

Юсупова А. О.¹, Слепова О. А.¹, Пахтусов Н. Н.¹, Попова Л. В.¹, Агеев А. А.¹,
Лишута А. С.¹, Привалова Е. В.¹, Хабарова Н. В.¹, Дадашова Г. М.², Беленков Ю. Н.¹

¹ ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет
им. И. М. Сеченова Минздрава РФ (Сеченовский Университет), Москва, Россия

² Научно-исследовательский институт кардиологии им. Дж. Абдуллаева, Баку, Республика Азербайджан

Оценка уровня матриксных металлопротеиназ, сосудистого эндотелиального и микроРНК-34а у больных ишемической болезнью сердца с необструктивным и обструктивным поражением коронарных артерий

Цель	Оценка уровня матриксных металлопротеиназ (ММП), сосудистого эндотелиального фактора роста (vascular endothelial growth factor, VEGF) и экспрессии miRNA-34a у больных ишемической болезнью сердца (ИБС) при обструктивном и необструктивном поражении коронарных артерий (КА).
Материал и методы	В поперечное обсервационное исследование включены 64 больных ИБС (диагноз верифицирован по данным коронарографии или мультиспиральной компьютерной томографии КА), из них 33 (51,6%) мужчины, средний возраст 64,9±8,1 года; у 20 пациентов выявлено необструктивное поражение КА (стенозы <50%), у 44 – гемодинамически значимые стенозы. Группу контроля составили 30 здоровых добровольцев. Всем пациентам определяли уровни ММП-1, -9, -13, -14; miRNA-34a, VEGF.
Результаты	Уровень ММП-1 был статистически значимо выше у больных с ишемией и необструктивным поражением КА (ИНОКА) ($p=0,016$), а уровень ММП-9 был максимальным в группе с обструктивным поражением КА ($p<0,001$). Уровни ММП-13 и ММП-14 между группами достоверно не различались. Наиболее высокие концентрации VEGF наблюдались в группе ИНОКА ($p<0,001$). Экспрессия miRNA-34a достоверно различалась между группами больных ИБС с различными вариантами поражения КА и контролем ($p<0,001$). У больных с гемодинамически значимыми стенозами выявлены умеренные взаимосвязи между концентрациями ММП-14 и VEGF ($\rho=0,418$; $p=0,024$), а также VEGF и miRNA-34a ($\rho=0,425$; $p=0,022$). У больных с ИНОКА имелась заметная отрицательная корреляция между концентрациями ММП-13 и VEGF ($\rho=-0,659$; $p=0,003$). Корреляционный анализ у всех больных ИБС показал наличие умеренной взаимосвязи между концентрациями ММП-1 и ММП-14 с VEGF ($\rho=0,449$; $p=0,002$ и $\rho=0,341$; $p=0,019$ соответственно). По данным ROC-анализа, уровень ММП-9 более 4,83 нг/мл может служить предиктором наличия у больных ИБС гемодинамически значимой обструкции КА; при концентрации VEGF выше 27,23 пг/мл можно предположить отсутствие гемодинамически значимых стенозов КА.
Заключение	У больных ИБС с ИНОКА отмечено максимальное повышение уровня ММП-1, а в группе с обструктивным поражением КА – ММП-9. По нашим данным, возможно использование уровней ММП-9 и VEGF для прогнозирования степени обструкции КА. Экспрессия miRNA-34a статистически значимо выше у больных ИБС (с ИНОКА и с обструкцией КА) по сравнению с таковой в контрольной группе, что свидетельствует о ее вкладе в развитие и прогрессирование атеросклероза коронарного русла. В перспективе возможно использование этой miRNA в качестве диагностического маркера ИБС.
Ключевые слова	Ишемическая болезнь сердца; матриксная металлопротеиназа-1, -9, -13, -14; miRNA-34a; сосудистый эндотелиальный фактор роста (VEGF); необструктивное поражение коронарных артерий
Для цитирования	Iusupova A.O., Slepova O.A., Pakhtusov N.N., Popova L.V., Ageev A.A., Lishuta A.S. et al. Assessment of the Level of Matrix Metalloproteinases, VEGF and MicroRNA-34a in Patients With Non-obstructive and Obstructive Lesions of the Coronary Arteries. Kardiologiia. 2024;64(4):14–21. [Russian: Юсупова А.О., Слепова О.А., Пахтусов Н.Н., Попова Л.В., Агеев А.А., Лишута А.С. и др. Оценка уровня матриксных металлопротеиназ, VEGF и микроРНК-34а у больных с необструктивным и обструктивным поражением коронарных артерий. Кардиология. 2024;64(4):14–21].
Автор для переписки	Пахтусов Николай Николаевич. E-mail: pakhtusov_n_n@staff.sechenov.ru

Введение

Согласно статистическим данным, с 2010 г. в общей популяции наблюдается уменьшение годово-

вой смертности от ишемической болезни сердца (ИБС), и к 2020 г. оно составило 19,2%, в то время как фактическое число смертей увеличилось на 0,9%. По данным Фе-

деральной службы государственной статистики (Росстат), можно констатировать снижение смертности населения от болезней системы кровообращения к концу 2022 г. на 11,1%. Тем не менее, заболеваемость ИБС продолжает оставаться на крайне высоком уровне. В 2020 г. в мире около 244,1 млн человек страдали ИБС, и смертность составила от нее 8,95 млн [1]. Высокая летальность обусловлена рядом причин, среди которых можно выделить сложности диагностики ИБС (наличие бессимптомной ишемии миокарда и других особенностей течения заболевания), с чем связана низкая осведомленность пациентов о своем диагнозе.

Поиск новых биомаркеров позволит в перспективе использовать их в клинической практике для диагностики различных форм ИБС и, возможно, в качестве векторов терапии. Роль потенциальных биомаркеров для прогнозирования будущих атеротромботических сердечно-сосудистых событий могут играть матриксные металлопротеиназы (ММП), которые участвуют в патогенезе формирования и роста атеросклеротической бляшки (АСБ) [2]. ММП играют ключевую роль на всех стадиях развития атеросклероза, будучи вовлеченными в регуляцию воспаления, дисфункции эндотелия, миграции гладкомышечных клеток, кальцификации сосудов, дегенерации внеклеточного матрикса, активации и дестабилизации АСБ [3]. Имеющиеся данные подтверждают ключевую роль ММП в патогенезе атеросклероза и развитии АСБ на поздних стадиях заболевания, причем повышенная активность ММП увеличивает риск разрыва АСБ. Дегенерация белка внеклеточного матрикса катализируется ММП и участвует в миграции гладкомышечных клеток сосудов (VSMC), что приводит к нестабильности АСБ. Повышенный уровень ММП-2 и ММП-9 в периферической крови при остром коронарном синдроме (ОКС) в перспективе может быть использован в качестве неинвазивных тестов для определения дестабилизации АСБ и выявления пациентов с высоким риском развития сердечно-сосудистых осложнений.

Экспрессия ММП-1 усиливается при воспалительных и аутоиммунных заболеваниях под действием провоспалительных цитокинов: фактора некроза опухоли- α и интерлейкина-1 (ИЛ-1) [4]. ММП принимают участие в неопластическом ангиогенезе благодаря их пенетрации в экстрацеллюлярный матрикс, что приводит к ремоделированию тканей. Перекрестное взаимодействие между VSMC и макрофагами усиливает синтез ангиогенных факторов (сосудистый эндотелиальный фактор роста – vascular endothelial growth factor, VEGF), ИЛ-1 (цитокин, стимулирующий секрецию VEGF) и ММП [5]. Кроме того, установлено, что экспрессия ММП контролируется различными miRNA.

Регуляция miRNA компонентов внеклеточного матрикса имеет решающее значение в процессе дестабилизации АСБ [6]. Для некоторых miRNA доказана их диа-

гностическая ценность у больных ИБС, однако остается множество потенциальных кандидатов на роль биомаркеров. По данным небольшого числа исследований, проведенных в Российской Федерации, уровень экспрессии miRNA у больных ИБС может стать новым маркером прогноза степени стеноза коронарных артерий (КА). Изучение уровня экспрессии и поиск специфических miRNA позволит в перспективе использовать их в клинической практике в качестве компонентов диагностики различных форм ИБС и, возможно, в качестве основы для таргетной терапии.

Цель

Оценить уровень ММП, VEGF и экспрессии miRNA-34a у больных ИБС при обструктивном и необструктивном поражении КА.

Материал и методы

В поперечное наблюдательное исследование включены 64 пациента в возрасте 45–75 лет с верифицированным диагнозом стабильной ИБС согласно клиническим рекомендациям (2020), подписавших информированное согласие [7]. Исследование проводилось в соответствии с Хельсинкской декларацией (выписка из протокола этического комитета №01–21 от 22.01.2021). Наличие ишемии миокарда у госпитализированных пациентов с клинической картиной стабильной стенокардии либо ее эквивалентов доказано с помощью инструментальных методов диагностики: стресс-эхокардиографии или одноконтрастной эмиссионной компьютерной томографии на фоне пробы с физической нагрузкой.

В зависимости от результатов коронарографии или мультиспиральной компьютерной томографии КА пациенты были разделены на 2 группы: 20 пациентов с необструктивным поражением КА (стенозы <50% либо неизмененные КА); 44 пациента с обструктивной ИБС (наличие гемодинамически значимых стенозов КА). Группу контроля (n=30) составили здоровые добровольцы без сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ) и факторов риска их развития.

В исследование не включали пациентов с сахарным диабетом, ОКС, острым инфарктом миокарда за последние 3 месяца и инсультом, хронической сердечной недостаточностью III–IV функционального класса по классификации NYHA, аутоиммунными и онкологическими заболеваниями, тяжелыми нарушениями функции печени и почек.

Всем пациентам выполнены стандартные клинические анализы крови и мочи, биохимические тесты, включающие показатели липидного спектра, уровень глюкозы, мочевой кислоты.

Образцы плазмы крови после центрифугирования были заморожены в криопробирках при температуре –80 °C.

Центрифугирование образцов проводилось в течение 20 мин с ЭДТА КЗ в качестве антикоагулянта. Для оценки концентрации ММП и VEGF использовали иммуноферментный анализ (ИФА) на ИФА-анализаторе Adaltis Personal Lab с помощью наборов Cloud-Clone Corp. Коэффициент вариации (CV) у наборов составил 10 и 12% соответственно.

Экстракция РНК и полимеразная цепная реакция с обратной транскрипцией (ОТ-ПЦР)

Тотальную РНК, включая нкРНК, выделяли из образцов с использованием Qiazol в соответствии с протоколом производителей. Концентрацию и чистоту полученной РНК оценивали на микрообъемном спектрофотометре NanoDrop 2000. Процесс выделения повторяли для каждого образца до тех пор, пока не было получено достаточное количество РНК для следующих этапов.

Получение кДНК методом ОТ-ПЦР проводили с использованием набора MiScript II RT Kit по протоколу производителей. Для получения кДНК использовали 300 нг суммарной РНК, выделенной из каждого образца.

Для количественной оценки уровня экспрессии в тканях и плазме методом ПЦР в реальном времени (ПЦР-РВ) использовали прибор CFX96 Real-Time PCR Detection System. Оценку уровня экспрессии проводи-

ли в тройной повторности для анализируемой miRNA, а также экзогенного контроля cel-miR-39-3p с использованием набора MiScript SYBR Green PCR Kit, пресинтезированного праймера miScript Primer Assay для контроля и подобранных в лаборатории праймеров для miRNA (miR-34a-5'-TGGCAGTGTCTAGCTGGTTGT-3'). Полученные значения Ct были нормализованы относительно экзогенного контроля cel-miR-39-3p и проанализированы с использованием метода $2^{-\Delta Ct}$. Результаты представлены в виде REU (relative units of expression) [8].

Статистический анализ

Статистический анализ полученных данных проводили с использованием программы StatTech v. 3.1.10 («Статтех», Россия) и с использованием свободной программной среды вычислений Python (v.3.11). Распределение параметров оценивали с помощью критерия Шапиро-Уилка ($n < 50$) или Колмогорова-Смирнова ($n > 50$). Количественные показатели, имеющие нормальное распределение, описывали с помощью средних арифметических величин (M) и стандартного отклонения (SD), границ 95% доверительного интервала (ДИ). В отсутствие нормального распределения количественные данные описывали с помощью медианы (Me) и нижнего и верхнего квартилей [Q1; Q3]. Две группы с рас-

Центральная иллюстрация. Оценка матричных металлопротеиназ, сосудистого эндотелиального фактора роста и микро-РНК-34а у больных ишемической болезнью сердца с необструктивным и обструктивным поражением коронарных артерий

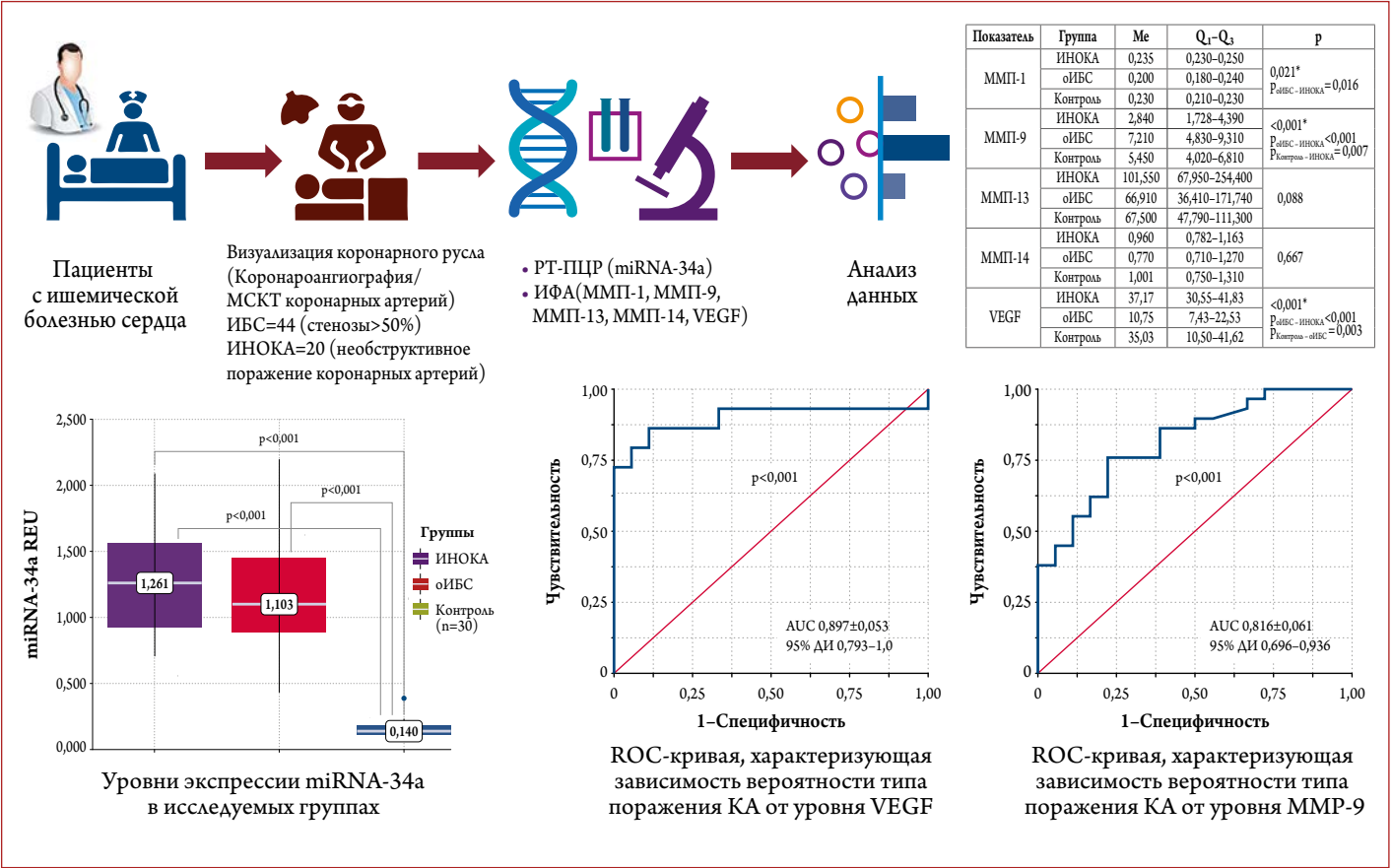


Таблица 1. Основные клинико-демографические характеристики обследованных пациентов

Параметр	ИБС (все) (n=64)	ИНОКА (n=20)	оИБС (n=44)	Контроль (n=30)	Р
Мужчины, абс. (%)	33 (51,6)	5 (25)	28 (63,6)	10 (33,3)	0,004 Р _{ИНОКА – оИБС} = 0,012 Р _{ИНОКА – Контроль} = 0,021
Женщины, абс. (%)	31 (48,4)	15 (75)	16 (36,4)	20 (66,7)	
Возраст, годы	64,9±8,1	66,5 [62,8; 71,2]	64,0 [56,5; 71,0]	28,5 [26,0; 39,2]	<0,001 Р _{Контроль – ИНОКА} <0,001 Р _{Контроль – оИБС} <0,001
ИМТ, кг/м ²	26,92±3,69	26,20 [25,67; 30,40]	26,23 [24,68; 28,68]	21,95 [20,75; 25,23]	< 0,001 Р _{Контроль – ИНОКА} = 0,003 Р _{Контроль – оИБС} = 0,003
Курение, %	9 (14)	3 (15,0)	6 (13,6)	—	0,879
Гемоглобин, г/л	142 [133; 152]	142 [134; 151]	144 [133; 152]	136 [129; 152]	0,459
Глюкоза, ммоль/л	5,5 [5,17; 5,8]	5,60 [5,2; 6,21]	5,40 [5,1; 5,63]	4,9 [4,59; 5,35]	<0,001
Креатинин, мкмоль/л	89 [78,2; 99,2]	83,4 [74,8; 96,3]	89,80 [81; 101,8]	82 [77,7; 87]	0,106
Общий холестерин, ммоль/л	3,96 [3,47; 4,97]	5,11±1,51	3,85±0,95	4,87±0,77	<0,001 Р _{ИНОКА – оИБС} = 0,005 Р _{оИБС – Контроль} <0,001
ХС ЛНП, ммоль/л	2,36 [1,85; 2,97]	2,89 [4,34; 3,62]	2,12 [1,79; 2,48]	2,54 [2,28; 3,21]	<0,001 Р _{оИБС – ИНОКА} <0,001 Р _{Контроль – оИБС} = 0,049
ХС ЛВП, ммоль/л	1,15 [1,02; 1,36]	1,27 [1,06; 1,37]	1,11 [1,02; 1,33]	1,62 [1,35; 1,9]	<0,001 Р _{Контроль – ИНОКА} = 0,015 Р _{Контроль – оИБС} <0,001

ИБС – ишемическая болезнь сердца; ИНОКА – ишемия и необструктивное поражение коронарных артерий; оИБС – ишемическая болезнь сердца с обструктивным поражением коронарных артерий; ИМТ – индекс массы тела; ХС ЛНП – холестерин липопротеинов низкой плотности; ХС ЛВП – холестерин липопротеинов высокой плотности.

Таблица 2. Концентрации биомаркеров по группам

Показатель	Группа	Ме	[Q1; Q3]	Р
ММП-1, нг/мл	ИНОКА	0,235	[0,230; 0,250]	0,021 Р _{оИБС – ИНОКА} = 0,016
	оИБС	0,200	[0,180; 0,240]	
	Контроль	0,230	[0,210; 0,230]	
ММП-9, нг/мл	ИНОКА	2,840	[1,728; 4,390]	<0,001 Р _{оИБС – ИНОКА} < 0,001 Р _{Контроль – ИНОКА} = 0,007
	оИБС	7,210	[4,830; 9,310]	
	Контроль	5,450	[4,020; 6,810]	
ММП-13, нг/мл	ИНОКА	101,550	[67,950; 254,400]	0,088
	оИБС	66,910	[36,410; 171,740]	
	Контроль	67,500	47,790; 111,300	
ММП-14, нг/мл	ИНОКА	0,960	0,782; 1,163	0,667
	оИБС	0,770	0,710; 1,270	
	Контроль	1,001	0,750; 1,310	
VEGF, пг/мл	ИНОКА	37,17	30,55; 41,83	<0,001 Р _{оИБС – ИНОКА} < 0,001 Р _{Контроль – оИБС} = 0,003
	оИБС	10,75	7,43; 22,53	
	Контроль	35,03	10,50; 41,62	

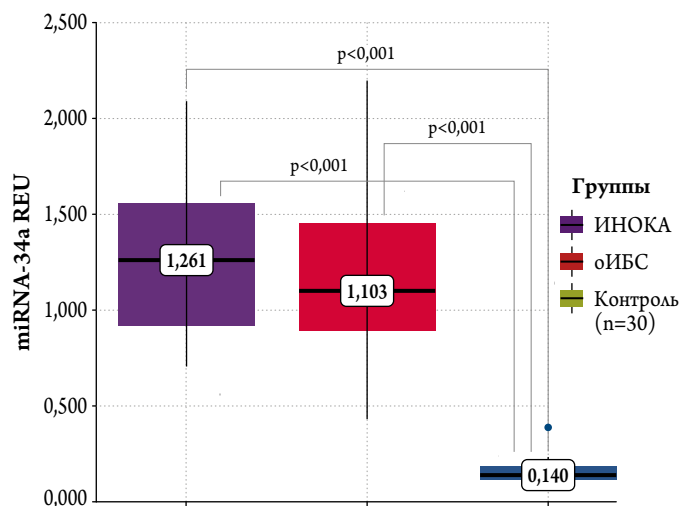
ММП – матриксная металлопротеиназа; ИНОКА – ишемия и необструктивное поражение коронарных артерий; оИБС – ишемическая болезнь сердца с обструктивным поражением коронарных артерий; VEGF – сосудистый эндотелиальный фактор роста.

нг/мл определением количественных показателей, отличным от нормального, сравнивали с помощью критерия У Манна–Уитни, три и более группы – с помощью теста Краскела–Уоллиса; апостериорные сравнения выполнены с помощью критерия Данна, с поправкой Бонферрони. Направление и теснота корреляционной связи между двумя количественными показателями оценивались с помощью коэффициента ранговой корреляции Спирмена (при распределении показателей, отличным от нормального). Для оценки диагностической значимости количественных признаков при прогнозировании определенного исхода применяли метод анализа ROC-кривых. Разделяющее значение количественного признака в точке отсечения (cut-off) определяли по наивысшему значению индекса Юдена. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты

Общая клинико-демографическая характеристика участников исследования представлена в табл. 1. Исследуемые группы были сопоставимы по основным клиническим и демографическим показателям (возраст, индекс массы тела). В группе больных с ишемией и необструктивным поражением КА (ИНОКА) преобладали женщины в соотношении 3:1. Все пациенты принимали рекомендованную терапию в соответствии

Рисунок 1. Уровни экспрессии miRNA-34a REU в исследуемых группах



ИНОКА – ишемия и необструктивное поражение коронарных артерий; oIBС – ишемическая болезнь сердца с обструктивным поражением коронарных артерий.

с национальными и международными клиническими рекомендациями.

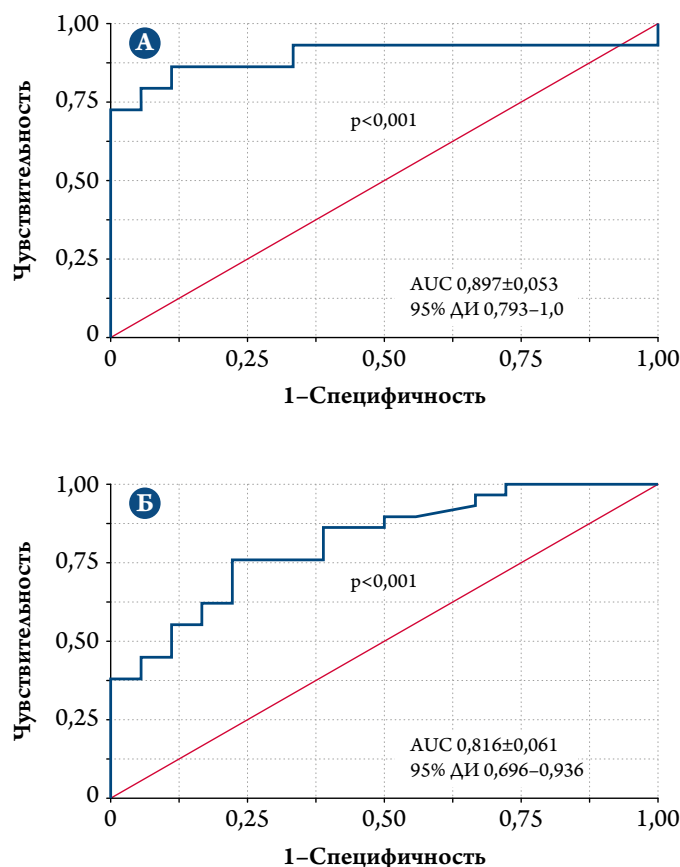
Различия уровней общего холестерина (ХС) и ХС липопротеидов низкой плотности (ЛНП) между группами, вероятнее всего, обусловлены тем, что у больных ИБС на фоне терапии более высокими дозами статинов достигнуты лучшие результаты по снижению уровня общего ХС и ХС ЛНП. При анализе суточной дозы статинов выявлены статистически значимые различия ($p=0,02$) между группами в зависимости от типа поражения КА. Принимаемая медикаментозная терапия не различалась между группами.

По данным проведенного обследования, уровень ММП-1 был статистически значимо выше у больных с ИНОКА ($p=0,016$), тогда как уровень ММП-9 был максимальным в группе с обструктивным поражением КА ($p<0,001$). Уровни ММП-13 и ММП-14 между группами достоверно не различались (табл. 2). Наиболее высокие концентрации VEGF наблюдались в группе ИНОКА ($p<0,001$).

При сравнении экспрессии miRNA-34a зафиксировано достоверное различие между группами больных с разными формами ИБС и контролем (рис. 1).

По данным корреляционного анализа, у больных с гемодинамически значимыми стенозами обращали внимание умеренные взаимосвязи между уровнями ММП-14 и VEGF ($\rho=0,418$; $p=0,024$), а также – VEGF и miRNA-34a ($\rho=0,425$; $p=0,022$). У больных с ИНОКА выявлены заметные отрицательные корреляции между ММП-13 и VEGF ($\rho=-0,659$; $p=0,003$). Корреляционный анализ показателей у всех больных ИБС продемонстрировал

Рисунок 2. ROC-кривые, характеризующие зависимость вероятности типа поражения КА от уровня VEGF (А) и ММП-9 (Б)



А – пороговое значение уровня VEGF в точке отсечения (cut-off), которому соответствовало наивысшее значение индекса Юдена, составило 27,23 пг/мл. ИБС с гемодинамически значимыми стенозами прогнозировалась при VEGF ниже данной величины, чувствительность и специфичность модели составили 86,2 и 88,9% соответственно;

Б – пороговое значение уровня ММП-9 в точке отсечения (cut-off), которому соответствовало наивысшее значение индекса Юдена, составило 4,83 нг/мл, обструктивная ИБС прогнозировалась при уровне ММП-9 выше данной величины или равном ей, чувствительность и специфичность модели составили 75,9 и 77,8% соответственно. КА – коронарные артерии; ММП – матриксные металлопротеиназы; VEGF – сосудистый эндотелиальный фактор роста (vascular endothelial growth factor).

наличие умеренной взаимосвязи между концентрациями ММП-1 и ММП-14 с VEGF ($\rho=0,449$; $p=0,002$ и $\rho=0,341$; $p=0,019$ соответственно).

Для оценки диагностической значимости концентрации VEGF и ММП-9 были построены ROC-кривые (рис. 2).

Обсуждение

По данным проведенного исследования, можно констатировать наличие достоверной разницы уровней ММП в изучаемых группах, причем у больных с ИНОКА была статистически значимо выше уровень ММП-1, а у больных с обструктивным поражением КА – уровень ММП-9.

Повышение уровня ММП-1 было выявлено у больных ИБС в ряде исследований, однако в некоторых работах таких результатов получено не было [9–11]. Необходимо подчеркнуть, что самые высокие уровни ММП-1 наблюдались у пациентов с нестабильной стенокардией [8]. М. Lehrke и соавт. [12] установили, что уровни ММП-1 коррелировали с наличием нестабильных АСБ, которые преимущественно выявляются у пациентов с ОКС и нестабильной стенокардией [13–15]. Кроме того, аналогичные ассоциации обнаружены у больных с кальцинированными и в меньшей степени со смешанными АСБ в КА. Вероятно, отсутствием в нашем исследовании больных с ОКС и нестабильной стенокардией можно объяснить полученные результаты. Важно отметить, что статины оказывают плеiotропные эффекты *in vivo*, в том числе влияют на механизмы передачи сигналов, что приводит к ингибированию активности ММП [16].

Уровень ММП-9 является сильным независимым предиктором повреждения АСБ у пациентов со стабильной ИБС, при этом уровень ММП-9 положительно коррелировал с размером некротического ядра АСБ в КА и был связан с неблагоприятными сердечно-сосудистыми исходами, в том числе с будущей сердечно-сосудистой смертностью [5, 17–19].

В нашей работе наименьшие концентрации VEGF зарегистрированы у больных с обструктивной ИБС. По имеющимся данным, роль VEGF в патогенезе ИБС противоречива. С одной стороны, он индуцирует ангиогенез, а с другой – участвует в процессе атерогенеза [20]. По данным С.В. Eaton и соавт. [21], имелась взаимосвязь между более высокими уровнями VEGF и летальностью пациентов с ИБС ($p=0,0004$). В работе А. Bonanni и соавт. [22], выполненной с участием небольшого числа пациентов, более низкая экспрессия VEGF отмечалась в группе ИНОКА в отличие от группы с наличием гемодинамически значимых стенозов КА. Противоположные результаты получены в исследовании S. R. Mirhafez и соавт. [23], в которое вошли 426 пациентов (с ИНОКА – 93, с обструктивной ИБС – 196, больные с коронарным шунтированием в анамнезе – 48, группа контроля – 89). Оказалось, что по мере нарастания степени выраженности атеросклероза концентрация VEGF снижалась, и это согласуется с полученными нами данными.

В нашей работе экспрессия miRNA-34a была достоверно выше у больных с различными формами ИБС по сравнению с контрольной группой ($p<0,001$). Аналогичные результаты получены Т. Tabuchi и соавт. и Н. Han и соавт. [24, 25]. Уровень miRNA-34a повышается с возрастом, вызывая старение VSMC посредством модуляции его мишени Sirtuin-1 (SIRT1), и способствует прогрессированию кальциноза сосудов [26, 27]. По данным мета-анализа, выполненного J. S. Kim и соавт. [28], уста-

новлено, что высокие уровни miRNA-34a ассоциированы с развитием нежелательных сердечно-сосудистых исходов. Таким образом, можно констатировать важную роль экспрессии данной miRNA в процессе атерогенеза.

У больных ИНОКА выявлены заметные отрицательные корреляции между концентрациями ММП-13 и VEGF. По данным большинства авторов, VEGF индуцирует экспрессию ММП-1, ММП-3 и ММП-13 [29]. В эксперименте на животной модели установлено, что уровень экспрессии ММП-13 различается в сосудах артериального (аорта, сонная и бедренная артерии) и венозного типа, следовательно, сложно установить потенциальную прогностическую ценность ее уровней в крови [30, 31]. В связи с тем, что выявленная нами взаимосвязь не может быть однозначно интерпретирована, требуется дальнейшее изучение данного вопроса.

По данным корреляционного анализа, у больных с гемодинамически значимыми стенозами обращала внимание умеренная взаимосвязь между концентрациями ММП-14 и VEGF. Аналогичная корреляция обнаружена и в общей группе больных ИБС (ИНОКА и обструктивное поражение КА). В настоящее время во многих исследованиях доказана проатерогенная роль ММП-14. Известно, что VEGF, индуцируя процессы ангиогенеза в АСБ, играет решающую роль в развитии ее нестабильности [32]. В группе больных с обструкцией КА выявлена взаимосвязь между уровнем VEGF и экспрессией miRNA-34a. Эта miRNA имеет важное значение в патогенезе ССЗ, влияя на многие важные биологические и клеточные функции, такие как дифференцировка, пролиферация и апоптоз клеток сердечно-сосудистой системы [33]. Однако основным ограничением применения miRNA в качестве диагностических или прогностических маркеров при ИБС является влияние возрастных факторов на их экспрессию, что требует дальнейшего изучения [34].

Корреляционный анализ показателей у всех больных ИБС (с ИНОКА и обструктивным поражением КА) продемонстрировал наличие умеренной взаимосвязи между концентрациями ММП-1 и VEGF. В эксперименте на животных показано наличие аналогичной корреляции в АСБ стенки аорты [35]. Экспрессия ММП-1 усиливается при воспалительных и аутоиммунных заболеваниях под действием провоспалительных цитокинов. У больных ИБС экспрессия ММП-1 и ММП-9 коррелировала с тяжелым стенозом передней нисходящей артерии [36].

На основании результатов ROC-анализа мы пришли к выводу, что ММП-9 и VEGF служат предикторами обструктивного поражения КА. Схожие результаты получены С. Caselli и соавт. [37] в проспективном наблюдении больных с обструктивной формой ИБС: уровень ММП-9 служил предиктором прогрессирова-

ния стенозирующего атеросклероза КА. Таким образом, можно констатировать, что ММП не только способствуют прогрессированию атеросклеротического поражения КА, но и приводят к дестабилизации АСБ, ее разрыву и развитию неблагоприятных сердечно-сосудистых исходов.

S.R. Mirhafez и соавт. [23] обнаружили, что низкая концентрация VEGF в сыворотке (точка отсечения 37,18 пг/мл) с чувствительностью 92,1%, специфичностью 99,2% и прогностической ценностью положительного результата теста 100%, была ассоциирована с тяжестью течения ИБС у больных с гемодинамически значимыми стенозами. Следовательно, этот показатель может быть рекомендован в качестве диагностического маркера степени стенозирования КА [23].

Заключение

У больных ишемической болезнью сердца с обструктивным поражением коронарных артерий преобладала активация матриксной металлопротеиназы-9, тогда как в группе с необструктивным поражением коронарных артерий была выше активность матриксной металлопротеиназы-1. Необходимо отметить, что уровень матриксной металлопротеиназы-9 более 4,83 нг/мл может служить предиктором наличия у больных ишемической болезнью сердца гемодинамически значимой обструкции коронарных артерий (чувствительность 75,9%, специфичность 77,8%).

Максимальный уровень VEGF (сосудистый эндотелиальный фактор роста) отмечен у больных с необструктивным поражением коронарных артерий, причем, по данным ROC-анализа, при значении выше 27,23 пг/мл мож-

но предположить отсутствие гемодинамически значимых стенозов коронарных артерий (чувствительность 86,2%, специфичность 88,9%).

Экспрессия miRNA-34a статистически значимо выше у больных с необструктивным поражением коронарных артерий и с обструкцией коронарных артерий по сравнению с таковой в контрольной группе, что свидетельствует о ее вкладе в развитие и прогрессирование атеросклероза коронарного русла. В перспективе возможно использование этой miRNA в качестве диагностического маркера ишемической болезни сердца.

Целесообразным представляется дальнейшее исследование у больных ишемической болезнью сердца с различными вариантами поражения коронарных артерий роли матриксных металлопротеиназ, VEGF (сосудистый эндотелиальный фактор роста) и их эпигенетической регуляции для скрининга групп высокого риска и уточнения их значения в качестве прогностических маркеров.

Финансирование

Исследование выполнено при финансовой поддержке Российского научного фонда (РНФ) в рамках гранта «Роль активации сигнального каскада WNT, процессов его эпигенетической регуляции и иммуноопосредованного воспаления в прогрессировании атеросклероза и возможности влияния на него методом терапевтического неонангиогенеза у пациентов со стабильной ишемической болезнью сердца» № 22-15-00424.

Конфликт интересов не заявлен.

Статья поступила 07.12.2023

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Tsao CW, Aday AW, Almarazooq ZI, Anderson CAM, Arora P, Avery CL et al. Heart Disease and Stroke Statistics—2023 Update: A Report From the American Heart Association. *Circulation*. 2023;147(8):e93–621. DOI: 10.1161/CIR.0000000000001123
2. Mangge H, Almer G. Immune-Mediated Inflammation in Vulnerable Atherosclerotic Plaques. *Molecules*. 2019;24(17):3072. DOI: 10.3390/molecules24173072
3. Myasoedova VA, Chistiakov DA, Grechko AV, Orekhov AN. Matrix metalloproteinases in pro-atherosclerotic arterial remodeling. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*. 2018;123:159–67. DOI: 10.1016/j.yjmcc.2018.08.026
4. Nam S, Yu G, Kim H, Park K, Chung J, Ha E et al. A polymorphism at –1607 2G in the matrix metalloproteinase-1 (MMP-1) increased risk of sudden deafness in Korean population but not at –519A/G in MMP-1. *The Laryngoscope*. 2011;121(1):171–5. DOI: 10.1002/lary.21334
5. Olejars W, Lacheta D, Kubiak-Tomaszewska G. Matrix Metalloproteinases as Biomarkers of Atherosclerotic Plaque Instability. *International Journal of Molecular Sciences*. 2020;21(11):3946. DOI: 10.3390/ijms21113946
6. Kowara M, Cudnoch-Jedrzejewska A, Opolski G, Wlodarski P. Micro RNA regulation of extracellular matrix components in the process of atherosclerotic plaque destabilization. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*. 2017;44(7):711–8. DOI: 10.1111/1440-1681.12772
7. Barbarash O.L., Karpov Yu.A., Kashtalap V.V., Boshchenko A.A., Ruda M.Ya., Akchurin R.S. et al. 2020 Clinical practice guidelines for Stable coronary artery disease. *Russian Journal of Cardiology*. 2020;25(11):201–50. [Russian: Барбараш О.Л., Карпов Ю.А., Каштап В.В., Бощенко А.А., Руда М.Я., Акчурин Р.С. и др. Стабильная ишемическая болезнь сердца. Клинические рекомендации 2020. *Российский кардиологический журнал*. 2020;25(11):201–50]. DOI: 10.15829/1560-4071-2020-4076
8. Wu Y-W, Kao H-L, Chen M-F, Lee B-C, Tseng W-YI, Jeng J-S et al. Characterization of plaques using 18F-FDG PET/CT in patients with carotid atherosclerosis and correlation with matrix metalloproteinase-1. *Journal of Nuclear Medicine*. 2007;48(2):227–33. PMID: 17268019
9. Hwang J-J, Yang W-S, Chiang F-T, Chen M-F, Lin H-J, Huang P-J et al. Association of circulating matrix metalloproteinase-1, but not adiponectin, with advanced coronary artery disease. *Atherosclerosis*. 2009;204(1):293–7. DOI: 10.1016/j.atherosclerosis.2008.08.019
10. Kato R, Momiyama Y, Ohmori R, Taniguchi H, Nakamura H, Ohsuzu F. Plasma Matrix Metalloproteinase-8 Concentrations are Associated With the Presence and Severity of Coronary Artery Disease. *Circulation Journal*. 2005;69(9):1035–40. DOI: 10.1253/circj.69.1035

11. Inoue T, Kato T, Takayanagi K, Uchida T, Yaguchi I, Kamishirado H et al. Circulating matrix metalloproteinase-1 and -3 in patients with an acute coronary syndrome. *The American Journal of Cardiology*. 2003;92(12):1461–4. DOI: 10.1016/j.amjcard.2003.08.061
12. Lehrke M, Greif M, Broedl UC, Leberer C, Laubender RP, Becker A et al. MMP-1 serum levels predict coronary atherosclerosis in humans. *Cardiovascular Diabetology*. 2009;8(1):50. DOI: 10.1186/1475-2840-8-50
13. Leber AW, Knez A, White CW, Becker A, Von Ziegler F, Muehling O et al. Composition of coronary atherosclerotic plaques in patients with acute myocardial infarction and stable angina pectoris determined by contrast-enhanced multislice computed tomography. *The American Journal of Cardiology*. 2003;91(6):714–8. DOI: 10.1016/S0002-9149(02)03411-2
14. Feuchtner G, Postel T, Weidinger F, Frick M, Alber H, Dichtl W et al. Is There a Relation between Non-Calcifying Coronary Plaques and Acute Coronary Syndromes? A Retrospective Study Using Multislice Computed Tomography. *Cardiology*. 2008;110(4):241–8. DOI: 10.1159/000112407
15. Henneman MM, Schuijff JD, Pundziute G, Van Werkhoven JM, Van Der Wall EE, Jukema JW et al. Noninvasive Evaluation With Multislice Computed Tomography in Suspected Acute Coronary Syndrome: Plaque Morphology on Multislice Computed Tomography Versus Coronary Calcium Score. *Journal of the American College of Cardiology*. 2008;52(3):216–22. DOI: 10.1016/j.jacc.2008.04.012
16. Qiang B, Toma J, Fujii H, Oshero AB, Nili N, Sparkes JD et al. Statin therapy prevents expansive remodeling in venous bypass grafts. *Atherosclerosis*. 2012;223(1):106–13. DOI: 10.1016/j.atherosclerosis.2012.03.013
17. Ezhov M, Safarova M, Afanasieva O, Mitroshkin M, Matchin Y, Pokrovsky S. Matrix Metalloproteinase 9 as a Predictor of Coronary Atherosclerotic Plaque Instability in Stable Coronary Heart Disease Patients with Elevated Lipoprotein(a) Levels. *Biomolecules*. 2019;9(4):129. DOI: 10.3390/biom9040129
18. Lahdentausta L, Leskelä J, Winkelmann A, Tervahartiala T, Sorsa T, Pesonen E et al. Serum MMP-9 Diagnostics, Prognostics, and Activation in Acute Coronary Syndrome and Its Recurrence. *Journal of Cardiovascular Translational Research*. 2018;11(3):210–20. DOI: 10.1007/s12265-018-9789-x
19. Koenig W, Khuseynova N. Biomarkers of Atherosclerotic Plaque Instability and Rupture. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*. 2007;27(1):15–26. DOI: 10.1161/01.ATV.0000251503.35795.4f
20. Mattson M, Wan R. Beneficial effects of intermittent fasting and caloric restriction on the cardiovascular and cerebrovascular systems. *The Journal of Nutritional Biochemistry*. 2005;16(3):129–37. DOI: 10.1016/j.jnutbio.2004.12.007
21. Eaton CB, Gramling R, Parker DR, Roberts MB, Lu B, Ridker PM. Prospective association of vascular endothelial growth factor-A (VEGF-A) with coronary heart disease mortality in Southeastern New England. *Atherosclerosis*. 2008;200(1):221–7. DOI: 10.1016/j.atherosclerosis.2007.12.027
22. Bonanni A, d'Aiello A, Pedicino D, Di Sario M, Vinci R, Ponzo M et al. Molecular Hallmarks of Ischemia with Non-Obstructive Coronary Arteries: The “INOCA versus Obstructive CCS” Challenge. *Journal of Clinical Medicine*. 2022;11(6):1711. DOI: 10.3390/jcm11061711
23. Mirhafez SR, Zarifian A, Ebrahimi M, Ali RFA, Avan A, Tajfard M et al. Relationship between serum cytokine and growth factor concentrations and coronary artery disease. *Clinical Biochemistry*. 2015;48(9):575–80. DOI: 10.1016/j.clinbiochem.2015.02.002
24. Tabuchi T, Satoh M, Itoh T, Nakamura M. MicroRNA-34a regulates the longevity-associated protein SIRT1 in coronary artery disease: effect of statins on SIRT1 and microRNA-34a expression. *Clinical Science*. 2012;123(3):161–71. DOI: 10.1042/CS20110563
25. Han H, Qu G, Han C, Wang Y, Sun T, Li F et al. MiR-34a, miR-21 and miR-23a as potential biomarkers for coronary artery disease: a pilot microarray study and confirmation in a 32 patient cohort. *Experimental & Molecular Medicine*. 2015;47(2):e138. DOI: 10.1038/emmm.2014.81
26. Badi I, Mancinelli L, Polizzotto A, Ferri D, Zeni F, Burba I et al. miR-34a Promotes Vascular Smooth Muscle Cell Calcification by Downregulating SIRT1 (Sirtuin 1) and Axl (AXL Receptor Tyrosine Kinase). *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*. 2018;38(9):2079–90. DOI: 10.1161/ATVBAHA.118.311298
27. Zuccolo E, Badi I, Scavellio F, Gambuzza I, Mancinelli L, Macri F et al. The microRNA-34a-Induced Senescence-Associated Secretory Phenotype (SASP) Favors Vascular Smooth Muscle Cells Calcification. *International Journal of Molecular Sciences*. 2020;21(12):4454. DOI: 10.3390/ijms21124454
28. Kim JS, Pak K, Goh TS, Jeong DC, Han M-E, Kim J et al. Prognostic Value of MicroRNAs in Coronary Artery Diseases: A Meta-Analysis. *Yonsei Medical Journal*. 2018;59(4):495. DOI: 10.3349/yymj.2018.59.4.495
29. Pufe T, Harde V, Petersen W, Goldring MB, Tillmann B, Mentlein R. Vascular endothelial growth factor (VEGF) induces matrix metalloproteinase expression in immortalized chondrocytes. *The Journal of Pathology*. 2004;202(3):367–74. DOI: 10.1002/path.1527
30. Vaškú A, Meluzín J, Blahák J, Kincl V, Pávková Goldbergová M, Sitar J et al. Matrix Metalloproteinase 13 Genotype in rs640198 Polymorphism Is Associated with Severe Coronary Artery Disease. *Disease Markers*. 2012;33(1):43–9. DOI: 10.1155/2012/795739
31. Basu P, Sen U, Tyagi N, Tyagi SC. Blood flow interplays with elastin: collagen and MMP: TIMP ratios to maintain healthy vascular structure and function. *Vascular Health and Risk Management*. 2010;6:215–28. DOI: 10.2147/VHRM.S9472
32. Holm PW, Slart RHJA, Zeebregts CJ, Hillebrands JL, Tio RA. Atherosclerotic plaque development and instability: A dual role for VEGF. *Annals of Medicine*. 2009;41(4):257–64. DOI: 10.1080/07853890802516507
33. Alieva A.M., Reznik E.V., Teplova N.V., Melikulov A.A., Akhmedova M.F., Kotikova I.A. et al. MicroRNA-34a in cardiovascular disease: a glimpse into the future. *Russian Cardiology Bulletin*. 2023;18(1):14–22. [Russian: Алиева А.М., Резник Е.В., Теплова Н.В., Меликулов А.А., Ахмедова М.Ф., Котикова И.А. и др. МикроРНК-34a при сердечно-сосудистых заболеваниях: взгляд в будущее. *Кардиологический вестник*. 2023;18(1):14–22]. DOI: 10.17116/Cardiobulletin2023180114
34. Ghafouri-Fard S, Abak A, Talebi SF, Shoorei H, Branicki W, Taheri M et al. Role of miRNA and lncRNAs in organ fibrosis and aging. *Bio-medicine & Pharmacotherapy*. 2021;143:112132. DOI: 10.1016/j.biopha.2021.112132
35. Liu XQ, Mao Y, Wang B, Lu XT, Bai WW, Sun YY et al. Specific Matrix Metalloproteinases Play Different Roles in Intraplaque Angiogenesis and Plaque Instability in Rabbits. *PLoS ONE*. 2014;9(9):e107851. DOI: 10.1371/journal.pone.0107851
36. Tanindi A. Relationship Between MMP-1, MMP-9, TIMP-1, IL-6 and Risk Factors, Clinical Presentation, Extent and Severity of Atherosclerotic Coronary Artery Disease. *The Open Cardiovascular Medicine Journal*. 2011;5(1):110–6. DOI: 10.2174/1874192401105010110
37. Caselli C, Di Giorgi N, Ragusa R, Lorenzoni V, Smit J, El Mahdoui M et al. Association of MMP9 with adverse features of plaque progression and residual inflammatory risk in patients with chronic coronary syndrome (CCS). *Vascular Pharmacology*. 2022;146:107098. DOI: 10.1016/j.vph.2022.107098