

УДК: 616.133-004.6:616.152-074:577.1

ИССЛЕДОВАНИЕ СВЯЗИ МАТРИКСНОЙ МЕТАЛЛОПРОТЕИНАЗЫ-9 И ТКАНЕВОГО ИНГИБИТОРА МЕТАЛЛОПРОТЕИНАЗЫ-1 С УРОВНЕМ ЦИНКА В РАЗЛИЧНЫХ БИОСУБСТРАТАХ У ПАЦИЕНТОВ С КАРОТИДНЫМ АТЕРОСКЛЕРОЗОМ

Усманова Захро Абдувалиевна - ассистент кафедры клинической лабораторной диагностики Центра развития профессиональной квалификации медицинских работников, PhD. ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-2701-5398>

Розиходжаева Гульнора Ахмедовна - заведующая клинико-диагностическим отделом Центральной клинической больницы № 1 Главного медицинского управления при Администрации Президента Республики Узбекистан, доктор медицинских наук. ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-1291-9375>

Аннотация.

Аннотация: Определены уровни матриксной металлопротеиназы-9 (ММП-9) и его тканевого ингибитора-1 (ТИМП-1), цинка (Zn) в сыворотке, также Zn в волосах и биоптатах атеросклеротических бляшек (АСБ) сонной артерии у пациентов с каротидным атеросклерозом. Проведен анализ ассоциации между этими показателями. Между группами больных со степенью стенозами сонных артерий (СССА) ниже и выше 50% уровень цинка в биосубстратах статистически значимо не различался. Выявлена значимая обратная корреляция между концентрацией цинка в сыворотке и толщиной комплекса интима-медиа общей сонной артерии (ТКИМ ОСА) ($r=-0,24$; $p<0,05$), также выявлена слабая обратная корреляция ТИМП-1 с уровнем цинка в сыворотке ($r=-0,29$; $p <0,05$). Таким образом, с увеличением ТКИМ ОСА снижается уровень цинка в сыворотке. Увеличению концентрации ТИМП-1 в сыворотке сопутствует снижение концентрации цинка в сыворотке.

Ключевые слова: матриксная металлопротеиназа-9; тканевой ингибитор металлопротеиназы-1; цинк; атеросклероз сонных артерий.

Annotatsiya: Matriks metalloproteinazasi-9 (MMP-9) va uning to'qima ingibitori-1 (TIMP-1), zardobdagi, shuningdek, sochlar va aterosklerotik pilakchalar (ASP) bioptatlaridagi rux (Zn) miqdorlari uyqu arteriyasidagi karotid aterosklerozi bo'lgan bemorlarda aniqlangan. Ushbu ko'rsatkichlar o'rtasidagi bog'liqlikning tahlili o'tkazilgan. Uyqu arteriyasining stenoz darajasi (UASD) 50% dan kam va ko'p bo'lgan bemorlar guruhlarida o'rtasida biobosubstratlardagi rux darajasi statistik jihatidan ahamiyatli farq qilmagan. Zardobdagi rux konsentratsiyasi bilan umumiy uyqu arteriyasining intima-media kompleksi qalinligi (UUA IMKQ) o'rtasida salbiy korrelyatsiya aniqlangan ($r=-0,24$; $p<0,05$), shuningdek, TIMP-1 va zardobdagi rux darajasi o'rtasida zaif salbiy korrelyatsiya mavjud ($r=-0,29$; $p <0,05$). Shunday qilib, UUA IMKQ qalinlashgan sari, zardobdagi rux darajasi kamayadi. TIMP-1 miqdorining zardobdagi oshishi, zardobdagi rux konsentratsiyasining kamayishi bilan bog'liq.

Kalit so'zlar: matriks metalloproteinazasi-9; metalloproteinazaning to'qima ingibitori-1; rux; uyqu arteriyalari aterosklerozi.

Abstract: The levels of matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) and its tissue inhibitor-1 (TIMP-1), zinc (Zn) in serum, as well as Zn in hair and biopsy samples of atherosclerotic plaques (ASP) of the carotid artery, were determined in patients with carotid atherosclerosis. An analysis

of the association between these indicators was conducted. There was no statistically significant difference in the zinc levels in the biosubstrates between the groups of patients with stenosis of the carotid arteries (SCA) below and above 50%. A significant negative correlation was found between the concentration of zinc in the serum and the thickness of the intima-media complex of the common carotid artery (TIMC CCA) ($r = -0.24$; $p < 0.05$). A weak negative correlation was also found between TIMP-1 and the serum zinc level ($r = -0.29$; $p < 0.05$). Thus, with an increase in TIMC CCA, the serum zinc level decreases. An increase in TIMP-1 concentration in serum is accompanied by a decrease in the serum zinc concentration.

Key words: matrix metalloproteinase-9; tissue inhibitor of metalloproteinase-1; zinc; carotid atherosclerosis.

Атеросклероз сонных артерий, выявленный с помощью неинвазивного ультразвукового исследования, является важным маркером для диагностики сердечно-сосудистых и цереброваскулярных заболеваний. Для оценки степени выраженности каротидного атеросклероза используются такие параметры, как толщина комплекса интима-медиа общей сонной артерии (ТКИМ ОСА) и степень стеноза сонной артерии (СССА) [1]. В процессе ремоделирования внеклеточного матрикса ключевую роль играют матриксные металлопротеиназы (ММП) и их тканевые ингибиторы (ТИМП). ММП представляют собой семейство цинк-зависимых эндопептидаз, которые участвуют в расщеплении и восстановлении внеклеточного матрикса [2]. Установлено, что уровень циркулирующих ММП-9 и ТИМП-1 связан с характеристиками сонных артерий и выраженностью каротидного атеросклероза [1,3].

ММП содержат ионы цинка (Zn^{2+}), которые играют ключевую роль в их каталитической активности. Цинк имеет важное значение в биологических системах, где он участвует в работе цинк-связывающих белков. Активация ММП происходит благодаря передаче ионов Zn^{2+} от металлотионеина на молекулы ММП [2]. Также существует связь между уровнем цинка в организме и развитием атеросклероза [4]. Однако на сегодняшний день не проводилось исследований, посвященных концентрации Zn в волосах, атеросклеротических бляшках (АСБ) сонной артерии и сыворотке крови у пациентов с каротидным атеросклерозом, а также их связи с уровнями ММП-9 и ТИМП-1 в сыворотке.

Цель настоящего исследования заключалась в оценке содержания цинка в сыворотке крови, волосах и биоптатах атеросклеротических бляшек сонной артерии, а также в изучении их связи с уровнями ММП-9 и ТИМП-1 в сыворотке крови у пациентов с каротидным атеросклерозом.

Материалы и методы. В исследование были включены 148 пациентов (112 мужчин и 36 женщин) в возрасте от 45 до 89 лет (средний возраст $65,35 \pm 0,73$ года) с диагнозом каротидного атеросклероза. Контрольную группу составили 20 здоровых человек (средний возраст $49,0 \pm 2,48$ года). Для сравнения уровня цинка в АСБ с концентрацией цинка в контрольных сонных артериях взяли 10 нормальные сонные артерии из трупов. Пациенты были разделены на две группы в зависимости от степени стеноза сонной артерии (СССА). В первую группу вошли 76 пациентов с СССА менее 50%, во вторую – 72 пациента с СССА более 50%. Критериями исключения из исследования стали острый инфаркт миокарда, кардиомиопатии, острые миокардит и перикардит, острые нарушения мозгового кровообращения, злокачественные опухоли, диффузные заболевания соединительной ткани, острые инфекционные заболевания, а также пациенты с фракцией выброса левого желудочка менее 45%.

Всем пациентам было проведено цветное дуплексное сканирование внечерепных отделов брахиоцефальных артерий с использованием ультразвукового сканера HD3 (Phillips, Нидерланды). Степень СССА определялась в области максимального сужения просвета артерии. Пациенты второй группы были направлены в клинику Ташкентской медицинской академии для проведения каротидной эндартерэктомии. Образцы АСБ были получены сразу после операции и направлены в лабораторию для анализа содержания цинка. За 1 день до операции у этих пациентов, а также у не оперированных больных, кровь забирала один раз из локтевой вены утром натощак, после 12 часов воздержания от пищи.

Все образцы венозной крови немедленно подвергались центрифугированию, после чего сыворотка замораживалась при температуре $-20^{\circ}C$. Для измерения концентрации ММП-9 и ТИМП-1 использовались стандартные тест-системы для

иммуноферментного анализа (Bender-Medsystems GmbH, Австрия), а исследование проводилось на планшетном спектрофотометре Plate Reader (Hospitex Diagnostics, Италия). Уровень цинка в сыворотке крови был определен с помощью набора реагентов «Zinc-Vital» (Vital Development Corporation, Россия) на биохимическом автоматическом анализаторе Mindray BS-200 (Китай). В волосах и в АСБ цинк был измерен методом оптико-эмиссионной спектроскопии с индуктивно-связанной аргонной плазмой на анализаторе Optima 2100 DV (Perkin Elmer, США).

Статистическая обработка данных включала вычисление средней арифметической величины (M) и стандартной ошибки (m) для каждой выборки, результаты представлены в формате $M \pm m$. Для анализа различий между группами использовался t -критерий Стьюдента, при уровне значимости $p < 0,05$. Взаимосвязь между показателями оценивалась с использованием коэффициента корреляции Пирсона.

Результаты и обсуждение. По таким параметрам, как артериальная гипертензия, гиперлипидемия, ожирение, сахарный диабет 2 типа, стенокардия напряжения, инфаркт миокарда в анамнезе и возраст, группы были сопоставимы. Однако во второй группе наблюдалась более высокая частота перенесенного инсульта по сравнению с первой группой (48,61% против 13,16%, соответственно) (табл. 1).

Т а б л и ц а 1

Характеристика пациентов обследованных групп

Показатели	1-я группа (n=76)	2-я группа (n=72)
Возраст, годы	66,18±1,08	64,47±0,98
Мужчины/женщины	51/25 (67%/33%)	61/11 (85%/15%)*
Артериальная гипертензия	71 (93,42%)	67 (93,06%)
Гиперлипидемия	36 (47,37%)	40 (55,56%)
Ожирение	32 (42,11%)	21 (29,17%)
Сахарный диабет 2 типа	24 (31,58%)	32 (44,44%)
Стенокардия напряжения:	61 (80,26%)	70 (97,22%)
Функциональный класс I	2 (3,28%)	0 (0%)
Функциональный класс II	56 (91,80%)	62 (88,57%)
Функциональный класс III	3 (4,92%)	8 (11,43%)
Инфаркт миокарда в анамнезе	9 (11,84%)	13 (18,06%)
Перенесенный инсульт	10 (13,16%)	35 (48,61%)*
индекс массы тела (кг/м ²)	27,29±0,41	27,35±0,51
толщина комплекса	0,96±0,04	1,1±0,05*

интима-медиа общей сонной артерии, мм		
степень стеноза сонных артерий, %	33,57±1,78	71,43±1,55
		*

Примечание. *- p<0,05.

Между группами не было выявлено статистически значимых различий в уровне цинка в биосубстратах. Однако было обнаружено, что уровень цинка в атеросклеротических бляшках во второй группе оказался ниже, чем в контрольной группе (табл.2).

Т а б л и ц а 2

Уровень цинка в сыворотке, волосах и атеросклеротических бляшках

Биологический субстрат	1-я группа (n=76)	2-я группа (n=72)	контрольная группа (n=10)
Zn в сыворотке, мкмоль/л	12,78±0,95	15,86±0,75	18,34±1,99
Zn в волосах, мкг/г	204,97±12,02	215,47±1,90	301,74±38,14
Zn в АСП, мкг/г	-	81,72±15,73	148,55±25,67*

Сывороточные уровни ММП-9 во второй группе были в 2,3 раза выше, чем в первой и контрольной группах. Уровень ТИМП-1 во второй группе превышал показатели первой группы в 1,7 раза, а контрольной группы — в 1,8 раза. Индекс ММП-9/ТИМП-1 во второй группе был в 1,3 раза выше, чем в контрольной группе. При сравнении данных первой группы с контрольной, а также между первой и второй группами, статистически значимых различий не было обнаружено (табл. 3).

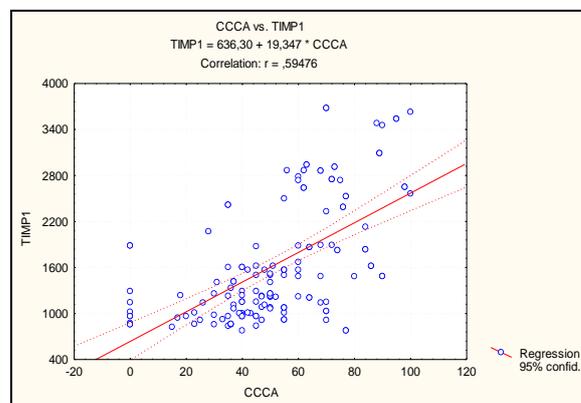
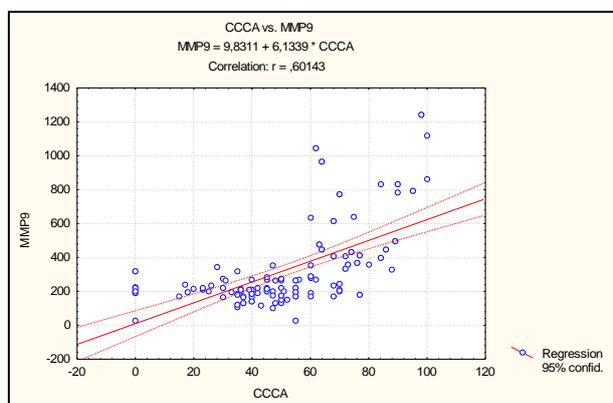
Т а б л и ц а 3

Уровни ММП-9, ТИМП-1 и индекса ММП-9/ТИМП-1 (M±m)

Показатели	Контрольная группа (n=10)	1-я группа (n=76)	2-я группа (n=72)	(к-1)	(к-2)	(1-2)
ММП-9, нг/мл	97,42±9,16	202,63±6,60	461,79±4,13	>0,05	<0,001	<0,05
ТИМП-1, нг/мл	192,51±80,45	204,89±40,25	2103,51±8,16	>0,05	<0,001	<0,05
ММП-9/ТИМП-1	0,18±	0,18±	0,23±	>0,05	<0,05	>0,05

	0,01	0,01	01			
--	------	------	----	--	--	--

Примечание. p (κ -1)-значимость различие 1-группы по сравнению с контролем, p (κ -2)-значимость различие 2-группы по сравнению с контролем, p (1-2)-значимость различие 1-группы по сравнению с 2-й группой.



В результате корреляционного анализа было выявлено значительное положительное соотношение между степенью стеноза сонной артерии и уровнями ММП-9, ТИМП-1, а также индексом ММП-9/ТИМП-1 ($r=0,60$, $r=0,59$, $p<0,000$; $r=0,27$, $p<0,001$ соответственно) (рис. 1, 2).

Рис. 1. Регрессионная модель взаимосвязи ММП-9 и СССА ($r=0,60$; $p<0,000$)

Рис. 2. Регрессионная модель взаимосвязи ТИМП-1 и СССА ($r=0,59$; $p<0,000$)

Также была выявлена выраженная положительная взаимосвязь между показателями ММП-9 и ТИМП-1 ($r=0,62$, $p<0,000$) (рис. 3).

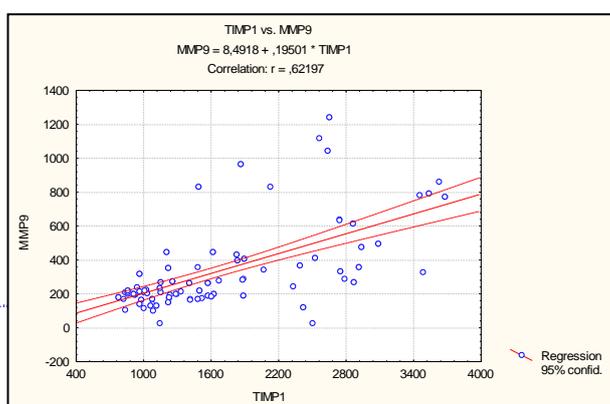


Рис. 3. Регрессионная модель взаимосвязи ММП-9 и ТИМП-1 ($r=0,62$; $p<0,000$)

Мы установили значимую обратную корреляцию между ТКИМ ОСА и уровнем цинка в сыворотке ($r=-0,24$; $p<0,05$). При исследовании связи между уровнями ММП-9 и ТИМП-1 в сыворотке с концентрацией цинка в биосубстратах была выявлена слабая обратная корреляция ТИМП-1 с уровнем цинка в сыворотке ($r=-0,29$; $p<0,05$). Связи с другими показателями статистически значимыми не были (рис. 4).

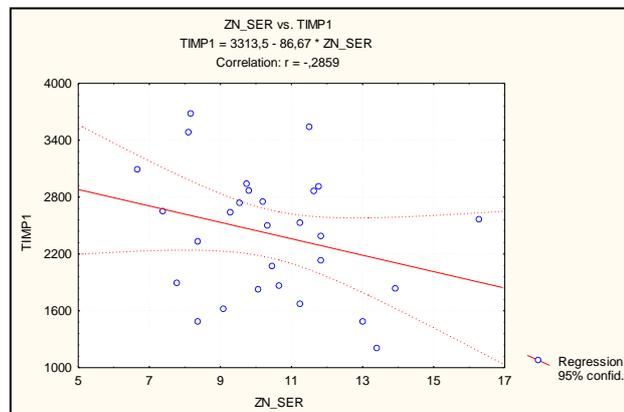


Рис. 4. Взаимосвязь уровня ТИМП-1 с уровнем цинка в сыворотке.

Результаты нашего исследования показали повышенные уровни ММП-9 и ТИМП-1 у всех пациентов с атеросклерозом каротидных артерий. Мы обнаружили значимые корреляции между уровнями ММП-9 и ТИМП-1 и степенью стеноза сонных артерий, что совпадает с выводами ряда исследователей [1,3,5].

Индекс ММП-9/ТИМП-1 используется для оценки баланса между металлопротеиназами и их ингибиторами. Согласно данным некоторых авторов [6], у здоровых людей этот показатель составляет $0,11 \pm 0,03$. В нашем исследовании это соотношение было выше у всех пациентов. У пациентов с окклюзией внутренней сонной артерии этот показатель увеличивался до значений 0,56. Эти результаты свидетельствуют о доминировании активности ММП-9 над уровнем ТИМП-1.

Также была выявлена значимая обратная корреляция между ТКИМ ОСА и уровнем цинка в сыворотке, что подтверждается работами других исследователей [7]. В предыдущих публикациях приводятся как положительные, так и отрицательные данные о защитном эффекте цинка при атеросклерозе [8,9,10]. Stadler N. и коллеги [4] в своих исследованиях объяснили потенциальный защитный эффект повышенного уровня цинка в контексте атеросклероза. Согласно их выводам, цинк может участвовать в механизмах повышения стабильности атеросклеротических повреждений, связываясь с компонентами внеклеточного матрикса. Известно, что атеросклеротические бляшки с кальцинированной фиброзной оболочкой менее подвержены разрыву, чем бляшки с высоким содержанием липидов и тонкой оболочкой. Снижение частоты сердечно-

сосудистых событий у людей с высоким уровнем цинка может быть связано с накоплением кальция и фиброза, что снижает склонность к разрыву повреждений.

Заключение. Таким образом, с ростом ТКИМ ОСА наблюдается снижение уровня цинка в сыворотке. Увеличение концентрации ТИМП-1 в сыворотке связано с уменьшением уровня цинка в той же сыворотке. При увеличении степени стеноза сонной артерии повышаются уровни ММП-9 и ТИМП-1 в сыворотке.

Список использованной литературы

1. Romero J.R., Vasan R.S., Polak J.F. et al. Carotid artery atherosclerosis and cardiovascular risk biomarkers in the Framingham Offspring Study // *J Clin Lipidol.*-2020.-Vol.14 (6).-P.748-755.
2. Zitka O., Krizkova S., Adam V. et al. The role of metalloproteinases in the progression of cardiovascular diseases // *Int J Mol Sci.*-2016.-Vol.17 (4).-P.563.
3. Gaubatz J.W., Ballantyne C.M., Wasserman B.A. et al. Association of circulating matrix metalloproteinases with carotid artery plaque composition: Results from the ARIC study // *Atherosclerosis.*-2017.-Vol.260.-P.64-71.
4. Stadler N., Stanley N., Heeneman S. et al. Zinc accumulation in atherosclerotic plaques and its association with inflammatory markers: Clinical implications // *Atherosclerosis.*-2019.-Vol.285.-P.55-63.
5. Alvarez B., Ruiz C., Matas M. et al. Serum metalloproteinases and plaque instability: New insights from patients with carotid artery stenosis // *J Vasc Surg.*-2018.-Vol.67 (4).-P.1046-1054.
6. Cheng M., Hashmi S., Zeng Q.T. et al. Adiponectin, MMP-9 and TIMP-1 ratio in coronary plaque vulnerability: Clinical implications // *Am J Cardiol.*-2019.-Vol.123 (9).-P.1470-1476.
7. Ari E., Kaya Y., Demir H. et al. Trace element levels and their relation to carotid artery atherosclerosis in hemodialysis patients // *Biol Trace Elem Res.*-2017.-Vol.180 (1).-P.136-144.
8. Beattie J.H., Kwun I.S. Zinc and its role in cardiovascular health: A review of current evidence // *Nutr Res Rev.*-2018.-Vol.31(2).-P.193-204.
9. Hughes S., Samman S. Zinc supplementation and its effects on cardiovascular risk factors // *J Am Coll Nutr.*-2016.-Vol.35 (2).-P.113-119.
10. Vasto S., Mocchegiani E., Colonna-Romano G. et al. Zinc and immune function in aging and age-related diseases // *Biogerontology.*-2017.-Vol.18 (1).-P.1-15.