välitteisen mekanotransduktion ja GLS1-välitteisen glutaminolyyasin välillä todettiin olevan eräänlainen vuoropuhelu, joka edistää aorttaläppäahtauman kehittymistä. Kun Piezo1 ja GLS1 estettiin vauriohiirissä, läpän vauriot lieventyivät. [97] Iqbal ym. toteuttamalla Sortiliini-mallilla yhdistettiin sekä geneettinen muokkaus, dieetti että mekaaninen vaurio, ja tämä yhdistelmämalli ilmensi niin sidekudosmuodostusta ja kalkkeutumista, kuin virtausnopeudenkin kasvua [1].

ApoE-hiirimalli on myös yhdistetty vaijerikatetrivaurioon, jossa hiiret olivat korkearasvaisella ruoalla vaurion jälkeen. Malli ilmensi ihmisen kaltaista taudinkuvaa, johon kuului ahtaumaa, superoksidimuodostusta, sekä ApoA- ja B-yli-ilmentymistä. Tällä mallilla kyetään saamaan nopeasti hemodynaamisesti merkittävä ahtauma, jota seuraa lipidikertymät, vaikkakaan sydämen toiminta ei vioittunut vaurion jälkeen, eikä virtausnopeus ollut erityisen korkea. [98]

Näissäkin mainituissa malleissa on omat rajoitteensa, vaikka hyviä tuloksia on saatu aikaiseksi. Vaijerikatetrivaurio ei ole luonnollinen tapa aiheuttaa mekaanista vaurioita ja stressiä läpässä, ja toisekseen tutkimukset rajoittuvat usein vain uroshiiriin. Hiiren läppä ei myöskään ole anatomisesti samanlainen verrattuna ihmiseen, kuten jo mainittua. [67] Vaikka mekaanisen vaurion malleilla saadaan tutkittua akuutteja vasteita kontrolloidulla vauriolla, taudin etenemistä ei pystytä seuraamaan ihmisen taudinkehittymisen kaltaisesti. Mallin eettisyyttä on myös hyvä pohtia, jonka lisäksi standardisointi tässä mallissa on haastavampaa. [66]

#### 4.2.4. Synnynnäiset ja kehitykselliset mallit

Synnynnäisellä kaksipurjeisella läpällä on osoitettu olevan merkittävä riski aorttaläppäahtauman kehittymiseen [8]. *NOTCH1* -mutaatioiden on osoitettu olevan yhteydessä synnynnäisiin aorttaläpän poikkeavuuksiin ja merkittävän kalkkeutumisen kehittymiseen ihmisellä [99]. Notch1 on osa hyvin konservoitunutta signaalireittiä, joka liittyy solun kohtalon määrittämiseen, erilaistumiseen ja sydämen läpän kehittymiseen [100]. Notch1 on havaittu ilmentyvän suuremmissa määrin hiiren kehittyvissä läpissä [99]. Nigam ym. mallissa

*Notch1*<sup>+/-</sup>-hiirillä ilmeni aorttaläpän kalkkeutumista yli viisinkertaisesti verrattuna villityypin hiiriin, jossa hiiret olivat korkearasvaisella dieetillä. *Notch1* -signalointi vähensi myös *Bmp2* ilmentymistä. Toisaalta tutkimuksen hiiret kehittivät ihmisiin verrattuna lievemmän taudinkuvan, eikä hiirillä ilmennyt kaksipurjeisia läppiä. [100]

Periostiinia ilmenee alkionkehityksen aikana, ja sen on osoitettu liittyvän myös osteoblastien erilaistumiseen ja luuston kehittymiseen. *Postn*<sup>-/-</sup>-hiirimallissa on havaittu, että periostiinin deletio alkion endokardiaalipehmyksissä ulosvirtausradassa johtaa luun muodostusta edistävän kasvutekijän, pleiotropiinin, ektooppiseen ilmentymiseen ja *Dlk1*-ilmentymiseen (delta-like 1 homologi), joka on *Notch1*:n negatiivinen säätelijä. *Postn*<sup>-/-</sup>-hiirillä ilmenee myös epämuodostuneita ja kaksipurjeisia läppiä, mutta myös merkittäviä kalkkikertymiä läppäpurjeissa. *Runx2*, osteopontiinia ja osteokalsiinia havaittiin myös tällä mallilla. [55]

Korkearasvaisella dieetillä on yhteydessä *Postn*<sup>-/-</sup> ja villityypin hiirien ylipainoon ja hyperkolesterolemiaan, korkearasvaisen dieetin on todettu lisäävän periostiinin ilmentymistä. Hakuno ym. tekemässä mallissa kollageeni 1 ja  $\alpha$ -SMA ilmentyminen lisääntyi korkearasvaisen dieetin villityypin hiirillä, mutta väheni merkittävästi *Postn*<sup>-/-</sup> korkearasvaisen dieetin hiirillä. Myös MMP-2 ja MMP-13-ilmentymistasoissa havaittiin eroja. Korkearasvaisen dieetin villityypin hiirillä ilmentyminen kasvoi ja *Postn*<sup>-/-</sup>-dieetti- hiirillä laski merkittävästi. Korkearasvaisella dieetillä myös läpän paksuus, syöjäsolujen tunkeutuminen kudokseen, myofibroblastien erilaistuminen ja läppärenkaan sidekudosmuodostus oli vähäisempää *Postn*<sup>-/-</sup> hiirillä. [101] Myös periostiinin ja kondromoduuliini 1:n on todettu olevan toisensa poissulkevia. Kondromoduuliini 1 estää verisuonten uudismuodostusta, mikä ylläpitää sydämen läppien toimintaa, ja sitä ilmeneekin runsaasti läpissä. [101], [102] Periostiinin on osoitettu olevan merkittävässä roolissa edistämällä verisuonten uudismuodostusta ja matriksin metalloproteiinaasien tuotantoa.[101]

Yoshioka ym. toteutti hiirimallin, jossa tutkittiin kondromoduuliini-1 geneettistä muutosta, ja havaittiin tehostunut VEGF (vasoendothelial growth factor)-ilmentyminen, verisuonimuodostusta, kalkkeutumista ja lipidien kertymistä iäkkäissä hiirissä. Kondromoduuliini-1 ilmentyi normaaleissa läpissä, mutta paljon vähemmän läppäsairauksissa ja *ApoE*<sup>-/-</sup> -hiirillä. [102]

Endoteliaalisella typpioksidisyntaasilla (eNOS) on todettu olevan myös vaikutusta kaksipurjeisen läpän muodostumiseen. Hiiret, joilta on poistettu toimiva eNOS ovat alttiita kehittämään kaksipurjeisen läpän, mikä tukee endoteeliperäisen typpioksidaasin roolia suonten uudelleenmuodostuksessa. [56] Shi ym. toteutti eNOS-mallin, jossa eNOS -knock out -naarashiiret saivat valtimokovettumaa edistävää ravintoa. eNOS -puutteisilla hiirillä ilmeni pienempiä aortan vaurioita eikä tätä voitu selittää plasman lipiditasoilla. [103]

Uusimpina kehityksellinä malleina on tehty muun muassa CRISPR/Cas9 -menetelmällä ADAMTS- knock in- ja knock out-mallit. ADAMTS (a disintegrin and metalloproteinase with thrombospondin motifs) on geeniperhe, jonka on todettu kykenevän muokkaamaan sydän- ja verenkiertoelimistön kehitystä ja tauteja. Adamts16<sup>+/-</sup> ja Adamts16<sup>+/H355Q</sup> -hiirillä havaittiin kaksipurjeiselle läpälle tyypillistä läppäpurjeen yhdistymistä ja etenevää läpän paksuuntumista. *ADAMTS16p. H357Q* on perinnöllinen ihmisen kaksipurjeiseen läppään liittyvä geenivariantti. Hiiren alkion sydänkudos paljasti myös tehostuneen fokaaliadheesiokinaasin signaloinnin korkeiden fibronektiinitasojen lisäksi, mikä liittyy häiriintyneeseen soluväliaineen uudelleenmuokkaukseen. Tämä on tärkeä toimintamekanismi kaksipurjeisen läpän kehittämisessä. [104]

Muita eläinmalleja kaksipurjeisen läpän kehittymisen tutkimisessa on muun muassa Gata6 -haploinsuffisientti malli. Gata6 -haploinsuffisienssi aiheutti tuoreessa tutkimuksessa kaksipurjeisten läpän kehittymistä ja hemodynaamiikan muutoksia, kuten takaisinvirtausta ja ejektiofraktion laskua. [105]

#### 4.2.5. Säteilymallit

Säteilyn aiheuttamaa aorttaläpän ahtaumaa voidaan myös mallintaa. Rucher ym. toteutti vastikään mallin, jossa arvioitiin mahdollisuutta aiheuttaa säteilyn laukaisema aorttaläppäahtauma. [58], [106]

Aorttaläppää säteilytettiin kohdennetusti kahdessa tutkimusryhmässä. Toisessa ryhmässä tutkittiin villityypin C57BL6/J-hiiriä ja toisessa ApoE<sup>-/-</sup>-hiiriä. Lisäksi tutkittiin kontrolliryhmää, joka ei saanut säteilyä. Mallissa kohdennettu säteily johti aorttaläppäahtamaan ja sille tyypillisiin ominaisuuksiin. Aortan huippuvirtauksen nopeus kasvoi, läppäpurjeet ja aortan sinus uudelleenmuotoutuivat ja havaittiin mineralisaatiota. Mallissa havaittiin myös lineaarinen korrelaatio huippuvirtauksen ja histologisten löydösten välillä. Aortan tyvessä ilmentyi tulehdusta. Villityypin hiirillä ei havaittu merkittäviä muutoksia, eikä myöskään *in vitro*-kokeen väli-tilan soluissa, jotka olivat ihmisperäisiä. Hiiret saivat kokeessa tavallista ravintoa. Rucherin ym. tutkimus on tiedettävästi ensimmäinen laatuaan, ja tästä mallista voi olla hyötyä arvioimaan NF-kB signaloinnin estoa aortan uudelleenmuodostuksessa terapeuttisilla valmisteilla, kuten melatoniinilla, aspiriinilla tai metformiinilla. NF-kB osallistuu useisiin tulehdusprosesseihin sydäntaudeissa ja säteilyn aiheuttamassa tulehduksessa. [106]

#### 4.3. Jänismallit

Jänikset ovat toiseksi yleisin eläinmalli aorttaläppäahtauksen mallintamisessa [8]. Niillä on ihmisen kaltainen kolmikerroksinen aorttaläppä ja lipoproteiinien metabolia on samankaltainen [1]. Jäniksistä on saatavilla myös siirtogeenisiä kantoja ja luonnollisia mutanttikantoja, ja ne ovat kooltaan kohtalaisen helppoja ylläpitää. [1], [8] Jänis ei toisaalta kehitä spontaania suonten kovettumista, ja vaatiikin hyvin korkeita kolesterolitasoja taudin kehittämiseen, ja niiden lipidimetabolia eroaa ihmisestä merkittävästi. Korkeat kolesterolipitoisuudet voivatkin johtaa kolesterolin varastointiongelmiin. Ne kehittävät myös ihmisestä poikkeavaa valtimoiden kovettumaa.[8]

Jänis kehittää aorttaläpän ahtauman nopeasti hyperkolesterolemisella ravinnolla [107]. Lisättäessä D- vitamiinia tällaiseen ravintoon on niillä saatu aikaan merkittäviä kalkkikertymiä ja ahtaumaa, sekä läppäpurjeiden paksuuntumista ja soluväliaineen epäjärjestyneisyyttä [1], [108]. Hyperkolesterolemisen dieetin rajoitteina on kuitenkin jänisten korkea kuolleisuus ja maksan toiminnan häiriöt. Tosin biomarkkereita, kuten osteopontiinia ja Runx2 on saatu ilmennettyä. [109]

Viime aikoina on tehty hiirten tavoin myös geneettisiä malleja, kuten LDL-reseptoripuutteisia ja ApoE/--malleja, joilla ei ole liiallista kolesterolin saantia, vaikkakin ne kehittävät hyperkolesterolemian tavallisella dieetillä [8], [109], [110]. Tällainen malli on esimerkiksi Watanabe heritable hyperlipidemic (WHHL) -kanta, jolla LDL- reseptori ei toimi, ja ne kehittävät ikäriippuvaisen ahtauman [109]. Myös hypertensiivinen (korkea verenpaine) malli on kehitetty [111]. Jäniksillä on myös tehty mekaanisen vaurion malli pallokatetrilla, jossa on saatu kehitettyä merkittävää kalkkeutumista ja läppäpurjeiden paksuuntumista [112].

#### 4.4. Sikamallit

Sialla on jäniksen tapaan kolmiliuskainen läppä ja ihmisen kaltaiset läppäpurjeet. Verrattuna hiireen ja jänikseen, siat voivat kehittää luontaisesti ateroskleroottisia vaurioalueita läppään, minkä lisäksi lipidimetabolia - ja profiili ovat samankaltaisia, vaikkakin niiden HDL (high-density lipoprotein) -tasot nousevat hyperkolesterolemisisä dieeteissä. [1], [8], [66] Sikojen haittapuolena ovat niiden korkeat kustannukset ja pitkittyneet tutkimusajat, sekä suuri koko, vaikkakin myös pieniä sikalajeja voidaan käyttää [8], [84]. Sioilla on tehty paljon valtimokovettumataudin tutkimusta, jota voidaan soveltaa aorttaläppäahtauman tutkimukseen [8]. Niillä saadaan kehitettyä korkearasvaisella- ja kolesterolipitoisella ravinnolla taudin alkuvaiheen ominaisuuksia ja läpän vaurioita [113]. Myös sioista on tehty LDL- ja apolipoproteiinipuutteisia malleja, ja näillä malleilla aikaansaadaan valtimoiden kovettuman vaurioita ilman erityistä dieettiä, mutta vasta 2–3 vuoden iässä [114].

## 5. Yhteenveto ja johtopäätökset

Aorttaläppäahtauma koskettaa jopa 12,4 % yli 75- vuotiaista ja ikääntyvän väestön myötä taudin yleisyys vain kasvaa. Taudin kehittymisen mekanismeja ei vielä täysin tunneta, eikä tehokasta lääketieteellistä hoitokeinoa ole saatavilla tästä tarpeesta huolimatta. [10] Eläinmalleilla on merkittävä rooli taudin tutkimisessa, mutta myös hoitokeinojen löytämisessä [1]. Useita erilaisia malleja, erityisesti hiirimalleja, tutkimaan aorttaläppäahtauman mekanismeja ja mallintamaan taudinkuvaa on kehitetty viime vuosina, kuten taulukkoon 1. on koottu. Eniten tautia tutkimaan ja mallintamaan on tehty geneettisen muokkauksen ja/tai dieetin hiirimalleja, joilla on saatu aikaan aorttaläppäahtaumalle tyypillistä taudinkuvaa, kuten kalkkeutumista, läpän aukon ahtaumaa ja läppäpurjeiden paksuuntumista [94], [115], [116]. Erityisesti apolipoproteiini E- ja LDL-reseptori-puutteisia hiiriä on tutkittu, mutta myös toisenlaisia geneettisiä muokkauksia on tehty, kuten interleukiini-, klotho- ja matriksin GLA-proteiini -malleja [8], [90], [91], [117]. Villityypin hiiret eivät kehitä luontaisesti kalkkeutumista läppään, joten edistämään sitä ja muita taudin ominaispiirteitä useissa malleissa käytetään korkerasvaista dieettiä ja kolesterolia. [8], [68]

Synnynnäistä kaksipurjeista ja jopa yksipurjeista läppää ja niiden aikaansaamaa läppäahtaumaa on pystytty myös mallintamaan [55], [105], [118]. Endoteliaalinen typpioksidisyntaasi-, GATA6- ja periostiinimallit ovat onnistuneet esimerkiksi mallintamaan kalkkeumaa ja osin myös hemodynaamiikan muutoksia [55], [56], [105] Uudempana, mielenkiintoisena näkökulmana, myös säteilyn vaikutusta aorttaläpän ahtauman muodostumiseen on tutkittu, ja sen pohjalta on kehitetty malli, jolla on saatu aikaan myös hemodynaamiikan muutoksia. [106] Mekaanisen vaurion aiheuttamia malleja on myös kehitetty lisää viime aikoina [67], [119]. Näissä malleissa saadaan havainnollistettua endoteelivaurion aikaansaamaa tulehdusvastetta ilman geneettistä interventiota ja erityistä dieettiä, ja tauti saadaan kehitettyä nopeammin verrattuna dieetti- ja/tai geneettisiin malleihin [60], [66], [88], [96]. Useampi mekaanisen vaurion mallin tutkimuksista ottaa huomioon myös hemodynaamisia parametrejä ultraäänikuvantamisella, joita erityisesti vanhemmista tutkimuksista ja geneettisistä malleista saattaa puuttua [69], [96], [97], [120]. Hemodynaamisesti merkittävän aorttaläppäahtauman mallinnus ja vasempaan kammioon kohdistuvien muutosten tutkiminen olisi tärkeää ja kliinisesti merkittävää [76], [77]. Moni tutkimus ottaa huomioon virtausnopeuden ja painegradientin läpän yli, mutta ejektiofraktion mittaus puuttuu useastakin mallista, vaikka se on tärkeä sydämen systolisen toiminnan mittari [121].

Ideaalilla eläinmallilla olisi mahdollisimman yhtenevä anatomia ja fysiologia verrattuna ihmiseen, erityisesti aorttaläpän osalta. Hiiren läppä eroaa ihmisestä, joten se ei ole täysin vertailukelpoinen. [1] Mahdollisimman hyvä eläinmalli mallintaisi monipuolisesti taudin eri piirteitä, kuten kalkkeutumista, sidekudosmuodostusta ja muita läppäpurjeiden muutoksia, mutta tutkisi kattavasti myös hemodynaamiikkaa ottaen huomioon aukon painegradientin ja virtausnopeuden sekä vasemman kammion toiminnan. Iqbal ym. toteuttama sortiliini-malli saattaa olla tehokkaimpia malleja tällä hetkellä, sillä se yhdistää niin geneettisen muokkauksen, dieetin kuin

mekaanisen vaurion ja vaikutuksia on tutkittu eri tutkimusmenetelmillä suhteellisen laajasti [122]. On lisäksi tärkeää, että voimme yhdistää eri eläin- ja hiirimallien hyviä puolia ja tutkimustuloksia, sillä ne antavat kukin osaltaan tärkeää tietoa aorttaläppäahtaumasta ja sen takana piilevistä mekanismeista [1].

Mekaaniset mallit tarjoavat edun tutkimaan vaurion aikaansaamia reaktioita ja kehittävät taudin nopeammin ilman erityistä ravintoa tai muokkauksia, mutta toisaalta geneettisillä malleilla voidaan tutkia tietyn geenin tai proteiinin toimintaa, vaikkakin tavallisesti hitaammin [66]. Tulevaisuudessa kehittyvä teknologia tarjoaa potentiaalisesti uusia näkökulmia ja mahdollisuuksia. Esimerkiksi magneettiresonanssikuvantamista ja eri kuvantamistapojen yhdistelemistä voitaisiin hyödyntää enemmän eläintutkimuksissa. [10] Väli-tilan solujen *in vitro*-tutkimus on avannut myös mahdollisuuksia tutkia tautia ilman eläimiä luotettavasti, ja eettisesti olisi myös hyvä löytää muita keinoja mallintamaan tautia, ja näin vähentämään eläintutkimusta. [1], [123] Kuitenkin tällä hetkellä lääkkeitä tulee tutkia lain mukaan eläimillä, ja ilman eläimistä saatavaa korvaamatonta tietoa, emme saisi yhtä luotettavasti taudin mekanismeja selville ja siten auttaa potilaita, joita tauti koskettaa [124].

## 6. Viitteet

- [1] M. Bogdanova *et al.*, “Models and Techniques to Study Aortic Valve Calcification in Vitro, ex Vivo and in Vivo. An Overview,” *Front Pharmacol*, vol. 13, p. 835825, Jun. 2022, doi: 10.3389/FPHAR.2022.835825.
- [2] “Aorttaläpän ahtauma.” Accessed: Sep. 28, 2025. [Online]. Available: <https://www.duodecimlehti.fi/duo99284>
- [3] K. H. Zheng, E. Tzolos, and M. R. Dweck, “Pathophysiology of Aortic Stenosis and Future Perspectives for Medical Therapy,” *Cardiol Clin*, vol. 38, no. 1, pp. 1–12, Feb. 2020, doi: 10.1016/J.CCL.2019.09.010.
- [4] A. J. Fletcher, T. Singh, M. B. J. Syed, and M. R. Dweck, “Imaging aortic valve calcification: significance, approach and implications,” Jan. 01, 2021, *W.B. Saunders Ltd*. doi: 10.1016/j.crad.2020.04.007.
- [5] J. Joseph, S. Y. Naqvi, J. Giri, and S. Goldberg, “Aortic Stenosis: Pathophysiology, Diagnosis, and Therapy,” *Am J Med*, vol. 130, no. 3, pp. 253–263, Mar. 2017, doi: 10.1016/J.AM-JMED.2016.10.005.
- [6] H. Y. Chen, J. C. Engert, and G. Thanassoulis, “Risk Factors for Valvular Calcification,” *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes*, vol. 26, no. 2, p. 96, Apr. 2019, doi: 10.1097/MED.0000000000000471.
- [7] L. H. M. Moncla, M. Briend, Y. Bossé, and P. Mathieu, “Calcific aortic valve disease: mechanisms, prevention and treatment,” *Nature Reviews Cardiology* 2023 20:8, vol. 20, no. 8, pp. 546–559, Feb. 2023, doi: 10.1038/s41569-023-00845-7.
- [8] K. L. Sider, M. C. Blaser, and C. A. Simmons, “Animal Models of Calcific Aortic Valve Disease,” *Int J Inflam*, vol. 2011, p. 364310, 2011, doi: 10.4061/2011/364310.
- [9] M. A. Bowler and W. D. Merryman, “In vitro models of aortic valve calcification: solidifying a system,” *Cardiovascular Pathology*, vol. 24, no. 1, pp. 1–10, Jan. 2015, doi: 10.1016/J.CAR-PATH.2014.08.003.
- [10] M. R. Dweck *et al.*, “Multi-modality imaging in aortic stenosis: an EACVI clinical consensus document,” *Eur Heart J Cardiovasc Imaging*, vol. 24, no. 11, pp. 1430–1443, Oct. 2023, doi: 10.1093/EHJCI/JEAD153.
- [11] F. A. Rajput and R. Zeltser, “Aortic Valve Replacement,” *StatPearls [internet]*, May 2023, Accessed: Feb. 06, 2025. [Online]. Available: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK537136/>
- [12] M. Misfeld and H. H. Sievers, “Heart valve macro- and microstructure,” *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, vol. 362, no. 1484, p. 1421, Aug. 2007, doi: 10.1098/RSTB.2007.2125.
- [13] M. M. Rozeik, D. J. Wheatley, and T. Gourlay, “The aortic valve: Structure, complications and implications for transcatheter aortic valve replacement,” *Perfusion (United Kingdom)*, vol. 29, no. 4, pp. 285–300, 2014, doi: 10.1177/0267659114521650.
- [14] C. Mancusi, E. Bahlmann, C. Basile, and E. Gerdtts, “New Evidence About Aortic Valve Stenosis and Cardiovascular Hemodynamics,” *High Blood Pressure & Cardiovascular Prevention*, vol. 29, no. 3, p. 231, May 2022, doi: 10.1007/S40292-022-00520-X.
- [15] H. El-Nashar *et al.*, “Multiscale structure and function of the aortic valve apparatus,” *Physiol Rev*, vol. 104, no. 4, pp. 1487–1532, Oct. 2024, doi: 10.1152/PHYSREV.00038.2022.
- [16] M. J. Arcario, S. Lou, P. Taylor, and S. H. Gregory, “Sinus of Valsalva Aneurysms: A Review with Perioperative Considerations,” *J Cardiothorac Vasc Anesth*, vol. 35, no. 11, pp. 3340–3349, Nov. 2021, doi: 10.1053/J.JVCA.2020.12.016.
- [17] P. T. Crawford, T. C. Arbor, and B. Bordoni, “Anatomy, Thorax, Aortic Valve,” *StatPearls*, Sep. 2023, Accessed: Apr. 06, 2025. [Online]. Available: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK559384/>

- [18] A. Rutkovskiy *et al.*, “Valve interstitial cells: The key to understanding the pathophysiology of heart valve calcification,” *J Am Heart Assoc*, vol. 6, no. 9, Sep. 2017, doi: 10.1161/JAHA.117.006339/ASSET/03607CE5-B901-4DD3-B71A-7B99D23E6249/ASSETS/IMAGES/LARGE/JAH32473-FIG-0002.JPG.
- [19] G. Tao, J. D. Kotick, and J. Lincoln, “Heart Valve Development, Maintenance, and Disease: The Role of Endothelial Cells,” *Curr Top Dev Biol*, vol. 100, pp. 203–232, Jan. 2012, doi: 10.1016/B978-0-12-387786-4.00006-3.
- [20] S. Kraler, M. C. Blaser, E. Aikawa, G. G. Camici, and T. F. Lüscher, “Calcific aortic valve disease: from molecular and cellular mechanisms to medical therapy,” Feb. 14, 2022, *Oxford University Press*. doi: 10.1093/eurheartj/ehab757.
- [21] L. H. M. Moncla, M. Briend, Y. Bossé, and P. Mathieu, “Calcific aortic valve disease: mechanisms, prevention and treatment,” Aug. 01, 2023, *Nature Research*. doi: 10.1038/s41569-023-00845-7.
- [22] J. H. Chen and C. A. Simmons, “Cell-matrix interactions in the pathobiology of calcific aortic valve disease: Critical roles for matricellular, matricrine, and matrix mechanics cues,” *Circ Res*, vol. 108, no. 12, pp. 1510–1524, Jun. 2011, doi: 10.1161/CIRCRESAHA.110.234237/ASSET/F3E543DB-96D0-4A78-A368-377451178E14/ASSETS/GRAPHIC/ZHH0121177940004.JPEG.
- [23] D. A. Lerman, S. Prasad, and N. Alotti, “Calcific Aortic Valve Disease: Molecular Mechanisms and Therapeutic Approaches,” *European Cardiology Review*, vol. 10, no. 2, p. 108, 2015, doi: 10.15420/ECR.2015.10.2.108.
- [24] S. Xu, A. C. Liu, H. Kim, and A. I. Gotlieb, “Cell density regulates in vitro activation of heart valve interstitial cells,” *Cardiovascular Pathology*, vol. 21, no. 2, pp. 65–73, Mar. 2012, doi: 10.1016/j.carpath.2011.01.004.
- [25] A. C. Liu, V. R. Joag, and A. I. Gotlieb, “The Emerging Role of Valve Interstitial Cell Phenotypes in Regulating Heart Valve Pathobiology,” *Am J Pathol*, vol. 171, no. 5, p. 1407, 2007, doi: 10.2353/AJPATH.2007.070251.
- [26] M. Bogdanova *et al.*, “Interstitial cells in calcified aortic valves have reduced differentiation potential and stem cell-like properties,” *Scientific Reports 2019 9:1*, vol. 9, no. 1, pp. 1–13, Sep. 2019, doi: 10.1038/s41598-019-49016-0.
- [27] A. C. Liu, V. R. Joag, and A. I. Gotlieb, “The Emerging Role of Valve Interstitial Cell Phenotypes in Regulating Heart Valve Pathobiology,” *Am J Pathol*, vol. 171, no. 5, p. 1407, 2007, doi: 10.2353/AJPATH.2007.070251.
- [28] J. H. Chen, C. Y. Y. Yip, E. D. Sone, and C. A. Simmons, “Identification and characterization of aortic valve mesenchymal progenitor cells with robust osteogenic calcification potential,” *Am J Pathol*, vol. 174, no. 3, pp. 1109–1119, 2009, doi: 10.2353/AJPATH.2009.080750.
- [29] C. A. Simmons, “Aortic Valve Mechanics: An Emerging Role for the Endothelium,” *J Am Coll Cardiol*, vol. 53, no. 16, pp. 1456–1458, Apr. 2009, doi: 10.1016/J.JACC.2008.12.052.
- [30] P. Bańka *et al.*, “Influence of Aortic Valve Stenosis and Wall Shear Stress on Platelets Function,” *J Clin Med*, vol. 12, no. 19, p. 6301, Oct. 2023, doi: 10.3390/JCM12196301.
- [31] C. A. Simmons, “Aortic Valve Mechanics: An Emerging Role for the Endothelium,” *J Am Coll Cardiol*, vol. 53, no. 16, pp. 1456–1458, Apr. 2009, doi: 10.1016/J.JACC.2008.12.052.
- [32] A. H. Chester, I. El-Hamamsy, J. T. Butcher, N. Latif, S. Bertazzo, and M. H. Yacoub, “The living aortic valve: From molecules to function,” *Glob Cardiol Sci Pract*, vol. 2014, no. 1, p. 52, Jan. 2014, doi: 10.5339/GCSP.2014.11.
- [33] F. Bartoli-Leonard, J. Zimmer, and E. Aikawa, “Innate and adaptive immunity: the understudied driving force of heart valve disease,” *Cardiovasc Res*, vol. 117, no. 13, p. 2506, Nov. 2021, doi: 10.1093/CVR/CVAB273.
- [34] G. Benfari *et al.*, “Severe aortic stenosis: secular trends of incidence and outcomes,” *Eur Heart J*, vol. 45, no. 21, pp. 1877–1886, Jun. 2024, doi: 10.1093/EURHEARTJ/EHAD887.
- [35] A. Patel and A. J. Kirtane, “Aortic Valve Stenosis,” *JAMA Cardiol*, vol. 1, no. 5, pp. 623–623, Aug. 2016, doi: 10.1001/JAMACARDIO.2016.2060.

- [36] M. R. Dweck, N. A. Boon, and D. E. Newby, "Calcific Aortic Stenosis: A Disease of the Valve and the Myocardium," *J Am Coll Cardiol*, vol. 60, no. 19, pp. 1854–1863, Nov. 2012, doi: 10.1016/J.JACC.2012.02.093.
- [37] B. R. Lindman *et al.*, "Calcific aortic stenosis," *Nat Rev Dis Primers*, vol. 2, p. 16006, Mar. 2016, doi: 10.1038/NRDP.2016.6.
- [38] C. M. Otto, D. E. Newby, and G. S. Hillis, "Calcific Aortic Stenosis: A Review," *JAMA*, vol. 332, no. 23, pp. 2014–2026, Dec. 2024, doi: 10.1001/JAMA.2024.16477.
- [39] S. M. Shah, J. Shah, S. M. Lakey, P. Garg, and D. P. Ripley, "Pathophysiology, emerging techniques for the assessment and novel treatment of aortic stenosis," *Open Heart*, vol. 10, no. 1, p. e002244, Mar. 2023, doi: 10.1136/OPENHRT-2022-002244.
- [40] A. Kanwar, J. J. Thaden, and V. T. Nkomo, "Management of Patients With Aortic Valve Stenosis," *Mayo Clin Proc*, vol. 93, no. 4, pp. 488–508, Apr. 2018, doi: 10.1016/J.MAYOCP.2018.01.020/ASSET/7495355F-DF44-4671-8E83-E5F4D45ABFDA/MAIN.ASSETS/GR4.JPG.
- [41] "Sanasto - Duodecim Oppiortti." Accessed: Jun. 17, 2025. [Online]. Available: <https://www.oppoortti.fi/oppikirjat/kar01752#s5>
- [42] "Sydämen vajaatoiminnan hemodynaamiset häiriömekanismit - Duodecim Oppiortti." Accessed: Jun. 17, 2025. [Online]. Available: <https://www.oppoortti.fi/oppikirjat/kar01698>
- [43] M. T. Boskovski and T. G. Gleason, "Current Therapeutic Options in Aortic Stenosis," *Circ Res*, vol. 128, no. 9, pp. 1398–1417, Apr. 2021, doi: 10.1161/CIRCRESAHA.121.318040/ASSET/953CCBFB-D9F3-46FB-AE9A-0DC12B3C8E59/ASSETS/IM-AGES/LARGE/CIRCRESAHA.121.318040.FIG06.JPG.
- [44] P. R. Goody *et al.*, "Aortic Valve Stenosis: From Basic Mechanisms to Novel Therapeutic Targets," *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, vol. 40, no. 4, pp. 885–900, Apr. 2020, doi: 10.1161/ATVBAHA.119.313067/ASSET/A05989C9-0279-4783-AF28-0C47C517EC2F/ASSETS/GRAPHIC/ATVBAHA.119.313067.FIG03.JPG.
- [45] B. R. Lindman, R. O. Bonow, and C. M. Otto, "Current Management of Calcific Aortic Stenosis," *Circ Res*, vol. 113, no. 2, p. 223, Jul. 2013, doi: 10.1161/CIRCRESAHA.111.300084.
- [46] "Aorttaläpän ahtauman syyt ja patofysiologia - Duodecim Oppiortti." Accessed: Feb. 05, 2025. [Online]. Available: <https://www.oppoortti.fi/oppikirjat/kar01449>
- [47] B. A. Carabello, "Should severe aortic stenosis be operated on before symptom onset? Aortic valve replacement should be operated on before symptom onset," *Circulation*, vol. 126, no. 1, pp. 112–117, Jul. 2012, doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.111.079350/ASSET/49B75131-D253-46D6-966D-97A4B5CBDB46/ASSETS/GRAPHIC/ZHC0261208980003.JPEG.
- [48] "Aorttaläppäahtauman hoito - Duodecim Oppiortti." Accessed: Apr. 17, 2025. [Online]. Available: <https://www.oppoortti.fi/oppikirjat/kar01452?>
- [49] "Aorttaläppäahtauman diagnostiikka - Duodecim Oppiortti." Accessed: Apr. 17, 2025. [Online]. Available: <https://www.oppoortti.fi/oppikirjat/kar01450>
- [50] V. T. Nkomo, J. M. Gardin, T. N. Skelton, J. S. Gottdiener, C. G. Scott, and M. Enriquez-Sarano, "Burden of valvular heart diseases: a population-based study," *The Lancet*, vol. 368, no. 9540, pp. 1005–1011, Sep. 2006, doi: 10.1016/S0140-6736(06)69208-8.
- [51] F. Massad *et al.*, "Temporal Trends in Prevalence of Bicuspid Aortic Valves in Patients Undergoing Surgical Aortic Valve Replacement," *Cardiovascular Interventions*, vol. 17, no. 17, pp. 2088–2089, Sep. 2024, doi: 10.1016/J.JCIN.2024.07.024.
- [52] S. C. Siu and C. K. Silversides, "Bicuspid Aortic Valve Disease," *J Am Coll Cardiol*, vol. 55, no. 25, pp. 2789–2800, Jun. 2010, doi: 10.1016/J.JACC.2009.12.068.
- [53] A. Forte, Y. Wang, C. St Hilaire, S. C. Body, N. M. Yassine, and J. T. Shahram, "Pathogenic Mechanisms of Bicuspid Aortic Valve Aortopathy," *Front Physiol*, vol. 8, no. SEP, p. 687, Sep. 2017, doi: 10.3389/FPHYS.2017.00687.
- [54] "NOTCH1 - Neurogenic locus notch homolog protein 1 - Homo sapiens (Human) | UniProtKB | UniProt." Accessed: Sep. 14, 2025. [Online]. Available: <https://www.uniprot.org/uniprotkb/P46531/entry>

- [55] T. V. Tkatchenko, R. A. Moreno-Rodriguez, S. J. Conway, J. D. Molkentin, R. R. Markwald, and A. V. Tkatchenko, "Lack of periostin leads to suppression of Notch1 signaling and calcific aortic valve disease," *Physiol Genomics*, vol. 39, no. 3, p. 160, Nov. 2009, doi: 10.1152/PHYSIOL-GENOMICS.00078.2009.
- [56] T. C. Lee, Y. D. Zhao, D. W. Courtman, and D. J. Stewart, "Abnormal aortic valve development in mice lacking endothelial nitric oxide synthase," *Circulation*, vol. 101, no. 20, pp. 2345–2348, May 2000, doi: 10.1161/01.CIR.101.20.2345/ASSET/F8A46861-D9A8-4160-B460-BADD4B337002/ASSETS/GRAPHIC/HC2004097003.JPEG.
- [57] A. Martinsson *et al.*, "Familial Aggregation of Aortic Valvular Stenosis: A Nationwide Study of Sibling Risk," *Circ Cardiovasc Genet*, vol. 10, no. 6, Dec. 2017, doi: 10.1161/CIRCGENET-ICS.117.001742,.
- [58] E. Belzile-Dugas, S. E. Fremes, and M. J. Eisenberg, "Radiation-Induced Aortic Stenosis: An Update on Treatment Modalities," *JACC: Advances*, vol. 2, no. 1, Jan. 2023, doi: 10.1016/J.JAC-ADV.2022.100163.
- [59] J. W. S. Jahng, M. P. Little, H. J. No, B. W. Loo, and J. C. Wu, "Consequences of ionizing radiation exposure to the cardiovascular system," *Nat Rev Cardiol*, vol. 21, no. 12, p. 880, Dec. 2024, doi: 10.1038/S41569-024-01056-4.
- [60] T. A. Pawade, D. E. Newby, and M. R. Dweck, "Calcification in Aortic Stenosis: The Skeleton Key," *J Am Coll Cardiol*, vol. 66, no. 5, pp. 561–577, Aug. 2015, doi: 10.1016/J.JACC.2015.05.066.
- [61] S. M. Shah, J. Shah, S. M. Lakey, P. Garg, and D. P. Ripley, "Pathophysiology, emerging techniques for the assessment and novel treatment of aortic stenosis," *Open Heart*, vol. 10, no. 1, p. e002244, Mar. 2023, doi: 10.1136/OPENHRT-2022-002244.
- [62] A. Hulin, A. Hego, P. Lancellotti, and C. Oury, "Advances in Pathophysiology of Calcific Aortic Valve Disease Propose Novel Molecular Therapeutic Targets," *Front Cardiovasc Med*, vol. 5, p. 21, Mar. 2018, doi: 10.3389/FCVM.2018.00021.
- [63] A. L. Sverdlov, D. T. Ngo, M. J. Chapman, O. A. Ali, Y. Y. Chirkov, and J. D. Horowitz, "Pathogenesis of aortic stenosis: not just a matter of wear and tear," *Am J Cardiovasc Dis*, vol. 1, no. 2, p. 185, 2011, Accessed: Apr. 07, 2025. [Online]. Available: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC3253493/>
- [64] F. E. C. M. Peeters *et al.*, "Calcific aortic valve stenosis: hard disease in the heart: A biomolecular approach towards diagnosis and treatment," *Eur Heart J*, vol. 39, no. 28, p. 2618, Jul. 2017, doi: 10.1093/EURHEARTJ/EHX653.
- [65] E. Aikawa *et al.*, "Multimodality molecular imaging identifies proteolytic and osteogenic activities in early aortic valve disease," *Circulation*, vol. 115, no. 3, pp. 377–386, Jan. 2007, doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.106.654913,.
- [66] Z. Zhu, Z. Liu, D. Zhang, L. Li, J. Pei, and L. Cai, "Models for calcific aortic valve disease in vivo and in vitro," *Cell Regeneration* 2024 13:1, vol. 13, no. 1, pp. 1–16, Mar. 2024, doi: 10.1186/S13619-024-00189-8.
- [67] N. Qian *et al.*, "A novel mouse model of calcific aortic valve stenosis," *Animal Model Exp Med*, vol. 7, no. 4, pp. 523–532, Aug. 2024, doi: 10.1002/AME2.12393.
- [68] M. C. Drolet, E. Roussel, Y. Deshaies, J. Couet, and M. Arsenault, "A High Fat/High Carbohydrate Diet Induces Aortic Valve Disease in C57BL/6J Mice," *J Am Coll Cardiol*, vol. 47, no. 4, pp. 850–855, Feb. 2006, doi: 10.1016/J.JACC.2005.09.049.
- [69] D. A. Towler, M. Bidder, T. Latifi, T. Coleman, and C. F. Semenkovich, "Diet-induced diabetes activates an osteogenic gene regulatory program in the aortas of low density lipoprotein receptor-deficient mice," *Journal of Biological Chemistry*, vol. 273, no. 46, pp. 30427–30434, Nov. 1998, doi: 10.1074/jbc.273.46.30427.
- [70] S. Dharmarajan *et al.*, "Role of Runx2 in Calcific Aortic Valve Disease in Mouse Models," *Front Cardiovasc Med*, vol. 8, p. 687210, 2021, doi: 10.3389/FCVM.2021.687210/FULL.
- [71] J. L. Goldstein and M. S. Brown, "A Century of Cholesterol and Coronaries: From Plaques to Genes to Statins," *Cell*, vol. 161, no. 1, p. 161, Mar. 2015, doi: 10.1016/J.CELL.2015.01.036.

- [72] A. Daugherty and D. L. Rateri, "Development of experimental designs for atherosclerosis studies in mice," *Methods*, vol. 36, no. 2, pp. 129–138, Jun. 2005, doi: 10.1016/J.YMETH.2004.11.008.
- [73] I. Satokata *et al.*, "Msx2 deficiency in mice causes pleiotropic defects in bone growth and ectodermal organ formation," 2000, Accessed: Jun. 16, 2025. [Online]. Available: <http://genetics.nature.com>
- [74] S. L. Cheng *et al.*, "Targeted reduction of vascular Msx1 and Msx2 mitigates arteriosclerotic calcification and aortic stiffness in LDLR-deficient mice fed diabetogenic diets," *Diabetes*, vol. 63, no. 12, pp. 4326–4337, Dec. 2014, doi: 10.2337/DB14-0326/-/DC1.
- [75] Y. Matsumoto, V. Adams, S. Jacob, N. Mangner, G. Schuler, and A. Linke, "Regular exercise training prevents aortic valve disease in low-density lipoprotein-receptor-deficient mice," *Circulation*, vol. 121, no. 6, pp. 759–767, Feb. 2010, doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.109.892224/SUPPL\_FILE/SUPPLEMENTARY\_MATERIAL.PDF.
- [76] R. M. Weiss, M. Ohashi, J. D. Miller, S. G. Young, and D. D. Heistad, "Calcific aortic valve stenosis in old hypercholesterolemic mice," *Circulation*, vol. 114, no. 19, pp. 2065–2069, Nov. 2006, doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.106.634139/ASSET/46F47BEC-0959-4410-8471-0040C34DF314/ASSETS/GRAPHIC/13FF5.JPEG.
- [77] C. F. H. Mueller, K. Laude, J. S. McNally, and D. G. Harrison, "Redox mechanisms in blood vessels," *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, vol. 25, no. 2, pp. 274–278, Feb. 2005, doi: 10.1161/01.ATV.0000149143.04821.EB,.
- [78] J. D. Miller, R. M. Weiss, and D. D. Heistad, "Calcific aortic valve stenosis: Methods, models, and mechanisms," *Circ Res*, vol. 108, no. 11, pp. 1392–1412, May 2011, doi: 10.1161/CIRCRESAHA.110.234138.
- [79] R. Varshney *et al.*, "Inactivation of platelet-derived TGF- $\beta$ 1 attenuates aortic stenosis progression in a robust murine model," *Blood Adv*, vol. 3, no. 5, p. 777, Mar. 2019, doi: 10.1182/BLOODADVANCES.2018025817.
- [80] J. D. Miller *et al.*, "Lowering plasma cholesterol levels halts progression of aortic valve disease in mice," *Circulation*, vol. 119, no. 20, p. 2693, May 2009, doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.108.834614.
- [81] J. D. Miller *et al.*, "Evidence for active regulation of pro-osteogenic signaling in advanced aortic valve disease," *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, vol. 30, no. 12, p. 2482, 2010, doi: 10.1161/ATVBAHA.110.211029.
- [82] R. Varshney *et al.*, "Inactivation of platelet-derived TGF- $\beta$ 1 attenuates aortic stenosis progression in a robust murine model," *Blood Adv*, vol. 3, no. 5, p. 777, Mar. 2019, doi: 10.1182/BLOODADVANCES.2018025817.
- [83] S. H. Zhang, R. L. Reddick, J. A. Piedrahita, and N. Maeda, "Spontaneous Hypercholesterolemia and Arterial Lesions in Mice Lacking Apolipoprotein E," *Science (1979)*, vol. 258, no. 5081, pp. 468–471, Oct. 1992, doi: 10.1126/SCIENCE.1411543.
- [84] H. L. Zhang, J. Wu, and J. Zhu, "The Role of Apolipoprotein E in Guillain-Barré Syndrome and Experimental Autoimmune Neuritis," *J Biomed Biotechnol*, vol. 2010, p. 357412, 2010, doi: 10.1155/2010/357412.
- [85] K. Tanaka *et al.*, "Age-Associated Aortic Stenosis in Apolipoprotein E-Deficient Mice," *J Am Coll Cardiol*, vol. 46, no. 1, pp. 134–141, Jul. 2005, doi: 10.1016/J.JACC.2005.03.058.
- [86] M. Zeadin, M. Butcher, G. Werstuck, M. Khan, C. K. Yee, and S. G. Shaughnessy, "Effect of leptin on vascular calcification in apolipoprotein E-deficient mice," *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, vol. 29, no. 12, pp. 2069–2075, Dec. 2009, doi: 10.1161/ATVBAHA.109.195255,.
- [87] S. Srivastava *et al.*, "Oral exposure to acrolein exacerbates atherosclerosis in apoE-null mice," *Atherosclerosis*, vol. 215, no. 2, pp. 301–308, Apr. 2011, doi: 10.1016/J.ATHEROSCLEROSIS.2011.01.001.
- [88] R. Yang, Y. Tang, X. Chen, and Y. Yang, "Telocytes-derived extracellular vesicles alleviate aortic valve calcification by carrying miR-30b," *ESC Heart Fail*, vol. 8, no. 5, pp. 3935–3946, Oct. 2021, doi: 10.1002/EHF2.13460.

- [89] E. The *et al.*, “Interleukin 38 alleviates aortic valve calcification by inhibition of NLRP3,” *Proc Natl Acad Sci U S A*, vol. 119, no. 36, p. e2202577119, Sep. 2022, doi: 10.1073/PNAS.2202577119/SUPPL\_FILE/PNAS.2202577119.SAPP.PDF.
- [90] K. Isoda, T. Matsuki, H. Kondo, Y. Iwakura, and F. Ohsuzu, “Deficiency of interleukin-1 receptor antagonist induces aortic valve disease in BALB/c Mice,” *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, vol. 30, no. 4, pp. 708–715, Apr. 2010, doi: 10.1161/ATVBAHA.109.201749/ASSET/97D4B3A7-48B7-4927-9924-0707C45F4635/ASSETS/GRAPHIC/13FF5.JPEG.
- [91] E. E. Wirrig, M. V. Gomez, R. B. Hinton, and K. E. Yutzey, “COX2 Inhibition Reduces Aortic Valve Calcification In Vivo,” *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, vol. 35, no. 4, p. 938, Apr. 2015, doi: 10.1161/ATVBAHA.114.305159.
- [92] A. D. Hajare, N. Dagar, and A. B. Gaikwad, “Klotho antiaging protein: molecular mechanisms and therapeutic potential in diseases,” *Molecular Biomedicine*, vol. 6, no. 1, p. 19, Dec. 2025, doi: 10.1186/S43556-025-00253-Y.
- [93] J. D. Cheek, E. E. Wirrig, C. M. Alfieri, J. F. James, and K. E. Yutzey, “Differential activation of valvulogenic, chondrogenic, and osteogenic pathways in mouse models of myxomatous and calcific aortic valve disease,” *J Mol Cell Cardiol*, vol. 52, no. 3, pp. 689–700, Mar. 2012, doi: 10.1016/J.YJMCC.2011.12.013/ATTACHMENT/A92F6D83-3E30-4C94-A3DD-51BCDA86E574/MMC1.DOC.
- [94] D. Han *et al.*, “AVCAPIR: A Novel Procalcific PIWI-Interacting RNA in Calcific Aortic Valve Disease,” *Circulation*, vol. 149, no. 20, pp. 1578–1597, May 2024, doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.123.065213/SUPPL\_FILE/CIRC\_CIRCULATIONAHA-2023-065213\_SUPP2.PDF.
- [95] E. Kim *et al.*, “A Rabbit Aortic Valve Stenosis Model Induced by Direct Balloon Injury,” *J Vis Exp*, vol. 2023, no. 193, p. e65078, Mar. 2023, doi: 10.3791/65078.
- [96] S. Honda *et al.*, “A novel mouse model of aortic valve stenosis induced by direct wire injury,” *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, vol. 34, no. 2, pp. 270–278, Feb. 2014, doi: 10.1161/ATVBAHA.113.302610/-/DC1.
- [97] G. Zhong *et al.*, “Activation of Piezo1 promotes osteogenic differentiation of aortic valve interstitial cell through YAP-dependent glutaminolysis,” *Sci Adv*, vol. 9, no. 22, p. eadg0478, Jun. 2023, doi: 10.1126/SCIADV.ADG0478.
- [98] D. Wen *et al.*, “Mechanical injury accentuates lipid deposition in ApoE<sup>-/-</sup> mice and advance aortic valve stenosis: A novel modified aortic valve stenosis model,” *Front Cardiovasc Med*, vol. 10, p. 1119746, Feb. 2023, doi: 10.3389/FCVM.2023.1119746.
- [99] V. Garg *et al.*, “Mutations in NOTCH1 cause aortic valve disease,” 2005, doi: 10.1038/nature03940.
- [100] V. Nigam and D. Srivastava, “Notch1 represses osteogenic pathways in aortic valve cells,” *J Mol Cell Cardiol*, vol. 47, no. 6, pp. 828–834, Dec. 2009, doi: 10.1016/j.yjmcc.2009.08.008.
- [101] D. Hakuno *et al.*, “Periostin advances atherosclerotic and rheumatic cardiac valve degeneration by inducing angiogenesis and MMP production in humans and rodents,” *J Clin Invest*, vol. 120, no. 7, p. 2292, Jul. 2010, doi: 10.1172/JCI40973.
- [102] M. Yoshioka *et al.*, “Chondromodulin-I maintains cardiac valvular function by preventing angiogenesis,” *Nature Medicine* 2006 12:10, vol. 12, no. 10, pp. 1151–1159, Sep. 2006, doi: 10.1038/nm1476.
- [103] W. Shi, X. Wang, D. M. Shih, V. E. Laubach, M. Navab, and A. J. Lusis, “Paradoxical reduction of fatty streak formation in mice lacking endothelial nitric oxide synthase,” *Circulation*, vol. 105, no. 17, pp. 2078–2082, Apr. 2002, doi: 10.1161/01.CIR.0000015853.59427.32/ASSET/7145D821-2A1C-4A8A-9664-EE15CCA42437/ASSETS/GRAPHIC/G19FF5.JPEG.
- [104] Y. Lin *et al.*, “Extracellular Matrix Disorganization Caused by ADAMTS16 Deficiency Leads to Bicupid Aortic Valve with Raphe Formation,” *Circulation*, vol. 149, no. 8, pp. 605–626, Feb. 2024, doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.123.065458/SUPPL\_FILE/CIRC\_CIRCULATIONAHA-2023-065458D\_SUPP9.MP4.

- [105] R. Piñeiro-Sabaris, D. MacGrogan, and J. L. de la Pompa, “Deficient GATA6-CXCR7 signaling leads to bicuspid aortic valve,” *Dis Model Mech*, vol. 17, no. 9, p. dmm050934, Sep. 2024, doi: 10.1242/DMM.050934/VIDEO-2.
- [106] G. Rucher *et al.*, “Targeted Radiation Exposure Induces Accelerated Aortic Valve Remodeling in ApoE<sup>-/-</sup> Mice,” *J Clin Med*, vol. 12, no. 18, p. 5854, Sep. 2023, doi: 10.3390/JCM12185854/S1.
- [107] S. Marechaux *et al.*, “Identification of tissue factor in experimental aortic valve sclerosis,” *Cardiovascular Pathology*, vol. 18, no. 2, pp. 67–76, Mar. 2009, doi: 10.1016/j.carpath.2007.12.014.
- [108] M. C. Drolet, M. Arsenault, and J. Couet, “Experimental aortic valve stenosis in rabbits,” *J Am Coll Cardiol*, vol. 41, no. 7, pp. 1211–1217, Apr. 2003, doi: 10.1016/S0735-1097(03)00090-1.
- [109] T. Hara, N. Tsukada, M. Okano, T. Ishida, K. ichi Hirata, and M. Shiomi, “Progression of calcific aortic valve sclerosis in WHHLMI rabbits,” *Atherosclerosis*, vol. 273, pp. 8–14, Jun. 2018, doi: 10.1016/J.ATHEROSCLEROSIS.2018.03.044.
- [110] J. Fan *et al.*, “Overexpression of human apolipoprotein B-100 in transgenic rabbits results in increased levels of LDL and decreased levels of HDL,” *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, vol. 15, no. 11, pp. 1889–1899, 1995, doi: 10.1161/01.ATV.15.11.1889/ASSET/9A9659F2-031C-432A-BE1B-6637DE8942A0/ASSETS/GRAPHIC/HQ1150633006.JPEG.
- [111] L. A. Cuniberti, P. G. Stutzbach, E. Guevara, G. G. Yannarelli, R. P. Laguens, and R. R. Favaloro, “Development of Mild Aortic Valve Stenosis in a Rabbit Model of Hypertension,” *J Am Coll Cardiol*, vol. 47, no. 11, pp. 2303–2309, Jun. 2006, doi: 10.1016/J.JACC.2005.12.070.
- [112] E. Kim *et al.*, “A Rabbit Aortic Valve Stenosis Model Induced by Direct Balloon Injury,” *J Vis Exp*, vol. 2023, no. 193, p. e65078, Mar. 2023, doi: 10.3791/65078.
- [113] K. L. Sider, C. Zhu, A. V. Kwong, Z. Mirzaei, C. F. M. De Langé, and C. A. Simmons, “Evaluation of a porcine model of early aortic valve sclerosis,” *Cardiovascular Pathology*, vol. 23, no. 5, pp. 289–297, Sep. 2014, doi: 10.1016/J.CARPAT.2014.05.004.
- [114] M. F. Prescott, C. H. McBride, J. Hasler-Rapacz, J. Von Linden, and J. Rapacz, “Development of complex atherosclerotic lesions in pigs with inherited hyper-LDL cholesterolemia bearing mutant alleles for apolipoprotein B,” *Am J Pathol*, vol. 139, no. 1, p. 139, 1991, Accessed: Jun. 17, 2025. [Online]. Available: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC1886122/>
- [115] J. J. Jung *et al.*, “Multimodality and Molecular Imaging of Matrix Metalloproteinase Activation in Calcific Aortic Valve Disease,” *Journal of Nuclear Medicine*, vol. 56, no. 6, pp. 933–938, Jun. 2015, doi: 10.2967/JNUMED.114.152355.
- [116] F. Liu *et al.*, “PTP1B Inhibition Improves Mitochondrial Dynamics to Alleviate Calcific Aortic Valve Disease Via Regulating OPA1 Homeostasis,” *JACC Basic Transl Sci*, vol. 7, no. 7, pp. 697–712, Jul. 2022, doi: 10.1016/J.JACBTS.2022.03.002/SUPPL\_FILE/MMC1.PDF.
- [117] G. Luo *et al.*, “Spontaneous calcification of arteries and cartilage in mice lacking matrix GLA protein,” *Nature*, vol. 386, no. 6620, pp. 78–81, Mar. 1997, doi: 10.1038/386078A0.
- [118] R. M. Weiss *et al.*, “Discovery of an Experimental Model of Unicuspid Aortic Valve,” *J Am Heart Assoc*, vol. 7, no. 13, Jul. 2018, doi: 10.1161/JAHA.117.006908.
- [119] H. Zhao *et al.*, “Hesperetin, a Promising Dietary Supplement for Preventing the Development of Calcific Aortic Valve Disease,” *Antioxidants*, vol. 11, no. 11, p. 2093, Nov. 2022, doi: 10.3390/ANTIOX11112093/S1.
- [120] E. Aikawa *et al.*, “Arterial and aortic valve calcification abolished by elastolytic cathepsin S deficiency in chronic renal disease,” *Circulation*, vol. 119, no. 13, pp. 1785–1794, Apr. 2009, doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.108.827972/SUPPL\_FILE/CI192252.DS.PDF.
- [121] “Sydämen diastolinen vajaatoiminta.” Accessed: Oct. 02, 2025. [Online]. Available: <https://www.duodecimlehti.fi/duo94601>
- [122] F. Iqbal *et al.*, “Sortilin enhances fibrosis and calcification in aortic valve disease by inducing interstitial cell heterogeneity,” *Eur Heart J*, vol. 44, no. 10, p. 885, Mar. 2023, doi: 10.1093/EURHEARTJ/EHAC818.
- [123] R. C. Hubrecht and E. Carter, “The 3Rs and Humane Experimental Technique: Implementing Change,” *Animals (Basel)*, vol. 9, no. 10, p. 754, Oct. 2019, doi: 10.3390/ANI9100754.

- [124] “The Importance of Animal Testing in Biomedical Research.” Accessed: Oct. 02, 2025. [Online]. Available: <https://www.nabr.org/biomedical-research/importance-biomedical-research>
- [125] J. Li *et al.*, “Trimethylamine N-oxide induces osteogenic responses in human aortic valve interstitial cells in vitro and aggravates aortic valve lesions in mice,” *Cardiovasc Res*, vol. 118, no. 8, pp. 2018–2030, Jun. 2022, doi: 10.1093/CVR/CVAB243.
- [126] E. Aikawa *et al.*, “Osteogenesis associates with inflammation in early-stage atherosclerosis evaluated by molecular imaging in vivo,” *Circulation*, vol. 116, no. 24, pp. 2841–2850, Dec. 2007, doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.107.732867/SUPPL\_FILE/CI497900.DSMOVIE.REV3.MP4.
- [127] E. Aikawa *et al.*, “Multimodality molecular imaging identifies proteolytic and osteogenic activities in early aortic valve disease,” *Circulation*, vol. 115, no. 3, pp. 377–386, Jan. 2007, doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.106.654913.
- [128] J. Hjortnaes *et al.*, “Arterial and aortic valve calcification inversely correlates with osteoporotic bone remodelling: a role for inflammation,” *Eur Heart J*, vol. 31, no. 16, pp. 1975–1984, Aug. 2010, doi: 10.1093/EURHEARTJ/EHQ237.
- [129] K. Hanada *et al.*, “Perturbations of vascular homeostasis and aortic valve abnormalities in fibulin-4 deficient mice,” *Circ Res*, vol. 100, no. 5, pp. 738–746, Mar. 2007, doi: 10.1161/01.RES.0000260181.19449.95.
- [130] R. B. Hinton *et al.*, “Elastin haploinsufficiency results in progressive aortic valve malformation and latent valve disease in a mouse model,” *Circ Res*, vol. 107, no. 4, pp. 549–557, Aug. 2010, doi: 10.1161/CIRCRESAHA.110.221358.
- [131] M. Nus *et al.*, “Diet-induced aortic valve disease in mice haploinsufficient for the Notch pathway effector RBPJK/CSL,” *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, vol. 31, no. 7, pp. 1580–1588, Jul. 2011, doi: 10.1161/ATVBAHA.111.227561.
- [132] T. V. Tkatchenko, R. A. Moreno-Rodriguez, S. J. Conway, J. D. Molkentin, R. R. Markwald, and A. V. Tkatchenko, “Lack of periostin leads to suppression of Notch1 signaling and calcific aortic valve disease,” *Physiol Genomics*, vol. 39, no. 3, pp. 160–168, Nov. 2009, doi: 10.1152/PHYSIOL-GENOMICS.00078.2009.
- [133] M. Yoshioka *et al.*, “Chondromodulin-I maintains cardiac valvular function by preventing angiogenesis,” *Nat Med*, vol. 12, no. 10, pp. 1151–1159, Oct. 2006, doi: 10.1038/NM1476.
- [134] K. M. Galvin *et al.*, “A role for smad6 in development and homeostasis of the cardiovascular system,” *Nat Genet*, vol. 24, no. 2, pp. 171–174, Feb. 2000, doi: 10.1038/72835.
- [135] S. Chakraborty, E. E. Wirrig, R. B. Hinton, W. H. Merrill, D. B. Spicer, and K. E. Yutzey, “Twist1 promotes heart valve cell proliferation and extracellular matrix gene expression during development in vivo and is expressed in human diseased aortic valves,” *Dev Biol*, vol. 347, no. 1, pp. 167–179, Nov. 2010, doi: 10.1016/J.YDBIO.2010.08.021.
- [136] C. J. Barrick *et al.*, “Reduced EGFR causes abnormal valvular differentiation leading to calcific aortic stenosis and left ventricular hypertrophy in C57BL/6J but not 129S1/SvImJ mice,” *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, vol. 297, no. 1, Jul. 2009, doi: 10.1152/AJPHEART.00866.2008.
- [137] E. The *et al.*, “Interleukin 38 alleviates aortic valve calcification by inhibition of NLRP3,” *Proc Natl Acad Sci U S A*, vol. 119, no. 36, p. e2202577119, Sep. 2022, doi: 10.1073/PNAS.2202577119/SUPPL\_FILE/PNAS.2202577119.SAPP.PDF.
- [138] B. Colleville *et al.*, “Impact of high-fat diet and vitamin D3 supplementation on aortic stenosis establishment in waved-2 epidermal growth factor receptor mutant mice,” *J Integr Med*, vol. 17, no. 2, pp. 107–114, Mar. 2019, doi: 10.1016/J.JOIM.2019.01.010.
- [139] S. Li *et al.*, “Targeted inhibition of PTPN22 is a novel approach to alleviate osteogenic responses in aortic valve interstitial cells and aortic valve lesions in mice,” *BMC Med*, vol. 21, no. 1, pp. 1–18, Dec. 2023, doi: 10.1186/S12916-023-02888-6/FIGURES/7.

## 7. Liitteet

Taulukko 1. Aorttaläppäahtauman hiirimallit. Tärkeimmät tutkimustulokset esitetty lyhenteinä.

HIIRIMALLI	MALLI	KESTO	IKÄ	DIEETTI	HA-VAIN-NOT	HEMO-DYNA-MIIKKA	TUTKI-MUS
<b>WT C57BL/6J</b>	Dieetti-malli	4kk		HF/HC	A, P, K	↑ VN	Drolet ym.2006 [68]
<b>WT C57BL/6J</b>	Dieetti-malli	4kk	16–18 kk	HF,Kol	P		Li ym. 2022 [125]
<b>LDLR-/-</b>	Geneet-tinen muok-kaus	4kk		HF/HC	P, K	↑ VN	Drolet ym.2006 [68]
<b>LDLR-/-</b>	Geneet-tinen muok-kaus	4kk		HF,Kol	Min		Towler ym.1998 [69]
<b>LDLR-/-</b>	Geneet-tinen muok-kaus	6 kk	7,5–8 kk	HF	K, A, P	↑ PG ja vir-tausnopeus	Liu ym.2022 [116]
<b>LDLR-/-</b>	Geneet-tinen muok-kaus	5 kk	5 kk	HF/HC, Kol	K, P	↑ VN	Matsu-moto ym.2010 [75]
<b>LDLR-/-; APOB100/100</b>	Geneet-tinen muok-kaus	20 kk		Normaali	HT, K, A	↑PG, ↓EF	Weiss ym. 2006 [76]
<b>LDLR-/-; APOB100/100/MTTPFL/FL/MX1-CRE+/+, “REVERSA”</b>	Geneet-tinen muok-kaus	6–12 kk	7,5–14 kk	HF, Kol	K, A	↑Läppäpur-jeiden er-kaantumien	Miller ym. 2010 [81]
<b>APOE-/-</b>	Geneet-tinen muok-kaus	30 kk	2 vko-26 kk	Normaali	K	↑VN, Ta-kaisinvir-taus	Tanaka ym. 2005 [85]
<b>APOE-/-</b>	Geneet-tinen muok-kaus	5–7,5kk, 18kk	5–7,5 kk, 18 kk	HF, Kol	Makrofa-geja		Aikawa ym.2007 [126]
<b>APOE-/-</b>	Geneet-tinen muok-kaus	5 kk	7,5 kk	HF, Kol	P, mik-roK		Aikawa ym.2007 [127]
<b>APOE-/-</b>	Geneet-tinen muok-kaus	2 kk	4kk	Normaali, Akroleiini	Makrofa-geja		Srivastava ym. 2011 [87]
<b>APOE-/-</b>	Geneet-tinen muok-kaus	1kk-5 vko	2–44 kk, 5–7 kk, 8-10 kk	HF, Kol	K, A, P	↑ VN	Jung ym. 2015 [115]
<b>APOE-/-</b>	Geneet-tinen muok-kaus	10 kk	1,75–2 kk	HF, Kol	A, K	↑PG, VN	Yang. ym. 2021 [88]

<b>APOE-/-</b>	Geneet- tinen muok- kaus	6,9 kk	7,5 kk	Normaali, 5/6 Nefrektomia	mikroK			Hjortnaes ym. 2010 [128]
<b>APOE-/-; KATEPSIINI S-/-</b>	Geneet- tinen muok- kaus	5 kk	7,5 kk	HF, Kol, 5/6 Nefrektomia	K			Aikawa tm. 2009 [120]
<b>APOE-/- + LEPTIINI</b>	Geneet- tinen muok- kaus	2 kk	4 kk	HF, Kol + Leptiini (125 ug/hiiri)	K			Zeadin ym. 2009 [86]
<b>APOE-/- AVCAPIR</b>	Geneet- tinen muok- kaus	6 kk	8 kk	HF, Kol	A, P, K	↑VN, PG		Han ym. 2024 [94]
<b>FIBULIINI 4-/-</b>	Geneet- tinen muok- kaus	4–5 kk	3,5–5 kk	Normaali	P	↓EF, AP ↑VN, PG		Hanada ym.2007 [129]
<b>ELASTIINI +/-</b>	Geneet- tinen muok- kaus	1 vko- 17 kk	5 pvä,1 kk,4 kk, 17 kk	Normaali	A	Takaisin- virtaus		Hinton ym.2010 [130]
<b>NOTCH1+/-</b>	Geneet- tinen muok- kaus	10 kk	10 kk	HF, Kol	5 x K, Ei- kaksipur- jeisuutta			Nigam ja Srivastava ym.2009 [100]
<b>RBPJK+/-</b>	Geneet- tinen muok- kaus	4 kk	6–6,5 kk	Kol, Nat- riumkollaatti, 5IU D-Vit	P, M, Ei kaksipur- jeisuutta, K	↓EF, FS, ↑VN		Nus ym.2011 [131]
<b>PERIOSTIINI-/-</b>	Geneet- tinen muok- kaus	10 kk	6kk, 10kk	Normaali	K, Kaksi- purjeiset läpät	Takaisin- virtaus		Tkat- chenko ym. 2009 [132]
<b>PERIOSTIINI-/-</b>	Geneet- tinen muok- kaus	4 kk	7kk	HF	P			Hakuno ym.2010 [101]
<b>CHMI-/-</b>	Geneet- tinen muok- kaus	21 kk- 24 kk		Normaali	P, K, Ve- risuonten uudis- muodos- tus			Yoshioka ym. 2006 [133]
<b>MGP-/-</b>	Geneet- tinen muok- kaus	2 vko-3 vko		Normaali	K			Luo ym.1997 [117]
<b>NOS3-/-</b>	Geneet- tinen muok- kaus		Aikui- sia	Normaali	Kaksipur- jeisuutta			Lee ym. 2000 [56]
<b>MADH6-/-</b>	Geneet- tinen muok- kaus	1,5 kk		Normaali	Luutum- minen, Lä- pän liika- kasvu			Galvin ym. 2000 [134]
<b>ADAMTS16+/- ADAMTS16+<sup>H355Q</sup></b>	<b>JA</b> Geneet- tinen muok- kaus	12 kk	12 kk	Normaali	Läppä- purjeiden fuusio, P, K, A	↑VN		Lin ym. 2023 [104]
<b>GATA6 STOP/+</b>	Geneet- tinen muok- kaus	13 kk	7,5 kk- 13 kk	Normaali	Kaksipur- jeisuutta	↓EF, FS, Takaisin- virtaus		Piñero- Sabarís ym. 2024 [105]

<b>JATKUVA TWIST1</b>	Geneet- tinen muok- kaus	1vko, 6.5 kk	Alkio, Vasta- synty- nyt, Ai- kuinen	Normaali	P, A		Chakra- borty ym.2010 [135]
<b>HYPOMORFINEN EGFR</b>	Geneet- tinen muok- kaus	1 vko- 12 kk	1vko- 15kk	Normaali	K, Suu- rentuneet läpät, P, A	↑ PG, VN ↓ FS	Barrick ym.2009 [136]
<b>IL1RN-/-</b>	Geneet- tinen muok- kaus	1 kk-10 kk	1–10 kk	Normaali	P, K, A	↑ VN	Isoda ym. 2010 [90]
<b>IL38-/-</b>	Geneet- tinen muok- kaus	4 kk	16- 18kk	HF	K, A		The E. ym. 2022 [137]
<b>C57BL/6J EGFR<sup>WA2</sup>/+</b>	Geneet- tinen muok- kaus	6 kk, 9 kk	6kk,9kk	HF + D-Vita- miini	Takaisin- virtaus, A		Colleville. ym. 2019 [138]
<b>C57BL/6J EGFR<sup>VEL</sup>/+</b>	Geneet- tinen muok- kaus	10 kk	2,5- 12kk	Normaali	A, Yksi- purjei- suus, HT	Epänor- maali EF, Takaisin- virtaus	Weiss ym. 2018 [118]
<b>KLOTHO-/-</b>	Geneet- tinen muok- kaus	6 kk	6–6,5 kk	Tamoksi- feenidieetti	K		Wirrig ym. 2015 [91]
<b>LDLR-/-/SORTILIINI1+/+ + VK</b>	Vaijeri- ka- tetrioep- raatio + Geneet- tinen muok- kaus	4 kk	4 kk	HF, Kol	A, K	↑ VN	Iqbal F.ym.2023 [122]
<b>PIEZO1 + VK / PIEZO1 + AAC</b>	Vaijeri- ka- tetrioep- raatio + Inter- ventio	2 kk	5 kk	Normaali	P, K	↑VN, PG, ↓ EF, FS	Zhong G. ym.2023 [97]
<b>WT C57BL/6J + VK</b>	Vaijeri- ka- tetrioep- raatio	4 kk	6 kk	Normaali	A, P, K	↑VN, ↓ FS	Honda ym. 2014 [96]
<b>WT C57BL/6J + VK</b>	Vaijeri- ka- tetrioep- raatio	6 kk	6–8 kk	Normaali	P, K, A	↑VN, PG	Li ym.2023 [139]
<b>WT C57BL/6J + VK</b>	Vaijeri- ka- tetrioep- raatio	2 kk	4 kk	Normaali + Karboksime- tyylisellu- loosa	P	↑ VN	Zhao ym. 2022 [119]
<b>WT C57BL/6J + VK</b>	Vaijeri- ka- tetrioep- raatio	1kk	2,5–3 kk	Normaali + D-vitamiini	P, K	↑PG, VN	Qian ym. 2024 [67]
<b>APOE-/- + Säteily</b>	Säteily- malli	3 kk	4 kk	Normaali + 1000 UI/kg D3- vitamiini	A, P, Mi- neralisaa- tio	↑VN, PG ↓ FS	Rucher ym. 2023 [106]

(Selitykset lyhenteille: ↑ = suurentunut, ↓ pienentynyt, HF= high fat=korkearasvainen, Kol= kolesteroli, HH= high carbohydrate=korkeahiilihydraattinen, A =ahtauma, K= kalkkeutuminen, P= paksuuntuma, mikroK= mikrokalkkeuma, HT= hypertrofia, solujen liikakasvu, Min= Mineralisaatio, VN= virtausnopeus, PG= painegradientti, EF= ejektiofraktio, FS= fractional shortening, fraktionaalinen lyhenemä, AP= aortan paine, VK=vaijerikatetri, AAC= aortic arch constriction, aortan kaaren kuristus.) Huomioitavaa: taulukossa on esitetty vain muutamia tärkeitä löydöksiä kustakin tutkimuksesta. Tyhjä sarake viittaa tietoon, jota ei onnistuttu löytämään tutkimuksesta.)