

УДК 616.12-005.4-056.52-002-074

С.А. ЛАЗАРЕВА, к. мед. н.; О.И. ШУШЛЯПИН, к. мед. н.; Н.В. ШУМОВА, к. мед. н., доцент;  
М.И. КОЖИН, к. мед. н.; Е.Ю. БОРЗОВА, к. мед. н.; П.И. РЫНЧАК, к. мед. н.; А.Ю. ТИТОВА, к. мед. н.  
/Харьковский национальный медицинский университет/

## Активность химазы у больных ишемической болезнью сердца, осложненной сердечной недостаточностью

### Резюме

В данной работе показано, что химаза активно участвует в патогенезе различных сердечно-сосудистых патологий, таких как гипертрофия сердечной мышцы с ее фиброзом и сердечной недостаточностью на фоне развития атеросклероза и рестеноза. По мере нарастания степени сердечной недостаточности у больных ИБС происходит срыв компенсаторных механизмов адаптации за счет снижения активности химазы в плазме крови до нулевых значений, что обусловлено расходом фермента на процессы интерстициального фиброза.

Полученные факты исследований подтверждают роль химазы в рестенозе, атеросклерозе, инфаркте миокарда и аневризме брюшной аорты. Дальнейшие исследования специфических пероральных активных химазных ингибиторов в клинике должны обосновывать создание новой стратегии для предупреждения и лечения целого комплекса патологий сердечно-сосудистых заболеваний, в частности, ишемической болезни сердца, осложненной сердечной недостаточностью.

**Ключевые слова:** химаза, патогенез сердечно-сосудистых патологий, ишемическая болезнь сердца, сердечная недостаточность

К ведущим патофизиологическим компонентам ремоделирования миокарда левого желудочка при сердечной недостаточности (СН) относят гибель части кардиомиоцитов, реализующуюся как их некроз и апоптоз, а также ремоделирование кардиомиоцитов и их «скольжение» относительно друг друга и фиброз миокарда. Следствием некроза кардиомиоцитов являются индуцируемые гуморальными факторами изменения функции фибробластов с гиперпродукцией коллагеновых волокон и развитием фиброза [1].

Развитию процессов апоптоза в миокарде при СН способствуют изменения экспрессии генов кардиомиоцитов p53, Bcl-2, а также повышение уровня фактора некроза опухоли TNF- $\alpha$  и полагают, что дальнейшее изучение проблемы апоптоза может в перспективе послужить основой для формирования нового стратегического подхода к лечению СН. В развитии некроза кардиомиоцитов важная роль отводится таким нейрогуморальным механизмам, как чрезмерная бета-адренергическая стимуляция, а также избыточная продукция ангиотензина II (А II) [2].

В дополнение к его хорошо известному вазоконстрикторному и почечному действию, А II также промотирует ремоделирование миокарда и эндотелия сосудов. Сердечное ремоделирование включает клеточную пролиферацию, гипертрофию, клеточную миграцию и образование внеклеточного матрикса, и все может быть усилено действием А II [3].

Последние исследования на животных моделях, показавшие, что А II повышает экспрессию сосудистого эндотелиального фактора роста (VEGF) в сосудистой ткани, указывают на то, что А II-VEGF путь может играть важную роль в сосудистой пролиферации [4].

Одним из важных вопросов, рассматривающих роль А II в патофизиологии сердечной недостаточности (СН), является

следующий: вносят ли вклад в локальное образование А II в миокарде другие ферменты в дополнение к ангиотензинпревращающему ферменту (АПФ). Как предполагают, А II-образующий фермент в сердечной мышце человека –  $\alpha$ -химаза, химотрипсин-подобная сериновая протеаза, которая синтезируется и депонируется в тучных клетках и не подвергается воздействию ингибиторов АПФ, может играть потенциальную роль в развитии СН [5].

По утверждению некоторых авторов, химаза является большим А II-образующим ферментом в миокарде, принимающим участие в образовании 80% сердечного А II [6].

Таким образом, при повышении активности химазы в миокарде можно ожидать повышение уровня А II в сердечной мышце, что обуславливает сердечное ремоделирование.

Химаза участвует в различных биологических процессах. Исследования показали, что химаза помимо того, что способствует превращению ангиотензина I (А I) в А II, может также генерировать интерлейкин-1-бета (IL-1 $\beta$ ) из предшественника, продуцировать активную форму фактора роста стволовых клеток (stem cell factor – SCF), активировать матриксные металлопротеиназы (MMP-1, MMP-3), превращать проколлаген I типа в коллаген и освобождать фактор роста- $\beta$  (TGF- $\beta$ ) из внеклеточного матрикса. Кроме того, было показано, что химаза превращает эндотелин в активную его форму [7].

Роль химазы в патогенезе сердечно-сосудистой патологии не ограничивается способностью продуцировать А II. Как известно, химаза также активирует TGF- $\beta$ , IL-1 $\beta$ , SCF и MMPs, а также регулирует биосинтез коллагена. TGF- $\beta$  принимает участие в различных аспектах воспалительного процесса, включая хемотаксис воспалительных клеток и промотирование фиброза. Химаза человеческого организма может освобождать TGF- $\beta$  из внеклеточного матрикса или из культуры эпителиальных и эндотелиальных кле-

ток, что подтверждает тот факт, что химаза может способствовать развитию фиброза миокарда указанным путем [8].

Участие химазы в расщеплении проколлагена I типа до фибрилл коллагена указывает на ее способность промотировать миокардиальный фиброз путем прямой регуляции биосинтеза коллагена [9].

Химаза известна также как активатор интерстициальной коллагеназы (MMP-1), которая вызывает деградацию внеклеточного матрикса [10].

Кроме того, человеческая химаза может генерировать IL-1 $\beta$ , провоспалительный цитокин, что подтверждает роль химазы в модуляции воспалительной реакции [11].

Более того, химаза может продуцировать растворимую активную форму SCF, которая, как известно, стимулирует хемотаксис и пролиферацию и дифференциацию тучных клеток, повышая, таким образом, действие этих клеток [12].

Недавние исследования с использованием специфических ингибиторов химазы также продемонстрировали ключевую роль химазы в патогенезе СН. У собак с индуцированной тахикардией СН, постоянное лечение химазным ингибитором SUNC 8257 вызвало значительное снижение плотности тучных клеток и уровня A II в миокарде, уменьшение сердечного фиброза и улучшение диастолической функции левого желудочка [13].

На модели острого инфаркта миокарда у хомяков некоторые химазные ингибиторы, такие как TEI-E48, BCEAB, TY51184 и NK3201 значительно уменьшали гипертрофию левого желудочка, приводили к нормализации конечно-диастолического давления в левом желудочке и сократительной функции миокарда, снижению частоты случаев желудочковых аритмий и повышению выживаемости животных [14].

Вместе взятые эти данные подтверждают, что повреждение и гемодинамический стресс может вызывать инфильтрацию или пролиферацию тучных клеток в миокарде, и, что химаза, которая освобождается из тучных клеток, может способствовать развитию фиброза и гипертрофии, внося вклад в патогенез СН, в частности, обусловленной ИБС [15].

Учитывая вышеприведенные предпосылки, нами была поставлена цель изучить активность химазы и ее природного ингибитора, а также других показателей протеолитической активности у больных ИБС, осложненной СН.

## Материалы и методы исследования

Обследовано 47 больных с ИБС III–IV функциональных классов (ФК). Диагноз ИБС устанавливали, согласно критериям ВОЗ. Возраст больных составил от 43 до 83 лет, средний возраст (59 $\pm$ 13) лет. Длительность заболевания ИБС – от 3 до 25 лет. Средняя длительность составила (14 $\pm$ 3) года. У 22 больных в анамнезе был отмечен перенесенный инфаркт миокарда, у 4-х из них – с образованием хронической аневризмы сердца. У половины больных была гипертоническая болезнь II–III ст.

В сыворотке крови определяли следующие показатели протеолитической системы: общую протеолитическую активность сыворотки крови,  $\alpha$ -1-ингибитор протеиназы, активность химазы и других ферментов АПФ-независимых путей образования A II, таких как тонин. Активность химазы, тонина исследовали с использованием ферментативных методов (Патенты Украины № 3231А, № 37647А).

## Результаты и их обсуждение

Установлено, что общая активность трипсиноподобных протеиназ (таких как трипсин, плазмин, тонин) была несколько снижена и составила 0,0042 $\pm$ 0,001 г/лхч (против 0,015 $\pm$ 0,004 г/лхч в норме), активность нетрипсиноподобных протеиназ (таких как химаза, химотрипсин, калликреин III, тромбин) составила 0,015 $\pm$ 0,002 г/лхч (против 0,14 $\pm$ 0,002 г/лхч в норме). С этим явлением коррелировала двукратно повышенная активность химазы, которая составила 2,64 $\pm$ 0,31% (против 1,13 $\pm$ 0,52% в норме) при тяжелой ИБС III ФК. Активность химазы изменяется неоднозначно: чаще ее изменения носят реципрокный характер. При низкой активности ингибитора активность химазы колеблется в пределах нормальных значений. При исходно высокой активности ингибитора активность химазы низкая, и в 30% наблюдений она имеет нулевое значение. У некоторых больных, в частности, с нестабильной стенокардией активность химазы достигала 8-кратного повышения. При этом тяжелое течение болезни с наличием сопутствующего сахарного диабета сопровождалось в ряде случаев 5-кратным повышением активности химазы. У некоторых больных со значительным ремоделированием сердца, наличием хронической аневризмы сердца активность химазы снижалась до нулевого значения.

Что касается выраженности коронарной недостаточности на фоне длительного течения заболевания у больных пожилого и старческого возраста, соответствующей IV ФК стабильной ИБС, активность фермента, как правило, равнялась нулю. Последнее обстоятельство косвенно свидетельствует о дефиците потребления фермента вследствие значительного его расходования, вызванного длительным течением основного патологического процесса – атеросклероза.

Наряду с этим повышена активность  $\alpha$ -1-ИП до 7,931 $\pm$ 0,013 г/лхч (в контроле: 7,473 $\pm$ 0,055 г/лхч), тонина – до 0,0009 $\pm$ 0,0001 Е (в контроле: 0,0005 $\pm$ 0,0001 Е).

У больных с наличием сопутствующей гипертонической болезни сохраняется та же закономерность в отношении общей протеолитической активности, активности нетрипсиноподобных протеиназ и  $\alpha$ -1-ИП. Однако, в этой группе повышение активности тонина более выражено и составляет 0,000966 $\pm$ 0,0002 Е (p=0,05). У больных без сопутствующей гипертонической болезни активность тонина не отличается от нормы и составляет 0,0006 $\pm$ 0,0002 Е. У больных с ИБС III ФК отмечается та же динамика показателей, но активность тонина более выражена и составляет 0,0012 $\pm$ 0,0002 Е.

У больных с постинфарктным кардиосклерозом на фоне сохраняющейся закономерности в отношении протеиназ и ингибитора протеиназ, активность тонина не отличается от нормы, активность  $\alpha$ -2-МГ снижена до 1,036 $\pm$ 0,0001 мг/лхч.

Анализ показателей протеолиза в зависимости от наличия СН также выявил на фоне снижения общей протеолитической активности и повышения активности ингибитора протеиназ тенденцию к повышению активности тонина при II А стадии до 0,0089 $\pm$ 0,0002 Е и достоверное повышение при II Б стадии до 0,001 $\pm$ 0,0003 Е. Изменения  $\alpha$ -2-ИП носят реципрокный характер: при II А стадии его активность снижена до 1,03 $\pm$ 0,16 мг/л ч, а при II Б стадии имеется тенденция к снижению.

Снижению активности химазы в плазме крови сопутствует тенденция к повышению активности ее ингибитора. По-видимому, имеют место и другие механизмы снижения ее концентрации в плазме крови. Наиболее вероятной является версия выхода химазы в интерстиций миокарда.

Параллельно снижению активности химазы идет процесс резкого повышения активности танина (другого ангиотензинообразующего фермента).

Активность протеиназ отмечается при всех стадиях СН. Активность химазы, принадлежащей к нетрипсиноподобным протеиназам (НТПП), незначительно повышена при II А ст. и снижается при II Б ст. до 0,007 г/лхч (против 0,014 в норме). При НК III ст. она практически не отличается от нормы в исходных значениях и повышается до 0,024 г/лхч в динамике лечения. Что касается активности  $\alpha$ -2-МГ, то его активность значительно подавлена при СН II А ст: 0,11±0,02 г/лхч в начале лечения и 0,093±0,05 г/лхч в конце лечения (против 1,58±0,29 г/лхч в норме).

Снижение активности протеиназ, НТПП в совокупности с аналогичными изменениями уровня  $\alpha$ -2-микроглобулина ( $\alpha$ -2-МГ) обусловлен, скорее всего, выведением протеиназ из организма в комплексе с  $\alpha$ -2-МГ, который является общей стресс-реакцией в ответ на влияние факторов повышения уровня окислительных процессов.

Следует отметить, что снижение активности протеиназ отмечено на фоне повышения уровня  $\alpha$ -1-ИП у всех обследованных больных (по сравнению с контролем), что указывает на уменьшение реакций ограниченного протеолиза, снижение образования активных форм ферментов и гормонов. Указанный эффект является возрастной характеристикой, признаком старения организма и обусловлен возможным отличием групп исследуемых больных (46,0–71,4 года) и больных контрольной группы по возрасту (34,8±1,9 года).

Снижение активности НТПП может быть обусловлено расходом химазы на А II-образование, которое подтверждается повышением активности НТПП на фоне прогрессирования гипертонической болезни. Следует заметить, что указанная активация НТПП коррелирует с возрастанием уровня  $\alpha$ -2-МГ, что может быть обусловлено проявлением ингибиторного защитного эффекта  $\alpha$ -2-МГ, который является более существенным ингибитором химазы, по сравнению с  $\alpha$ -1-ИП.

Возрастание активности танина во всех группах больных на фоне снижения уровня НТПП (химазы) может свидетельствовать об активации образования вазоконстрикторного пептида А II при условиях истощения химазы с привлечением в качестве субстрата не только А I, но и ангиотензиногена. Более существенный характер возрастания активности танина на фоне гипертонической болезни II ст. подтверждает вышесказанное предположение.

Наличие стабильной стенокардии III ФК у больных с ИБС характеризуется повышением активности НТПП, что может быть обусловлено участием химазы наравне с танином в формировании патогенеза ИБС.

В целом общий характер участия протеиназ и их ингибиторов, отдельных ферментов образования А II в патогенезе таких сердечно-сосудистых заболеваний как ИБС, свидетельствует об универсальности механизмов системы протеиназа-ингибитор в формировании патогенеза и гипертонической болезни.

Таким образом, по мере нарастания степени СН и срыва компенсаторных механизмов адаптации отмечается снижение активности химазы в плазме крови до нулевого значения, что может быть обусловлено расходом фермента на процессы интерстициального фиброза. Этому сопутствует умеренное повышение активности ее ингибитора и значительное повышение активности танина, по-видимому, берущего на себя процессы А II-образования.

Химаза участвует в патогенезе различных сердечно-сосудистых заболеваний, таких как гипертрофия сердечной

мышцы, ее фиброз и СН, атеросклероз и рестеноз. Сюда можно отнести и экспериментальные модели на животных, моделирующие сердечную патологию. В частности, это модель перегрузки сердца объемом у собак, модель перегрузки давлением у хомяков и модель кардиомиопатии у хомяков, при которых имела место положительная корреляция между плотностью тучных клеток, химазной активностью и наличием сердечной гипертрофии и фиброза.

В соответствии с потенциальной ролью химазы в тканевом ремоделировании, химазный ингибитор (ВСЕАВ) уменьшал фиброз миокарда у хомяков с кардиомиопатией. Аналогично ему, другие химазные ингибиторы (NK3201) в значительной степени уменьшали вызванную эластазой аневризму брюшной аорты у хомяков и предупреждали интимальную гиперплазию, вызванную балонным катетером в сонных артериях собак.

Приведенные факты поддерживают роль химазы при такой патологии, как рестеноз, атеросклероз, инфаркт миокарда и аневризма брюшной аорты. Дальнейшие исследования сильных, специфических пероральных активных химазных ингибиторов в клинике должны обосновать создание новой стратегии для предупреждения и лечения этих сердечно-сосудистых заболеваний.

## Выводы

Таким образом, как в общей группе обследованных больных, так и в подгруппах, наблюдали следующую динамику показателей:

1. Отмечалось снижение общей протеолитической активности, на фоне которой установлено повышение активности ингибитора протеиназ.
2. Повышение активности танина определяется, в основном, как наличием сопутствующей гипертонической болезни, так и СН, что указывает на повышение синтеза А II альтернативным путем.
4. Изменения  $\alpha$ -2-ИП отражает реципрокную тенденцию по отношению к активности танина.
5. Активность химазы повышена при СН II А ст., что составило 7,0±0,03 г/лхч (в норме 1,13±0,52). В динамике лечения отмечено снижение ее активности до нормы.
6. При СН II Б активность химазы в большинстве случаев равна нулю и лишь в единичных случаях (у 2 больных) ее активность составила 10,71 г/лхч до лечения и 9,23 г/лхч – после лечения.
7. При тяжелой степени застойной СН со срывом интракардиальных компенсаторных механизмов активность химазы у всех больных равна нулю, и в динамике лечения она не изменяется. Это явление может быть связано с активацией природных ингибиторов химазы.
8. Активность  $\alpha$ -1-ИП повышается при СН II А ст. в динамике лечения (от 7,65 г/лхч до 7,86 г/лхч).
9. При СН II Б ст. наблюдается более выраженное повышение  $\alpha$ -1-ИП в динамике лечения (до 9,44 г/лхч).
10. При СН III ст. активность  $\alpha$ -1-ИП в динамике лечения практически не изменяется (7,9 г/лхч).

## Список использованной литературы

1. Akusu M., Urata H., Kinoshita A. Differences in tissue angiotensin II-forming pathways by species and organs in vitro // Hypertension. – 1998, 32: 514–520.
2. Balcells E., Meng Q.S., Jonsson WH Jr. Angiotensin II formation from ACE and chimase in human and animal hearts: methods and species consideration // Am. J. Physiol. – 1996; 271; H 417–H 423.

- Balcells E., Meng Q.S., Johnson W. H. Jr. Angiotensin II formation from ACE and chymase in human and animal heart : methods and species consideration // *Am. J. Physiol.* – 1997; H 1769–H1774.
- Cohn J.N. Overview of treatment of heart failure // *Am. J. Cardiol.* – 1997; 80: 21–61.
- Colucci W.S. W.S. Molecular mechanisms of myocardial failure // *Am. J. Cardiol.* – 1997; 80: 15L–25L.
- Frangogiannis N.G., Perrard J.L., Mendoza L.N. Stem cell factor induction is associated with mast cells accumulation after canine myocardial ischemia and reperfusion // *Circulation.* – 1998; 98: 687–698.
- Hara M., Ono K., Hwang M.W. Evidence for a role of mast cells in the evolution to congestive heart failure // *J. Exp. Med.* – 2002; 195: 375–381.
- Kokonen J.O., Saarinen J., Kovanen P.T. Regulation of local angiotensin II formation in the human heart in presence of interstitial fluid: inhibition of chymase by protease inhibitors of the interstitial fluid and of angiotensin-converting enzyme by Ang-(1–9) formed by heart carboxypeptidase A-like activity // *Circulation.* – 1997; 95: 1455–1463.
- Kokonen J.O., Ken A. Linstedt, Petri T, Kovanen P.T. Role for chymase in heart failure // *Circulation.* – 2003; 107: 2522–2524.
- Linstedt K.A., Wang Y., Shiota N. Activation of paracrine TGF-beta 1 signaling upon stimulation and degranulation of rat serosal mast cells: a novel function for chymase // *FASEB J.* – 2001; 15: 1377–1388.
- Matsumoto T., Wada A., Tsutamoto T. Chymase inhibition prevents cardiac fibrosis and improves diastolic dysfunction in the progression of heart failure // *Circulation.* – 2003; 107: 2555–2558.
- Su X., Wei C. C., Machida N. Differential expression of angiotensin converting enzyme and chymase in dogs with chronic mitral regurgitation // *J. Mol. Cell Cardiol.* – 1999; 31: 1033–1045.
- Sukenaga Y., Kamoshita K., Takai S. Development of the chymase inhibitor as an anti-tissue-remodeling drug: myocardial infarction and some other possibilities // *Japan J. Pharmacol.* – 2002; 90: 218–222.
- Urata H., Boehm K.D., Philips A. Cellular localization and regional distribution of an angiotensin-II forming chymase in the heart // *J. Clin. Invest.* – 1993; 91: 1269–1281.
- Wey C. C., Meng Q. C., Palmer R. Evidence for angiotensin-converting enzyme and chymase-mediated angiotensin II formation in the interstitial fluid space of the dog heart *in vivo* // *Circulation.* – 1999; 99: 2583–2589.

## Резюме

### Активність хімази у хворих на ішемічну хворобу серця, що ускладнена серцевою недостатністю

С.О. Лазарева, О.І. Шушляпін, Н.В. Шумова, М.І. Кожин, О.Ю. Борзова, П.І. Ринчак, А.Ю. Тітова

У даній роботі показано, що хімаза бере активну участь в патогенезі різних серцево-судинних патологій, таких як гіпертрофія серцевого м'яза з її фіброзом і серцевою недостатністю на тлі розвитку атеросклерозу і рестенозу. По наростанню ступеня серцевої недостатності у хворих ІХС відбувається зрив компенсаторних механізмів адаптації за рахунок зниження активності хімази в плазмі крові до нульових значень, що обумовлено витрощанням ферменту на процеси інтерстиціального фіброзу.

Отримані факти досліджень підтверджують роль хімази в ре стенозі, атеросклерозі, інфаркті міокарду і аневризмі черевної аорти. Подальші дослідження специфічних пероральних активних хімазних інгібіторів в клініці повинні обґрунтувати створення нової стратегії для попередження і лікування цілого комплексу патологій серцево-судинних захворювань, зокрема, ішемічної хвороби серця, ускладненою серцевою недостатністю.

**Ключові слова:** хімаза, патогенез серцево-судинних патологій, ішемічна хвороба серця, серцева недостатність

## Summary

### Chymase Activity in Patients with Coronary Heart Disease Complicated by Heart Failure

S.A. Lazareva, O.I. Shushlyapin, N.V. Shumova, M.I. Kozhyn, E.Yu. Borzova, P.I. Rynchak, A.Yu. Titova

It is noted in this work, that himasa actively participates in pathogeny of different cardiac-vevles pathologies, such as a hypertrophy of cardiac muscle with its fibrosis and cardiac insufficiency on a background development of atherosclerosis and restenosis. As far as growth of degree of cardiac insufficiency at patients of IHD there is blowing off the scray mechanisms of adaptation of abacus decline of activity of himasa in plasma of blood to zero values, that is conditioned the expense of enzyme on the processes of interstitialness fibrosis.

The got facts of researches confirm role of himasa in restenosis, atherosclerosis, heart attack of myocardium and aneurysm to the abdominal aorta. Further researches of specific peroral active himasa inhibitors in a clinic must ground creation of new strategy for warning and treatment of whole complex of pathologies of cardiac-vevles diseases, in particular, to ischemic heart trouble, by the complicated cardiac insufficiency.

**Key words:** himasa, pathogenesis of cardiac-vevles pathologies, ischemic heart trouble, cardiac insufficiency