

ИЗМЕНЕНИЕ УРОВНЯ МАТРИКСНОЙ МЕТАЛЛОПРОТЕИНАЗЫ-9 У БОЛЬНЫХ СО СТАБИЛЬНОЙ И НЕСТАБИЛЬНОЙ СТЕНОКАРДИЕЙ

В.И. Волков, Д.Н. Калашник, С.А. Серик

Институт терапии имени Л.Т. Малой АМН Украины, Харьков

Ключевые слова: матриксная металлопротеиназа-9, липидный спектр, стабильная и нестабильная стенокардия.

Матриксные металлопротеиназы (ММП) относятся к семейству протеолитических ферментов, расщепляющих основные компоненты внеклеточного матрикса. Существует несколько типов клеток, включая базофилы, нейтрофилы, гладкомышечные и эндотелиальные клетки, которые под действием провоспалительных цитокинов секретируют металлопротеиназы, однако главным источником продукции являются активизированные макрофаги [2, 4].

В последнее время большое внимание уделяется роли металлопротеиназ в патогенезе атеросклероза и ИБС. Согласно существующим представлениям, они воздействуют на коллагеновые волокна покрышки бляшки, приводя к ее ослабеванию, разрыву, и как следствие, к дестабилизации ИБС [7, 15].

Действительно, в исследованиях на культуре макрофагов из атерэктомиического материала продемонстрировано повышение экспрессии ММП-1, -2 и -9 в области плеча и ядра бляшки у больных с дестабилизацией ИБС [3, 6, 15]. При этом, по мнению ряда авторов, ключевую роль в дестабилизации бляшки и развития нестабильной ИБС играет ММП-9 [7, 11, 15]. Но работ об изменении уровня матриксных металлопротеиназ в системном кровотоке у пациентов с ИБС не так много [11]. Клинические и экспериментальные данные о взаимосвязи уровня металлопротеиназ с показателями липидного обмена также немногочисленны и носят противоречивый характер [1, 12, 18]. Вместе с тем повышение сывороточных уровней ММП происходит и при других патологических процессах, таких, как онкологические заболевания [9], астма [14] и ревматоидный артрит [8]. Доказано присутствие ММП-9 в сыворотке крови у здоровых лиц в виде профермента — активного фермента, связанного с тканевым ингибитором матриксных металлопротеиназ-1 (ТИМП-1) [17].

Цель работы — исследование сывороточного уровня матриксной металлопротеиназы-9 у боль-

ных со стабильной и нестабильной стенокардией, анализ взаимосвязей с липидным спектром крови.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В исследование включено 84 больных ИБС: 41 пациент со стабильной стенокардией напряжения II—III функционального класса (у 22 — в анамнезе перенесенный инфаркт миокарда) — I группа, 43 пациента с нестабильной стенокардией напряжения (дестабилизация течения заболевания до трех дней в виде усиления или учащения приступов стенокардии и изменения сегмента ST и/или зубца T на ЭКГ) — II группа. Контрольную группу составили 15 практически здоровых лиц. Возраст обследуемых — от 45 до 71 года. В исследование не включались пациенты: с выраженной сердечной недостаточностью (III—IV функциональный класс по классификации NYHA) и систолической дисфункцией левого желудочка, с тяжелыми нарушениями ритма, с острыми хроническими воспалительными заболеваниями и их обострениями.

ММП-9 исследовали в сыворотке крови иммуноферментным методом с использованием тест-систем «Quantikine; R&D Systems» (Великобритания). Общий холестерин (ОХС), триглицериды (ТГ), холестерин липопротеидов высокой плотности (ХСЛПВП) определяли в сыворотке крови ферментативным методом. Уровень холестерина липопротеидов низкой плотности (ХСЛПНП) рассчитывали по формуле W.T. Friedewald:

$$\text{ХСЛПНП (ммоль/л)} = (\text{ОХС} - \text{ТГ} / 2,2 - \text{ХСЛПВП}).$$

Статистический анализ осуществляли с использованием программы «Statistica 6,0».

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты определения ММП-9 у больных со стабильной стенокардией свидетельствуют о ее статистически незначимом повышении по сравнению

с группой контроля (табл. 1). В группе с нестабильной стенокардией уровень ММП-9 был достоверно выше, чем в группе контроля ($P < 0,01$) и группе со стабильной стенокардией ($P < 0,05$) (см. табл. 1). Полученные нами данные об изменении содержания ММП-9 в системном кровотоке у больных ИБС коррелируют с результатами исследования Inokubo Y. и соавт., а также Kai H., Ikeda H. и соавт. [10, 11]. Они обнаружили повышение уровня ММП-9 у пациентов с нестабильной стенокардией по сравнению с лицами со стабильной стенокардией и группой контроля. При этом различий между стабильной стенокардией и контролем нет. Вместе с тем существуют данные о достоверном повышении концентрации ММП-9 у больных со стабильной стенокардией при трехсосудистом поражении коронарных артерий [13, 19, 22].

При сравнительном анализе сывороточного уровня ММП-9 у пациентов со стабильной стенокардией, перенесших инфаркт миокарда ($n = 22$) и без инфаркта в анамнезе ($n = 19$) было выявлено: при постинфарктном кардиосклерозе уровень ММП-9 составил ($359, 76 \pm 18, 01$) нг/мл, что значимо выше по сравнению с контрольной группой ($P < 0,05$). У больных без инфаркта миокарда в анамнезе концентрация ММП-9 была ($340,11 \pm 17,10$) нг/мл и статистически не отличалась от показателей контроля. Полученные данные совпадают с результатами Ferroni P. и соавт. [5]. Кроме того, есть сведения о повышении других маркеров воспаления при постинфарктном кардиосклерозе [20, 21].

Сравнение липидных показателей в группе больных со стабильной и нестабильной стенокардией позволило выявить достоверное увеличение атерогенных холестеринных фракций (ОХС, ТГ) в

группе пациентов с нестабильной стенокардией ($P < 0,05$) (табл. 2).

При корреляционном анализе связи между уровнем липидов и ММП-9 у больных I и II групп не выявлено (табл. 3). При анализе уровня ММП-9 в тертилях, выделенных по уровню липидов, выявлены следующие закономерности: по уровню ОХС в группе стабильной стенокардии отмечается достоверно значимое повышение в верхней тертили по сравнению с группой контроля. В I и II группе содержание ММП-9 было меньше и статистически не отличалось от контроля. Поиск возможных корреляционных взаимосвязей позволил обнаружить положительную связь между ОХС и уровнем ММП-9 только в III тертили — $r = +0,73$, $P < 0,05$.

В группах, выделенных по уровню ЛПНП и ТГ, обнаружено достоверное повышение значения ММП-9 в III тертили по сравнению с группой контроля ($P < 0,05$). В I и II группе достоверных различий по сравнению с контролем не выявлено. В результате изучения зависимостей и возможных корреляций между ЛПВП и ММП-9 достоверных закономерностей не наблюдалось.

При нестабильной стенокардии изменение сывороточного уровня ММП-9 характеризовалось некоторым увеличением значения ММП-9 от I к III тертили по ОХС. В III тертили по ХСЛПНП выявлена положительная корреляция между ХСЛПНП и ММП-9 ($r = +0,74$, $P < 0,05$). По уровню ТГ концентрация ММП-9 также, как и по ОХС возрастала от I к III тертили. При этом уровни ММП-9 в III тертили превышали контрольные показатели в большей степени значимости ($P < 0,001$), чем в I и II ($P < 0,01$).

Полученные результаты косвенно согласуются с некоторыми литературными данными, которые

Таблица 1. Уровень ММП-9 при стабильной и нестабильной стенокардии

Показатель	Контроль (n = 15)	I группа (n = 41)	II группа (n = 43)
ММП-9, нг/мл	$324,32 \pm 15,12$	$350,21 \pm 16,22$	$396,65 \pm 20,11$
P		$P > 0,05$	$P < 0,01$ $P_1 < 0,05$

Примечание. Достоверность различий: P — по сравнению с контролем; P_1 — по сравнению с I группой.

Таблица 2. Показатели липидного обмена у больных со стабильной и нестабильной стенокардией, ммоль/л

Липидный показатель	I группа (n = 41)	II группа (n = 43)
ОХС	$5,69 \pm 0,12$	$6,09 \pm 0,17$ *
ТГ	$1,65 \pm 0,11$	$1,87 \pm 0,10$ *
ХСЛПВП	$0,95 \pm 0,07$	$1,06 \pm 0,05$
ХСЛПНП	$3,95 \pm 0,11$	$4,20 \pm 0,16$

Примечание: * $P < 0,05$.

Таблиця 3. Содержание ММП-9 у больных со стабильной и нестабильной стенокардией в зависимости от уровней ОХС, ХСЛПНП, ТГ и ХСЛПВП

Липидный показатель, ммоль/л	Тертиль	I группа (n = 41)			II группа (n = 43)		
			n	ММП-9, нг/мл		n	ММП-9, нг/мл
ОХС	I	< 5,36	13	347,71 ± 18,34	< 5,62	14	389,79 ± 18,12**
	II	5,36 — 6,03	14	342,14 ± 17,68	5,62 — 6,35	15	398,12 ± 18,24**
	III	> 6,03	14	360,28 ± 18,01*	> 6,35	14	401,15 ± 19,03**
ХСЛПНП	I	< 3,63	14	341,12 ± 12,01	< 3,75	15	392,21 ± 19,21**
	II	3,63 — 4,39	13	345,21 ± 17,52	3,75 — 4,46	14	395,17 ± 21,12**
	III	> 4,39	14	366,11 ± 18,12 *	> 4,46	14	398,16 ± 19,32**
ХСЛПВП	I	< 0,84	14	347,34 ± 12,01	< 0,90	14	392,16 ± 21,31**
	II	0,84 — 0,98	13	345,51 ± 17,48	0,90 — 1,13	15	399,21 ± 18,32 **
	III	> 0,98	14	357,23 ± 19,65	> 1,13	14	395,11 ± 19,21**
ТГ	I	< 1,17	14	344,34 ± 19,36	< 1,23	14	387,13 ± 19,13**
	II	1,17 — 1,82	14	342,15 ± 17,12	1,23 — 1,87	14	389,17 ± 17,12**
	III	> 1,82	13	365,32 ± 18,67*	> 1,87	15	410,13 ± 22,15***

Примечание. По сравнению с контролем: * — $P < 0,05$; ** — $P < 0,01$; *** — $P < 0,001$.

указывают на существование положительной корреляции между уровнем в плазме ММП-9 и ЛПНП и отрицательной — между уровнем ММП-9 и ЛПВП [23, 24]. С другой стороны, Kalela A. и соавт., Ardans J. и соавт., Noji Y. и соавт. не обнаружили достоверных связей между ММП-9 и показателями липидного спектра (ОХС, ЛПНП, ЛПВП, ЛПВП, ТГ) [1, 12, 18].

Таким образом, нами установлено повышение сывороточного уровня ММП-9 при нестабильной стенокардии, что может свидетельствовать об участии ее в дестабилизации течения ИБС, но не ясно, является ли это повышение отражением локального воспаления в бляшке или проявлением системного воспаления. Высокий уровень ММП-9 в группах больных с максимальным содержанием ОХС, ЛПНП, ТГ (III тертиль) и корреляция между ММП-9 и липидными показателями в этих группах может свидетельствовать о том, что при ИБС значительное увеличение уровня липидов в периферической крови может явиться одним из факто-

ров, способствующих повышению концентрации матричных металлопротеиназ. При нестабильной стенокардии это влияние липидов может маскироваться за счет более существенного воздействия на уровень ММП-9 других факторов.

ВЫВОДЫ

1. Полученные данные свидетельствуют об участии ММП-9 в процессах дестабилизации течения ИБС, что проявляется значительным повышением ее уровня при нестабильной стенокардии.

2. При стабильной стенокардии повышение ММП-9 выявлено у лиц, перенесших в прошлом инфаркт миокарда.

3. Увеличение сывороточной концентрации ММП-9 в группах больных с максимальным содержанием ОХС, ХСЛПНП, ТГ может свидетельствовать о том, что при ИБС значительное повышение атерогенных липидов является одним из факторов, способствующих увеличению концентрации матричных металлопротеиназ.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРЫ

1. *Ardans J., Economou A., Martinson J. et al.* Oxidised low-density and high density lipoproteins regulate the production of matrix metalloproteinases-1 and -9 by activated monocytes // *J. Leukoc. Biol.*— 2002.— Vol. 71.— P. 1012—1018.
2. *Cleutjens J.P.M., Kandala J.C., Guarda E. et al.* Regulation of collagen degradation in the rat myocardium after infarction // *J. Mol. Cell Cardiol.*— 1995.— Vol. 27.— P. 1281—1292.
3. *Davies M.J.* Coronary disease: the pathophysiology of acute coronary syndromes // *Heart.*— 2000.— Vol. 83.— P. 361—366.
4. *Davies M.J.* Reactive oxygen species, metalloproteinases, and plaque stability // *Circulation.*— 1998.— Vol. 97.— P. 2382—2383.
5. *Ferroni P., Basili S., Martini F. et al.* Serum metalloproteinase 9 levels in patients with coronary artery disease: a novel marker of inflammation // *J. Investig. Med.*— 2003.— Vol. Sep 51, N 5.— P. 295—300.
6. *Galis Z.S., Khatri J.J.* Matrix metalloproteinases in vascular remodelling and atherogenesis: the good, the bad, and the ugly // *Circ. Res.*— 2002.— Vol. 90.— P. 251—262.
7. *Galis Z.S., Sukhova G.K., Lark M.W.* Increased expression of matrix metalloproteinase and matrix degrading activity in vulnerable regions of human atherosclerotic plaques // *J. Clin. Invest.*— 1994.— Vol. 94.— P. 2493—2503.
8. *Gruber B.L., Sorbi D., French D.L. et al.* Markedly elevated serum MMP-9 (gelatinase B) levels in rheumatoid arthritis: a potentially useful laboratory marker // *Clin. Immunol. Immunopathol.*— 1996.— Vol. 78.— P. 161—171.
9. *Hrabec E., Strek M., Nowak D., Hrabec Z.* Elevated level of circulating matrix metalloproteinase-9 in patients with lung cancer // *Respir. Med.*— 2001.— Vol. 95.— P. 1—4.
10. *Inokubo Y., Hanada H., Ishizaka H. et al.* Plasma levels of matrix metalloproteinase-9 and tissue inhibitor of metalloproteinase-1 are increased in the coronary circulation in patients with acute coronary syndrome // *Am. Heart J.*— 2001.— Vol. 141, N 2.— P. 211—217.
11. *Kai H., Ikeda H., Yasukawa H. et al.* Peripheral blood levels of matrix metalloproteinase-2 and -9 are elevated in patients with acute coronary syndromes // *J. Am. Coll. Cardiol.*— 1998.— Vol. 32.— P. 368—372.
12. *Kalela A., Koivu T.A., Hoyhtya M. et al.* Association of serum MMP-9 with autoantibodies against oxidized LDL // *Atherosclerosis.*— 2002.— Vol. 160, N 1.— P. 161—165.
13. *Kalela A., Koivu T.A., Sisto T. et al.* Serum matrix metalloproteinase-9 concentration in angiographically assessed coronary artery disease // *Scand. J. Clin. Lab. Invest.*— 2002.— Vol. 62.— P. 337—342.
14. *Kelly E.A., Busse W.W., Jarjour N.N.* Increased matrix metalloproteinase-9 in the airway after allergen challenge // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*— 2000.— Vol. 162.— P. 1157—1161.
15. *Loftus I.M.* Increased matrix MMP-9 activity in unstable carotid plaques: a potential role in acute plaque disruption // *Stroke.*— 2000.— Vol. 31.— P. 40—47.
16. *Muzahir H., Tayebjee, Sunil Nadar, Andrew D. Blann. et al.* Matrix Metalloproteinase-9 and Tissue Inhibitor of Metalloproteinase-1 in Hypertension and Their Relationship to Cardiovascular Risk and Treatment // *AJH.*— 2004.— Vol. 17.— P. 764—769.
17. *Nguyen M., Arkell J., Jackson C.J.* Human endothelial gelatinases and angiogenesis // *Int. J. Biochem. Cell Biol.*— 2001.— Vol. 33.— P. 960—970.
18. *Noji Y., Kajinami K., Kawashiri M. et al.* Circulating matrix metalloproteinases and their inhibitors in premature coronary atherosclerosis // *Clin. Chem. Lab. Med.*— 2001.— Vol. 39.— P. 380—384.
19. *Paramo J.A., Orbe J., Fernandez J.* Fibrinolysis /proteolysis balance in stable angina pectoris in relation to angiographic findings // *Thromb. Haemost.*— 2001.— Vol. 86, N 2.— P. 636—639.
20. *Veselka J., Prochazkova S., Duchonova R. et al.* Relationship of C-reactive protein to presence and severity of coronary atherosclerosis in patients with stable angina pectoris or a pathological exercise test // *Coron. Artery Dis.*— 2002.— Vol. 13 (3).— P. 151—154.
21. *Wettinger S.B., Doggen C.J., Spek C.A. et al.* High throughput mRNA profiling highlights associations between myocardial infarction and aberrant expression of inflammatory molecules in blood cells // *Blood.*— 2005.— Vol. 1, N 105 (5).— P. 2000—2006.
22. *Zhang B., Ye S., Herrmann S.M. et al.* Functional polymorphism in the regulatory region of gelatinase B gene in relation to severity of coronary atherosclerosis // *Circulation.*— 1999.— Vol. 99.— P. 1788—1794.

ЗМІНА РІВНЯ МАТРИКСНОЇ МЕТАЛОПРОТЕЇНАЗИ-9 У ХВОРИХ НА СТАБІЛЬНУ ТА НЕСТАБІЛЬНУ СТЕНОКАРДІЮ

В.І. Волков, Д.М. Калашник, С.А. Серік

Досліджено сироватковий рівень матриксної металопротеїнази-9 (ММП-9) у хворих на стабільну та нестабільну стенокардію. Контрольну групу становили 15 практично здорових осіб. Встановлено підвищення рівня ММП-9 у хворих на нестабільну стенокардію порівняно не тільки з контролем, а й з пацієнтами зі стабільною стенокардією, що вказує на участь ММП-9 у процесах дестабілізації ішемічної хвороби серця. При стабільній стенокардії підвищення ММП-9 виявлено лише у хворих, які перенесли в минулому інфаркт міокарда. Встановлено асоціацію зростання рівня ММП-9 зі збільшенням загального холестерину, холестерину ліпопротеїнів низької щільності та тригліцеридів.

CHANGE OF MATRIX METALLOPROTEINASE-9 LEVEL IN PATIENTS WITH STABLE AND UNSTABLE ANGINA

V.I. Volkov, D.N. Kalashnik, S.A. Serik

Matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) levels were investigated in patients with a stable and unstable angina. The control group included 15 healthy volunteers. It has been revealed that in patients with unstable angina MMP-9 levels were elevated in comparison not only with controls but also with stable angina subjects, that testify to the role of MMP-9 in the ischemic heart disease destabilization. In stable angina MMP-9 levels were increased only in patient with a history of myocardial infarction. The association of MMP-9 levels elevation with total cholesterol, low density cholesterol and triglycerides increase was revealed.