

©А. И. Гоженко<sup>1</sup>, Ю. И. Карпенко<sup>2</sup>, Е. М. Левченко<sup>2</sup>, А. В. Горячий<sup>2</sup>, В. И. Кушниренко<sup>2</sup>  
Украинский научно-исследовательский институт медицины транспорта<sup>1</sup>  
Одесская областная клиническая больница<sup>2</sup>

## ВЛИЯНИЕ ПРОГРЕССИРОВАНИЯ ФИБРИЛЛЯЦИИ ПРЕДСЕРДИЙ НА УРОВЕНЬ МАТРИКСНОЙ МЕТАЛЛОПРОТЕИНАЗЫ-9

**Резюме.** 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.

**Цель исследования** – изучить уровень матриксной металлопротеиназы-9 (ММП-9) и оценить ее значение и роль на различных этапах развития идиопатической фибрилляции предсердий (ФП).

**Материалы и методы.** В исследование вошли пациенты с идиопатической формой ФП. В соответствии со степенью прогрессирования заболевания, их разделили на 3 группы: пароксизмальную, персистирующую и хроническую ФП. Контрольную группу составили практически здоровые пациенты. Для определения сывороточного уровня ММП-9 использовали иммуноферментный анализ двойными антителами с ферментной меткой.

**Результаты исследований и их обсуждение.** Каждая исследуемая группа включала 20 пациентов; контрольная группа составила 40 больных. Уровень ММП-9 в исследуемых группах значительно отличался от контрольной и составил: (170,62±24,65), (202,33±29,18), (252,3±21,87) нг/мл для пароксизмальной, персистирующей и хронической форм ФП и (75,78±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.

**ВСТУПЛЕНИЕ** 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], который приводит к увеличению размеров левого предсердия (ЛП), утончению 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 был 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 исследовании 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** В исследование включены пациенты с идиопатической ФП, которые получали как амбулаторную, так и стационарную помощь на базе Одесской областной клинической больницы в периоды 2015–2017 гг. Пациентов набирали последовательно и разделили 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, у всех пациентов брали 4 мл венозной крови. После добавления 100 г/л цитрата натрия как антикоагулянта и центрифугирования (4–16 K, Sigma-Aldrich, Germany) при 1360 об. в течении 10 м при температуре 4 °С сыворотку распределяли по пробиркам (МСТ-150-С, Ахуген, USA) и сохраняли при температуре -80 °С до анализа. Образцы анализировали 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  $M \pm \sigma$  (среднее ± стандартное откло-

нение), с ненормальным распределением – в виде медианы и интерквартильного размаха (Ме). Для выявления существующих различий по порядковым признакам использовали непараметрический критерий Манна–Уитни. Корреляционный анализ проводили с использованием г-критерия Спирмена для количественных значений. При  $p < 0,05$  различия считали статистически значимыми. Дизайн исследования представлен открытым контролируемым исследованием.

#### РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В данное исследование вошло 60 пациентов с ФП: по 20 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, диаметра ЛП, фракции выброса (ФВ) левого желудочка (ЛЖ), кровяного давления или сывороточной концентрации  $Na^+$ ,  $K^+$  (табл. 1).

Данные представлены как среднее  $\pm$ SD или n, ИМТ – индекс массы тела, ФВЛЖ – фракция выброса ЛЖ, статистических различий не наблюдалось ( $p < 0,05$ ).

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 ( $p < 0,05$ ) (табл. 2).

В физиологическом состоянии внеклеточный матрикс постоянно продуцируется и деградирует, находясь таким образом в состоянии гомеостаза, которое 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 ММП 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 мы изучили соотношение между уровнем ММП-9 и возникновением и прогрессированием ФП.

Мы отобрали пациентов 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 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 тахииндуцируемой СН [18]. Однако не было данных о наличии связи уровня ММП-9 с развитием и прогрессированием ФП у человека.

Мы обнаружили, 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 к чрезмерной деградации

Таблица 1. Характеристика пациентов с фибрилляцией предсердий

Параметр	Пароксизмальная ФП, n=20	Персистирующая ФП, n=20	Хроническая ФП, n=20	Контрольная, n=40
Возраст, лет	57,2 $\pm$ 16,2	56,6 $\pm$ 15,4	60,1 $\pm$ 16,1	55,7 $\pm$ 14,9
Пол, м/ж	15/5	14/6	14/6	32/8
ИМТ, кг/м <sup>2</sup>	26 $\pm$ 3,8	28 $\pm$ 4,3	28 $\pm$ 4,9	27 $\pm$ 5,1
Диаметр ЛП, мм	27,7 $\pm$ 6,2	28,3 $\pm$ 5,9	27,1 $\pm$ 7,2	27,2 $\pm$ 5,9
ФВЛЖ, %	60 $\pm$ 12	63 $\pm$ 11	61 $\pm$ 13	65 $\pm$ 9
Сист. АД, мм рт. ст	125,2 $\pm$ 13,2	126,2 $\pm$ 10,5	121,2 $\pm$ 12,3	119,8 $\pm$ 11,8
Диаст. АД, мм рт. ст	78–2 $\pm$ 11,2	80,7 $\pm$ 9,2	77,2 $\pm$ 11,9	77,2 $\pm$ 13,4
Сыворот $Na^+$ , ммоль/л	143,2 $\pm$ 6,9	142,6 $\pm$ 7,4	140,8 $\pm$ 7,1	143,2 $\pm$ 7,7
Сыворот $K^+$ , ммоль/л	4,1 $\pm$ 0,6	4,3 $\pm$ 0,5	4,2 $\pm$ 0,8	4,3 $\pm$ 0,6

Таблица 2. Сравнение уровня металлопротеиназы-9

Параметр	Пароксизмальная ФП, n=20	Персистирующая ФП, n=20	Хроническая ФП, n=20	Контрольная, n=40
ММП-9, нг/мл	170,62 $\pm$ 24,65 <sup>a,b</sup>	202,33 $\pm$ 29,18 <sup>a,b</sup>	252,3 $\pm$ 21,87 <sup>a,b</sup>	7578 $\pm$ 14,7

Примечание. Данные представлены как среднее  $\pm$ SD или n, статистических различий не наблюдалось:  $p < 0,05$  – в группах сравнения;  $p < 0,01$  – по сравнению с контрольной группой.

внуклеточного матрикса, увеличению ремоделирования ткани и фиброза миокарда, и может в конечном итоге привести к ФП [20].

В данном исследовании также обнаружено постепенное повышение уровня ММП-9 от пароксизмальной, персистирующей к хронической форм ФП. Было отмечено существенное отличие между тремя исследуемыми группами. В другом исследовании было показано, что ФП характеризуется самоподдержанием 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 ремо-

делировании 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, необходимы и другие факторы, связанные с ММП-9.

**ВЫВОДЫ** Нами были отмечены: повышение уровня ММП-9 у пациентов с ФП, по сравнению с контрольной группой, связь ММП-9 с развитием и прогрессированием ФП. Однако необходимы проведения дальнейших исследований.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Prevalence, electrophysiological properties, and clinical implications of dissociated pulmonary vein activity following pulmonary vein antrum isolation / S. Miyazaki, T. Kuwahara, A. Kobori [et al.] // *Am. J. Cardiol.* – 2011. – Vol. 108 (8). – P. 1147–1154. doi: 10.1016/j.amjcard.2011.06.015. Epub 2011 Jul 24.
2. Application of biomarkers for risk stratification in patients with atrial fibrillation / Z. Hijazi, J. Oldgren, A. Siegbahn, L. Wallentin // *Clinical Chemistry.* – 2017. – Vol. 63 (1). – P. 152–164.
3. Hyperglycemia aggravates atrial interstitial fibrosis, ionic remodeling and vulnerability to atrial fibrillation in diabetic rabbits / C. Liu, H. Fu, J. Li [et al.] // *Anadolu Kardiyol. Derg.* – 2012. – Vol. 12. – P. 543–550.
4. Fibroblast electrical remodeling in heart failure and potential effects on atrial fibrillation / Martin Aguilar, Xiao Yan Qi, Hai Huang [et al.] // *Biophysical Journal.* – 2014. – Vol. 107. – P. 2444–2455
5. Structural correlate of atrial fibrillation in human patients // S. Kostin, G. Klein, Z. Szalay [et al.] // *Cardiovasc. Res.* – 2002. – Vol. 54. – P. 361–379.
6. Phosphodiesterase inhibition mediates matrix metalloproteinase activity and the level of collagen degradation fragments in a liver fibrosis ex vivo rat model / S. S. Veidal, M. J. Nielsen, D. J. Leeming [et al.] // *BMC Res. Notes.* – 2012. – Vol. 5. – P. 686.
7. Cardiac fibroblasts, fibrosis and extracellular matrix remodeling in heart disease / D. Fan, A. Takawale, J. Lee [et al.] // *Fibrogenesis Tissue Repair.* – 2012. – Vol. 5. – P. 15.
8. Decreased metalloprotease 9 induction, cardiac fibrosis, and higher autophagy after pressure overload in mice lacking the transcriptional regulator p8 / S. P. Georgescu, M. J. Aronovitz, J. L. Iovanna [et al.] // *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* – 2011 – Vol. 301. – P. C1046–C1056.
9. A matrix metalloproteinase induction/activation system exists in the human left ventricular myocardium and is upregulated in heart failure / F. G. Spinale, M. L. Coker, L. J. Heung [et al.] // *Circulation.* – 2000. – Vol. 102. – P. 1944–1949.
10. El-Aziz T. A. Matrix metalloproteinase -9 polymorphism and outcome after acute myocardial infarction / T. A. El-Aziz, R. H. Mohamed // *Int. J. Cardiol.* – 2017. – Vol. 15 (227). – P. 524–528.
11. ACC/AHA/ESC 2006 Guidelines for the management of patients with atrial fibrillation / V. Fuster, L. E. Ryden, D. S. Cannom [et al.] // *Circulation.* – 2006. – Vol. 114. – P. 700–752.
12. Fluctuating roles of matrix metalloproteinase-9 in oral squamous cell carcinoma / S. T. Vilen, T. Salo, T. Sorsa [et al.] // *Sci. World J.* – 2013. – Vol. 2013. – P. 1–11.
13. Early matrix metalloproteinase-9 inhibition post-myocardial infarction worsens cardiac dysfunction by delaying inflammation resolution / R. P. Iyer, de Castro L. E. Brás, N. L. Patterson [et al.] // *J. Mol. Cell Cardiol.* – 2016. – Vol. 100. – P. 109–117.
14. Endostatin and angiostatin are increased in diabetic patients with coronary artery disease and associated with impaired coronary collateral formation / N. R. Sodha, R. T. Clements, M. Boodhwani [et al.] // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* – 2009. – Vol. 296. – P. H428–H434.
15. Targeted deletion of matrix metalloproteinase-9 attenuates left ventricular enlargement and collagen accumulation after experimental myocardial infarction / A. Ducharme, S. Frantz, M. Aikawa [et al.] // *J. Clin. Invest.* – 2000. – Vol. 106. – P. 55–62.
16. Wang W. Role of matrix metalloproteinase and tissue inhibitor of metalloproteinase in atrial structural remodeling in patients with atrial fibrillation / W. Wang, P. S. Wu, X. L. Yang // *Nan Fang Yi Ke Da Xue Xue Bao.* – 2010. – Vol. 30. – P. 1160–1162.
17. Impact of matrix metalloproteinase-2 levels on long-term outcome following pharmacological or electrical cardioversion in patients with atrial fibrillation / K. Kato, T. Fujimaki, T. Yoshida [et al.] // *Europace.* – 2009. – Vol. 11. – P. 332–337.
18. Dorian P. 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 / P. Dorian, I. Mangat // *Card. Electrophysiol. Rev.* – 2003. – Vol. 7. – P. 276–279.
19. Inhibition of human pulpal gelatinases (MMP-2 and MMP-9) by zinc oxide cements / M. C. Santos, A. P. de Souza, R. F. Gerlach [et al.] // *J. Oral Rehabil.* 2004. – Vol. 31. – P. 660–664.
20. Matrix metalloproteinases and atrial remodeling in patients with mitral valve disease and atrial fibrillation / W. Anne, R. Willems, T. Roskams [et al.] // *Cardiovasc. Res.* – 2005. – Vol. 67. – P. 655–666.
21. 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 / C. E. Chiang, L. Naditch-Brulle, J. Murin [et al.] // *Circ. Arrhythm. Electrophysiol.* – 2012. – Vol. 5. – P. 632–639.
22. Atrial fibrillation-mediated upregulation of miR-30d regulates myocardial electrical remodeling of the G-protein-gated K(±) channel, IK,Ach / M. Morishima, E. Iwata, C. Nakada [et al.] // *Circ. J.* – 2016. – Vol. 25; 80 (6). – P. 1346–1355. doi: 10.1253/circj.CJ-15-1276.

Получено 08.02.17

©А. І. Hozhenko<sup>1</sup>, Yu. I. Karpenko<sup>2</sup>, E. M. Levchenko<sup>2</sup>, A. V. Goryachiy<sup>2</sup>, V. I. Kushnirenko<sup>2</sup>  
Ukrainian Research Institute of Transport Medicine<sup>1</sup>  
Odesa Regional Clinical Hospital<sup>2</sup>

#### INFLUENCE OF ATRIAL FIBRILLATION PROGRESSION ON THE LEVEL OF MATRIX METALLOPROTEINASE-9

**Summary.** Atrial fibrillation (AF) is one of the most common diseases in clinical practice. Experimental and clinical studies showed the existence of relationship between AF and changes in atrial electrical properties.

**The aim of the study** – 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).

**Materials and 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 we used the double-antibody immunoassay with the enzyme label.

**Results and Discussion.** 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.

©А. І. Гоженко<sup>1</sup>, Ю. І. Карпенко<sup>2</sup>, О. М. Левченко<sup>2</sup>, А. В. Горячий<sup>2</sup>, В. І. Кушніренко<sup>2</sup>  
Український науково-дослідний інститут медицини транспорту<sup>1</sup>  
Одеська обласна клінічна лікарня<sup>2</sup>

#### ВПЛИВ ПРОГРЕСУВАННЯ ФІБРИЛЯЦІЇ ПЕРЕДСЕРДЬ НА РІВЕНЬ МАТРИКСНОЇ МЕТАЛОПРОТЕЇНАЗИ-9

**Резюме.** Фібриляція передсердь (ФП) одне з найбільш частих захворювань у клінічній практиці. Результати експериментальних та клінічних досліджень показали наявність взаємозв'язку між ФП і змінами передсердних електричних властивостей.

**Мета дослідження** – вивчити рівень матриксної металопротеїнази-9 (ММП-9) та оцінити її значення і роль на різних етапах розвитку ідіопатичної фібриляції передсердь (ФП).

**Матеріали і методи.** У дослідженні взяли участь пацієнти з ідіопатичною формою ФП. Відповідно до ступеня прогресування захворювання, їх поділили на 3 групи: пароксизмальну, персистуючу та хронічну ФП. Контрольну групу склали практично здорові пацієнти. Для визначення сироваткового рівня ММП-9 використовували імуноферментний аналіз подвійними антитілами з ферментною міткою.

**Результати досліджень та їх обговорення.** Кожна досліджувана група включала 20 пацієнтів, контрольна група складала 40 хворих. Рівень ММП-9 у 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 форм ФП і  $(75,78 \pm 14,7)$  нг/мл – у 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 металопротеїназа-9; патологічні механізми.