

# Взаимосвязь плазменных маркеров деградации экстрацеллюлярного матрикса и поражения органов-мишеней при гипертонической болезни

В.А. Визир, И.Н. Волошина

Запорожский государственный медицинский университет

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** гипертоническая болезнь, маркеры, матриксная металлопротеиназа-9, тканевой ингибитор металлопротеиназ 1-го типа

Возникновение и прогрессирование гипертонической болезни (ГБ) тесно ассоциировано с риском развития сердечно-сосудистых осложнений вследствие патологического влияния повышенного артериального давления (АД) на такие важнейшие органы-мишени, как сердце, головной мозг и сосудистое русло. Неотъемлемой составляющей ГБ являются процессы ремоделирования органов-мишеней, включающие гипертрофию и интерстициальный фиброз [4, 6]. Структурные изменения интерстициального матрикса возникают вследствие нарушения баланса между синтезом белков и скоростью их распада. Увеличению накопления белков соединительнотканного матрикса способствует изменение активности матриксных металлопротеиназ – ферментов, осуществляющих деградацию экстрацеллюлярных белков в стенке сосуда, которые играют центральную роль в деградации белков соединительной ткани, в процессах нормального развития матрикса, при ангиогенезе и онкогенной трансформации клеток [4–6]. Известно, что денатурированный коллаген I типа (желатин), нативные коллагены IV, V, VII, X и XI типов, фибриноген, витронектин, энтактин, который соединяет ламинин и коллаген IV типа, являются субстратами для матриксной металлопротеиназы (ММП)-9, известной также как желатиназа В. Данный фермент принимает участие в процессах воспаления, ремоделирования ткани, заживления, мобилизации связанных с матриксом факторов роста и экспрессии цитокинов. Естественными антагонистами ММП, регулируемыми и модулируемыми их активность, являются тканевые ингибиторы металлопротеиназ (ТИМП), которые, так же как и ММП, экспрессируются во всех органах.

В настоящее время активно изучают клиническую значимость ММП-9 и ТИМП 1-го типа в патогенезе артериальной гипертензии (АГ) и другой сердечно-сосудистой патологии [3, 7, 8].

Цель работы – исследовать взаимосвязь между содержанием в плазме матриксной металлопротеиназы-9 и тканевого ингибитора металлопротеиназ 1-го типа и поражением органов-мишеней при гипертонической болезни.

## Материал и методы

Обследовано 70 пациентов (37 мужчин и 33 женщины в возрасте 41–65 лет (в среднем  $54,0 \pm 2,7$  года)), из них 33 пациента с ГБ II стадии и 37 больных с ГБ III стадии, перенесших ишемический инсульт. Контрольную группу составили 18 практически здоровых лиц с нормальным уровнем АД – 11 мужчин и 8 женщин в возрасте 37–57 лет (в среднем  $50,0 \pm 4,2$  года). Клиническая характеристика пациентов представлена в табл. 1.

Больных включали в исследование в соответствии с такими критериями: установленный диагноз ГБ II–III стадии (согласно рекомендациям Ассоциации кардиологов Украины [1]), наличие перенесенного ишемического инсульта давностью более 1 года (в случае ГБ III стадии), возраст старше 18 лет, синусовый ритм сердца, согласие на участие в исследовании. Критериями исключения были наличие симптоматических АГ, тяжелой сердечной недостаточности (III–IV ФК по NYHA), сахарного диабета, тяжелой почечной и печеночной недостаточности, фракция выброса левого желудочка < 45 %.

Таблица 1  
Клиническая характеристика обследованных

Показатель	Контроль- ная группа (n=18)	Больные с ГБ (n=70)	
		II стадии (n=33)	III стадии (n=37)
<b>М [95 % ДИ]</b>			
Возраст, лет	50 [37–57]	51 [41–63]	56 [42–67]
Длительность ГБ, лет	–	8,1 [4,5–10,7]	10,5 [6,1–12,6]
САД, мм рт. ст.	123 [118–128]	153 [149–157]*	164 [159–169]*°
ДАД, мм рт. ст.	77 [74–80]	93 [92–95]*	95 [93–98]
ЧСС в 1 мин	75 [69–81]	80 [77–85]	79 [76–88]
<b>Частота выявления показателя, %</b>			
Женщины	44	54,5	40,5
АГ 1-й/2-й/3-й степени	–	39/36/24	32/40/27
ИБС, стабильная стенокардия напряжения	–	2 (6)	2 (5)
Сердечная недостаточность (I–II ФК по NYHA)	–	2 (6)	2 (5)

**Примечание.** Различия показателей достоверны по сравнению с таковыми: \* – у лиц контрольной группы ( $P < 0,05$ ); ° – у больных с ГБ II стадии ( $P < 0,05$ ). То же в табл. 2. САД – систолическое АД; ДАД – диастолическое АД; ЧСС – частота сокращений сердца; ИБС – ишемическая болезнь сердца; ФК – функциональный класс; ДИ – доверительный интервал.

Всем лицам выполняли общеклиническое обследование с измерением офисного АД, определяли индекс массы тела (ИМТ), проводили дуплексную эхокардиографию для выявления структурно-функциональных изменений сердца, дуплексное сканирование экстракраниальных артерий (ЭКА) – для измерения толщины комплекса интима – медиа (КИМ) общих сонных артерий (ОСА) и выявления атером.

Уровни ММП-9 и ТИМП-1 в плазме крови определяли методом иммуноферментного анализа на базе центральной научно-исследовательской лаборатории ЗГМУ с помощью наборов R&D System (США) – для ММП-9 и Invitrogen (США) – для ТИМП-1. Образцы крови для иммуноферментного анализа брали из локтевой вены, контралатеральной той руке, где

Таблица 2  
Содержание ММП-9 и ТИМП-1 в плазме крови на разных стадиях гипертонической болезни

Показатель	Контрольная группа (n=18)		ГБ II стадии (n=33)		ГБ III стадии (n=37)	
	М	95 % ДИ	М	95 % ДИ	М	95 % ДИ
ММП-9, нг/мл	87,8	52,8–92,7	72,1	61,6–82,7	125,4*°	93,3–157,6
ТИМП-1, нг/мл	204,9	172,8–237,1	264,4*	239,08–289,8	325,9*°	294,9–356,9

измерялось АД, утром, натощак, до приема медикаментов, в состоянии покоя. На момент проведения исследования все пациенты либо не получали постоянной антигипертензивной терапии, либо она была отменена за 48 ч до включения в исследование. Плазму отделяли методом центрифугирования незамедлительно и замораживали при температуре  $-70^{\circ}\text{C}$  до момента проведения анализа.

Полученные результаты представляли в виде средней (М) и 95 % ДИ. Внутри- и межгрупповые различия оценивали с помощью двухвыборочного Т-теста или  $\chi^2$ -теста в зависимости от вида данных в рамках программы StatPlus 2009. Статистически достоверными считали различия между показателями при отклонении нулевой гипотезы и уровне значимости  $P < 0,05$ .

## Результаты и их обсуждение

Средний уровень ММП-9 в контрольной группе составил 87,8 [52,8–92,7] нг/мл, а среднее содержание фермента у всех обследованных больных с ГБ – 100,3 [81,8–118,7] нг/мл, что статистически было сопоставимо. Средняя концентрация ТИМП-1 у пациентов с ГБ оказалась достоверно выше, чем в контрольной группе, – 204,9 [172,8–237,1] нг/мл ( $P < 0,05$ ). Для определения возможной роли изучаемых показателей в прогрессировании заболевания их оценивали отдельно для каждой стадии ГБ (табл. 2). У пациентов с ГБ III стадии выявлены максимальные значения как ММП-9, так и ТИМП, достоверно превышающие аналогичные в контрольной группе и у больных с ГБ II стадии. У пациентов с ГБ II стадии уровни ММП-9 были сопоставимы с показателями в контрольной группе, а концентрация ТИМП-1 была значимо выше.

В табл. 3 представлены результаты оценки взаимосвязи между содержанием ММП-9, ТИМП-1 и поражением органов-мишеней при ГБ. Анализируемые биомаркеры были распределены на две подгруппы в зависимости от уровня изучаемых показателей относительно внутригрупповой медианы. У больных с ГБ для

Таблиця 3

Клинические показатели и частота поражения органов-мишеней в зависимости от уровня плазменных маркеров деградации коллагена

Показатель	ММП-9 < 82 нг/мл	ММП-9 > 82 нг/мл	ТИМП-1 < 295 нг/мл	ТИМП-1 > 295 нг/мл
	М [95 % ДИ]			
Возраст, лет	51 [44–55]	56 [47–60]	50 [43–52]	57 [53–60]*
Длительность ГБ, лет	8,1 [5,3–9,8]	10,5 [7,2–12,4]	7,3 [4,5–9,3]	11,5 [7,6–15,5]
САД, мм рт. ст.	153,6 [150–157]	164,8 [159–169]*	157,5 [153–161]	160,4 [155–165]
ДАД, мм рт. ст.	93,9 [92–96]	95,9 [93–98]	94,2 [92–96]	95,6 [93–98]
ЧСС в 1 мин	73 [70–77]	76 [71–82]	71 [66–74]	78 [75–85]*
Толщина КИМ ОСА, мм	1,01 [0,97–1,06]	1,19 [1,15–1,23]*	0,98 [0,94–1,03]	1,20 [1,14–1,26]*
ИММ ЛЖ, г/м <sup>2</sup>	135 [122–139]	140 [120–147]	127 [118–132]	150 [134–158]*
ИМТ, кг/м <sup>2</sup>	25,4 [23–27]	29,1 [24–29]	24,5 [22–26]	31 [27–33]*
<b>Частота выявления показателя, %</b>				
Женщины	50	44	53	41
Атеромы ЭКА	44	79*	55	88*
Инсульт в анамнезе	38,8	64,7*	38,8	67*

**Примечание.** \* – различия показателей достоверны по сравнению с таковыми у больных с ММП-9 < 82 нг/мл и ТИМП-1 < 295 нг/мл соответственно ( $P < 0,05$ ). ИММ ЛЖ – индекс массы миокарда левого желудочка.

уровня ММП-9 медиана составила 82 нг/мл, а для ТИМП-1 – 295 нг/мл.

Содержание ММП-9 в плазме крови более 82 нг/мл у больных с ГБ ассоциировалось с достоверным повышением САД, увеличением толщины КИМ ОСА, более частой встречаемостью атеросклеротических поражений ЭКА и высокой частотой перенесенного инсульта.

Повышение плазменной концентрации ТИМП-1 свыше 295 нг/мл было отмечено у больных более старшего возраста, по сравнению с подгруппой, имеющей уровень ТИМП-1 менее 295 нг/мл. Более высокое содержание ТИМП-1 также ассоциировалось с увеличением ЧСС, толщины КИМ, достоверно большей частотой выявления атером ЭКА и перенесенного инсульта, с повышенной массой тела при ГБ.

Таким образом, полученные результаты отражают очевидную роль маркера деградации коллагена ММП-9 и ТИМП-1 в прогрессировании эссенциальной АГ, что можно проследить по возрастанию их концентрации в плазме крови больных с ГБ II и III стадий. Имеющиеся же на сегодняшний день данные литературы неоднозначны. В одних исследованиях было показано, что повышенное содержание ТИМП-1 ассоциируется с гипертрофией левого желудочка, тяжестью АГ, проявлением сердечной недостаточности и увеличением кардиальной смертности. Уровень ММП-9 при этом позитивно коррелировал с плазменным содержанием ее ингибитора. В других наблюдениях были выявлены разнона-

Таблиця 4

Содержание в плазме крови ММП-9 и ТИМП-1 в проведенных исследованиях у пациентов с артериальной гипертензией

Исследование	ММП-9	ТИМП-1
Yasmin [12]	↑	
Tayebjee M.H. [9]	↑	↑
Li-Saw-Hee [5]	↓	↓
Zervoudaki A. [13]	↑	
Timms P.M. [10]		↑

правленные результаты относительно концентрации ММП-9 и ТИМП-1 (табл. 4).

В проведенном нами исследовании уровень ММП-9 у больных с ГБ II стадии был сопоставим с аналогичным показателем в контрольной группе, однако при распределении больных с ГБ на подгруппы в зависимости от уровня ММП-9 отмечали повышение концентрации маркера деградации коллагена при увеличении уровня САД свыше 160 мм рт. ст., то есть при прогрессировании АГ. Содержание же ТИМП-1 было достоверно выше у всех больных с ГБ по сравнению с таковым у лиц контрольной группы. Поэтому можно предположить, что именно активация ТИМП-1 лежит в основе инициации гипертрофических и гиперпластических процессов при ГБ на II стадии заболевания. Это подтвердилось при выявлении взаимосвязи между ИММ ЛЖ, толщиной КИМ ОСА, ИМТ и уровнем ТИМП-1. При формировании необратимых изменений органов-мишеней (инсульт), то есть

на III стадии ГБ, активность ММП-9 и ТИМП-1 становится максимальной (возможно, патологической), достоверно превышая значения у лиц с нормальным АД и у больных с ГБ II стадии. Взаимосвязь между изучаемыми биомаркерами и степенью поражения органов-мишеней наглядно представлена в табл. 2: ММП-9 и ТИМП-1 участвуют в процессах сосудистого ремоделирования, что отражено увеличением толщины КИМ ОСА, неразрывно связанным с прогрессированием атеросклероза (высокая частота атером). Повышенную концентрацию ММП-9 и ТИМП-1 достоверно чаще отмечали у лиц, перенесших ишемический инсульт, то есть при необратимом поражении головного мозга, важного органа-мишени при ГБ. Ремоделирование сердца – гипертрофия левого желудочка, диагностируемая на основании увеличения ИММ ЛЖ, является признаком ГБ II стадии. В данном исследовании установлена прямая корреляционная взаимосвязь между величиной ИММ ЛЖ и увеличением ТИМП-1.

Полученные в работе данные согласуются с рядом проведенных исследований. Так, в проекте ASCOT уровни циркулирующих ММП-9 и ТИМП-1 в плазме больных с АГ были значительно выше по сравнению с таковыми у лиц контрольной группы с нормальным АД (соответственно  $P=0,0041$  и  $P=0,0166$ ), что позволило авторам высказать мысль о возможности использования изучаемых биомаркеров в качестве суррогатных точек у пациентов с высоким сердечно-сосудистым риском [9]. У больных с ишемическим инсультом в острой стадии увеличение содержания ММП-9 ассоциировалось с тяжестью заболевания, повреждением гематоэнцефалического барьера и геморрагической трансформацией очага [2, 7, 11].

Таким образом, плазменные уровни ММП-9 и ее природного тканевого ингибитора – ТИМП-1 отражают баланс протеолитических и антипротеолитических факторов соединительной ткани и являются ключевыми регуляторами гомеостаза экстрацеллюлярного матрикса, деградацию которого отмечают при ГБ.

## Выводы

1. Существует взаимосвязь между содержанием в плазме маркеров деградации коллагена и стадией гипертонической болезни: у пациентов с гипертонической болезнью II стадии отме-

чают повышение уровня тканевого ингибитора металлопротеиназы 1-го типа, а у лиц с гипертонической болезнью III стадии – повышение концентрации как матриксной металлопротеиназы-9, так и ее тканевого ингибитора.

2. Активация матриксной металлопротеиназы-9 и ее тканевого ингибитора 1-го типа характерна для процессов сердечно-сосудистого и церебрального ремоделирования, что отражает тесную взаимосвязь данных биомаркеров и поражения органов-мишеней при гипертонической болезни.

## Литература

1. Рекомендації Асоціації кардіологів України з профілактики та лікування артеріальної гіпертензії. Посібник до Національної програми профілактики і лікування артеріальної гіпертензії. – К.: ПП ВМБ, 2008. – 80 с.
2. Castellanos M., Leira R., Serena J. et al. Plasma metalloproteinase-9 concentration predicts hemorrhagic transformation in acute ischemic stroke // *Stroke*. – 2003. – Vol. 34. – P. 40-46.
3. Cavusoglu E., Ruwende C., Chopra V. et al. Tissue inhibitor of metalloproteinase-1 (TIMP-1) is an independent predictor of all-cause mortality, cardiac mortality, and myocardial infarction // *Amer. Heart J.* – 2006. – Vol. 151. – P. 1101-1108.
4. Flamant M., Placier S., Dubroca C. et al. Role of matrix metalloproteinases in early hypertensive vascular remodeling // *Hypertension*. – 2007. – Vol. 50. – P. 212-218.
5. Li-Saw-Hee F.L., Edmunds E., Blann A.D. et al. Matrix metalloproteinase-9 and tissue inhibitor metalloproteinase-1 levels in essential hypertension: relationship to left ventricular mass and anti-hypertensive therapy // *Int. J. Cardiology*. – 2000. – Vol. 75. – P. 43-47.
6. Lindsay M.M., Maxwell P., Dunn F.G. TIMP-1: a marker of left ventricular diastolic dysfunction and fibrosis in hypertension // *Hypertension*. – 2002. – Vol. 40. – P. 136-141.
7. Pfefferkorn T., Rosenberg G.A. Closure of the blood-brain barrier by matrix metalloproteinase inhibition reduces rtpa-mediated mortality in cerebral ischemia with delayed reperfusion // *Stroke*. – 2003. – Vol. 34. – P. 2025-2030.
8. Sundstrom J., Evans J.C., Benjamin E.J. et al. Relations of plasma matrix metalloproteinase-9 to clinical cardiovascular risk factors and echocardiographic left ventricular measures: the Framingham Heart Study // *Circulation*. – 2004. – Vol. 109. – P. 2850-2856.
9. Tayebjee M.H., Nadar S., Blann A.D. et al. Matrix metalloproteinase-9 and tissue inhibitor of metalloproteinase-1 in hypertension and their relationship to cardiovascular risk and treatment: a substudy of the Anglo-Scandinavian Cardiac Outcomes Trial (ASCOT) // *Amer. J. Hypertension*. – 2004. – Vol. 17. – P. 764-769.
10. Timms P.M., Wright A., Maxwell P. et al. Plasma tissue inhibitor of metalloproteinase-1 levels are elevated in essential hypertension and related to left ventricular hypertrophy // *Amer. J. Hypertension*. – 2002. – Vol. 15. – P. 269-272.
11. Vukasovic I., Tesija-Kuna A., Topic E. et al. Matrix metalloproteinases and their inhibitors in different acute stroke subtypes // *Clin. Chem. Lab. Med.* – 2006. – Vol. 44. – P. 428-434.
12. Yasmin, Wallace S., McEniery C.M. et al. Matrix metalloproteinase-9 (MMP-9), MMP-2, and serum elastase activity are associated with systolic hypertension and arterial stiffness // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* – 2005. – Vol. 25. – P. 372-378.
13. Zervoudaki A., Economou E., Stefanadis C. et al. Plasma levels of active extracellular matrix metalloproteinases 2 and 9 in patients with essential hypertension before and after antihypertensive treatment // *J. Hum. Hypertension*. – 2003. – Vol. 17. – P. 119-124.

---

**Relationship between plasma markers of collagen degradation and hypertensive target organ-damage**

V.A. Vizir, I.N. Voloshyna

*The aim of the study was to examine the relationship between plasma matrix metalloproteinase-9 and tissue inhibitor of metalloproteinase type 1 with degree of target organs damage in essential hypertension (EH). A total of 70 patients with EH (37 men, 33 women) aged 41–65 years old, mean age (54.0±2.7) years, were observed, including 33 patients with EH stage II and 37 post-stroke patients with EH stage III. The control group consisted of 18 healthy normotensive men, mean age (50.0±4.2) years. Levels of metalloproteinase-9 and tissue inhibitor of metalloproteinase type 1 in plasma were determined by ELISA. We observed the evidence of the relationship between the plasma content of markers of collagen degradation and the stage of EH: stage II marked increase in tissue inhibitor of metalloproteinase-9 and at stage III – increasing concentrations of both matrix metalloproteinase-9 and its tissue inhibitor. Activation of matrix metalloproteinase-9 and its tissue inhibitor type 1 was closely correlated with the degree of target organs damage in EH.*