

УДК 616.61-06-053.2:577.112.854

РОЛЬ МАТРИКСНЫХ МЕТАЛЛОПРОТЕИНАЗ И ИХ ТКАНЕВЫХ ИНГИБИТОРОВ В РАЗВИТИИ ОСЛОЖНЕНИЙ ПРИ ЗАБОЛЕВАНИЯХ ПОЧЕК У ДЕТЕЙ

Суханова Г.А.¹, Терентьева А.А.¹, Кувшинов Н.Н.²¹ Сибирский государственный медицинский университет, г. Томск² Национальный исследовательский Томский государственный университет, г. Томск

РЕЗЮМЕ

Актуальность изучения роли матриксных металлопротеиназ (ММП) и их тканевых ингибиторов (ТИМП) в патологии органов мочевой системы определяется ее значительной распространенностью, склонностью к рецидивирующему течению заболеваний почек у детей. Известно, что ММП-1 обладает провоспалительным действием, а ММП-2 и ММП-9 препятствуют воспалению. ТИМП-1 и ТИМП-2 ограничивают расщепление коллагена. Нарушение равновесия между ММП и ТИМП сопровождается накоплением внеклеточного матрикса, увеличивает риск развития хронической почечной недостаточности.

Цель исследования – оценить роль ММП и ТИМП, участвующих в процессах воспаления и приводящих к нарушению функции почек при гломерулонефрите и пиелонефрите у детей.

Материал и методы. Обследовано 15 детей с диагнозом «острый гломерулонефрит», 25 – «хронический гломерулонефрит», 40 – «хронический вторичный обструктивный пиелонефрит» и 20 практически здоровых детей. В группе больных с хроническим гломерулонефритом функция почек была нарушена у 10 пациентов, при хроническом пиелонефрите – у 20 больных. Содержание ММП-1, -2, -9 и ТИМП-1, -2 в сыворотке крови детей определяли иммуноферментным методом.

Результаты. Установлено, что при остром и хроническом гломерулонефрите у детей повышается содержание ММП-1, ММП-2 практически не изменяется, а содержание ММП-9 снижается, что характеризует наличие воспалительного процесса. При хроническом пиелонефрите в большей степени выражено снижение содержания ММП-9, препятствующей воспалению. Наиболее значительные изменения обнаружены у пациентов с нарушенной функцией почек. Во всех группах больных наблюдалось повышение уровня ТИМП-1 и ТИМП-2.

Заключение. Таким образом, увеличение уровня тканевых ингибиторов, повышение содержания ММП-1, снижение ММП-9 способствуют прогрессированию заболевания, развитию воспаления и накоплению белков межклеточного матрикса интерстициальной ткани почек, приводящих к склеротическим и фиброзным изменениям.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: матриксные металлопротеиназы, тканевые ингибиторы, острый и хронический гломерулонефрит, хронический пиелонефрит.

Введение

Матриксные металлопротеиназы (ММП) участвуют в расщеплении компонентов экстрацеллюлярного матрикса, базальных мембран и клеточных поверхностных белков, представляют собой цинксодержащие эндопептидазы, преобладают в межклеточном пространстве, активны при нейтральных значениях pH, вырабатываются многими клетками – от фибробластов и макрофагов до эндотелиальных и тучных кле-

ток [1]. ММП-1 относится к коллагеназам, участвует в деградации коллагеновых нитей, обладает провоспалительным действием. ММП-2 и ММП-9 относятся к желатиназам, уменьшают воспаление и повышают проницаемость эндотелия микрокапилляров. Тканевые ингибиторы матриксных металлопротеиназ – ТИМП-1 и ТИМП-2 – препятствуют расщеплению белков экстраклеточного матрикса [2, 3]. Нарушение равновесия между активностью ММП и их ингибиторов приводит к накоплению внеклеточного матрикса и облитерации клубочков, способствует развитию фиброза и склероза сосудов почек [4, 5]. Эти нарушения могут влиять на процессы фильтрации и реабсорбции.

✉ Суханова Галина Алексеевна, тел. 8-913-842-5729; e-mail: galsu2012@yandex.ru

Актуальность изучения роли ММП и ТИМП в патологии органов мочевой системы у детей определяется ее значительной распространенностью, склонностью к рецидивирующему течению, риском формирования хронической почечной недостаточности в молодом возрасте. Наиболее распространенными являются острый и хронический гломерулонефрит, хронический пиелонефрит. Эти заболевания характеризуются воспалением, развитием нефротического синдрома при остром гломерулонефрите и частым исходом в почечную недостаточность при хроническом гломерулонефрите и пиелонефрите [6].

Цель исследования – оценить роль матричных металлопротеиназ и тканевых ингибиторов в сыворотке крови, участвующих в процессах воспаления и приводящих к нарушению функции почек при остром и хроническом гломерулонефрите, хроническом пиелонефрите у детей.

Материал и методы

Обследовано 80 детей, страдающих заболеваниями почек, в возрасте от 3 до 16 лет (средний возраст $(12,6 \pm 3,2)$ года), находившихся на лечении в нефрологическом отделении Детской больницы № 1 г. Томска, и 20 детей контрольной группы, сопоставимых по полу и возрасту, у которых отсутствовали клинические и биохимические проявления обострения хронических и острых заболеваний в течение 2 мес до взятия крови. Протокол исследования и информированные согласия родителей участников одобрены этическим комитетом Сибирского государственного медицинского университета (г. Томск), заключение № 984 от 30.03.2009. Диагноз заболевания верифицировали на основе общеклинических, лабораторных и инструментальных методов исследования.

Распределение больных по группам было следующим: острый гломерулонефрит – 15 детей, хронический гломерулонефрит – 25, хронический вторичный обструктивный пиелонефрит – 40. В группе больных с хроническим гломерулонефритом функция почек была нарушена у 10 пациентов, при хроническом пиелонефрите – у 20 больных. Содержание протеиназ и их ингибиторов определяли в сыворотке крови при помощи иммуноферментного анализа по наборам: ММП-1 – RayBio; ММП-2, ММП-9, ТИМП-2 – R&D Systems;

ТИМП-1 – eBioscience; креатинин – «Ольвекс Диагностикум» (г. Санкт-Петербург).

Статистическую обработку полученных данных проводили с использованием программы SPSS Statistics 17.0. Вычисляли среднее арифметическое M , ошибку среднего m , значение вероятности p . Различия двух сравниваемых величин считали статистически значимыми при $p < 0,05$. При проверке на нормальность использовали критерий Шапиро–Уилка. Для определения различий между двумя группами применяли критерий Манна–Уитни, более двух групп исследования – критерий Краскала–Уоллиса.

Результаты и обсуждение

Изучение активности матричных металлопротеиназ, тканевых ингибиторов и содержания креатинина при заболеваниях почек позволяет оценить состояние процессов протеолиза, развития обратимых и необратимых реакций, прогнозирования осложнений при остром и хроническом гломерулонефрите и хроническом пиелонефрите. Данные по содержанию ММП-1, -2, -9, ТИМП-1, -2 и креатинина в сыворотке крови детей с острым и хроническим гломерулонефритом и хроническим пиелонефритом представлены в таблице.

При заболеваниях почек у детей обнаружено увеличение содержания ММП-1 на 41,8% при остром и на 15,0% при хроническом гломерулонефрите. При хроническом пиелонефрите этот показатель повышался на 31,1% по отношению к контрольной группе. Наиболее высокие значения установлены у больных острым гломерулонефритом, для которого характерно усиленное расщепление коллагена и развитие воспаления.

Содержание ММП-2, участвующей в деградации коллагена IV типа, при заболеваниях почек у детей практически не отличалось от значений контроля ($p > 0,05$). Однако при более детальном анализе было показано, что у 20% пациентов с хроническим пиелонефритом содержание ММП-2 превышало контрольные значения, а у 35% – было ниже этого уровня. Низкие значения содержания ММП-2, возможно, отражают индивидуальные особенности этой части пациентов и нивелируют более высокие значения этого показателя в группе.

Содержание матричных металлопротеиназ и их ингибиторов в сыворотке крови детей при заболеваниях почек

| Показатель, нг/мл | Контроль (20 пациентов) | Острый гломерулонефрит (15 пациентов) | Хронический гломерулонефрит (25 пациентов) | Хронический пиелонефрит (40 пациентов) |
|-------------------|-------------------------|---------------------------------------|--------------------------------------------|----------------------------------------|
| ММП-1 | $8,80 \pm 0,07$ | $12,48 \pm 1,17^*$ | $10,12 \pm 0,78^*$ | $11,54 \pm 1,19^*$ |
| ММП-2 | $242,87 \pm 12,02$ | $231,77 \pm 19,62$ | $215,90 \pm 21,37$ | $185,48 \pm 10,48$ |
| ММП-9 | $441,61 \pm 37,98$ | $352,67 \pm 13,13$ | $334,17 \pm 24,58^*$ | $331,71 \pm 37,66^*$ |
| ТИМП-1 | $168,66 \pm 15,58$ | $201,13 \pm 9,75^*$ | $220,22 \pm 15,25^*$ | $201,92 \pm 8,52^*$ |

| | | | | |
|---------------------|----------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| ТИМП-2 | 120,48 ± 10,87 | 159,82 ± 12,09* | 236,06 ± 15,04* | 194,16 ± 18,67* |
| Креатинин, мкмоль/л | 46,88 ± 4,62 | 68,74 ± 6,44* | 76,32 ± 6,54* | 73,51 ± 5,53* |

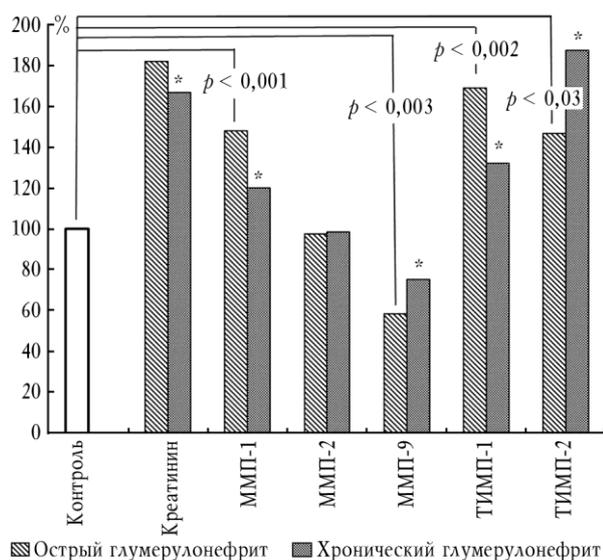
* Уровень статистической значимости различий по сравнению с контролем ($p < 0,05$).

Содержание ММП-9 снижалось на 32,1% у пациентов с хроническим гломерулонефритом и на 33,1% при хроническом пиелонефрите по отношению к значениям в контрольной группе ($p < 0,05$). Уменьшение этого показателя характеризует накопление продуктов деградации коллагена и развитие склеротических процессов в почечных канальцах.

Следует отметить, что во всех группах больных детей происходило повышение содержания ТИМП-1 и ТИМП-2, являющиеся признаком накопления внеклеточного коллагена и фактором риска развития склеротических изменений в ткани почек. Наиболее значительное повышение ТИМП-1 и ТИМП-2 (на 33,4 и 95,9%

соответственно) наблюдалось при хроническом гломерулонефрите. Содержание креатинина, показателя нарушения процессов фильтрации в клубочках, повышалось в 1,5–1,6 раза во всех группах больных. Все эти изменения отражают степень прогрессирования заболевания и приводят к нарушению функции почек.

Уровень ММП и ТИМП у пациентов с нарушенной функцией почек оказался в 1,3–1,5 раза выше, чем у больных без таковых нарушений. Сравнительный анализ полученных данных показал, что при хроническом и остром гломерулонефрите с нарушенной функцией почек повышается содержание креатинина (рисунок). Более высокие значения содержания ММП-1, также как креатинина, выявлены при нарушении функции почек у больных с острым гломерулонефритом, что обусловлено активным воспалительным процессом при острых состояниях.



Показатели экстраклеточного протеолиза при остром и хрониче-

ском гломерулонефрите с нарушенной функцией почек: * – уровень статистической значимости различий между группами острого и хронического гломерулонефрита ($p < 0,05$). За 100% приняты показатели здоровых детей

Различий между содержанием ММП-2 при остром, хроническом гломерулонефрите и контрольными значениями не выявлено. Содержание ММП-9, препятствующей воспалению и участвующей в повреждении и повышении проницаемости эндотелия, снижается в большей степени при остром гломерулонефрите, что способствует развитию воспалительных процессов. В такой ситуации создаются условия для вовлечения других систем, участвующих в воспалительных процессах: цитокинов, вазоактивных протеиназ [4, 7]. Известно, что ММП способны гидролизовать также эластин, структурные белки матрикса, ингибиторы сериновых протеиназ (α_1 -протеиназный ингибитор (α_1 -ПИ), антиплазмин, антитромбин, α_2 -макроглобулин (α_2 -МГ)). Ранее нами было обнаружено снижение активности α_1 -ПИ и α_2 -МГ и повышение активности ангиотензин-превращающего фермента при заболеваниях почек [8], что, возможно, обусловлено повышением содержания ММП-1 и снижением ММП-9.

Содержание ТИМП-1, являющегося ингибитором ММП-1, участвующей в расщеплении нативного коллагена, было выше при остром гломерулонефрите, а ТИМП-2 – при хроническом гломерулонефрите. ТИМП-2 является ингибитором ММП-2 и ММП-9, расщепляющих денатурированный коллаген. Возможно, реакция соответствующего ингибитора обусловлена длительностью острого и хронического процесса при заболеваниях почек у детей и наличием высокомолекулярного коллагена, а также продуктов его деградации в обоих случаях. Кроме того, имеются сведения о том, что увеличение продукции ТИМП-1 обеспечивает развитие гиперплазии интимы сосудов и приводит к гипертонической болезни [9].

Анализ полученных данных показал, что к специфическим признакам дисбаланса между матриксными протеиназами и их тканевыми ингибиторами при остром и хроническом гломерулонефрите относятся повышение содержания ММП-1, ТИМП-2, а также снижение ММП-9, характерные для активного воспалительного процесса при остром гломерулонефрите. Реакция протеиназ и ингибиторов при остром гломерулонефрите, характерная для воспалительных процессов, может приводить к гиперемии клубочков и повышать риск микроальбуминурии при нарушенной функции почек. При хроническом гломерулонефрите в результате снижения содержа-

ния ММП-9, повышения ММП-1, ТИМП-2 происходит накопление внеклеточного матрикса, развиваются склеротические изменения, отек, атрофия клубочков. Известно, что повышение ТИМП-1 и ТИМП-2 сопровождается фиброзными изменениями, наличием очагов воспаления [7]. Увеличение содержания ТИМП-1, и особенно ТИМП-2, при хроническом пиелонефрите у детей также может приводить к склеротическим и фиброзным изменениям в почках.

Выводы

1. При заболеваниях почек у детей наблюдается дисбаланс между металлопротеиназами и их тканевыми ингибиторами, способствующий накоплению экстраклеточного матрикса, наиболее выраженный при хроническом пиелонефрите.

2. В сыворотке крови детей, страдающих острым и хроническим гломерулонефритом, повышается содержание ММП-1, содержание ММП-2 практически не изменяется, а содержание ММП-9 снижается. Наиболее значительные изменения обнаружены у пациентов с нарушенной функцией почек.

3. Реакция тканевых ингибиторов при заболеваниях почек у детей выражена в большей степени, чем самих металлопротеиназ. Преобладающее увеличение уровня тканевых ингибиторов, повышение содержания ММП-1 и снижение ММП-9 в крови способствует накоплению белков межклеточного матрикса, прогрессированию заболевания с развитием склеротических и фиброзных изменений в почках.

Литература

1. Соловьева Н.И. Матриксные металлопротеиназы и их биологические функции // Биоорганическая химия. 1998. 24(4). С. 245–255.
2. Nagase H., Woessner J.F., Jr. Matrix metalloproteinases // J. Biol. Chem. 1999. Jul. 30. 274(31). P. 21491–21494.
3. Gomez D.E., Alonso D.F., Yoshiji H., Thorgeirsson U.P. Tissue inhibitors of metalloproteinases: structure, regulation and biological functions // Eur. J. Cell. Biol. 1997. Oct. 74(2). P. 111–122.
4. Catania J.M., Chen G., Parrish A.R. Role of matrix metalloproteinases in renal pathophysiology // Am. J. Physiol. Renal. Physiol. 2007. Mar. 292(3). P. F905–911.
5. Ли О., Бобкова И.Н., Козловская Л.В. Концентрация в моче матриксных металлопротеиназ и их ингибиторов как показатель, характеризующий течение хронического гломерулонефрита // Клиническая нефрология. 2009. (1). С. 50–54.
6. Картамышева И.Н., Чумакова О.В., Кучеренко А.Г. Факторы прогрессирования хронического пиелонефрита и хронического интерстициального нефрита // Педиатрия. 2004. (5). С. 50–54.
7. Бондарь И.А., Климонтов В.В. Матриксные металлопротеиназы и их ингибиторы в развитии фиброза почек при сахарном диабете // Проблемы эндокринологии. 2012. (1). С. 39–44.
8. Егорова И.Р., Кондратьева Е.И., Терентьева А.А., Суханова Г.А. Состояние протеолитических систем при вторичном пиелонефрите у детей раннего возраста // Клинико-лабораторный консилиум. 2011. 3(39). С. 60–61.
9. Basile D.P., Fredrich K., Weihrauch D. et al. Angiostatin and matrix metalloprotease expression following ischemic acute renal failure // Am. J. Physiol. Renal. Physiol. 2004. May. 286(5). P. F893–902.

Поступила в редакцию 02.04.2015 г.

Утверждена к печати 27.05.2015 г.

Суханова Галина Алексеевна (✉) – д-р биол. наук, профессор кафедры биохимии и молекулярной биологии СибГМУ (г. Томск).

Терентьева Алла Александровна – канд. мед. наук, доцент кафедры педиатрии ФПК и ППС СибГМУ (Томск).

Кувшинов Николай Николаевич – ст. преподаватель кафедры физиологии человека и животных НИ ТГУ (г. Томск).

✉ Суханова Галина Алексеевна, тел. 8-913-842-5729; e-mail: galsu2012@yandex.ru

THE ROLE OF MATRIX METALLOPROTEINASES AND THEIR TISSUE INHIBITORS IN THE DEVELOPMENT OF COMPLICATIONS OF KIDNEY DISEASE IN CHILDREN

Sukhanova G.A.¹, Terent'eva A.A.¹, Kuvshinov N.N.²

¹ Siberian State Medical University, Tomsk, Russian Federation

² National Research Tomsk State University, Tomsk, Russian Federation

ABSTRACT

The relevance of studying the role of matrix metalloproteinases (MMP) and tissue inhibitors (TIMP) in the pathology of the urinary system is determined, by the significant prevalence, prone to recurrent course of kidney disease in children. It is known that MMP-1 has pro-inflammatory action, MMP-2 and MMP-9 inhibits inflammation. TIMP-1 and TIMP-2 restricted cleavage of collagen. Disbalance between MMP and TIMP accompanied by the accumulation of extracellular matrix, increases the risk of chronic renal failure.

The purpose of the study – to assess the role of MMP and TIMP involved in the processes of inflammation and resulting to renal dysfunction in glomerulonephritis and pyelonephritis in children.

Material and methods. Surveyed of 15 children with a diagnosis of acute glomerulonephritis, 25 – chronic glomerulonephritis, 40 – chronic obstructive secondary pyelonephritis and 20 healthy children. In the group of patients with chronic glomerulonephritis renal function was impaired in 10 patients with chronic pyelonephritis – in 20 patients. The content of MMP-1, -2, -9 and TIMP-1, TIMP-2 in the serum of children was determined by ELISA.

Results. It was found that in acute and chronic glomerulonephritis in children increases the content of MMP-1, MMP-2 is almost not changed, while the content of MMP-9 is reduced, which characterizes the presence of inflammation. In chronic pyelonephritis in a more pronounced reduction of MMP-9, anti-inflammatory. The most significant changes were found in patients with impaired renal function. In all groups of patients experienced an increase in the level of TIMP-1 and TIMP-2.

Conclusion. Thus, increasing the level of tissue inhibitors, elevated levels of MMP-1, decreased MMP-9, contributes to the progression of the disease and the development of inflammation and the accumulation of extracellular matrix proteins of interstitial kidney tissue, resulting in sclerotic and fibrotic changes.

KEY WORDS: matrix metalloproteinases, tissue inhibitors, acute and chronic glomerulonephritis, chronic pyelonephritis.

Bulletin of Siberian Medicine, 2015, vol. 14, no. 3, pp. 35–39

References

1. Solov'eva N.I. Matriksnye metalloproteinazy i ikh biologicheskie funktsii [Matrix metalloproteinases and their biological functions]. *Bioorganicheskaja khimija – Bioorg. Khim.*, 1998, 24 (4), pp. 245–255 (in Russian).
2. Nagase H., Woessner J.F., Jr. Matrix metalloproteinases. *J. Biol. Chem.*, 1999, Jul. 30, 274 (31), pp. 21491–21494.
3. Gomez D.E., Alonso D.F., Yoshiji H., Thorgeirsson U.P. Tissue inhibitors of metalloproteinases: structure, regulation and biological functions. *Eur. J. Cell. Biol.*, 1997, Oct. 74 (2), pp. 111–122.
4. Catania J.M., Chen G., Parrish A.R. Role of matrix metalloproteinases in renal pathophysiology. *Am. J. Physiol. Renal. Physiol.*, 2007, Mar. 292(3), pp. F905–911.
5. Li O.A., Bobkova I.N., Kozlovskaja L.V. Kонтратsiya v moche matriksnykh metalloproteinaz i ikh inhibitorov kak pokazatel', kharakterizuyushchij techenie khronicheskogo glomerulonefrita [The concentration in urine matrix metalloproteinases and their inhibitors, as an indicator characterizing the course of chronic glomerulonephritis]. *Klinicheskaja nefrologia – Clinical Nephrology*, 2009, (1), pp. 50–54 (in Russian).
6. Kartamysheva I.N., Chumakova O.V., Kucherenko A.G. Faktory progressirovaniya khronicheskogo pielonefrita i khronicheskogo interstitsial'nogo nefrita [Factors of progression of chronic pyelonephritis and chronic interstitial nephritis]. *Pediatry – Pediatrics*, 2004, (5), pp. 50–54 (in Russian).
7. Bondar' I.A., Klimontov V.V. Matrixnye metalloproteinazy i ikh inhibitory v razvitii fibroza pochek pri sahnornom diabete [The role of matrix metalloproteinases and their inhibitors in the development of renal fibrosis in the patients with diabetes mellitus]. *Problemy Endokrinologii – Endocrinology*, 2012, 58 (1), pp. 39–44 (in Russian).
8. Egorova I.R., Kondrat'eva E.I., Terent'eva A.A., Sukhanova G.A. Sostoyanie proteoliticheskikh sistem pri vtornom pielonefrite u detey rannego vozrasta [The state of the proteolytic systems in secondary pyelonephritis in children of early age]. *Kliniko-laboratornyy konsilium – Clinical Laboratory Consultation*, 2011, 3 (39), pp. 60–61 (in Russian).
9. Basile D.P., Fredrich K., Weihrauch D. et al. Angiostatin and matrix metalloprotease expression following ischemic acute renal failure. *Am. J. Physiol. Renal. Physiol.*, 2004, May. 286 (5), pp. F893–902.

Sukhanova Galina A. (✉), Siberian State Medical University, Tomsk, Russian Federation.

Terent'eva Alla A., Siberian State Medical University, Tomsk, Russian Federation.

Kuvshinov Nikolay N., National Research Tomsk State University, Tomsk, Russian Federation.

✉ Sukhanova Galina A., Ph. +7-913-842-5729; e-mail: galsu2012@yandex.ru