

Směrem k lepší definici, kvantifikaci a léčbě fibrózy u srdečního selhání.

Souhrn dokumentu připravený Českou kardiologickou společností

(Towards better definition, quantification and treatment of fibrosis in heart failure.
Summary of the document prepared by the Czech Society of Cardiology)

Jana Petřková^{a,b}, Miloš Tábořský^a

^a I. interní klinika – kardiologická, Lékařská fakulta Univerzity Palackého a Fakultní nemocnice Olomouc, Olomouc

^b Ústav patologické fyziologie, Lékařská fakulta univerzity Palackého, Olomouc

Autoři originálního textu ESC v plném znění:¹ Rudolf A. de Boer, Gilles De Keulenaer jménem Committee of Translational Research Heart Failure Association ESC.

INFORMACE O ČLÁNKU

Historie článku:

Vložen do systému: 17. 4. 2019

Přijat: 25. 5. 2019

Dostupný online: 29. 5. 2019

Klíčová slova: biomarkery, fibroblast, fibróza, matrix, prognóza, srdeční selhání, zobrazení

Keywords: biomarkers, fibroblast, fibrosis, heart failure, imaging, matrix, prognosis

© 2019 The Authors. European Journal of Heart Failure published by John Wiley & Sons Ltd on behalf of European Society of Cardiology.

Úvod

Fibróza představuje stěžejní proces, který pozorujeme při srdeční remodelaci, je považována za klíčový faktor vzniku a progresu srdečního selhání. Podstatné je, že u strukturálního poškození srdce má přítomnost a rozsah fibrózy myokardu prognostické důsledky, je spojována s kontraktilní dysfunkcí a arytmiickým potenciálem. Fibróza je přímým a nepřímým cílem při léčbě srdečního selhání, a to buď zavedenou farmakologickou léčbou (např. inhibitory angiotenzin konvertujícího enzymu nebo antagonisty mineralokortikoidních receptorů) nebo specifickými antifibrotickými léky (např. pirfenidon). Fibrózní proces je rezistentní vůči terapii. Kontrola a léčba fibrózní remodelace (v ideálním případě prevence a potlačení procesu) je obtížná.

Fibróza je široce užívaný termín, její přesná definice je obtížná. V širším slova smyslu je fibróza definována jako excesivní akumulace extracelulární matrix (ECM). Zjednodušeně může být fibróza rozdělena na „reparativní fib-

rózu“ a „reaktivní fibrózu“. Příkladem reparativní fibrózy je vývoj organizované jizvy po infarktu myokardu (IM), která mechanicky stabilizuje nekrotickou poruchu tkáně. Je třeba také zvažovat i časové komponenty vývoje jizvy. Naproti tomu jemná intersticiální reaktivní fibróza u non-ischemických kardiomyopatií je výsledkem patologických procesů, které jsou navozeny jedinečnými strukturálními vlastnostmi, kompozicí ECM a metabolickými vlastnostmi. Například v situaci tlakového přetížení je zpočátku reaktivní fibróza charakterizována jako perivaskulární, ale později progreduje do intersticiální fibrózy. Fibróza je také velmi dynamický proces. Zmnožení fibroblastů a jejich přeměna na myofibroblasty je doprovázena excesivní syntézou ECM a modulatorních glykoproteinů, posttranslační modifikací a dysregulací produkce ECM a poruchou matrixových metaloproteináz (MMP) a jejich endogenních inhibitorů (TIMP). Rozdílné manifestace fibrózy naznačují, že může existovat řada léčebných cílů nebo terapeutických možností a také že léčba bude možná muset být cíleně přizpůsobena konkrétnímu pacientovi a jeho diagnóze

Adresa pro korespondenci: MUDr. Jana Petřková, Ph.D., I. interní klinika – kardiologická, Lékařská fakulta Univerzity Palackého a Fakultní nemocnice Olomouc, I. P. Pavlova 6, 779 00 Olomouc, e-mail: Jana.Petrkova@fnol.cz

DOI: 10.33678/cor.2019.022

a charakteru reparativního procesu a konečně specifickému typu fibrózy. V současnosti nemáme v univerzálních doporučeních a ve všeobecné klasifikaci srdečního selhání k dispozici rady, které by zohledňovaly různorodost patologických stavů, jež provázejí proces fibrózy. A tak asi není překvapivé, že výsledky různých studií jsou často protichůdné a nelze je aplikovat v různých klinických situacích. V důsledku toho se také fibróza ještě neobjevila jako primární cíl léčby srdečního selhání.

Výbor pro translační výzkum Asociace srdečního selhání (Heart Failure Association, HFA) Evropské kardiologické společnosti (ESC) zorganizoval workshop na téma fibrózy myokardu s cílem diskutovat a doporučit strategie, které by zaplnily mezery ve znalostech v této oblasti. Tento odborný článek shrnuje hlavní poznatky z tohoto setkání. Všechny další informace a odkazy lze najít v původním fulltextovém dokumentu ESC.¹ Účastníci setkání se shodli na tom, že je potřeba zaměřit se na identifikované meze-ry, a to včetně potřeby: 1. Lépe definovat více specifitější procesy, které vedou k tvorbě fibrózy za různých patologických podmínek. 2. Zlepšit metody detekce fibrózy (zobrazovací techniky a biomarkery pro specifické entity fibrózy). 3. Hledat nové léčebné metody přímo zaměřené na specifické procesy způsobující kardiální fibrózu.

Potřebujeme přesněji definovat proces fibrózy myokardu u srdečního selhání

Fibróza myokardu u srdečního selhání není uniformně iniciovaný proces

Fibróza myokardu je endogenní, třebaže suboptimální, reparativní reakce na selhávající srdce. Fibrotickou reakci na srdeční postižení charakterizuje několik klíčových událostí. Rozhodujícím procesem, který se uplatňuje také u hojení nekardiálních postižení, je aktivace a konverze fibroblastů do myofibroblastů. Myofibroblasty produkují a ukládají proteiny ECM, např. kolageny, glykoproteiny a proteoglykany (např. fibronektin, galaktin a periostin), aby poskytly lokální mechanickou podporu selhávajícímu srdci. Tvorba organizovaných fibrotických struktur a fibril vyžaduje víceetapový proces, který zahrnuje jednak degradaci a zpracování existující ECM s odstraněním postižených tkání. Uplatňuje se také produkce, sekrece, cross-linking a zrání (maturation) nové ECM. Kromě kardiálních fibroblastů, jež jsou hlavním zdrojem ECM, směřují k místům poranění a sekreci profibrotických růstových faktorů přispívají k remodelaci také monocytů a makrofágů. Prostřednictvím parakrinních mechanismů přispívají k sekreci profibrotických růstových faktorů do ECM také kardiomyocyty. Kromě fibrálních komponentů ECM jsou důležitými doplňkovými mediátory fibrózy non-strukturální glykoproteiny a proteoglykany. Glykosylace je převažující posttranslační modifikací v ECM a glykoproteomika se jeví jako nový nástroj, který by mohl přinést nové poznatky při studiu fibrózy myokardu.

Klasifikace fibrózy myokardu

Tradičně formy a fáze fibrózy popisujeme v souladu se specifickými fenomény, které vyvolaly fibrotickou reakci. Jako reparativní fibrózu označujeme klasický reparativní proces, ke kterému dochází po infarktu myokardu (IM).

Tvorba jizvy je v tomto případě charakterizována excesivní akumulací ECM, fibróza je obecně považována za nevyhnutelnou, její absence by zhoršila dilataci komory, a dokonce by mohla vést i k vytvoření ruptury komory. Proto je infarktová jizva považována za mandatorní, i když ne perfektní náhradu a strukturální podporu myokardu. Reaktivní fibróza, která je typicky pozorována jako perivaskulární nebo intersticiální fibróza, je stimulována dlouho probíhající maladaptivní signalizací (např. zánětlivými buňkami, parakrinními signály a oxidačním stresem), která je součástí progresivní patologické kardiální remodelace. Paralelně v jednom stejném srdci nacházíme různé typy fibrózy, což dále ztěžuje zacílení na odlišnosti/rozdílnosti fibrotických procesů. S ohledem na různorodost postižení tkáně a různorodost lokalizace postižení je riziko chybování v odběru vzorků velmi vysoké. V rámci stejného vzorku tkáně některé fibrotické manifestace budou reaktivní a některé reparativní, některé budou statické a jiné dynamické. Často není možné rozlišit různé formy, jelikož sdílení určitých prvků a přechod do ostatních je možný. Identifikace specifických a pravděpodobně dominantních typů fibrózy bude proto důležitá pro individualizované antifibrotické přístupy.

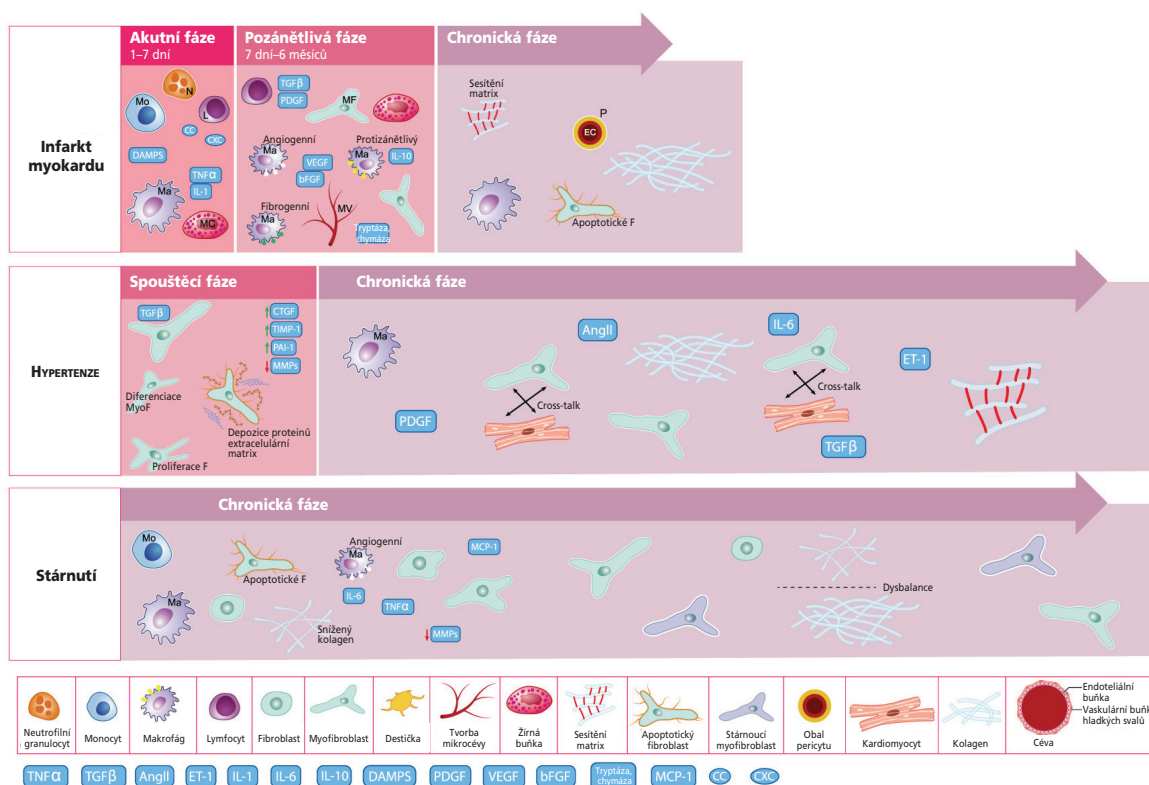
Porozumění fibróze myokardu v různých fenotypech srdečního selhání

Fibróza a fenotyp srdečního selhání

Fibróza je často zkoumána v i experimentálních zvířecích modelech srdečního selhání. Patofyziologie procesu fibrózy je komplexní, je důležité znát informace, které umožní rozlišit, o jaký typ fibrózy se jedná. Mezi různými etiologiemi srdečního selhání jsou velmi odlišné spouštěče, dynamika a charakteristika fibrotických procesů. V textu je diskutována kardiální fibróza v prostředí IM, při tlakovém přetížení a stárnutí (obr. 1), stejně jako u kardiomyopatií a srdečního selhání se zachovanou ejekční frakcí.

Fibróza myokardu po infarktu myokardu

Pro modelování lidského IM bylo vyvinuto několik zvířecích modelů. IM způsobuje výraznou reakci – „hojení poranění tkání“. Počáteční silná zánětlivá reakce začíná hned po IM a vrcholí v závislosti na použitém modelu třetí až sedmý den po IM. Neutrofily, monocytů, makrofágů, ale také samotné fibroblasty uvolňují faktory, které působí na fibroblasty a spouštějí profibrotickou reakci vedoucí k vytvoření infarktové jizvy. Kontrolovaná invaze zánětlivých buněk je předpokladem pro správné hojení a prevenci myokardiální ruptury. Po počáteční zánětlivé fázi následuje fáze proliferace, kde se fibroblasty přeměňují na myofibroblasty, migrují a proliferují, což vede k reparativnímu procesu. V závislosti na použitém zvířecím modelu narůstá obsah kolagenu ve tkáni čtyři až sedm dnů po IM s nejvýraznějším zvýšením po třech až šesti týdnech. Mechanické vlastnosti tkáně ovlivňuje vedle množství kolagenu např. také typ kolagenních vláken. V konečné fázi se formuje stabilní jizva. Přesná role fibroblastů a buněk, které jsou zdroji fibroblastových buněk v prostředí po infarktu myokardu, není dostatečně vysvětlena, zčásti kvůli obtížím s identifikací tohoto typu buněk *in vitro*. Jako poměrně specifický marker aktivo-



Obr. 1 – Grafické znázornění formace srdeční fibrózy v průběhu času v prostředí IM, při tlakovém přetížení a stárnutí. Rozsah a průběh fibrotického procesu ovlivňují specifické etiologické faktory a reparativní reakce. (Ilustrace: Maartje Kunen, Medical Visuals.)

AngII – angiotenzin II; CTGF – růstový faktor pojivové tkáně; DAMPs – s nebezpečím asociované molekulární vzory; ET-1 – endotelin-1; IL – interleukin; L – lymfocyt; Ma – makrofág; MC – mastocyt (žírná buňka); MCP-1 – monocytní chemoatraktivní protein-1; MF/MyoF – myofibroblast; MMP – matrixová metaloproteináza; MV – kapilára; N – neutrofil; PAI – inhibitor aktivátoru plazminogenu; PDGF – růstový faktor z destiček; TGF – transformující růstový faktor; TIMP – tkáňový inhibitor metaloproteinázy; TNF – tumor nekrotizující faktor.

vaných, kolagen-syntetizujících fibroblastů byl v poslední době identifikován fibroblastový aktivační protein (FAP). Inaktivní fibroblasty nebo plně diferenciované myofibroblasty a non-fibroblastové buňky jeho expresi nevyjadřují. Jako další marker aktivovaných fibroblastů je zvažován periostin. Izolace kardiálních fibroblastů po infarktu myokardu získaných z *in vivo* stimulovaného prostředí a *ex vivo* nám poskytují náhled k porozumění jejich funkcí.

Fibróza myokardu v modelech s tlakovým přetížením (např. hypertenze)

V experimentálních modelech srdečního selhání indukuje tlakové přetížení nadměrnou tvorbu myokardiální ECM a produkci kolagenu. Chronické tlakové přetížení vede ke vzniku dysproporciálních kolagenových formací v myokardu levé komory. Za centrální protein při formování fibrózy spojené s tlakovým přetížením je považován transformující růstový faktor β (TGF β). Je aktivován několika cirkulujícími hormony, např. angiotenzinem II a endotelinem-1, ale i buněčným přetížením/zatížením („stretch and strain“). Signální dráha TGF β vede k aktivaci Smad2/3 a Rho/ROCK signalizace, dále také k aktivaci kináz a proteinů souvisejících se stresem, jako například p38, ERK1/2, a zvýšenému vyjádření růstového faktoru pojivové tkáně (CTGF). U fibrózy myokardu, která vzniká v reakci na tlakové přetížení, bylo

předčasné stárnutí myofibroblastů identifikováno jako základní antifibrotický mechanismus a také jako potenciální terapeutický cíl.

Stárnutí

Stárnutí je jeden z klíčových hybatelů fibrózy myokardu. Zvířecí modely a studium lidských biopsií demonstrují, že obsah kolagenu se v srdci progresivně zvětšuje s pokročilým věkem, také depozice kolagenu je spojována s dlouhodobou zátěží srdečních stěn a s diastolickou a systolickou komorovou dysfunkcí. S vyšším věkem se nejenom zvyšuje produkce kolagenu, ale také jeho degradace se stává méně efektivní. Spouštěče fibrózy ve stárnoucím srdci jsou rozmanité a v důsledku toho může být fibróza přítomna ve více formách. V reakci na poranění kardiomyocytů a ztrátu buněk můžeme pozorovat reparativní fibrózu (replacement). Zároveň se kvůli trvalému zánětu a na věku závislému nárůstu oxidačního stresu může objevit intersticiální fibróza. Musíme si uvědomit, že na věku závislá fibróza se obvykle rozvíjí spolu s jinými procesy, například v součinnosti s fibrózou, která se vyvíjí v reakci na srdeční poranění.

Fibróza myokardu u geneticky podmíněných kardiomyopatií

Fibróza u geneticky podmíněných kardiomyopatií se může projevit jako jemná intersticiální fibróza nebo jako

reparativní fibróza, obě v důsledku strukturních změn v reakci na genový defekt. Proto je nález fibrózy například pomocí magnetické rezonance (MR) obecně považován za raný projev nemoci, i když je systolická funkce stále v normě. Časná fibróza u kardiomyopatií je velmi závažným nálezem, možnost zlepšení srdeční funkce je obvykle minimální. Je zřejmé, že události, které vyvolávají fibrózu u kardiomyopatií, jsou velmi různorodé a zahrnují celou řadu procesů, jako jsou smrt buněk, metabolické poruchy, neurohormonální aktivace a přímé toxické účinky zmutovaných proteinů.

Fibróza myokardu u srdečního selhání se zachovanou ejekční frakcí

Srdeční selhání se zachovanou ejekční frakcí představuje téměř polovinu případů selhání srdce. Přidružená onemocnění jsou klíčovými faktory pro progresi fibrózy, zahrnují stárnutí, obezitu, hypertenzi a diabetes. Rozsah fibrózy myokardu (měřeno T1-MRI) souvisí s mírou diastolické dysfunkce. Profibrotické signály jsou rozmanité a liší se od klasických, systolických signálů srdečního selhání. Fibróza se obvykle projevuje jako perivaskulární a jemná intersticiální fibróza a je spojována se systémovým zánětem. Fibróza může mít mnoho tváří, podobných fibróze způsobené stárnutím, hypertenzí nebo v reakci na zánětlivé a metabolické (např. obezita) spouštěče, také se může překrývat s reparativní fibrózou, v případech proběhlého malého IM nebo myokarditidy. Je zřejmé, že současnou výzvou je zlepšit stanovení fenotypu, a lépe tak pochopit proces fibrózy u této komplexní choroby.

Chronická fibrotická reakce na srdeční selhání

Je jasné, že u srdečního selhání, doprovázejícího chronické choroby, je pozorována trvalá fibrotická reakce, která je zpočátku možná reparativní, ale v určitém okamžiku spíše přispívá k poškození orgánů a k jejich selhání. Zdá se tedy, že v určitých formách a stádiích srdečního selhání nelze „vypnout“ fibrotickou reakci a že určitá míra fibrogenese přetrvává.

V současnosti není známo, jak lze rozlišit endogenní, nezbytnou a přínosnou fibrotickou reakci od excesivní, trvalé a škodlivé fibrotické reakce, která vede k depozici matrix a „zvázovování“ tkáně. Předpokládáme, že indukující faktory, které způsobují tuto chronickou fibrotickou reakci jsou mnohonásobné, včetně trvalé proliferace fibroblastů a jejich aktivace, inhibice myofibroblastové apoptózy a přítomnosti trvalého systémového a lokálního zánětu nízké intenzity.

I když mechanismy a patofyziologické procesy spojené se vznikem kardiální fibrózy zatím nedovedeme dobře definovat, podařilo se nám rozpoznat v tomto procesu několik hráčů. Jak je popsáno výše, TGF β hraje ústřední roli v proliferaci fibroblastů a v jejich přeměně na myofibroblasty. TGF β je produkován myofibroblasty ve vysokých množstvích, aby vytvořil cyklus aktivace myofibroblastů. To může vést k progresivní fibróze, tato situace nastává například u lidské idiopatické plicní fibrózy. V experimentech léčiva, která cílí na dráhy TGF β a MAPK, naznačují možnost, že myofibroblastový fenotyp lze zvrátit, ale zda lze těchto výsledků dosáhnout i *in vitro*, zůstává nejasné. Chronický systémový zánět nízkého stupně, který můžeme pozorovat u srdečního selhání, také významně po-

tencuje fibrózu. TGF β má pleiotropní účinky na imunitní systém a může mít jak imunosupresivní, tak prozánětlivou funkci a může také polarizovat makrofágy a neutrofile vzhledem k fenotypu M2, tedy k produkci velkého množství prozánětlivých cytokinů.

Experimentální studie naznačují možný přínos ovlivnění zánětlivé a imunomodulační reakce pro omezení remodelace po IM a pro redukci fibrózy.

Preklinické studie přinesly slibná data při použití inhibitoru tumor nekrotizujícího faktoru α (TNF α). Bohužel klinické studie se steroidy a blokátory TNF α překvapivě nepřinesly účinky žádné, nebo dokonce měly negativní účinky. Přenos tohoto experimentálního pozorování do klinické medicíny selhal, což naznačuje, že látky „rozsáhlé“ zasahující imunitní systém pravděpodobně nepředstavují užitečnou strategii pro terapii. Zajímavá v této souvislosti se jeví nedávná studie CANTOS, která prokázala, že cílená inhibice interleukinu-1 α snížila kardiiovaskulární a nádorové příhody, byť do malé míry.

Návrh minimálního hodnotícího profilu ke screeningu kardiální fibrózy (HFA)

Termín „fibróza myokardu“ musí být upřesněn a potenciálně individualizován, abychom mohli nabídnout efektivní terapii pro pacienty se srdečním selháním a kardiální fibrózou. Pro experimentální studie navrhneme minimální soubor parametrů, který by měl být dodržen, aby umožnil ohodnotit rozdíly přítomného typu fibrózy. V tabulce 1 jsou shrnuty klíčové funkce, charakteristika onemocnění, analytické metody a biomarkery v různých typech fibrózy. Tyto poznatky jsou podkladem pro identifikaci terapeutických možností u různých podtypů fibrózy včetně fibrózy vyvolané srdečním selháním.

Je potřeba zlepšit metody pro detekci fibrózy pomocí biomarkerů a zobrazovacích technik

Detekce fibrózy myokardu není jednoduchá ve zvířecích modelech a ještě méně v klinickém prostředí, kde odběr vzorků myokardiální tkáně není snadno přístupný. Zlatým standardem pro studie na lidech je zhodnocení kvality (tj. fokální, intersticiální nebo perivaskulární distribuce) a kvantifikace fibrózy v biopsiích myokardiální tkáně s pomocí histologických technik. Endomyokardiální biopsie (EMB) jsou limitovány špatným odběrem vzorků a malými fragmenty tkáně. Jedinečnou možnost nabízí studie u explantovaných srdcí. EMB je invazivní výkon asociovaný s rizikem komplikací a chyby při odběru vzorků. Je proto třeba vyvíjet a široce aplikovat alternativní, neinvazivní a ideálně stejně nebo ještě více spolehlivé metody.

Cirkulující biomarkery fibrózy myokardu

Jsou měřitelné v séru nebo plazmě za použití spolehlivých a schválených metod (např. ELISA). Obecně používané biomarkery fibrózy pomáhají porozumět kolagenové produkci (např. N-terminální propeptid prokolagenu, N-terminální propeptid prokolagenu typu III [PIIINP] nebo non-strukturální (glyko)proteiny, které modulují produkci kolagenu nebo jeho maturaci, např. periostin, mimekan, monocytů chemoatraktivující protein 1, galektin-3. Dále jsou do krevního obě-

Tabulka 1 – Přehled klíčových funkcí, podmínek, analytických metod a biomarkerů v různých typech fibrózy

Typ fibrózy	Funkce	Podmínky onemocnění	Metody detekování v tkáni	Krevní biomarkery
Reparativní fibrózy	Nahrazování nekrotických buněk	Nekróza myocytů (ischemie, infekce, autoimunita, toxicita, genová mutace)	Histochemie, MR srdce, pozdní syčení	CITP, PICP, PINP, PIIINP
Reaktivní fibróza	Produkce nové matrix mezi buňkami	Produkce matrix v reakci na získaný nebo genetický spouštěč	Histochemie, MR srdce, T1 mapování extracelulárního objemu	CITP, PICP, galektin-3, sST2 a periostin
Perivaskulární fibróza	Produkce nové matrix mezi cévami	Perivaskulární fibróza při tlakovém přetížení nebo vaskulárním stresu	Histochemie	Neznámé
Zúčastněné buňky				
(Myo)fibroblasty	Reparativní a reaktivní	Většina onemocnění srdce	Značení periostinu, FAP, SMA	Periostin, mimekan, SPARC
Buňky hladkých svalů	Perivaskulární a reaktivní	Tlakové přetížení, vaskulitida	Značení SMA	
Zánětlivé buňky	Reparativní a reaktivní	Akutní a chronické srdeční onemocnění	Značení makrofágů, monocytů, neutrofilů (CD45)	sST2, CRP, galektin-3
Obsah/mechanismy				
Produkce kolagenu	Stavební proteiny	Zdravé a nemocné srdce	Imunoznačení, rtPCR	CITP, PICP, PINP, PIIINP
Glykoproteiny/proteinoglykany	Intercelulární komunikace	Většina onemocnění srdce	Imunoznačení, rtPCR	Galektin-3, sST2, periostin, mimekan, SPARC
MMP a jejich inhibitory (TIMPs)	Rovnováha mezi produkcí a degradací kolagenu	Zdravé i nemocné srdce	Imunoznačení a testy aktivity, rtPCR	MMP-1 a MMP-9, TIMP-1 a TIMP-2
Růstové faktory: TGF, CTGF, FGF, Wnt dráhy	Stimulant kolagenové produkce, ovlivňuje tvorbu zánětu	Většina onemocnění srdce	Imunoblotty, signalizující cesty	ND

CITP – C-terminální propeptid prokolagenu I; CRP – C-reaktivní protein; MMP – matrixová metaloproteináza; MR – magnetická rezonance; PINP – (amino) propeptid prokolagenu I; PIIINP – N-terminální propeptid prokolagenu III; rtPCR – reverzní transkripce polymerázové řetězové reakce; sST2 – rozpustný ST2; TIMP – tkáňový inhibitor metaloproteináz.

hu uvolňovány např. metaloproteinázy (MMP) (např. MMP-3, MMP-9, MMP-11 a MMP-12) a jejich inhibitory (např. TIMP-1 a TIMP-3), které se podílejí na rovnováze degradace kolagenů a lze je spolehlivě změřit. Existuje velké množství literárních dat na téma potenciální užitečnosti samotných markerů nebo souborů markerů. Obecně platí, že mnoho těchto markerů je cenných pro předpovídání klinického rizika. Bylo prokázáno několik faktorů, které předpovídají reakci na antifibrotickou léčbu, zatím například u antagonistů mineralokortikoidních receptorů. Použití těchto markerů se však nestalo klinickým standardem kvůli limitované síle a kvůli technickým obtížím při měření, které často vyžaduje pracné a nákladné radioimunoeseje. V nedávné době bylo zkoumáno několik nových fibrotických biomarkerů, včetně galektinu-3, sST2 a periostinu. Tyto markery mohou být obecně změřeny metodou ELISA, která je snadno a rychle proveditelná.

Cirkulující koncentrace biomarkerů fibrózy nemusejí korelovat s nálezy zjištěnými histologicky při prokázané kardiální fibróze, a proto je zapotřebí opatrnosti při interpretaci hodnoty systémových biomarkerů ve vztahu k myokardiálnímu onemocnění.

V ideálním případě bychom potřebovali biomarker, který je specifický pro kardiální fibrózu, nebo přinejmenším adekvátně reaguje na změny ve fibróze myokardu. Avšak vzhledem k tomu, že většina fibrotických procesů je sdílena mezi orgány, takové biomarkery nemusejí existovat, a proto je použití cirkulujících biomarkerů fibrózy k posouzení fibrózy myokardu velmi obtížné až nemožné. Kromě toho biomarkery obecně nerozlišují zcela jasně, o jakou fibrózu se jedná nebo co je jejím spouštěcím faktorem. Proto je použití těchto faktorů pro přesnou diagnostiku zatím problematické. Je pravděpodobné, že potenciál těchto fibrotických biomarkerů je v současné době limitován, především s ohledem na omezenou specifičnost dostupných fibrotických biomarkerů.

Zobrazovací techniky k vizualizaci a kvantifikaci fibrózy

Nejrozšířenější zobrazovací technikou v současné péči o pacienty se srdečním selháním je echokardiografie. Klasická dvourozměrná echokardiografie však poskytuje málo informací o přítomnosti nebo rozsahu fibrózy. Podrobnější informace o tkáních, které souvisejí s fibrózou myokardu při vyšetření biopsií, poskytují modernější techniky (tissue velocity imaging a global longitudinal systolic strain). Kromě echokardiografie máme k dispozici MR srdce, techniku, která nahrazuje EMB jako zlatý standard pro identifikaci a kvantifikaci kardiální fibrózy. Je zřejmé, že srdeční MR nemůže kvůli nákladům plně nahradit echokardiografii jako primární zobrazovací modalitu. MR má nesporné výhody hluboké fenotypizace, s cílem vybrat pacienty se specifickými patofyziologickými charakteristikami nebo jejich monitorování v průběhu terapie. Použitím metody pozdního syčení gadoliniem (delayed gadolinium enhancement) je možné vizualizovat jizvovou tkáň, například po transmuralním infarktu myokardu. Pozdní syčení gadoliniem identifikuje především fokální reparativní fibrózu, nové moderní techniky v srdečním MR by mohly rozšířit možnosti zobrazení. Nejzajímavější se jeví nová MR technika T1 srdečního mapování, která měří longitudinální relaxační čas individuálních protonů, což je znázorněno jako pixelová mapa. T1 mapování umožňuje kvantifikaci extracelulární objemové (ECV) frakce myokardu. ECV není měřítkem výhradně fibrózy, ale spíše odráží difuzní změny včetně fibrózy, ale také intersticiálního edému, degradace a agregace proteinů, akumulace lipidů a depozice železa a amyloidu. Důležité je, že přítomnost nebo rozšíření fibrózy detekované MR souvisí se špatnou klinickou prognózou. K hodnocení přítomnosti a rozsahu fibrózy myokardu mohou být použity také jiné zobrazovací techniky. Výzvou je vývoj postupů k léčbě nebo prevenci dalšího vývoje fibrózy na základě poznatků ze srdeční magnetické rezonance. Slibným přístupem by bylo označení specifických molekul se stanoveným vztahem k fibróze myokardu a jejich zobrazení, například nukleárními technikami, s konečným cílem specifické léčby.

Potřebujeme nové specifické terapie pro cílenou léčbu fibrózy

Cílená léčba fibrózy by mohla být přínosná v léčbě srdečního selhání. Tvorbu fibrózy redukuje inhibitory angiotenzin konvertujícího enzymu a antagonisté mineralokortikoidních receptorů, ale je zřejmé, že zůstává reziduální fibróza a je potřeba se na ni zaměřit. Nejdůležitější je zjistit, v jakém stadiu se nalézá fibrózní proces, co jsou spouštěče a které buňky a proteoglykany zde hrají roli. Dále je diskutováno několik nových možností terapie.

Faktor růstu pojivové tkáně a pirfenidon

Inhibice tvorby fibrózy v tlakově přetíženém srdci je nejlépe dosaženo zmírněním primárních stresorů, tedy zvýšeného krevního tlaku. Jako specifická cílená léčba fibrózy je testován TGF β (např. pirfenidon), blokátory receptorů angiotenzinu nebo blokátory endotelinových receptorů, inhibitory ERK nebo inhibice CTGF. Na rozdíl od fibrózy

po IM se zdá, že inhibice excesivní fibrózy při tlakovém přetížení je obecně bezpečná a dobře tolerována.

Růstový faktor pojivové tkáně je matricelulární bílkovina, která moduluje signalizaci mnoha cytokinů a signálů ECM, včetně těch od TGF β , kostní morfogenetické proteiny, Wnt, vaskulární endoteliální růstový faktor a integriny. Protože moduluje více cest současně a přes několik různých mechanismů, účinky CTGF se kombinují a jsou kontextově závislé (tj. závislé na prostředí a mediátorech), a proto je jeho biologie velmi složitá.

Expresí CTGF je vyvolávána řadou různých patofyziologických inzultů, při zvýšené expresi napomáhá a podporuje diferenciaci buněk směrem k aktivovaným myofibroblastům, které se ukládají a remodelují ECM. CTGF se podílí na několika pozitivních smyčkách zpětné vazby, které mohou propagovat remodelování tkáně a fibrózu, a proto by měl být považován za centrální mediátor fibrózy. Cílem inhibice CTGF je tedy narušit tyto pozitivní zpětné vazby a zastavit progresi fibrózy, a případně ji zvrátit.

Lidská monoklonální protilátka FG-3019, která se váže na CTGF a zasahuje do jeho činnosti, byla přínosná v modelových studiích u hlodavců, neonatálních krys s bronchopulmonální dysplazií a u modelu zúžené aorty. Klinické testování FG-3019 indikuje excelentní bezpečnostní profil, látka byla testována na zhruba 400 pacientech s diabetickým onemocněním ledvin, nádorovým onemocněním pankreatu, idiopatickou plicní fibrózou nebo jaterní fibrózou.

Pirfenidon je syntetická molekula, u které byl při léčbě zaznamenán pokles exprese různých profibrotických faktorů, včetně TGF β 1, TNF α , růstového faktoru z destiček (PDGF) a kolagenu. Výsledky z experimentálních modelů poskytly důkazy pro terapeutický účinek pirfenidonu při tlakovém přetížení a hypertenzi, léčba vedla k redukcí arytmogenního substrátu.

Matrixové metaloproteinázy (MMP)

Primárně v modelech IM byly hodnoceny účinky regulace aktivity MMP na srdeční fibrózu a remodelaci levé komory. Byly použity také inhibitory MMP (MMPi). Výsledky ve zvířecích modelech MMPi byly povzbudivé. Zatím ale nemáme dost znalostí o celém rozsahu funkcí a individuálních rolích MMP.

Inhibitory galektinu-3

Galektin-3 je lektin, který je zvýšeně exprimován myofibroblasty, monocyty a makrofágy, jež jsou přitahovány do míst poškození a fibrózy u pacientů se srdečním selháním. Studie u myši s nedostatkem galektinu-3 naznačily, že galektin-3 se opravdu uplatňuje při vzniku fibrózy myokardu. Inhibice galektinu-3 „velkými karbohydráty“, „antisense“ RNA efektivně snižuje orgánovou fibrózu.

Nekódující RNA

V nedávné době bylo navrženo několik strategií terapie založené na nekódující RNA (microRNA, dlouhé nekódující RNA). Zdá se, že specifické nekódující RNA hrají klíčové role v regulaci fenotypu kardiálních fibroblastů a jejich modulace. Specifické nekódující RNA se zdají být účinné jak ve zvířecích modelech, tak v klinických studiích; v současné době probíhá II. fáze testů u pacientů s fibrózou ledvin s pomocí inhibitoru microRNA-21 (<http://regulusrx>).

Tabulka 2 – Klíčová doporučení

Výzvy	Požadavky
Zdokonalení charakterizace fibrózy	1. Charakterizace typu, genetického pozadí, patologických změn, vliv předchozích terapií.
	2. Charakterizace onemocnění a časového okamžiku, kdy byly provedeny analýzy.
	3. Charakterizace kvantity a kvality fibrózy.
	4. Charakterizace klíčových buněk a souvisejících glykoproteinů.
Zlepšení detekce fibrózy	1. Nutnost lepších zobrazovacích postupů.
	2. Nutnost kardiospecifických biomarkerů se vztahem k fibróze myokardu.
	3. Zlepšení v multiomických technologiích s cílem lépe identifikovat klíčové faktory řídící fibrózu.
Zacílení léčby fibrózy	1. Získat precizní znalost o tom, která část nebo účastník patologického procesu a v jakém čase může být terapeuticky zacílena.
	2. Návrh nových léků, které ovlivňují závažnou fibrózu.

com/programs/pipeline/). Tyto přístupy na bázi nekódující RNA by mohly poskytnout možnost léčby srdeční fibrózy a remodelace, pokud se tyto inhibitory microRNA podaří selektivně dopravit do srdce – miRNA-21 je exprimována ve všech tkáních. Jiné microRNA, jako je například miRNA-29b, zřejmě mají více kardiospecifické účinky.

Budoucí směry a závěry

V odborném stanovisku HFA jsou shrnuty požadavky a doporučení, jak rozšířit znalosti o srdeční fibróze a zlepšit její terapii (tabulka 2). Potřebujeme takové strategie, které umožní rozlišení podtypů fibrózy. Abychom lépe porozuměli dynamice tvorby fibrózy, potřebujeme také preklinické studie na relevantních zvířecích modelech. Pokročilejší modely *in vitro* by mohly umožnit lepší funkční kontrolu, mechanistické porozumění procesu fibrózy a také hodnocení a screening antifibrotických strategií. Dostupná data spojují počáteční fázi fibrózy se silnou zánětlivou reakcí. Později přispívají k progresi fibrózy specifické mediátory a cesty fibrózy (převážně specifické fibroblastické faktory, např. TGFβ, osteopontin a galektiny), které jsou odlišné od mechanismů modulujících zánět. Je zapotřebí vážít roli zánětu v patogenezi fibrózy a výzvou do budoucna je zacílení specifických molekul a cest, které působí na fibrózu (specifické interleukiny) tak, abychom nepotlačili často přínosný účinek zánětlivé reakce. Obrovská rozmanitost zánětlivých, imunologických a molekulárních mechanismů přispívá ke kardiální fibróze: komplexní souhra mezi aktivací adaptivního imunitního systému, přeměnou a proliferací fibroblastů do myofibroblastů, aktivací mastocytů, neutrofilního influxu a produkci, modulací, maturací a apozicí kolagenů v extracelulárním prostředí. Tyto komplikované vazby by měly být vzaty v potaz při navrhování a testování nových antifibrotických terapií.

V klinickém rozhodování přinesou informace biomarkery specifické pro onemocnění a zobrazovací modalitty, jež pomohou identifikovat pacienty, kteří by mohli využít specifické terapie. Až donedávna se pokusy inhibovat fibrózu soustředily hlavně na samotné profibrotické faktory. Vzhledem k tomu, že fibróza je řízena a udržována aktivací několika propojených a vzájemně komunikujících profibrotických cest. Mohl by přístup zaměřený pravděpodobně na více cílů zpomalit progresi fibrózy. Použití systémů biologických přístupů a multiomických technologií nám může pomoci v tomto úsilí k porozumění síťové signalizaci. V konečném důsledku by při vývoji terapií adekvátních pro léčbu fibrózy měly být zváženy antifibrotická strategie, která kolektivně cílí na důležité zánětlivé signální molekuly, profibrotické cytokiny a buněčné funkce.

Závěrem, v tomto textu byly shrnuty současné mezeře ve znalostech v oblasti fibrózy myokardu a poskytnuty vzory pro hodnocení fibrózy jak v translačních, tak v klinických studiích.

Literatura*

1. Towards better definition, quantification and treatment of fibrosis in heart failure. A scientific roadmap by the Committee of Translational Research of the Heart Failure Association (HFA) of the European Society of Cardiology. Rudolf A. de Boer, Gilles De Keulenaer, Johann Bauersachs, Dirk Brutsaert, John G. Cleland, Javier Díez, Xiao-Jun Du, Paul Ford, Frank R. Heinzel, Kenneth E. Lipson, Theresa McDonagh, Natalia Lopez-Andres, Ida G. Lundén, Alexander R. Lyon, Piero Pollesello, Sanjay K. Prasad, Carlo G. Tocchetti, Manuel Mayr, Joost P.G. Sluijter, Thomas Thum, Carsten Tschöpe, Faiez Zannad, Wolfram-Hubertus Zimmermann, Frank Ruschitzka, Gerasimos Filippatos, Merry L. Lindsey, Christoph Maack, Stephane Heymans. Eur J Heart Fail 2019;21:272–285.

* Všechny další odkazy lze nalézt v původním fulltextovém dokumentu ESC.¹