

Goryachiy A. V., Gozhenko A. I., Levchenko E. M., Goryachiy V. V., Kuznetsova M. A., Arapu M. I. Tissue inhibitor of matrix metalloproteinase-1 role in left atrium matrix remodeling in patients with atrial fibrillation. *Journal of Education, Health and Sport*. 2017;7(4):953-962. eISSN 2391-8306. DOI <http://dx.doi.org/10.5281/zenodo.1472786>
<http://ojs.ukw.edu.pl/index.php/johs/article/view/6229>
<https://pbn.nauka.gov.pl/sedno-webapp/works/884976>

The journal has had 7 points in Ministry of Science and Higher Education parametric evaluation. Part B item 1223 (26.01.2017).
1223 Journal of Education, Health and Sport eISSN 2391-8306 7

© The Author (s) 2017;

This article is published with open access at Licensee Open Journal Systems of Kazimierz Wielki University in Bydgoszcz, Poland

Open Access. This article is distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Noncommercial License which permits any noncommercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author(s) and source are credited. This is an open access article licensed under the terms of the Creative Commons Attribution Non Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>) which permits unrestricted, non commercial use, distribution and reproduction in any medium, provided the work is properly cited.
This is an open access article licensed under the terms of the Creative Commons Attribution Non Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>) which permits unrestricted, non commercial use, distribution and reproduction in any medium, provided the work is properly cited.
The authors declare that there is no conflict of interests regarding the publication of this paper.
Received: 12.04.2017. Revised 10.04.2017. Accepted: 25.04.2017.

TISSUE INHIBITOR OF MATRIX METALLOPROTEINASE-1 ROLE IN LEFT ATRIUM MATRIX REMODELING IN PATIENTS WITH ATRIAL FIBRILLATION

A. V. Goryachiy, A. I. Gozhenko, E. M. Levchenko, V. V. Goryachiy,
M. A. Kuznetsova, M. I. Arapu

Ukrainian Research Institute of Transport Medicine,
Odessa Regional Clinical Hospital

Abstract

Method: TIMP-1 was used as a marker for collagen synthesis. The study group comprised 69 people and the control group 23.

Results: Patients with persistent and chronic AF had an elevated level of TIMP-1 in comparison with patients with paroxysmal AF (149.63 + 43.71 ng / ml, 155.90 + 45.86 ng / ml vs 131.51 + 36.92 ng / ml, $p < 0.001$). The level of TIMP-1 was significantly lower in the control group compared to patients with paroxysmal, persistent and chronic AF forms (131.51 + 36.92 ng / ml, 149.63 + 43.71 ng / ml, 155.90 + 45.86 ng / ml and 103.61 + 14.96 ng / ml , $P < 0.001$).

Conclusions: The level of TIMP-1 is significantly different between healthy people and patients with AF. Moreover, these markers also differ depending on the shape of the OP. It can be assumed that the intensity of extracellular synthesis and degradation of type I collagen can be related to the severity and type of AF.

Keywords: atrial fibrillation, cardiovascular diseases, tissue inhibitor, matrix metalloproteinase

**РОЛЬ ТКАНИННОГО ІНГІБІТОРА МАТРИКСНОЇ
МЕТАЛЛОПРОТЕЇНАЗИ-1 У ЗМІНІ ПОЗАКЛІТИННОГО МАТРИКСУ ЛІВОГО
ПЕРЕДСЕРДЯ У ПАЦІЄНТІВ З ФІБРИЛЯЦІЄЮ ПЕРЕДСЕРДЬ**

**О. В. Горячий, А. І. Гоженко, О. М. Левченко, В. В. Горячий,
М. О. Кузнєцова, М. І. Арапу**

**Український науково-дослідницький інститут медицини транспорту,
Одеська обласна клінічна лікарня**

Ціль: нами був досліджений рівень тканинного інгібітора матриксної металлопротеїнази-1 (ТІМП-1) у пацієнтів з фібриляцією передсердь (ФП)

Методи: У якості маркера синтезу колагену використовувався ТІМП-1. Досліджувану групу склали - 69 осіб, контрольну - 23.

Результати: У пацієнтів з персистуючою та хронічною формами ФП відзначався підвищений рівень ТІМП-1 в порівнянні з пацієнтами з пароксизмальною формою ФП ($149,63 \pm 43,71$ нг / мл, $155,90 \pm 45,86$ нг / мл проти $131,51 \pm 36,92$ нг / мл, $p < 0,001$). Рівень ТІМП-1 був значно нижче в контрольній групі в порівнянні з пацієнтами з пароксизмальною, персистуючою і хронічною формами ФП ($131,51 \pm 36,92$ нг / мл, $149,63 \pm 43,71$ нг / мл, $155,90 \pm 45,86$ нг / мл і $103,61 \pm 14,96$ нг / мл, відповідно, $p < 0,001$).

Висновки: Рівень ТІМП-1 значно відрізняється між здоровими людьми та пацієнтами з ФП. Більш того ці маркери також відрізняються в залежності від форми ФП. Можна припустити, що інтенсивність позаклітинного синтезу і деградації колагену І типу може бути пов'язана з важкістю і типом ФП.

Ключові слова: фібриляція передсердь, серцево-судинні захворювання, тканевий інгібітор, матриксна металопротеїназа

**РОЛЬ ТКАНЕВОГО ИНГИБИТОРА МАТРИКСНОЙ
МЕТАЛЛОПРОТЕИНАЗЫ-1
В ИЗМЕНЕНИИ ВНЕКЛЕТОЧНОГО МАТРИКСА ЛЕВОГО ПРЕДСЕРДИЯ
У ПАЦИЕНТОВ С ФП**

**А. В. Горячий, А. И. Гоженко, Е. М. Левченко, В. В. Горячий,
М. А. Кузнецова, М. И. Арапу**

**Украинский научно-исследовательский институт медицины транспорта, Одесская
Областная клиническая больница**

Цель: нами был исследован уровень тканевого ингибитора матриксной металлопротеиназы-1 (ТИМП-1) у пациентов с фибрилляцией предсердий (ФП)

Методы: В качестве маркера синтеза коллагена использовался ТИМП-1. Исследуемую группу составили - 69 человек, контрольную - 23.

Результаты: У пациентов с персистирующей и хронической формами ФП отмечался повышенный уровень ТИМП-1 в сравнении с пациентами с пароксизмальной ФП (149.63 ± 43.71 нг/мл, 155.90 ± 45.86 нг/мл против 131.51 ± 36.92 нг/мл, $p < 0.001$). Уровень ТИМП-1 был значительно ниже в контрольной группе в сравнении с пациентами с пароксизмальной, персистирующей и хронической формами ФП (131.51 ± 36.92 нг/мл, 149.63 ± 43.71 нг/мл, 155.90 ± 45.86 нг/мл и 103.61 ± 14.96 нг/мл, $p < 0.001$).

Выводы: Уровень ТИМП-1 значительно отличается между здоровыми людьми и пациентами с ФП. Более того эти маркеры также отличаются в зависимости от формы ФП. Можно предположить, что интенсивность внеклеточного синтеза и деградации коллагена I типа может быть связана с тяжестью и типом ФП.

Ключевые слова: фибрилляция предсердий, сердечно-сосудистые заболевания, тканевой ингибитор, матриксная металлопротеиназа

На сегодняшний день фибрилляция предсердий (ФП) является наиболее распространенным сердечно-сосудистым заболеванием в клинической практике врача, распространенность которого приобретает характер эпидемии (1, 2). Согласно современным представлениям, именно, структурное ремоделирование левого предсердия (ЛП) определено в качестве ключевого механизма для возникновения и

поддержания ФП, где интерстициальный фиброз может являться доминирующим фактором, а воспаление выступать в качестве модификатора [3].

В ряде исследований были предприняты попытки изучить гистопатологический субстрат при различных формах фибрилляции предсердий [4, 5]. В результате были выявлены признаки хронического воспаления миокарда при разных формах фибрилляции предсердий, результатом которого являлся фиброз, причем более выраженный интерстициальный фиброз наблюдался при хронической форме ФП, что подтверждает предположения о фиброзе как основном субстрате аритмии [6].

Недавно проведенные исследования уровня депонирования коллагена, показали существенное увеличение уровня отложения коллагена в предсердиях у пациентов с ФП в отличие от пациентов находящихся на синусовом ритме (СР) (6-8). Предварительные экспериментальные и клинические данные предположили наличие обратной связи между наличием фиброза в образцах биопсии и наличием артериальной гипертензией (АГ). В дальнейшем было показано, что такие маркеры отличаются у пациентов с АГ и без, исследования их связи с гипертрофией или другими эхокардиографическими параметрами также противоречивы (10,11).

Коллаген I типа самый распространенный коллагеновый продукт сердечных фибробластов (12). Нами было оценено количество фиброза у пациентов с пароксизмальной, персистирующей и хронической изолированными формами ФП используя иммуноферментный анализ (9) с оценкой уровня тканевого ингибитора матриксной металлопротеиназы-1 (ТИМП-1).

Цель работы: изучить уровень ТИМП-1 у пациентов с фибрилляцией предсердий различной формы и генеза (пароксизмальной, персистирующей и хронической).

Материалы и методы: Этическим комитетом нашего учреждения было одобрено проведение исследования. Данное исследование соответствовало принципам, изложенным в Хельсинской Декларации. Всеми пациентами было подписано информированное согласие на участие.

В исследование вошло 92 амбулаторных пациента в возрасте от 24 до 78 лет с изолированной ФП, определенной как ФП без клинических или эхокардиографических признаков сердечно-легочного заболевания, включая артериальную гипертензию. Группу I – составили 24 пациента с пароксизмальной формой ФП, группу II – 22 пациентов с персистирующей формой ФП, группу III – 23 пациента с хронической формой ФП и группу IV (контрольную) – 23 пациента без ФП. Все группы были

сопоставимы по гендерному распределению ($p=0,40$) и возрасту ($p=0,058$). Аритмия считалась пароксизмальной с продолжительностью менее 24 часов и персистирующей продолжительностью не менее 3 месяца до момента включения. Хронической формой ФП называлось нарушение ритма более одного года, резистентного к медикаментозной терапии. Формы фибрилляции предсердий определялись согласно стандарта руководства европейского общества кардиологов 2016 (8). Контрольную группу составили 23 пациента с отсутствием в анамнезе ФП.

Критериями исключения из исследования стали: возраст старше 70 лет; состояния ассоциированные с повышением уровня сывороточного маркера миокардиального или тканевого фиброза такие как: заболевания печени, хронические заболевания почек, пневмофиброз и тяжелая хроническая обструктивная болезнь легких, злокачественные новообразования, диффузные заболевания соединительной ткани, пациенты с установленным кардиостимулятором, кардиовертером-дефибриллятором, ИБС; кардиомиопатии; клапанные пороки сердца; острый миокардит; перикардит; нарушение функции щитовидной железы; больные с недостаточностью кровообращения более II ф. к. и фракцией выброса левого желудочка менее 45%; сахарный диабет; острые воспалительные заболевания или обострения хронических воспалительных заболеваний в течение 2-х недель до включения в исследование.

Всем больным проводилось общеклиническое обследование, холтеровского мониторирования ЭКГ с оценкой вариабельности сердечного ритма, длительное мониторирование АД, а также исследования серологических маркеров коллагена I типа, эхокардиографический размер левого предсердия (ЛА) и фракции выброса левого желудочка (ФВЛЖ). Для контроля частоты желудочковых сокращений позволялось использовать дилтиазем и бетаблокаторы. Все пациенты с ФП получали антитромботическое лечение.

На момент забора крови у всех пациентов наблюдалась ФП. Образцы крови набирались во время клинического исследования и немедленно помещались на лед и центрифугировались в течении 1 часа. Образцы сохранялись при -80°C до момента анализа.

Сывороточный уровень ТИМП-1 оценивался с помощью иммуноферментного анализа с использованием лабораторных наборов (Human Biotrack, Amersham Biosciences, США). Измерение выполнялось персоналом слепленным к клинической информации о состоянии пациентов. Внутри и межпробирочные коэффициенты

вариации составили <8% и <10% соответственно.

Статистический анализ. Полученные результаты обрабатывали статистически с помощью компьютерной программы Statistica 6.1. Количественные признаки с нормальным распределением представлены как $M \pm \sigma$ (среднее \pm стандартное отклонение), 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 критерия R Спирмена для количественных значений. При $p < 0,05$ различия считали статистически значимыми. Дизайн исследования представлен открытым контролируемым исследованием.

Результаты и их обсуждение. Исходные клинические и демографические характеристики исследуемой популяции представлены в таблице 1. Пациенты с персистирующей и хронической формой ФП имели более низкие уровни ФВЛЖ ($p = 0.038$) и большие размеры ЛП ($p < 0.001$) по сравнению с пациентами с пароксизмальной формой ФП и контрольной группой. Уровень сывороточных маркеров коллагена представлен в таблице 1.

Таблица 1

Общая характеристика пациентов

	I гр. n=24	II гр. n=22	III гр. n=23	IV гр. n=23	p
Возраст(лет)	62.45 \pm 13.17	64.44 \pm 13.81	67.88 \pm 13.31	63.65 \pm 13.34	0.025
Пол(м/ж)	16/8	17/5	15/8	16/7	0.621
ФВЛЖ(%)	55.39 \pm 3.32	53.65 \pm 3.27	51.65 \pm 3.21	60.09 \pm 3.2	0.227
ЛП(мм)	36.23 \pm 3.87	43.47 \pm 4.52	45.57 \pm 4.75	37.45 \pm 3.68	<0.001
ИМТ(кг/м ²)	27.32 \pm 1.64	27.65 \pm 1.73	27.91 \pm 1.71	26.85 \pm 1.42	0.919
САД(мм.рт.ст)	137.35 \pm 11.90	138.59 \pm 12.52	138.59 \pm 12.52	131.75 \pm 10.03	0.079
ДАД(мм.рт.ст)	84.74 \pm 4.34	83.91 \pm 4.35	83.91 \pm 4.35	83.75 \pm 4.55	0.633
ТИМП-1(нг/мл)	131.51 \pm 36.92	149.63 \pm 43.71	155.90 \pm 45.86	103.61 \pm 14.96	<0.001

Значения выражены как среднее \pm SD.

Последующий анализ показал, что: 1) возраст и диаметр левого предсердия (ЛП) значительно различались между пациентами контрольной группы и пациентами с персистирующей фибрилляцией предсердий (ФП); 2) уровень тканевого ингибитор матричной металлопротеиназы (ТИМП-1) значительно различался во всех

межгрупповых сравнениях.

Пациенты с персистирующей и хроническим формами ФП имели более высокие уровни ТИМП-1 ($p=0,013$) по сравнению с пациентами с пароксизмальной ФП (таблица 1, рисунок 1). Тканевой ингибитор матриксных металлопротеиназ-1 был значительно ниже ($p<0,001$) у контрольных субъектов по сравнению с исследуемыми пациентами (рисунок 1).

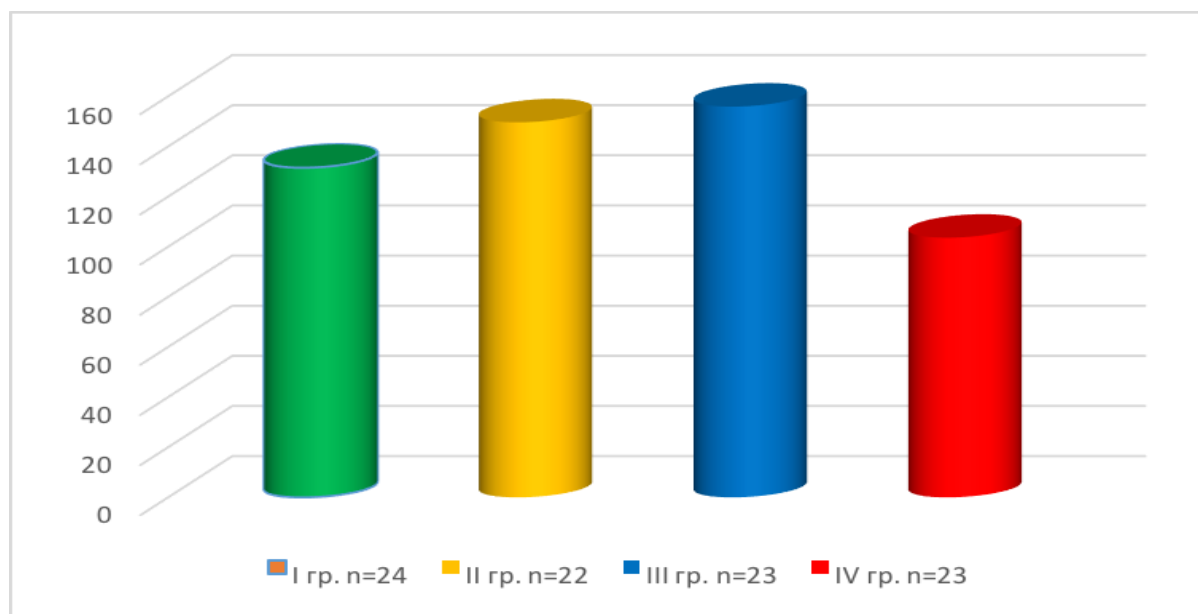


Рисунок 1. Уровень ТИМП-1 у пациентов с ФП

Наконец, у всех пациентов с ФП, взятых вместе, наблюдалась положительная корреляция между уровнем ТИМП-1 и размерами ЛП ($r=0,563$, $p<0,001$). Логистический регрессионный анализ показал, что возраст, пол, размер ЛП, уровень ТИМП-1 ассоциированы с наличием ФП (таблица 2).

Таблица 2

Пошаговый логистический регрессионный анализ, предикторы ФП

Переменная	Соотношение	95% ДИ	
ТИМП-1	1.18	1.07-1.29	0.002

ДИ – доверительный интервал

Обсуждение

Пациенты, изначально имеющие пароксизмальную ФП, часто прогрессируют до персистирующей ФП и в конечном итоге процесс переходит в хроническую форму ФП. Хотя точные патофизиологические механизмы плохо изучены, считается, что

персистирующая ФП возникает в результате ремоделирования предсердий (14,15). Однако чисто электрическое ремоделирование не может объяснить развитие устойчивой ФП (15,16). Возможно участие фиброза предсердий, как фактора с более медленным течением вовлечено в данный процесс (8,17,18).

В этом исследовании мы продемонстрировали повышение уровня ТИМП-1 по сравнению с пациентами с пароксизмальной формой ФП. Уровень ТИМП-1 был также выше у пациентов с пароксизмальной формой ФП, чем у контрольной группы пациентов. Это кажется парадоксальным, но это может быть результатом активации ММП-1, который зависит от природы раздражителя и отличается при острой и хронической стимуляции (19). Таким образом, пароксизмальная ФП может приводить к резкой перегрузке давления или объема, активируя систему ММП-1, которая затем компрометируется пролонгированием и стабилизацией стимула.

Еще одно интересное открытие состояло в том, что уровень ТИМП-1 положительно коррелировал с диаметром ЛП и обратно связан с ФВЛЖ. Поскольку в нашем исследовании принимали участие только пациенты с изолированной ФП, мы можем предположить, что вышеупомянутые изменения были связаны с самой аритмией, а не с наличием или отсутствием какого-либо сопутствующего фактора с прогрессирующим увеличением фиброза от пароксизмальной до хронической формы ФП. Кроме того, усиленный фиброз, особенно у пациентов с хронической формой ФП, может также являться причинной, как инициации, так и поддержания ФП.

Ограничения исследования и клинические последствия. Сывороточные маркеры коллагена не специфичны для сердца. Кроме того, мы не подтвердили наши данные с использованием данных биопсии предсердной ткани или отбора проб коронарного синуса. Тем не менее, мы приложили максимальные усилия для исключения из исследования субъектов с условиями, связанными с образованием фиброза.

Серийные измерения индексов коллагена после восстановления СР для оценки потенциальных временных изменений уровня коллагена недоступны, хотя эти данные, несомненно, были бы ценным дополнением к нашему исследованию и могли бы подтвердить наши результаты.

И, наконец, небольшая выборка пациентов не позволяет сделать серьезных выводов относительно взаимосвязи между системным фиброзом и ФП. Однако необходимо проведение дальнейших исследований.

Выводы

Маркеры сыворотки коллагена I типа могут обеспечить неинвазивный метод документирования и мониторинга степени и механизмов фиброза миокарда у пациентов с ФП, а также дать оценку фармакологическим мерам, предназначенным для лечения этой аритмии. Однако необходимо дальнейшее изучение и проведение рандомизированных исследований для выяснения точной роли фиброза в формировании ФП и оценки клинической важности и ценности биохимического мониторинга уровня коллагена в этой клинической ситуации. Хотя сердечная биопсия является золотым стандартом для документирования и мониторинга фиброза миокарда, неинвазивные методы предлагают альтернативный взгляд на решение данной проблемы, который может иметь более широкое применение.

References

1. Regular physical activity and risk of atrial fibrillation: a systematic review and meta-analysis / P. Ofman, O. Khawaia, C Rahilly-Tierney [et al.] // *Circulation*. 2013. Vol. 6. P. 252-256.
2. Rates and implications for hospitalization of patients ≥ 65 years of age with atrial fibrillation/flutter / G. Naccarelli, S. Johnston, M Dalal [et al.] // *Am. J. Cardiol*. 2012. Vol. 109. P. 543-549.
3. Aldhoon B., Melenovský V., Peichl P., Kautzner J. New insights into mechanisms of atrial fibrillation // *Physiol Res*. – 2010. – Vol. 59. – No 1. – P. 1–12.
4. Nguyen B. L, Fishbein MC. Histopathological substrate for chronic atrial fibrillation in humans // *Heart Rhythm*. – 2009. – 6 (4). – P. 454–60.
5. Weber K. T. *J Am Coll Cardiol*. Cardiac interstitium in health and disease: the fibrillar collagen network // – 2009, Jun. – 13 (7). – P. 1637–52.
6. Frustaci A, Chimenti C, Bellocci F, Morgante E, Russo MA, Maseri A. Histological substrate of atrial biopsies in patients with lone atrial fibrillation. *Circulation* 1997;96:1180–4.
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. 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.

9. López B, González A, Varo N, Laviades C, Querejeta R, Díez J. Biochemical assessment of myocardial fibrosis in hypertensive heart disease. *Hypertension* 2001;38:1222–6.
10. 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.
11. 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)
12. Lijnen P, Petrov V, Fagard R. Induction of cardiac fibrosis by transforming growth factor- β 1. *Mol Genet Metab* 2000;71:418–35.
13. Paulus Kirchhof, Stefano Benussi, Dipak Kotecha, Anders Ahlsson, Dan Atar, Barbara Casadei, Manuel Castella, Hans-Christoph Diener Hein, Heidbuchel Jeroen Hendriks. *Eur Heart J* (2016) 37 (38): 2893-2962.
14. 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.
15. 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
16. 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.
17. Kostin S, Klein G, Szalay Z, Hein S, Bauer E, Schaper J. Structural correlate of atrial fibrillation in human patients. *Cardiovasc Res* 2002;54:361–79.
18. Chiang CE, Naditch-Bru^l 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.
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.