

УДК 616.12-009.72-092:615.33.03:616-002:546.172.6-03.

Влияние симвастатина на сывороточный уровень оксида азота, фактора некроза опухолей- α и матриксной металлопротеиназы-9 у больных с нестабильной стенокардией

Д.Н. Калашник, В.И. Волков

ГУ «Институт терапии им. Л.Т.Малой АМН Украины», Харьков

Ключевые слова: нестабильная стенокардия, матриксная металлопротеиназа-9, фактор некроза опухолей – α , оксид азота, симвастатин.

В настоящее время в многоцентровых исследованиях доказана целесообразность применения статинов при острых коронарных синдромах (ОКС). Имеются доказательства того, что эффекты ингибиторов ГМК-КоА-редуктазы зависят не только от их гиполипидемического действия, но и от противовоспалительной активности за счет препятствования миграции и активации макрофагов, уменьшения продукции провоспалительных цитокинов (интерлейкин- 1β , фактор некроза опухолей- α , интерферон- γ) и матриксных металлопротеиназ (ММП) [7].

Существуют экспериментальные данные о повышении ММП-9 у пациентов с ОКС [10] и доказано, что регуляция экспрессии металлопротеиназ опосредована рядом цитокинов, в частности фактором некроза опухолей – α (ФНО- α) [9], а также липопротеидами низкой плотности

(ЛПНП)[16] и оксидом азота (NO) [8].

Однако клинических работ о взаимосвязи провоспалительных цитокинов с уровнем ММП и их связи с NO в системном кровотоке больных с нестабильной стенокардией не много. Недостаточно изучено влияние терапии статинами на уровень данных показателей.

Цель исследования

изучить влияние симвастатина на сывороточные уровни ФНО- α , матриксной металлопротеиназы-9, NO $_2$ и NO $_2$ + NO $_3$ у больных с нестабильной (прогрессирующей) стенокардией.

Материал и методы исследования

Обследовано 84 больных с верифицированной ИБС. Нестабильная (прогрессирующая) стенокар-

дия (НС) диагностирована у 47 пациентов. Стабильная стенокардия III функционального класса (СС) выявлена у 37 пациентов. Контрольную группу (К) составили 10 практически здоровых лиц. Пациенты с нестабильной стенокардией были разделены на две группы: I (32 пациента) - получала стандартную терапию (аспирин, бета-блокаторы, ингибиторы АПФ, низкомолекулярные гепарины), II группа больных (15 пациентов) дополнительно к стандартной терапии получала симвастатин (Вазилип) в дозе 20 мг в течение месяца. В исследование не включали больных с сердечной недостаточностью (III-IV функциональный класс по классификации NYHA) и систолической дисфункцией левого желудочка, тяжелыми нарушениями ритма, острыми и хроническими воспалительными заболеваниями.

ММП-9 в сыворотке определяли иммуноферментным методом с

Табл.1

Липидный спектр крови у больных с нестабильной стенокардией (M+m)

Показатели	Контроль (n=10)	До лечения (n=47)	Базисная терапия, 1 месяц (n=32)	Базисная терапия +симвастатин 20 мг, 1 месяц (n=15)
ОХС (ммоль/л)	3,97±0,09	6,13±0,22*	6,14±0,29*	5,21±0,31*#Δ
ЛПВП (ммоль/л)	1,27±0,04	1,05±0,04*	1,05±0,09*	1,02±0,05*
ТГ (ммоль/л)	0,73±0,06	2,33±0,44*	1,88±0,26*	1,84±0,29*
ЛПНП (ммоль/л)	2,44±0,13	4,02±0,15*	4,24±0,27*	3,34±0,25*#Δ

Примечание: * - p<0,05 по сравнению с контрольной группой;

- p<0,05 по сравнению с соответствующими показателями до лечения

Δ - p<0,05 по сравнению с базисной терапией

использованием тест-системы «Quantikine™; R&D Systems» (Великобритания). ФНО-α исследовали с помощью стандартной иммуноферментной тест-системы („Вектор-Бест” Россия). Содержание стабильного метаболита оксида азота - нитрита (NO₂) определяли фотометрическим методом по реакции Грисса, сумму метаболитов NO₂ + NO₃ - с использованием набора реактивов «Total nitric oxide» («R&D Systems», Великобритания) после восстановления нитрата до нитрита нитратредуктазой. Липидный спектр (ОХС, ТГ, ХС ЛПВП) в сыворотке крови определяли ферментативным методом. Уровень холестерина липопротеинов низкой плотности (ХСЛПНП) рассчитывали по формуле W.T. Friedewald: ХСЛПНП (ммоль/л)=(ОХС-ТГ/2,2-ХСЛПВП).

Все обследования проводили до лечения и через 1 месяц лечения. Статистический анализ осуществлялся с использованием компьютерной программы «Statistica 6,0».

Результаты и обсуждение

До лечения по основным показателям липидного спектра крови обе группы обследованных больных были сопоставимы. Уровень ОХС, ХС ЛПНП, ТГ у пациентов с нестабильной стенокардией был достоверно выше контроля (p<0,05) (табл. 1).

Через 4 недели лечения симвастатином отмечалось снижение ОХС, ХС ЛПНП по сравнению с контролем, соответствующими показателями до лечения и базис-

ной терапией (p<0,05). Влияния симвастатина на ЛПВП нами выявлено не было. Полученные результаты совпадают с исследованием James A. с соавторами [11]. Вместе с тем, в литературе существуют данные о повышении уровня ЛПВП при лечении симвастатином [4].

В группе больных с нестабильной стенокардией уровень ММП-9 был достоверно выше, чем в группе контроля (p<0,01) и группе больных стабильной стенокардией (p<0,05) (см.табл.1). Полученные нами данные об изменении содержания ММП-9 в системном кровотоке у больных с нестабильной стенокардией коррелируют с результатами некоторых исследований [10].

При определении ФНО-α в сыворотке крови выявлены такие изменения: достоверное повышение концентрации у больных СС по сравнению с контролем (p<0,05). Дестабилизация течения ИБС характеризовалась значительным (по сравнению с контролем и стабильной стенокардией- p<0,001) повышением ФНО-α (см. табл. 2).

В экспериментальных работах доказано, что провоспалительные цитокины, в частности ФНО-α принимает участие в дестабилизации бляшки и может играть триггерную роль в прогрессировании

атеросклероза за счет регуляции синтеза ММП-9 и других воспалительных реакций при ОКС [14]. Существенный прирост сывороточных концентраций ММП-9 и ФНО-α, а также их положительная корреляционная зависимость (r=0,37, p<0,05) дают основание считать, что данные показатели участвуют в процессах дестабилизации течения ИБС. По мнению некоторых авторов, ФНО-α можно рассматривать в качестве предиктора обострения ИБС [6]. Известно также, что ФНО-α индуцирует гипертриглицеридемию как в эксперименте на моделях с животными так и у людей [15]. В исследовании J.Musial с соавторами также выявлена положительная корреляционная связь между ФНО-α и ОХС [12]. Однако в нашем исследовании мы не обнаружили непосредственных корреляций между ФНО-α и липидными показателями.

Данные об уровнях NO₂ и NO₂ + NO₃ представлены в табл.2. Следует отметить, что у больных стабильной стенокардией уровни NO₂ и (NO₂ + NO₃) были достоверно ниже, чем в контрольной группе, что может свидетельствовать о снижении синтеза, дефиците NO у больных с ИБС. В то время, как у больных с НС отмечались более высокие значения NO₂ и (NO₂ +

Табл.2

Уровень ММП-9, ФНО-α и маркеры эндогенного синтеза оксида азота при стабильной и нестабильной стенокардии (M+m)

Группы обследованных	n	ММП-9, нг/мл	ФНО-α, пг/мл	NO ₂ + NO ₃ , мкмоль/л	NO ₂ , мкмоль/л
К	10	324,32±15,12	32,3±4,56	39,77±2,45	3,21±0,13
СС	37	350,2±16,22	39,2±0,84	32,31±2,58	2,61±0,23
НС	47	396,7±20,1	67,3±3,18	46,95±3,61	3,91±0,23
p _{к-сс}		p>0,05	p<0,05	p<0,05	p<0,05
p _{к-нс}		p<0,01	p<0,001	p<0,05	p<0,05
p _{сс-нс}		p<0,05	p<0,001	p<0,001	p<0,001

Влияние симвастатина на уровень ММП-9, ФНО-α и NO₂, NO₂ + NO₃ у больных с нестабильной стенокардией (M+t)

Показатели	Контроль (n=10)	До лечения (n=47)	Базисная терапия, 1 месяц (n=32)	Базисная терапия+ симвастатин 20 мг, 1 месяц (n=15)
ММП-9, нг/мл	324,32±15,12	396,7±20,1*	373,6±18,6*	351,6±18,8 [#]
ФНО-α, пг/мл	32,3±4,56	67,3±3,18 [†]	41,2±2,36 ^Δ	38,7±1,26* ^Δ
NO ₂ + NO ₃ , мкмоль/л	39,77±2,45	46,95±3,61*	40,21±4,69	39,42±5,18
NO ₂ , мкмоль/л	3,21±0,13	3,91±0,23*	3,58±0,56	3,61±0,23*

Примечание: * - p<0,05 по сравнению с контрольной группой

[†] - p<0,001 по сравнению с контрольной группой

[#] - p<0,05 по сравнению с соответствующими показателями до лечения

^Δ - p<0,001 по сравнению с соответствующими показателями до лечения

NO₃) по сравнению с контролем (p<0,05), выявлена положительная корреляционная связь между NO₂ и NO₂ + NO₃ (r=0,41, p=0,01). Эти изменения при ИС вероятно связаны с усиленной экспрессией индуцибельной NOS (iNOS) и возрастанием суммарной продукции NO, сочетающейся с угнетением eNOS и уменьшением образования ею NO. Известно, что в условиях ишемии параллельно возрастанию экспрессии iNOS происходит повышение уровня нитрита-NO₂. Установлено, что эти изменения возникают при действии провоспалительных цитокинов, в частности ФНО-α, который способен индуцировать экспрессию iNOS с образованием значительных количеств NO и пероксинитрита (ПОН), одним из важнейших эффектов которого является мощная активация ММП [2]. В тоже время, существуют противоположные данные, так у больных с острым инфарктом миокарда в мононуклеарах крови iNOS на 1, 2, 7, 14 и 21-й дни болезни обнаружено не было [5].

Сведения о взаимосвязях уровня NO₂ + NO₃ с показателями липидного спектра весьма противоречивы, по одним данным концентрация NO₂ + NO₃ снижена и существует отрицательная корреляция с уровнем ОХС, ХС ЛПНП, по другим - повышение уровня NO₂ + NO₃ у больных с гиперхолестеринемией, что может быть связано с ингибирующим действием NO при окислении ЛПНП [1]. В нашем исследовании выявлена отрицательная корреляционная

связь между NO₂ + NO₃ и ТГ (r=-0,66, p=0,006).

На фоне терапии симвастатином выявлены такие закономерности: через 4 недели лечения сывороточный уровень ММП-9 снизился в обеих группах пациентов (I и II) (p<0,05) (см.табл.3). Однако снижение уровня ММП-9 во II группе было значимо больше - показатель снизился на 12% по сравнению с исходным значением (p<0,05). Снижение уровня ММП-9 у больных получающих стандартную терапию, скорее всего, связано с терапией аспирином и ингибиторами АПФ (ИАПФ). Согласно литературным данным аспирин и ИАПФ могут оказывать моделирующее влияние на металлопротеиназы и способствовать уменьшению продукции ММП-9. В экспериментальных работах на кроликах было продемонстрировано, что терапия статинами способствовала увеличению внутритканевого коллагена и подавляла рост макрофагов, экспрессирующих матриксные металлопротеиназы и способствовала стабильности атеросклеротической бляшки. В значительной степени эффективность статинов при ОКС объясняется именно их способностью подавлять воспаление и выработку металлопротеиназ, разрушающих фиброзную капсулу бляшки [7].

Результаты исследования влияния симвастатина на маркеры эндогенного синтеза оксида азота представлены в табл. 3.

Следует отметить, что во II группе уровень NO₂ + NO₃ снизил-

ся до 39,42±5,18 мкмоль/л. Полученные результаты совпадают с данными Балахоновой Т.В. и соавт. и V.Lubrano и соавторами, которые выявили снижение NO₂ + NO₃ в результате лечения статинами [1]. Предполагаемый механизм этого снижения продемонстрирован в экспериментальном исследовании на изолированном сердце в условиях 15 мин ишемии и 3 ч реперфузии. Применение симвастатина способствовало сохранению экспрессии мРНК eNOS и предупреждению возрастания экспрессии мРНК и белка iNOS и приводило к уменьшению продукции нитритов/нитратов [13]. Существуют также данные о том, что статины улучшают функциональное состояние эндотелия за счет увеличения продукции оксида азота (NO) в результате повышения активности эндотелиальной NO-синтазы (eNOS) и повышения биодоступности NO благодаря ограничению окислительного стресса и угнетению воспалительных реакций [3].

В динамике лечения симвастатином уровень ФНО-α снизился с 67,3 ± 3,18 пг/мл до 38,7 ± 1,26 пг/мл (p<0,001) (табл. 3). Известно, что статины снижают активность макрофагов и ослабляют продукцию клетками эндотелия молекул адгезии и хемокинов. В результате этого уменьшается рекрутирование в стенку сосудов моноцитов и продукция ими провоспалительных цитокинов, в частности ФНО-α, угнетается миграция и пролиферация гладкомышечных клеток, продукция

ММП и повышается стабильность атеросклеротической бляшки [2].

Выводы

Согласно полученным данным активация ФНО – α , матричных металлопротеиназ, является одним из основных механизмов патогенеза развития ОКС. А снижение этих показателей под влиянием симвастатина свидетельствует о том, что статины должны рассматриваться как патогенетический компонент лечения ОКС.

Литература

1. Балахонова Т.В., Погорелова О.А., Сусеков А.В. и др. Влияние аторвастатина на функциональное состояние эндотелия у больных с наследственной гиперхолестеринемией // Кардиология.- 2002.- № 1.- С.20.
2. Братусь В.В., Шумаков В.А., Талаева Т.В. Атеросклероз, ишемическая болезнь сердца, острый коронарный синдром: патогенез, диагностика, клиника, лечение.- К.: Четверта хвиля.- 2004.- 576 с.
3. Волков В.И., Яковлева Л.Н., Бондарь Т.Н. Симвастатин: антиишемический и эндотелиопротекторный эффекты // Укр.кардіологічний журнал.- 2005.- № 6.- С. 32-35.
4. Дзяк Г.В., Коваль Е.А., Коркушко О.В. и соавт. Эффективность и безопасность применения симвастатина у больных с гиперхолестеринемией: результаты многоцентрового клинического исследования // Укр.кардіол.журн.-2004.- № 4.- С. 19-22.
5. Драпкина О.М., Пивакин В.Т. Оксид азота и сердечная недостаточность // Терапевтический архив.- 2005.- Том 77.- С. 67.
6. Серик С.А. Фактор некроза опухоли- α , интерлейкин- 1β и показатели липидного обмена: взаимосвязи при ишемической болезни сердца // Сборник научных трудов «Достижения и перспективы развития терапии в канун XXI века».-2000.- С.366-370.
7. Aikawa M, Rabkin E, Sugiyama S. et al. An HMG-CoA reductase inhibitor, cerivastatin, suppresses growth of macrophages expressing matrix metalloproteinases and tissue factor in vivo and in vitro // Circulation.- 2001.- Vol. 103.- P. 276–283.
8. Galis ZS, Sukhova GK, Lark MW, Libby P. Increased expression of matrix metalloproteinases and matrix degrading activity in vulnerable regions human atherosclerotic plaques // J Clin Invest.- 1994.- Vol. 94.- P. 2493–2503.
9. Holvoet S, Vincent C, Schmitt D et al. The inhibition of MAPK pathway is correlated with down-regulation of MMP-9 secretion induced by TNF- α in human keratinocytes // Exp Cell Res.- 2003.- Vol. 290. P. 108-119.
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. Feb 141, № 2. – P. 211-217.
11. James A., de Lemos A. et al. Early intensive a delayed conservative simvastatin strategy in patients with acute coronary syndromes // JAMA.-2002.- Vol.292.-P.231.
12. Musial J, Undas A. et al. Anti-inflammatory effect of simvastatin in subject with hypercholesterolemia // J.Cardiology.- 2001.- Vol.77.-P. 247-253.
13. Napoli P.D, Taccardi A.A., Grilli A. et al. Simvastatin reduces reperfusion injury by modulating nitric oxide synthase expression: an ex vivo study in isolated working rat heart // Cardiovasc.Res.-2001.- Vol.51, № 2.- P. 283-293.
14. Saren P, Welgus HG, Kovanen PT. TNF- α and IL-1 α selectively induce expression of 92-kDa gelatinase by human macrophages // J Immunol.- 1996.- Vol. 157.- P.4159–4165.
15. Warne JP. Tumour necrosis factor alpha: a key regulator of adipose tissue mass // J Endocrinol.- 2003.-Vol. 177.- P. 351–355.
16. Xu XP, Meisel SR, Ong JM, Kaul S, Cercek B, Rajavashisth TB, Sharifi B, Shah PK. Oxidized low-density lipoprotein regulates matrix metalloproteinase-9 and its tissue inhibitor in human monocyte-derived macrophages // Circulation.- 1999.-Vol. 99.- P. 993–998.

Вплив симвастатину на сироватковий рівень оксиду азоту, фактору некрозу пухлини- α , матриксни металлопротеїназу-9 у хворих на нестабільну стенокардію

Д.М.Калашник, В.І.Волков

Досліджено сироватковий рівень фактору некрозу пухлини- α (ФНП- α), $\text{NO}_2 + \text{NO}_3$ матриксної металлопротеїнази-9 (ММП-9) у хворих з нестабільною стенокардією. Контрольну групу становили 10 практично здорових осіб. Встановлено підвищення рівня $\text{NO}_2 + \text{NO}_3$, ММП-9 та ФНП- α у хворих з нестабільною стенокардією. Призначення симвастатину 20 мг призводить до зменшення рівня $\text{NO}_2 + \text{NO}_3$, ФНП- α та ММП-9 у даної категорії хворих.

Influence of simvastatin in serum levels of nitric oxide, tumor necrosis factor- α , matrix metalloproteinase-9 in patients with unstable angina

D.N.Kalashnik, V.I. Volkov

Tumor necrosis factor- α (TNF- α), $\text{NO}_2 + \text{NO}_3$, matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) levels were investigated in patients with unstable angina. The control group included 10 healthy volunteers. In patients with unstable angina serum levels $\text{NO}_2 + \text{NO}_3$, TNF- α , MMP-9 was elevated. A treatment with simvastatin (20 mg daily) to reduce of levels $\text{NO}_2 + \text{NO}_3$, TNF- α , MMP-9 at the given category of patients.