МЕХАНИЗМЫ ФОРМИРОВАНИЯ МИОКАРДИАЛЬНОГО ФИБРОЗА

В НОРМЕ И ПРИ НЕКОТОРЫХ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ. МЕТОДЫ ЕГО ДИАГНОСТИКИ

В обзоре изложены современные представления о механизмах формирования миокардиального фиброза, включая влияние гуморального и клеточного компонентов. Рассмотрены понятия внеклеточного матрикса и объема, их клиническое значение для прогрессирования сердечно-сосудистых заболеваний, представлены предпосылки для формирования новых подходов к лечению кардиальной патологии с учетом результатов определения внеклеточного объема при помощи МРТ.

Ключевые слова: фиброз миокарда, коллаген, внеклеточный матрикс, внеклеточный объем, магнитно-резонансная томография.

S.V. MIKLISHANSKAYA, PhD in medicine, N. A. MAZUR, MD, Prof., N.V. SHESTAKOVA, PhD in medicine

Russian Medical Academy of continuing post-graduate studies

MECHANISMS FOR THE FORMATION MYOCARDIAL FIBROSIS IN NORM AND IN CERTAIN CARDIOVASCULAR DISEASES, HOW TO DIAGNOSE IT

The review summarizes current knowledge regarding the origins and role of myocardial fibrosis formation, including the effects of humoral and cellular components. The concepts of extracellular matrix and volume, their clinical significance for the progression of cardiovascular diseases, the background for the formation of new approaches for the treatment of cardiac pathology are considered, taking into account the results of determination of extracellular volume with the help of MRI.

Keywords: cardiac fibrosis, collagen, extracellular matrix, extracellular volume, cardiovascular magnetic resonance imaging.

Образование фиброзной ткани – процесс, который происходит во всех тканях организма на протяжении всей жизни. Вместе с тем наличие ряда заболеваний усиливает и ускоряет его развитие. В частности, такая широко распространенная патология сердечно-сосудистой системы, как артериальная гипертония, существенно влияет на процессы формирования коллагена в миокарде, что в дальнейшем приводит к развитию нарушения диастолической функции и со временем – к появлению диастолической сердечной недостаточности. Диастолическая дисфункция может развиваться с возрастом или встречаться при широком спектре заболеваний (ГКМП, аортальный стеноз и недостаточность, артериальная гипертония). При этом пациенты с артериальной гипертонией составляют около 66% от всех случаев развития диастолической дисфункции [1]. Нарушение диастолической функции ЛЖ служит наиболее ранним предвестником гипертрофии левого желудочка и миокардиального фиброза, обуславливающего повышение ригидности стенки левого желудочка у больных ГБ [2]. Нарушение диастолической функции связывают с увеличением содержания в миокарде фиброзной ткани, накоплением коллагена и нарушением транспорта ионов кальция, что вызывает замедление релаксации и ухудшение растяжимости миокарда левого желудочка [3].

Долгое время под сердечной недостаточностью подразумевалось снижение сократительной функции миокарда, дилатация левого желудочка и снижение фракции выброса по данным ЭхоКГ. Однако в настоящее время в связи с увеличением продолжительности жизни и частоты развития артериальной гипертонии нарастает эпиде-

мия сердечной недостаточности с сохраненной фракцией выброса, которая характеризуется нарушением диастолической функции ЛЖ, нормальными размерами ЛЖ и может сочетаться с гипертрофией миокарда. Но наличие гипертрофии при этом не является обязательным.

В основе диастолической сердечной недостаточности лежит диастолическая дисфункция, обусловленная снижением растяжимости желудочков при заполнении их кровью в диастолу, что вызывает повышение сократимости предсердий, перегрузку их объемом и в конечном счете приводит к развитию венозного полнокровия в малом круге кровообращения и даже отеку легких [3].

По данным исследований, проведенных в США, 50% госпитализаций, связанных с сердечной недостаточностью, приходится на пациентов с сохраненной фракцией выброса ЛЖ (т.е. диастолической сердечной недостаточностью). При этом риск смерти у пациентов с диастолической сердечной недостаточностью эквивалентен риску смерти у пациентов с систолической сердечной недостаточностью. Это означает, что примерно 50% пациентов с сердечной недостаточностью погибает в течение 3 лет [4].

В настоящее время под диффузным фиброзом миокарда понимают патологический процесс, который сопровождается избыточным отложением коллагена в миокарде за счет преобладания процессов его синтеза над распадом. Основным следствием фиброза является снижение растяжимости желудочков. Растяжимость желудочков снижается как за счет увеличения числа волокон коллагена, так и в результате нарушения его свойств. Например, смена продольной направленности волокон на попереч-

ную приводит к значительному увеличению жесткости миокарда. Кроме того, в гипертрофированном миокарде уменьшается содержание «эластичного» коллагена III типа и увеличивается содержание «жесткого» коллагена I типа. По мнению ряда исследователей, именно фиброз миокарда определяет переход от бессимптомной диастолической дисфункции к диастолической сердечной недостаточности, а также отвечает за прогрессирование диастолической дисфункции у больных с диастолической сердечной недостаточностью. Доказано, что для того, чтобы уменьшить жесткость миокарда, необходимо добиться реверсии его фиброза [5].

В последние годы были значительно расширены представления о развитии фиброза и роли межклеточного (интерстициального) пространства в этом процессе. В последующем интерстициальному пространству миокарда было дано название межклеточный матрикс. Ранее внеклеточное пространство миокарда рассматривали как объемную долю сердечной ткани, которая не занята клетками (кардиомиоцитами). Внеклеточное пространство миокарда считалось статичным гистологическим образованием, однако позже было показано, что оно подвержено динамике, более того, данная сеть выступает как интегральный показатель динамического изменения под влиянием различных (механических, химических, электрических) стимулов в миокарде.

Внеклеточный матрикс является макромолекулярной метаболически активной динамической сетью волокон (преимущественно коллагеновых) и клеток (преимущественно фибробластов) со способностью дифференцироваться в миофибробласты, которая имеет важное значение для нормального функционирования сердца. Фибробласты и миофибробласты, окружающие и инфильтрирующие внеклеточный матрикс, связаны с коллагеновыми волокнами и, следовательно, способны отвечать на механическое растяжение и давление так же, как на различные аутокринные и паракринные стимулы изменением пролиферации, миграции и интенсивности синтеза коллагена. Эти процессы могут способствовать ремоделированию сердца и играть неблагоприятную роль в патогенезе сердечно-сосудистых заболеваний [6].

КЛЕТОЧНАЯ РЕГУЛЯЦИЯ ФИБРОЗА

В эмбриональном периоде сердечные фибробласты главным образом происходят из мезенхимальных клеток-предшественниц, которые образуются вблизи венозного полюса сердца и затем, мигрируя по поверхности сердца, преобразуются в эпикард. В ходе развития из эпикардальных клеток могут поочередно развиваться фибробласты и миофибробласты. В конечном счете большинство этих клеток принимает фенотип фибробласта, тем не менее они могут быть реактивированы в миофибробласты в ответ на повреждение. В постнатальном периоде фибробласты происходят из популяции эндотелиальных клеток вследствие эпителиально-мезенхимальной трансформации, а также в костном мозге из кровяных клеток предшественниц.

У взрослых сердечные фибробласты продуцируют виментин, бета-интегрин и в основном ответственны за секрецию фибронектина, ламинина и коллагена I, III и IV типов. К настоящему времени специфический маркер фибробластов не был идентифицирован, однако некоторые отличительные маркеры существуют. Например, клеточный поверхностный рецептор коллагена дискоидин (домен 2) выявляется в сердечных фибробластах и отсутствует в миоцитах, клетках гладких мышц сосудистой стенки и в эндотелиальных клетках. Фибробласт специфический белок-1 также был предложен в качестве потенциального маркера фиброза, однако было показано, что он продуцируется и в других типах клеток, в том числе моноцитах, ишемических кардиомиоцитах, эндотелиальных клетках и многочисленных раковых клетках.

В настоящее время под диффузным фиброзом миокарда понимают патологический процесс, который сопровождается избыточным отложением коллагена в миокарде за счет преобладания процессов его синтеза над распадом

Фибробласты фенотипически неоднородны, их вид зависит от органа, в котором происходит развитие. В неповрежденных тканях предсердий и желудочков сердца фибробласты имеют разную плотность клеток. Также было показано, что выделенные сердечные фибробласты имеют специфические различия по морфологии и пролиферативной реакции в ответ на стимуляцию факторами роста в зависимости от камеры сердца.

Нормальные сформировавшиеся сердечные фибробласты являются плоскими клетками веретенообразной формы с несколькими отростками, которые образуют сеть ячеек в пределах внеклеточного матрикса. Эти взаимосвязи позволяют фибробластам реагировать на целый ряд стимулов, а также дают им возможность модулировать функцию миоцитов и других типов клеток в сердце. Фибробласты не имеют сократительных микрофиламентов или волокон натяжения. Скоординированные действия фибробластов включают секрецию различных сигнальных молекул, цитокинов и факторов роста.

Фибробласты отвечают за поддержание внеклеточного матрикса. Этот процесс включает в себя высокорегулируемую деятельность по синтезу и деградации коллагена. Синтезу коллагена способствуют профиброгенные факторы роста, в том числе трансформирующий фактор роста- $\beta 1$ (TGF- $\beta 1$), а деградация коллагена осуществляется членами семейства матриксных металлопротеиназ (MMP) [7–9].

Волокна коллагена образуют структурный каркас миокарда. Они переплетаются в сложную трехмерную сеть, которая обеспечивает поддержку кардиомиоцитов на протяжении всего сердечного цикла и способствует трансформации сокращений отдельных клеток в единый силовой вектор. Эта сеть окружает как кардиомиоциты, так и фибробласты. Такое расположение сохраняет

непрерывность в различных слоях стенки миокарда. Наряду с этим, образованная сеть выступает в качестве интегрального датчика динамического изменения при различных механических, химических и электрических стимулах, воздействующих на миокард. В ответ на эти стимулы эта сложная сеть регулирует продукцию внеклеточного матрикса и гипертрофию кардиомиоцитов и в меньшей степени – пролиферацию кардиомиоцитов, кроме того, она вызывает активацию фиброзных и воспалительных процессов. Следует отметить, что в зависимости от окружающей микросреды формируются различные фенотипы сердечных фибробластов [5, 6, 9].

Важным событием в развитии фиброза сердца является превращение фибробластов в миофибробласты, которые характеризуются в 2 раза большей способностью синтезировать коллаген, они более чувствительны к провоспалительным и профибротическим стимулам и способны синтезировать большее количество разнообразных цитокинов и хемокинов.

Образованию миофибробластов в значительной степени способствуют несколько цитокинов и факторов роста, в том числе TGF- β 1. В норме миофибробласты не присутствуют в сердечной ткани за исключением створок клапанов. Миофибробласты производят виментин, альфа-гладкомышечный актин (α -SMA), коллаген I, III, IV и VIII типов и имеют морфологические и биохимические особенности, характерные для промежуточного состояния между фибробластами и гладкомышечными клетками. Миофибробласты также синтезируют белки, которые являются важными в заживлении ран. Ультраструктурные характеристики миофибробластов включают миофиламенты, хорошо развитый эндоплазматический ретикулум и обширные клеточно-матричные контакты, межклеточные соединения между фибробластами (Fibronexus), которые не наблюдаются в нормальной ткани. Все это связывает внутренние микрофиламенты миофибробласта с белками внеклеточного матрикса, которые помогают обеспечить сократительные возможности окружающего внеклеточного матрикса. Миофибробласты характеризуются также повышенными возможностями клеточной пролиферации, увеличением уровня содержания внеклеточного матрикса.

Во время заживления раны эти клетки обеспечивают дополнительный синтез внеклеточных коллагеновых волокон, которые укрепляют поврежденную ткань. В большинстве органов миофибробласты подвергаются апоптозу и исчезают после завершения восстановления тканей. В то же время было показано, что в сердце миофибробласты сохраняются в сформировавшихся постинфарктных рубцах [10, 11].

Точные функциональные изменения, которые происходят в результате активации фибробластов в миокарде, только начинают описывать. Недавние исследования выявили существенные различия между фибробластами, выделенными из нормальной и фиброзной ткани сердца при одних и тех же условиях среды [12]. Тесное взаимодействие между кардиомиоцитами и сердечными фибробластами имеет важное значение для их функционирования. Эти взаимодействия способствуют появлению мно-

жественных паракринных сигналов, в том числе предрасполагающих к фиброзу. Кардиомиоциты, сердечные фибробласты и миофибробласты имеют много общих молекулярных связей (опосредованных ангиотензином II, TGF- β 1, эндотелином и цитокинами ИЛ-1 и ИЛ-6).

Однако ответ на передачу сигналов может изменяться в зависимости от типа клетки: гипертрофия и снижение выживаемости клеток кардиомиоцитов опосредованы ангиотензин II-индуцированным образованием TGF- β 1 и эндотелина-1 из фибробластов, в то время как ангиотензин II также способствует выходу TGF- β 1 и эндотелина-1 из кардиомиоцитов, что и стимулирует пролиферацию фибробластов, дифференцировку миофибробластов и синтез компонентов внеклеточного матрикса [6, 13].

Существуют также различия между кардиомиоцитами и фибробластами по плотности и активности рецепторов киназы, которые могут помешать окончательным влияниям эффекторных молекул. Например, фибробласты могут нести больше рецепторов ангиотензина II, чем кардиомиоциты [6, 14].

Множество других регуляторных веществ участвуют во взаимодействии между фибробластами и кардиомиоцитами, в частности фактор роста фибробластов (TGF- β 1), интерлейкины, натрийуретические пептиды.

Некоторые стимуляторы (например, тромбоцитарный фактор роста, фактор роста фибробластов, а также механическое растяжение) главным образом свойственны фибробластам, в то время как аномалии в перераспределении кальция чаще наблюдаются в кардиомиоцитах [6, 15].

Таким образом, внеклеточный матрикс является макромолекулярной, метаболически активной динамической сетью волокон (преимущественно коллагеновых) и клеток (преимущественно кардиофибробластов со способностью дифференцироваться в миофибробласты), что имеет важное значение для нормального функционирования сердца [6, 9].

ГУМОРАЛЬНАЯ РЕГУЛЯЦИЯ ФИБРОЗА

Синтез и деградация коллагена обеспечивается с помощью большого количества факторов регуляции. Среди них ангиотензин 2 и трансформирующий фактор роста β 1 являются наиболее мощными активаторами синтеза коллагена фибробластами.

ТРАНСФОРМИРУЮЩИЙ ФАКТОР РОСТА β 1 (TGF β 1)

Трансформирующий фактор роста β 1 – белок, который контролирует пролиферацию, клеточную дифференцировку и другие функции большинства клеток. Этот представитель цитокинов участвует в иммунном ответе при формировании онкологических, сердечно-сосудистых заболеваний, сахарном диабете, синдроме Марфана, синдроме Лойеса – Дитса, болезни Паркинсона и синдроме приобретенного иммунодефицита (СПИД). TGF β кодируется на генетическом уровне в соответствующем гене TGF β . Этот цитокин существует в 3 изоформах: TGF β 1, TGF β 2 и TGF β 3. Продуктами TGF β являются гра-

нулоциты, все виды лимфоцитов, а также макрофаги и дендритные клетки. Фиброз тканей в первую очередь связывают с изоформой TGFβ1. Несмотря на то что различные типы клеток продуцируют и реагируют на TGFβ, основными источниками его образования служат циркулирующие моноциты и тканевые макрофаги.

Трансформирующий фактор роста β секретируется клетками преимущественно в неактивной форме, получившей название латентный TGFβ. Сывороточные протеиназы (такие как плазмин) и другие агенты, включая металлопротеиназы, катализируют высвобождение активного TGFβ из комплекса. Это часто происходит на поверхности макрофага. Воспалительные стимулы, которые активируют макрофаги, повышают высвобождение активного TGFβ, вызывая активацию плазмينا. Макрофаги могут также поглощать с помощью эндоцитоза связанные с IgG латентные TGFβ-комплексы, которые секретируются плазмодитами и затем выделяют активный TGFβ в межклеточную жидкость. Многие клетки, синтезирующие TGFβ, имеют рецепторы к нему на своей поверхности. Подобный механизм известен как аутокринная регуляция.

Нормальные сформировавшиеся сердечные фибробласты являются плоскими клетками веретенообразной формы с несколькими отростками, которые образуют сеть ячеек в пределах внеклеточного матрикса

Свое биологическое действие TGFβ оказывает при связывании с рецепторами на мембране клетки. Идентифицировано два типа сигнальных рецепторов к TGFβ: TGFβRI и TGFβRII. При передаче сигнала активная форма TGFβ связывается с TGFβRII, что приводит к формированию гетеромерного комплекса TGFβRII/TGFβRI. В цитоплазме комплекс TGFβRII/TGFβRI взаимодействует с белками семейства Smad, которые обеспечивают передачу сигнала в ядро с последующей активацией транскрипции генов, включая проколлаген I и III типов. Через соответствующие регуляторные связи происходит образование профибротического белка, который затем секретируется во внеклеточный матрикс из т. н. матриксного белка. Профибротический белок модулирует межклеточные и клетка-матрица-взаимодействия, которые дополнительно стимулируют синтез белка во внеклеточном матриксе, но не принимает непосредственного участия в формировании и механической организации внеклеточного матрикса или дифференциации сердечных фибробластов в миофибробласты.

Существует также и альтернативный к Smad путь для TGFβ1-индуцированного фиброза. Полученный из макрофага TGFβ1, как предполагается, стимулирует фиброз, активируя напрямую резидентные мезенхимальные и эпителиальные клетки, которые дифференцируются в коллаген-продуцирующие миофибробласты через реакцию эпителиально-мезенхимальной трансформации. Важно отметить, что, помимо активации фибробластов и синтеза коллагена, TGFβ1 может также индуцировать апоптоз кардиомиоцитов.

АНГИОТЕНЗИН II

Ангиотензин II играет критическую роль в развитии фиброза, являясь основным компонентом ренин-ангиотензин-альдостероновой системы, обладает профибротической активностью и как основной гормон ответствен за миокардиальный фиброз у пациентов с гипертонией. В сочетании с альдостероном ангиотензин II способствует окислительному стрессу (т. е. избытку производства активных форм кислорода) и воспалению в основном за счет активации никотинамид-аденин-динуклеотид-фосфат (NADPH) оксидазы, которая, в свою очередь, стимулирует выработку TGFβ1 и запускает пролиферацию фибробластов, дифференцировку в коллаген-продуцирующие миофибробласты. В дополнение к своему воздействию на секрецию и активацию TGFβ1 ангиотензин II также усиливает передачу сигналов TGFβ1 путем увеличения SMAD и путем увеличения ядерной транслокации и фосфорилирования. TGFβ1 увеличивает образование сердечными миофибробластами интерстициальных типов коллагенов, фибронектина и протеогликанов, тем самым устанавливая аутокринный цикл дифференцировки и активации миофибробластов. TGFβ1 также может напрямую стимулировать экспрессию ангиотензина II типа 1. По данным исследований, повышение экспрессии TGFβ1 у трансгенных мышей ведет к гипертрофии миокарда как за счет интерстициального фиброза, так и за счет гипертрофии кардиомиоцитов. У пациентов, страдающих гипертрофической или дилатационной кардиомиопатиями, также повышено содержание TGFβ1 в миокарде левого желудочка. Таким образом, терапия, направленная на ренин-ангиотензин-альдостероновую систему или на синтез и влияние TGFβ1, может замедлять прогрессирование фиброза при артериальной гипертонии, при заболевании почек и фиброзе печени [6,16].

МАТРИКСНЫЕ МЕТАЛЛОПРОТЕИНАЗЫ И ТКАНЕВЫЕ ИНГИБИТОРЫ МАТРИКСНЫХ МЕТАЛЛОПРОТЕИНАЗ

Ремоделирование и поддержание гомеостаза внеклеточного пространства включает в себя не только синтез, но и координированную деградацию белков внеклеточного матрикса. Матричные металлопротеиназы (MMP) и их тканевые ингибиторы, синтезируемые кардиомиоцитами и фибробластами, глубоко вовлечены в поддержание внеклеточного пространства.

Они представляют семейство внеклеточных цинк-зависимых эндопептидаз, способных разрушать все типы белков внеклеточного матрикса. Коллагеназы (MMP-1) вызывают утилизацию более 40%-ного коллагена в различных тканях, а также играют роль в ремоделировании тканей, ангиогенезе, пролиферации, миграции и дифференциации клеток, апоптозе, сдерживании роста опухолей, способны к активации и деактивации хемокинов и цитокинов. Металлопротеиназы структурно обособлены внутри лизосом и других органелл, что предохраняет внутриклеточные белки от расщепления. Внутриклеточный распад белков протекает главным образом внутри лизо-

сом, куда белки попадают в результате эндоцитоза. При повреждении тканей, а также под влиянием ряда факторов (некоторых гормонов, токсинов, иммунных комплексов и др.) происходит выход MMP из клеток. Это наблюдается как при физиологических, так и при патологических состояниях и в ряде случаев сопровождается локальным повышением протеолитической активности.

В крови и других биологических жидкостях, а также в различных клетках присутствуют белковые ингибиторы, которые избирательно блокируют активность отдельных ферментов или групп ферментов. Системы ингибиторов осуществляют регуляцию активности пептид-гидролаз и предохраняют белки от неконтролируемого расщепления. Выяснить роль MMP в метаболизме внеклеточного матрикса в норме и особенно в развитии многих патологий возможно только с привлечением имеющихся сведений о свойствах тканевых ингибиторов (TIMP), которые регулируют как ферментативную активность MMP, так и их активацию *in vivo*. Необходимым условием нормального протекания физиологических процессов является поддержание равновесия между активностью MMP и их ингибиторов. Нарушение этого равновесия может оказывать глубокое воздействие на состав внеклеточного матрикса и влиять на различные функции клеток, включая адгезию, миграцию и дифференциацию.

Металлопротеиназам функционально противодействуют тканевые ингибиторы, которые, необратимо связывая активные участки на молекулах металлопротеиназ, препятствуют их взаимодействию с коллагеном. В норме активность металлопротеиназ уравнивается активностью их ингибиторов. Однако при патологических состояниях активность одних белков начинает преобладать над активностью других, причем в зависимости от характера патологического процесса и времени от начала заболевания это равновесие может быть смещено как в одну, так и в другую сторону. Тканевые ингибиторы металлопротеиназ представлены семейством протеинов, снижающих активность металлопротеиназ внеклеточного матрикса. TIMP1 является компонентом внеклеточного матрикса и играет важную роль в контроле его метаболизма, необратимо ингибируя активность MMP [4].

При всей привлекательности использования маркеров коллагена для оценки фиброза не стоит забывать, что это всего лишь лабораторный тест, и любое заключение о состоянии целого органа, сделанное на его основании, всегда будет носить предположительный характер

Увеличение активности MMP в сочетании с увеличением экспрессии TGFβ1 в миокарде коррелирует с уровнем воспаления и окислительного стресса. Кроме того, коллаген и другие составляющие внеклеточного матрикса под действием MMP1 сами образуют биологически активные молекулы, т. н. матричные киназы, и продуцируют встраиваемые во внеклеточный матрикс провоспалительные

и профибротические факторы. Они способствуют активации фибробластов и переходу к миофибробластному фенотипу, что приводит к эффективной стимуляции синтеза соединительной ткани за счет выступающей в качестве лигандов лейкоцитарных интегринов и других клеточных активирующих рецепторов. Последнее объясняет прогрессирование фиброза, когда активность MMP высока, несмотря на основную функцию MMP, направленную на деградацию матрицы. Активность MMP регулируется с помощью тканевых ингибиторов MMP и реверсии индуцирующих богатых цистеином белков Kazal I, избыточная экспрессия которых приводит к прямой ангиотензин II-индуцированной активации MMP и миграции сердечных фибробластов.

Действительно, экспрессия MMP возрастает в зависимости от времени с момента развития дисфункции и дилатации левого желудочка. Сверхэкспрессия MMP1, как было показано, является причиной гипертрофии миокарда и увеличения концентрации коллагена в нем. В отличие от этого целевое удаление MMP2 приводит к ослаблению ремоделирования левого желудочка [6].

РЕГУЛИРУЮЩАЯ РОЛЬ МИКРОРИБОНУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ

Ядерные микрорибонуклеиновые кислоты (микро-РНК) играют важную регулируемую роль в ремоделировании сердца и оказываются вовлеченными в большую часть биологических процессов. Они относятся к эндогенным одноцепочечным коротким некодируемым рибонуклеиновым кислотам длиной 18–25 нуклеотидов, которые принимают участие в регуляции экспрессии генов. Микро-РНК ухудшает или ингибирует перевод рибонуклеиновых кислот на посттранскрипционный уровень, регулируя тем самым экспрессию генов. Выключение гена может осуществляться путем деградации матричной РНК или предотвращением ее трансляции. В различных клетках и тканях имеются различные наборы микро-РНК. Микро-РНК комплиментарны определенному фрагменту одной или нескольких матричных РНК. Полное или почти полное объединение оснований между микро-РНК и матричной РНК-мишенью запускает разрушение мишени. При этом в животной клетке микро-РНК не полностью комплиментарна своей матричной РНК-мишени. Точное совпадение с мишенью необходимо на небольшом участке со 2 по 7 нуклеотид. Микро-РНК животных, помимо активации разрезания транскрипта мишени, во многих случаях блокирует трансляцию и синтез белка на рибосомах. Кроме того, связанные комплексы микро-РНК и матричной РНК быстро расщепляются клеткой, что является примером направленной деградации [17].

Несколько микро-РНК участвуют в фиброгенезе. Микро-РНК-133а и микро-РНК-30 регулируют фиброз в миокарде, подавляя фактор роста соединительной ткани. Их синтез тормозится при гипертрофии левого желудочка, ассоциируемой с повышенной экспрессией фактора роста соединительной ткани. Мыши, лишенные микро-РНК-133, предрасположены к прогрессированию фиб-

роза, сердечной недостаточности, внезапной смерти. В противоположность этому избыточная экспрессия микро-РНК-133 приводит к снижению синтеза коллагена фибробластами, снижению фиброза и апоптоза миокарда.

Микро-РНК-21 участвует в повышении регуляции по одному из профибротических путей и способствует экспрессии MMP2. Интересно, что микро-РНК-21 также оказывает защитные эффекты, в том числе защиту от окислительного стресса, ингибирование апоптоза, а также повышение экспрессии генов, подавляющих апоптоз. И наконец, микро-РНК-29 связана с отложением коллагена I и III типов. Повышение содержания микро-РНК-29 приводит к снижению синтеза этих белков и наоборот [6].

ДИАГНОСТИКА ФИБРОЗА

Традиционно золотым стандартом выявления миокардиального фиброза является эндомиокардиальная биопсия. Однако, учитывая высокую инвазивность этого метода, сопряженную с риском осложнений (0,6–0,8%), широко развиваются неинвазивные визуализирующие методики по качественному и количественному определению наличия фиброза [18].

В последние годы для достижения этой цели предложено изучение сывороточных маркеров синтеза и деградации миокардиального коллагена.

На сегодняшний день в мире проведено множество исследований по изучению уровня биомаркеров коллагена в крови при тех или иных сердечных заболеваниях. В некоторых из этих исследований были обнаружены изменения по меньшей мере двух биомаркеров, что позволяет использовать комбинацию сразу нескольких из них для более точной оценки баланса коллагена. Наиболее изученными частицами коллагена и белками, регулирующими его метаболизм, являются С-концевой пропептид проколлагена типа I, С-концевой телопептид коллагена типа I, матриксная металлопротеиназа I и тканевый ингибитор матриксных металлопротеиназ-1. Однако при всей привлекательности использования маркеров коллагена для оценки фиброза не стоит забывать, что это всего лишь лабораторный тест, и любое заключение о состоянии целого органа, сделанное на его основании, всегда будет носить предположительный характер. Лабораторные тесты заметно уступают визуализирующим методам по точности оценки фиброза миокарда [5].

Измерение внеклеточного объема в ходе проведения МРТ с контрастированием позволяет определить пространство, которое занимает внеклеточный матрикс, что является полезной суррогатной точкой. У определения внеклеточного объема имеется надежное гистологическое подтверждение, он коррелирует с объемной долей коллагена. Этот новый параметр является важным потому, что фиброз миокарда является повсеместным и связан с ремоделированием миокарда. При отсутствии амилоидоза и инфильтративных заболеваний, а также клинических условий, которые способствовали отеку миокарда, внеклеточный объем, определенный при МРТ, является биомаркером фиброза миокарда [6].

Определение внеклеточного объема отражает объемную долю сердечной ткани, которая не занята клетками. Для его определения используется контрастирование с гадолинием. Внеклеточный объем определяют путем совмещения пиксельных карт определения T1 до и после контрастирования с поправкой на уровень гематокрита.

Внеклеточный объем (ECV) рассчитывают по формуле:

$$ECV = (1 - \text{гематокрит}) \times \frac{\Delta R1 \text{ миокарда}}{\Delta R1 \text{ крови}},$$

где R1 = 1/T1. Гематокрит следует определять непосредственно в день исследования.

После определения внеклеточного объема можно рассчитать внутриклеточный объем, т. е. объем ткани, в основном состоящей из миоцитов, а также эритроцитов, фибробластов, макрофагов.

Внутриклеточный объем (ICV) рассчитывают по формуле: ICV = 1 – ECV.

Ни отображение T1, ни определение внеклеточного объема не могут непосредственно измерить внеклеточный матрикс или обнаружить другие его характеристики, такие как степень сшивки и посттрансляционной модификации.

MPT с замедленным выведением гадолиния (LGE) является золотым стандартом при определении изменений миокарда, связанных с развитием его некроза, и обеспечивает важную диагностическую и прогностическую информацию, однако с помощью этого метода нельзя выявить диффузные изменения миокарда. Определение внеклеточного объема имеет преимущества перед использованием исследования с замедленным выведением гадолиния для количественной оценки фиброза миокарда и интерстициального пространства. МРТ с замедленным выведением гадолиния менее пригодна для количественной оценки степени расширения внеклеточного матрикса. Этот метод является наиболее пригодным для выявления инфаркта миокарда, где различия между нормальным и пострадавшим миокардом более отчетливы. Определение внеклеточного объема может обнаружить ранние изменения, связанные с фиброзом, которые не всегда обнаруживают при исследовании с замедленным выведением гадолиния [19–21].

ВОЗРАСТ И КАРДИАЛЬНЫЙ ФИБРОЗ

Старение сердца представляет собой сложный процесс, сопровождающийся прогрессирующим снижением функции сердца и ремоделированием желудочков и предсердий. Этот процесс включает в себя снижение числа кардиомиоцитов, гипертрофию оставшихся кардиомиоцитов, изменение миофибриллярной ориентации, пролиферацию сердечных фибробластов и накопление коллагена. Прогрессирующий фиброз является отличительным признаком старения сердца, как это было подтверждено с помощью визуализирующих исследований на животных и людях, показавших наличие увеличения содержания коллагена в миокарде [22].

Связанный с возрастом фиброз сердца обусловлен множественными проявлениями старения сердца: хрониче-

ческой активацией ренин-ангиотензин-альдостероновой системы, чрезмерными бета-адренергическими влияниями и эндотелин-зависимой активацией TGFβ1-пути, что приводит к нарушению внутриклеточного гомеостаза кальция, апоптозу кардиомиоцитов, накоплению мононуклеарных клеток, клеток-предшественников фибробластов, к снижению митохондриальной никотинамид-аденин-динуклеотид-зависимой деацетилазы Sirtuin-1 [23]. Увеличение генерации активных форм кислорода и снижение антиоксидантного потенциала являются основными факторами, ведущими к возрастному ремоделированию миокарда. В ходе окислительного фосфорилирования в митохондриях увеличивается активность NADPH-оксидазы, нарушается синтез окиси азота, происходит окисление липидов пероксидазами и повышается уровень циклооксигеназы и ксантин оксидазы [24].

Хронический окислительный стресс приводит к сохранению субклинического воспаления и тем самым еще больше ускоряет сердечный фиброз. Среди важных регуляторов процессов, связанных со старением, выделяют микроРНК-34а с фосфатазой 1 ядерной таргетированной субъединицей (PNUTS), также известной как PPP1R10.

Индукция экспрессии микроРНК-34 под влиянием возраста и ингибирование PNUTS приводят к укорочению теломер, повреждению дезоксирибонуклеиновой кислоты, апоптозу кардиомиоцитов и нарушению функционального восстановления после ишемического повреждения [25]. Следовательно, профибротические механизмы явно усиливаются в связи со старением [6].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Миокардиальный фиброз является глобальной проблемой здравоохранения, т. к. он связан практически со всеми формами сердечно-сосудистых заболеваний. Обзор обобщает современные представления о происхождении и роли фибробластов и факторов их регуляции в норме и при развитии патологии, а также влияние на них процессов естественного старения организма.

По современным представлениям, фибробласт является основной клеткой, ответственной за поддержание гомеостаза внеклеточного матрикса в миокарде. Такие патологические процессы, как дилатация или гипертрофия камер сердца, способствуют трансформации фибробласта в миофибробласт, непосредственно участвующий в формировании миокардиального фиброза и в конечном итоге сердечной недостаточности.

Несмотря на критически важную роль фиброза в формировании сердечно-сосудистых заболеваний, ограниченное понимание роли фибробластов тормозит создание эффективной терапии, влияющей на этот тип клеток и уменьшающей их вклад в развитие и прогрессирование заболеваний. Однако накопленные знания в отношении механизмов развития миокардиального фиброза позволяют в настоящее время проводить поиск терапевтических подходов для уменьшения выраженности миокардиального фиброза. Наряду с этими данными, в обзоре освещены методы диагностики и количественного определения объема миокардиального фиброза [4, 26, 27].

ЛИТЕРАТУРА

1. Глотов М.Н., Мазур Н.А. Диастолическая функция левого желудочка у больных гипертонической болезнью: Обзор. *Кардиология*. 1994; 1-2:89-93.
2. Жежева Ф.М., Мазур Н.А. Сывороточные маркеры фиброза у больных артериальной гипертонией. *Кардиология*. 2006; 3:64-67.
3. Мазур Н.А. Органные поражения, нарушения метаболизма при артериальной гипертонии и влияние на них гипотензивной терапии. *Тер. архив*. 1995; 67: 3-5.
4. Loffredo FS, Nikolova AP, Pancoast JR, Lee RT. Heart Failure With Preserved Ejection Fraction Molecular Pathways of the Aging Myocardium. *Circ Res*. 2014; 115: 97-107.
5. Овчинников А.Г., Ожерельева М.Г., Ареев Ф.Т. Фиброз левого желудочка: патогенез, диагностика, лечение. *Неотложная кардиология*. 2015; №4: 11-26.
6. Dzeshka MS, Lip GY, Snezhitskiy V, Shantsila E. Cardiac Fibrosis in Patients With Atrial Fibrillation. *JACC*. 2015 66, NO. 8, 943-959.
7. Ivey M J, Tallquist MD. Defining the Cardiac Fibroblast. *Circ J*. 2016; 80: 2269-2276.
8. Krenning G, Zeisberg EM, Kalluri R. The origin of fibroblasts and mechanism of cardiac fibrosis. *J Cell Physiol*. 2010; 225: 631-637.
9. Fu J, Srivastava D. Direct Reprogramming of Fibroblasts into Cardiomyocytes for Cardiac Regenerative Medicine. *Circ J*. 2015; 79: 245-254.
10. Baum J, Duffy HS. Fibroblasts and myofibroblasts: what are we talking about? *J Cardiovasc Pharmacol*. 2011; 57: 376-379.
11. Yong KW, Li Y, Huang G et al. Mechanoregulation of cardiac myofibroblast differentiation: implications for cardiac fibrosis and therapy. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2015; 309: H532-H542.
12. Vasquez C, Benamer N, Morley GE. The Cardiac Fibroblast: Functional and Electrophysiological Considerations in Healthy and Diseased Hearts. *J Cardiovasc Pharmacol*. 2011; 57(4): 380-388.
13. Cartledge JE, Kane C, Dias P, et al. Functional crosstalk between cardiac fibroblasts and adult cardiomyocytes by soluble mediators. *Cardiovasc Res*. 2015; 105: 260-70.
14. Takeda N, Manabe I. Cellular Interplay between cardiomyocytes and nonmyocytes in cardiac remodeling. *Int J Inflam*. 2011; 2011: 535241.
15. Nattel S, Harada M. Atrial remodeling and atrial fibrillation: recent advances and translational perspectives. *J Am Coll Cardiol*. 2014; 63: 2335-45.
16. Wynn T.A. Cellular and molecular mechanisms of fibrosis. *J Pathol*. 2008; 214: 199-210.
17. Lawrie CH. Micro RNAs in Medicine. Wiley-Blackwell. 2013, p.720.
18. Yilmaz A, Kindermann I, Kindermann M et al. Comparative evaluation of left and right ventricular endomyocardial biopsy: differences in complication rate and diagnostic performance. *J Circulation*. 2010; 122: 900-909.
19. Moon JC, Messroghli DR, Kellman P et al. Myocardial T1 mapping and extracellular volume quantification: a Society for Cardiovascular Magnetic Resonance (SCMR) and CMR Working Group of the European Society of Cardiology consensus statement. *Journal of Cardiovascular Magnetic Resonance*. 2013, 15:92.
20. Treibel TA, Zemrak F, Sado DM et al. Extracellular volume quantification in isolated hypertension - changes at the detectable limits? *Journal of Cardiovascular Magnetic Resonance*. 2015; 17:74-86.
21. Everett RJ, Stirrat CG, Semple SIR et al. Assessment of myocardial fibrosis with T1 mapping MRI. *Clinical Radiology*. 2016; 8: 768-778.
22. Neilan TG, Coelho-Filho OR, Shah RV et al. Myocardial extracellular volume fraction from T1 measurements in healthy volunteers and mice: relationship to aging and cardiac dimensions. *J Am Coll Cardiol Img*. 2013; 6: 672-683.
23. Li Q, Liu X, Wei J. Ageing related periostin expression increase from cardiac fibroblasts promotes cardiomyocytes senescent. *Biochem Biophys Res Comm*. 2014; 452: 497-502.
24. Wu J, Xia S, Kalionis B et al. The role of oxidative stress and inflammation in cardiovascular aging. *BioMed Res Int*. 2014; 2014: 615312.
25. Boon RA, Iekushi K, Lechner S et al. Micro-RNA-34a regulates cardiac ageing and function. *Nature*. 2013; 495: 107-110.
26. Schelbert EB, Sabbah HN, Butler J, Gheorghiadu M. Employing extracellular volume cardiovascular magnetic resonance measures of myocardial fibrosis to foster novel therapeutics. *Circulation: Cardiovascular Imaging*. 2017;10:e005619.
27. Travers JG, Kamal FA, Robbins J et al. Cardiac Fibrosis: The Fibroblast Awakens. *Circ Res*. 2016; 118: 1021-1040.