

© УСМАНОВА З.А., АРИПОВ А.Н., 2015

УДК 616.133.-007.271-07:616.152.47

Усманова З.А., Арипов А.Н.

## АНАЛИЗ АССОЦИИ МАТРИКСНОЙ МЕТАЛЛОПРОТЕИНАЗЫ-9 И ТКАНЕВОГО ИНГИБИТОРА МЕТАЛЛОПРОТЕИНАЗЫ-1 С УРОВНЕМ ЦИНКА В РАЗЛИЧНЫХ БИОСУБСТРАТАХ У БОЛЬНЫХ С КАРОТИДНЫМ СТЕНОЗОМ

Ташкентский институт усовершенствования врачей Минздрава Республики Узбекистан, 100007, г. Ташкент

*Определены уровни матриксной металлопротеиназы-9 (ММП-9) и ее тканевого ингибитора-1 (ТИМП-1), а также цинка (Zn) в сыворотке, волосах и биоптатах атеросклеротических бляшек (АСБ) сонной артерии у пациентов с каротидным стенозом. Проведен анализ ассоциации между этими показателями. Выявлены наиболее высокие показатели ММП-9, ТИМП-1 и индекса ММП-9/ТИМП-1 у больных со стенозами сонных артерий свыше 50%. Обнаружена отрицательная корреляция между концентрацией Zn в сыворотке и толщиной комплекса интима-медиа общей сонной артерии, также выявлена слабая обратная корреляция ММП-9 с уровнем Zn в АСБ.*

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

**Для цитирования:** Клиническая лабораторная диагностика. 2015; 60 (10): 26–28.

Usmanova Z.A., Aripov A.N.

THE ANALYSIS OF ASSOCIATION OF MATRIX METALLOPROTEINASE-9 AND TISSUE INHIBITOR OF METALLOPROTEINASE-1 WITH LEVEL OF ZINC IN DIFFERENT BIO SUBSTRATES IN PATIENTS WITH CAROTID STENOSIS

The Tashkent institute of postgraduate medical education of Minzdrav of the Republic of Uzbekistan, 100007 Tashkent, the Republic of Uzbekistan

*The levels of matrix metalloproteinase-9 and its tissue inhibitor-1 and also zinc in serum, hair and biopsy material of atherosclerosis plaques of carotid in patients with carotid stenosis. The analysis of association between these two indicators was implemented. The highest indicators of matrix metalloproteinase-9, tissue inhibitor-1 and index matrix metalloproteinase-9/tissue inhibitor-1 in patients with carotid stenosis more than 50% were established. The negative correlation between zinc concentration in serum and thickness of complex intima-media of common carotid artery was established. The weak inverse correlation of matrix metalloproteinase-9 with zinc level in atherosclerosis plaques.*

**Key words:** matrix metalloproteinase-9; tissue inhibitor; metalloproteinase-1; zinc; carotid stenosis

**Citation:** Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika. 2015; 60 (10) : 26–28. (in Russ.)

**Введение.** Атеросклероз сонных артерий, обнаруженный путем неинвазивного ультразвукового исследования, используется в качестве маркера развития сердечно-сосудистых и цереброваскулярных заболеваний. Тяжесть каротидного атеросклероза можно оценить, используя толщину комплекса интима-медиа общей сонной артерии (ТКИМ ОСА), степень стеноза сонной артерии (СССА) [1]. В ремоделировании внеклеточного матрикса важную роль играют матриксные металлопротеиназы (ММП) и их тканевые ингибиторы (ТИМП). Известно, что ММП представляют собой семейство цинк-зависимых эндопептидаз, ответственных за расщепление и восстановление внеклеточного матрикса [2]. Установлена связь уровня циркулирующей ММП-9 и ТИМП-1 с различными характеристиками сонных артерий и выраженностью каротидного атеросклероза [1, 3].

ММП в своем активном центре содержит ионы цинка ( $Zn^{2+}$ ), которые участвуют в каталитических процессах. Zn, в свою очередь, играет важную роль в биологических системах с разнообразными функциями, связанными с цинк-связывающими белками. ММП активируется с помощью транспортировки на нее ионов  $Zn^{2+}$  от металлотионеина [2]. Установлена также взаимосвязь между содержанием Zn в организме и развитием атеросклероза [4]. Концентрация Zn одновременно в волосах, атеросклеротических бляшках (АСБ) сонной артерии и сыворотке у больных каротидным

атеросклерозом, а также их связь с сывороточным уровнем ММП-9 и ТИМП-1 до настоящего времени не изучались.

Целью нашей работы было оценить содержание Zn в сыворотке крови, волосах, биоптатах АСБ сонной артерии и их связь с уровнем ММП-9 и ТИМП-1 в сыворотке у пациентов с каротидным атеросклерозом.

**Материалы и методы.** В исследование были включены 73 больных (55 мужчин и 18 женщин) в возрасте от 46 до 88 лет (средний возраст  $65,96 \pm 1,07$  года) с каротидными стенозами. Контрольную группу составили 10 здоровых лиц сопоставимого пола и возраста. Больные были разделены на две группы в зависимости от СССА. Первую группу составили 35 больных со СССА < 50%, 2-ю группу – 38 пациентов со СССА > 50%. Критериями исключения из исследования являлись: острый инфаркт миокарда, кардиомиопатии, острый миокардит, перикардит, острое нарушение мозгового кровообращения, злокачественные опухоли, диффузные заболевания соединительной ткани, острые инфекционные заболевания, фракция выброса левого желудочка < 45%.

Всем пациентам проведено цветное дуплексное сканирование внемозговых отделов брахиоцефальных артерий на ультразвуковом сканере HD3 (Phillips, Нидерланды). Расчет СССА выполняли в зоне максимального сужения просвета артерии. Больные 2-й группы направлены в клинику Ташкентской медицинской академии, где им выполнена каротидная эндартерэктомия (КЭЭ). Образцы АСБ были получены сразу после КЭЭ и доставлены в лабораторию для определения Zn. У этих больных за 1 день до операции и у неоперированных пациентов однократно забирали кровь из локтевой вены утром натощак, через 12 ч после приема пищи.

Для корреспонденции: Усманова Захро Абдувалиевна, zahro.usmanova@yandex.ru

For correspondence: Usmanova Z.A., usmanova@yandex.ru

Таблица 1

**Характеристика пациентов обследованных групп**

Показатели	1-я группа (n = 35)	2-я группа (n = 38)
Возраст, годы	66,8 ± 1,6	65,2 ± 1,4
Пол, мужчины/женщины	22/13 (63%/37%)	33/5 (87%/13%)
Артериальная гипертония	33 (94,3%)	35 (92,1%)
Гиперлипидемия	15 (42,9%)	22 (57,9%)*
Ожирение	14 (40%)	12 (31,6%)
Сахарный диабет 2-го типа	11 (31,4%)	17 (44,7%)
Стенокардия напряжения:		
функциональный класс II	32 (91,4%)	34 (89%)
функциональный класс III	3 (8,6%)	4 (11%)
Инфаркт миокарда в анамнезе	2 (5,7%)	8 (21%)
Перенесенный инсульт	4 (11,4%)	22 (57,9%)*
Индекс массы тела, кг/м <sup>2</sup>	27,1 ± 0,6	27,8 ± 0,7
ТКИМ ОСА, мм	0,96 ± 0,04	1,1 ± 0,05*
СССА, %	34 ± 2,8	76,5 ± 2,3*

Примечание. \* –  $p < 0,05$ .

Таблица 2

**Уровень Zn в сыворотке, волосах и АСБ**

Биологический субстрат	1-я группа (n = 35)	2-я группа (n = 38)	Контрольная группа (n = 10)
Сыворотка, мкмоль/л	12,5 ± 1,5	16,4 ± 0,96	18,3 ± 4,16
Волосы, мкг/г	234,3 ± 20,1	207,9 ± 14,7	208,65 ± 84,23
АСБ, мкг/г	–	82,6 ± 14,7	–

Все образцы венозной крови немедленно центрифугировали, сыворотки замораживали при температуре -20 °С. Определяли концентрации ММП-9 и ТИМП-1 с помощью наборов стандартных тест-систем для иммуноферментного анализа (Bender-MedSystems GmbH, Австрия) на планшетном спектрофотометре Plate Reader (Hospitex Diagnostics, Италия). Уровень Zn в сыворотке крови определяли с помощью набора реагентов Zinc-Vital (Vital Development Corporation, Россия) на биохимическом автоматическом анализаторе Mindray BS-200 (Китай); в волосах и АСБ – методом оптико-эмиссионной спектрометрии с индуктивно-связанной аргоновой плазмой на анализаторе Optima 2100 DV (Perkin Elmer, США).

Полученные результаты статистически обрабатывали, вычисляя для каждой выборки среднюю арифметическую величину ( $M$ ) и стандартную ошибку ( $m$ ) и представляли в виде  $M \pm m$ . Различия между группами определяли с помощью  $t$ -критерия Стьюдента и считали статистически значимыми при уровне вероятности  $p < 0,05$ . Для выявления взаимосвязи между показателями использовали коэффициент корреляции Пирсона.

**Результаты и обсуждение.** По частоте артериальной гипертонии, ожирения, сахарного диабета 2-го типа, стенокардии напряжения, инфаркта миокарда в анамнезе и возрасту рассматриваемые группы были сопоставимы. Однако во 2-й группе частота инсульта (57,9%) и гиперлипидемии (57,9%) была выше, чем в 1-й (11,4 и 42,9% соответственно) (табл. 1).

Уровень Zn в биосубстратах между группами статистически значимо не различался (табл. 2).

Сывороточные уровни ММП-9 были в 1,8 раза выше во 2-й группе по сравнению с 1-й. В 1-й группе концентрация ММП-9 была выше в 1,3 раза, а во 2-й – в 2,3 раза, чем в контрольной группе. Уровень ТИМП-1 статистически значимо не различался между 1-й и 2-й группами, но при сравнении их с контрольной группой выявлено значимое различие. Так, в 1-й группе уровень ТИМП-1 был в 1,6 раза, а во 2-й – в 1,7 раза выше, чем в контрольной. Индекс ММП-9/ТИМП-1 был в 1,5 раза выше во 2-й группе, чем в контроле. При сравнении показателей 1-й и контрольной групп, а также 1-й и 2-й групп не выявлено статистически значимых различий (табл. 3).

При проведении корреляционного анализа данных выявлена умеренная положительная корреляционная связь СССА с уровнями ММП-9 и ТИМП-1 ( $r = 0,47$  и  $r = 0,53$  соответственно;  $p < 0,001$ ). Отмечена слабая обратная корреляция уровня Zn в сыворотке с его концентрацией в волосах ( $r = -0,21$ ;  $p < 0,05$ ) и положительная корреляция с его содержанием в АСБ ( $r = 0,21$ ;  $p < 0,05$ ). Обнаружена слабая положительная корреляционная связь Zn в волосах с его уровнем в АСБ ( $r = 0,23$ ;  $p < 0,05$ ), а также отрицательная корреляция между концентрацией Zn в сыворотке и ТКИМ ОСА ( $r = -0,24$ ;  $p < 0,05$ ).

При изучении ассоциации уровней ММП-9 и ТИМП-1 в сыворотке с концентрацией Zn в биосубстратах выявлена слабая корреляция ММП-9 с уровнем Zn в АСБ ( $r = -0,25$ ;  $p < 0,05$ ). Связь с остальными показателями была статистически незначимой.

Результаты исследования показали высокие уровни ММП-9 и ТИМП-1 у всех больных с атеросклерозом каротидных артерий. Мы отметили значимые ассоциации уровней ММП-9 и ТИМП-1 со СССА, что согласуется с мнениями ряда исследователей [1, 3, 5].

Индекс ММП-9/ТИМП-1 используется для оценки баланса между ММП и их ингибиторами. По данным ряда авторов [6], у здоровых лиц этот показатель составляет  $0,11 \pm 0,03$ . В нашей работе это соотношение было выше у всех больных (в контрольной группе –  $0,15 \pm 0,02$ , в 1-й –  $0,176 \pm 0,01$ , во 2-й –  $0,22 \pm 0,02$ ). У пациентов с окклюзией внутренней сонной артерии этот показатель даже увеличивался на  $0,44$ ;  $0,47$  и  $0,56$  соответственно. Данные результаты указывают на превалирование активности ММП-9 над уровнем ТИМП-1.

Нами выявлена значимая обратная корреляция между ТКИМ ОСА и уровнем Zn в сыворотке, что соответствует результатам других авторов [7]. В предшествующих публикациях указано на положительные и негативные данные по защитному эффекту Zn против атеросклероза [8–10]. N. Stabler и соавт. [4] в своих работах предоставили объяснение потенциального защитного эффекта повышенного уровня Zn при атеросклерозе. Так, Zn может участвовать в механизме повышения стабильности поражения путем связывания с компонентами матрикса. Известно, что АСБ с кальциниро-

Таблица 3

**Уровни ММП-9, ТИМП-1 и индекс ММП-9/ТИМП-1 ( $M \pm m$ )**

Показатели	Контрольная группа (n = 10)	1-я группа (n = 35)	2-я группа (n = 38)	$p$ (к–1)	$p$ (к–2)	$p$ (1–2)
ММП-9, нг/мл	197,42 ± 10,4	252,86 ± 15,17	453,25 ± 48,16	< 0,01	< 0,001	< 0,001
ТИМП-1, нг/мл	1192,5 ± 61,5	1874,1 ± 303,67	2076,1 ± 129,3	< 0,05	< 0,001	> 0,05
ММП-9/ТИМП-1	0,15 ± 0,02	0,176 ± 0,01	0,22 ± 0,02	> 0,05	< 0,02	> 0,05

Примечание.  $p$  (к–1) – значимость различий 1-й группы по сравнению с контролем;  $p$  (к–2) – 2-й группы по сравнению с контролем;  $p$  (1–2) – 1-й группы по сравнению со 2-й.

ванной фиброзной крышкой менее склонны к разрыву, чем АСБ с высоким содержанием липидов и тонкой крышкой. Сниженная степень сердечно-сосудистых событий у людей с высоким уровнем Zn может объясняться накоплением кальция и фиброза и, следовательно, уменьшением склонности к разрыву поражения.

**Заключение.** Таким образом, с увеличением ТКМ ОСА снижается уровень Zn в сыворотке. Это ассоциируется с уменьшением уровня Zn в АСБ. Снижение концентрации Zn в волосах сопровождается снижением уровня Zn в биоптатах АСБ. Увеличению концентрации ММП-9 в сыворотке сопутствует снижение содержания Zn в АСБ. С ростом СССА повышаются уровни ММП-9 и ТИМП-1 в сыворотке.

#### ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- Romero J.R., Vasan R.S., Beiser A.S., Polak J.F., Benjamin E.J., Wolf P.A. et al. Association of carotid artery atherosclerosis with circulating biomarkers of extracellular matrix remodeling: the Framingham Offspring Study. *J. Stroke.Cerebrovasc. Dis.* 2008; 17 (6): 412–7.
- Zitka O., Kukacka J., Krizkova S., Huska D., Adam V., Masarik M. et al. Matrix Metalloproteinases. *Curr. Med. Chem.* 2010; 17 (31): 3751–68.
- Gaubatz J.W., Ballantyne C.M., Wasserman B.A., He M., Chambless L.E., Boerwinkle E. et al. Association of Circulating Matrix Metalloproteinases with Carotid Artery Characteristics: The ARIC Carotid MRI Study. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2010; 30 (5): 1034–42.
- Stadler N., Stanley N., Heeneman S., Vacata V., Daemen M.J., Bannon P.G. et al. Accumulation of Zinc in Human Atherosclerotic Lesions Correlates With Calcium Levels But Does Not Protect Against Protein Oxidation. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2008; 28 (5): 1024–30.
- Alvarez B., Ruiz C., Chacón P., Alvarez-Sabin J., Matas M. Serum values of metalloproteinase-2 and metalloproteinase-9 as related to unstable plaque and inflammatory cells in patients with greater than 70% carotid artery stenosis. *J. Vasc. Surg.* 2004; 40 (3): 469–5.
- Cheng M., Hashmi S., Mao X., Zeng Q.T. Relationships of adiponectin and matrix metalloproteinase-9 to tissue inhibitor of metalloproteinase-1 ratio with coronary plaque morphology in patients with acute coronary syndrome. *Can. J. Cardiol.* 2008; 24 (5): 385–90.
- Ari E., Kaya Y., Demir H., Ascioglu E., Keskin S. The Correlation of Serum Trace Elements and Heavy Metals with Carotid Artery Atherosclerosis in Maintenance Hemodialysis Patients. *Biol. Trace Elem. Res.* 2011; 144 (1–3): 351–9.
- Beattie J.H., Kwun I.S. Is zinc deficiency a risk factor for atherosclerosis? *Br. J. Nutr.* 2004; 91 (2): 177–81.
- Hughes S., Samman S. The effect of zinc supplementation in humans on plasma lipids, antioxidant status and thrombogenesis. *J. Am. Coll. Nutr.* 2006; 25 (4): 285–91.
- Vasto S., Mocchegiani E., Candore G., Listi F., Colonna-Romano G., Lio D. et al. Inflammation, genes and zinc in ageing and age-related diseases. *Biogerontology.* 2006; 7 (5–6): 315–27.

Поступила 09.04.15  
Received 09.04.15

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2015

УДК 616.154:577.152.344:008.64-055.5/7-07

Первакова М.Ю.<sup>1</sup>, Эмануэль В.Л.<sup>1</sup>, Суркова Е.А.<sup>1</sup>, Мазинг А.В.<sup>1</sup>, Лапин С.В.<sup>1</sup>, Ковалева И.С.<sup>2</sup>, Сысоева С.Н.<sup>2</sup>

## СОПОСТАВЛЕНИЕ МЕТОДОВ ЭЛЕКТРОФЕРЕЗА, ИММУНОТУРБИДИМЕТРИЧЕСКОГО ИЗМЕРЕНИЯ И ФЕНОТИПИРОВАНИЯ АЛЬФА-1-АНТИТРИПСИНА ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ АЛЬФА-1-АНТИТРИПСИНОВОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ

<sup>1</sup>ГБОУ ВПО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова» Минздрава России, 197022, г. Санкт-Петербург; <sup>2</sup>ООО «Независимая лаборатория ИНВИТРО», 125047, г. Москва

*Качественный и количественный дефицит альфа-1-антитрипсина (А1АТ) является врожденным фактором предрасположенности к ряду состояний, включая хроническую обструктивную болезнь легких и первичную эмфизему, а также поражение печени. В данном исследовании проведена оценка анализа альфа-1-фракции (А1Ф) методом зонального электрофореза для выявления больных с альфа-1-антитрипсиновой недостаточностью (ААТН). Обследованы пациенты с пониженной (1-я группа) и нормальной (2-я группа) А1Ф на протеинограмме. Для проведения электрофореза использовалась система капиллярного электрофореза Capillary-2 Flex Piercing (Sebia, Франция), а также система для электрофореза в агарозном геле SAS-1/SAS-2 (Helena Biosciences, Великобритания). Для количественного определения А1АТ были использованы коммерческий набор Sentinel Diagnostics (Италия) и биохимический анализатор А15 (Biosystems, Испания). Результаты исследования показали, что снижение А1Ф на протеинограмме коррелировало с уменьшением концентрации А1АТ в сыворотке крови и с наличием его патологического фенотипа. Средние значения концентрации А1АТ в 1-й и 2-й группах составили 1148 и 1738 мг/л соответственно. Общая частота патологических фенотипов в 1-й группе составила 76,0% (19/25), что достоверно отличалось от показателей 2-й – 7,1% (2/28). Таким образом, электрофорез протеинов сыворотки крови может быть достаточно информативен для первичного отбора больных, которым требуется обследование на наличие ААТН.*

**Ключевые слова:** альфа-1-антитрипсин; альфа-1-антитрипсиновая недостаточность; фенотипирование; альфа-1-фракция; зональный электрофорез.

**Для цитирования:** Клиническая лабораторная диагностика. 2015; 60 (10): 28–32.

Pervakova M.Yu.<sup>1</sup>, Emanuel V.L.<sup>1</sup>, Surkova E.A.<sup>1</sup>, Mazing A.V.<sup>1</sup>, Lapin S.V.<sup>1</sup>, Kovaleva I.S.<sup>2</sup>, Sysoeva S.N.<sup>2</sup>

THE COMPARISON OF TECHNIQUES OF ELECTROPHORESIS, IMMUNE TURBIDYNAMIC MEASUREMENT AND PHENOTYPING OF ALPHA-1-ANTITRYPSIN FOR DIAGNOSTIC OF ALPHA-1-ANTITRYPSIN INSUFFICIENCY

<sup>1</sup>The I.P. Pavlov first St. Petersburg state medical university, 197022 St. Petersburg, Russia<sup>2</sup>The independent laboratory INVITRO, 125047 Moscow, Russia

Для корреспонденции: Первакова Маргарита Юрьевна, margaritalerner@gmail.com

For correspondence: Pervakova M.Yu., gelmargaritalerner@mail.com