

Міністерство охорони здоров'я України
Запорізький державний медико-фармацевтичний університет

Факультет ІІ медичний

УДК 616-008:547.367]+616-091.8]-06:616.12-008.331

Паршивлюк Олена Сергіївна

Група 3

**Клініко-діагностичне і прогностичне значення дослідження матриксної
металопротеїнази-1 при ішемічній хворобі серця**

КВАЛІФІКАЦІЙНА РОБОТА МАГІСТРА

зі спеціальності

224 «Технології медичної діагностики та лікування»

Галузь знань 22 «Охорона здоров'я»

Освітня програма «Лабораторна діагностика»

Науковий керівник:

кандидат медичних наук, доцент

кафедри внутрішніх хвороб - 3

Роман Леонідович Кулинич

Запоріжжя

2024

Міністерство охорони здоров'я України
Запорізький державний медико-фармацевтичний університет

Факультет II медичний

Кафедра Внутрішніх хвороб - 3

Галузь знань 22 «Охорона здоров'я»

Спеціальність 224 «Технології медичної діагностики та лікування»

Освітня програма «Лабораторна діагностика»

Освітня програма вищої освіти України Другий магістерський рівень

Освітньо-кваліфікаційний рівень Магістр

КВАЛІФІКАЦІЙНА РОБОТА

на тему

**Клініко-діагностичне і прогностичне значення дослідження матриксної
металопротеїнази-1 при ішемічній хворобі серця**

Студентка Паршивлюк Олена Сергіївна _____ Група 3

КЕРІВНИК РОБОТИ: кандидат медичних наук, доцент кафедри внутрішніх
хвороб 3

Кулинич Роман Леонідович _____

РЕЦЕНЗЕНТ: завідувач кафедри клінічної фармакології, фармації і
фармакотерапії та косметології, доктор медичних наук, професор

Крайдашенко Олег Вікторович _____

Робота розглянута на засіданні кафедри (протокол від «__» _____ 2024 р. №__) і
допущена до захисту

ЗАВІДУВАЧ КАФЕДРИ внутрішніх хвороб 3 доктор медичних наук, професор

Доценко Сергій Якович _____

Запоріжжя

2024

Реферат

Магістерська робота: 64 с., 7 табл., 60 літературних джерел.

Актуальність. Детальне вивчення патогенезу ішемічної хвороби серця (ІХС) та патобіохімічних процесів, що протікають у міокарді, показало, що стан пацієнтів та динаміка захворювання безпосередньо пов'язані з процесами ремоделювання та колагенутворення в ділянках ішемізованого міокарда. В останні роки принципово новим напрямом, що дозволяє отримати достовірні відомості про патобіохімічні зміни, які відбуваються в пошкодженому міокарді, є вивчення концентрації матриксних металопротеїназ (ММП) та їх тканинних інгібіторів (ТІМП), які відповідають за деградацію основних клітинних сполучнотканинних структур. Зміна ступеня активності ММП відображає ступінь пошкодження колагенових фібрил екстрацелюлярного матриксу і може супроводжувати розвиток різних захворювань (ревматоїдний артрит, інвазивні пухлини, атеросклероз, аневризма, дилатаційна кардіоміопатія (ДКМП)). Вивчення механізмів розвитку фібриляції передсердь (ФП) при ДКМП у хворих на ІХС становить значний інтерес для лікарів-кардіологів та терапевтів, оскільки має вирішальне значення для позитивного клінічного результату захворювання. У фокусі проблематики ІХС сьогодні знаходяться саме питання ефективної ранньої інструментальної та біохімічної діагностики ДКМП, а також можливості прогнозування виникнення ФП у віддалений період у хворих, які перенесли інфаркт міокарду (ІМ), вони мають головне та першочергове значення.

Мета дослідження: дослідження клініко-діагностичного і прогностичного значення матриксної металопротеїнази-1 при ішемічній хворобі серця.

Завдання дослідження:

1. За даними лабораторних та інструментальних досліджень оцінити ступінь тяжкості хронічної серцевої недостатності у групах хворих з ішемічною хворобою серця, які перенесли інфаркт міокарда.

2. Вивчити рівень матриксної металопротеїнази-1 та її тканинного інгібітора у сироватці крові у хворих на ішемічну хворобу серця, які перенесли інфаркт міокарда, з фібриляцією передсердь, з дилатаційною кардіоміопатією і без неї.

3. На основі аналізу отриманих даних розробити метод прогнозування розвитку фібриляції передсердь у хворих з ішемічною хворобою серця, які перенесли інфаркт міокарда, з дилатаційною кардіоміопатією.

Об'єкт дослідження: хворі на ішемічну хворобу серця, які перенесли інфаркт міокарда, з фібриляцією передсердь, з дилатаційною кардіоміопатією і без неї.

Предмет дослідження: рівні матриксної металопротеїнази-1 та її тканинного інгібітора у сироватці крові у хворих на ішемічну хворобу серця, які перенесли інфаркт міокарда, з фібриляцією передсердь, з дилатаційною кардіоміопатією і без неї.

Наукова новизна одержаних результатів:

Проведено вивчення активності ММП1 та ТІМП1 у сироватці крові хворих з постінфарктним ремоделюванням міокарду (РМ) при різних клінічних варіантах перебігу ІХС. Вивчено взаємозв'язки в системі «металопротеїназа-інгібітор» залежно від клінічних особливостей ІХС у хворих.

З використанням методів математичного аналізу, проведено оцінку інформаційної цінності окремих анамнестичних даних, клінічних та лабораторних ознак, показників ЕхоКС, концентрацій сироваткових ММП1 та ТІМП1 для діагностики ФП у хворих з ІХС. В результаті проведеного дослідження було відібрано низку найбільш значущих діагностичних параметрів, що відображають патофізіологічний зв'язок процесів колагеноутворення та РМ.

На основі комплексу клініко-лабораторних, біохімічних та інструментальних показників, із застосуванням патометричного алгоритму розпізнавання, розроблено метод прогнозування ФП у хворих з ІХС. Для всіх показників були розраховані прогностичні коефіцієнти та підготовлені прогностичні таблиці, що дозволяють скласти індивідуальний прогноз розвитку ФП у хворих на ІМ.

Практичне значення отриманих результатів:

Результати дослідження підтвердили теоретичні уявлення про те, що кількісна та якісна оцінка дисбалансу ферментативної системи ММП та їх ТІМП є наочним і достовірним методом діагностики підвищеного колагеноутворення, а як наслідок, і фіброзування при різних клінічних формах ІХС.

Отримані в ході дослідження дані про зміну концентрації ММП1 та ТІМП1 при різних клінічних варіантах ІХС доповнюють знання про роль системи «ММП1-ТІМП1» у розвитку міокардіального фіброзу у хворих, які перенесли ІМ.

Впровадження методу прогнозування ФП у хворих на ДКМП дозволяє у ранні терміни виявити контингент хворих з найбільшою ймовірністю розвитку цього грізного ускладнення та своєчасно провести необхідні превентивні заходи.

Перелік ключових слів: ІШЕМІЧНА ХВОРОБА СЕРЦЯ, ІНФАРКТ МІОКАРДА, ФІБРИЛЯЦІЯ ПЕРЕДСЕРДЬ, ДИЛАТАЦІЙНА КАРДІОМІОПАТІЯ, ХРОНІЧНА СЕРЦЕВА НЕДОСТАТНІСТЬ, МАТРИКСНІ МЕТАЛОПРОТЕЇНАЗИ, ТКАНІННІ ІНГІБІТОРИ МАТРИКСНИХ МЕТАЛОПРОТЕЇНАЗ.

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

АГ -	артеріальна гіпертензія
ГКМП -	гіпертрофічна кардіоміопатія
ГЛШ -	гіпертрофія лівого шлуночка
ДКМП -	дилатаційна кардіоміопатія
ДЛШ -	дилатація лівого шлуночка
ІГМШП -	ізольована гіпертрофія міжшлуночкової перегородки
ІМ -	інфаркт міокарду
ІММ -	індекс маси міокарда лівого шлуночка
ІОМ -	індекс обсяг-маса міокарда лівого шлуночка
ІХС -	ішемічна хвороба серця
КГЛШ -	концентрична гіпертрофія лівого шлуночка
КДО -	кінцевий діастолічний об'єм лівого шлуночка
КДР -	кінцевий діастолічний розмір лівого шлуночка
КРМЛШ -	концентричне ремоделювання міокарда лівого шлуночка
КСВ -	кінцевий систолічний об'єм лівого шлуночка
КСР -	кінцевий систолічний розмір лівого шлуночка
ЛП -	ліве передсердя
ЛШ -	лівий шлуночок
ММЛШ -	маса міокарда лівого шлуночка
ММП -	матриксні металопротеїнази
МПМ -	міокардіальний позаклітинний матрикс
МРТ -	магнітно-резонансна томографія
МШП -	міжшлуночкова перегородка
ПМІМ -	перенесений в минулому інфаркт міокарду

- PM - ремоделюванням міокарду
- ССЗ - серцево-судинні захворювання
- ТІМП - тканинні інгібітори матриксних металопротеїназ
- ТІВРЛШ - тривалість ізовольометричного розслаблення лівого шлуночка
- ТУРРЛШ - тривалість уповільнення ранньої релаксації лівого шлуночка
- ФВ - фракція викиду
- ФП - фібриляція передсердь
- ХСН - хронічна серцева недостатність

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ	6
ЗМІСТ	8
ВСТУП	9
РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ. СУЧАСНИЙ ПОГЛЯД НА РОЛЬ МАТРИКСНИХ МЕТАЛОПРОТЕЇНАЗ ТА ЇХ ІНГІБІТОРІВ У ПАТОГЕНЕЗИ ФІБРИЛЯЦІЇ ПЕРЕДСЕРДЬ ТА ДИЛАТАЦІЙНОЇ КАРДІОМІОПАТІЇ У ХВОРИХ З ІШЕМІЧНОЮ ХВОРОБОЮ СЕРЦЯ	12
РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ	24
РОЗДІЛ 3. АНАЛІЗ РІВНІВ СИРОВАТКОВОЇ МЕТАЛОПРОТЕЇНАЗИ-1 ТА ТКАНИННОГО ІНГІБІТОРУ СИРОВАТКОВОЇ МЕТАЛОПРОТЕЇНАЗИ-1 У ПАЦІЄНТІВ З ІШЕМІЧНОЮ ХВОРОБОЮ СЕРЦЯ	29
РОЗДІЛ 4. РОЗРОБКА МЕТОДИКИ ПРОГНОЗУВАННЯ ФІБРИЛЯЦІЇ ПЕРЕДСЕРДЬ У ХВОРИХ З ІШЕМІЧНОЮ ХВОРОБОЮ СЕРЦЯ НА ПІДСТАВІ РІВНІВ СИРОВАТКОВОЇ МЕТАЛОПРОТЕЇНАЗИ-1 ТА ТКАНИННОГО ІНГІБІТОРА СИРОВАТКОВОЇ МЕТАЛОПРОТЕЇНАЗИ-1	34
РОЗДІЛ 5. АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ ОТРИМАНИХ РЕЗУЛЬТАТІВ	45
ВИСНОВКИ	54
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ ЛІТЕРАТУРИ	55

ВСТУП

Ішемічна хвороба серця (ІХС) – найпоширеніше захворювання серцево-судинної системи. Медико-соціальну значущість цієї проблеми важко переоцінити. За даними найбільших епідеміологічних досліджень, починаючи з 2014 року, на долю різних клінічних форм ІХС припадає до 50% усіх причин летальних наслідків у загальному реєстрі серцево-судинної патології [1]. Серед хворих на ІХС особливе місце посідають пацієнти, які перенесли гострий інфаркт міокарда (ІМ). Саме цей контингент осіб, через тяжкість стану та внаслідок розвитку найбільшої кількості ускладнень, вимагає проведення постійно контрольованої комплексної медикаментозної терапії та неодноразової госпіталізації до спеціалізованого стаціонару протягом року, що, безсумнівно, тягне за собою величезне економічне навантаження на систему охорони здоров'я [2]. Дані численних епідеміологічних досліджень свідчать про те, що найбільш грізними результатами ІХС є такі стани, як фібриляція передсердь (ФП) та дилатаційна кардіоміопатія ішемічного генезу (ДКМП), які сприяють швидкому розвитку хронічної серцевої недостатності (ХСН) і зумовлюють до 27% летальності у популяції хворих на ІХС [3].

Детальне вивчення патогенезу ІХС та патобіохімічних процесів, що протікають у міокарді, показало, що стан пацієнтів та динаміка захворювання безпосередньо пов'язані з процесами ремоделювання та колагеноутворення в ділянках ішемізованого міокарда [4]. В останні роки принципово новим напрямом, що дозволяє отримати достовірні відомості про патобіохімічні зміни, які відбуваються в пошкодженому міокарді, є вивчення концентрації матриксних металопротеїназ (ММП) та їх тканинних інгібіторів (ТІМП), які відповідають за деградацію основних клітинних сполучнотканинних структур. Зміна ступеня активності ММП відображає ступінь пошкодження колагенових фібрил екстрацелюлярного матриксу і може супроводжувати розвиток різних захворювань (ревматоїдний артрит, інвазивні пухлини, атеросклероз, аневризма, ДКМП) [5]. Вивчення механізмів розвитку ФП при ДКМП у хворих на ІХС становить значний інтерес для лікарів-кардіологів та терапевтів, оскільки має вирішальне значення для

позитивного клінічного результату захворювання. У фокусі проблематики ІХС сьогодні знаходяться саме питання ефективної ранньої інструментальної та біохімічної діагностики ДКМП, а також можливості прогнозування виникнення ФП у віддалений період у хворих, які перенесли ІМ, вони мають головне та першочергове значення.

Мета дослідження: дослідження клініко-діагностичного і прогностичного значення матриксної металопротеїнази-1 при ішемічній хворобі серця.

Завдання дослідження:

1. За даними лабораторних та інструментальних досліджень оцінити ступінь тяжкості хронічної серцевої недостатності у групах хворих з ішемічною хворобою серця, які перенесли інфаркт міокарда.

2. Вивчити рівень матриксної металопротеїнази-1 та її тканинного інгібітора у сироватці крові у хворих на ішемічну хворобу серця, які перенесли інфаркт міокарда, з фібриляцією передсердь, з дилатаційною кардіоміопатією і без неї.

3. На основі аналізу отриманих даних розробити метод прогнозування розвитку фібриляції передсердь у хворих з ішемічною хворобою серця, які перенесли інфаркт міокарда, з дилатаційною кардіоміопатією.

Об'єкт дослідження: хворі на ішемічну хворобу серця, які перенесли інфаркт міокарда, з фібриляцією передсердь, з дилатаційною кардіоміопатією і без неї.

Предмет дослідження: рівні матриксної металопротеїнази-1 та її тканинного інгібітора у сироватці крові у хворих на ішемічну хворобу серця, які перенесли інфаркт міокарда, з фібриляцією передсердь, з дилатаційною кардіоміопатією і без неї.

Наукова новизна одержаних результатів:

Проведено вивчення активності ММП1 та ТІМП1 у сироватці крові хворих з постінфарктним ремоделюванням міокарду (РМ) при різних клінічних варіантах перебігу ІХС. Вивчено взаємозв'язки в системі «металопротеїназа-інгібітор» залежно від клінічних особливостей ІХС у хворих.

З використанням методів математичного аналізу, проведено оцінку інформаційної цінності окремих анамнестичних даних, клінічних та лабораторних

ознак, показників ЕхоКС, концентрацій сироваткових ММП1 та ТІМП1 для діагностики ФП у хворих з ІХС. В результаті проведеного дослідження було відібрано низку найбільш значущих діагностичних параметрів, що відображають патофізіологічний зв'язок процесів колагеноутворення та РМ.

На основі комплексу клініко-лабораторних, біохімічних та інструментальних показників, із застосуванням патометричного алгоритму розпізнавання, розроблено метод прогнозування ФП у хворих з ІХС. Для всіх показників були розраховані прогностичні коефіцієнти та підготовлені прогностичні таблиці, що дозволяють скласти індивідуальний прогноз розвитку ФП у хворих на ІМ.

Практичне значення отриманих результатів:

Результати дослідження підтвердили теоретичні уявлення про те, що кількісна та якісна оцінка дисбалансу ферментативної системи ММП та їх ТІМП є наочним і достовірним методом діагностики підвищеного колагеноутворення, а як наслідок, і фіброзування при різних клінічних формах ІХС.

Отримані в ході дослідження дані про зміну концентрації ММП1 та ТІМП1 при різних клінічних варіантах ІХС доповнюють знання про роль системи «ММП1-ТІМП1» у розвитку міокардіального фіброзу у хворих, які перенесли ІМ.

Впровадження методу прогнозування ФП у хворих на ДКМП дозволяє у ранні терміни виявити контингент хворих з найбільшою ймовірністю розвитку цього грізного ускладнення та своєчасно провести необхідні превентивні заходи.

РОЗДІЛ 1
ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ.
СУЧАСНИЙ ПОГЛЯД НА РОЛЬ МАТРИКСНИХ
МЕТАЛОПРОТЕЇНАЗ ТА ЇХ ІНГІБІТОРІВ У ПАТОГЕНЕЗІ ФІБРИЛЯЦІЇ
ПЕРЕДСЕРДЬ ТА ДИЛАТАЦІЙНОЇ КАРДІОМІОПАТІЇ У ХВОРИХ З
ІШЕМІЧНОЮ ХВОРОБОЮ СЕРЦЯ

ММП, або матриксні металопротеїнази, відносяться до сімейства цинк-залежних металопротеїназ, функція яких пов'язана з обміном білків міжклітинного матриксу [6]. Ці ферменти відіграють вирішальну роль при розвитку таких фізіологічних процесів, як морфогенез, резорбція та ремоделювання тканин, міграція, адгезія, диференціювання та проліферація клітин, а також у розвитку та прогресуванні дуже багатьох патологічних станів, що протікають у тканинах, де ключову роль у гістоархітектоніці грають елементи позаклітинного матриксу (ревматоїдний артрит, гломерулонефрит, бронхоальвеолярний фіброз, фіброзування печінки при хронічних гепатитах різної етіології, фіброз міокарда при ІХС та ХСН, пародонтити, виразка рогівки очей та ін.). Особливе місце відводиться ММП у генералізації процесів інвазії та метастазування пухлин, ступеня агресивності пухлинного росту деяких гістотипів злоякісних новоутворень [7].

Сімейство ММП має деякі загальні характерні риси. У той самий час, виходячи з даних структурної організації та субстратної специфічності у сімействі ММП виділено чотири підсімейства: колагенази, желатинази, стромелізени та інші ММП, які не належать до перелічених підсімейств. ММП представлених підсімейств можуть відрізнятися способом активації проферментів та особливостями взаємодії з ТІМП [8].

ММП синтезуються і секретуються цілим рядом клітин: фібробластами, епітеліальними клітинами, фагоцитами, лімфоцитами та онкогеннотрансформованими клітинами. За здатність цих ферментів специфічно гідролізувати всі основні білки матриксу, вони були названі матриксинами [9].

Нині відомо близько 15-18 представників цього сімейства, охарактеризованих різною мірою. Усі члени сімейства мають спільні характерні риси:

1) містять цинк в активному центрі та відносяться до кальцій-залежних протеїназ, інгібуються хелатними агентами;

2) каталітичний домен містить три залишки гістидину, які зв'язують атом цинку в активному центрі;

3) мають подібну доменну структуру;

4) гідролізують один або кілька компонентів матриксу та базальних мембран;

5) секретуються у вигляді проферментів (спочатку неактивних форм), пропептидний домен містить консервативну послідовність, яка відповідає за активацію проферменту – ММП;

6) проферменти ММП активуються поруч біологічно активних протеїназ та тіолмодифікуючими хімічними агентами;

7) інгібуються специфічними тканинними інгібіторами;

8) послідовності кодуючої ДНК усіх ММП мають високу ступінь гомології з кодуючою ДНК колагенази;

9) промоторні ділянки генів містять кілька подібних регуляторних послідовностей [10].

В даний час клоновані кодуючі ДНК всіх основних представників ММП, встановлено амінокислотну послідовність ММП, в якій виділено функціональні домени. Аналіз первинної структури показав, що ММП містять кілька постійних функціональних доменів [11].

Всі ММП синтезуються як пре-пробілки і секретуються як проферменти. Як перший домен ММП розглядається сигнальний пептид, так званий «пре»-домен, який забезпечує спрямовану секрецію молекули. Він складається, зазвичай, з 18-20 амінокислотних залишків і видаляється у процесі секреції. Профермент, що містить «пропептидний» домен, що складається з 77-87 амінокислотних залишків. До складу цього домену входить консервативна послідовність амінокислот, що містить неспарений залишок цистеїну, пов'язаний з іоном цинку активного

центру, так званий цистеїновий вимикач. Активація проферменту супроводжується дисоціацією цинк-цистеїнового зв'язку та відщепленням поліпептиду з масою 4000-15000 Да. Основна частина активної молекули ММП складається з двох ділянок N-і С-кінцевих доменів [12].

До першого, найбільш вивченого підсімейства ММП відносяться колагенази. В даний час відомі чотири представники цього сімейства: інтерстиціальна колагеназа, або колагеназа I типу (ММП1), колагеназа нейтрофілів (ММП8), колагеназа 3 (ММП13), колагеназа 4 (ММП18). ММП1 – перший тканинний фермент, який гідролізував спіральну ділянку колагену, була виявлена у 1962 р. у хвості пуголовка в період метаморфозу. В даний час відомо, що ММП1 синтезується рядом клітин: нормальними та трансформованими фібробластами, хондроцитами, епітеліальними клітинами, макрофагами. ММП8 була відкрита в нейтрофілах, за що і отримала назву нейтрофільної колагенази. ММП13 знайдено у клітинах карциноми грудної залози, а також у клітинах кісткової тканини гризунів. Усі ці ММП гідролізують інтерстиціальні колагени зв'язку Gly-Leu, розташованої на відстані 1/4 довжини молекули від С-кінця [13].

В даний час ММП1 стали називати інтерстиціальною колагеназою, щоб підкреслити її здатність гідролізувати три інтерстиціальні колагени – типи I, II і III, які істотно відрізняються один від одного [14]. Більш того, цей фермент гідролізує мінорні колагени типів VII і X, а також желатини різних колагенів, білки сполучнотканинного матриксу: ентактин, агрикан і, крім того, казеїн, α 2-макроглобулін, синтетичні субстрати, які за своєю послідовністю відповідають гідролізованій області в колагені та α 2-макроглобуліні [15]. Найкращим субстратом для ММП1 є молекула α 2-макроглобуліну, афінітет якого перевищує колагени різних типів у 200 разів.

Механізм гідролізу колагену ММП1 є дуже складним та повністю не вивчений. Спочатку ММП1 секретується у міжклітинний простір у вигляді проферменту про-ММП1, яка *in vitro* не здатна гідролізувати колаген. Рентгеноструктурний аналіз комплексів ММП1 та інгібіторів показав, що провідне значення ферментної активності ММП1 належить активаторам про-

ММП1, які оборотно зв'язуються з атомом цинку в активному центрі молекули. Активаторами про-ММП1 є: трипсин, плазмін, плазмовий калікреїн, хімаза, ММП3 та ММП7 [16].

Друге підсімейство матриксинів представляють желатинази або колагенази IV типу – желатиназа А (ММП2) і желатиназа В (ММП9). ММП2 синтезується багатьма нормальними та пухлинними клітинами та секретується у вигляді білка попередника з масою 72 кДа. ММП9 з масою 92 кДа була виявлена в нейтрофілах і макрофагах, а також у фібробластах, хондроцитах і Т-лімфоцитах після стимуляції їх цитокінами, форболовим ефіром, онкогенами, а також в інфікованих клітинах [17]. Обидва ферменти інтенсивно гідролізують желатини, які отримують з різних типів колагенів. Назва цих ферментів – колагенази IV типу вважається невдалим, оскільки крім колагену IV типу ці ферменти можуть гідролізувати колагени інших типів, і навіть ряд білків міжклітинного матриксу, зокрема і еластин. Крім того, желатинази значно краще гідролізують колаген V типу, ніж колаген IV типу, а ММП2 розщеплює колаген I типу за тим самим зв'язком, що і ММП1. ММП2, на відміну від ММП9, гідролізує фібрoneктин, ламінін та великий тенасцин-С-білок, а ММП9 розщеплює ентактин та колаген XIV типу [18].

Первинна структура ММП2 та ММП9 з різних джерел визначена за кДНК [19]. Обидва ферменти мають три послідовності, що повторюються, які складають фібрoneктиновий домен, що відповідає за зв'язування ферментів з фібрoneктином, желатинами, колагенами I і IV типів і ламініном. Передбачається, що домен фібрoneктину впливає на взаємодію ММП2 з матриксом. Желатинази гідролізують колагени за тими ж зв'язками, що й колагенази, але в колагені IV типу гідролізується желатиназами зв'язок, розташований на відстані 3/4 довжини молекули з С-кінця [20].

Третє сімейство ММП представляють два ферменти, названі стромелізинами – стромелізін-1 (ММП3) і стромелізін-2 (ММП10) [21]. Дані з клонування кДНК та амінокислотної послідовності дозволили ідентифікувати як стромелізини ряд раніше досліджених ферментів: транзини, протеогліканазу,

активатор проколагенази. ММПЗ продукується багатьма клітинами сполучної тканини, але у дуже незначних кількостях. Однак дія на ці клітини таких факторів, як цитокіни, фактори росту, форболовий ефір, онкогени призводить до різкої стимуляції синтезу як ММПЗ, так і ММП10 [22].

Слід наголосити, що жоден зі стромелізинів не гідролізує спіральну область молекул інтерстиціальних колагенів, а лише їх телопептидні (неспіралізовані) кінцеві ділянки. Обидва ферменти гідролізують ряд компонентів матриксу, включаючи агрікан, фібронектин, ламінін, колаген IV типу. ММПЗ активує про-ММП1, -7, -8, -9, виступає фізіологічним регулятором активності цих ферментів. Для ефективного гідролізу стромелізини вимагають велику субстратзв'язуючу ділянку [23].

Активність ферментів у тканинах залежить від рівня експресії їх генів та від наявності активаторів та інгібіторів ферментів у навколишньому середовищі. ММП у звичайних умовах містяться у тканинах у незначних кількостях. Ці протеїнази відносяться до «індукованих» ферментів, синтез яких на рівні транскрипції контролюється рядом факторів: цитокінами, факторами росту, хімічними сполуками (форболовий ефір, ліпополісахариди, колхіцин, цитохалазини та ін.), що діють на поверхню клітини (конканавалін А, фрагменти фібронекту RGD-пептиди та ін.), агентами, що гальмують рівень синтезу (глюкокортикоїди, естроген, прогестерон та ін.) [24]. Дія цих факторів залежить від типу клітин та ступеня мітотичної активності. Аналіз промоторів ММП показав, що вони містять загальні елементи, що відповідають за механізми регуляції експресії генів глюкокортикоїдами, естрогеном, прогестероном та ін. [25].

На посттрансляційному рівні у фізіологічних умовах відомі два основні шляхи регулювання активності ферментів:

- 1) активація ензимогенів;
- 2) взаємодія з ендogenousними тканинними інгібіторами [26].

Усі ензимогени ММП містять у пропептиді консервативну послідовність амінокислот, до якої входить залишок цистеїну. Рентгеноструктурні дослідження

показали, що цей залишок утворює координаційний зв'язок з атомом Zn^{2+} в активному центрі та локалізований неподалік С-кінця пропептидних фрагментів ММП. Активація проферментів *in vitro* може відбуватися за допомогою протеїназ, а також тіолмодифікуючих та хаотропних агентів. В обох випадках активація відбувається послідовно і на кінцевому етапі беруть участь деякі ММП, що вже перебувають в активній формі [27].

Про-ММП можуть бути активовані тіолмодифікуючими агентами, амінофенілмеркуріацетатом, йодацетамідом, етилмалеїмідом, окисленим глутатионом, хаотропними агентами та при нагріванні [28].

В 1996 р. був вивчений механізм активації про-ММП за участю «цистеїнового вимикача» [29]. При взаємодії з активатором відбувається розрив координаційного зв'язку та вивільнення іона Zn^{2+} , а залишок цистеїну реагує з активуючим реагентом і, таким чином, запобігає реасоціації залишку цистеїну з іоном Zn^{2+} . У такому ферменті може відбуватися внутрішня перебудова, у результаті гідролізуються один-два зв'язки в пропептиді та виникають форми ферментів з частковою активністю.

Так, у разі про-ММП1 при дії меркуріацетату утворюються продукти з молекулярною масою 47 і 42 кДа, які мають 15-40% максимальну активність ферменту. Подальша активація цих продуктів за допомогою ММП2 або ММП7 призводить до повної активної форми ММП1 [30].

Про-ММП активуються рядом протеолітичних ферментів, які є ендogenousними протеїназами та секретуються у різних концентраціях у міжклітинний матрикс. У більшості випадків активація проферментів відбувається ступінчасто: на першому ступені протеїназу-активатор атакує ділянку пептидного ланцюга, локалізованого в середині пропептиду, внаслідок чого утворюється проміжний продукт з незначною активністю. На наступному ступені залишок пропептиду видаляється за допомогою внутрішньомолекулярної реакції або при дії інших активних ММП. Встановлено, що для про-ММП1 найбільш потужними ендogenousними активуючими протеїназами є трипсин, плазмін та плазмовий калікреїн [31].

Активність ММП у фізіологічних умовах регулюється специфічними тканинними інгібіторами ММП – ТІМП. В даний час добре вивчено три ТІМП з різних тканин людини: ТІМП1, ТІМП2, ТІМП3, крім того, повідомляється про існування трьох додаткових ТІМП – ТІМП α , ТІМП β і ТІМП4 [32]. ТІМП зв'язуються з про-ММП та активними ММП стехіометрично, інгібуючи, таким чином, як автокаталітичну активацію латентних форм ММП, так і активні ферменти [33]. ТІМП розрізняються за їхньою специфічною дією на ММП. Так, ТІМП1 значно краще пригнічує желатиназу В (ММП9), тоді як ТІМП2 пригнічує активність желатинази А (ММП2). Інгібітори можуть бути інактивовані за допомогою ряду протеїназ – трипсину, хімотрипсину, стромелізину-3 та еластази нейтрофілів. Кодуючі ДНК ТІМП1-, -2, -3 клоновані, встановлена їхня амінокислотна послідовність. Показано, що молекули інгібіторів включають два домени, що містять по три дисульфідні зв'язки. N-кінцевий домен відповідає за інгібування ММП, а С-кінцевий сприяє взаємодії з ферментами [34].

ТІМП1 має різний ступінь афінитету до ММП – від максимального до ММП9 (желатиназа-В) і в порядку зменшення до ММП5 (желатиназа-А), до ММП3 і найменшого до ММП1 (інтерстиціальної колагенази). Молекула ТІМП1 має форму подовженого клина, довгий край якого, що містить п'ять різних ділянок ланцюга, повністю блокує всю довжину щілини активного центру ММП-3. Сегменти інгібітору, з'єднані дисульфідним зв'язком, блокують іон цинку каталітичного центру, при цьому цистеїн зв'язується з цинком активного центру, а бічний ланцюг втягується в «специфічну кишеню» ММП3. Отримані дані передбачається використовувати для створення нових синтетичних інгібіторів як потенційні лікарські засоби [35].

У тканинах ММП можуть інгібуватися α 2-макроглобуліном, який здатний нековалентно зв'язуватися з цими ферментами. До 95% інгібованої колагенази в плазмі знаходяться в комплексі з α 2-макроглобуліном. Передбачається, що α 2-макроглобулін виступає основним регулятором колагенолізу у фізіологічних рідинах [36].

У нормальних фізіологічних умовах ММП відіграють центральну роль у процесах морфогенезу, ремоделювання, реституції та резорбції ключових сполучнотканинних структур гістіонів строми внутрішніх органів, інтими судин, остеонів кісток, гліальних елементів нервової тканини, що, безумовно, розширило уявлення про структуру та функції анатомії, фізіології та біохімії. ММП у фізіологічних умовах секретуються із клітин у дуже незначних кількостях. Однією з характерних рис синтезу цих ферментів є його здатність до індукції, тобто, синтез та секреція ММП можуть контролюватись багатьма факторами, вплив яких встановлено при ряді фізіологічних та патологічних станів [37]:

- 1) фактори, що діють на поверхню клітини як специфічний рецепторний білок (конканавалін А, RGD-пептиди, фрагменти фібронектину, інтегрини та ін.);
- 2) ряд хімічних сполук (форболові ефіри, ліпо- та полісахариди, колхіцин, простагландин Е та ін.);
- 3) цитокіни та фактори росту (інтерферони, епідермальний фактор росту, фактор некрозу пухлин та ін.);
- 4) фізичні чинники (тепловий шок, опромінення) [38].

В останнє десятиліття відзначено високий інтерес до системи ММП та їх інгібіторів у розвитку більшості захворювань серцево-судинної системи (ССЗ), що мають величезну медико-соціальну значущість як у нашій країні, так і в розвинених зарубіжних країнах. Це насамперед ті захворювання серцево-судинної системи, які в основі свого патогенезу мають глибокі біохімічні порушення клітинного метаболізму міокарда та інтими судин, атеросклеротичні зміни, хронічну ішемію міокарда, що в кінцевому рахунку виражається в розмаїтті клінічних варіантів перебігу ІХС з наступним порушенням ритму та ДКМП, які мають високий відсоток інвалідизації та летальності [39].

Висока активність ММП спостерігається в атеросклеротичних бляшках. Макрофаги атеросклеротичних бляшок продукують значну кількість ММП. Протеази ініціюють процес руйнування структури атероми, збільшують її рухливість, ймовірність відриву від судинної стінки та появу емболу, здатного викликати закупорку судини. Призначення малих доз доксицикліну протягом 6

місяців знижує рівень ММП2, ММП9 в атеромах судин і, отже, попереджує відрив бляшки [40].

Пізніше з'явилися роботи про роль ММП і ТІМП у процесах РМ та колагеноутворення у хворих, які перенесли ІМ. РМ, обумовлене порушенням метаболізму білків позаклітинного матриксу, лежить в основі патогенезу деяких ССЗ, таких як ФП, ДКМП, ХСН та ІМ [41]. Ще в середині минулого століття було описано будову міокарда та роль міокардіального позаклітинного матриксу у підтримці орієнтації міоцитів у стінках лівого шлуночка (ЛШ).

Міокардіальний позаклітинний матрикс (МПМ) – це мережа матричних білків, яка не лише значною мірою визначає характер просторової кардіоваскулярної цитоархітектоніки, але й забезпечує, а також регулює міжклітинну взаємодію [42]. Поява електронної мікроскопії дозволила оцінити тривимірну структуру МПМ. Основними компонентами МПМ є різні види колагену та неколагенові білки. Крім цього, МПМ містить велику кількість біологічно активних молекул. За наявними даними рівень ангіотензину II та ендотеліну-1 у МПМ у десятки разів перевищує такий у плазмі крові [43].

МПМ виконує ряд важливих функцій, які визначають адаптивнорегенераторні та пластичні можливості серця [44]. При цьому МПМ розглядається як проміжне середовище, яке здійснює функції транспортування газів, іонів та метаболітів між цитоплазмою кардіоміоцитів та кров'ю. Таким чином, структурне ремоделювання МПМ може викликати порушення провідності та сприяти зниженню скоротливості міокарда, призводячи до порушення серцевої діяльності [45].

Вважають, що ММП3 відіграє важливу роль у природних процесах тканинного ремоделювання та патологічних процесах (остеоартритах та ревматоїдних артритах). Так, у 2004 році в одному з Європейських досліджень було показано, що активність ММП3 у пунктаті синовіальної рідини у кілька разів вища за будь-якої стадії ревматоїдного артриту, ніж у здорових людей [46]. А нещодавно проведене дослідження в США показало, що висока активність

сироваткової ММПЗ протягом декількох років може бути прогностичним маркером розвитку шлуночкової аритмії у підлітків з ГКМП [47].

ММПЗ каталізує деградацію багатьох компонентів сполучної тканини, включаючи протеоглікани, лінк-білок, колаген типів II, IV, IX та XI, ламінін та фібронектин. ММПЗ може також впливати на деградацію МПМ через активацію про-ММП1. ММПЗ секретується як профермент та активується шляхом обмеженого протеолізу тканинними та плазматичними ендопептидазами [48]. Експериментально встановлено, що промотор гена rs3025058, що індукує синтез ММПЗ, розташовується на 5 і 6 алелі. Поліморфізм цього гена при генотипі 5А/5А асоційований з високим ризиком смертності від повторних ІМ у хворих з наявністю ГКМП, генотип 6А/6А асоційований з прогресуючим стенозом внутрішньої сонної артерії [49].

Серед можливих способів прогнозування розвитку ускладнень ССЗ у вигляді ДКМП та ФП обговорюється оцінка показників ММП та ТІМП. Так, у дослідженнях низки авторів показано, що зміни активності ММП9 і ТІМП1 є незалежними предикторами ССЗ та летальності у пацієнтів з ІХС. Встановлено, що рівень ММП9 тим вищий, що більший обсяг атеросклеротичного ураження коронарного русла. Показано достовірне підвищення рівня ММП9 та ТІМП1 при поширеному атеросклерозі порівняно з хворими на стенокардію напруги та здорових людей. Це дає підставу використовувати ці два білки як маркери гострої фази розриву бляшки. У низці досліджень показано достовірне підвищення рівня ММП2 у хворих на нестабільну стенокардію та ІМ порівняно зі здоровими людьми [50].

За даними дослідження сироваткова ММПЗ є незалежним предиктором небажаних серцево-судинних подій у хворих на ДКМП, що може бути використане для стратифікації ризику цієї групи пацієнтів [51]. Рівень ММПЗ у сироватці крові корелює зі ступенем ураження коронарних артерій при ІХС [52]. У хворих на ІХС з ХСН при вивченні різних ММП асоціації виявлені тільки з ММП2, ТІМП1 та ТІМП2 [53].

Вивчається роль ММП у РМ при ГКМП. Дослідники оцінювали ступінь фіброзу у хворих на ГКМП за допомогою магнітно-резонансної томографії з контрастуванням та вимірювали рівень ММП9 у крові. Накопичення гадолінію під час проведення МРТ корелювало з підвищенням значень ММП9 [54]. У наступному дослідженні отримані дані, що сироватковий рівень ММП1 у групі хворих на ГКМП значно нижчий від такого в контрольній групі, а вміст ТІМП1 був навпаки підвищеним [55].

У групі хворих на ГКМП встановлено значне підвищення рівнів ММП2 та ММП9 у сироватці крові. Авторами було зроблено припущення, що потовщення міокарда обумовлено як гіпертрофією кардіоміоцитів, так і наступним за деструкцією колагену фіброзом МПМ. Крім цього, було виявлено зворотний кореляційний зв'язок між параметрами фракції викиду та рівнем ММП1 ($r = -0,48$). Зменшення амплітуди швидкостей раннього наповнення лівого шлуночка, що свідчить про діастолічну дисфункцію, корелювало зі збільшенням рівня ТІМП1 ($r = 0,67$) та зниженням концентрацій ММП1 ($r = 0,69$) [56].

Таким чином, проведений аналіз літератури дозволяє зробити висновок, що вивчення процесів розвитку та діагностики такої патології, як ФП та ДКМП у хворих, які страждають на ІХС на тлі прогресуючої ХСН, є сьогодні, безсумнівно, актуальною проблемою медицини. Численні епідеміологічні дослідження, проведені в розвинених країнах Західної Європи, США, Австралії та Південно-Східної Азії, демонструють неухильне зростання поширеності надшлуночкових порушень ритму серця у хворих на ІХС працездатного віку, що є основним джерелом летальності у пацієнтів, які перенесли ІМ [57].

ДКМП впевнено посіла третє місце серед етіологічних причин швидкопрогресуючої ХСН у хворих на ІХС. Вітчизняні епідеміологічні дослідження вказують на відносно низьку по відношенню до Європейських країн поширеність даної патології, що на тлі високих показників летальності від ХСН, безумовно, вказує на слабкість та дефекти ранньої діагностики, неможливість прогнозування розвитку прогресуючої ХСН та, як наслідок, відсутність адекватного лікування. Крім того, дані наукової літератури показують, що

вітчизняні дослідники не сформулювали єдиної рубрифікації та чітких діагностичних критеріїв для ДКМП, що також спотворює справжню статистичну картину [58].

За останнє десятиліття суттєво доповнились і розширилися уявлення про патогенез розвитку надшлуночкових порушень ритму серця, процеси фіброзу та дилатації міокарда на фоні довготривалої ІХС. У центрі уваги дослідників багатьох країн світу знаходиться ішемічне РМ. Досліджено десятки різних біологічно активних ендогенних речовин, які можуть розглядатися з позиції маркерів генезу патологічних процесів, що знаходять клінічний прояв у вигляді ФП, фіброзу та дилатації міокарда [59].

Найбільш перспективними маркерами даної патології можна вважати представників сімейства ММП та їх ТІМП, які відіграють ключову роль у процесах ремоделювання будь-якої тканини людського організму, що містить позаклітинні елементи сполучнотканинного матриксу, такі як колаген, еластин та фібрили. У зарубіжних дослідженнях отримано переконливі дані про роль системи ММП у генезі дифузних запальних захворювань сполучної тканини, процесах фіброзу та РМ на тлі перенесеного ІМ [60].

Вітчизняні дослідження демонструють можливість практичного застосування системи ММП для прогнозування розвитку гіпертрофії міокарда на тлі прогресуючої артеріальної гіпертензії, уроджених вад серця. Проте, вплив процесів РМ на розвиток ДКМП та ФП і прогресування ХСН залишаються все ще маловивченими.

РОЗДІЛ 2

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Результати дослідження базуються на даних комплексного обстеження та динамічного спостереження за 80 хворими обох статей, які були обстежені в період 2018-2022 рр. та перебували на стаціонарному лікуванні в КНП «Запорізька обласна клінічна лікарня» ЗОР. Перед початком дослідження отримано дозвіл комісії з питань біоетики Запорізького державного медичного університету МОЗ України. Усі особи надали письмову інформовану згоду на участь у проведенні дослідження.

Було обстежено 80 хворих, які страждають на ІХС (54 чоловіки (67,5%) та 26 жінок (32,5%). Усі хворі отримували терапію в повному обсязі згідно стандартів та клінічних рекомендацій щодо ведення хворих з ІХС та ХСН згідно з основним захворюванням. Середній вік пацієнтів становив 58 років ($57,1 \pm 1,12$ років у жінок та $58,4 \pm 0,90$ років у чоловіків). Групу контролю для вивчення показників сироваткової металопротеїнази-1 (ММП1) та її інгібітора (ТІМП1) склали 30 жителів міста Запоріжжя у віці від 50 до 60 років ($55,4 \pm 0,72$ років), які були добровольцями.

Загальні критерії включення до дослідження для всіх 4 груп:

1. Вік від 18 до 65 років.
2. Верифікований діагноз ІХС та перенесений в минулому інфаркт міокарду (ПМІМ) давністю понад 6 місяців.

Критерії виключення пацієнтів із усіх 4 груп дослідження:

1. Приналежність до соціально-уразливих груп пацієнтів у відповідності зі стандартами належної клінічної практики – Good clinical practice (GCP): особи віком до 18 років, студенти, вагітні жінки, особи з вираженими порушеннями психіки та органів чуття;
2. Відсутність письмової згоди щодо участі у дослідженні;

3. Виражена дисфункція печінки (щонайменше 3-кратне перевищення рівня АСТ та/або АЛТ верхньої межі норми) та/або нирок (креатинін у сироватці >180 ммоль/л, кліренс креатиніну менше 30 мл/хв).

4. Злоякісні та доброякісні новоутворення.

5. Наявність гострих та/або хронічних інфекційних захворювань (у тому числі ВІЛ, туберкульоз, вірусний гепатит, сифіліс).

6. Хронічна обструктивна хвороба легень 3-4 ступеня, декомпенсоване легеневе серце.

7. Цукровий діабет 1 типу, декомпенсований цукровий діабет 2 типу.

8. Аутоімунні та інфекційно-алергічні захворювання, у тому числі системні васкуліти.

9. Наявність вроджених та/або набутих вад серця.

10. Перенесене гостре порушення мозкового кровообігу та/або транзиторна ішемічна атака давністю менше 6 місяців до дослідження;

11. Будь-які клінічні та лабораторні прояви гострого запального процесу або загострення хронічного.

12. Гострі форми ІХС: нестабільна стенокардія, ІМ, перенесений раніше 6 місяців до початку дослідження.

13. ХСН ІV ФК з НУНА.

14. Кардіохірургічне лікування в анамнезі (установка кардіостимулятора, стентуючі та шунтуючі операції).

15. Хронічний алкоголізм, щоденне споживання алкоголю у перерахунку на чистий етанол більш ніж 100 мл протягом 3 років і більше.

У відповідності до завдань дослідження всі хворі, включені до дослідження, були поділені на 4 групи:

I група – хворі, які страждають на ІХС з діагностованим ПМІМ та ДКМП (20 осіб);

II група – хворі, які страждають на ІХС з діагностованим ПМІМ, ДКМП та різними формами ФП (21 особа);

III група – хворі, які страждають на ІХС з діагностованим ППІМ (22 особи);

IV група – хворі, які страждають на хронічні форми ІХС з діагностованим ПМІМ та різними формами ФП (17 осіб).

В основу дизайну дослідження ліг порівняльний аналіз кількісних показників ЕхоКС і сироваткової концентрації ММП1 і ТІМП1 у хворих, які страждають на ІХС за наявності ФП, клінічних ознак ДКМП або без них.

Лабораторні дослідження.

Метою лабораторних досліджень було визначити необхідні критерії для виключення пацієнтів із дослідження. Лабораторні тести були спрямовані на виявлення низки клінічних станів, супутньої патології органів і систем, які могли погіршувати перебіг ІХС та ХСН загалом, а також бути причиною декомпенсації ХСН при госпіталізації до стаціонару. Дисліпідемія встановлювалася на основі рекомендацій ESC 2019 з діагностики та корекції порушень ліпідного обміну. Усі лабораторні тести виконувались та інтерпретувалися відповідно до національних стандартів з клінічної лабораторної діагностики.

Перелік лабораторних тестів включав:

загальний клінічний аналіз крові з лейкоцитарною формулою та підрахунком ретикулоцитів;

загальний клінічний аналіз сечі;

визначення мікроальбумінурії;

Біохімічні дослідження:

визначення фракцій білірубину, трансаміназ, сироваткового креатиніну, сечовини та сечової кислоти;

визначення загального холестерину та ліпідного спектру (тригліцериди, ЛПНЩ, ЛПВЩ, ЛПДНЩ);

визначення рівня глікемії, глікованого гемоглобіну HbA1C (для виключення осіб, які страждають на цукровий діабет);

біологічні маркери некрозу міокарда (креатинфосфокіназа МВ – фракція, кількісне визначення тропоніну I);

визначення коагулограми (протромбін, МНО, АЧТЧ, фібриноген);

С-реактивний білок;

- електроліти плазми крові (Na, K, Cl);
- визначення тироксину та трийодтироніну (для виключення осіб з порушенням функції щитовидної залози);
- визначення мозкового натрійуретичного пептиду BNP/proBNP. Спеціальне лабораторне дослідження.

Вміст ММП1 та ТІМП1 у сироватці в крові визначали на імуноферментному аналізаторі з використанням відповідних тест-систем ІФА (виробник - Bender Medsystems, Австрія) в Навчально-науковому медико-лабораторному центрі з віварієм Запорізького державного медико-фармацевтичного університету МОЗ України (керівник – доц. Щербина Р.О.) згідно з доданою до набору інструкцією.

Рівень ММП1 та ТІМП1 у сироватці крові пацієнтів та здорових добровольців визначався за допомогою методу ІФА. Даний метод заснований на використанні антитіл або антигенів мічених ферментами, що дозволяє за ферментативною активністю реєструвати процес утворення комплексу антиген-антитіло. Забір крові у хворих проводили з ліктьової вени у кількості 10 мл. Кров забирали у вакуумні пробірки з розподільним гелем (виробництво BD), згідно з вимогами преаналітичного етапу дослідження через 20 хв центрифугували при 3000 об/хв. Сироватку крові аліквотували та заморожували в епендорфі при температурі мінус 20° Цельсія. Дослідження сироваток проводили як у день отримання, так і зберігали сироватки протягом не більше 3 місяців при температурі не вище мінус 20°С.

Для визначення концентрації матриксної металопротеїнази-1 та тканинного інгібітора матриксної металопротеїнази-1 у сироватці крові використовували фірмові набори реагентів, призначені для проведення ІФА у тестах *in vitro* – BMS2012 Bender Medsystems та BMS2018 Bender Medsystems відповідно. Визначення концентрації ММП1 і ТІМП1 проводили згідно з інструкцією, що поставляється з набором.

При статистичній обробці даних використовували ліцензійну програму «STATISTICA® for Windows 6.1» (StatSoft Inc., США, серійний номер

RGXR412D674002FWC7). Аналіз нормальності розподілу оцінювали за критерієм Шапіро-Уїлка. У випадках, коли розподіл змінної підпорядковувався нормальному закону, використовували процедуру однофакторного дисперсійного аналізу, відкидаючи нульову гіпотезу про відсутність розбіжності вибіркової сукупності при $p < 0,05$. У разі розподілу, відмінного від нормального, або аналізу порядкових змінних використовували U-критерій Манна-Уитни для 2-х незв'язаних вибірок, для більшого числа вибірок – критерій Краскела-Уалліса Н. Якщо кількість груп була 2, статистичну значущість відмінностей оцінювали за допомогою гетероскедастичного t-критерію Гессет. При аналізі впливу лікування на досліджувані параметри в разі нормального розподілу змінних використовували процедуру однофакторного дисперсійного аналізу повторних змін з подальшим використанням Ньюмена-Кейлза, враховуючи множинність порівнянь; якщо розподіл досліджуваних змінних не відповідав нормальному закону, використовували непараметричний аналог дисперсійного аналізу повторних змін – критерій Фрідмана. У випадку 2 груп, проводили порівняння за допомогою критерію Вілкоксона.

Для оцінки діагностичної значущості застосовували ROC-аналіз (Receiver Operating Characteristic) за допомогою побудови характеристичних кривих залежності чутливості і специфічності досліджуваних ознак і розрахунком площі під характеристичною кривою (AUC). Порівняння груп за якісною ознакою, а також при дослідженні частот зустрічальності показників, проводили за допомогою критерію χ^2 з аналізом таблиць спряженості.

РОЗДІЛ 3

АНАЛІЗ РІВНІВ СИРОВАТКОВОЇ МЕТАЛОПРОТЕЇНАЗИ-1 ТА ТКАНИННОГО ІНГІБІТОРУ СИРОВАТКОВОЇ МЕТАЛОПРОТЕЇНАЗИ-1 У ПАЦІЄНТІВ З ІШЕМІЧНОЮ ХВОРОБОЮ СЕРЦЯ

Виходячи з мети та завдань цього дослідження, ключовим кроком нашої роботи стало вивчення біохімічних процесів колагеноутворення МПМ у хворих з різними клінічними варіантами ІХС. Синтез та деградацію колагенових волокон, головним чином, визначає система матриксних металопротеїназ та їх ендогенних тканинних інгібіторів. У цьому дослідженні нами були вивчені рівні матриксної металопротеїнази-1 (ММП1) та її тканинного інгібітора (ТІМП1).

Показники сироваткової концентрації ММП1 в обстежених групах представлено у таблиці 3.1.

Таблиця 3.1

Розподіл показника концентрації матриксної металопротеїнази-1 у сироватці крові у хворих обстежених груп

Група	M±m	25%	75%	Max	Min
I група	4,93±0,14	4,61	5,43	5,99	3,97
II група	4,33±0,15	3,80	4,61	5,96	3,61
III група	6,38±0,16	5,78	7,02	7,60	5,27
IV група	6,00±0,14	5,74	6,33	7,11	4,92
Контроль	6,70±0,30	6,10	7,42	7,97	5,67
Значущість відмінностей	p _{1,2} =0,029; p _{3,4} =0,061; p _{5-1,2} <0,001; p _{5-3,4} >0,05				

Примітки: p_{1,2} – значущість відмінностей за критерієм Манна-Уїтні при порівнянні показника концентрації ММП1 I та II груп хворих між собою;

p_{3,4} – значущість відмінностей за критерієм Манна-Уїтні при порівнянні показника концентрації ММП1 III та IV груп хворих між собою;

p_{5-1,2} – значущість відмінностей за критерієм Манна-Уїтні при попарному порівнянні показника концентрації ММП1 I та II груп хворих з групою контролю;

p5-3,4 – значущість відмінностей за критерієм Манна-Уїтні при попарному порівнянні показника концентрації ММП1 III та IV груп хворих із групою контролю.

Як видно з наведених даних, найменша активність матриксної металопротеїнази-1 визначалася у хворих з I та II груп, де клінічний варіант ІХС супроводжувався наявністю ДКМП. Статистичні відмінності виявилися суттєвими в обох групах при порівнянні значень показника ММП1 з групою контролю ($p < 0,0001$ згідно з критерієм Манна-Уїтні), порівняння клінічних варіантів ІХС у I групі у хворих з ПМІМ+ДКМП із II групою, де наявність ДКМП комбінується з ФП – також виявлено суттєві статистичні відмінності, але на невисокому рівні ($p = 0,029$ згідно з критерієм Манна-Уїтні).

Активність ММП1 у III та IV групах хворих була співставна з групою контролю або навіть нижче за рівнями, при цьому значення показника ММП1 як у III, так і у IV групі при порівнянні з групою контролю не відрізнялися ($p > 0,05$ згідно з критерієм Манна-Уїтні). При порівнянні значень ММП1 між собою у III та IV групах також значних відмінностей не виявлено ($p = 0,061$ згідно з критерієм Манна-Уїтні). Однак, аналіз суміжних груп хворих за клінічними варіантами ІХС показав, що між I групою хворих з ПМІМ+ДКМП та III групою хворих з ПМІМ, так само, як і при порівнянні II групи, де наявність ФП комбінується з ДКМП з IV групою хворих з ПМІМ+ФП, де ДКМП відсутня, виявлено високі статистичні відмінності ($p < 0,0001$).

Таким чином, активність ММП1 у II групі максимально знижена у 1,55 рази проти групи контролю. Аналогічно й у I групі хворих активність ММП1 знижена в 1,36 рази. Враховуючи належність у номенклатурі ферментів ММП1 до колагеназ, можна зробити висновок про тенденцію до зниженої деградації колагену у хворих з наявністю ДКМП. Тому наступним кроком був всебічний аналіз ТІМП1.

Значення показників сироваткової концентрації ТІМП1 представлені у таблиці 3.2. Аналізуючи отримані дані, можна відзначити, що найбільша

активність тканинного інгібітора ММП1 відзначається в I та II групі, у яких клінічний перебіг ІХС супроводжується ДКМП. Статистична значимість відмінностей при порівнянні значень показника ТІМП1 I та II груп з групою контролю виявилася дуже суттєвою ($p < 0,0001$ згідно з критерієм Манна-Уїтні). Порівняння рівнів сироваткової концентрації ТІМП1 у хворих I та II груп досліджень, у яких клінічні варіанти ІХС відрізнялися відсутністю або наявністю ФП, також показало наявність суттєвих статистичних відмінностей на високому рівні ($p = 0,0002$).

У хворих у III та IV групі відзначалася підвищена активність ТІМП1 порівняно з групою контролю по всьому діапазону значень кватильного розподілу. При порівнянні значень ТІМП1 у III та IV групі з групою контролю – відзначалися високі статистичні відмінності ($p < 0,0001$ згідно з критерієм Манна-Уїтні). При порівнянні сироваткових концентрацій ТІМП1 у хворих III та IV груп, що розрізняються за клінічним перебігом ІХС між собою наявністю ФП у IV групі, також були виявлені статистично значущі відмінності ($p = 0,004$ згідно з критерієм Манна-Уїтні).

Таблиця 3.2

Розподіл показника концентрації тканинного інгібітора матриксної металопротеїнази-1 у сироватці хворих обстежених груп, нг/мл

Група	$M \pm m$	25%	75%	Max	Min
I група	714,38±31,42	593,74	843,66	901,02	475,03
II група	913,85±28,34	801,89	981,33	1165,73	721,01
III група	406,86±7,36	383,37	431,03	480,01	359,10
IV група	370,12±11,66	342,13	412,25	427,01	277,26
Контроль	200,32±7,65	186,46	216,36	225,66	160,33
Значущість відмінностей	$p_{1,2} = 0,0002$; $p_{3,4} = 0,004$; $p_{5-1,2,3,4,5} < 0,001$				

Примітки: $p_{1,2}$ – значущість відмінностей за критерієм Манна-Уїтні при порівнянні показника концентрації ТІМП1 I та II груп хворих між собою;

$p_{3,4}$ - значущість відмінностей за критерієм Манна-Уїтні при порівнянні

показника концентрації ТІМП1 III та IV груп хворих між собою;

$p_{5-1,2,3,4}$ – значущість відмінностей за критерієм Манна-Уїтні при попарному порівнянні показника концентрації ТІМП1 I, II, III, IV групи хворих з групою контролю.

Аналіз суміжних за клінічними варіантами ІХС груп хворих показав, що між I групою хворих з ПМІМ+ДКМП та III групою хворих тільки з ПМІМ, так само, як і при порівнянні II групи, де наявність ФП комбінується з ПМІМ+ДКМП, з IV групою хворих з ПМІМ+ФП, де ДКМП відсутня, виявлені високі статистичні відмінності ($p < 0,0001$ згідно з критерієм Манна-Уїтні).

Максимальна активність ТІМП1 відзначається у хворих у II групі з ПМІМ+ДКМП+ФП – у середньому у 4,56 разів вища, ніж у групі контролю. У суміжній I групі хворих з ПМІМ+ДКМП активність ТІМП1 перевищує у 3,57 разів таку у групі контролю. Звертаючись до даних, наведених вище в таблиці 3.1, можна зробити висновок про наявність посиленого колагеноутворення у цих двох групах – найменша активність ММП1 у поєднанні з аномально підвищеною активністю ТІМП1. Отже, присутнє посилене фіброзування міокарду ЛШ у хворих даних груп принаймні на біохімічному рівні.

Цікавий факт був отриманий нами при зіставленні даних та при статистичному аналізі показників ММП1 та ТІМП1 у двох інших суміжних групах хворих з клінічними варіантами перебігу ІХС – ПМІМ без ДКМП. Виявилось, що в III групі хворих тільки з ПМІМ середні показники ММП1 майже не відрізняються від таких у здорових осіб, як говорилося раніше, проте активність ТІМП1 перевищує в 2,1 рази аналогічний показник у групі контролю. У суміжній IV групі хворих з ПМІМ+ФП також середній показник ММП1 майже не відрізнявся від групи контролю, але активність ТІМП1 перевищувала контрольні значення помітно менше, лише в 1,85 рази (таблиця 3.2).

Варто також наголосити, що показники ММП1 у III та IV групах статистично значуще не відрізнялися, як між собою, так і в порівнянні з групою контролю (таблиця 3.1). Разом з тим, показники ТІМП1 порівняно між цими

підгрупами мали слабку значущість відмінностей, а стосовно групи контролю високу значущість відмінностей (таблиця 3.2). Таке явище пояснюється складністю патофізіології процесів міокардіального фіброзу. Очевидно, що при меншій активності ММП1 одночасно з її низьким афінитетом до ТІМП1 можна вловити лише тенденцію у зміні рівнів цих показників.

Узагальнюючи вищенаведені факти, можна стверджувати, що визначення співвідношення біохімічної активності ММП1 та її ендogenous тканинного інгібітора (ТІМП1) у хворих з різними клінічними варіантами ІХС може відображати тією чи іншою мірою достовірності процес фіброзування міокарда. Ступінь розбіжності діапазону значень у кожній обстеженій групі навіть при невеликій кількості обстежених хворих досить велика. Це, безумовно, свідчить про високу чутливість біохімічної ферментної системи ММП1/ТІМП1 як індикатор процесу фіброзування міокарда. Дані статистичного аналізу цих показників беззаперечно свідчать про високу достовірність зміни активності ТІМП1 при різних варіантах клінічного перебігу ІХС, що вказує на можливість використання показника ТІМП1 як маркер міокардіального фіброзу у хворих з хронічною ІХС. Однак, поняття міокардіальний фіброз досить вузьке і відображає в суто біохімічному сенсі лише процес підвищеного колагеноутворення. Тому доцільно розглянути взаємозв'язок можливих маркерів фіброзування міокарда зі структурно-функціональними показниками ЕхоКС, які визначають таке найважливіше явище як РМ ЛШ.

РОЗДІЛ 4

РОЗРОБКА МЕТОДИКИ ПРОГНОЗУВАННЯ ФІБРИЛЯЦІЇ ПЕРЕДСЕРДЬ У ХВОРИХ З ІШЕМІЧНОЮ ХВОРОБОЮ СЕРЦЯ НА ПІДСТАВІ РІВНІВ СИРОВАТКОВОЇ МЕТАЛОПРОТЕЇНАЗИ-1 ТА ТКАНИННОГО ІНГІБІТОРА СИРОВАТКОВОЇ МЕТАЛОПРОТЕЇНАЗИ-1

Прогнозування розвитку ФП у хворих з ІХС та постінфарктним РМ є одним з найважливіших завдань медичної науки та практичної кардіології. Прогнозування ФП, точна та своєчасна діагностика, а також проведення адекватної превентивної терапії дозволяють суттєво зменшити частоту розвитку цього стану та, відповідно, знизити летальність даної категорії хворих. Одним із завдань нашого дослідження була розробка математичної моделі прогнозування розвитку ФП у хворих на хронічну ІХС, які перенесли ІМ, на основі комплексу статистичних даних клінічних, лабораторних та інструментальних досліджень.

При виконанні роботи у всіх обстежених хворих на ІХС були докладно розглянуті та оцінені такі клінічні явища як геометричне РМ та колагеноутворення міокарда ЛШ. РМ ЛШ оцінювалося більш ніж за 20 універсальними параметрами ЕхоКС, а процес колагеноутворення в міокарді, і як наслідок – його фіброзування, за допомогою визначення сироваткової активності ММП1 та ТІМП1 методом ІФА. Згідно з дизайном дослідження, всі перелічені параметри оцінювалися у хворих з виявленою ФП та без неї з подальшим визначенням статистичної значущості відмінностей.

Спочатку нами було оцінено ступінь взаємозв'язку ознак, що характеризують РМ з параметрами, що відображають процеси колагеноутворення міокарда за методом кореляції рангів Спірмена, як у групах хворих на ФП, так і без неї. Для наочності взаємозв'язку змін базових параметрів ЕхоКС з міокардіальним фіброзом ЛШ була використана сироваткова концентрація ТІМП1 як найбільш чутливий маркер фіброзування міокарда у хворих різними формами ІХС (таблиця 4.1).

Таблиця 4.1

Коефіцієнти рангової кореляції Спірмена параметрів ЕхоКС та сироваткової концентрації ТІМП1 у групах хворих

Параметри ЕхоКС	I група	II група	III група	IV група
МЛРЛП, медіально-латеральний розмір лівого передсердя	0,63	-0,18	-0,01	0,12
КДР, кінцевий діастолічний розмір лівого шлуночка	0,99	0,99	0,99	0,99
КСР, кінцевий систолічний розмір лівого шлуночка	0,8	0,75	0,8	0,94
КДО, кінцевий діастолічний об'єм лівого шлуночка	0,93	0,96	0,97	0,99
КСО, кінцевий систолічний об'єм лівого шлуночка	0,81	0,79	0,89	0,92
ФВ, фракція викиду	-0,78	-0,23	0,01	-0,33
Індекс Теі	0,67	0,24	-0,02	0,27
ПШО, передсердно-шлуночкове співвідношення	0,2	-0,74	-0,73	-0,58
ММЛШ, маса міокарда лівого шлуночка	0,54	0,51	0,2	0,34
ІОМЛШ, індекс об'єм-маса міокарда лівого шлуночка	0,11	0,01	0,43	0,43
ВТСЛШ, відносна товщина стінки лівого шлуночка	-0,39	-0,31	-0,64	-0,67

Примітки: Значення коефіцієнта кореляції Spearman оцінювали наступним чином: менше 0,4 – зв'язок ознак слабкий; від 0,4 до 0,7 – зв'язок ознак помірної сили; більше 0,7 – зв'язок ознак високої сили. Негативні значення коефіцієнта

свідчать про зворотний характер зв'язку: зі зростанням однієї ознаки, інший закономірно знижується.

Менш чутливий лабораторний параметр сироваткової концентрації ММП1 аналогічно проаналізовано нами щодо наявності кореляційних взаємозв'язків (таблиця 4.2).

Таблиця 4.2

Коефіцієнти рангової кореляції Спірмена параметрів ЕхоКС та сироваткової концентрації ММП1 у групах хворих

Параметри ЕхоКС	I група	II група	III група	IV група
МЛРЛП, медіально-латеральний розмір лівого передсердя	-0,62	0,18	0,07	-0,12
КДР, кінцевий діастолічний розмір лівого шлуночка	-0,99	-0,99	-0,99	-0,99
КСР, кінцевий систолічний розмір лівого шлуночка	-0,8	-0,75	-0,8	-0,94
КДО, кінцевий діастолічний об'єм лівого шлуночка	-0,92	-0,96	-0,97	-0,99
КСО, кінцевий систолічний об'єм лівого шлуночка	-0,82	-0,79	-0,89	-0,92
ФВ, фракція викиду	0,77	0,23	-0,01	0,33
Індекс Tei	-0,66	-0,24	0,02	-0,28
ПШС, передсердно-шлуночкове співвідношення	-0,18	0,74	0,73	0,58
ММЛШ, маса міокарда лівого шлуночка	-0,53	-0,51	-0,2	-0,34

Продовження таблиці 4.2

Параметри ЕхоКС	I група	II група	III група	IV група
ІОМЛШ, індекс об'єм-маса міокарда лівого шлуночка	-0,12	-0,01	-0,43	-0,43
ВТСЛШ, відносна товщина стінки лівого шлуночка	0,39	0,31	0,64	0,67

Примітки: Значення коефіцієнта кореляції Spearman оцінювали наступним чином: менше 0,4 – зв'язок ознак слабкий; від 0,4 до 0,7 – зв'язок ознак помірної сили; більше 0,7 – зв'язок ознак високої сили. Негативні значення коефіцієнта свідчать про зворотний характер зв'язку: зі зростанням однієї ознаки, інший закономірно знижується.

Як видно з даних таблиць, найбільш сильний зв'язок між ознаками виявлено у I та II групах хворих, де виявлено клінічно ДКМП ішемічного генезу. У III та IV групах хворих з наявністю ПМІМ також більш ніж половина ознак демонструвала високий рівень взаємозв'язку. Аналізуючи кореляційні взаємини тих самих параметрів ЕхоКС і сироваткових концентрацій ММП1 і ТІМП1, можна зробити невтішний висновок про зворотний характер взаємозв'язку змін ММП1 та її інгібітора. Так, при зростанні значень ТІМП1 закономірно спостерігається зниження показника сироваткової концентрації ММП1 у всіх обстежених групах. Саме такий висновок був зроблений нами в Розділі 3 на підставі ізольованого аналізу лише з урахуванням значень концентрацій маркерів фіброзування міокарда.

У контексті розвитку та прогресування протягом ряду років ІХС на тлі сформованого постінфарктного склерозу, наявність дилатації ЛШ сама по собі істотно посилює клінічний перебіг основного захворювання, знижує ефективність терапії, що проводиться. За даними досліджень, наведених у 1 главі, саме у таких хворих частіше розвивається ФП, швидко прогресує ХСН і найнижче виживання протягом 5 років у структурі захворюваності на різні форми ІХС. Це свідчить про

необхідність створення індивідуальної прогностичної моделі ФП у таких хворих, так само як і у хворих на ІХС з ПМІМ без дилатації ЛШ, тому що вперше діагностовано ФП у таких хворих є основним джерелом догоспітальної та добової летальності.

З урахуванням того, що ступінь тісноти взаємозв'язку ознак вважається високим при значенні коефіцієнта кореляції понад 0,7; помірним – при значенні від 0,4 до 0,7, нами було відібрано низку діагностичних параметрів, які відображають патофізіологічний зв'язок у РМ та колагенуотворенні міокарда.

Однак для конкретного хворого на ІХС проведення комплексної оцінки багатьох параметрів інструментальних досліджень, показників основних та спеціальних лабораторних методів дослідження з подальшою математичною оцінкою ймовірності розвитку ФП є вкрай складним у практичному відношенні завданням.

Для побудови прогностичної таблиці в групах хворих з ФП і без неї була вивчена частота 28 ознак анамнезу життя, анамнезу основного захворювання (ІХС), даних фізикального огляду хворого, які можуть мати патогенетичне або сприятливе значення для розвитку ФП. З використанням критерію Хі-квадрат з поправкою Йетса оцінили статистичну значущість відмінностей частоти цих ознак у хворих з ФП і без неї. У таблиці 4.3 представлені отримані результати.

Таблиця 4.3

Частота виявлення окремих клінічних ознак у хворих з фібриляцією передсердь і без неї, в абсолютних числах

Ознака	Наявність ФП (n=38)	Відсутність ФП (n=42)	χ^2	p
Чоловіча стать	15	11	1,06	0,3041
Жіноча стать	23	31	1,06	0,3041
Вік до 50 років	3	4	0,02	0,8897

Продовження таблиці 4.3

Ознака	Наявність ФП (n=38)	Відсут. ФП(n=42)	χ^2	p
Паління (в анамнезі)	14	20	0,56	0,4549
Зловживання алкоголем (в анамнезі)	13	15	0,01	0,9252
Цукровий діабет (в анамнезі)	11	7	1,09	0,2968
Захворювання легень (в анамнезі)	9	5	1,19	0,2757
Захворювання нирок (в анамнезі)	13	14	0,01	0,9448
Захворювання ШКТ (в анамнезі)	3	10	2,64	0,1045
Наявність АГ	33	37	0,02	0,8855
Розширення меж серця (перкуторно)	27	16	7,44	0,0064
Наявність явищ застою	23	10	9,63	0,0019
Горизонтальне положення хворого	23	37	6,68	0,0097
Сидяче положення, ортопное	15	5	6,68	0,0097
Наявність задишки	37	37	1,32	0,2512
Тривалість ІХС 1-8 років	16	38	19,13	0,00001
Тривалість ІХС 9-18 років	22	4	19,13	0,00001
Тривалість ХСН 1-3 роки	15	31	8,27	0,004
Тривалість ХСН 4-8 років	23	11	8,27	0,004
ХСН I–IIA стадії	16	32	8,29	0,004
ХСН IIB–III стадії	22	10	8,29	0,004
ІМТ 20,4-31,4 кг/м ²	10	27	10,09	0,0015
ІМТ 31,5-42,5 кг/м ²	16	13	0,65	0,4218
ІМТ 42,6-57,3 кг/м ²	12	2	8,17	0,0043
ФК 1-2 по NYHA	8	22	7,07	0,0078
ФК 3-4 по NYHA	30	20	7,07	0,0078
ФК 1-2 за шкалою ШОКС	13	32	12,63	0,0004
ФК 3-4 за шкалою ШОКС	25	10	12,63	0,0004

Примітка: статистично значущими визнавалися відмінності при $p < 0,05$.

Для побудови прогностичної таблиці нами було вирішено використовувати лише ознаки, що мають статистично значущі відмінності в частоті виявлення. Результати аналізу представлені у таблиці 4.4.

Таблиця 4.4

Значення прогностичних коефіцієнтів окремих клінічних ознак для оцінки ймовірності розвитку фібриляції передсердь у хворих на ІХС

№	Ознака	Величина ПК	Інформативність
1.	ІМТ		
	20,4-31,4 кг/м ²	-1,94	0,37
	31,5-42,5 кг/м ²	+0,67	0,04
	42,6-57,3 кг/м ²	+2,82	0,32
2.	Тривалість ІХС		
	1-8 років	-1,52	0,18
	9-18 років	+0,64	0,13
3.	Тривалість ХСН		
	1-3 роки	-1,36	0,23
	4-8 років	+1,66	0,27
4.	Стадія		
	ХСН І-ІІА	-1,29	0,22
	ІІ Б-ІІІ	+1,93	0,33
5.	Функціональний клас ХСН по NYHA		
	ФК 1-2	-1,75	0,25
	ФК 3-4	+1,10	0,17

Продовження таблиці 4.4

№	Ознака	Величина ПК	Інформативність
6.	Функціональний клас ХСН за шкалою ШОКС		
	ФК 1-2	-1,74	0,36
	ФК 3-4	+2,21	0,46
7.	Положення хворого в ліжку під час огляду		
	горизонтальне, головний кінець піднято сидячи, ортопное	-0,82 +2,60	0,11 0,36
8.	Явища застою (об'єктивно під час огляду)		
	Так Ні	+2,03 -1,43	0,37 0,26
9.	Розширення меж серця при перкусії		
	Так Ні	+1,35 -1,65	0,22 0,27

Однак можливості застосування даної прогностичної таблиці, складеної лише за одними факторами ризику розвитку ФП та клінічними симптомами, не дозволяють досить точно прогнозувати розвиток ФП. Тому нами було прийнято рішення доповнити прогностичну таблицю даними ЕхоКС та ряду біохімічних та спеціальних лабораторних досліджень, які на відміну від факторів ризику повною мірою відображають стан серцево-судинної системи кожного хворого на тлі ІХС, зокрема патогенетичний зв'язок процесів геометричного РМ ЛШ, з подальшим фіброзуванням, що за даними різних досліджень є одним із механізмів розвитку ФП у хворих на хронічну ІХС. Значення ПК представлені у таблиці 4.5.

Таблиця 4.5

Значення прогностичних коефіцієнтів показників лабораторних та інструментальних досліджень для оцінки ймовірності розвитку фібриляції передсердь у хворих на ІХС

№	Ознаки	Величина ПК	Інформативність
1.	Концентрація ММПІ		
	3,300-4,620 нг/мл	+2,67	0,45
	4,621-6,820 нг/мл	-0,82	0,09
	6,821-7,700 нг/мл	-2,07	0,12
2.	Концентрація ТІМПІ		
	250-750 нг/мл	-1,67	0,37
	751-1250 нг/мл	+2,13	0,44
3.	Концентрація К ⁺		
	4,0-4,3 ммоль/л	+1,22	0,13
	4,4-4,6 ммоль/л	-1,73	0,31
	4,7-4,9 ммоль/л	+2,35	0,16
4.	Концентрація Na ⁺		
	134-139 ммоль/л	+0,60	0,01
	140-145 ммоль/л	-0,30	0,02
	146-154 ммоль/л	+1,04	0,03
5.	Відносна товщина стінки лівого шлуночка		
	0,16-0,55	+1,46	0,26
	0,56-1,15	-1,34	0,20
6.	Маса міокарда лівого шлуночка		
	141-260 г	-1,65	0,27
	261-540 г	+1,19	0,19

Продовження таблиці 4.5

7.	Індекс «об'єм-маса» лівого шлуночка 0,14-0,49 мл/г 0,50-1,03 мл/г	-1,63 +1,90	0,31 0,38
8.	Фракція викиду 27-34% 35-54 % 55-66 %	+1,99 +0,70 -1,77	0,11 0,06 0,24
9.	ІндексTei 0,46-0,73 0,74-1,08	-1,46 +1,27	0,22 0,19
10.	Кінцевий систолічний об'єм лівого шлуночка 12-77 мл 78-231 мл	-1,21 +1,12	0,17 0,14
11.	Кінцевий діастолічний об'єм лівого шлуночка 44-159 мл 160-333 мл	-1,29 +1,63	0,21 0,26
12.	Кінцевий систолічний розмір лівого шлуночка 1,83-4,42 см 4,43-7,02 см	-1,08 +1,46	0,15 0,22
13.	Кінцевий діастолічний розмір лівого шлуночка 3,66-5,80 см 5,81-7,95 см	-1,99 +1,65	0,38 0,33
14.	Передсердно-шлуночкове співвідношення 0,579-0,782 0,783-1,258	+1,56 -1,48	0,27 0,24
15.	Медіально-латеральний розмір лівого передсер. 3,05-4,64 см 4,65-6,24 см	-0,75 +1,95	0,09 0,27

Як видно з даних прогностичної таблиці, високі градації показників ЕхоКС мають здебільшого значну результуючу дію для розвитку у хворих ФП. Навпаки, низькі градації показників мають протекторний ефект, тобто знижують ймовірність появи ФП. В цілому, виникнення систолічної та діастолічної дисфункції міокарда за даними різних досліджень сприяють приєднанню ФП. Як докладно було описано у розділі 3, деякі типи РМ, асоційовані з його гіпертрофією, мають адаптивний характер. Тому високі градації таких параметрів як ВТСЛШ, ПШС мають протекторний ефект, тобто знижують імовірність розвитку ФП. Також вагомий внесок у розвиток ФП робить і дисбаланс у системі ММП: виражений дефіцит активності ММП1 на тлі надмірної активності ТІМП1 сприяють розвитку ФП.

РОЗДІЛ 5

АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ ОТРИМАНИХ РЕЗУЛЬТАТІВ

Одним із найпоширеніших захворювань системи органів кровообігу є ІХС, яка значною мірою визначає рівень летальності у всій популяції хворих з даною патологією. Причому, 50 відсотків летальності посідає швидкопрогресуюча ХСН, розвиток якої є закономірним результатом тривалої багаторічної ішемії міокарда. Таким чином, медико-соціальну значущість ІХС важко переоцінити. Саме тому наша робота присвячена вивченню ключових лабораторних маркерів різних клінічних форм ІХС, а саме клінічним варіаціям у хворих, які перенесли ІМ.

За останнє двадцятиріччя відбулася повна переоцінка механізмів патогенезу розвитку та подальшого прогресування ІХС у хворих, які перенесли ІМ. Адаптивні можливості міокарда в умовах багаторічної хронічної ішемії, що ведуть до швидкого або повільного прогресу ХСН, цілком визначаються з позиції всебічного вивчення РМ.

Феномен ішемічного РМ розглядається сучасною наукою як складний та багатоступінчатий процес структурних та функціональних змін ЛШ. Ішемічне РМ запускається задовго до маніфестації клінічних проявів ХСН і супроводжує їх протягом усього періоду перебігу основного захворювання – ІХС. З одного боку розуміння РМ, це макроскопічні явища зміни геометричної конфігурації ЛШ в умовах хронічної ІХС, що полягає у збільшенні маси міокарда та дилатації ЛШ та ЛП, систолічної та діастолічної дисфункції, що призводять до погіршення якості життя та виживання хворих. З іншого боку, це взаємодія найскладніших біохімічних механізмів інтерстиціального фіброзу, гіпертрофії кардіоміоцитів та їхнього апоптозу, в основі яких лежить кооперація клітинних та гуморальних факторів. До них відносять: регулятори ренін-ангіотензин-альдестеронової системи, мозковий і передсердний натрійуретичний пептид, цитокіни макрофагів вогнища імунного запалення постінфарктної некробіотичної зони, а також різні, генетично обумовлені схильні фактори до дисбалансу даних регуляторних систем.

Така мультимодальна взаємодія визначає ключовий процес колагеноутворення міокарда, що лежить в основі постінфарктного РМ. Більшість вітчизняних та зарубіжних дослідників відзначили значну роль у регуляції колагеноутворення білків-регуляторів матриксних металопротеїназ, зокрема матриксної ММП1 та її ендogenousного тканинного інгібітора. Нечисленні дані дослідників про дисбаланс у співвідношенні експресії сироваткової металопротеїнази-1 та її інгібітора, при різній патології серцево-судинної системи, як уродженої, так і набутої, дали нам підставу вивчити в нашій роботі всебічний зв'язок макроскопічних процесів РМ при різних формах ІХС з біохімічними аспектами порушення процесів колагеноутворення. Вивчені дані про зв'язок рівнів сироваткових концентрацій ММП1 з інтенсивністю інтерстиціального фіброзу міокарда дозволили зробити нам припущення про можливий зв'язок парної активності ММП1 та ТІМП1 зі змінами базових параметрів ЕхоКС, що описують процес ішемічного РМ. Виходячи з цього була сформульована і мета роботи – оцінити прогностичну значущість ММП1 та її тканинного інгібітора у розвитку ФП у пацієнтів із ДКМП та без неї. До дослідження увійшло 80 хворих із ІХС, у тому числі: хворі, які перенесли ІМ – 22 особи; хворі, які перенесли ІМ з різними формами ФП – 17 осіб; хворі з ДКМП ішемічного генезу – 20 осіб та хворі з ДКМП ішемічного генезу з різними формами ФП – 21 людина. Групу контролю склали 30 соматично здорових осіб.

Ми проаналізували склад досліджуваних груп, оскільки відмінності за статевим, віковим складом, наявністю супутньої патології могли позначитися на величині досліджуваних показників. У нашому дослідженні групи хворих з ІХС та у контрольній групі не мали суттєвих відмінностей за середнім віком, співвідношенням чоловіків та жінок, частотою виявлення АГ та ХСН. Спектр лікарської терапії, яку отримували хворі при вступі до стаціонару при декомпенсації ІХС, був ідентичний згідно з загальноприйнятими клінічними рекомендаціями ведення пацієнтів з ІХС та ХСН.

Усім хворим, а також особам із контрольної групи було проведено базове клінічне, лабораторне та інструментальне обстеження. А також проводилося

ехокардіоскопічне дослідження основних параметрів кардіогемодинаміки та кількісне визначення сироваткової концентрації ММПП1 та ТІМПП1 методом ІФА.

Статистичний аналіз результатів клінічного обстеження хворих, їх скарг, даних анамнезу та об'єктивного статусу, результатів стандартних біохімічних досліджень крові не виявив суттєвих відмінностей цих показників у пацієнтів з різних досліджуваних груп. Виняток склали показники електролітів (K^+ та Na^+), за якими були отримані значні відмінності при порівнянні хворих із наявністю ФП із суміжними групами, де ФП була відсутня. Проведене дослідження показало, що рутинні методи клінічного обстеження пацієнтів, стандартні біохімічні дослідження крові, у тому числі традиційні маркери некробіозу міокарда, не дозволяють повною мірою оцінити тяжкість стану хворих з хронічною ІХС та визначити ймовірність розвитку у них ФП. Для вирішення цього питання необхідно провести додаткові лабораторні та інструментальні дослідження.

Результати дослідження сироваткових рівнів ММПП1 в обстежених групах показали, що найбільший дефіцит ММПП1 виявлений у хворих з ДКМП ішемічного генезу. Так, середні значення ММПП1 у хворих, які перенесли ІМ з наявністю ДКМП та ФП на 35,4% нижче, ніж у групі контролю, що відповідає найнижчому значенню серед усіх обстежених осіб. У групі хворих, які перенесли ІМ з ДКМП, також середній рівень ММПП1 був нижчим на 26,4% порівняно з групою контролю, причому дані достовірно відрізнялися як між собою, так і з групою контролю ($p < 0,001$).

Серед хворих без ДКМП рівні ММПП1 були співставні з середнім рівнем у групі контролю, так у хворих, які перенесли ІМ у середньому на 4,8% були нижче, а у групі хворих, які перенесли ІМ з наявністю ФП – на 10,5% нижче. Причому дані достовірно не відрізнялися як між обома групами, так і порівняно з групою контролю ($p = 0,061$).

Рівні ТІМПП1 також були досліджені у всіх групах хворих на ІХС. Виявилось, що середні значення концентрації ТІМПП1 перевищують середній рівень у групі контролю та весь діапазон значень даного показника для здорових

осіб за даними літератури. Найбільш високі показники відзначаються у хворих із ДКМП. Так у хворих, які перенесли ІМ з ДКМП та ФП ТІМП1 у середньому був вище у 4,56 рази, у групі хворих з ДКМП без ФП у 3,57 рази щодо контрольної групи. У хворих, що перенесли ІМ без ФП, середній рівень ТІМП1 був вище в 2,0 рази, а у хворих з ФП – в 1,85 рази вище у порівнянні з групою контролю. У всіх чотирьох групах хворих на ІХС дані відрізнялися від контрольної групи статистично достовірно ($p < 0,001$). Показовий і той факт, що діапазон значень ТІМП1 у кожній групі хворих не просто відрізняється від показників контрольної групи, але й має велику варіативність значень від мінімального рівня до максимального рівня концентрації ТІМП1, чого не можна сказати про показник ММП1, де діапазон значень маловаріативний та щільно зосереджений навколо середнього значення.

Враховуючи нерозривний фізіологічний зв'язок обох розглянутих нами показників у рамках процесу колагеноутворення міокарда, нами було зроблено низку припущень. Рівень сироваткового ТІМП1 найбільш чутливий і достовірний як маркер фіброзу міокарда при хронічній ІХС в контексті системи колагеназа-інгібітор колагеназ, так як рівень ТІМП1 завжди достовірно вище за будь-якого клінічного варіанта ІХС з розглянутих нами, ніж у групі контролю. ММП1 тільки одна з колагеназ поряд з ММП3 і ММП9, що також контролюють синтез колагену в міокарді. Достовірно підтверджений дефіцит активності ММП1 відзначається лише у хворих на ІХС із ДКМП. Отже, провідна роль запропонованої нами системи прогнозування розвитку ФП в хворих на хронічну ІХС була відведена саме зміні рівня ТІМП1, роль ММП1 вторинна і обмежена.

Наступна частина нашої роботи була присвячена розумінню феномену ішемічного РМ у макроскопічному аспекті, тобто вивченню порушень кардіогемодинаміки. Справді, саме зміна доплерівських параметрів мітрального кровотоку разом зі змінами товщини стінок ЛШ, ЛП і МШП, лежать в основі як діастолічної, так і систолічної дисфункції серця. При аналізі значень показників об'ємного кровотоку в ранню та пізню діастолу ЛШ, їх співвідношення, а також тривалість ізоволюметричного розслаблення лівого шлуночка (ТІВРЛШ) ЛШ у

хворих, які перенесли ІМ, як з наявністю ФП (IV група), так і без неї (III група), були отримані дані, які свідчать про наявність у них ригідного типу діастолічної дисфункції. Справді, середні значення швидкостей раннього діастолічного наповнення ЛШ зменшувалися щодо групи контролю: на 29,6% у III групі, на 18,5% у IV групі. Закономірно і тривалість уповільнення ранньої релаксації лівого шлуночка (ТУРРЛШ) пролонгувався вище за норму: на 16,8% та 11,3% відповідно. Тривалість ізоволюметричної релаксації ЛШ також подовжилася на 45,8% та 13,5% у III та IV групі. Швидкість кровотоку в пізню діастолу ЛШ (систолу ЛП) збільшилася в обох групах щодо групи контролю в середньому на 28,6% та 27% відповідно. При порівнянні між III та IV групами, показники швидкостей кровотоку статистично між собою не відрізнялися, а часові показники мали суттєві статистичні відмінності. Узагальнюючи порівняльний аналіз показників об'ємного кровотоку в групах хворих, які перенесли ІМ, незалежно від наявності у них ФП, в рамках розуміння стадійності процесів РМ, ми зробили попередній висновок про значну гіпертрофію ЛШ та ЛП, адже фактично наповнення ЛШ у діастолу відбувається за рахунок систоли ЛП, що укладається у визначення ригідного типу діастолічної дисфункції.

За таким же принципом ми проаналізували характер порушень трансмітрального кровотоку у групах пацієнтів із ДКМП. Зважаючи на те, що ці пацієнти, як з III, так і з IV груп, також перенесли ІМ, мали високу частоту госпіталізацій за рік через неправильно підібрану терапію основного захворювання та сучасні уявлення про стадійність прогресування діастолічної дисфункції при ішемічному РМ, нами був визначено псевдонормальний характер діастолічної дисфункції у I та II обстежених групах. Дійсно, значення пікових швидкостей раннього та пізнього діастолічного наповнення в обох групах, як видно з таблиць, відрізнялися в середньому не більше, ніж на 15% від групи контролю. За наявності та відсутності ФП у пацієнтів ці показники статистично достовірних відмінностей при порівнянні між собою не мали ($p > 0,05$), але з групою контролю відрізнялися суттєво ($p < 0,05$). Однак, показники часу уповільнення раннього діастолічного наповнення суттєво були нижчими,

порівняно з групою контролю – на 21,1% у II групі та на 20,9% у I групі, статистичні відмінності були аналогічними показниками пікових швидкостей. Таке швидке діастолічне наповнення ЛШ пояснюється наростаючим переднавантаженням залишковим обсягом розширеного ЛШ та систолічною недостатністю дилатованого ЛП, оскільки вклад ЛП на пізній діастолі ЛШ майже відсутній.

Оскільки діяльність серця в системі кровообігу оцінюється за систолічною та діастолічною функцією, то для цілісної клінічної оцінки функціонального стану міокарда всіх чотирьох груп пацієнтів ми використовували глобальний функціональний Index Tei. Отримані показники статистично значно відрізнялися між собою у всіх обстежених групах ($p < 0,05$). Так, у пацієнтів з наявністю ішемічної ДКМП систоло-діастолічна функція знижена більш ніж у 2 рази: на 146% у I групі та на 138% у II групі. Серед пацієнтів, які перенесли ІМ без розвитку ДКМП, також є зниження функції на 67,6% у III групі та на 64,9% у IV групі.

Літературні дані про тісну зворотню кореляцію глобального функціонального Index Tei та ФВ, що відображає систолічну функцію ЛШ у хворих з ІХС, дозволили нам провести такий аналіз. Дійсно, ми також отримали переконливі результати по всіх групах. У хворих з ДКМП I та II групах ФВ знижено в середньому 35,83% порівняно з групою контролю, у III та IV групах ФВ знижено на 9,03%, але знаходиться в межах нормальних значень. На наш погляд, обидва ці індекси (ФВ та Index Tei) відображають реальну картину порушення функції міокарда і повинні використовуватися при розробці прогностичної моделі розвитку ФП.

Так як в основу ФВ покладено метричні та об'ємні параметри ЛШ, то наступним логічним кроком стало всебічне вивчення геометричної конфігурації ЛШ, щоб безпосередньо виявити змінені метричні параметри функціонально неповноцінного ЛШ хворих з ІХС, що більшістю дослідників сприймається як визначення геометричного типу РМ ЛШ.

У ході нашої роботи з вивчення геометричного РМ ЛШ у обстежених хворих з ІХС було вирішено одразу два завдання. По-перше, це аналіз появи одних і тих же типів РМ залежно від наявності у хворих ФП, а по-друге, це виявлення найбільш значущих у статистичному аспекті метричних параметрів ЕхоКС, які безпосередньо ці геометричні типи РМ і визначають. ГЛШ, як найуніверсальніший адаптивний механізм при ішемічному РМ незалежно від виду та ступеня систоло-діастолічної дисфункції ми виявили абсолютно у всіх обстежених групах хворих. Збільшена ММЛШ визначалася у 80% та 90,47% хворих з ДКМП I та II груп відповідно; у 63,36% та 52,94% хворих без ДКМП з III та IV груп. Причому, наявність або відсутності ДКМП як групової ознаки для порівняння частот ГЛШ не вносило значних статистичних відмінностей між I - II групами, III - IV групами, а наявність або відсутність ФП як групувальні ознаки, навпаки, виявило значні відмінності в частотах ГЛШ між I-III та II-IV групами.

Аналогічна картина визначається при статистичному аналізі значень ММЛШ, які визначають ГЛШ: ММЛШ в середньому вище на 43,9% у чоловіків, 51,7% у жінок в I і II групах в порівнянні з III і IV, але статистично значущі відмінності проявляються тільки при порівнянні груп із наявністю або відсутністю ФП. У зв'язку з цим ММЛШ включена нами як значущий параметр для складання майбутньої прогностичної моделі.

Той факт, що в середньому 23% хворих серед осіб, які перенесли ІМ, мали НГЛШ, не можна пояснити вищевикладеними даними. Ймовірно, таке явище розвивається внаслідок високої експресії кардіопротективних цитокінів, низької імунної реактивності щодо вогнища кардіосклерозу. Вивчення цього явища планується у майбутньому. Виконання цього завдання в кінцевому підсумку дало зрозуміти, що асоціювати певний певний тип РМ з наявністю або відсутністю ФП неможливо, але для цієї мети в прогностичному аспекті можна використовувати конкретні параметри ЕхоКС, які визначають РМ.

Перед розробкою прогностичної моделі ФП у хворих, які перенесли ІМ, ми логічно об'єднали всі вивчені явища в патофізіологічну модель міокардіального фіброзу у хворих, які перенесли ІМ, при якому може ймовірно розвинути ФП.

Для цього ми логічно зв'язали процеси колагеноутворення в міокарді, які в нашій роботі визначаються системою протеїназа-інгібітор та макроскопічні аспекти РМ ЛШ при ІХС – фактично ГЛШ та його дилатацію. Для цього було побудовано кореляційну матрицю з розрахунком коефіцієнтів кореляції за Спірменом. Виявилось, що всі показники ЕхоКС, зазначені нами вище, як необхідні у прогностичному плані, мали тісний сильний зв'язок із системою протеїназа-інгібітор.

Для підвищення точності прогнозу ми включили до прогностичних таблиць додатково ще й ознаки, що визначаються анамнестичними даними за основним захворюванням і деякі дані фізикального огляду, що дуже важливо в практичному аспекті, оскільки тривалість основного захворювання, ступінь тяжкості ХСН, деякі дані, одержані при фізикальному огляді та базовому лабораторному обстеженні хворого будуть відомі вже в першу добу перебування його в стаціонарі, а на виконання та оцінку ЕхоКС та спеціального лабораторного дослідження піде близько трьох діб. Нами було проаналізовано більше 20 параметрів, що включають дані анамнезу та фізикального огляду, але при аналізі частот хворих, які перенесли ІМ з наявністю ФП і без неї, ми відібрали лише 9 параметрів, які мали статистично значущі відмінності. Примітно, що серед усіх базових загальноклінічних та біохімічних лабораторних досліджень, що виконуються хворим під час госпіталізації до стаціонару, у прогностичному плані цінність становили лише сироваткові рівні Na^+ та K^+ . Інші 13 параметрів, включених нами в прогностичну таблицю, представляли рівні активності ТІМП1 та ММП1 та 11 параметрів ЕхоКС.

Для простоти розуміння та інтерпретації даних прогнозу терапевтами та кардіологами за прогностичними таблицями на підставі створеної нами патофізіологічної моделі міокардіального фіброзу ми визначили три основні сценарії розвитку подій протягом найближчого календарного року у хворих, які перенесли ІМ.

Перший – агресивний міокардіальний фіброз, прогностично найнесприятливий. Характеризується дуже високою експресією ТІМП1 у

поєднанні з вкрай низькою активністю ММП1, що веде до інтенсивного синтезу колагену, який не руйнується, заповнює весь міжклітинний простір скоротливого міокарда. При цьому у таких хворих з'являється псевдонормалізація кровотоку, що веде до геометричної конфігурації серця, близької до ДКМП. Ймовірність розвитку ФП становитиме 99%.

Другий – помірний міокардіальний фіброз, прогностично більш сприятливий. Характеризується збереженням нормальної активності ММП1, за високої експресії її інгібітора. Це означає, що синтез колагену не такий інтенсивний і він може частково деградувати і не перешкоджати адекватній ГЛШ, що супроводжується його ригідністю та потовщенням передньої та задньої стінки. Тут ймовірність розвитку ФП завжди вища за 50%, але не перевищить 75%.

Третій – збалансований рівень міокардіального фіброзу, найбезпечніший. Характеризується нормальними значеннями активності як ТІМП1, так і ММП1. Осередок фіброзу обмежується постінфарктною ішемізованою зоною, компенсаторна ГЛШ має помірний характер. Тут ймовірність розвитку ФП негативна, тому що мають місце протекторні фактори, що запобігають прогресуванню ішемічного РМ.

ВИСНОВКИ

1. Встановлено, що результати клінічних спостережень разом із проведенням стандартних біохімічних досліджень крові дозволяють оцінити ступінь тяжкості та вираженості прояву ХСН у хворих з ІХС. Доведено наявність клінічно значимих лабораторних відмінностей у досліджуваних лабораторних показниках у групах хворих з фібриляцією передсердь та без неї.

2. Аналіз рівнів активності матриксної металопротеїнази-1 та її ендogenousного тканинного інгібітора показав високу експресію тканинного інгібітора у всіх хворих на ІХС. Доведено, що його максимальна активність відзначалася у хворих з дилатаційною кардіоміопатією, а зміни в активності матриксної металопротеїнази-1 мають взаємозворотний характер – найменший рівень виявлено у хворих з дилатаційною кардіоміопатією та фібриляцією передсердь.

3. Встановлено прямий кореляційний зв'язок між рівнем тканинного інгібітору матриксної металопротеїнази-1 та параметрами ЕхоКС, що визначають тип ремоделювання міокарда: КДРЛШ $r=+0,99$; ММЛШ $r=+0,54$; Індекс Теі $r=+0,67$.

4. Створені прогностичні таблиці, засновані на аналізі найбільш чутливих клініко-лабораторних та інструментальних даних, що дозволяють прогнозувати розвиток фібриляції передсердь у хворих на ІХС у короткостроковій перспективі до 1 року.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ ЛІТЕРАТУРИ

1. Jordakieva, G., Budge-Wolfram, R. M., Budinsky, A. C., Nikfardjam, M., Delle-Karth, G., Girard, A., Godnic-Cvar, J., Crevenna, R., & Heinz, G. Plasma MMP-9 and TIMP-1 levels on ICU admission are associated with 30-day survival. *Wiener klinische Wochenschrift*, 2021. 133(3-4), 86–95. DOI : <https://doi.org/10.1007/s00508-019-01592-x> .
2. Korzeń, D., Sierka, O., & Dąbek, J. Transcriptional Activity of Metalloproteinase 9 (MMP-9) and Tissue Metalloproteinase 1 (TIMP-1) Genes as a Diagnostic and Prognostic Marker of Heart Failure Due to Ischemic Heart Disease. *Biomedicines*, 2023. 11(10), 2776. DOI : <https://doi.org/10.3390/biomedicines11102776>.
3. Sampilvanjil, A., Karasawa, T., Yamada, N., Komada, T., Higashi, T., Baatarjav, C., Watanabe, S., Kamata, R., Ohno, N., & Takahashi, M. Cigarette smoke extract induces ferroptosis in vascular smooth muscle cells. *American journal of physiology. Heart and circulatory physiology*, 2020. 318(3), H508–H518. DOI : <https://doi.org/10.1152/ajpheart.00559.2019>.
4. Nordeng, J., Schandiz, H., Solheim, S., Åkra, S., Hoffman, P., Roald, B., Bendz, B., Arnesen, H., Helseth, R., & Seljeflot, I. TIMP-1 expression in coronary thrombi associate with myocardial injury in ST-elevation myocardial infarction patients. *Coronary artery disease*, 2022. 33(6), 446–455. DOI : <https://doi.org/10.1097/MCA.0000000000001128>.
5. Sharifi, M. A., Wierer, M., Dang, T. A., Milic, J., Moggio, A., Sachs, N., von Scheidt, M., Hinterdobler, J., Müller, P., Werner, J., Stiller, B., Aherrahrou, Z., Erdmann, J., Zaliani, A., Graettinger, M., Reinshagen, J., Gul, S., Gribbon, P., Maegdefessel, L., Bernhagen, J., ... Kessler, T. ADAMTS-7 Modulates Atherosclerotic Plaque Formation by Degradation of TIMP-1. *Circulation research*, 2023. 133(8), 674–686. DOI : <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.123.322737>.
6. Remes, A., Franz, M., Zaradzki, M., Borowski, C., Frey, N., Karck, M., Kallenbach, K., Müller, O. J., Wagner, A. H., & Arif, R. AAV-mediated TIMP-1

overexpression in aortic tissue reduces the severity of allograft vasculopathy in mice. *The Journal of heart and lung transplantation : the official publication of the International Society for Heart Transplantation*, 2020. 39(4), 389–398. DOI : <https://doi.org/10.1016/j.healun.2020.01.1338>.

7. Kremastiotis, G., Handa, I., Jackson, C., George, S., & Johnson, J. Disparate effects of MMP and TIMP modulation on coronary atherosclerosis and associated myocardial fibrosis. *Scientific reports*, 2021. 11(1), 23081. DOI : <https://doi.org/10.1038/s41598-021-02508-4>.

8. Serraino, G. F., Jiritano, F., Costa, D., Ielapi, N., Battaglia, D., Bracale, U. M., Mastroroberto, P., Andreucci, M., & Serra, R. Metalloproteinases in Cardiac Surgery: A Systematic Review. *Biomolecules*, 2023. 13(1), 113. DOI : <https://doi.org/10.3390/biom13010113>.

9. Bi, X., Yang, C., Song, Y., Yuan, J., Cui, J., Hu, F., & Qiao, S. Matrix Metalloproteinases Increase Because of Hypoperfusion in Obstructive Hypertrophic Cardiomyopathy. *The Annals of thoracic surgery*, 2021. 111(3), 915–922. DOI : <https://doi.org/10.1016/j.athoracsur.2020.05.156>.

10. Morishita, T., Uzui, H., Hisazaki, K., Mitsuke, Y., Yamazaki, T., & Tada, H. Relationships between sodium levels, haemodynamics and metalloproteinases in heart failure patients. *Heart and vessels*, 2022. 37(6), 986–993. DOI : <https://doi.org/10.1007/s00380-021-02004-9>.

11. Xu, B., Shanmugalingam, R., Chau, K., Makris, A., & Hennessy, A. Galectin-1-Related Modulation of Trophoblast Endothelial Interactions by Integrins $\alpha 1$ and $\beta 1$. *Reproductive sciences (Thousand Oaks, Calif.)*, 2020. 27(5), 1097–1109. DOI : <https://doi.org/10.1007/s43032-019-00046-z>.

12. Linssen, P. B. C., Brunner-La Rocca, H. P., Schalkwijk, C. G., Beulens, J. W. J., Elders, P. J. M., van der Heijden, A. A., Slieker, R. C., Stehouwer, C. D. A., & Henry, R. M. A. Serum Matrix Metalloproteinases and Left Atrial Remodeling-The Hoorn Study. *International journal of molecular sciences*, 2020. 21(14), 4944. DOI : <https://doi.org/10.3390/ijms21144944>.

13. Brunton-O'Sullivan, M. M., Holley, A. S., Bird, G. K., Kristono, G. A., Harding, S. A., & Larsen, P. D. Examining variation and temporal dynamics of extracellular matrix biomarkers following acute myocardial infarction. *Biomarkers in medicine*, 2022. 16(3), 147–161. DOI : <https://doi.org/10.2217/bmm-2021-0531>.
14. Mashaqi, S., Mansour, H. M., Alameddin, H., Combs, D., Patel, S., Estep, L., & Parthasarathy, S. Matrix metalloproteinase-9 as a messenger in the cross talk between obstructive sleep apnea and comorbid systemic hypertension, cardiac remodeling, and ischemic stroke: a literature review. *Journal of clinical sleep medicine : JCSM : official publication of the American Academy of Sleep Medicine*, 2021. 17(3), 567–591. DOI : <https://doi.org/10.5664/jcsm.8928>.
15. Santer, D., Nagel, F., Gonçalves, I. F., Kaun, C., Wojta, J., Fagyas, M., Krššák, M., Balogh, Á., Papp, Z., Tóth, A., Bánhegyi, V., Trescher, K., Kiss, A., & Podesser, B. K. Tenascin-C aggravates ventricular dilatation and angiotensin-converting enzyme activity after myocardial infarction in mice. *ESC heart failure*, 2020. 7(5), 2113–2122. DOI : <https://doi.org/10.1002/ehf2.12794>.
16. Făgărășan, A., & Săsăran, M. O. The Predictive Role of Plasma Biomarkers in the Evolution of Aortopathies Associated with Congenital Heart Malformations. *International journal of molecular sciences*, 2022. 23(9), 4993. DOI : <https://doi.org/10.3390/ijms23094993>.
17. Bussoni, M., Okoshi, M. P., Matsubara, L. S., Polegato, B. F., Roscani, M. G., Pereira, E. J., de Paiva, S. A. R., Zornoff, L. A. M., Okoshi, K., Minicucci, M. F., & Azevedo, P. S. The Role of Extracellular Matrix in the Experimental Acute Aortic Regurgitation Model in Rats. *Heart, lung & circulation*, 2022. 31(6), 894–902. DOI : <https://doi.org/10.1016/j.hlc.2021.11.016>.
18. Matilla, L., Roncal, C., Ibarrola, J., Arrieta, V., García-Peña, A., Fernández-Celis, A., Navarro, A., Álvarez, V., Gainza, A., Orbe, J., Cachofeiro, V., Zalba, G., Sádaba, R., Rodríguez, J. A., & López-Andrés, N. A Role for MMP-10 (Matrix Metalloproteinase-10) in Calcific Aortic Valve Stenosis. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*, 2020. 40(5), 1370–1382. DOI : <https://doi.org/10.1161/ATVBAHA.120.314143>.

19. Naito, S., Petersen, J., Sequeira-Gross, T., Neumann, N., Duque Escobar, J., Zeller, T., Reichenspurner, H., & Girdauskas, E. Bicuspid aortopathy - molecular involvement of microRNAs and MMP-TIMP. *Biomarkers : biochemical indicators of exposure, response, and susceptibility to chemicals*, 2020. 25(8), 711–718. DOI : <https://doi.org/10.1080/1354750X.2020.1841297>.
20. Kostov, K., & Blazhev, A. Changes in Serum Levels of Matrix Metalloproteinase-1 and Tissue Inhibitor of Metalloproteinases-1 in Patients with Essential Hypertension. *Bioengineering (Basel, Switzerland)*, 2022. 9(3), 119. DOI : <https://doi.org/10.3390/bioengineering9030119>.
21. Pasta, S., Agnese, V., Gallo, A., Cosentino, F., Di Giuseppe, M., Gentile, G., Raffa, G. M., Maalouf, J. F., Michelena, H. I., Bellavia, D., Conaldi, P. G., & Pilato, M. Shear Stress and Aortic Strain Associations With Biomarkers of Ascending Thoracic Aortic Aneurysm. *The Annals of thoracic surgery*, 2020. 110(5), 1595–1604. DOI : <https://doi.org/10.1016/j.athoracsur.2020.03.017>.
22. Manukyan, M. A., Falkovskaya, A. Y., Zyubanova, I. V., Tsoi, E. I., Ryabova, T. R., Gusakova, A. M., Suslova, T. E., & Mordovin, V. F. Diastolic Dysfunction and Heart Failure With Preserved Ejection Fraction In Patients With Resistant Hypertension and Type 2 Diabetes Mellitus. *Kardiologiya*, 2022. 62(8), 11–18. DOI : <https://doi.org/10.18087/cardio.2022.8.n1706>.
23. Głogowska-Ligus, J., Dąbek, J., Piechota, M., Gallert-Kopyto, W., Lepich, T., Korzeń, D., & Gašior, Z. Can the expression of the metalloproteinase 9 gene and its inhibitor be considered as markers of heart failure?. *Minerva cardiology and angiology*, 2021. 69(2), 172–177. DOI : <https://doi.org/10.23736/S2724-5683.20.05202-0>.
24. Stanton, K. M., Liu, H., Kienzle, V., Bursill, C., Bao, S., & Celermajer, D. S. The Effects of Exercise on Plaque Volume and Composition in a Mouse Model of Early and Late Life Atherosclerosis. *Frontiers in cardiovascular medicine*, 2022. 9, 837–871. DOI : <https://doi.org/10.3389/fcvm.2022.837371>.
25. Melnikov, V. N., Kim, L. B., Putyatina, A. N., & Krivoschekov, S. G. Association of Circulating Extracellular Matrix Components with Central

Hemodynamics and Arterial Distensibility of Peripheral Arteries. *Journal of vascular research*, 2021. 58(6), 370–378. DOI : <https://doi.org/10.1159/000516841>.

26. Frank, B. S., Nandy, D., Khailova, L., Mitchell, M. B., Morgan, G. J., Twite, M., DiMaria, M. V., & Davidson, J. A. Circulating biomarkers of extracellular matrix dysregulation are associated with adverse post-stage 2 outcomes in infants with single ventricle heart disease. *Scientific reports*, 2023. 13(1), 16318. DOI : <https://doi.org/10.1038/s41598-023-43562-4>.

27. Zile, M. R., O'Meara, E., Claggett, B., Prescott, M. F., Solomon, S. D., Swedberg, K., Packer, M., McMurray, J. J. V., Shi, V., Lefkowitz, M., & Rouleau, J. Effects of Sacubitril/Valsartan on Biomarkers of Extracellular Matrix Regulation in Patients With HFrEF. *Journal of the American College of Cardiology*, 2019. 73(7), 795–806. DOI : <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2018.11.042>.

28. Cui, C., Zhou, H., & Xu, J. ELABELA acts as a protective biomarker in patients with atrial fibrillation. *Journal of thoracic disease*, 2021. 13(12), 6876–6884. DOI : <https://doi.org/10.21037/jtd-21-1728>.

29. Rubiś, P., Holcman, K., Dziewięcka, E., Wiśniowska-Śmiałek, S., Karabinowska, A., Szymonowicz, M., Khachatryan, L., Wypasek, E., Garlitski, A., Gackowski, A., & Podolec, P. Relationships between circulating galectin-3, extracellular matrix fibrosis and outcomes in dilated cardiomyopathy. *Advances in clinical and experimental medicine : official organ Wroclaw Medical University*, 2021. 30(3), 245–253. DOI : <https://doi.org/10.17219/acem/115081>.

30. Brunton-O'Sullivan, M. M., Holley, A. S., Hally, K. E., Kristono, G. A., Harding, S. A., & Larsen, P. D. A combined biomarker approach for characterising extracellular matrix profiles in acute myocardial infarction. *Scientific reports*, 2021. 11(1), 12705. DOI : <https://doi.org/10.1038/s41598-021-92108-z>.

31. Kottmann, P., Eildermann, K., Murthi, S. R., Cleuziou, J., Lemmer, J., Vitanova, K., von Stumm, M., Lehmann, L., Hörer, J., Ewert, P., Sigler, M., Lange, R., Lahm, H., Dreßen, M., Lichtner, P., & Wolf, C. M. EGFR and MMP-9 are associated with neointimal hyperplasia in systemic-to-pulmonary shunts in children with complex cyanotic heart disease. *Mammalian genome : official journal of the International*

Mammalian Genome Society, 2023. 34(2), 285–297. DOI : <https://doi.org/10.1007/s00335-023-09982-3>.

32. Sun, X., Song, Y., Han, J., Chen, F., Sun, Y., Sui, B., & Jiang, D. Shenlijia Attenuates Doxorubicin-Induced Chronic Heart Failure by Inhibiting Cardiac Fibrosis. *Evidence-based complementary and alternative medicine : eCAM*, 2021, 665-696. DOI : <https://doi.org/10.1155/2021/6659676>.

33. Arai, A. L., Migliorini, M., Au, D. T., Hahn-Dantona, E., Peeney, D., Stetler-Stevenson, W. G., Muratoglu, S. C., & Strickland, D. K. High-Affinity Binding of LDL Receptor-Related Protein 1 to Matrix Metalloprotease 1 Requires Protease:Inhibitor Complex Formation. *Biochemistry*, 2020. 59(32), 2922–2933. DOI : <https://doi.org/10.1021/acs.biochem.0c00442>.

34. Braams, N. J., Kianzad, A., van Wezenbeek, J., Wessels, J. N., Jansen, S. M. A., Andersen, S., Boonstra, A., Nossent, E. J., Marcus, J. T., Bayoumy, A. A., Becher, C., Goumans, M. J., Andersen, A., Vonk Noordegraaf, A., de Man, F. S., Bogaard, H. J., & Meijboom, L. J. Long-Term Effects of Pulmonary Endarterectomy on Right Ventricular Stiffness and Fibrosis in Chronic Thromboembolic Pulmonary Hypertension. *Circulation. Heart failure*, 2023. 16(10), e010336. DOI : <https://doi.org/10.1161/CIRCHEARTFAILURE.122.010336>.

35. Das, S. C., Varadharajan, K., Shanmugakonar, M., & Al-Naemi, H. A. Chronic Cadmium Exposure Alters Cardiac Matrix Metalloproteinases in the Heart of Sprague-Dawley Rat. *Frontiers in pharmacology*, 2021. 12, 663048. DOI : <https://doi.org/10.3389/fphar.2021.663048>.

36. Bäß, L., Dannberg, G., Grün, K., Westphal, J., Möbius-Winkler, S., Jung, C., Pfeil, A., Schulze, P. C., & Franz, M. Serum Biomarkers of Cardiovascular Remodelling Reflect Extra-Valvular Cardiac Damage in Patients with Severe Aortic Stenosis. *International journal of molecular sciences*, 2020. 21(11), 4174. DOI : <https://doi.org/10.3390/ijms21114174>.

37. Podzolkov, V. I., Tarzimanova, A. I., Bragina, A. E., Gataulin, R. G., Oganessian, K. A., Pokrovskaya, A. E., & Osadchy, K. K. *Terapevticheskii arkhiv*, 2021. 93(12), 1451–1456. DOI : <https://doi.org/10.26442/00403660.2021.12.201178>.

38. Hu, C., Wang, Q., Xue, H., Hong, H., Shi, J., Dong, N., & Zhang, M. The pathomechanism of human myxomatous valvular degeneration at the mechanical and cellular level. *Reviews in cardiovascular medicine*, 2021. 22(2), 513–519. DOI : <https://doi.org/10.31083/j.rcm2202059>.

39. Silva-Bertani, D. C. T. D., Vileigas, D. F., Mota, G. A. F., Souza, S. L. B., Tomasi, L. C., Campos, D. H. S., Deus, A. F., Freire, P. P., Alves, C. A. B., Padovani, C. R., & Cicogna, A. C. Decreased Collagen Type I is Associated with Increased Metalloproteinase-2 Activity and Protein Expression of Leptin in the Myocardium of Obese Rats. A Redução do Colágeno Tipo I está Associada ao Aumento da Atividade da Metaloproteinase-2 e da Expressão Proteica de Leptina no Miocárdio de Ratos Obesos. *Arquivos brasileiros de cardiologia*, 2020. 115(1), 61–70. DOI : <https://doi.org/10.36660/abc.20180143>.

40. Dede, E., Liapis, D., Katsimpoulas, M., Varela, A., Mpotis, I., Kostomitsopoulos, N., & Kadoglou, N. P. E. The effects of exercise training on cardiac matrix metalloproteinases activity and cardiac function in mice with diabetic cardiomyopathy. *Biochemical and biophysical research communications*, 2022. 586, 8–13. DOI : <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2021.11.013>.

41. Ali, M. M., Mahmoud, A. M., Le Master, E., Levitan, I., & Phillips, S. A. Role of matrix metalloproteinases and histone deacetylase in oxidative stress-induced degradation of the endothelial glycocalyx. *American journal of physiology. Heart and circulatory physiology*, 2019. 316(3), H647–H663. DOI : <https://doi.org/10.1152/ajpheart.00090.2018>.

42. Zhang, M., Cheng, K., Yu, L., Wu, W., Wang, Y., & Chen, Y. Zhonghua wei zhong bing ji jiu yi xue, 2022. 34(6), 640–645. DOI : <https://doi.org/10.3760/cma.j.cn121430-20220309-00232>.

43. Lee, Y. P., & Choi, D. G. MMPs, TIMPs and BMP-4 in medial rectus muscle obtained from intermittent exotropia patients and their clinical correlations. *Acta ophthalmologica*, 2020. 98(1), e107–e112. DOI : <https://doi.org/10.1111/aos.14217>.

44. Schmitt, R., Tscheuschler, A., Laschinski, P., Discher, P., Fuchs, J., & Kari, F. A. Matrix Metalloproteinase-2 Isoforms Differ within the Aortic Wall of Ascending

Aortic Aneurysms Associated with Bicuspid Aortic Valve. *Cardiology research and practice*, 2020, 130-164. DOI : <https://doi.org/10.1155/2020/1306425>.

45. Dimitriadis, G. K., Nasiri-Ansari, N., Agrogiannis, G., Kostakis, I. D., Randeve, M. S., Nikiteas, N., Patel, V. H., Kaltsas, G., Papavassiliou, A. G., Randeve, H. S., & Kassi, E. Empagliflozin improves primary haemodynamic parameters and attenuates the development of atherosclerosis in high fat diet fed APOE knockout mice. *Molecular and cellular endocrinology*, 2019. 494, 110-148. DOI : <https://doi.org/10.1016/j.mce.2019.110487>.

46. Chaouad, B., Moudilou, E. N., Ghoul, A., Zerrouk, F., Moulahoum, A., Othmani-Mecif, K., Cherifi, M. E. H., Exbrayat, J. M., & Benazzoug, Y. Hyperhomocysteinemia and myocardial remodeling in the sand rat, *Psammomys obesus*. *Acta histochemica*, 2019. 121(7), 823–832. DOI : <https://doi.org/10.1016/j.acthis.2019.07.008>.

47. Lohanathan, B. P., Rathinasamy, B., Huang, C. Y., & Viswanadha, V. P. Neferine attenuates doxorubicin-induced fibrosis and hypertrophy in H9c2 cells. *Journal of biochemical and molecular toxicology*, 2022. 36(7), e23054. DOI : <https://doi.org/10.1002/jbt.23054>.

48. Yuan, K., Zhao, P., & Wang, L. Molecular mechanism of atrial remodeling in patients with aging atrial fibrillation under the expression of microRNA-1 and microRNA-21. *Bioengineered*, 2021. 12(2), 12905–12916. DOI : <https://doi.org/10.1080/21655979.2021.2008668>.

49. Lebedev, D. A., Lyasnikova, E. A., Vasilyeva, E. Y., Likhonosov, N. P., Sitnikova, M. Y., & Babenko, A. Y. Association between Markers of Fibrosis and Heart Failure Incidence in Patients with Type 2 Diabetes Mellitus. *Journal of diabetes research*, 2021, 9589185. DOI : <https://doi.org/10.1155/2021/9589185>.

50. Whitehurst, K. S., Chan, V. A., Estes, H. K., Valsaraj, S., Kent, S., Sharma, U. M., Chase, R. C., Bhuiyan, M., & Virag, J. A. I. EphrinA1-Fc Attenuates Ventricular Remodeling and Dysfunction in Chronically Nonreperfused WT but not EphA2-R-M mice. *International journal of molecular sciences*, 2020. 21(16), 5811. DOI : <https://doi.org/10.3390/ijms21165811>.

51. Gałdyszyńska, M., Zwoliński, R., Piera, L., Szymański, J., Jaszewski, R., & Drobnik, J. Stiff substrates inhibit collagen accumulation via integrin $\alpha 2\beta 1$, FAK and Src kinases in human atrial fibroblast and myofibroblast cultures derived from patients with aortal stenosis. *Biomedicine & pharmacotherapy = Biomedecine & pharmacotherapie*, 2023. 159, 114289. DOI : <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2023.114289>.

52. Fan, F., Zhou, Q., Xu, Z., & Wang, D. Osteopontin in the Pathogenesis of Aortic Dissection by the Enhancement of MMP Expressions. *International heart journal*, 2019. 60(2), 429–435. DOI : <https://doi.org/10.1536/ihj.18-017>.

53. Yang, C., Qiao, S., Song, Y., Liu, Y., Tang, Y., Deng, L., Yuan, J., Hu, F., & Yang, W. Procollagen type I carboxy-terminal propeptide (PICP) and MMP-2 are potential biomarkers of myocardial fibrosis in patients with hypertrophic cardiomyopathy. *Cardiovascular pathology : the official journal of the Society for Cardiovascular Pathology*, (2019). 43, 107-150. DOI : <https://doi.org/10.1016/j.carpath.2019.107150>.

54. Gardziejczyk, P., Farkowski, M. M., Pytkowski, M., Kołakowski, K., Kowalik, I., Leszek, P., Jaworski, K., Wróbel, A., & Maciąg, A. A quality of life, clinical and biochemical improvements after catheter ablation of persistent arrhythmia in patients with structural heart disease and arrhythmia-mediated cardiomyopathy. *Kardiologia polska*, 2022. 80(5), 586–954. DOI : <https://doi.org/10.33963/KP.a2022.0057>.

55. do Vale, G. T., da Silva, C. B. P., Sousa, A. H., Gonzaga, N. A., Parente, J. M., Araújo, K. M., Castro, M. M., & Tirapelli, C. R. Nebivolol Prevents Up-Regulation of Nox2/NADPH Oxidase and Lipoperoxidation in the Early Stages of Ethanol-Induced Cardiac Toxicity. *Cardiovascular toxicology*, 2021. 21(3), 224–235. DOI : <https://doi.org/10.1007/s12012-020-09614-1>.

56. Pecherina, T., Kutikhin, A., Kashtalap, V., Karetnikova, V., Gruzdeva, O., Hryachkova, O., & Barbarash, O. Serum and Echocardiographic Markers May Synergistically Predict Adverse Cardiac Remodeling after ST-Segment Elevation.

Myocardial Infarction in Patients with Preserved Ejection Fraction. *Diagnostics* (Basel, Switzerland), 2020. 10(5), 301. DOI : <https://doi.org/10.3390/diagnostics10050301>

57. Gui, L., Wang, F., Hu, X., Liu, X., Yang, H., Cai, Z., Qi, M., & Dai, C. Epigallocatechin Gallate Protects Diabetes Mellitus Rats Complicated with Cardiomyopathy through TGF- β 1/JNK Signaling Pathway. *Current pharmaceutical design*, 2022. 28(33), 2758–2770. DOI : <https://doi.org/10.2174/1381612828666220902115437>.

58. Brunton-O'Sullivan, M. M., Holley, A. S., Shi, B., Harding, S. A., & Larsen, P. D. Cluster analysis of extracellular matrix biomarkers predicts the development of impaired systolic function within 1 year of acute myocardial infarction. *Heart and vessels*, 2022. 37(12), 2029–2038. DOI : <https://doi.org/10.1007/s00380-022-02118-8>.

59. Radwańska, P., Gałdyszyńska, M., Piera, L., & Drobnik, J. Kisspeptin-10 increases collagen content in the myocardium by focal adhesion kinase activity. *Scientific reports*, 2023. 13(1), 177-199. DOI : <https://doi.org/10.1038/s41598-023-47224-3>.

60. Gałdyszyńska, M., Radwańska, P., Szymański, J., & Drobnik, J. The Stiffness of Cardiac Fibroblast Substrates Exerts a Regulatory Influence on Collagen Metabolism via α 2 β 1 Integrin, FAK and Src Kinases. *Cells*, 2021. 10(12), 3506. DOI : <https://doi.org/10.3390/cells10123506>.