

ЎЗБЕКИСТОН МИЛЛИЙ ОЛИМПИА ҚЎМИТАСИ

2021/4

ISSN 2181-998X

РЕСПУБЛИКА СПОРТ ТИББИЁТИ
ИЛМИЙ-АМАЛИЙ МАРКАЗИ

ТИББИЁТ ВА СПОРТ
MEDICINE AND SPORT

Тошкент

РОЛЬ МАТРИКСНЫХ МЕТАЛЛОПРОТЕИНАЗ В РАЗВИТИИ ОСТРОГО ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ПАНКРЕАТИТА

А.К. Ганиев, Р.А. Сабирова

ЎТКИР ЭКСПЕРИМЕНТАЛ ПАНКРЕАТИТ РИВОЖЛАНИШИДА МАТРИКСЛИ МЕТАЛЛОПРОТЕИНАЗАЛАРНИ РОЛИ

А.К. Ганиев, Р.А. Сабирова

THE ROLE OF MATRIX METALLOPROTEINASES IN THE DEVELOPMENT OF ACUTE EXPERIMENTAL PANCREATITIS

A.K. Ganiev, R.A. Sabirova

Ташкентская медицинская академия

Хулоса: Тадқиқотлар натижалари шуни кўрсатдики, ўткир панкреатитда апоптознинг ривожланиши, айниқса, тажрибанинг 10-кунда қон зардобидаги матрикс металпротеиназалар-1, -9 (ММП-1,-9) ва матрикс металпротеиназаларининг тўқима ингибитори-1 (ТИМП-1) миқдорининг ўзгариши билан тавсифланади. Аниқланган ўзгаришларни коррекция қилишда цитохромни сандостатин билан биргаликда қўллаб ишлатилганда ушбу дориларни ўткир панкреатит билан оғриган тажриба ҳайвонларига алоҳида қўллашдан кўра апоптозни ривожланишини коррекциялашда кўпроқ таъсир кўрсатиши аниқланди.

Калим сўзлар: ўткир панкреатит, матрикс металпротеиназаси, қон зардоби, цитохром С.

Summary: The results of the study showed that the development of apoptosis in acute pancreatitis is characterized by changes in the content of matrix metalloproteinases-1 and -9 (MMP-1, MMP-9) and tissue inhibitor of matrix proteinases-1 (TIMP-1) in the mechanisms of development of acute pancreatitis. With the combined administration of cytochrome with sandostatin to correct the detected changes, these drugs turned out to be more effective in correcting the development of apoptosis than when administered separately to experimental animals with acute pancreatitis.

Keywords: acute pancreatitis, matrix metalloproteinase, blood serum, cytochrome C.

Панкреатит - одна из самых неизученных проблем гастроэнтерологии и медицины в целом [2]. В последние годы разработаны новые информативные лабораторные и инструментальные методы исследования, позволяющие расширить представления клиницистов о патогенезе этой болезни [11]. В формировании хронического рецидивирующего панкреатита (ХРП) большое значение имеет повышение выработки матриксной металлопротеиназы-9 (ММП-9). Этот процесс запускает увеличение синтеза провоспалительных цитокинов ФНО- α и ИЛ-1 β . При обострении ХРП в терапию включают антиоксидант мексидол. Он снижает содержание ММП-9 на фоне усиления синтеза ее физиологического антагониста ТИМП-1, что указывает на перспективность его применения в комплексном лечении хронического рецидивирующего панкреатита [1].

К предполагаемым маркерам прогрессирования фиброзных нарушений и функционирования различных органов относят матриксные металлопротеиназы [8] - семейство внеклеточных, цинксодержащих протеиназ - главных участников в обмене белков соединительной ткани, в процессах нормального развития матрикса, при онкогенной трансформации клеток, ангиогенезе. Их активность регулируется через взаимодействие с эндогенными ингибиторами (тканевые ингибиторы металлопротеиназ).

Цель исследования: установить патогенетическую значимость матриксных металлопротеиназ-1 и -9 (ММП-1, ММП-9) и тканевого ингибитора матриксных

протеиназ-1 (ТИМП-1) в механизме развития острого панкреатита.

Материалы и методы исследования. Эксперименты проведены на 60 половозрелых беспородных крысах-самцах с исходной массой тела 120-140 г, содержащихся на стандартном режиме питания. Эксперименты проводили в соответствии с «Европейской конвенцией о защите позвоночных животных, которых используют для экспериментов и других научных целей» (Страсбург. 1985). Острый экспериментальный панкреатит вызывали у крыс по методу П.С.Симоваряна [3]: локальным замораживанием поверхности поджелудочной железы хлористым этилом.

Степень поражения поджелудочной железы устанавливали, определяя в крови активность амилазы. Исследования проводили на 7- и 10-е сутки после операции, определяли активность ММП-1 и -9, и содержание ТИМП-1. Было определено 6 групп крыс - по 10 животных в каждой группе:

- 1-я - интактная группа (норма);
- 2-я - ложнопанкреатитная;
- 3-я - животные с 7- и 10-дневным острым панкреатитом;
- 4-я - животные острым панкреатитом, которым ежедневно (10 дней) внутримышечно вводили цитохром С 0,15 мг/кг массы тела;
- 5-я - животные острым панкреатитом, которым вводили сандостатин - 0,007 мг/кг массы тела;
- 6-я - животные, которым одновременно вводили цитохром С и сандостатин.

Животных декапитировали на 7- и 10-е сутки после операции.

Активность эластазы, ММП-1 и ММП-9 и содержание ТИМП-1 в сыворотке крови определяли с помощью иммуноферментного анализа на иммуноферментном анализаторе фирмы «HUMAN» (ГЕРМАНИЯ) по тест-системе (ООО «Цитокин», СПб).

Результаты и их обсуждение. Ведущим патогенетическим механизмом развития острого панкреатита является ферментативный аутолиз паренхимы поджелудочной железы (ПЖ) ее собственными ферментами, выход их в кровоток и поражение других органов [4]. Причем, ключевым

ферментом этого процесса считают панкреатическую эластазу, агрессивность которой способна вызывать протеолитическую деструкцию и ткани поджелудочной железы, и окружающих тканей, т.е. формировать перитонит [6,5,10].

Мы установили (рис.1), что активность эластазы у ложнооперированных животных увеличивается на 12,8% от показателя интактных (норма) животных. У животных с 7- и 10- дневным острым панкреатитом активность амилазы повышает норму в 2,2 и 3,3 раза, соответственно по сравнению с интактными животными (312,5±5,76; 460,8±10,8 мкг/г).

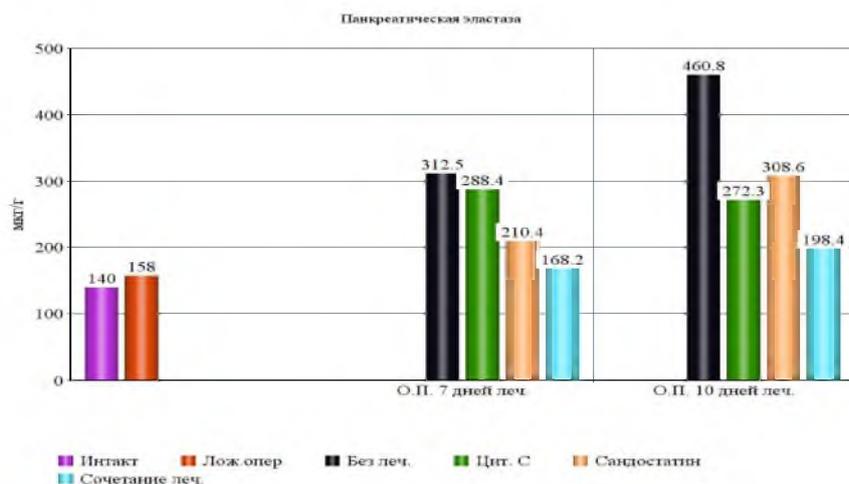


Рисунок 1. Влияние цитохрома С на активность панкреатической эластазы у животных с острым экспериментальным панкреатитом, мкг/кг.

Лечение цитохромом С снижает активность эластазы у животных с 7- и 10-дневным острым панкреатитом на 7,7 и 40,9%, соответственно, по сравнению с не леченной группой. Сандостатин более выраженно ингибировал активность эластазы, чем цитохром С. Активность эластазы после лечения сандостатином снизилась на 32,7 и 33%, соответственно, чем 7 и 10 дней от исходного. Наиболее эффективное лечебное действие установлено при сочетанном введении сандостатина с цитохромом С. У животных 7- и 10-дневным панкреатитом активность эластазы снизилась после лечения в 1,9 и 2,3 раза, соответственно.

Исследование активности матричных протеаз и содержания их ингибитора ТИМП-1 показало (табл.1), что активность ММП-1 и ММП-9 у животных с острым панкреатитом на 7- и 10-й дни развития достоверно повышалась в 2,5 и 3, в 3,6 и 3,9 раза, соответственно от нормы. Содержание ТИМП-1 в эти же сроки снижалось на 31,7 и 57%, соответственно.

Таким образом, для острого панкреатита характерным является повышение активности матричных металлопротеиназ и снижение содержания ТИМП-1, особенно на 10-й день развития патологического процесса.

Таблица 1

Влияние препаратов на активность металлопротеиназ и содержание ТИМП-1 при развитии острого экспериментального панкреатита

| Показатель, Pg/ml | Интактная группа | Ложнооперированная группа | через 7 дней | | | | через 10 дней | | | |
|-------------------|------------------|---------------------------|--------------|---------------|---------------|-------------------------------------|---------------|---------------|---------------|-------------------------------------|
| | | | без лечения | После лечения | | | без лечения | После лечения | | |
| | | | | цитохром С | сандостатином | сочетание сандостатина + цитохром С | | цитохром С | сандостатином | сочетание сандостатина + цитохром С |
| ММП-1 | 13,5±1,01 | 15,8±1,13* | 34,5±1,73 | 28,7±1,46 | 23,04±0,86 | 14,82±1,24 | 48,18±1,28 | 25,3±1,23 | 31,26±1,27 | 20,14±0,725 |
| ММП-9 | 28±1,7 | 31,1±1,53* | 84,7±1,4 | 67,3±1,66 | 71,8±1,9* | 32,2±1,33 | 109,8±1,06 | 70,6±1,66 | 72,6±1,4 | 33,4±0,93 |
| ТИМП-1 | 26,5±1,2 | 23,7±1,13 | 18,1±0,96 | 22,2±1,3 | 23,8±1,0 | 25,6±1,01 | 11,4±1,93 | 18,2±1,13 | 20,5±1,63 | 24,9±1,13 |

Примечание. * - P>0,05, в остальных случаях P<0,05 по сравнению с интактной группой

Лечение цитохромом С снижает активность ММП-1 и ММП-9 у животных с 7- и 10-дневным острым панкреатитом на 16,8 и 47,4 и на 20,6 и 35,7%, соответственно, от исходного. А при лечении сандостатином эти показатели снижались на 33,2 и

35,2 и на 15,5 и 33,8%. Сочетание сандостатина и цитохрома С еще более выраженно снижает активность ММП-1 и ММП-9, особенно у животных с 10-дневным панкреатитом.

Сочетанное лечение экспериментальных животных

способствовало повышению содержания ТИМП-1 ($22,2 \pm 1,3$; $18,2 \pm 1,13$ и $22,2 \pm 1,3$; $20,5 \pm 1,63$ с 7- и 10-дневным ОП), причем, более выражено, чем при раздельном введении этих препаратов.

Таким образом, при остром панкреатите значительно активизируются матриксные металлопротеиназы и угнетается их ингибитор ТИМП-1, особенно на 10-й день эксперимента. Включение в терапию ОП цитохрома с и сандостатина, особенно их совместное введение, нормализует исследуемые показатели.

Результаты нашего исследования показали, что ТИМП-1 является физиологическим антагонистом ММП-9 [7]. Кроме того, эффективность сочетанного введения цитохрома с и сандостатина животным острым панкреатитом указывает на патогенетическую целесообразность назначения этих препаратов как средств, прерывающих воспалительный «каскад», угнетающая активность матриксных металлопротеиназ.

Таким образом, углубленное изучение патогенеза острого панкреатита по правилам доказательной медицины имеет не только теоретическое, но и практическое значение [9]. Недостаточные сведения о состоянии местного протеиназ-ингибиторного потенциала при панкреатитах, с учетом важной патогенетической роли протеиназ в их развитии, делает актуальным их дальнейшее изучение в развитии ОП. Результаты могут стать основой разработки новых, патогенетически обоснованных и эффективных способов диагностики и медикаментозного лечения острого панкреатита.

В процессе исследования мы установили, что при моделировании острого панкреатита у крыс, активизируются неспецифические протеиназы на системном и локальном уровнях. Причем, уровень местных изменений более выражен. Обоснованы подходы к совершенствованию медикаментозного лечения острого панкреатита, которые могут быть основой на местном применении препаратов с антипротеиназным механизмом действия и возможным использовании ингибиторов протеиназ с преимущественно антиэластазным механизмом действия.

Выводы:

1. В механизме развития острого панкреатита важную роль играет активизация матриксной металлопротеиназы-1 и -9 на фоне снижения выработки ее антагониста ТИМП-1.

2. Введение экспериментальным животным с острым панкреатитом цитохрома с в сочетании с сандостатином является патогенетически обоснованным, так как угнетает исходно повышенную активность ММП-1 и -9 на фоне активизации ее физиологического антагониста ТИМП-1.

Список литературы:

1. Ахмедов В.А., Будылгин А., Долгих В.Т. Участие матриксных металлопротеиназ (ММП-9, тимп-1) в механизмах обострения и хронизации панкреатита. //Клин. мед. -2010. -С. 43-47).
2. Ахмедов В. А., Ширинская Н.В., Шадевский В.М. Патофизиологические и терапевтические аспекты хронического панкреатита. М., 2007. -287 с.
3. Симоварян П.С., Тименина Р.С. Показатели

жиро-углеводного обмена при экспериментальном панкреатите // Патол. физиол. И эксп. тер. -М.: Медицина. -1973. -№2.-С.59-62.

4. Ушаков А.А., Овчинников В.И., Бабушкин Д.А. Современные аспекты этиологии, патогенеза, классификации острого панкреатита // Совр. Пробл. науки и образования. 2016.- № 2.-С.72-75.

5. Novovic S. et al. Activity of neutrophilelastase reflects the progression of acute pancreatitis // Scand J Clin. LabInvest. 2013. Vol.73,№ 6. P.485-93.

6. Al Mofleh I.A. Severe acute pancreatitis: Pathogenetic aspects and prognostic factors // World J. Gastroenterol. 2008. Vol. 14, № 5. P. 675–684.

7. Johnson J.L. Matrix metalloproteinases: influence on smooth muscle cells and atherosclerotic plaque stability // Expert. Rev. Cardiovasc. Ther. 2007. Vol.5. P. 265–282

8. Li L., Bachem M. G., Zhou S., Sun Z., Chen J., Siech M., Bimmler D., Graf R. Pancreatitis-associated protein inhibits human pancreatic stellate cell MMP-1 and 2, TIMP-1 and 2 secretion and REC Kexpression // Pancreatology. 2008. Vol. 12, № 1–2. P. 99–110.

9. Pannala R., Kidd M., Modlin I. M. Acute pancreatitis: a historical perspective // Pancreas. 2009. Vol.38, №4. P.355-66.

10. Singh P., Garg P.K. Pathophysiological mechanisms in acute pancreatitis: Current understanding //Indian J. Gastroenterol. 2016. Vol.35,№3. P.153-66.

11. Snyder M.C., Cappell M.S. Clinical presentation, diagnosis and management of autoimmune pancreatitis // Minerva. Gastroenterol. Dietol. 2008. Vol. 54, № 4. P. 389–405.

Роль матриксных металлопротеиназ в развитии острого экспериментального панкреатита

А.К. Ганиев, Р.А. Сабирова

Резюме: установлено, что развитие апоптоза при остром панкреатите характеризуется увеличением активности матриксных металлопротеиназ-1 и -9 (ММП-1, ММП-9) и снижением содержания тканевого ингибитора матриксных протеиназ-1 (ТИМП-1). При совместном введении цитохрома С и сандостатина для коррекции обнаруженных изменений эти препараты оказались более эффективными в коррекции развития апоптоза, чем при раздельном введении экспериментальным животным с острым панкреатитом.

Ключевые слова: острый панкреатит, матриксная металлопротеиназа, сыворотка крови, цитохром С