

РОЛЬ МСР-1 И МАТРИКСНЫХ МЕТАЛЛОПРОТЕИНАЗ В ПАТОГЕНЕЗЕ
ВОСПАЛИТЕЛЬНОГО ПОВРЕЖДЕНИЯ ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

*Алимбекова Лобархон Уткур қизи¹, Сабирова Рихси Абдукадировна², Ганиев Алишер
Кодиралиевич³*

*¹- докторант кафедры медицинской и биологической химии №1 Ташкентского
государственного медицинского университета, PhD;*

*²- профессор кафедры медицинской и биологической химии №1 Ташкентского
государственного медицинского университета, д.м.н.;*

*³- докторант 2-го года кафедры медицинской и биологической химии №1 Ташкентского
государственного медицинского университета, PhD*

Аннотация. Воспалительное повреждение поджелудочной железы сопровождается активацией цитокинов, хемокинов и ферментов ремоделирования внеклеточного матрикса, играющих важную роль в развитии тканевой деструкции и поддержании воспалительного процесса. При индуцировании острого экспериментального панкреатита L-аргинином, выявлено значительное повышение МРС-1, ММР-2, ММР-9. Проведение коррекции с применением ремикеида и иммуномодулина приводило к снижению выраженности воспалительных изменений. Наиболее выраженный эффект отмечен при комбинированной терапии.

Ключевые слова: острый панкреатит, цитокины, МРС-1, ММР-2, ММР-9

Annotatsiya. Me'da osti bezining yallig'lanishli shikastlanishi to'qima destruksiya va yallig'lanish jarayonining davom etishida muhim ahamiyatga ega bo'lgan sitokinlar, xemokinlar hamda hujayradan tashqari matriksni remodellashtiruvchi fermentlarning faollashuvi bilan kechadi. L-arginin yordamida chaqirilgan eksperimental o'tkir pankreatitda MCP-1, MMP-2 va MMP-9 darajalarining sezilarli oshishi aniqlangan. Remikeyd va immunomodulin qo'llanilgan korreksion davolash yallig'lanish o'zgarishlarining kamayishiga olib kelgan. Eng yaqqol samaradorlik kombinatsiyalangan terapiya qo'llanilganda kuzatilgan.

Kalit so'zlar: o'tkir pankreatit, L-arginin, sitokinlar, MPC-1, MMP-2, MMP-9.

Abstract. Inflammatory injury of the pancreas is accompanied by activation of cytokines, chemokines, and extracellular matrix remodeling enzymes, which play an important role in the development of tissue destruction and maintenance of the inflammatory process. In L-arginine-induced experimental acute pancreatitis, a significant increase in MCP-1, MMP-2 and MMP-9 levels was observed. Corrective treatment with Remicade and Immunomodulin led to a reduction in the severity of inflammatory changes. The most pronounced effect was observed during combination therapy.

Keywords: acute pancreatitis, L-arginine, cytokines, MPC-1, MMP-2, MMP-9

Общеизвестно, что воспалительное повреждение поджелудочной железы – является результатом сложного многоступенчатого патологического процесса, характеризующийся активацией цитокинов, хемокинов, клеток иммунитета и ферментных систем, участвующих в ремоделировании внеклеточного матрикса [8, 2].

Наибольший интерес, для исследователей составляют молекулярные механизмы воспалительной инфильтрации и тканей деструкции, определяющие тяжесть течения острого панкреатита и развитие его осложнений [7,1].

Одним из ключевых медиаторов воспалительной клеточной инфильтрации, относящийся к семейству хемокинов, является моноцитарный хемоаттрактантный

белок-1 (MCP-1), который играет важную роль в миграции моноцитов и макрофагов в очаг воспаления, способствуя накоплению клеток в ткани поджелудочной железы [5]. Активация макрофагально-моноцитарной системы сопровождается усилением продукции провоспалительных цитокинов, активных форм кислорода и ферментов тканевой деградаци, что приводит к прогрессированию воспалительного процесса и усилению клеточного повреждения. Кроме того, MCP-1 рассматривается как один из важных регуляторов хронического воспаления и воспалительного ремоделирования тканей [3].

Существенное значение в патогенезе воспалительного повреждения поджелудочной железы имеют матриксные металлопротеиназы (MMPs), представляющие собой группу протеолитических ферментов, участвующих в деградаци компонентов внеклеточного матрикса. Интерес в изучении MMP-2 и MMP-9 связан с их способностью разрушать коллаген, желатин и другие структурные компоненты межклеточного матрикса при развитии воспалительного процесса [9]. Повышение активности данных ферментов сопровождается нарушением тканевой архитектоники, повышением сосудистой проницаемости, усилением миграции воспалительных клеток и прогрессированием деструктивных изменений в ткани поджелудочной железы [4].

Известно, что MMP-9 преимущественно ассоциируется с ранней фазой острого воспалительного повреждения и отражает степень активности воспалительной инфильтрации и тканевой деструкции. В то же время MMP-2 играет важную роль в процессах позднего воспалительного ремоделирования, фиброзировании и восстановления повреждённых тканей. Нарушение баланса между воспалительными хемокинами и матриксными металлопротеиназами способствует поддержанию хронического воспаления и прогрессированию морфофункциональных изменений поджелудочной железы [1,3].

Несмотря на значительное количество исследований, посвящённых патогенезу острого панкреатита, роль MCP-1, MMP-2 и MMP-9 в механизмах воспалительного повреждения и ремоделирования ткани поджелудочной железы остаётся недостаточно изученной.

Цель исследования: изучение роли MCP-1 и матриксных металлопротеиназ (MMP-9, MMP-2) в патогенезе воспалительного повреждения поджелудочной железы и их коррекция.

Эксперименты проведены на 150 белых беспородных крысах-самцах весом 200-250 гр. Экспериментальное воспроизведение острого панкреатита проводилось внутрибрюшинным 2-х кратным введением высоких доз раствора L-аргинина, по 4 г на кг массы тела, с интервалом в 1 час приготовленного на физиологическом растворе (0,9% NaCl) по модифицированному методу Т.Мизунума, С.Кавамура и Ю.Кисино (1984) [6]. Двухкратное введение 1 часом позже обосновывается стабильным воспроизведением некротизирующий ОП при низкой летальности; это стандарт методик с наилучшей воспроизводимостью. На 1-, 3-, 7- и 10-ые дни после индукции острого панкреатита проводился забор крови из хвостовой вены для исследования изученных показателей.

После моделирования острого панкреатита животные были разделены на следующие группы:

1. интактная - 10 животных;
2. контрольная (без лечения) – 10 животных;
3. группа животных, лечённая внутрибрюшинным введением препарата ремикейда в дозировке 5 мг/кг в 8-ые и 14-ые сутки эксперимента – 40 животных;

4. группа животных, лечённая внутривенным (хвостовая вена) введением препарата иммуномодулина из расчёта 1 мг/кг ежедневно в течении 7 дней терапии - 40 животных;
5. группа лечённая сочетанным применением ремикейда и иммуномодулина - 40 животных;

Ремикейд (международное название — инфликсимаб) — это лекарственный препарат из группы биологических средств, представляющий собой химерное моноклональное антитело к фактору некроза опухоли альфа (TNF- α). Препарат подавляет активность TNF- α , одного из ключевых провоспалительных цитокинов, тем самым уменьшая выраженность воспалительного процесса.

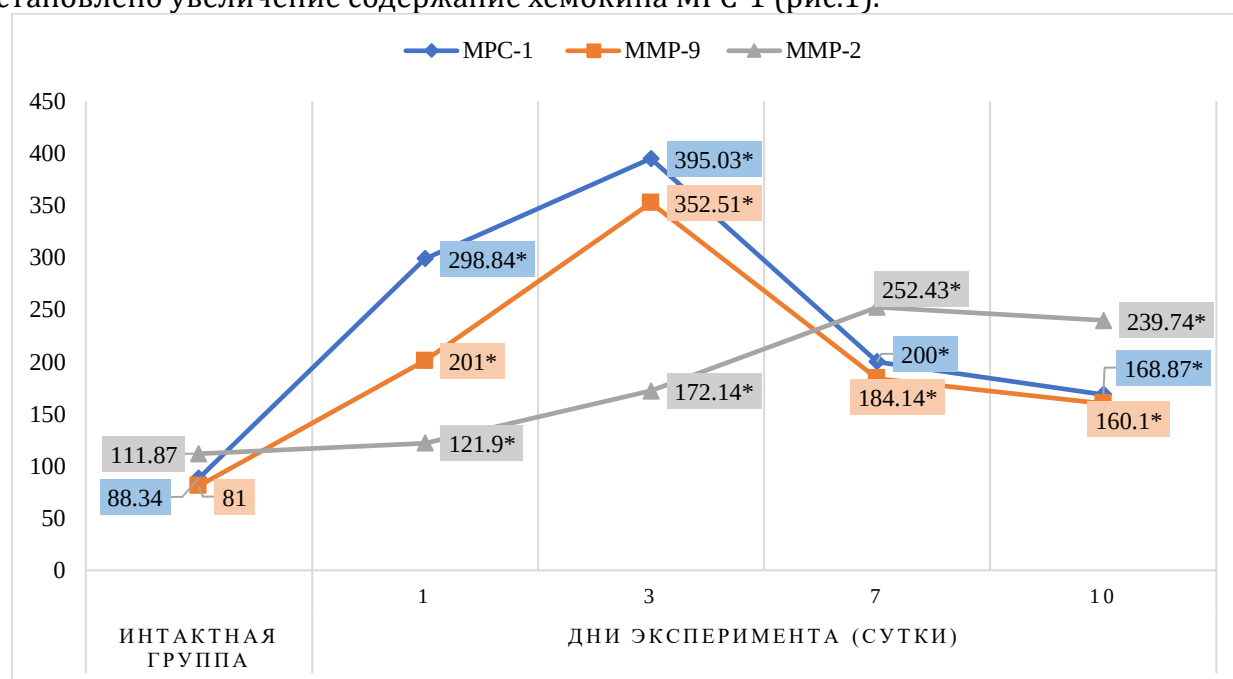
Иммуномодулин — препарат из группы иммуномодулирующих средств, оказывающий регулирующее влияние на иммунную систему. Он способствует нормализации иммунного ответа, снижает выраженность воспалительных реакций и повышает адаптационные возможности организма.

Уровень содержания цитокинов MPC-1, MMP-9, MMP-2 в сыворотке крови исследовали с помощью иммуноферментного анализа (ELISA) с использованием стандартных тест-систем фирмы Finetest (Китай). Данный тест основан на методе количественного твердофазного иммуноферментного анализа типа «сэндвич». Измерение оптической плотности производили с помощью иммуноферментного анализатора HUMAREADER HS (Human, Германия) при длине волны 450/620 нм. Содержание исследуемого показателя выражали в ед/мл.

Статистический анализ проводился с помощью программ Microsoft Excel 2010. Вычисляли среднее арифметические (M), среднеквадратичное отклонение (σ), относительные величины (частота, проценты), критерий Стьюдента (t) с вычислением вероятности ошибки (P).

Статистические материалы обрабатывали по программе Jamovi 2.2.5.0.

Результаты исследования и их обсуждение. При моделировании острого экспериментального панкреатита с 2х разовым введением раствора L-аргинина установлено увеличение содержание хемокина MPC-1 (рис.1).



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

Рис.1. Динамика изменения МСР-1, ММР-2 и ММР-9 при экспериментальном остром панкреатите (пг/мл)

На 1-е сутки развития острого панкреатита содержание МСР-1 достоверно превышало показатели интактной группы в 3,4 раза. Наиболее выраженное повышение содержания данного хемокина по сравнению с интактными животными было выявлено на 3-и сутки воспроизведения модели заболевания, что сопровождалось достоверным увеличением уровня МСР-1 в 4,5 раза по сравнению с интактной группой.

На 7-е сутки эксперимента наблюдалась тенденция к снижению содержания МСР-1, однако исследуемый показатель всё ещё превышал значения интактной группы в 2,26 раза. К 10-м суткам тенденция к снижению сохранялась, при этом содержание МСР-1 оставалось в 1,9 раза выше по сравнению с интактными животными.

На 1-е сутки развития острого панкреатита активность ММР-9 (рис.1) увеличилось в 2,5 раза по сравнению с интактной группой. Наиболее выраженное повышение активности ММР-9 выявлено на 3-и сутки исследования, исследуемый показатель превысил значения интактной группы в 4,35 раза, что свидетельствует о максимальной выраженности воспалительно-деструктивных процессов в ткани поджелудочной железы. На 7- и 10-е сутки эксперимента установлена тенденция к снижению активности ММР-9, однако исследуемый показатель всё ещё превышал значения интактной группы в 2,27 и 2 раза соответственно.

На 1- и 3-е сутки развития острого панкреатита активность ММР-2 (рис.2.) увеличивалось незначительно и превышало показатели интактной группы в 1,1 и 1,54 раза соответственно. Наиболее выраженное повышение активности ММР-2 наблюдалось на 7-е сутки исследования, его увеличение составило 2,14 раза по сравнению с интактной группой, что свидетельствует об активации процессов воспалительного ремоделирования, нарушении структуры внеклеточного матрикса и возможном формировании фиброзных изменений.

К 10-м суткам эксперимента отмечалась тенденция к снижению активности ММР-2, однако исследуемый показатель всё ещё достоверно превышал значения интактной группы в 2,1 раза. Полученные результаты свидетельствуют о сохранении процессов воспалительного ремоделирования даже на поздних сроках экспериментального панкреатита.

Таким образом, при развитии острого экспериментального панкреатита происходит увеличение содержания хемокина МРС-1 и активности металлопротеиназ с 1-х суток развития эксперимента, наиболее выраженные изменения установлены на 3-е сутки эксперимента. 7- и 10-ый дни эксперимента характеризуются некоторым спадом изученных показателей, но все еще достоверно превышают значения интактных животных.

Результаты исследования действия препаратов на содержание МРС-1 приведены в рисунке №2. При проведении лечения ремикейдом в течение 1-ой сутки установлено повышение содержания МСР-1 на 13,1% по сравнению с контрольной группой. На 3-и сутки исследования содержание МСР-1 снижался на 9,1%, а на 7-е и 10-е сутки на 33,1 и 43,3% соответственно относительно контрольной группы.

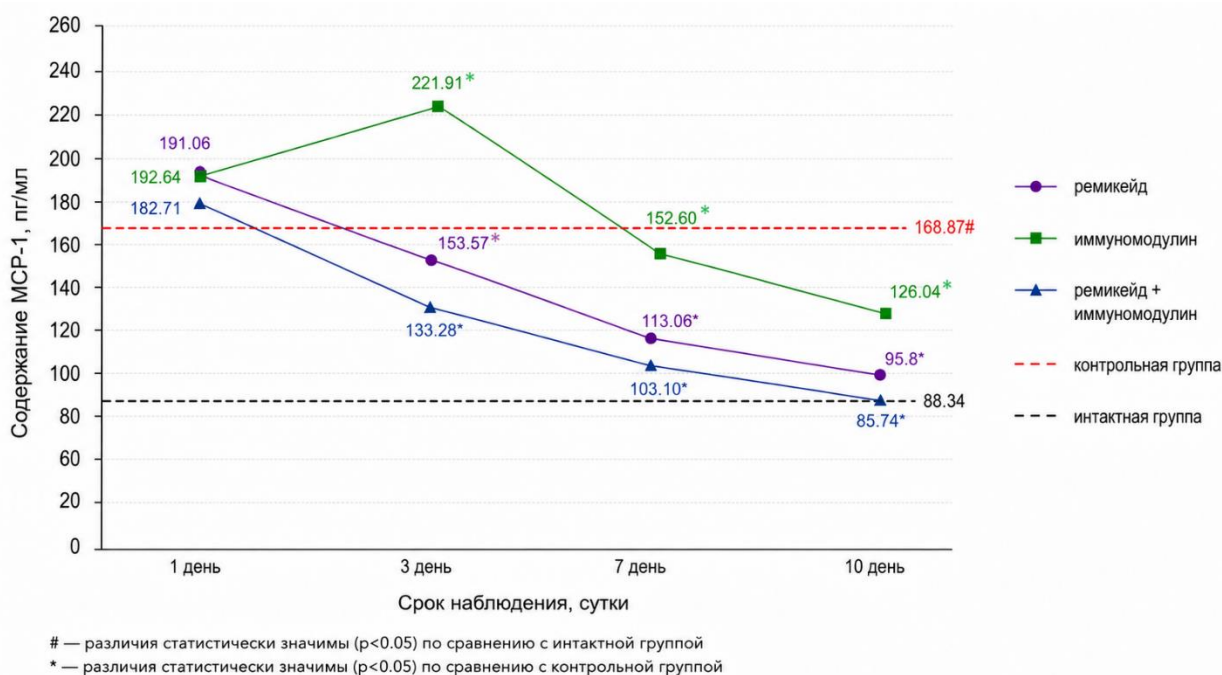


Рис.2. Влияние коррекции на содержание МРС-1 у крыс с острым экспериментальным панкреатитом (пг/мл)

При лечении иммуномодулином содержание МРС-1 на 1-е и 3-и сутки увеличивалось на 14,07 и 31,4% соответственно по сравнению с контрольной группой. На 7-е и 10-е сутки исследования наблюдалось снижение уровня МРС-1 на 9,4 и 25,4% соответственно относительно животных контрольной группы.

Наиболее значительные изменения уровня МРС-1 были выявлены при комбинированном применении ремикейда и иммуномодулина. Так, содержание МРС-1 снижалось на 21,1 и 38,9% соответственно на 3- и 7-е сутки исследования по сравнению с контрольной группой. Наиболее выраженное влияние комбинированная терапия оказывала на 10-е сутки лечения, снижая исследуемый показатель на 49,3% относительно животных контрольной группы.

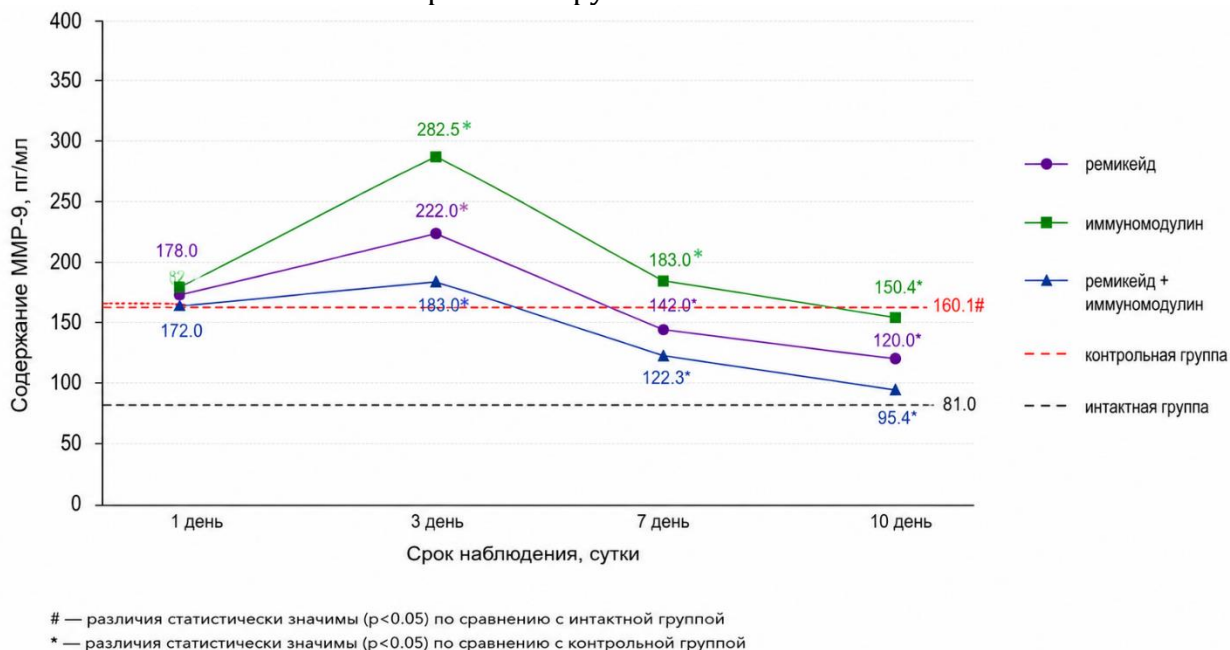


Рис.3. Влияние коррекции на активность ММР-9 у крыс с острым экспериментальным панкреатитом (пг/мл)

При проведении лечения ремикейдом в течение 1-х суток нами выявлено снижение активности ММР-9 на 11,2% по сравнению с контрольной группой. На 3-и сутки исследования активность ММР-9 под влиянием ремикейда повышена на 38,7% по отношению к значениям контрольной группы, однако всё ещё оставалось повышенным в 2,7 раза относительно интактных животных. На 7-е и 10-е сутки исследования активность ММР-9 снижался на 11,31 и 25,1% соответственно относительно контрольной группы.

При лечении иммуномодулином активность ММР-9 на 1-е и 3-и сутки увеличилось на 14,1 и 76,45% соответственно по сравнению с контрольной группой. На 7-е сутки установлено повышение активности ММР-9 на 14,3% относительно животных контрольной группы.

Наиболее значительные изменения активности ММР-9 были выявлены при комбинированном применении ремикейда и иммуномодулина. На 3-е лечения активность ММР-9 остается повышенным на 23,6% по отношению контрольной группы. На 7-е и 10-е сутки лечения активность ММР-9 снизилась на 23,6 и 40,4% соответственно по сравнению с контрольной группой. Наиболее выраженное влияние комбинированная терапия оказывала на 10-е сутки лечения.

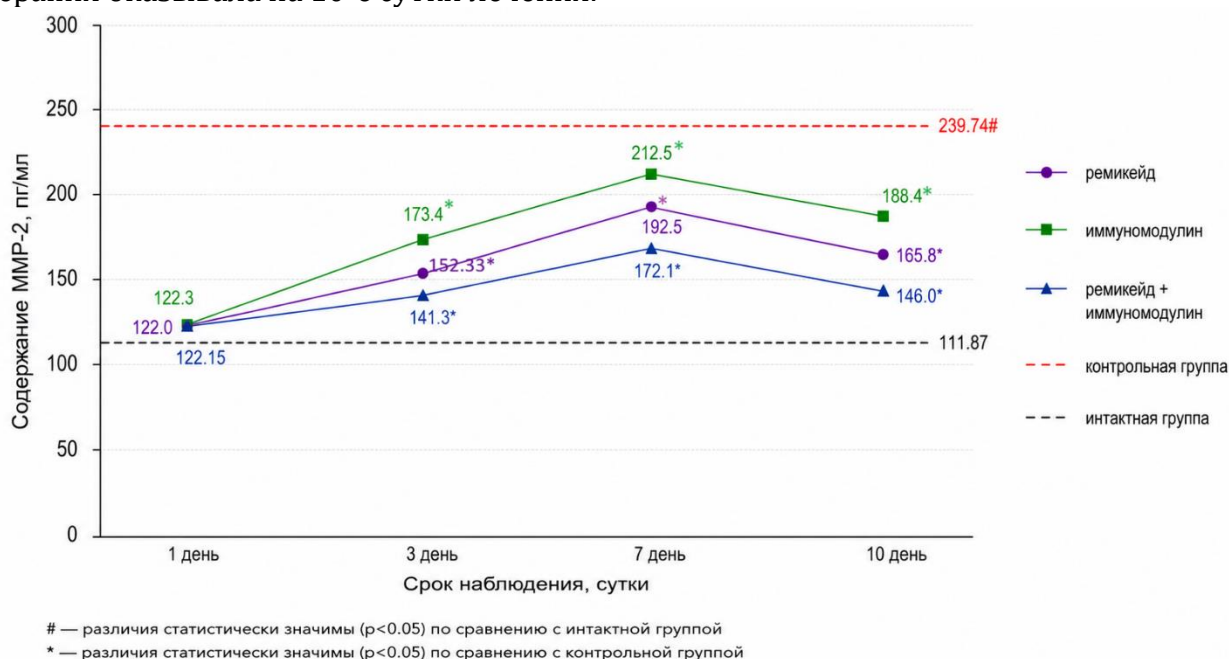


Рис.4. Влияние коррекции на активность ММР-2 у крыс с острым экспериментальным панкреатитом (пг/мл)

При проведении лечения ремикейдом в течение 1- и 3-ей суток выявлено снижение активности ММР-2 на 49,1 и 36,6% соответственно по сравнению с контрольной группой. На 7-е и 10-е сутки активность ММР-2 показателя снижался на 19,7 и 30,84% соответственно относительно контрольной группы.

При лечении иммуномодулином активность ММР-2 на 1-е и 3-и сутки снизилась на 48,9 и 27,7% соответственно по сравнению с контрольной группой. на 7-е и 10-е сутки наблюдалось снижение исследуемого показателя на 11,4 и 21,4% соответственно по сравнению с контрольной группой.

Наиболее выраженные изменения активности ММР-2 были выявлены при комбинированном применении ремикейда и иммуномодулина. На 1-, 3-, 7- и 10-е сутки

лечения активность ММР-2 снизилось 1,96; 1,7; 1,4 и 1,6 раза по сравнению с контрольной группой.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что экспериментальный острый панкреатит, индуцированный введением L-аргинина, сопровождается выраженной активацией воспалительных и деструктивно-ремоделирующих механизмов, что проявлялось значительным повышением содержания МСР-1, активности ММР-9 и ММР-2 в сыворотке крови экспериментальных животных. Результаты исследования отражают сложный каскад воспалительных реакций, включающих активацию макрофагально-моноцитарной системы, усиление миграции воспалительных клеток и нарушение структуры внеклеточного матрикса поджелудочной железы.

Повышение уровня МСР-1 является одним из первых и выраженных изменений, максимальные значения которого наблюдались на 3-и сутки эксперимента. Общеизвестно, что МСР-1 играет ключевую роль в привлечении моноцитов и макрофагов в очаг воспаления, способствуя поддержанию воспалительной инфильтрации и прогрессированию тканевого повреждения. Повышение данного хемокина при остром панкреатите свидетельствует об активации клеточного звена воспаления и усилении продукции провоспалительных медиаторов.

Одновременно с этим наблюдалось значительное повышение активности ММР-9, особенно выраженное в ранние сроки эксперимента. Данная металлопротеиназа ассоциируется с процессами воспалительной деструкции тканей, повышением сосудистой проницаемости и деградацией компонентов внеклеточного матрикса. Максимальное повышение активности ММР-9 на 3-и сутки исследования указывает на высокую активность воспалительно-деструктивных процессов в ткани поджелудочной железы в острый период заболевания.

В отличие от ММР-9, повышение активности ММР-2 носило более отсроченный характер и достигало максимальных значений к 7-м суткам эксперимента. Это свидетельствует о вовлечении ММР-2 преимущественно в процессы позднего воспалительного ремоделирования и формирования структурных изменений ткани поджелудочной железы. Полученные данные согласуются с современными представлениями о роли ММР-2 в развитии фиброзирования и нарушении архитектоники внеклеточного матрикса при хроническом воспалении.

Проведение коррекции ремикейдом сопровождалось снижением содержания исследуемых показателей, особенно на поздних сроках наблюдения. Вероятно, ингибирование TNF- α под действием инфликсимаба способствовало уменьшению активности воспалительного каскада, снижению миграции воспалительных клеток и подавлению продукции медиаторов тканевой деструкции.

Применение иммуномодулина также оказывало положительное влияние на исследуемые показатели, однако эффект был менее выраженным по сравнению с ремикейдом. В ранние сроки эксперимента у части животных даже отмечалась тенденция к сохранению повышенного содержания МСР-1 и активности ММР-9, что может быть связано с особенностями иммунорегулирующего действия препарата. Вероятно, данный эффект связан с фазовой перестройкой иммунного ответа и временной активацией клеточного звена иммунитета в ранние сроки воспалительного процесса.

Наиболее выраженное снижение уровня МСР-1, активности ММР-9 и ММР-2 наблюдалось при комбинированном применении ремикейда и иммуномодулина. Полученные результаты свидетельствуют о синергизме противовоспалительного и иммунокорригирующего действия комбинированной терапии, способствующей более эффективному подавлению воспалительной инфильтрации, тканевой деструкции и

процессов патологического ремоделирования при экспериментальном остром панкреатите.

Вывод. Экспериментальный острый панкреатит сопровождается значительным повышением уровней МСР-1, ММР-9 и ММР-2, что свидетельствует об активации воспалительной инфильтрации, тканевой деструкции и процессов ремоделирования поджелудочной железы. Применение ремикейда и иммуномодулина способствует снижению выраженности указанных изменений, при этом наибольший эффект наблюдается при их комбинированном использовании. Полученные результаты подтверждают важную роль МСР-1, ММР-9 и ММР-2 в патогенезе острого панкреатита и перспективность их коррекции для ограничения воспалительного повреждения ткани поджелудочной железы.

ЛИТЕРАТУРА

1. Багненко С.Ф., Гольцов В.Р., Савелло В.Е. Острый панкреатит: современные представления о патогенезе, диагностике и лечению. Вестник хирургии имени И.И. Грекова. 2021;180(5):11-19. doi: 10.24884/0042-4625-2021-180-5-11-19.
2. Парфенов И.П., Селиванова Н.Б. Современные представления о роли цитокинов в патогенезе острого панкреатита. Медицинский альманах. 2021;2:45-51.
3. Самгина Т.А., Блинова О.В. Роль хемокинов и макрофагальной инфильтрации в патогенезе острого панкреатита. Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. 2022;198(2):87-93.
4. Хамраев Ж.Ж., Турсунов Б.Б. Матриксные металлопротеиназы и ремоделирование внеклеточного матрикса при остром панкреатите. Биология ва тиббиёт муаммолари. 2024;2(154):98-104.
5. Bhatia M. Chemokines and pancreatic inflammation in acute pancreatitis. J Pathol. 2021 Jun;254(2):127-138. doi: 10.1002/path.5651. PMID: 33655541.
6. Lagunes-Servín H, Torres-Ramos YD, Servín-Caamaño AI, et al. Matrix metalloproteinases and their role in acute pancreatitis. Pancreatology. 2021 Sep;21(6):1145-1153. doi: 10.1016/j.pan.2021.06.006. PMID: 34266682.
7. Li Y, Zhou X, Huang Z, et al. Inflammatory mechanisms and immune response in acute pancreatitis: recent advances and future perspectives. Front Immunol. 2023 May 9;14:1184948. doi: 10.3389/fimmu.2023.1184948. PMID: 37228827; PMCID: PMC10208264.
8. Mederos MA, Reber HA, Girgis MD. Acute Pancreatitis: A Review. JAMA. 2021 Jan 12;325(4):382-390. doi: 10.1001/jama.2020.20317. PMID: 33427808.
9. Mizunuma T, Kawamura S, Kishino Y. Effects of injecting excess arginine on rat pancreas. J Nutr. 1984;114(2):467-471. doi:10.1093/jn/114.2.467. PMID: 6693880.