

СОСТОЯНИЕ ВНЕКЛЕТОЧНОГО МАТРИКСА ПРИ HCV-АССОЦИИРОВАННОМ ФИБРОЗЕ ПЕЧЕНИ

Горелова И.С., Скляр Л.Ф., Маркелова Е.В., Симакова А.И., Зенин И.В.

ФГБОУ ВО «Тихоокеанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Владивосток, Россия

Резюме. Известно, что дисбаланс системы «протеолиз–антипротеолиз» является одним из ключевых звеньев иммунофиброгенеза печени при хроническом гепатите С (ХГС). С целью изучения данной проблемы был исследован сывороточный и локальный профиль регуляторов ремоделирования ткани печени при HCV-ассоциированном фиброзе печени по уровню матриксной металлопротеиназы-9 (ММП-9), тканевого ингибитора матриксной металлопротеиназы-1 (ТИМР-1), комплексов ММП-9/ТИМР-1 и ММП-9/ТИМР-2. Проведено комплексное клинико-лабораторное и инструментальное обследование 81 пациента с ХГС, которые не получали противовирусную терапию (ПВТ), и 22 практически здоровых добровольцев. Изучены показатели белков внеклеточного матрикса (ВКМ) в 103 образцах сыворотки крови и 32 супернатантах гепатобиоптатов методом твердофазного иммуноферментного анализа (ИФА). Отмечено статистически значимое повышение содержания ММП-9 ($p < 0,05$) и ее комплексов с ТИМР-1 ($p < 0,05$) и ТИМР-2 ($p < 0,01$) в сочетании с низким показателем ингибитора первого типа ($p < 0,05$) в сыворотке крови HCV-инфицированных пациентов относительно контрольной группы. Анализ содержания белков, отражающих состояние межклеточного матрикса, в супернатантах гепатобиоптатов у пациентов ХГС выявил восьмикратное увеличение уровня комплекса ММП-9/ТИМР-1 в сравнении с группой контроля ($p < 0,05$), при этом значения других представителей семейства протеолиз/антипротеолиз оказались низкими ($p < 0,05$). Обнаружен дисбаланс содержания протеиназ в сыворотке крови и супернатантах гепатобиоптатов, который имел различную направленность изменений, а именно – сывороточные значения ММП-9, ТИМР-1 и ММП-9/ТИМР-2 по мере трансформации фиброза печени в цирроз (от F0 ст. к F4 ст.) снижались ($p < 0,05$), но при этом концентрация указанных протеолитических ферментов в органе-мишени повышалась ($p < 0,05$). Обобщая вышесказанное, можно заключить, что полученные нами данные в результате исследования свидетельствуют о том, что нарушение равновесия системы «протеолиз/антипротеолиз» приводит к дисрегуляции ремоделирования ткани печени при ХГС.

Ключевые слова: матриксная металлопротеиназа, тканевой ингибитор матриксной металлопротеиназы, хронический гепатит С, фиброз печени

EXTRACELLULAR MATRIX CONDITION IN CASE OF HCV-ASSOCIATED LIVER FIBROSIS

Gorelova I.S., Sklyar L.F., Markelova E.V., Simakova A.I., Zenin I.V.

Pacific State Medical University, Vladivostok, Russian Federation

Abstract. Imbalance of the proteolysis/antiproteolysis system is known to be among key components of immunofibrogenesis of liver in cases of chronic hepatitis C. To evaluate these aspects, we studied several factors

Адрес для переписки:

*Горелова Ирина Сергеевна
ФГБОУ ВО «Тихоокеанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ
690089, Россия, г. Владивосток, ул. Тухачевского, 56-50.
Тел.: 8 (908) 446-04-53.
E-mail: Gorelova_ira@mail.ru*

Address for correspondence:

*Gorelova Irina S.
Pacific State Medical University
690089, Russian Federation, Vladivostok,
Tukhachevsky str., 56-50.
Phone: 7 (908) 446-04-53.
E-mail: Gorelova_ira@mail.ru*

Образец цитирования:

И.С. Горелова, Л.Ф. Скляр, Е.В. Маркелова, А.И. Симакова, И.В. Зенин «Состояние внеклеточного матрикса при HCV-ассоциированном фиброзе печени» // Медицинская иммунология, 2017. Т. 19, № 1. С. 35-44. doi: 10.15789/1563-0625-2017-1-35-44

© Горелова И.С. и соавт., 2017

For citation:

I.S. Gorelova, L.F. Sklyar, E.V. Markelova, A.I. Simakova, I.V. Zenin "Extracellular matrix condition in case of HCV-associated liver fibrosis", Medical Immunology (Russia)/ Meditsinskaya Immunologiya, 2017, Vol. 19, no. 1, pp. 35-44. doi: 10.15789/1563-0625-2017-1-35-44

DOI: <http://dx.doi.org/10.15789/1563-0625-2017-1-35-44>

of liver tissue remodeling in blood serum and local samples from HCV patients associated with liver fibrosis. We determined the levels of matrix metalloproteinase-9 (MMP-9), tissue inhibitor of matrix metalloproteinase-1 (TIMP-1), MMP-9/TIMP-1 and MMP-9/TIMP-2 complexes. Clinical, laboratory and instrumental examinations have been made for 81 patients with chronic hepatitis C who did not receive antiviral therapy, and 22 healthy volunteers. Extracellular matrix protein (ECM) profile was studied in 103 serum blood samples and 32 liver supernates using ELISA technique. Statistically significant increase of MMP-9 contents ($p < 0.05$) and its complexes with TIMP-1 ($p < 0.05$) and TIMP-2 ($p < 0.01$), as well as low levels of type 1 inhibitor ($p < 0.05$) were revealed in blood serum of HCV-infected patients, as compared with control group. Protein assays in liver supernates of hepatitis C patients reflecting extracellular matrix state revealed an eight-fold increase in MMP-9/TIMP-1 complex, as compared with control group ($p < 0.05$). The values of other proteolytic/antiproteolytic factors proved to be low ($p < 0.05$). An imbalance in protease contents in blood serum and liver biopsies was revealed, showing differently directed changes. I.e., serum values of MMP-9, TIMP-1 and MMP-9/TIMP-2 during transition of liver fibrosis to cirrhosis (F0 to F4) became decreased ($p < 0.05$), associated with increased liver concentrations of these proteolytic enzymes ($p < 0.05$). In summary, we conclude that the data obtained in our study suggest an imbalance of proteolysis/antiproteolysis system leads to a dysregulated liver tissue remodeling in patients with chronic hepatitis C.

Keywords: matrix metalloproteinase, tissue inhibitor of matrix metalloproteinase, chronic hepatitis C, liver fibrosis

Введение

Современные данные отечественной и зарубежной литературы свидетельствуют, что фиброгенез в печени — это универсальный патофизиологический процесс, характеризующийся нарушением равновесия между продукцией и деградацией компонентов экстрацеллюлярного матрикса [1, 18, 22]. Данный дисбаланс способствует чрезмерному синтезу внеклеточных протеинов, их накоплению и отложению в печени, а, следовательно, перестройке архитектоники органа-мишени с формированием в конечном итоге цирроза печени [12, 14, 15].

Огромную роль в иммунопатогенезе фиброза печени играет дисбаланс в системе матриксных металлопротеиназ (ММП) и тканевых ингибиторов матриксных металлопротеиназ (ТИМП) [1, 9, 18, 19]. Нарушение равновесия характеризуется снижением и/или увеличением активности ММП и/или ТИМП, что отражает структурные изменения печеночной ткани [11, 15, 17].

Вышеуказанное и определило наш интерес к изучению семейства протеиназ/антипротеиназ, некоторых его представителей, на системном уровне, в сыворотке крови, и на локальном, в супернатантах гепатобиоптатов, при HCV-инфекции во взаимосвязи с морфологическими параметрами.

Целью данной работы явилось изучение сывороточного и локального профиля регуляторов ремоделирования ткани печени при HCV-ассоциированном фиброзе печени по уровню ММП-9, ТИМП-1, комплексов ММП-9/ТИМП-1 и ММП-9/ТИМП-2.

Материалы и методы

Под наблюдением находился 81 пациент в возрасте от 23 до 60 лет (средний возраст $44,4 \pm 9,9$ лет) с диагнозом хронический гепатит С (ХГС). Преобладали женщины — 56 чел. (69,1%), мужчин было 25 чел. (30,9%). Противовирусную терапию пациенты не получали.

Диагноз ХГС устанавливали на основании совокупности клинико-анамнестических, эпидемиологических, лабораторных и инструментальных данных, включая пункционную биопсию печени (ПБП). Все пациенты с HCV-инфекцией по результатам эластографии печени и/или гистологического исследования гепатобиоптатов были распределены в зависимости от стадии фиброза печени на три группы: I-я — пациенты, у которых признаки фиброза отсутствуют (F0 ст.) — 24 чел. (29,6%), II-я — пациенты со слабо-выраженным и умеренным фиброзом (F1-2 ст.) — 26 чел. (32,1%), III-я — пациенты с выраженным фиброзом и циррозом печени (F3-4 ст.) — 31 чел. (38,3%).

Контрольную группу составили 22 клинически здоровых добровольца, сопоставимых по полу и возрасту с контингентом HCV-инфицированных пациентов.

Для достижения поставленной цели нами проведено комплексное клинико-лабораторное, инструментальное и иммунологическое исследование. В качестве биологических материалов для исследования использовались венозная кровь и биоптаты печени обследованных лиц. Всем обследованным лицам проводились ультразвуковое исследование органов брюшной полости и эла-

стометрия печени. Чрескожная ПБП иглой Менгини была выполнена по индивидуальному протоколу для каждого пациента после получения информированного согласия и при отсутствии всех существующих противопоказаний к проведению данной манипуляции. Анализ морфологических данных на биопсийном материале был проведен у 32 человек (31,1%).

Для иммунологических исследований содержания регуляторов фиброгенеза по уровню MMP-9, TIMP-1, комплекса MMP-9/TIMP-1 и MMP-9/TIMP-2 использовались сыворотка венозной крови и супернатанты гепатобиоптатов обследованных лиц. Определение уровня указанных параметров в биологических субстратах проводили с помощью специфических реактивов фирмы R&D Diagnostics Inc (США) методом сэндвич-варианта твердофазного иммуноферментного анализа (ИФА) в соответствии с инструкцией по применению. Содержание их выражали в нанogramмах и пикограммах на миллилитр (нг/мл и пг/мл соответственно).

Математическая обработка полученных результатов проведена с помощью пакета прикладных программ BIOSTATISTICA (S.A. Glantz, McGraw Hill), STATISTICA 6.0 (StatSoft, USA).

Результаты

Исследование отдельных представителей семейства внеклеточных протеиназ и их тканевых ингибиторов в сыворотке крови HCV-инфицированных пациентов обнаружило изменения изучаемых показателей относительно контрольной группы здоровых лиц (табл. 1). А именно, отмечено статистически значимое повышение концентрации MMP-9 ($p < 0,05$), а также ее комплексов с TIMP-1 ($p < 0,05$) и TIMP-2 ($p < 0,01$) в сочетании с низким уровнем ингибитора первого типа ($p < 0,05$).

Анализ содержания изучаемых белков внеклеточного матрикса (ВКМ) в органе-мишени при ХГС выявил статистически значимые отличия по сравнению с аналогичными показателями контрольной группы ($p < 0,05$). Данные из таблицы 2 свидетельствуют о снижении концентрации MMP-9 ($p < 0,05$), TIMP-1 ($p < 0,05$) и MMP-9/TIMP-2 ($p < 0,05$). Что касается комплекса MMP-9/TIMP-1, то наблюдается высокий уровень его в супернатантах гепатобиоптатов, который превышал аналогичный показатель у здоровых лиц более чем в 8 раз и составил $34,4 \pm 1,2$ нг/мл ($p < 0,05$).

ТАБЛИЦА 1. СЫВОРОТОЧНЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ СИСТЕМЫ ММР/ТИМР ПРИ ХГС, М±s

TABLE 1. SERUM INDICATORS OF THE SYSTEM OF MMP/TIMP IN CASE OF CHC, M±s

Показатели Indicators	Здоровые доноры (n = 22) Control group	Пациенты ХГС (n = 81) Patients with CHC
MMP-9, ng/ml	189,3±9,2	241,3±6,7*
TIMP-1, ng/ml	222,0±7,3	187,6±5,7*
MMP-9/TIMP-1, ng/ml	5,0±0,6	13,7±1,1*
MMP-9/TIMP-2, pg/ml	2,9±0,7	46,9±2,8**

Примечание. Статистическая значимость различий (p) с контрольной группой: * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$.

Note. Statistical significance of the differences (p) with the control group: * – $p < 0.05$; ** – $p < 0.01$.

ТАБЛИЦА 2. ПОКАЗАТЕЛИ СИСТЕМЫ ММР/ТИМР В СУПЕРНАТАНТАХ ГЕПАТОБИОПТАТОВ ПРИ ХГС, М±s

TABLE 2. INDICATORS OF THE SYSTEM OF MMP/TIMP IN LIVER SUPERNATANTS IN CASE OF CHC, M±s

Показатели Indicators	Здоровые доноры (n = 7) Control group	Пациенты ХГС (n = 25) Patients with CHC
MMP-9, ng/ml	516,0±21,6	158,5±13,6*
TIMP-1, pg/ml	60,0±18,0	10,0±2,0*
MMP-9/TIMP-1, ng/ml	4,1±1,1	34,4±1,2*
MMP-9/TIMP-2, pg/ml	57,8±1,2	51,0±1,2*

Примечание. Статистическая значимость различий (p) с контрольной группой: * – $p < 0,05$.

Note. Statistical significance of the differences (p) with the control group: * – $p < 0.05$.

ТАБЛИЦА 3. ПОКАЗАТЕЛИ СИСТЕМЫ MMP/TIMP В СЫВОРОТКЕ КРОВИ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ СТАДИИ ФИБРОЗА ПЕЧЕНИ ПРИ ХГС, M±s

TABLE 3. INDICATORS OF THE SYSTEM OF MMP/TIMP IN BLOOD SERUM DEPENDING ON THE STAGE OF LIVER FIBROSIS IN CASE OF CHC, M±s

Показатели Indicators	Здоровые доноры (n = 22) Control group	Пациенты ХГС (n = 81) Patients with CHC	Группы пациентов (n = 81) Groups of patients		
			F0 ст., n = 24 F0 st.	F1-2 ст., n = 26 F1-2 st.	F3-4 ст., n = 31 F3-4 st.
			1	2	3
MMP-9, ng/ml	189,3±9,2	241,3±6,7*	249,9±6,1* p ₁₋₂ < 0,05	269,0±7,4** p ₂₋₃ < 0,05	205,3±6,6* p ₁₋₃ < 0,05
TIMP-1, ng/ml	222,0±7,3	187,6±5,7*	194,8±4,9* p ₁₋₂ < 0,05	205,4±5,2* p ₂₋₃ < 0,05	162,7±6,9* p ₁₋₃ < 0,05
MMP-9/ TIMP-1, ng/ml	5,0±0,6	13,7±1,1*	7,1±0,8* p ₁₋₂ < 0,05	13,1±1,1* p ₂₋₃ < 0,05	21,0±1,3* p ₁₋₃ < 0,05
MMP-9/ TIMP-2, pg/ml	2,9±0,7	46,9±2,8*	65,0±3,5** p ₁₋₂ < 0,05	41,8±2,2* p ₂₋₃ p ₃ < 0,05	33,9±2,7* p ₁₋₃ < 0,05

Примечание. Статистическая значимость различий (p): с контрольной группой: * – p < 0,05; ** – p < 0,01; между группами p₁₋₂, p₁₋₃, p₂₋₃.

Note. Statistical significance of the differences (p): with the control group: * – p < 0.05, ** – p < 0.01; between groups p₁₋₂, p₁₋₃, p₂₋₃.

Результаты исследований сывороточного уровня белков, отражающих состояние межклеточного матрикса, у пациентов ХГС в зависимости от выраженности фиброзных изменений в печени приведены в таблице 3.

При анализе содержания MMP-9 в сыворотке крови с учетом стадии фиброза печени HCV-этиологии были выявлены статистически значимые различия (p < 0,05). При отсутствии морфологических изменений в органе-мишени среднее значение изучаемого протеолитического фермента составило 249,9±6,1 нг/мл, что статистически значимо отличалось от нормы (p < 0,05). По мере прогрессирования патологического процесса концентрация его повышалась, однако с формированием тяжелой стадии фиброза и цирроза печени уровень MMP-9 резко снижался, но все же превышал аналогичные показатели контрольной группы (p < 0,05). Оценивая корреляционные связи, нами определена обратная взаимосвязь средней силы между сывороточным содержанием исследуемого маркера и нарушением архитектоники органа-мишени (r_s = -0,45; p < 0,05).

Как видно из таблицы 3, концентрация тканевого ингибитора первого типа в сыворотке крови в зависимости от выраженности HCV-ассоциированных фиброзных изменений в печени была снижена по сравнению с контролем (p < 0,05) и наименьшая регистрировалась при циррозе – 162,7±6,9 нг/мл. Нами обнаруже-

на обратная средняя корреляция между уровнем TIMP-1 и накоплением соединительной ткани в печени (r_s = -0,36; p < 0,05).

Сывороточные показатели MMP-9/TIMP-1 и MMP-9/TIMP-2 у пациентов ХГС имели разнонаправленный характер с прогрессированием фиброза печени. А именно, отмечено увеличение концентрации MMP-9/TIMP-1 с F0 ст. до F3-4 ст. (p < 0,05) и уменьшение содержания MMP-9/TIMP-2 (p < 0,05). При этом зафиксирована статистически значимая корреляция между уровнем исследуемых комплексов и морфологическими изменениями в печени: для MMP-9/TIMP-1 выявлена прямая сильная связь (r_s = 0,95; p < 0,05) и MMP-9/TIMP-2 – обратная связь средней силы (r_s = -0,41; p < 0,05).

Нами исследован локальный профиль системы «протеолиза–антипротеолиза» при ХГС в зависимости от выраженности фиброзных изменений в органе-мишени (табл. 4).

Локальные показатели MMP-9 и MMP-9/TIMP-2 имели схожий характер изменений с учетом стадии фиброза печени: содержание указанных белков ВКМ во всех группах пациентов было ниже относительно здоровых (p < 0,05). По мере прогрессирования морфологических изменений в печени выявлена тенденция к снижению концентрации MMP-9 и MMP-9/TIMP-2, которая оказалась наименьшей при F1-2 ст.: 105,7±12,8 нг/мл (p>0,05) и 45,7±1,6 пг/мл (p < 0,05) соответственно. Однако, формирова-

ТАБЛИЦА 4. ЛОКАЛЬНЫЙ ПРОФИЛЬ СИСТЕМЫ ММР/ТИМР В ЗАВИСИМОСТИ ОТ СТАДИИ ФИБРОЗА ПЕЧЕНИ ПРИ ХГС, М±s

TABLE 4. LOCAL PROFILE OF THE SYSTEM OF MMP/TIMP DEPENDING ON THE STAGE OF LIVER FIBROSIS IN CASE OF CHC, M±s

Показатели Indicators	Здоровые доноры (n = 7) Control group	Пациенты ХГС (n = 25) Patients with CHC	Группы пациентов (n = 25) Groups of patients		
			F0 ст., n = 11 F0 st.	F1-2 ст., n = 8 F1-2 st.	F3-4 ст., n = 6 F3-4 st.
			1	2	3
MMP-9, ng/ml	516,0±21,6	158,5±13,6*	115,4±13,6* p ₁₋₂ > 0,05	105,7±12,8* p ₂₋₃ < 0,05	254,3±14,3* p ₁₋₃ < 0,05
TIMP-1, pg/ml	60,0±18,0	10,0±2,0*	16,0±2,0* p ₁₋₂ < 0,05	8,0±2,0** p ₂₋₃ > 0,05	6,0±1,0** p ₁₋₃ < 0,05
MMP-9/ TIMP-1, ng/ml	4,1±1,1	34,4±1,2*	9,8±0,9* p ₁₋₂ < 0,05	37,0±1,5* p ₂₋₃ < 0,05	56,5±1,3** p ₁₋₃ < 0,05
MMP-9/ TIMP-2, pg/ml	57,8±1,2	51,0±1,2*	52,0±1,1* p ₁₋₂ < 0,05	45,7±1,6* p ₂₋₃ < 0,05	55,3±1,0* p ₁₋₃ < 0,05

Примечание. Статистическая значимость различий (p): с контрольной группой: * – p < 0,05; ** – p < 0,01; между группами p₁₋₂, p₁₋₃, p₂₋₃.

Note. Statistical significance of the differences (p): with the control group: * – p < 0.05, ** – p < 0.01; between groups p₁₋₂, p₁₋₃, p₂₋₃.

ние цирроза печени при HCV-инфекции ассоциировалось с ростом изучаемых медиаторов, средние значения которых были наиболее высокими среди исследуемых групп пациентов (p < 0,05). При корреляционном анализе обнаружена прямая средней силы связь между уровнем MMP-9 и нарушением архитектоники печеночной ткани (r_s = 0,58; p < 0,05), а в отношении MMP-9/TIMP-2 – слабая связь (r_s = 0,24; p < 0,05).

Установлены разнонаправленные изменения содержания TIMP-1 и MMP-9/TIMP-1 в супернатантах гепатобиооптатов в зависимости от выраженности фиброзных изменений в печени: средние значения TIMP-1 снижались от F0 ст. до F3-4 ст. (p < 0,05) и, напротив, показатели MMP-9/TIMP-1 повышались (p < 0,05). Зафиксированы статистически значимые взаимосвязи концентрации указанных протеиназ и их комплексов со структурными нарушениями в печени: для TIMP-1 определена обратная корреляция средней силы (r_s = -0,56), а для MMP-9/TIMP-1 – прямая сильная связь (r_s = 0,96; p < 0,05).

Обсуждение

В настоящее время одним из ведущих механизмов развития фиброза печени считают нарушение равновесия в системе MMP/ТИМР, следствием которого является дисбаланс между

синтезом и разрушением компонентов межклеточного матрикса [9, 16, 18, 22].

Исследование отдельных представителей семейства внеклеточных протеиназ и их тканевых ингибиторов в сыворотке крови HCV-инфицированных пациентов обнаружило изменения изучаемых показателей относительно контрольной группы здоровых лиц. Отмечено статистически значимое повышение содержания MMP-9 (p < 0,05) и ее комплексов с TIMP-1 (p < 0,05) и TIMP-2 (p < 0,01) в сочетании с низким уровнем ингибитора первого типа (p < 0,05). В современной литературе, как отечественной, так и зарубежной, приводятся противоречивые данные в отношении дисбаланса в системе матриксин. Так, работы одних авторов согласуются с полученными нами результатами [3, 12], в то же время встречаются исследования, в которых установлен противоположный характер нарушений указанных показателей [10, 22]. Отсутствие единой точки зрения в понимании процессов ремоделирования ткани печени при HCV-инфекции требует комплексного изучения системы «протеолиз/антипротеолиз» не только в сыворотке крови, но и в органе-мишени.

При анализе содержания белков, отражающих состояние межклеточного матрикса, в супернатантах гепатобиооптатов у пациентов ХГС выявлено восьмикратное увеличение уровня ком-

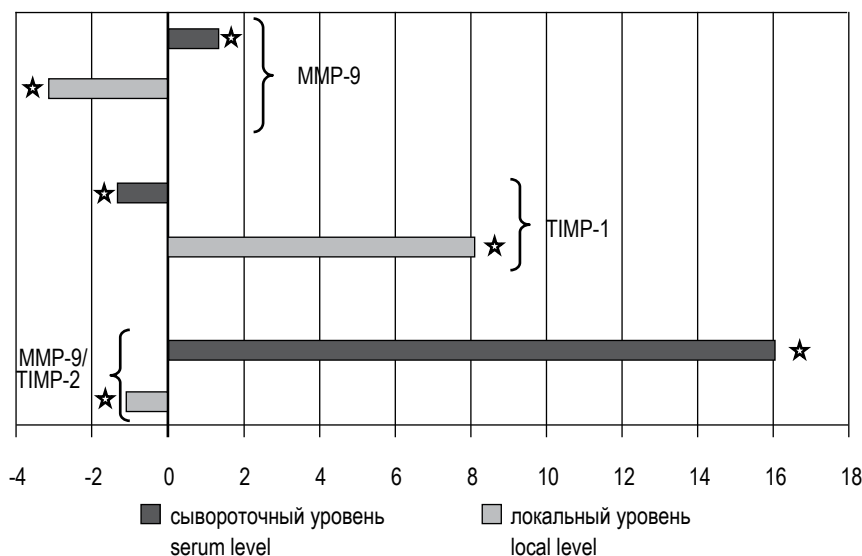


Рисунок 1. Схематическое изображение изменений показателей системы MMP/TIMP в сыворотке крови и супернатантах гепатобиоптатов при ХГС относительно границы контроля (|)

Примечание. * – статистическая значимость различий (p) с контрольной группой – p < 0,05-0,01.

Figure 1. Schematic representation of directed changes in MMP/TIMP levels in blood serum and liver supernates in chronic hepatitis C, in comparison with control values (|)

Note. * – the differences against control group are statistically significant by p < 0.05-0.01.

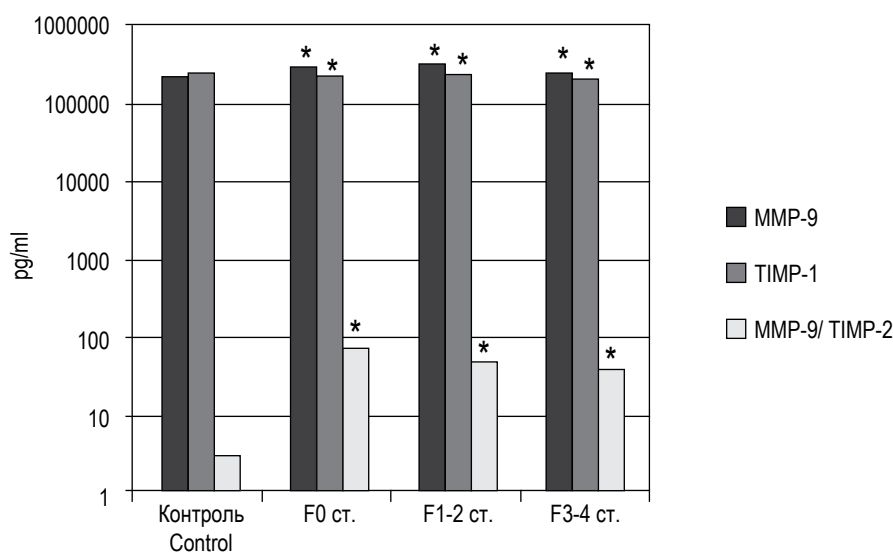


Рисунок 2. Показатели системы MMP/TIMP в сыворотке крови в зависимости от стадии фиброза печени при ХГС

Примечание. * – статистическая значимость различий (p) с контрольной группой – p < 0,05-0,001.

Figure 2. Indices of MMP/TIMP system in blood serum depending on stage of liver fibrosis in chronic hepatitis C.

Note. * – the differences against control group are statistically significant by p < 0.05-0.01.

плекса MMP-9/TIMP-1 в сравнении с группой контроля (p < 0,05), при этом значения других представителей семейства протеиназ оказались низкими (p < 0,05). Известно, что активность металлопротеиназ контролируется их эндогенными ингибиторами, синтез и экскреция которых тесно сопряжены с продукцией MMP [2, 14, 19, 22]. Так, они избирательно стехиометрически связываются с протеиназами и образуют необратимые комплексы, в которых MMP и TIMP

находятся в соотношении 1:1 [5, 8, 9, 18]. С учетом вышесказанного нами пересмотрен профиль изучаемой системы «протеолиз/антипротеолиз» в сыворотке крови, а также в супернатантах гепатобиоптатов, и обнаружены изменения показателей только на локальном уровне (рис. 1). А именно, зарегистрировано увеличение концентрации TIMP-1, что может объяснить наличие низких значений MMP-9 в органе-мишени при HCV-инфекции.

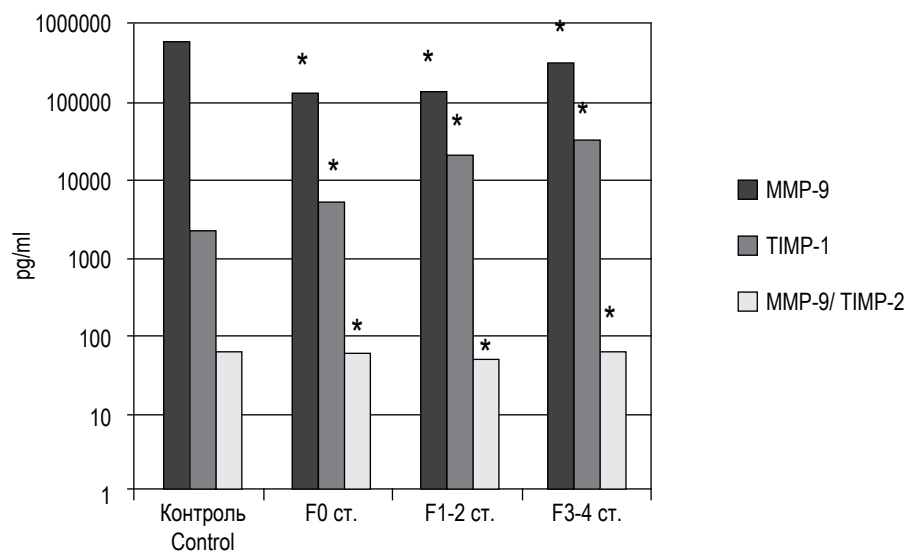


Рисунок 3. Показатели системы ММП/ТИМП в супернатантах гепатобиоптатов в зависимости от стадии фиброза печени при ХГС

Примечание. * – статистическая значимость различий (p) с контрольной группой – p < 0,05-0,001

Figure 3. Indices of MMP/TIMP system in liver supernatants depending on the stage of liver fibrosis in chronic hepatitis C.

Note. * – the differences against control group are statistically significant by p < 0.05-0.01.

В доступной литературе отсутствуют работы, рассматривающие взаимосвязи между показателями белков, отражающих состояние ВКМ, и стадией фиброза печени одновременно и на системном, и на локальном уровнях при ХГС. В ходе наших исследований обнаружен дисбаланс содержания протеиназ в сыворотке крови и супернатантах гепатобиоптатов, который имел различную направленность изменений (рис. 2, 3). Данные нарушения характеризовались следующим образом: сывороточные значения MMP-9, TIMP-1 и MMP-9/TIMP-2 по мере трансформации фиброза печени в цирроз (от F0 ст. к F4 ст.) снижались (p < 0,05), но при этом концентрация указанных протеолитических ферментов в органе-мишени повышалась (p < 0,05). Такие же результаты были получены отечественными и зарубежными авторами, изучающими фиброзные изменения в печени, ассоциированные с HCV-инфекцией [6, 21]. Однако, следует отметить, что имеются научные работы, с которыми наши данные не согласуются [3, 10, 22].

Вопрос о значении системы протеиназ/антипротеиназ в патоиммуноморфогенезе фиброза печени при HCV-инфекции продолжает оставаться дискуссионным. Считается установленным фактом, что матриксные металлопротеиназы продуцируются стромальными клетками, преимущественно клетками трансформированных линий фибробластов, в частности клетками Ито [5, 15, 20]. Под влиянием ряда стимулов,

среди которых существенная роль принадлежит провоспалительным цитокинам, MMP синтезируются и экскретируются первоначально в виде пропептида [9, 10, 13, 19]. Активация MMP происходит в результате протеолитического расщепления предшественника при участии ионов Ca²⁺ или Zn²⁺ [5, 14]. Связывание активированного фермента тканевым ингибитором ведет к образованию латентных форм MMP, которые не способны выполнять свои специфические функции [2, 10, 22]. Подводя итог вышесказанному, можно сделать вывод, что матриксные металлопротеиназы в организме представлены в виде двух форм: проMMP (неактивная форма) – нормальный компонент ВКМ, а также реактант острой фазы воспаления; MMP (активная форма) – медиатор, регулирующий состояние межклеточного вещества.

Таким образом, не исключено, что повышенное содержание матриксин в сыворотке крови у пациентов ХГС при отсутствии морфологических изменений в печени по сравнению с аналогичными показателями при выраженных структурных преобразованиях в органе-мишени может являться маркером воспаления. HCV-инфекция сопряжена с гиперпродукцией провоспалительных цитокинов, прежде всего интерлейкина-1β (IL-1β), фактора некроза опухоли-α (TNFα) и трансформирующего фактора роста-β (TGF-β) [4, 7, 21]. Последние являются ключевыми индукторами, стимулирующими клетки-мишени к избыточ-

ному синтезу и экскреции острофазных белков организма, включая и неактивные формы MMP. Следовательно, высокие показатели протеиназ в сыворотке крови у пациентов в дебюте патологического процесса, запускаемого вирусом, можно объяснить как одну из составляющих частей первичной реакции иммунного ответа организма при взаимодействии с HCV, несостоятельность которой может способствовать персистенции и хронизации гепатотропной вирусной инфекции. Вышеописанное находит свое подтверждение в работах отечественных и зарубежных авторов, которые отмечают увеличение активности MMP, а также их участие в воспалительном процессе [5, 20].

Что же касается выявленных высоких локальных концентраций MMP-9, TIMP-1 и MMP-9/TIMP-2 у пациентов ХГС при выраженной стадии фиброза печени (F3-4 ст.) в сравнении с аналогичными показателями при отсутствии фиброзных изменений в органе-мишени (F0 ст.), то, по нашему мнению, они могут быть связаны с одной из основных функций их в организме. Признано, что матриксные металлопротеиназы — специализированные протеолитические ферменты, которые регулируют состояние ВКМ [1, 9, 14]. Активные формы представителей MMP избирательно расщепляют белки матрикса, в том числе денатурируют фибриллярные коллагены [19]. Следовательно, недостаток протеиназ сопровождается снижением скорости деградации компонентов межклеточного вещества, то есть прогрессированием фиброзных изменений в печени. В нашем исследовании зарегистрированы низкие концентрации MMP-9 и MMP-9/TIMP-2 в сочетании с высокими показателями тканевого ингибитора на локальном уровне у пациентов ХГС относительно группы контроля, что может указывать на нарушение ремоделирования ткани печени.

В то же время формирование фиброза печени при HCV-инфекции и его трансформация в цирроз характеризуется увеличением стромальных клеток — продуцентов матриксин и провоспалительных медиаторов, которые, как упоминалось выше, индуцируют синтез MMP [2, 10, 15, 23]. Следовательно, нарушение архитектоники печеночной ткани сопряжено с избытком протеиназ, а значит, с усилением гидролиза белков ВКМ. Нами обнаружена тенденция к увеличению локального содержания MMP-9 с нарастанием патологического процесса в органе-мишени, однако, она не реализует свой биологический потенциал. В пользу неполноценного функцио-

нирования ее свидетельствует наличие прогрессирующих структурных изменений в печени, несмотря на повышение уровня протеолитического фермента. По-видимому, данный факт связан с тем, что концентрация исследуемого маркера у пациентов ХГС независимо от стадии фиброза печени статистически значимо была снижена по сравнению с аналогичным показателем контрольной группы ($p < 0,05$). Дефицит MMP-9 относительно здоровых лиц, на наш взгляд, может быть обусловлен подавлением ее активности тканевыми ингибиторами, о чем указывает повышенное содержание TIMP-1, а также комплекса MMP-9/TIMP-2, в супернатантах гепатобиоптатов при прогрессировании HCV-ассоциированных морфологических изменений в ткани печени. С другой стороны, низкие показатели MMP-9 в сравнении с контролем, возможно, связаны с избирательной специфичностью представителей матриксных металлопротеиназ. Как отмечено в литературе, MMP-9 расщепляет коллагены IV и V типов, в меньшей степени III [5, 19]. В составе межклеточного вещества при хронических воспалительных заболеваниях печени преобладают коллаген типа I и III, а также фибронектин [10, 14, 15]. Следовательно, субстрат для MMP-9 среди видоизмененных компонентов ВКМ находится в небольшом количестве, а значит, по-видимому, отсутствует необходимость в гиперпродукции изучаемого протеолитического фермента.

Заключение

Обнаружен дисбаланс содержания протеиназ и их комплексов в сыворотке крови и супернатантах гепатобиоптатов, который имел различную направленность изменений: сывороточные значения MMP-9, TIMP-1 и MMP-9/TIMP-2 по мере трансформации фиброза печени в цирроз (от F0 ст. к F4 ст.) снижались, но при этом концентрация указанных протеолитических ферментов в органе-мишени — повышалась. Полученные в ходе нашей работы результаты могут свидетельствовать о влиянии данных показателей на формирование и прогрессирование HCV-ассоциированного фиброза печени. Однако, роль их в ремоделировании печеночной ткани при ХГС остается пока не в полной мере ясной, о чем указывает наличие в современной литературе противоречивых данных, касающихся этого вопроса, что, соответственно, требует дальнейшего изучения.

Список литературы / References

1. Бабак О.Я., Колесникова Е.В., Кравченко Н.А. Фиброз печени: современные представления о механизмах, способах диагностики и лечения // Сучасна гастроентерологія, 2009. № 2 (46) С. 5-17. [Babak O.Ya., Kolesnikova E.V., Kravchenko N.A. Liver fibrosis: current concepts of mechanisms, diagnostic and therapeutic approaches. *Suchasna gastroenterologiya = Modern Gastroenterology*, 2009, no. 2 (46), pp. 5-17. (In Ukr.)]
2. Вельков В.В. Сывороточные биомаркеры фиброза печени: до свидания, биопсия? М.: Lomonosoff Print, 2009. 40 с. [Vel'kov V.V. Serum biomarkers of liver fibrosis: farewell to the biopsy? Moscow: Lomonosoff Print, 2009. 40 p.]
3. Иванис В.А., Маркелова Е.В., Скляр Л.Ф. Значение иммунных механизмов в патогенезе некоторых острых и хронических вирусных инфекций // Инфекция и иммунитет, 2011. Т. 1, № 4. С. 373-377. [Ivanis V.A., Markelova E.V., Sklyar L.F. Significance of immune mechanisms in pathogenesis of some acute and chronic viral infectious diseases. *Infektsiya i immunitet = Russian Journal of Infection and Immunity*, 2011, Vol. 1, no. 4, pp. 373-377. (In Russ.)] <http://dx.doi.org/10.15789/2220-7619-2011-4-373-377>
4. Нагоев Б.С., Понежева Ж.Б. Роль цитокиновой системы в патогенезе хронического гепатита С // Инфекционные болезни, 2009. Т. 7, № 4. С. 12-17. [Nagoev B.S., Ponezheva Zh.B. The role of cytokine system in pathogenesis of chronic hepatitis. *Infektsionnye bolezni = Infectious Diseases*, 2009, Vol. 7, no. 4, pp. 12-17. (In Russ.)]
5. Назаров П.Г. Реактанты острой фазы воспаления. СПб.: Наука, 2001. 423 с. [Nazarov P.G. Acute phase reactants in inflammation]. St. Petersburg: Science, 2001. 423 p.]
6. Останин А.А., Гельфгат Е.Л., Шипунов М.В., Шевела Е.Я., Курганова Е.В., Хван Л.А., Пальцев А.И., Старостина Н.М., Черных Е.Р. Прогностическая модель неинвазивной диагностики фиброза печени у больных хроническими вирусными гепатитами // Медицинская иммунология, 2008. Т. 10, № 4-5. С. 405-414. [Ostanin A.A., Gelfgadt E.L., Shipunov M.V., Shevela E.Ya., Kurganova E.V., Khvan L.A., Paltsev A.I., Starostina N.M., Chernykh E.R. A predictive model for non-invasive evaluation of liver fibrosis in patients with chronic hepatitis virus infection. *Meditsinskaya immunologiya = Medical Immunology (Russia)*, 2008, Vol. 10, no. 4-5, pp. 405-414. (In Russ.)] <http://dx.doi.org/10.15789/1563-0625-2008-4-5-405-414>
7. Сысоев К.А., Чухловин А.Б., Шахманов Д.М., Жданов К.В., Тотолян А.А. Профиль цитокинов и хемокинов в плазме крови пациентов с хроническим гепатитом С // Инфекция и иммунитет, 2013. Т. 3, № 1. С. 49-58. [Sysoev K.A., Chukhlovina A.B., Shakhmanov D.M., Zhdanov K.V., Totolian A.A. Cytokines and chemokines in the blood plasma of patients with chronic hepatitis C. *Infektsiya i immunitet = Russian Journal of Infection and Immunity*, 2013, Vol. 3, no. 1, pp. 49-58. (In Russ.)] <http://dx.doi.org/10.15789/2220-7619-2013-1-49-58>
8. Сторожаков Г.И., Ивкова А.Н. Патогенетические аспекты фиброгенеза при хронических заболеваниях печени // Клинические перспективы гастроэнтерологии, гепатологии, 2009. № 2. С. 3-10. [Storozhakov G.I., Ivkova A.N. Pathogenetic aspects of fibrogenesis in chronic liver diseases. *Klinicheskie perspektivy gastroenterologii, gepatologii = Clinical Perspectives of Gastroenterology, Hepatology*, 2009, no. 2, pp. 3-10. (In Russ.)]
9. Arthur M.J. Fibrogenesis II. Metalloproteinases and their inhibitors in liver fibrosis. *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol*, 2000. Vol. 279, no. 2, pp. 245-249.
10. Baranova A., Lal P., Bircerdinc A., Younossi Z.M. Non-Invasive markers for hepatic fibrosis. *BMC Gastroenterol.*, 2011, Vol. 11, no. 91, pp. 1-15.
11. Bataller R., Brenner D. A. Liver fibrosis. *J. Clin. Invest*, 2005, Vol. 115, no. 2, pp. 209-218.
12. Bruno C.M., Valenti M., Bertino G., Ardiri A., Consolo M., Mazzarino C.M., Amoroso A., Neri S. Altered pattern of circulating matrix metalloproteinases -2, -9 and tissue inhibitor of metalloproteinase-2 in patients with HCV-related chronic hepatitis. Relationship to histological features. *Panminerva Med*, 2009. Vol. 51, no. 4, pp. 191-196.
13. Elkington P.T.G., O'Kane C.M., Friedland J.S. The paradox of matrix metalloproteinases in infectious disease. *Clin. Experiment. Immunol*, 2005, Vol. 142, no. 1, pp. 12-20.
14. Friedman S.L. Mechanisms of hepatic fibrogenesis. *Gastroenterology*, 2008, Vol. 134, no. 6, pp. 1655-1669.
15. Ghaleb H. A., Salah S. A novel hypothesis for pathophysiology of hepatitis fibrosis in hepatitis C viral infection. *Hypothesis*, 2011, Vol. 9, no. 1, pp. 1-5.
16. Greenbaum L.E., Wells R.G. The role of stem cells in liver repair and fibrosis. *Int. J. Biochem. Cell Biol.*, 2011, Vol. 43, no. 2, pp. 222-229.
17. Jiao J., Friedman S.L., Aloman C. Hepatic fibrosis. *Curr. Opin. Gastroenterol.*, 2009, Vol. 25, no. 3, pp. 223-229.
18. Mormone E., George J., Natalia Nieto N. Molecular pathogenesis of hepatic fibrosis and current therapeutic approaches. *Chem. Biol. Interact.*, 2011, Vol. 193, no. 3, pp. 225-231.
19. Nagase H., Visse R., Murphy G. Structure and function of matrix metalloproteinases and TIMP. *Cardiovasc. Res.*, 2006, Vol. 69, no. 3, pp. 562-573.

20. Shiomi T., Lemaître V., D'Armiento J., Okada Y. Matrix metalloproteinases, a disintegrin and metalloproteinases, and a disintegrin and metalloproteinases with thrombospondin motifs in non-neoplastic diseases. *Patholog. Int.*, 2010, Vol. 60, no. 7, pp. 477-496.

21. Tarrats N., Moles A., Morales A., García-Ruiz C., Fernández-Checa J.C., Marí M. Critical role of the TNF-receptor 1 but not 2 in hepatic stellate cell proliferation, extracellular matrix remodeling and liver fibrogenesis. *Hepatology*, 2011, Vol. 54, no. 1, pp. 319-327.

22. Valva P., Casciato P., Diaz Carrasco J.M., Gadano A., Galdame O., Galoppo M.C., Mullen E., De Matteo E., Preciado M.V. The role of serum biomarkers in predicting fibrosis progression in pediatric and adult hepatitis C virus chronic infection. *PLoS One*, 2011, Vol. 6, no. 8, pp. 1-10.

23. Wynn T.A. Cellular and molecular mechanisms of fibrosis. *J. Pathol.*, 2008, Vol. 214, no. 2, pp. 199-210.

Авторы:

Горелова И.С. — к.м.н., ассистент кафедры инфекционных болезней ФГБОУ ВО «Тихоокеанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Владивосток, Россия

Скляр Л.Ф. — д.м.н., доцент, профессор кафедры инфекционных болезней ФГБОУ ВО «Тихоокеанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Владивосток, Россия

Маркелова Е.В. — д.м.н., профессор, заведующая кафедрой нормальной и патологической физиологии ФГБОУ ВО «Тихоокеанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Владивосток, Россия

Симакова А.И. — д.м.н., доцент, заведующая кафедрой инфекционных болезней ФГБОУ ВО «Тихоокеанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Владивосток, Россия

Зенин И.В. — аспирант кафедры инфекционных болезней ФГБОУ ВО «Тихоокеанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Владивосток, Россия

Authors:

Gorelova I.S., PhD (Medicine), Assistant Professor, Department of Infectious Diseases, Pacific State Medical University, Vladivostok, Russian Federation

Sklyar L.F., PhD, MD (Medicine), Professor, Department of Infectious Diseases, Pacific State Medical University, Vladivostok, Russian Federation

Markelova E.V., PhD, MD (Medicine), Professor, Head, Department of Normal and Pathological Physiology, Pacific State Medical University, Vladivostok, Russian Federation

Simakova A.I., PhD, MD (Medicine), Associate Professor, Head, Department of Infectious Diseases, Pacific State Medical University, Vladivostok, Russian Federation

Zenin I.V., Graduate Student, Department of Infectious Diseases, Pacific State Medical University, Vladivostok, Russian Federation

Поступила 11.08.2016
Принята к печати 31.08.2016

Received 11.08.2016
Accepted 31.08.2016