

Nivo kolagena I u proceni efekata resinhronizacije terapije srčane slabosti

UVOD

Resinhronizacija terapija srca (CRT) predstavlja nefarmakološku metodu lečenja simptomatskih bolesnika sa uznapređovalom srčanom slabošću- NYHA III-IV, čija je ejekciona frakcija leve komore <35%, koji imaju proširene QRS komplekse >120ms sa slikom bloka leve grane Hisovog snopa, i ehokardiografski dokazanu asinhroniju (1,2).

Korisno dejstvo CRT podrazumeva poboljšanje tolerancije napora i kvaliteta života, kao i manji broj hospitalizacija zbog simptoma i znakova srčane slabosti (3,4). CRT smanjuje komorsku zapreminu i mitralnu regurgitaciju, popravljajući ejekcionu frakciju leve komore, smanjuje mortalitet kako od iznenadne srčane smrti, tako i opšti mortalitet (5).

Mehanizmi koji dovode do reverznog remodelovanja leve komore nakon implantacije CRT-a nisu dovoljno poznati. Miokardno remodelovanje u srčanoj insuficijenciji predstavlja složen proces udružen sa promenama u strukturi ECM-a miokarda (6,7). Do sada su ispitivani različiti biohemijski markeri uključeni u proces miokardnog remodelovanja, kao što su različiti inflamatorni markeri (8,9), natriuretički peptidi (8), markeri metabolizma kolagena (10-15) i različite metaloproteinaze.

Kolagena mreža je metabolički aktivna struktura u smislu da postoji stalna ravnoteža između sinteze i degradacije (16). U srcu su zastupljeni kolagen tip I koji čini 85% ukupnog kolagena I kolagen tip III. Prokolageni sintetisani od strane fibroblasta i miofibroblasta, sadrže terminalne propeptide koji se dejstvom odgovarajućih proteinaza oslobađaju, omogućavajući integraciju molekula kolagena u fibrile. Pomenuti propeptidi odlaze u cirkulaciju gde ih je moguće detektovati odgovarajućim testovima i njihova koncentracija je srazmerna stepenu sinteze kolagena. Ovi propeptidi su označeni kao PINP, PIIINP, PICP i PIIICP u zavisnosti da li sadrže amino ili karboksilnu grupu (15). Obzirom na njihovu složenu strukturu, sposobnost degradacije kolagena ima mali broj proteaza, od kojih neke matriks metaloproteinaze i cistein proteaze, kao i nekoliko serin proteaza. U studiji objavljenoj 2000.g. pokazano je da se kod pacijenata sa hipertenzijom i hipertrofijom leve komore nalaze povišene vrednosti markera sinteze kolagena PINP (17). Kod pacijenata sa hipertrofičnom kardiomiopatijom, visoke vrednosti PINP udružene su sa smanjenom dijasolnom funkcijom (18). Pacijenti sa arterijskom hipertenzijom imali su značajno više vrednosti PINP i PIIINP u odnosu na normotenzivne osobe u radu objavljenom od strane Klappacher i saradnika (19). Kod hipertenzivnih pacijenata nivo PIIINP bio je obrnuto proporcionalan stepenu dijasolne disfunkcije, dok je vrednost PINP korelirala sa masom leve komore (19). U studiji koja je ispitivala pacijente sa dilatativnom kardiomiopatijom, koncentracije PIIINP bile su značajno više u odnosu na kontrolnu grupu i korelirale su sa NYHA funkcionalnom klasom, dozom diuretika, minutnim volumenom (19). Prva studija u kojoj su praćeni markeri miokardne fibroze nakon implantacije CRT-a objavljena je 2006.g. (20). Autori su dokazali da pacijenti koji imaju visoke vrednosti markera kolagene sinteze PICP-a imaju bolji odgovor na CRT. Druga studija u kojoj su ispitivani PINP i PIIINP, kao markeri sinteze kolagena i ICTP kao marker degradacije u procesu reverznog remodelovanja leve komore nakon implantacije CRT-a imala je oprečne rezultate (21). Naime, pacijenti koji su pozitivno odgovorili na resinhronizacionu terapiju imali su niske vrednosti PINP na ulasku u studiju i visoke vrednosti ICTP-a. Vrednosti markera sinteze kolagena PINP bile su značajno veće nakon 6 meseci od ugradnje CRT-a, dok se vrednost PIIINP i ICTP-a nije značajno promenila. Autori su takođe ispitivali enzime razgradnje kolagena matriks metaloproteinaze (MMP-1). Vrednosti MMP-1 nisu se značajno promenile nakon ugradnje CRT-a. U radu objavljenom od strane Chenga i sar. 2006.god. pokazano je da miokardno remodelovanje uzrokovano hipertenzijom dovodi do povećane ekspresije cistein proteaza-katepsina S i K (22).

Tada su autori utvrdili da aktivnost katepsina raste pod dejstvom inflamatornih citokina, interleukina 1β i tumor necrosis factor- α . Aktivnost katepsina K i markera degradacije kolagena CTx nije ispitivana kod reverznog miokardnog remodelovanja primenom resinhronizacione terapije.

Prognostička uloga markera miokardne fibroze u srčanoj insuficijenciji ispitivana je u više studija i to preko markera degradacije kolagena-ICTP. U studiji Klappacher-a i saradnika pokazano je da pacijenti sa idiopatskom i ishemijskom kardiomiopatijom koji imaju visoke vrednosti ICTP imaju lošu prognozu (19). Slične rezultate dobili su i Kitahara i saradnici ispitujući pacijente sa hroničnom srčanom insuficijencijom i očuvanom sistolnom funkcijom leve komore (23). Povećane vrednosti ICTP bile su pokazatelji loše prognoze nakon infarkta miokarda (24, 25).

HIPOTEZA RADA

Kod pacijenata sa srčanom insuficijencijom određivanje markera metabolizma kolagena pre implantacije CRT-a može pomoći u identifikaciji pacijenata sa potencijalno pozitivnim odgovorom na resinhronizacionu terapiju, a njihovim praćenjem može se potvrditi reverzno miokardno remodelovanje.

CILJEVI ISTRAŽVANJA

1. Utvrditi da li se praćenjem markera metabolizma kolagena I kod pacijenata sa srčanom insuficijencijom može potvrditi reverzno miokardno remodelovanje nakon implantacije CRT-a.
2. Ispitati da li se određivanjem koncentracije markera metabolizma kolagena I pre implantacije CRT-a može identifikovati grupa pacijenata koja će imati pozitivan odgovor na CRT.
3. Proceniti prognostičku ulogu markera metabolizma kolagena I.
4. Utvrditi razlike u koncentraciji pro-BNP pre i nakon primene resinhronizacione terapije i proceniti njihovu korelaciju sa markerima metabolizma kolagena I.
5. Utvrditi da li dodavanje markera metabolizma kolagena I poznatim prediktivnim modelima poboljšava njihovu prediktivnu tačnost

METODOLOGIJA ISPITIVANJA

Istraživanjem će biti obuhvaćeno oko 45 pacijenata sa srčanom insuficijencijom koji će biti na programu za implantaciju CRT pejsmejker u toku 2011.g. u Pejsmejker centru, Kliničkog centra Srbije.

Kriterijumi za selekciju pacijenata za primenu CRT obuhvataju: New York Heart Association (NYHA) funkcionalnu klasu III-IV, ejeckionu frakciju leve komore $\leq 35\%$, QRS $> 120\text{ms}$ po tipu bloka leve grane i ehokardiografski verifikovanu asinhroniju. Svi pacijenti bili na optimalnoj medikamentnoj terapiji minimum tri meseca pre implantacije CRT-a.

Kriterijumi za isključivanje bolesnika su sledeći: dekompenzovana srčana insuficijencija, infarkt miokarda u periodu kraćem od 3 meseca, prethodna implantacija pejsmejker, akutni miokarditis, teška obstruktivna bolest pluća.

Drugu (kontrolnu grupu) činiće pacijenti kojima će biti implantirani dvokomorski pejsmejkeri DDD(R) u cilju određivanja stepena reaktivne fibroze uzrokovane prisustvom samih elektroda.

Veličina statističkog uzorka je određena pomoću PASS 11 softvera (Power Analysis and Sample Size) sa nivoom alfa greske od 5%.

Biće praćen kardiovaskularni mortalitet i opšti mortalitet, kao i hospitalizacije zbog infarkta miokarda ili dekompenzacije srca u toku 12 meseci nakon implantacije CRT-a.

Studija je planirana u skladu sa etičkim standardima datim u helsinškoj deklaraciji (prema revidiranoj verziji iz 1983. godine) i u skladu sa pravilima Etičkog komiteta Medicinskog fakulteta u Beogradu. Sve osobe od kojih će biti uziman biološki materijal, koji će se kasnije koristiti u studiji, kao i lični podaci, potpisće pristanak da su obaveštene o ciljevima i očekivanim ishodima studije.

Svim ispitanicima određivaće se sledeći parametri:

Klinički parametri:

Svim ispitanicima će detaljno biti uzeti anamnestički podaci (podaci o predhodnoj koronarnoj bolesti i faktorima rizika, podaci o predhodnoj terapiji), određena starost, visina, težina, fizikalni pregled sa merenjem krvnog pritiska i srčane frekvence.

Klinički status pacijenata koji podrazumeva određivanje NYHA klase, kvaliteta života korišćenjem Minnesota Living with Heart Failure upitnika i tolerancije napora procenjene 6-minutnim testom biće određen na ulasku u studiju i nakon 6 meseci praćenja.

Ehokardiografski pregled

Ehokardiografskim pregledom biće posmatrani parametri sistolne i dijasolne funkcije leve komore, veličina mitralne insuficijencije, kao i procena ventrikularne disinhronije. Kao parametri sistolne funkcije leve komore biće mereni: dimenzije leve komore u sistoli (ESD) i dijasoli (EDD) i debljina zidova, volumeni leve komore u sistoli (LVESV) i dijasoli (LVEDV), ejeckiona frakcija leve komore (LVEF) metodom po Simpsonu. Za procenu dijasolne funkcije leve komore biće merene brzine punjenja leve komore tokom rane i kasne dijasole (E i A talas) i trajanje dijasolnog punjenja leve komore (DFT). Stepen mitralne regurgitacije biće određivan semikvantitativno procenom stepena MR na osnovu kolor dopler signala na skali 1+ do 4+. Stepen interventrikularne disinhronije određen je razlikom između trajanja preejektionih vremena (PEP) aorte i arterije pulmonalis, postavljanjem uzorka pulsnog doplera u izlazni trakt

leve, odnosno desne komore. Kašnjenje veće od 50ms smatra se indikatorom značajne disinhronije.

Uzorkovanje krvi i određivanje koncentracije markera metabolizma kolagena

Uzorci krvi biće uzeti od svakog pacijenta neposredno pre implantacije CRT i nakon 6 meseci.

Za određivanje koncentracije markera sinteze kolagena PINP i markera njegove degradacije CTx koristiće se testovi Roche Diagnostics, Mannheim, Germany) sa Elecsys 2010 automatizovanim analizatorom (Roche Diagnostics, Mannheim, Germany).

Statistička analiza

Kontinuirane varijable sa normalnim rasporedom biće predstavljene kao aritmetička sredina±standardna devijacija (SD), dok će varijable koje ne pokazuju normalan raspored biti izražene kao medijana (interkvartilna razlika). Atributivne varijable biće predstavljene u procentima. Postojanje normalnog rasporeda kod kontinuiranih varijabli biće određeno Kolmogorov-Smirnov testom. Pacijenti će biti klasifikovani u dve grupe ("responders" i "non-responders"). Analiza kontinuiranih varijabli radiće se pomoću Studentovog T- testa ili Mann-Whitney testa. Atributivne varijable sa dve ili više kategorija biće ispitivane jednosmernom analizom varijanse (post hoc Bonferroni test) i Kruskal-Wallis testom. Proporcije će biti upoređivane korišćenjem kontigencijskih tabela i Hi-kvadrat testom. Spearman-ov koeficijent korelacije biće primenjen kod procene odnosa između dve kvantitativne varijable koje ne pokazuju normalan raspored, dok će Pearson-ovim koeficijentom korelacije biti analiziran odnos kvantitativnih varijabli sa normalnim rasporedom. Kardiovaskularni mortalitet je analiziran Kaplan-Meier-ovim testom, a razlike u preživljavanju su upoređivane log rank testom. Efekat pojedinih varijabli na preživljavanje ispitivan je Cox-ovim regresionim modelom. Multivarijantna analiza će biti izvršena korišćenjem linearne regresije u cilju ispitivanja uticaja pojedinih varijabli na dobijanje pozitivnog odgovora pacijenata nakon ugradnje CRT-a.

Za statističku obradu podataka biće korišćen je SPSS 13.0 statistički program (SPSS Inc., Chicago, IL, USA).

PROCENA KANDIDATA O POTENCIJALNOM NAUČNOM DOPRINOSU DISERTACIJE

Kod bolesnika sa srčanom insuficijencijom NYHA III-IV koji imaju proširene QRS komplekse, nisku ejekcionu frakciju ($EF \leq 35\%$) i dokazanu ventrikularnu disinhroniju, a ne reaguju na medikamentnu terapiju, resinhronizaciona terapija omogućuje smanjenje simptoma i poboljšava kvalitet života. Osnovni problem ove metode je to što pozitivan odgovor na CRT pre implantacije za sada nije moguće predvideti sa visokom sigurnošću. Obzirom da se broj pacijenata koji nakon implantacije CRT-a nemaju adekvatan odgovor procenjuje na 20-30%, prema nekim autorima čak 40-50%, od velikog značaja je istraživanje potencijalnih markera koji bi identifikovali ovu grupu pacijenata.

Literatura:

1. Vardas PE, Auricchio A, Blanc JJ, Daubert JC, Drexler H, Ector H, Gasparini M, Linde C, Morgado FB, Oto A, Sutton R, Trusz-Gluza M, Vahanian A, Camm J, De Caterina R, Dean V, Dickstein K, Funck-Brentano C, Filippatos G, Hellemans I, Kristensen SD, McGregor K, Sechtem U, Silber S, Tendera M, Widimsky P, Zamorano JL, Priori SG, Blomström-Lundqvist C, Brignole M, Terradellas JB, Camm J, Castellano P, Cleland J, Farre J, Fromer M, Le Heuzey JY, Lip GY, Merino JL, Montenero AS, Ritter P, Schalij MJ, Stellbrink C. Guidelines for cardiac pacing and cardiac resynchronization therapy: the Task Force for Cardiac Pacing and Cardiac Resynchronization Therapy of the European Society of Cardiology. Developed in collaboration with the European Heart Rhythm Association. *Eur Heart J* 2007;28:2256–2295.
2. Dickstein K, Vardas PE, Auricchio A, Daubert JC, Linde C, McMurray JJ, Ponikowski P, Priori SG, Sutton R, van Veldhuisen DJ, Vahanian A, Bax J, Ceconi C, Dean V, Filippatos G, Funck-Brentano C, Hobs R, Kearney P, Mc Donagh T, Popescu BA, Reiner Z, Sechtem U, Anton-Sirnes P, Tendera M, Widimsky P, Anker S, Blanc JJ, Gasparini M, Israel CW, Kalarus Z, Merkely B, Swedberg K, Camm J. 2010 Focused Update of ESC Guidelines on device therapy in heart failure: an update of the 2008 ESC guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure and the 2007 ESC guidelines for cardiac and resynchronization therapy. Developed with a special contribution of the Heart Failure Association and the European Heart Rhythm Association. *Eur Heart J* 2010;31:2677–2687.
3. Bristow MR, Saxon LA, Boehmer J, Krueger S, Kass DA, De Marco T, Carson P, DiCarlo L, DeMets D, White BG, DeVries DW, Feldman AM. Cardiac-resynchronization therapy with or without an implantable defibrillator in advanced chronic heart failure. *N Engl J Med* 2004;350:2140–2150.
4. Cleland JG, Daubert JC, Erdmann E, Freemantle N, Gras D, Kappenberger L, Tavazzi L. The effect of cardiac resynchronization on morbidity and mortality in heart failure. *N Engl J Med* 2005;352:1539–1549.
5. Rivero-Ayerza M, Theuns DA, Garcia-Garcia HM, Boersma E, Simoons M, Jordaens LJ. Effects of cardiac resynchronization therapy on overall mortality and mode of death: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Eur Heart J* 2006;27:2682–2688.
6. Milasinovic G. Resinhronizaciona terapija srčane slabosti: iskustva, dileme, kontroverze. *Balneoclimatologia* 2005;29:297-306.
7. Brower GL, Gardner JD, Forman MF, et al. The relationship between myocardial extracellular matrix remodeling and ventricular function. *Eur J Cardiothorac Surg* 2006;30:604-10.
8. Glick A, Michowitz, Karen G, et al. Neurohormonal and inflammatory markers as predictors of short-term outcome in patients with heart failure and cardiac resynchronization therapy *IMAJ* 2006;8:391-5.
9. Lappegård KT, Bjørnstad H. Anti-inflammatory effect of cardiac resynchronization therapy. *Pacing Clin Electrophysiol.* 2006 ;29(7):753-8.
10. García- I, Macías A, López B et al. A biomarker of myocardial fibrosis predicts long-term response to cardiac resynchronization therapy. *J Am Coll Cardiol.* 2006 Jun 6;47(11):2335-7. Epub 2006
11. Laviades C., Varo N., Fernandez J., et al. Abnormalities of the extracellular degradation of collagen type I in essential hypertension. *Circulation* 1998;98:535-540.

12. Zannad F., Dousset B., Alla F. Treatment of congestive heart failure. Interfering the aldosterone-cardiac extracellular matrix relationship. *Hypertension* 2001;38:1227-1232.
13. Maceira A.M., Barba J., Varo N., Beloqui O., Diez J. Ultrasonic backscatter and serum marker of cardiac fibrosis in hypertensives. *Hypertension* 2002;39:923-928.
14. Lopez B., Gonzalez A., Varo N., Laviades C., Querejeta R., Diez J. Biochemical assessment of myocardial fibrosis in hypertensive heart disease. *Hypertension* 2001;38:1222-1226.
15. Lopez B, Gonzales A, Diez J. Circulatin biomarkers of collagen metabolism in cardiac disease. *Circulation* 2010;121:1645-1654.
16. Bruggink A.H., van Oosterhout M.F.M., de Jonge N., et al. Reverse remodeling of the myocardial extracellular matrix after prolonged left ventricular assist device support follows a biphasic pattern. *J Heart Lung Transplant* 2006;25:1091-1098.
17. Querejeta R, Varo N, Lopez B, et al. Serum carboxy-terminal propeptide of procollagen type I is a marker of myocardial fibrosis in hypertensive heart disease. *Circulation* 2000;101:1729-1735.
18. Lombardi R, Betocchi S, Losi M.A, et al. Myocardial collagen turnover in hypertrophic cardiomyopathy. *Circulation* 2003;108:1455-1460.
19. Klappacher G., Franzen P., Haab D., et al. Measuring extracellular matrix turnover in the serum of patients with idiopathic or ischemic dilated cardiomyopathy and impact on diagnosis and prognosis. *Am J Cardiol* 1995;75:913-918.
20. García-Bolao I, Macías A, López B, A biomarker of myocardial fibrosis predicts long-term response to cardiac resynchronization therapy. *J Am Coll Cardiol*. 2006;47(11):2335-7.
21. Umar S, Bax JJ, Klok M, van Bommel RJ, Hessel MH, et al. Myocardial collagen metabolism in failing hearts before and during cardiac resynchronization therapy. *Eur J Heart Fail*. 2008;10(9):878-83
22. Cheng XW, Obata K, Kuzuya M, et al. Elastolytic cathepsin induction/activation system exists in myocardium and is upregulated in hypertensive heart failure. *Hypertension*. 2006;48(5):979-87.
23. Kitahara T, Takeishi Y, Arimoto T, Niizeki T, Koyama Y, Sasaki T, et al. Serum carboxy terminal telopeptide of type I collagen (ICTP) predicts cardiac events in chronic heart failure patients with preserved left ventricular systolic function. *Circ J* 2007; 71:929–935.
24. Iraqi W, Rossignol P, Angioi M, Fay R, Nue'e J, Ketelslegers JM, et al. Extracellular cardiac matrix biomarkers in patients with acute myocardial infarction complicated by left ventricular dysfunction and heart failure: insights from the Eplerenone Post-Acute Myocardial Infarction Heart Failure Efficacy and Survival Study (EPHESUS) study. *Circulation* 2009;119:2471–2479.
25. Barthelemy O, Beygui F, Vicaute E, Rouanet S, van Belle E, Bauluc C, et al.; on behalf of the OPERA Investigators. Relation of high concentrations of plasma carboxy-terminal telopeptide of collagen type I with outcome in acute myocardial infarction. *Am J Cardiol* 2009;104:904–909.