

УДК: 616.127-074: 577.12+616.12-008.64-036.1+616.12-008.313: 615.849

ВЛИЯНИЕ ПРОГРЕССИРОВАНИЯ ФИБРИЛЛЯЦИИ ПРЕДСЕРДИЙ НА УРОВЕНЬ МАТРИКСНОЙ МЕТАЛЛОПРОТЕИНАЗЫ-9

Гоженко¹ А.И., Карпенко² Ю.И., Левченко² Е.М., Горячий² А.В.,
Кушниренко² В.И.

¹Украинский научно-исследовательский институт медицины транспорта,

²Одесская Областная клиническая больница

Цели: Исследовать уровень матриксной металлопротеиназы-9 (ММП-9) и оценить ее значение и роль на различных этапах развития идиопатической фибрилляции предсердий (ФП).

Методы: В исследование вошли пациенты с идиопатической формой ФП. В соответствии со степенью прогрессирования заболевания пациенты были разделены на 3 группы: пароксизмальная, персистирующая и хроническая ФП. Контрольную группу составили практически здоровые пациенты. Для определения сывороточного уровня ММП-9 использовали иммуноферментный анализ двойными антителами с ферментной меткой.

Результаты: Каждая исследуемая группа включала 20 пациентов; контрольная группа составила 40 пациентов. Уровень ММП-9 в исследуемых группах значительно отличался от контрольной и составил: $170,62 \pm 24,65$, $202,33 \pm 29,18$, $252,3 \pm 21,87$ нг/мл для пароксизмальной, персистирующей и хронической формы ФП и $75,78 \pm 14,7$ нг/мл в контрольной группе соответственно. По мере прогрессирования заболевания уровень ММП-9 повышался ($P < 0,05$).

Выводы: Повышение уровня ММП-9 по всей видимости ассоциируется с развитием и прогрессированием идиопатической ФП.

Ключевые слова: фибрилляция предсердий, внеклеточный матрикс, матриксная металлопротеиназа-9, патологические механизмы.

Фибрилляция предсердий (ФП) одно из наиболее часто встречающихся заболеваний в клинической практике. Экспериментальные и клинические исследования показали, наличие взаимосвязи между ФП и изменениями предсердных электрических свойств (1). Несмотря на это, патогенетические механизмы ФП все еще до конца не изучены. Предсердный интерстициальный фиброз является важным механизмом ФП (2, 3), приводящим к увеличению размеров левого предсердия (ЛП), утолщению стенок таким образом приводя к полному ремоделированию ЛП (4). В процесс ремоделирования предсердного матрикса вовлечены эндогенные энзимы, одним из которых являются матриксные металлопротеиназы (ММП),

субстрат которых является одним из видов коллагена; в следствии этого, сывороточный уровень ММП-9 считается маркером внеклеточной деградации коллагена (5). Многочисленные исследования показали вовлечение ММП в развитие миокардиального фиброза. К примеру, уровень ММП-9 является важным индексом для миокардиального фиброза (6,7), а также имеет тесную связь с другими сердечно-сосудистыми заболеваниями (8, 9). В данном поставлена цель изучить уровень ММП-9 у пациентов с идиопатической ФП на различных этапах прогрессирования заболевания и практически здоровых пациентов, и оценить отношение между уровнем ММП-9 и прогрессированием идиопатической

формы ФП.

Материалы и методы исследования

В исследование включены пациенты с идиопатической ФП получавшие как амбулаторную так и стационарную помощь на базе Одесской областной клинической больницы в периоды 2015-2017 гг. Пациенты набирались последовательно и были разделены на три группы в зависимости от формы идиопатической ФП (пароксизмальная, персистирующая, хроническая ФП), в соответствии с рекомендациями Европейского общества кардиологов 2016 по лечению пациентов с ФП (10). Критерии исключения: органические сердечно-сосудистые заболевания, гипертиреозидизм, беременность, инфекционные заболевания, не подвергались хирургическим вмешательствам 2 месяца до исследования, наличие тромботических масс в ушке левого предсердия, наличие в анамнезе электрической или медикаментозной кардиоверсии как минимум за 2 месяца до включения в исследование, прием ингибиторов АПФ, кортикостероидов или статинов в ближайшее время, наличие структурных заболеваний сердца.

Контрольную группу составили пациенты, посещавшие клинику для планового медицинского осмотра с отсутствием какого либо дискомфорта во время исследований, нарушений в биохимическом анализе крови, электрокардиограммы, эхокардиограммы, ультразвукового исследования брюшной полости, рентгеновском исследовании грудной клетки.

Протокол исследования был одобрен этическим комитетом Одесской областной клинической больницы. Все участники подписали информированное согласие на участие в исследовании.

После включения, утром натощак, всем пациентам набиралось 4-мл венозной крови. После добавления 100 г/л цитрата натрия как антикоагулянта и центрифугирования (4-16K, Sigma-Aldrich, Germany) при 1360 об. в течении 10 минут при температуре 4 С, сыворотка рас-

пределялась по пробиркам (MCT-150-C, Axugen, USA) и сохранялась при температуре -80 С до анализа. Образцы анализировались каждые 3 месяца. Сывороточная концентрация ММП-9 определялась используя набор для иммуноферментного анализа (Human MMP-9 ELISA — Bender MedSystems, Австрия), в соответствии с инструкциями производителя.

Дополнительно оценивались: индекс массы тела, диаметр ЛП, фракция выброса левого желудочка (ЛЖ), систолическое и диастолическое кровяное давление, сывороточная концентрация Na^+ , K^+ .

Полученные результаты обрабатывали статистически с помощью компьютерной программы Statistica 6.1. Количественные признаки с нормальным распределением представлены как $M \pm y$ (среднее \pm стандартное отклонение), с ненормальным распределением — в виде медианы и интерквартильного размаха (Me). Для выявления существующих различий по порядковым признакам использовали непараметрические критерии Манна—Уитни. Корреляционный анализ проводили с использованием критерия R Спирмена для количественных значений. При $p < 0,05$ различия считали статистически значимыми. Дизайн исследования представлен открытым контролируемым исследованием.

Результаты

В данное исследование вошло 60 пациентов с ФП: по 20 пациентов для каждой формы (пароксизмальной, персистирующей, хронической ФП) и 40 пациентов составили контрольную группу. В исследуемых группах не было существенных отличий: пола, возраста, индекса массы тела, диаметр ЛП, фракции выброса (ФВ) левого желудочка (ЛЖ), кровяного давления или сывороточной концентрации Na^+ , K^+ (Таблица 1).

Данные представлены как среднее \pm SD или n, ИМТ — индекс массы тела,

ФВЛЖ — фракция выброса ЛЖ, статистических различий не наблюдалось ($P \leq 0.05$)

Уровень ММП-9 во всех исследуемых группах был существенно выше в сравнении с контрольной группой ($P < 0.01$). Было отмечено существенное повышение уровня ММП от пароксизмальной к постоянной форме ФП ($P < 0.05$) (Таблица 2).

Обсуждение

В физиологичном состоянии, внеклеточный матрикс постоянно продуцируется и деградирует, находясь таким образом в состоянии гомеостаза. Нарушение состояния гомеостаза тесно связано с возникновением сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ). ММП в свою очередь могут разрушать многие протеины внеклеточного матрикса, такие как коллаген, ламинин, фибронектин, протеогликаны и эластин (11, 12). Повышение образования и активности ММПз наблюдается в развитии многих ССЗ. Селективно, ММП-9 вовлечена в процесс образования миокардиального фиброза. Было показано что, ММП-9 индуцирует и генерирует фрагментацию коллагенового матрикса, такого как эндостатин и

ангиостатин у пациентов подвергшихся аортокоронарному шунтированию (13). В исследовании на животных, было обнаружено влияние ММП-9 на структурное ремоделирование сердечной ткани у пациентов после перенесенного инфаркта миокарда (ИМ): потеря активности ММП-9 с помощью прицельного удаления ММП-9 привело к значительному уменьшению депонирования коллагена в области поражения. Также у животных с пораженной ММП-9 наблюдалось снижение воспалительной инфильтрации. Таким образом было выдвинуто предположение, что ММП-9 играет активную роль в сердечном ремоделировании (14). В данном исследовании нами было изучено соотношение между уровнем ММП-9 и возникновением и прогрессированием ФП.

Нами были отобраны пациенты с идиопатической ФП для исключения возможности влияния органических заболеваний сердца на уровень ММП-9. О тесной связи уровня ММП-9 и ФП было сообщено (15). Пациенты с хроническими ревматическими заболеваниями и ФП показывали повышенный уровень ММП-1 и ММП-9 то ассоциировалось с высокочастотным нарушением ритма (16). На

Таблица 1

Характеристика пациентов с ФП

Параметры	Парокс. ФП, n = 20	Персист. ФП, n = 20	Хрон. ФП n = 20	Контрольная n = 40
Возраст, лет	57,2 ± 16,2	56,6 ± 15,4	60,1 ± 16,1	55,7 ± 14,9
Пол, м/ж	15/5	14/6	14/6	32/8
ИМТ, кг/м ²	26 ± 3,8	28 ± 4,3	28 ± 4,9	27 ± 5,1
Диаметр ЛП, мм	27,7 ± 6,2	28,3 ± 5,9	27,1 ± 7,2	27,2 ± 5,9
ФВЛЖ, %	60 ± 12	63 ± 11	61 ± 13	65 ± 9
Сист. АД, мм,рт,ст	125,2 ± 13,2	126,2 ± 10,5	121,2 ± 12,3	119,8 ± 11,8
Диаст АД, мм,рт,ст	78,2 ± 11,2	80,7 ± 9,2	77,2 ± 11,9	77,2 ± 13,4
Сыворот Na ± , ммоль/л	143,2 ± 6,9	142,6 ± 7,4	140,8 ± 7,1	143,2 ± 7,7
Сыворот K ± , ммоль/л	4,1 ± 0,6	4,3 ± 0,5	4,2 ± 0,8	4,3 ± 0,6

Таблица 2

Сравнение уровня ММП-9

Параметры	Парокс. ФП n = 20	Персист. ФП n = 20	Хрон. ФП n = 20	Контрольная n = 40
ММП-9 (нг/мл)	170,62 ± 24,65 ^{a,b}	202,33 ± 29,18 ^{a,b}	252,3 ± 21,87 ^{a,b}	75,78 ± 14,7

Примечание: Данные представлены как среднее ± SD или n, статистических различий не наблюдалось: $P^a < 0,05$ — в группах сравнения, $P^b < 0,01$ — по сравнению с контрольной группой.

животных моделях с сердечной недостаточностью вызванной высокочастотной предсердной стимуляцией было показано увеличение активности ММП-9 на 50 % по сравнению с животными находящимися на синусовом ритме. Тогда как уровень специфических тканевых ингибиторов снизился на 50 % (17). В другом исследовании было показано влияние ингибиторов ММП на

уменьшение ЛЖ дилатации и утоньшение стенки ЛЖ у пациентов с тахиаиндуцируемой СН (18). Однако, не было данных о наличии связи уровня ММП-9 с развитием и прогрессированием ФП у человека.

Нами было обнаружено, что уровень ММП-9 в исследуемой группе был существенно выше по сравнению с контрольной группой, что в свою очередь указывает на возможную причастность ММП-9 к возникновению и поддержанию ФП. ММП-9 могут быть вовлечены в процесс деградации и реконструкции внеклеточного матрикса под влиянием ионов цинка: фрагментирование матрикса, регуляция клеточной адгезии, влияние на внеклеточные компоненты или компоненты других белков, активация белков, непосредственно или опосредованно влиять на ремоделирование и заживление ткани (19). Когда уровень ММП-9 повышен, все вышеупомянутые функции повышены, что является результатом. Когда уровни ММП-9 усиливаются, что приводит бы к чрезмерной деградации внеклеточного матрикса, увеличению ремоделирования ткани и фиброза миокарда, и может внести свой вклад в формирование микро-риентри и в конечном итоге привести к ФП (20).

В данном исследовании также обнаружено постепенное повышение уровня ММП-9 от пароксизмальной, персистирующей к хронической форме ФП. Было отмечено существенное отличие между тремя исследуемыми группами. В другом исследовании было показано, что ФП характеризуется само поддержанием и постепенным прогрессированием, в большинстве случаев пароксизмальная ФП в конечном счете переходит в персистирующую и даже в хроническую форму (21). Хотя данный механизм до конца не изучен. Другие исследования сфокусировали свое внимание на электрическом ремоделировании ФП, веря что основной причиной прогрессирования ФП является ремоделирование ионных каналов (22).

Ограничением данного исследования можно назвать его масштаб. Для более детального изучения необходимо проведение более обширного исследования. Принимая во внимание, что ФП является многофакторным заболеванием с неясной этиологией, необходимо и других факторов связанных с ММП-9.

В заключении, нами было отмечено: повышение уровня ММП-9 у пациентов с ФП по сравнению с контрольной группой, связь ММП-9 с развитием и прогрессированием ФП. Однако необходимо проведение дальнейших исследований.

Література/References

1. Miyazaki S1, Kuwahara T, Kobori A, Takahashi Y, Takei A, Sato A, Isobe M, Takahashi A Prevalence, electrophysiological properties, and clinical implications of dissociated pulmonary vein activity following pulmonary vein antrum isolation. *Am J Cardiol.* 2011 Oct 15; 108 (8): 1147-54. doi: 10.1016/j.amjcard.2011.06.015. Epub 2011 Jul 24.
2. Z. Hijazi, J. Oldgren, A Siegbahn, and L. Wallentin Application of Biomarkers for Risk Stratification in Patients with Atrial Fibrillation *Clinical Chemistry* 63: 1 152–164 (2017)
3. Liu C, Fu H, Li J, et al. Hyperglycemia aggravates atrial interstitial fibrosis, ionic remodeling and vulnerability to atrial fibrillation in diabetic rabbits. *Anadolu Kardiyol Derg* 2012; 12: 543–550.
4. Martin Aguilar, Xiao Yan Qi, Hai Huang, Philippe Comtois, Stanley Nattel Fibroblast Electrical Remodeling in Heart Failure and Potential Effects on Atrial Fibrillation *Biophysical Journal* Volume 107 November 2014 2444–2455
5. Kostin S, Klein G, Szalay Z, et al. Structural correlate of atrial fibrillation in human patients. *Cardiovasc Res* 2002; 54: 361–379.
6. Veidal SS, Nielsen MJ, Leeming DJ, et al. Phosphodiesterase inhibition mediates matrix metalloproteinase activity and the level of collagen degradation fragments in a liver fibrosis ex vivo rat model. *BMC Res Notes* 2012; 5: 686.
7. Fan D, Takawale A, Lee J, et al. Cardiac fibroblasts, fibrosis and extracellular matrix remodeling in heart disease. *Fibrogenesis*

- Tissue Repair 2012; 5: 15.
8. Georgescu SP, Aronovitz MJ, Iovanna JL, et al. Decreased metalloprotease 9 induction, cardiac fibrosis, and higher autophagy after pressure overload in mice lacking the transcriptional regulator p8. *Am J Physiol Cell Physiol* 2011; 301: C1046–C1056.
 9. Spinale FG, Coker ML, Heung LJ, et al. A matrix metalloproteinase induction/activation system exists in the human left ventricular myocardium and is upregulated in heart failure. *Circulation* 2000; 102: 1944–1949.
 10. El-Aziz TA, Mohamed RH. Matrix metalloproteinase -9 polymorphism and outcome after acute myocardial infarction. *Int J Cardiol.* 2017 Jan 15; 227: 524-528.
 11. Fuster V, Ryde m n LE, Cannon DS, et al. ACC/AHA/ESC 2006 Guidelines for the management of patients with atrial fibrillation. *Circulation* 2006; 114: 700–752.
 12. Vilen ST, Salo T, Sorsa T, et al. Fluctuating roles of matrix metalloproteinase-9 in oral squamous cell carcinoma. *Sci World J* 2013; 2013: 1–11.
 13. Iyer RP, de Castro Br6s LE, Patterson NL, Bhowmick M, Flynn ER, Asher M, Cannon PL, Deleon-Pennell KY, Fields GB, Lindsey ML. Early matrix metalloproteinase-9 inhibition post-myocardial infarction worsens cardiac dysfunction by delaying inflammation resolution. *J Mol Cell Cardiol.* 2016 Nov; 100: 109-117.
 14. Sodha NR, Clements RT, Boodhwani M, (et al. Endostatin and angiostatin are increased in diabetic patients with coronary artery disease and associated with impaired coronary collateral formation. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2009; 296: H428–H434. (
 15. Ducharme A, Frantz S, Aikawa M, et al. Targeted deletion of matrix metalloproteinase-9 attenuates left ventricular enlargement and collagen accumulation after experimental myocardial infarction. *J Clin Invest* 2000; 106: 55–62. (
 16. Wang W, Wu PS and Yang XL. [Role of matrix metalloproteinase and tissue inhibitor of metalloproteinase in atrial structural remodeling in patients with atrial fibrillation]. *Nan Fang Yi Ke Da Xue Xue Bao* 2010; 30: 1160–1162.
 17. Kato K, Fujimaki T, Yoshida T, et al. Impact of matrix metalloproteinase-2 levels on long-term outcome following pharmacological or electrical cardioversion in patients with atrial fibrillation. *Europace* 2009; 11: 332–337.
 18. Dorian P and Mangat I. Quality of life variables in the selection of rate versus rhythm control in patients with atrial fibrillation: observations from the Canadian Trial of Atrial Fibrillation. *Card Electrophysiol Rev* 2003; 7: 276–279.
 19. Santos MC, de Souza AP, Gerlach RF, et al. Inhibition of human pulpal gelatinases (MMP-2 and MMP-9) by zinc oxide cements. *J Oral Rehabil* 2004; 31: 660–664.
 20. Anne m W, Willems R, Roskams T, et al. Matrix metalloproteinases and atrial remodeling in patients with mitral valve disease and atrial fibrillation. *Cardiovasc Res* 2005; 67: 655–666.
 21. Chiang CE, Naditch-Bru€ le m L, Murin J, et al. Distribution and risk profile of paroxysmal, persistent, and permanent atrial fibrillation in routine clinical practice: insight from the real-life global survey evaluating patients with atrial fibrillation international registry. *Circ Arrhythm Electrophysiol* 2012; 5: 632–639.
 22. Morishima M, Iwata E, Nakada C, Tsukamoto Y, Takanari H, Miyamoto S, Moriyama M, Ono K. Atrial Fibrillation-Mediated Upregulation of miR-30d Regulates Myocardial Electrical Remodeling of the G-Protein-Gated K (+) Channel, IK.ACh. *Circ J.* 2016 May 25; 80 (6): 1346-55. doi: 10.1253/circj.CJ-15-1276.

Резюме

ВПЛИВ ПРОГРЕСУВАННЯ ФІБРИЛЯЦІЇ ПЕРЕДСЕРДЬ НА РІВЕНЬ МАТРИКСНОЇ МЕТАЛЛОПРОТЕІНАЗИ-9

*Гоженко А.І., Карпенко Ю.І.,
Левченко Е.М., Гарячий А.В.,
Кушніренко В.І.*

Цілі: Дослідити рівень матриксної металлопротеїнази-9 (ММП-9) та оцінити її значення і роль на різних етапах розвитку ідіопатичної фібриляції передсердь (ФП).

Методи: У дослідження увійшли пацієнти з ідіопатичною формою ФП. Відповідно до ступеня прогресування захворювання пацієнти були розділені на 3 групи: пароксизмальна, персистуюча та хронічна ФП. Контрольну групу склали практично здорові пацієнти. Для визна-

чення сироваткового рівня ММП-9 використовували імуноферментний аналіз подвійними з антитілами та ферментною міткою.

Результати: Кожна досліджувана група включала 20 пацієнтів, контрольна група складала 40 пацієнтів. Рівень ММП-9 в досліджуваних групах значно відрізнявся від контрольної і склав: $170,62 \pm 24,65$, $202,33 \pm 29,18$, $252,3 \pm 21,87$ нг/мл для пароксизмальної, персистуючої та хронічної форми ФП і $75,78 \pm 14,7$ нг/мл в контрольній групі відповідно. У міру прогресування захворювання рівень ММП-9 підвищувався ($P < 0,05$).

Висновки: Підвищення рівня ММП-9 вірогідно асоціюється з розвитком і прогресуванням ідіопатичної ФП.

Ключові слова: фібриляція передсердь, позаклітинний матрикс, матриксна металлопротеїназа-9, патологічні механізми.

Summary

INFLUENCE OF ATRIAL FIBRILLATION PROGRESSING ON THE LEVEL OF MATRIX METAL PROTEINASE-9

Gozhenko A.I., Karpenko Yu.I.,
Levchenko E.M., Goryachy A.V.,
Kushnirenko V.I.

Objectives: To investigate the levels of matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) and to evaluate its significance and role in the

various stages of the development of idiopathic atrial fibrillation (AF).

Methods: The study included patients with idiopathic AF. In accordance with the degree of disease progression, patients were divided into 3 groups: paroxysmal, persistent and chronic AF. The control group consisted of practically healthy patients. To determine the serum levels of MMP-9 used the double-antibody immunoassay with the enzyme label.

Results: Each study group consisted of 20 patients; The control group consisted of 40 patients. The level of MMP-9 in the treatment groups was significantly different from the control and amounted to: $170,62 \pm 24,65$, $202,33 \pm 29,18$, $252,3 \pm 21,87$ ng/ml for paroxysmal, persistent and chronic forms of AF and $75,78 \pm 14,7$ ng/ml in the control group, respectively. As the disease progresses the level of MMP-9 increased ($P < 0,05$).

Conclusions: Increased levels of MMP-9 is likely associated with the development and progression of idiopathic AF.

Key words: atrial fibrillation, extracellular matrix, matrix metalloproteinase-9, pathological mechanisms.

*Впервые поступила в редакцию 20.04.2017 г.
Рекомендована к печати на заседании редакционной коллегии после рецензирования*

УДК 616.8.

АНАЛІЗ ДАНИХ ВАРІАБЕЛЬНОСТІ СЕРЦЕВОГО РИТМУ У ПРАЦІВНИКІВ ЛОКОМОТИВНИХ БРИГАД В ЗАЛЕЖНОСТІ ВІД СТАЖУ РОБОТИ

Ткачишина Н.Ю.

ПАТ «УЗ» філії «ЦОЗ» Київська клінічна лікарня на залізничному транспорті №2

Проведено аналіз варіабельності серцевого ритму у 398 працівників локомотивних бригад (РЛБ) і 116 інженерно-технічних працівників Укрзалізниці (УЗ). Результати дослідження показали, що у РЛБ мають місце компенсаторно-адаптаційні процеси, які в міру збільшення стажу роботи визначають напругу функціонування захисних регуляторних систем організму, що проявляються активацією симпатoadреналової системи.