

二叶式主动脉瓣主动脉扩张机制的研究进展*

白莹^{1,2,3} 靳巧锋^{1,2,3} 何书坤^{1,2,3} 刘天舒^{1,2,3} 邓文惠^{1,2,3} 傅雅楠^{1,2,3}
谭玉婷^{1,2,3} 谢明星^{1,2,3} 王静^{1,2,3}

【摘要】 二叶式主动脉瓣(BAV)是最常见的先天性心脏疾病,BAV主动脉扩张与主动脉不良事件如主动脉瘤、主动脉夹层及破裂的风险增加密切相关,是一种潜在的致命性疾病。BAV主动脉疾病是遗传因素和血流动力学因素不同模式相互作用的结果,机制较为复杂。本文根据近年来BAV在基因遗传学、分子标记物、血流动力学影像标记物方面的研究进展,对其引起主动脉扩张的相关机制进行简要综述。

【关键词】 二叶式主动脉瓣;主动脉扩张;基因遗传学;血流动力学;生物标记物

DOI:10.13201/j.issn.1001-1439.2023.02.004

【中图分类号】 R541.1 **【文献标志码】** A

Research progress on the mechanism of aortic dilatation of bicuspid aortic valve

BAI Ying^{1,2,3} JIN Qiaofeng^{1,2,3} HE Shukun^{1,2,3} LIU Tianshu^{1,2,3} DENG Wenhui^{1,2,3}
FU Ya'nan^{1,2,3} TAN Yuting^{1,2,3} XIE Mingxing^{1,2,3} WANG Jing^{1,2,3}

(¹Department of Ultrasound, Union Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan, 430022, China; ²Clinical Research Center for Medical Imaging in Hubei Province; ³Hubei Province Key Laboratory of Molecular Imaging)

Corresponding author: WANG Jing, E-mail: jingwang2004@hust.edu.cn

Abstract Bicuspid aortic valve(BAV) is the most common congenital heart disease. BAV aortic dilation is closely associated with an increased risk of adverse aortic events such as aortic aneurysm, aortic dissection, and rupture, and is a potentially fatal disease. The mechanism that determines aortic disease in BAV patients is complex, resulting from the interaction of different patterns between genetic factors and hemodynamic factors. Based on the research progress of BAV patients in genetics, molecular markers, and hemodynamic imaging markers in recent years, this article briefly reviews the relevant mechanisms that cause aortic dilation.

Key words bicuspid aortic valve; aortic dilation; genetics; hemodynamic; biomarker

二叶式主动脉瓣(bicuspid aortic valve,BAV)是最常见的先天性心脏疾病,其人群发病率约为3%,患病具有性别差异^[1]。BAV不是一种简单瓣膜病,而是同时包括多种心血管异常的复杂疾病。其常伴有不同程度主动脉病变,其中最主要的是主动脉扩张,可发展为主动脉瘤、主动脉破裂和夹层,风险是普通人群的8倍,严重威胁BAV患者生命^[2-4]。主动脉直径仍是BAV外科干预主要参考标准,国际指南对这一手术门槛进行多次修改,但

手术策略仍存在很大争议^[5]。随着分子生物学飞速发展,BAV主动脉扩张相关的基因和生物标记物成为研究热点,为BAV基因靶向治疗提供策略^[6]。近些年越来越多证据表明,瓣膜相关血流动力学可能会加剧遗传易感主动脉疾病进展。应用先进多模态影像技术更好地了解局部血流动力学,与基因遗传学密切结合,可能会使这种异质性疾病的诊疗更加个性化。本文根据近年来BAV在基因遗传学、分子标记物、血流动力学影像标记物的研究进展,对其引起主动脉扩张的相关机制进行简要综述。

1 BAV解剖分型

正常主动脉瓣由3个大小形态几乎一致的瓣叶组成,BAV通常由两个大小不等的瓣叶组成,存在明显形态学表型异质性,准确的表型分类对

*基金项目:国家自然科学基金项目(No:82171961、81771851)

¹华中科技大学同济医学院附属协和医院超声医学科(武汉,430022)

²湖北省影像医学临床医学研究中心

³分子影像湖北省重点实验室

通信作者:王静,E-mail:jingwang2004@hust.edu.cn

BAV患者随访和监测极为重要^[7]。最初, Sievers根据BAV 嵴的数目和空间位置提出外科分类方法因简单方便被广泛应用^[8]。根据嵴的数目,将BAV分为3种类型: type 0型(无嵴)、type I型(1个嵴)和type II型(2个嵴);最常见的类型是type I型,约占患者总数的90%。根据嵴的空间位置,将type I型分为嵴位于左右冠状窦之间的L-R型、右无冠窦之间的R-N型、左无冠窦之间的L-N型。其中L-R型最常见,占70%~80%,在所有主动脉表型变异和整个瓣膜功能障碍中也最常见,常与主动脉根部扩张和瓣膜狭窄密切相关^[9]。R-N型占20%~30%,多与主动脉弓扩张相关,并可独立预测成人主动脉瓣反流进展^[10]。L-N型相对少见,占3%~6%。此分类方法缺乏BAV对称性评估。Murphy等^[11]在Sievers分类基础上,增加瓣口定位、瓣叶融合类型和瓣叶不对称性,有助于进一步了解瓣膜形态、血流紊乱和主动脉病变之间的关系。

不同分类方法导致临床诊断易出现混淆,不能准确识别其表型,且不能捕获对外科主动脉瓣修复和置换至关重要的解剖学信息,并阻碍表型-遗传关联的识别。Michelena等^[12]基于新的命名和分类共识,提出了一种简单全面BAV影像学评估方法。要求所有BAV患者描述3个关键解剖学信息:①BAV表型及瓣膜功能;②嵴的存在及对称性;③主动脉病变的存在以及是否有狭窄。此分类方案同时考虑BAV形态学以及病变位置和程度,为手术方式的选择提供了更好的参考价值。

2 BAV 主动脉扩张

主动脉扩张是BAV患者最常见并发症之一,发生率超过50%,随着疾病进展常引起主动脉瘤、主动脉夹层、破裂等极为严重后果,对BAV患者主动脉定期监测并及早采取有效干预措施尤为重要^[13]。考虑到主动脉直径受年龄、性别、主动脉节段位置等因素影响,将主动脉直径z分数>2.0定义为主动脉扩张^[14]。不同年龄段扩张发生率差异较明显,随着年龄增长,扩张发生率几乎呈线性增长,且同一年龄组中主动脉根部扩张发病率占半数以上,男性比女性更容易出现主动脉扩张^[1,15]。

主动脉扩张分类尚没有统一标准,已有学者提出各种具有描述性价值或预测潜力的分类方法。Della Corte等^[16]提出最简单分类,将升主动脉扩张分为两种主要表型,以主动脉根部扩张为主的主动脉根型,通常预示更严重的主动脉病变;以升主动脉扩张为主的升主动脉型,每年以大于0.9 mm的速度飞快进展,对其定期监测极为重要。与Della Corte等分类近似,Michelena等^[12]将BAV主动脉扩张分为3种类型:上升型约占70%(扩张优先位于主动脉窦以上的管状升主动脉);根型(扩张优

先位于根部,也可能累及心室-主动脉交界处/环),约占20%;扩展型(常见主动脉根部,升主动脉和主动脉弓同时扩张)。该研究团队发现,BAV患者瓣膜狭窄的存在会使壁切应力(wall shear stress, WSS)模式复杂化,在研究瓣膜介导的主动脉病变时,应该考虑狭窄严重程度。

3 BAV 主动脉扩张基因遗传学

BAV是一种常染色体显性遗传疾病,遗传率高达89%^[17]。不同遗传模式的不同基因与BAV发展密切相关,某些基因突变被发现可能是瓣膜和主动脉壁异常的原因。这些改变会导致细胞外基质(extracellular matrix, ECM)失衡、主动脉中层变性加速以及主动脉弹性丧失,诱发进行性主动脉扩张^[18]。这里主要介绍几种与BAV主动脉扩张有关的候选基因。

NOTCH信号是细胞存活和分化的关键^[19]。Harrison等^[20]发现,NOTCH1信号缺陷可能打破促凋亡和抗凋亡蛋白表达及ECM修复和破坏之间的平衡。这种失衡加剧升主动脉壁分解代谢和变性,使动脉壁变薄,增加患者对动脉瘤和夹层易感性。操纵NOTCH1信号通路,减少血管平滑肌细胞凋亡和控制细胞分化,可能为预防主动脉夹层和破裂等灾难性并发症提供机会。

AKT激酶是调节细胞生长和分化信号通路的一部分,并参与组织重塑,但其在主动脉病变中的作用尚未完全阐明。最近,Hirata等^[21]对伴或不伴有主动脉扩张的三叶式主动脉瓣(tricuspid aortic valve, TAV)和BAV患者升主动脉组织进行转录分析。与TAV患者相比,BAV患者升主动脉壁中部受体酪氨酸激酶(RTK)/p-AKT通路被激活,导致升主动脉脆弱和扩张。因此,AKT通路可能参与了BAV相关主动脉内径扩张。

另一个候选基因是ROBO4,编码正常升主动脉内皮细胞中表达的蛋白,无论ROBO4靶向沉默还是体外诱导内皮细胞系ROBO4变异,都导致内皮屏障功能丧失,被认为可能有助于BAV主动脉病理重塑^[22]。Gould等^[23]使用全外显子组测序和靶向富集分析,在1.8%的BAV群体中发现ROBO4基因突变。

此外,有研究发现,两个新主动脉瓣狭窄位点可能参与BAV发生发展,分别位于靠近PALMD染色体1p21上rs7543130和位于TEX41染色体2q22上rs1830321,其中rs7543130与BAV主动脉根部直径相关^[24]。

GATA、TGFB1/2、FBN1、ADAMTSL1、ADAMTS-4和NOS3也与BAV主动脉疾病相关^[25-33]。然而,没有一个单基因可以完全解释BAV主动脉病变,这意味其可能涉及多个基因之间复杂相互作用的遗传背景。

4 BAV 主动脉扩张分子标记物

BAV 主动脉扩张进展迅速,分子标记物的研究有助于推测其进展。目前,研究主要集中在基于蛋白的生物标志物,如基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinases, MMPs)、基质金属蛋白酶组织抑制剂(tissue inhibitors of metalloproteinases, TIMPs)、转化生长因子 β (transforming growth factor- β , TGF- β)、可溶性晚期糖基化终产物受体(sRAGE)以及非编码 miRNAs。

4.1 蛋白类生物标志物

4.1.1 MMPs/TIMPs MMPs 是一种锌和钙依赖的内肽酶,可降解 ECM 和基底膜成分,参与炎症反应、心血管疾病等多种病理生理过程。MMPs 表达受内源性 TIMPs 调节,生理状态下两者处于动态平衡,一旦表达失衡,就会导致 ECM 异常降解^[34-35]。其中 MMP-2 和 MMP-9 最为重要,与主动脉扩张发生发展密切相关。循环中 MMP-2 水平升高可在无明显瓣膜功能障碍时独立预测 BAV 患者升主动脉扩张^[36]。与正常主动脉相比,严重主动脉扩张标本中 MMP-9 水平显著升高^[37]。另一项研究发现,BAV 患者 MMP-2 和 MMP-9 高表达,且 MMP-2 与主动脉近端直径呈强线性相关,同时 TIMP-1、-2、-3 和-4 也显著增加^[38]。此外,有研究人员比较主动脉瓣功能正常或存在瓣膜狭窄的 BAV 患者,在升主动脉扩张情况下 MMPs 表达差异,发现 MMP-2 和 MMP-9 均可视为孤立性严重狭窄患者主动脉扩张的独立危险因素^[39]。有研究表明,主动脉扩张早期,TIMP-1、-2 和-3 表达显著降低,MMP-2 活性显著增加;而扩张后期,TIMPs 表达增加,MMP-2 活性下降到基线水平。这些发现均提示 MMP-2 在扩张早期起作用,而 MMP-9 与扩张后期阶段密切相关^[40]。

4.1.2 TGF- β TGF- β 是一种影响血管重构的可溶性细胞因子,其活性增加可激活 MMPs/TIMPs 导致弹性纤维断裂,改变 ECM 结构和组成^[41]。Forte 等^[42] 研究表明,TGF- β 及其受体 ENG 与 BAV 瓣膜狭窄患者主动脉扩张严重程度相关。当主动脉直径 <45 mm 时,TGF- β /ENG 比值升高,主动脉壁重构异常,且与 BAV 主动脉瓣狭窄患者主动脉置换术后升主动脉生长速度呈正相关。与其矛盾的是,另一项研究显示 BAV 患者 TGF- β 水平降低,与主动脉扩张无相关性^[43]。因此,TGF- β 参考水平存在变异,应用相同实验室技术测量,并将其建立在大规模健康患者基础上进行研究。

4.1.3 sRAGE sRAGE 是免疫球蛋白超家族循环配体成员,通过诱导氧化应激和炎症参与心血管疾病的发生发展^[44-45]。Branchetti 等^[46] 分析 135 例因主动脉瓣狭窄或反流行主动脉瓣置换术患者 sRAGE 值。结果表明主动脉直径 >45 mm 时,

sRAGE 值高于无主动脉扩张组。升主动脉组织学检查显示,sRAGE 浓度与功能失调主动脉壁微结构之间存在显著相关性。Jia 等^[47] 将 BAV 患者按升主动脉内径分组,对其血清 sRAGE 水平进行评估,发现 sRAGE 水平呈上升趋势,即使在正常或轻度扩张主动脉中,细胞和细胞外病理过程也相当严重。这些结果均表明 sRAGE 可作为预测主动脉扩张和不良血管事件风险生物标记物。

4.2 非编码 miRNAs

非编码 miRNAs 是一种功能性 RNA 分子,在转录和转录后水平调控基因表达,易在血液、组织中检测和获取,稳定性较好,被认为是预测大动脉疾病进展有前景的生物标志物^[48]。

多项研究报告,miRNAs 可能通过影响 MMPs/TIMPs 稳态对 BAV 大动脉病变发挥调节作用。Naito 等^[49] 在术中采集 65 例伴或不伴主动脉瘤的 BAV 患者升主动脉较大和较小弯曲处主动脉组织,分析主动脉组织 miRNAs 与 MMP-2、TIMP-1、TIMP-2 的 mRNA 及蛋白表达相关性,发现在大曲率处 miR-133a 与 TIMP-1 mRNA 显著相关,与 TIMP-2 蛋白表达呈正相关,与 MMP-2 蛋白表达呈负相关。Lu 等^[50] 报道 miR-34a 和 miR-125a 均可通过与人主动脉平滑肌细胞 CRL1999 中 MMP-2 mRNA 3'非翻译区互补,抑制其表达,参与 ECM 重塑。Wu 等^[51] 对严重扩张和正常/轻度扩张主动脉标本 miRNAs 表达进行分析,发现 miR-17 基因簇的差异调节与通过 MMPs/TIMPs 通路失调导致的扩张倾向之间存在关联。这些发现均证实特定主动脉组织 miRNAs 可能通过影响 MMPs/TIMPs 动态平衡而对近端主动脉重塑进行调节。

循环 miRNAs 已被认为是改善不同主动脉病变患者风险分层新工具。Naito 等^[52] 对 65 例 BAV 患者术中获得的主动脉组织和术前外周血中表达的 10 种 miRNAs 基因进行分析,研究表明外周血和主动脉组织中 miR-21、miR-133a、miR-143 和 miR-145 水平呈显著线性相关。此外,两者 miR-143 水平均与主动脉扩张具有显著相关性。Girdauskas 等^[38] 在一项患有主动脉病变 BAV 患者外科队列中,对 7 种循环 miRNAs 表达分析显示,在进行性主动脉扩张早期 miR-17/miR-106a 表达增加。该团队进一步研究 BAV 患者主动脉最大直径与 miRNAs 表达的相关性,发现主动脉根部直径正常患者中,miRNAs 与主动脉最大直径呈显著线性负相关,尤其是循环中的 miR-17/miR-20a^[53]。Gallo 等^[54] 研究发现,与重度扩张升主动脉相比,轻度扩张升主动脉表现出特异的 miRNA 信号(miR-126、miR-15b、miR-195、miR-221、miR-24、miR-30b 和 miR-320a),其中 miR-15b 变化最

显著,是主动脉扩张的独立预测因子。

蛋白和 miRNAs 的表达可能是预测 BAV 患者病理性主动脉扩张潜在的预后生物标志物。针对不同蛋白和 miRNAs 的优化不仅是治疗 BAV 患者主动脉并发症新方法,而且可以预防疾病发展早期阶段,即不可逆瓣膜钙化、主动脉严重扩张和主动脉瘤形成。

5 BAV 主动脉扩张血流动力学影像标记物

除分子生物学机制外,瓣膜畸形引起的血流动力学特性改变被认为是 BAV 主动脉病变另一主要原因。近年来,先进影像技术推动了血流动力学机制的深入探索,多模态影像技术可全面显示如血流方向、流速和 WSS 等重要参数,在评估异常升主动脉血流流体力学方面起着至关重要的作用^[55]。WSS 是一个流体动力学参数,表示血流对动脉壁施加的切向粘性力。BAV 患者主动脉中出现 WSS 局部增加的异常血流模式,被认为是导致主动脉扩张和局部主动脉壁病变最主要机制之一^[56]。最近,将 WSS 与生物标记物相联系,在 BAV 主动脉扩张确定诊断、识别并发症显示出独特参考价值。

5.1 WSS 与 MMPs/TIMPs

在 BAV 患者中血液偏离并冲击主动脉根部产生高 WSS 作用于内皮细胞表面,导致 ECM 退行性变物质过度表达,内皮功能障碍^[57]。Wang 等^[39]发现 BAV 合并重度主动脉狭窄患者存在与主动脉扩张相关的不同循环 MMPs/TIMPs 模式。重度狭窄患者由于 WSS 模式差异,MMP-9 上调,激活 MMP-2 导致内皮功能障碍,加速升主动脉扩张。Pasta 等^[58]探究 BAV 主动脉扩张患者循环蛋白水平,发现随着近端主动脉瘤 WSS 增加,血浆中 MMP-1、MMP-2、TIMP-1 蛋白活性增加。Guzzardi 等^[59]对 BAV 患者术中主动脉样本进行分析,与正常区域相比,高 WSS 主动脉壁区域存在更明显的弹性纤维紊乱和丢失,MMP-1、-2、-3 表达增加,TIMP-1 水平升高。这些数据揭示了主动脉病变严重程度与局部异常血流介导的血流动力学改变间的重要联系,将 MMPs/TIMPs 与 WSS 结合评估 BAV 主动脉扩张程度可能具有更好的特异性。

5.2 WSS 与 TGF- β

主动脉病变中 TGF- β 的表达与疾病发生发展密切,是主动脉扩张关键递质。Guzzardi 等^[59]评估 BAV 患者 WSS 与区域主动脉组织重塑的关系发现,与 WSS 正常的相邻区域相比,高 WSS 区升主动脉 TGF- β 显著升高,提示 WSS 与 BAV 主动脉中 TGF- β 表达有关。其还发现高 WSS 区域 MMP-2 与 MMP-3 升高可以激活潜在的 TGF- β ,并增加其活性。这些因素可能协同作用,诱导中层基质重塑,对 BAV 主动脉扩张起关键作用。

5.3 WSS 与 miRNA

miRNAs 已被证明可填补遗传和血流动力学之间的空白,在转录后水平调节基因表达并对环境变化作出响应。有学者发现特定 miRNAs 表达可根据血流动力学条件的变化进行调节^[60]。Lu 等^[50]探究 20 例 BAV 患者暴露于高 WSS 下主动脉壁组织中 miRNAs 的表达水平,分析证实,与低 WSS 相比,高 WSS 作用下主动脉部分有 9 个 miRNAs 表达上调,6 个 miRNAs 表达下调。其中 miR-34a 和 miR-125a 可能参与了 WSS 引起的主动脉病变,因为其对 MMP-2 的表达和 ECM 具有明显调节作用。然而,miRNAs 与 WSS 在调节 BAV 主动脉扩张之间的联系和作用机制仍知之甚少。

综上所述,BAV 患者主动脉血流模式发生显著改变,WSS 作为新的非侵入性血流动力学影像标记物,与 BAV 主动脉扩张相关生物标记物存在密切联系,其共同参与 BAV 主动脉病变的发生发展。这些发现进一步揭示了 BAV 相关主动脉病变机制的复杂多样。

6 总结与展望

分子遗传学和血流动力学被认为是 BAV 患者主动脉扩张发病两大主要机制,其之间复杂的相互作用反映 BAV 主动脉扩张的不同表型,瓣膜相关血流动力学可能会加剧遗传易感主动脉疾病进展。尽管关于 BAV 患者主动脉扩张生物标记物证据很多,但生物标志物特异性和敏感性相对不足,与 BAV 病情严重程度及预后关系有待进一步探讨。新兴遗传学、分子标志物和先进的多模态影像学方法相结合,有望更好地理解 BAV 患者主动脉扩张发生发展机制,在高度个性化水平对不同分型人群进行分层,及早预测 BAV 主动脉扩张演变为主动脉瘤和主动脉夹层等严重并发症的发生风险,为及时制定个性化治疗策略开辟新思路。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Kong W, Bax JJ, Michelena HI, et al. Sex differences in bicuspid aortic valve disease[J]. Prog Cardiovasc Dis, 2020, 63(4): 452-456.
- [2] Simpson JM, Pushparajah K. Dilatation of the aorta in bicuspid aortic valve disease[J]. Circ Cardiovasc Imaging, 2020, 13(3): e010448.
- [3] Sievers HH, Stierle U, Hachmann RM, et al. New insights in the association between bicuspid aortic valve phenotype, aortic configuration and valve haemodynamics[J]. Eur J Cardiothorac Surg, 2016, 49(2): 439-446.
- [4] Michelena HI, Khanna AD, Mahoney D, et al. Incidence of aortic complications in patients with bicuspid aortic valves[J]. JAMA, 2011, 306(10): 1104-1112.
- [5] Vahanian A, Beyersdorf F, Praz F, et al. 2021 ESC/

- EACTS Guidelines for the management of valvular heart disease[J]. *Eur Heart J*, 2022, 43(7):561-632.
- [6] Antequera-González B, Martínez-Micaelo N, Alegret JM. Bicuspid aortic valve and endothelial dysfunction: current evidence and potential therapeutic targets[J]. *Front Physiol*, 2020, 11:1015.
- [7] Sun BJ, Song JK. Bicuspid aortic valve: evolving knowledge and new questions[J]. *Heart*, 2022, 109(1):10-17.
- [8] Sievers HH, Schmidtke C. A classification system for the bicuspid aortic valve from 304 surgical specimens[J]. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 2007, 133(5):1226-1233.
- [9] Sádaba JR, Álvarez-Asiain V. What is in a name for bicuspid aortic valve aortopathy? [J]. *Eur J Cardiothorac Surg*, 2021, 60(3):477-478.
- [10] Yang LT, Pellikka PA, Enriquez-Sarano M, et al. Stage B aortic regurgitation in bicuspid aortic valve: new observations on progression rate and predictors[J]. *JACC Cardiovasc Imaging*, 2020, 13(6):1442-1445.
- [11] Murphy IG, Collins J, Powell A, et al. Comprehensive 4-stage categorization of bicuspid aortic valve leaflet morphology by cardiac MRI in 386 patients[J]. *Int J Cardiovasc Imaging*, 2017, 33(8):1213-1221.
- [12] Michelena HI, Corte AD, Evangelista A, et al. International consensus statement on nomenclature and classification of the congenital bicuspid aortic valve and its aortopathy, for clinical, surgical, interventional and research purposes [J]. *Radiol Cardiothorac Imaging*, 2021, 3(4):e200496.
- [13] Martínez-Micaelo N, Ligeró C, Antequera-González B, et al. Plasma Metabolomic profiling associates bicuspid aortic valve disease and ascending aortic dilation with a decrease in antioxidant capacity [J]. *J Clin Med*, 2020, 9(7).
- [14] Fletcher AJ, Syed M, Aitman TJ, et al. Inherited thoracic aortic disease: new insights and translational targets[J]. *Circulation*, 2020, 141(19):1570-1587.
- [15] Andrei AC, Yadlapati A, Malaisrie SC, et al. Comparison of outcomes and presentation in men-versus-women with bicuspid aortic valves undergoing aortic valve replacement[J]. *Am J Cardiol*, 2015, 116(2):250-255.
- [16] Della Corte A, Bancone C, Dialetto G, et al. The ascending aorta with bicuspid aortic valve: a phenotypic classification with potential prognostic significance [J]. *Eur J Cardiothorac Surg*, 2014, 46(2):240-247.
- [17] Dutta P, James JF, Kazik H, et al. Genetic and developmental contributors to aortic stenosis[J]. *Circ Res*, 2021, 128(9):1330-1343.
- [18] Mozzini C, Girelli D, Cominacini L, et al. An exploratory look at bicuspid aortic valve(bav)aortopathy: focus on molecular and cellular mechanisms[J]. *Curr Probl Cardiol*, 2021, 46(3):100425.
- [19] Lee A, Wei S, Schwertani A. A notch more: molecular players in bicuspid aortic valve disease[J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2019, 134:62-68.
- [20] Harrison OJ, Visan AC, Moorjani N, et al. Defective NOTCH signaling drives increased vascular smooth muscle cell apoptosis and contractile differentiation in bicuspid aortic valve aortopathy: A review of the evidence and future directions [J]. *Trends Cardiovasc Med*, 2019, 29(2):61-68.
- [21] Hirata Y, Aoki H, Shojima T, et al. Activation of the AKT pathway in the ascending aorta with bicuspid aortic valve[J]. *Circ J*, 2018, 82(10):2485-2492.
- [22] Maleki S, Kjellqvist S, Paloschi V, et al. Mesenchymal state of intimal cells may explain higher propensity to ascending aortic aneurysm in bicuspid aortic valves [J]. *Sci Rep*, 2016, 6:35712.
- [23] Gould RA, Aziz H, Woods CE, et al. ROBO4 variants predispose individuals to bicuspid aortic valve and thoracic aortic aneurysm[J]. *Nat Genet*, 2019, 51(1):42-50.
- [24] Helgadottir A, Thorleifsson G, Gretarsdottir S, et al. Genome-wide analysis yields new loci associating with aortic valve stenosis[J]. *Nat Commun*, 2018, 9(1):987.
- [25] Junco-Vicente A, Del RÁ, Martín M, et al. Update in biomolecular and genetic bases of bicuspid aortopathy [J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(11).
- [26] Bravo-Jaimes K, Prakash SK. Genetics in bicuspid aortic valve disease: Where are we? [J]. *Prog Cardiovasc Dis*, 2020, 63(4):398-406.
- [27] Peterson JC, Wisse LJ, Wirokromo V, et al. Disturbed nitric oxide signalling gives rise to congenital bicuspid aortic valve and aortopathy [J]. *Dis Model Mech*, 2020, 13(9).
- [28] Ren P, Hughes M, Krishnamoorthy S, et al. Critical role of ADAMTS-4 in the development of sporadic aortic aneurysm and dissection in Mice[J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1):12351.
- [29] Vorkapic E, Folkesson M, Magnell K, et al. ADAMTS-1 in abdominal aortic aneurysm [J]. *PLoS One*, 2017, 12(6):e0178729.
- [30] Laforest B, Andelfinger G, Nemer M. Loss of Gata5 in mice leads to bicuspid aortic valve[J]. *J Clin Invest*, 2011, 121(7):2876-2887.
- [31] Arrington CB, Sower CT, Chuckwuk N, et al. Absence of TGFBR1 and TGFBR2 mutations in patients with bicuspid aortic valve and aortic dilation[J]. *Am J Cardiol*, 2008, 102(5):629-631.
- [32] Folkersen L, Wågsäter D, Paloschi V, et al. Unraveling divergent gene expression profiles in bicuspid and tricuspid aortic valve patients with thoracic aortic dilatation: the ASAP study[J]. *Mol Med*, 2011, 17(11-12):1365-1373.
- [33] Rocchiccioli S, Cecchetti A, Panesi P, et al. Hypothesis-free secretome analysis of thoracic aortic aneu-

- rysm reinforces the central role of TGF- β cascade in patients with bicuspid aortic valve[J]. *J Cardiol*, 2017, 69(3):570-576.
- [34] Cabral-Pacheco GA, Garza-Veloz I, Castruita-De la Rosa C, et al. The roles of matrix metalloproteinases and their inhibitors in human diseases[J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(24).
- [35] Wang J, Deng W, Lv Q, et al. Aortic dilatation in patients with bicuspid aortic valve[J]. *Front Physiol*, 2021, 12:615175.
- [36] Wang YB, Li Y, Deng YB, et al. Enlarged size and impaired elastic properties of the ascending aorta are associated with endothelial dysfunction and elevated plasma matrix metalloproteinase-2 level in patients with bicuspid aortic valve[J]. *Ultrasound Med Biol*, 2018, 44(5):955-962.
- [37] Maguire EM, Pearce S, Xiao R, et al. Matrix metalloproteinase in abdominal aortic aneurysm and aortic dissection[J]. *Pharmaceuticals(Basel)*, 2019, 12(3).
- [38] Girdauskas E, Petersen J, Neumann N, et al. Novel approaches for BAV aortopathy prediction-is there a need for cohort studies and biomarkers? [J]. *Biomolecules*, 2018, 8(3).
- [39] Wang Y, Wu B, Dong L, et al. Circulating matrix metalloproteinase patterns in association with aortic dilatation in bicuspid aortic valve patients with isolated severe aortic stenosis[J]. *Heart Vessels*, 2016, 31(2):189-197.
- [40] Li Y, Wang W, Li L, et al. MMPs and ADAMs/ADAMTS inhibition therapy of abdominal aortic aneurysm[J]. *Life Sci*, 2020, 253:117659.
- [41] Dawson A, Li Y, Li Y, et al. Single-cell analysis of aneurysmal aortic tissue in patients with marfan syndrome reveals dysfunctional TGF- β signaling [J]. *Genes(Basel)*, 2021, 13(1).
- [42] Forte A, Bancone C, Cobellis G, et al. A possible early biomarker for bicuspid aortopathy: circulating transforming growth factor β -1 to soluble endoglin ratio [J]. *Circ Res*, 2017, 120(11):1800-1811.
- [43] Bons LR, Geenen LW, van den Hoven AT, et al. Blood biomarkers in patients with bicuspid aortic valve disease[J]. *J Cardiol*, 2020, 76(3):287-294.
- [44] Erusalimsky JD. The use of the soluble receptor for advanced glycation-end products(sRAGE) as a potential biomarker of disease risk and adverse outcomes [J]. *Redox Biol*, 2021, 42:101958.
- [45] Yan SF, Ramasamy R, Schmidt AM. The RAGE axis: a fundamental mechanism signaling danger to the vulnerable vasculature[J]. *Circ Res*, 2010, 106(5):842-853.
- [46] Branchetti E, Bavaria JE, Grau JB, et al. Circulating soluble receptor for advanced glycation end product identifies patients with bicuspid aortic valve and associated aortopathies[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2014, 34(10):2349-2357.
- [47] Jia H, Kang L, Lu S, et al. Circulating soluble receptor of advanced glycation end product is associated with bicuspid aortic aneurysm progression via NF- κ B pathway[J]. *Interact Cardiovasc Thorac Surg*, 2022, 34(2):274-282.
- [48] Natarelli L, Weber C. A non-canonical link between non-coding RNAs and cardiovascular diseases[J]. *Bio-medicines*, 2022, 10(2).
- [49] Naito S, Petersen J, Sequeira-Gross T, et al. Bicuspid aortopathy-molecular involvement of microRNAs and MMP-TIMP[J]. *Biomarkers*, 2020, 25(8):711-718.
- [50] Lu Y, Zhang L, Tao H, et al. Two microRNAs, miR-34a and miR-125a, are implicated in bicuspid aortopathy by modulating metalloproteinase 2 [J]. *Biochem Genet*, 2022, 60(1):286-302.
- [51] Wu J, Song HF, Li SH, et al. Progressive aortic dilation is regulated by miR-17-associated miRNAs[J]. *J Am Coll Cardiol*, 2016, 67(25):2965-2977.
- [52] Naito S, Sequeira-Gross T, Petersen J, et al. Circulating microRNAs in the prediction of BAV aortopathy: do the expression patterns correlate between blood and aortic tissue? [J]. *Rev Cardiovasc Med*, 2022, 23(2):47.
- [53] Girdauskas E, Neumann N, Petersen J, et al. Expression patterns of circulating microRNAs in the risk stratification of bicuspid aortopathy[J]. *J Clin Med*, 2020, 9(1).
- [54] Gallo A, Agnese V, Coronello C, et al. On the prospect of serum exosomal miRNA profiling and protein biomarkers for the diagnosis of ascending aortic dilatation in patients with bicuspid and tricuspid aortic valve[J]. *Int J Cardiol*, 2018, 273:230-236.
- [55] Guala A, Dux-Santoy L, Teixido-Tura G, et al. Wall shear stress predicts aortic dilation in patients with bicuspid aortic valve [J]. *JACC Cardiovasc Imaging*, 2022, 15(1):46-56.
- [56] Soulat G, Scott MB, Allen BD, et al. Association of regional wall shear stress and progressive ascending aorta dilation in bicuspid aortic valve[J]. *JACC Cardiovasc Imaging*, 2022, 15(1):33-42.
- [57] Kheradvar A, Vannan MA, Dasi LP, et al. The effect of aortic root anatomy and vortex flow induced shear stress on the aortic valve leaflets[J]. *Eur Heart J Cardiovasc Imaging*, 2021, 22(9):995-997.
- [58] Pasta S, Agnese V, Gallo A, et al. Shear stress and aortic strain associations with biomarkers of ascending thoracic aortic aneurysm[J]. *Ann Thorac Surg*, 2020, 110(5):1595-1604.
- [59] Guzzardi DG, Barker AJ, van Ooij P, et al. Valve-related hemodynamics mediate human bicuspid aortopathy: insights from wall shear stress mapping[J]. *J Am Coll Cardiol*, 2015, 66(8):892-900.
- [60] Sabatino J, Wicik Z, De Rosa S, et al. MicroRNAs fingerprint of bicuspid aortic valve[J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2019, 134:98-106.