

Метаболомные и транскриптомные маркеры развития фиброза миокарда

Актуальность исследования

Миокард представляет собой сложную структуру, в которую интегрированы клетки различного происхождения, связанные между собой системой межклеточного взаимодействия и ауто/паракринной регуляции. Изменение нормальной структуры и функции внеклеточного матрикса может приводить к нарушению функционирования внутриклеточных сигнальных систем кардиомиоцитов и их межклеточного взаимодействия, что, в итоге, влияет на систолическую и/или диастолическую функцию миокарда и может быть причиной развития нарушений ритма и проводимости. Из-за сходства патоморфологических изменений в органах-мишенях высказана концепция общности патогенетических механизмов развития фиброза. Прогрессирование заболевания у больных с фибрилляцией предсердий обусловлено не только структурными изменениями в предсердиях, но и развитием фиброза в миокарде желудочков. Механизмы формирования так называемой «фиброзной кардиомиопатии» до конца не изучены. Определение клинических, гистологических и биохимических параллелей в формировании фиброзного поражения миокарда до сих пор остается первоочередной задачей.

Научная платформа

Кардиология и ангиология

Научные подразделения исполнители(с указанием руководителя исследования)

Руководитель исследования: зав.НИО некоронарогенных заболеваний сердца, д.м.н. Моисеева О.М.

Институт сердца и сосудов:

1. НИО аритмологии
2. НИО некоронарогенных заболеваний сердца
3. НИО сосудистой хирургии, НИЛ интервенционной кардиологии
4. НИО физиологии кровообращения

Институт молекулярно биологии и генетики

НИЛ молекулярной кардиологии

НИО лучевой диагностики

НИЛ патоморфологии

Ключевые слова

сердечный фиброз, диагностика, циркулирующие биомаркеры, экспрессия генов, прогноз

Цель проекта

Выявить особенности формирования фиброза миокарда при различных сердечно-сосудистых заболеваниях, оценить диагностическое и прогностическое значение исследования различных биомаркеров, в том числе транскриптомных, для обоснования персонализированного подхода к лечению пациентов.

Задачи проекта

Задача 1. Провести сравнительный анализ данных гистологического и иммуногистохимического исследования биоптатов миокарда с уровнем циркулирующих релевантных маркеров фиброза, выявив наиболее информативные показатели для определения степени тяжести фиброзных изменений и прогноза пациентов.

Задача 2. С помощью 3-хмерного электроанатомического картирования охарактеризовать фиброзные изменения в миокарде, сопоставив их с данным двух/трехмерной эхокардиографии и магнитно-резонансной томографии с контрастным усилением.

Задача 3. Провести оценку ЭКГ-маркеров фиброза и кардиографических маркеров электрической

нестабильности миокарда для стратификации риска пациентов с различными типами и распространенностью фиброзных изменений миокарда.

Задача 4. Охарактеризовать экспрессию мРНК основных паракринных регуляторов фиброза в тканях сердца и сопоставить ее с уровнем эквивалентных биомаркеров в клетках периферической крови.

Задача 5. Разработать модель стратификации риска пациентов с фибрилляцией предсердий и первичными кардиомиопатиями для оценки прогноза интервенционных и кардиохирургических вмешательств

Достигнутые результаты проекта

Обследован 41 пациент с фибрилляцией предсердий и 15 пациентов с гипертрофической кардиомиопатией. В рамках выполнения темы НИР за 2016г получены предварительные данные о сопряженности морфофункциональных изменений миокарда желудочков и предсердий у больных с различными вариантами сердечной недостаточности и фибрилляцией предсердий. Выявлено негативное влияние традиционных модифицируемых и немодифицируемых факторов риска на структурные изменения миокарда у больных с фибрилляцией предсердий. Установлено, что развитие фиброзных изменений в миокарде тесно связано с инфильтрацией клетками воспаления, которые приводят к повышению продукции основных паракринных регуляторов фиброза и увеличению экспрессии генов *TGFβ* и *GAL3*. При развитии фиброзных изменений меняется не только интенсивность синтеза коллагенов I и III типов, но и их соотношение в сторону увеличения синтеза коллагена I типа, определяющего жесткость миокарда и развитие диастолической дисфункции. Последней способствует нарушение процессов деградации коллагена, о чем свидетельствует увеличение экспрессии гена *TIMP1*. Более выраженным по сравнению с группой пациентов с фибрилляцией предсердий фиброзным изменениям в миокарде больных гипертрофической кардиомиопатией соответствует и значимое повышение экспрессии генов *TIMP1* (в 53 раза), *TGFβ* (в 50 раз) и *GAL3* (в 116 раз) в ткани миокарда. По предварительным данным электроанатомического картирования высокой плотности эндокардиальной поверхности сердца пациентов с фибрилляцией предсердий складывается представление о вовлечении в процесс аритмогенного ремоделирования всех камер сердца. Формирование в левом предсердии локального электроанатомического субстрата значительной относительной площади свидетельствует о большей приверженности миокарда левого предсердия к процессам аритмогенного ремоделирования. Вероятно, поэтому при анализе классических биомаркеров сердечной недостаточности, таких как NT-proBNP sST2 и галектин-3, мы регистрируем увеличение их уровня по мере нарастания структурных изменений миокарда. План НИР на 2016г выполнен полностью.

Ожидаемые результаты проекта

1. При гистологическом/иммуногистохимическом исследовании будут охарактеризованы типы структурных изменения экстрацеллюлярного матрикса и их роль в развитии сердечной недостаточности и нарушений ритма.
2. Будет описана МР-семиотика различных морфологических вариантов фиброзных изменений в миокарде.
3. Будет определена патоморфологическая основа «электроанатомического субстрата» нарушений ритма.
4. Будет изучена информативность, а также прогностическая значимость исследования циркулирующих маркеров фиброза в сопоставлении с данными морфологического/иммуногистохимического анализа и оценки паттерна экспрессии мРНК в тканях и клетках периферической крови.
5. Будет предложен дифференцированный подход к выбору метода лечения (консервативное, интервенционное, хирургическое) с учетом данных о степени выраженности сердечного фиброза и отдаленных результатов интервенционного/

кардиохирургического вмешательства, а также предложены новые мишени для терапевтических воздействий.

6. Будет разработана математическая модель прогнозирования эффективности интервенционных и хирургических вмешательств.

Назначение и предполагаемое использование (внедрение) результатов проекта

Результаты проведенной работы позволят расширить представление о механизмах формирования сердечного фиброза при различных сердечно-сосудистых заболеваниях, а также получить дополнительную информацию о возможностях и сравнительной информативности современных методов инвазивной и неинвазивной диагностики фиброза. В работе предполагается получить новые данные о структурных изменениях в миокарде на основании изучения относительной площади электроанатомического субстрата, оцененного методом контактного картирования миокарда, и зон фиброза, оцененных методом магнитно-резонансной томографии с контрастным усилением. Планируется получить дополнительную информацию о количественных и качественных характеристиках фиброза миокарда, а также о роли воспаления в развитии сердечного фиброза. Будет проведено комплексное изучение электрокардиографических маркеров, связанных с процессами фиброза миокарда, нацеленное на создание простых неинвазивных методов стратификации риска внезапной смерти. Проведённые исследования будут полезны для оценки прогноза пациентов и поиска новых мишеней для терапевтического воздействия. Выполнение данного проекта предполагает использование многочисленных современных методов исследования, с которыми планируется ознакомить обучающихся в ФГБУ СЗФМИЦ им. В.А. Алмазова в рамках образовательного процесса. Это будет способствовать развитию более эффективного взаимодействия фундаментальной биомедицинской науки и практической медицины, позволит студентам, клиническим ординаторам, аспирантам и врачам, обучающимся на курсах постдипломного образования лучше ориентироваться в современной научной литературе в областях молекулярной медицины, клеточной биологии и новых методах диагностики.

Описание научного исследования

Предлагаемая работа является проспективным клиническим исследованием. На основании анализа литературных данных выдвинута гипотеза о том, что различные виды фиброза имеют специфический паттерн экспрессии мРНК в тканях миокарда, профиль циркулирующих биомаркеров, особенности электроанатомического субстрата и МРТ картирования. Для проверки этой гипотезы будут проведены биопсийные исследования миокарда желудочков, определен профиль электроанатомического ремоделирования миокарда предсердий и желудочков методом вольтажного и активационного эндокардиального картирования высокой плотности (с измерением площади низковольтных зон, ассоциированных с замедлением скорости проведения электрического импульса). Для визуального сопоставления зон сниженной вольтажности будет проведена МРТ сердца с контрастным усилением. Будет проведено сравнительное исследование циркулирующих биомаркеров фиброза миокарда, а также экспрессия кандидатных генов в тканях миокарда и клетках периферической крови. Исходя из полученных результатов, будут сделаны выводы о роли сердечного фиброза в патогенезе сердечной недостаточности и нарушений ритма.

Описание научных подходов и методов, используемых для решения поставленных задач

В исследование будут включены 200 пациентов с нарушениями ритма и сердечной недостаточностью, которым показано проведение эндомиокардиальной биопсии. Гистологическое исследование биопсийного материала будет проводиться по стандартному протоколу с использованием окрасок гематоксилином и эозином, трихрома Массона. Иммуногистохимическое исследование биоптатов миокарда предполагает с использованием антител к CD3, CD45, CD68, HLA-DR, CD34 и коллагену Col-1a. Все пациенты будут проходить стандартное лабораторное, электрокардиографическое и эхокардиографическое обследование. Для выполнения электроанатомического картирования миокарда будет использоваться нефлюороскопическая система трехмерной эндокардиальной навигации CARTO 3 (Biosense Webster, США). Магнитно-резонансная томография (МРТ) сердца с контрастным усилением (гадовист Gd-DO3A 0,2 мл/кг массы тела) выполняться на высокопольном Magnetom Trio A Tim 3,0 T (Siemens). Исследование экспрессии генов MMP-2,9/TIMP-1, TGF β , sST2, галектин-3 будет проведено с применением ПЦР в реальном времени после обратной транскрипции. Исследование циркулирующих биомаркеров фиброза миокарда (PICP, PIIINP, ICTP, MMP/TIMP, TGFbeta1, галектин-3, sST2) будет проводится иммуноферментным методом. План предлагаемого проекта получил одобрение локального этического комитета СЗФМИЦ им. В.А. Алмазова, все исследования с участием физических лиц будут проведены в соответствии с Хельсинской декларацией.