

Т.В. Бершова, А.Г. Гасанов, А.П. Иванов, Е.Н. Басаргина, М.И. Баканов, Р.Б. Зурабова

Научный центр здоровья детей РАМН, Москва

Роль матричных металлопротеиназ в процессах ремоделирования сердца у детей с рестриктивной кардиомиопатией

Контактная информация:

Бершова Татьяна Владимировна, доктор медицинских наук, ведущий научный сотрудник лаборатории клинической биохимии Научного центра здоровья детей РАМН

Адрес: 119991, Москва, Ломоносовский проспект, д. 2/62, тел.: (499) 134-03-41

Статья поступила: 27.05.2009 г., принята к печати: 05.10.2009 г.

36

Рестриктивная кардиомиопатия (РКМП) — заболевание сердца невыясненной этиологии, характеризуется нарушением диастолической функции миокарда левого желудочка, обусловленным рестрикцией. Развитие хронической сердечной недостаточности как синдрома при РКМП — следствие дисбаланса в системе сложнейших биохимических, структурных и геометрических механизмов ремоделирования миокарда. В нарушении структуры и геометрии сердца значительная роль отводится внеклеточному матриксу, деструкция белков которого осуществляется матричными металлопротеиназами (ММП). Активность ММП, в свою очередь, контролируется их тканевыми ингибиторами. В рамках настоящего исследования анализировалась роль ММП в процессах дезрегуляции синтеза и катаболизма коллагенов, фибрирования миокарда, в изменении размеров камер сердца и развитии диастолической дисфункции у детей с РКМП.

Ключевые слова: дети, хроническая сердечная недостаточность, рестриктивная кардиомиопатия, матричные металлопротеиназы.

Несмотря на то, что идиопатическая рестриктивная кардиомиопатия (РКМП) является одним из наиболее редких заболеваний сердца, интерес исследователей к этому заболеванию чрезвычайно высок. Это связано с развитием у пациентов с РКМП таких грозных

осложнений, как мерцание предсердий, эктопические желудочковые аритмии, тромбоэмболии артерий малого и большого круга кровообращения, формирование хронической сердечной недостаточности, а также с отсутствием эффективных методов лечения этого

T.V. Bershova, A.G. Gasanov, A.P. Ivanov, Ye.N. Basargina, M.I. Bakanov, R.B. Zurabova

Scientific Center of Children's Health, Russian Academy of Medical Sciences, Moscow

The role of matrix metalloproteinases in processes of heart re-modeling in children with restrictive cardiomyopathy

Restrictive cardiomyopathy (RCMP) is heart disorder with unclear etiology; it can be characterized as disease with disorder of diastolic myocardium function of left ventricle, conditioned by restriction. The chronic heart failure as a syndrome of RCMP can develop as a result of disbalance in system of complex biochemical, structural, and geometrical mechanisms of myocardium re-modeling. Extra cellular matrix play significant role in heart structure and geometry breaking. The destruction of heart is realized by matrix metalloproteinases (MMP). The activity of MMP, in its turn, is controlled by its tissue inhibitors. The present study analyzed the role of MMP in process of collagen's synthesis and catabolism deregulation, myocardium fibrosis, change of heart chambers, and development of diastolic dysfunction in children with RCMP.

Key words: children, chronic heart failure, restrictive cardiomyopathy, matrix metalloproteinases.



заболевания [1, 2]. РКМП характеризуется нарушением диастолической функции левого желудочка при его нормальной или существенно не измененной систолической функции, биатриальным расширением и незначительным изменением диаметра левого желудочка.

Этиология заболевания в настоящее время неизвестна. В последнее время опубликованы данные о генетической детерминированности болезни, что в определенной степени доказывается наличием не только спорадических, но и семейных форм заболевания [3, 4]. По современным представлениям, в основе патофизиологических процессов развития РКМП лежат нарушения структуры кардиомиоцитов, изменения геометрии и архитектуры миокарда с увеличением содержания коллагена и фиброзной ткани во внеклеточном матриксе, механизмы которых остаются неясными [5, 6]. Как известно, доминирующая роль в алтерации структур белков внеклеточного матрикса сердца принадлежит матриксным металлопротеиназам (ММП) и их тканевым ингибиторам. Аберрантная экспрессия ММП и тканевых ингибиторов матриксных металлопротеиназ (ТИММП) наблюдается при различных сердечно-сосудистых заболеваниях [7, 8], однако их роль в развитии РКМП у детей не определена.

Целью настоящего исследования явилось изучение роли ММП (-1, -2, -9) и их ингибитора в развитии РКМП и последующей сердечной недостаточности у детей.

ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

Под наблюдением находилось 14 больных в возрасте от 1 года до 16 лет с хронической сердечной недостаточностью различных стадий, развившейся в результате РКМП (основная группа). Диагностика заболевания основывалась на анализе анамнестических данных, результатов осмотра и дополнительных методов исследования. Обследование больных включало проведение электрокардиографии (ЭКГ), суточного мониторирования ЭКГ, эхокардиографии (ЭхоКГ), рентгенографии органов грудной клетки. Другие неинвазивные методы визуализации сердца — компьютерную и магнитно-резонансную томографию — использовали для исключения констриктивного перикардита, при котором отмечается утолщение перикарда, не характерное для РКМП. Контрольную группу составили 18 практически здоровых детей того же возраста.

ЭхоКГ исследование проводили с использованием ультразвукового диагностического прибора «SSD-80» (Aloka, Япония). Ультразвуковое исследование осуществляли в М- и В-режимах (одно- и двухмерное сканирование) с использованием доплер-ЭхоКГ. В М-режиме определяли толщину межжелудочковой перегородки и задней стенки левого желудочка, конечный диастолический и конечный систолический размеры левого желудочка, диаметр правого и левого желудочков, правого предсердия. В В-режиме рассчитывали конечный диастолический и конечный систолический объемы левого желудочка и фракцию выброса. Все ЭхоКГ-показатели у детей с РКМП выражали в процентах от соответствующих нормальных возрастных значений, принятых за 100% [9]. О диастолической функции левого желудочка судили на основании данных о скорости трансмитрального кровотока во время его раннего диастолического наполнения (V_1) и систолы предсердий (V_2), соотношении скоростей (V_1/V_2) и времени изоволюмического расслабления левого желудочка. С помощью доплер-ЭхоКГ определя-

ли наличие митральной и трикуспидальной регургитации. Содержание ММП-1, -2 и -9, а также ТИММП-1 в сыворотке крови определяли с помощью твердофазного иммуноферментного анализа (ELISA) с использованием тест-наборов (R&D, Англия; BIOSOURCE, Бельгия). Результаты оценивали на микропланшетном ридере «Anthos-2020» (Австрия). Взятие крови проводилось натощак, утром, из периферической вены в пластиковую пробирку без консервантов. Через 20 мин после взятия образец крови подвергали центрифугированию при 3000 об/мин в течение 5 мин. После этого отделяли сыворотку от сгустка, разливали ее по аликвотам в пластиковые пробирки и замораживали. Замороженные образцы хранили при температуре -20°C до момента проведения анализа, но не более 1 мес. В работу не брали гемолизированные и липемические сыворотки.

Статистическую обработку полученных результатов выполняли с использованием пакета программы STATISTICA 6.0 (StatSoft Inc., США). Количественные признаки представляли в виде среднего арифметического значения \pm ошибка средней. Для сравнения средних величин использовали ANOVA и считали различия статистически значимыми при $p < 0,05$. Корреляционный анализ выполняли по Пирсону с расчетом коэффициента корреляции (r).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

При анализе результатов ЭхоКГ исследования у всех больных были выявлены выраженные изменения функциональных параметров сердца. В частности, было обнаружено, что конечный диастолический и конечный систолический размеры левого желудочка у большинства больных с РКМП существенно не изменились и в среднем составили, соответственно $106,7 \pm 2,71$ и $108,8 \pm 7,01\%$ от должных возрастных величин. В то же время увеличение размера правого желудочка было выражено у всех больных ($294,4 \pm 38,9\%$ от должной величины). Размер обоих предсердий был увеличен в 2 раза (размер левого предсердия составил $204,2 \pm 12,8\%$, правого — $198,3 \pm 10,3\%$), что свидетельствует о значительном их расширении. Кроме того, выявлено утолщение задней стенки и межжелудочковой перегородки левого желудочка, соответственно до $138,3 \pm 12,5$ и $173,7 \pm 15,7\%$ от должных величин.

У всех обследованных детей фракция выброса была в пределах возрастной нормы ($69 \pm 3\%$), что свидетельствует об относительной сохранности сократительной способности миокарда левого желудочка. Выявлено повышение средней величины давления в легочной артерии ($44,6 \pm 3,2$ мм рт. ст. при норме — до 20 мм рт. ст.), что указывает на наличие у пациентов с РКМП легочной гипертензии, обусловленной застойными явлениями в системе малого круга кровообращения.

При доплер-ЭхоКГ исследовании у 1 (8%) больного обнаружена митральная регургитация I степени, у 9 (69%) — II степени и у 3 (23%) детей — III степени. У 8 (62%) больных определялась трикуспидальная регургитация I–II степени и у 5 (38%) — III–IV степени. Наличие митральной и трикуспидальной регургитации у обследованных нами пациентов с РКМП свидетельствует о недостаточности указанных клапанов.

При исследовании диастолической функции миокарда левого желудочка выявлена характерная, но неспецифическая для РКМП низкая максимальная скорость транс-



митрального кровотока во время систолы левого предсердия ($V_2 = 0,25 \pm 0,06$ м/с по сравнению с $0,52 \pm 0,04$ м/с у практически здоровых детей; $p < 0,001$). Это свидетельствует о нарушении растяжимости миокарда левого желудочка, проявлением которого является развитие синдрома рестрикции и резкое увеличение диастолического давления в желудочках, что значительно затрудняет их наполнение во время систолы предсердия. В то же время изменения максимальной скорости раннего диастолического наполнения ($V_1 = 0,83 \pm 0,05$ м/с, по сравнению с $0,7-1,0$ м/с у практически здоровых детей) не отмечались. У детей с РКМП отмечена низкая максимальная скорость трансмитрального кровотока в систолу левого предсердия. Как результат, отмечено повышение соотношения скоростей ($V_1/V_2 = 3,3$ по сравнению с $1,5$ у практически здоровых детей), что свидетельствует о нарушении диастолической функции. О наличии диастолической дисфункции у детей с РКМП свидетельствует также и значительное увеличение времени изоволюмического расслабления миокарда, которое составило $0,069 \pm 0,003$ с (в норме — $0,025 \pm 0,001$ с). Очевидно, этому способствует повышенное конечное диастолическое давление в левом желудочке во время диастолы [10].

Нарушение растяжимости миокарда левого желудочка во время диастолы наряду с недостаточностью митрального клапана (о чем свидетельствует регургитация различной степени выраженности через частично фибрированные створки митрального и трикуспидального клапанов) является одной из причин дилатации полости левого предсердия, установленной нами у всех пациентов с РКМП. Несомненно, аналогичные процессы протекают и в правых отделах сердца, приводя к дилатации правого предсердия, что и зафиксировано нами у всех обследованных.

Таким образом, характерным для диастолической дисфункции левого желудочка при РКМП является нарушение растяжимости миокарда во время систолы предсердий. Вследствие этого после неизменного раннего периода быстрого наполнения левого желудочка (в период расслабления миокарда), за счет нарушения растяжимости сердечной мышцы дальнейшее поступление крови в желудочек практически прекращается, и в течение 2-й половины диастолы размеры левого желудочка существенно не возрастают. Это сопровождается характерным повышением уровня внутрижелудочкового конечного диастолического давления, следствием чего в итоге становится систо-

лическая перегрузка предсердий, повышение давления в предсердиях и легочных венах. Таким образом, дефект диастолы приводит к развитию типичной диастолической сердечной недостаточности, которая при РКМП характеризуется релаксационной недостаточностью желудочков и систолической недостаточностью предсердий.

У пациентов с РКМП выявлены изменения содержания ММП и ТИММП-1 в сыворотке периферической крови. В частности, средний уровень ММП-1, -2 и -9 был в 2–2,3 раза выше, чем в контрольной группе (табл.). Увеличение концентрации ММП сопровождалось значительным снижением содержания их тканевого ингибитора, концентрация которого была достоверно ниже референтных значений. Нарушение равновесия между содержанием ММП и их тканевого ингибитора ассоциировалось с выраженной дилатацией правого желудочка и обоих предсердий, утолщением стенок левого желудочка, а также нарушением показателей функционального состояния сердца. При этом выявлена положительная корреляционная связь между содержанием ММП-1 и диаметром правого желудочка ($r = 0,36$; $p < 0,001$). Установлены положительные корреляционные связи концентрации ММП-2 с диаметром правого желудочка, правого предсердия и уровнем легочной гипертензии ($r = 0,50$; $0,43$ и $0,55$, соответственно; во всех случаях $p < 0,001$). Обнаружена положительная корреляция между содержанием ММП-9 и размером левого предсердия ($r = 0,64$; $p < 0,001$). Это косвенно указывает на участие изучаемых ферментов в процессах ремоделирования обоих предсердий и правого желудочка у пациентов с РКМП.

Увеличение содержания ММП, указанное в таблице, ассоциировалось с повышением соотношения скоростей раннего и позднего наполнения левого желудочка (V_1/V_2), что позволяет предположить роль ферментов в развитии диастолической дисфункции сердца у пациентов при РКМП. Как известно, в процессах нарушения диастолической функции левого желудочка доминирующая роль принадлежит генетическим факторам — таким, как мутации генов тропонинов I и T, а также сердечного α -актина, которые являются ключевыми звеньями патогенеза данного заболевания [4].

Полученные данные позволяют предположить, что изменение сывороточной концентрации ММП и ТИММП-1 отражает их участие в нарушении геометрии сердца и указывает на роль изучаемых ферментов в ремоделировании сердца у детей с РКМП.

Таблица. Содержание матричных металлопротеиназ и их тканевого ингибитора в сыворотке крови у детей с рестриктивной кардиомиопатией

Показатель	Контрольная группа (n = 18)	Дети с рестриктивной кардиомиопатией (n = 13)
ММП-1, нг/мл	$2,44 \pm 0,21$	$4,78 \pm 0,31^*$
ММП-2, нг/мл	$234,3 \pm 15,5$	$536,6 \pm 24,8^*$
ММП-9, нг/мл	$389,6 \pm 30,5$	$822,8 \pm 19,5^*$
ТИММП-1, нг/мл	$273,2 \pm 19,4$	$179,8 \pm 14,6^*$

Примечание.

* $p < 0,05$ при сравнении с показателем в контрольной группе (практически здоровые дети);

ММП — матричные металлопротеиназы; ТИММП — тканевые ингибиторы матричных металлопротеиназ.





Как свидетельствуют результаты настоящего исследования, нарушение баланса в содержании ММП и их тканевого ингибитора у детей с РКМП коррелировали с выявленными нарушениями ЭхоКГ-параметров сердца. Это позволяет предположить, что повышение активности ММП на фоне снижения концентрации их тканевого ингибитора может приводить к усилению деградации коллагенов и, следовательно, расширению камер сердца. Поскольку ММП-1 имеет большее сродство с коллагеном I типа, повышение уровня фермента способствует расщеплению коллагена именно этого типа и снижению соотношения коллагена I и III типов в сторону увеличения содержания последнего. Все это позволяет думать о незавершенном процессе формирования фиброза и может составлять основу болезни у пациентов с РКМП. Обладая высокой эластичностью, коллаген III типа способствует повышению растяжимости миокарда и тем самым — дилатации камер сердца. Возможно, активация ММП-1 в этой ситуации носит адаптивный характер, направленный на снижение ригидности стенок желудочков и компенсацию нарушенной диастолической функции миокарда. Эти данные согласуются с результатами исследования Т. Hayashi и соавт., демонстрирующими наличие фиброзной ткани, обусловленной преобладанием коллагена III типа в материалах эндомикардиальной биопсии у пациентов с РКМП [11]. По мнению этих авторов, расширение камер сердца при РКМП осуществляется за счет деградации коллагена I типа и повышения соотношения коллагена III и I типов [11].

В последнее время обнаружена важная роль желатиназ (ММП-2 и ММП-9) в разрушении коллагена I и III типов внутриклеточного матрикса, внутриклеточных белков кардиомиоцитов (тяжелой цепей β -миозина), а также участия ММП-9 в нарушении структуры стенок коронарных артерий и развитии фибрилляции предсердий [12–15]. По мнению S. Yasmin и соавт., ММП-2 и ММП-9, обладая эластазной активностью, разрушают эластин стенок артерий, что способствует повышению их ригидности и развитию артериальной гипертензии [16]. Не исключено также, что обнаруженная нами высокая активность изучаемых ММП у детей с РКМП ведет к изменению изомерного состава коллагенов вследствие нарушения баланса ММП и ТИММП и способствует накоплению других белковых компонентов внутриклеточного матрикса (фибронектина, ламинина и др.), что является одной из причин развития фиброза. В этом процессе значительную роль играют также провоспалительные цитокины, медиаторы ренин-ангиотензин-альдостероновой и симпатико-адреналовой системы [17–19]. Таким образом, в основе механизмов развития синдрома рестрикции при РКМП лежат выраженное фиброзирование миокарда желудочков и нарушение их растяжимости во время диастолы. Фиброзирование при РКМП является сложным многофакторным и необратимым процессом. Раскрытие генных и молекулярных механизмов формирования РКМП и попытки воздействовать на ее причину еще до клинической манифестации заболевания будут способствовать решению этой проблемы.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Sivasankaran S. Restrictive cardiomyopathy in India: the story of a vanishing mystery // *J. Heart.* — 2009. — V. 95, № 1. — P. 9–14.
2. Salemi V., Leite J., Picard M. et al. Echocardiographic predictors of functional capacity in endomyocardial fibrosis patients // *Eur. J. Echocardiogr.* — 2009. — V. 10. — P. 400–405.
3. Pinto J., Parvatiyar M., Jones M. Troponin T mutation that causes infantile restrictive cardiomyopathy increases Ca²⁺ sensitivity of force development and impairs the inhibitory properties of troponin // *J. Biol. Chem.* — 2008. — V. 283, № 4. — P. 2156–2166.
4. Kaski J., Syrris P., Burch M. et al. Idiopathic restrictive cardiomyopathy in children is caused by mutations in cardiac sarcomere protein genes // *J. Heart.* — 2008. — V. 94, № 11. — P. 1478–1484.
5. Hosenpud J., Nites N. Clinical, hemodynamic and endomyocardial biopsy findings in idiopathic restrictive cardiomyopathy // *West. J. Med.* — 1986. — V. 44, № 3. — P. 303–306.
6. Hsu D., Pearson G. Heart failure in children: history, etiology, and pathophysiology // *Circ. Heart. Fail.* — 2009. — V. 2. — P. 63–70.
7. Gonzalez A., Lopez B., Ravassa S. et al. Biochemical markers of myocardial remodeling in hypertensive heart disease // *Cardiovasc. Res.* — 2009. — V. 81, № 3. — P. 509–518.
8. Martos R., Baugh J., Ledwidge M. et al. Diagnosis of heart failure with preserved ejection fraction: improved accuracy with the use of markers of collagen turnover // *Eur. J. Heart. Fail.* — 2009. — V. 11, № 2. — P. 191–197.
9. Иванов А.П., Исаев И.И. Эхокардиографические параметры здоровых детей дошкольного и школьного возраста // *Педиатрия.* — 1987. — № 12. — P. 17–20.
10. Басаргина Е.Н. Кардиомиопатии у детей, сопровождающиеся синдромом хронической сердечной недостаточности: Автореф. дис. ... докт. мед. наук. — М., 2003. — 46 с.
11. Hayashi T., Shimomura H., Terasaki F. et al. Collagen subtypes and matrix metalloproteinase in idiopathic restrictive

- cardiomyopathy // *Int. J. Cardiol.* — 1998. — V. 64, № 2. — P. 109–116.
12. Bigg H., Rowan A., Barker M. et al. Activity of matrix metalloproteinase-9 against native collagen types I and III // *J. FEBS.* — 2007. — V. 274, № 5. — P. 1246–1255.
13. Rouet-Benzineb P., Buhler J., Dreyfus P. et al. Altered balance between matrix gelatinases (MMP-2 and MMP-9) and their tissue inhibitors in human dilated cardiomyopathy: potential role of MMP-9 in myosin-heavy chain degradation // *Eur. J. Heart Fail.* — 1999. — V. 1, № 4. — P. 337–352.
14. Welsh P., Whincup P., Papacosta O. et al. Serum matrix metalloproteinase-9 and coronary heart disease: a prospective study in middle-aged men // *Q.J.M.* — 2008. — V. 101, № 10. — P. 785–791.
15. Zhang W., Zhong M., Yang G. et al. Matrix metalloproteinase-9 / tissue inhibitors of metalloproteinase-1 expression and atrial structural remodeling in a dog model of atrial fibrillation: inhibition with angiotensin-converting enzyme // *Cardiovasc. Pathol.* — 2008. — V. 17, № 6. — P. 399–409.
16. Yasmin S., McEnery C., Wallace S. et al. Matrix metalloproteinase-9 (MMP-9), MMP-2, and serum elastase activity are associated with systolic hypertension and arterial stiffness // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* — 2005. — V. 25, № 2. — P. 372–378.
17. Rude M., Duhanev T., Kuster G. et al. Aldosterone stimulates matrix metalloproteinases and reactive oxygen species in adult rat ventricular cardiomyocytes // *Hypertension.* — 2005. — V. 46, № 3. — P. 555–561.
18. Marcy T., Ripley T. Aldosterone antagonists in the treatment of heart failure // *Am. J. Health Syst. Pharm.* — 2006. — V. 63, № 1. — P. 49–58.
19. Jeong Y., Chaupin D., Matsushita K. et al. Aldosterone activates endothelial exocytosis // *PNAS.* — 2009. — V. 106, № 10. — P. 3782–3787.

