



АССОЦИАЦИЯ МАТРИКСНЫХ МЕТАЛЛОПРОТЕИНАЗ И ИХ ТКАНЕВОГО ИНГИБИТОРА С АКТИВНОСТЬЮ И ПРОГРЕССИРОВАНИЕМ ЗАБОЛЕВАНИЯ ПРИ СПОНДИЛОАРТРИТАХ И ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ КИШЕЧНИКА

Рахимов Сардорбек Самандарович
Зарипов Санжарбек Истамович

Ташкентского государственного медицинского университета

Аннотация: Цель исследования. Изучить взаимосвязь клинических показателей активности заболевания и функционального статуса при анкилозирующем спондилите (АС) и воспалительных заболеваниях кишечника (ВЗК) с уровнями матриксной металлопротеиназы-3 (ММП-3), матриксной металлопротеиназы-9 (ММП-9) и тканевого ингибитора матриксных металлопротеиназ-1 (ТИМП-1), а также оценить возможность использования ММП в качестве более информативных биомаркеров активности заболевания по сравнению с традиционными лабораторными показателями воспаления — С-реактивным белком (СРБ) и скоростью оседания эритроцитов (СОЭ).

Ключевые слова: анкилозирующий спондилит, воспалительные заболевания кишечника, матриксная металлопротеиназа-3, матриксная металлопротеиназа-9, тканевой ингибитор металлопротеиназ-1.

Введение: Внекишечные проявления являются частым клиническим проявлением воспалительных заболеваний кишечника. Суставы относятся к наиболее частым органам-мишеням, а сочетание воспалительных заболеваний кишечника со спондилитом или периферическим артритом рассматривается как энтеропатический вариант спондилоартрита.

Патогенез внекишечных проявлений при ВЗК до конца не изучен. Современные представления указывают на нарушение иммунорегуляторных механизмов слизистой оболочки кишечника, что приводит к проникновению антигенов кишечного содержимого в системный кровоток. Нарушение барьерной функции слизистой оболочки кишечника, снижение местной продукции иммуноглобулина А и изменение механизмов иммунной защиты способствуют развитию системного воспалительного ответа.

В результате воспалительного процесса в системный кровоток поступают цитокины, молекулы адгезии, продукты окислительного стресса и другие медиаторы воспаления, что способствует развитию внекишечных проявлений, включая поражение опорно-двигательного аппарата. Кроме того, нарушение проницаемости кишечной стенки может приводить к развитию патологических иммунных реакций на собственные ткани организма.

В последние годы особое внимание уделяется изучению матриксных металлопротеиназ и их тканевых ингибиторов, участвующих в регуляции процессов ремоделирования тканей, разрушении внеклеточного матрикса и развитии воспаления. Показано, что данные белки принимают участие как в формировании язвенных дефектов кишечника, так и в развитии суставного поражения при спондилоартритах.

Матриксные металлопротеиназы представляют собой семейство цинк-зависимых эндопептидаз, участвующих в деградации компонентов внеклеточного матрикса, тканевой реконструкции и процессах хронического воспаления. Естественными ингибиторами данных ферментов являются тканевые ингибиторы металлопротеиназ, регулирующие активность ММП и поддерживающие баланс между процессами разрушения и восстановления тканей.



Ранее была показана связь уровней ММП с активностью заболевания, выраженностью воспаления и прогрессированием структурных изменений при анкилозирующем спондилите. По данным ряда исследований, ММП-3 может превосходить традиционные показатели воспаления, такие как СРБ и СОЭ, в оценке активности заболевания.

Несмотря на имеющиеся данные, взаимосвязь ММП-3, ММП-9 и ТИМП-1 с активностью заболевания при анкилозирующем спондилите и воспалительных заболеваниях кишечника остается недостаточно изученной.

Материалы и методы: В исследование были включены пациенты, наблюдавшиеся в ревматологических и гастроэнтерологических отделениях лечебно-профилактических учреждений Республики Узбекистан в период с января 2022 года по декабрь 2026 года.

Основную группу составили 60 пациентов (35 мужчин и 25 женщин; средний возраст — $38,1 \pm 11,2$ года), из которых 20 больных страдали анкилозирующим спондилитом, 20 — воспалительными заболеваниями кишечника и 20 — сочетанием анкилозирующего спондилита и воспалительных заболеваний кишечника.

Контрольную группу составили 20 практически здоровых добровольцев, сопоставимых по полу и возрасту.

Диагноз анкилозирующего спондилита устанавливался согласно модифицированным Нью-Йоркским критериям (1984), а диагностика спондилоартрита проводилась в соответствии с критериями ESSG и рекомендациями ASAS. Все участники подписали информированное добровольное согласие на участие в исследовании. Исследование выполнено в соответствии с принципами Хельсинкской декларации и одобрено локальным этическим комитетом.

У всех пациентов регистрировались возраст, пол, длительность заболевания, возраст дебюта болезни, клинические проявления, наличие осложнений, показатели активности заболевания и сведения о проводимой терапии.

Для оценки активности анкилозирующего спондилита использовались индексы BASDAI и ASDAS-CRP. Активность воспалительных заболеваний кишечника оценивалась с использованием индекса активности болезни Крона (CAI) и критериев Truelove-Witts для язвенного колита.

Уровни ММП-3, ММП-9 и ТИМП-1 определялись в сыворотке крови методом твердофазного иммуноферментного анализа (ELISA). Одновременно определялись показатели СРБ и СОЭ как традиционные лабораторные маркеры воспаления. Полученные данные подвергались статистической обработке с использованием современных методов медицинской статистики. Различия считались статистически значимыми при $p < 0,05$.

Для оценки активности заболевания у пациентов с анкилозирующим спондилитом использовали индекс активности анкилозирующего спондилита Bath Ankylosing Spondylitis Disease Activity Index (BASDAI). Активность язвенного колита определяли согласно критериям Truelove-Witts, а для оценки активности болезни Крона применяли индекс активности болезни Крона (Crohn's Disease Activity Index — CDAI). У пациентов групп AC и AC+BЗК показатели BASDAI рассчитывались независимо от проводимой терапии для оценки взаимосвязи между уровнями ММП-3, ММП-9, ТИМП-1, СОЭ, С-реактивного белка и активностью заболевания.

У всех участников исследования из локтевой вены натощак осуществляли забор 8 мл венозной крови. Полученные образцы помещали в пробирки без антикоагулянта и выдерживали при комнатной температуре в течение 30 минут до полного свертывания крови. После этого образцы центрифугировали при скорости 3000 об/мин в течение 15

минут. Сыворотку отделяли и хранили при температуре -80°C до проведения лабораторного анализа.

Концентрации ММП-3, ММП-9 и ТИМП-1 в сыворотке крови определяли методом количественного твердофазного иммуноферментного анализа (ELISA) в соответствии с инструкциями производителя наборов реагентов. Оптическую плотность образцов измеряли на микропланшетном спектрофотометре при длине волны 450 нм. Скорость оседания эритроцитов (СОЭ) определяли автоматизированным методом, а концентрацию С-реактивного белка (СРБ) измеряли с использованием высокочувствительного иммунонефелометрического метода.

Статистический анализ: Статистическая обработка полученных данных проводилась с использованием программного пакета SPSS Statistics (IBM Corp., США). Категориальные переменные представлены в виде абсолютных значений и процентов, количественные показатели — в виде медианы и межквартильного диапазона либо среднего значения и стандартного отклонения.

Проверку распределения данных на нормальность осуществляли с помощью критерия Шапиро–Уилка. Поскольку большинство показателей не соответствовали нормальному распределению, для анализа использовались непараметрические методы статистики.

Для сравнения количественных показателей между несколькими независимыми группами применяли критерий Краскела–Уоллиса. Для проведения попарных сравнений использовали непараметрические пост-хок тесты. Оценку взаимосвязей между изучаемыми параметрами осуществляли с помощью рангового корреляционного анализа Спирмена.

Корреляции между показателями BASDAI и уровнями ММП-3, ММП-9, ТИМП-1, СОЭ и СРБ оценивали с использованием коэффициента корреляции Спирмена. Связь между степенью активности заболевания и лабораторными показателями анализировали с помощью критерия Манна–Уитни. Для оценки диагностической ценности исследуемых биомаркеров проводили ROC-анализ (Receiver Operating Characteristic analysis) с определением чувствительности и специфичности показателей. Статистически значимыми считали различия при значении $p < 0,05$.

Результаты: Средняя продолжительность заболевания составила $6,3 \pm 3,8$ года. Всего в исследование были включены 80 участников, у которых на исходном этапе были получены образцы сыворотки крови для дальнейшего лабораторного исследования. Статистически значимых различий между исследуемыми группами по возрасту и полу выявлено не было. Клинические и демографические характеристики обследованных представлены в соответствующих таблицах. Среди пациентов с анкилозирующим спондилитом у 20 больных отмечалась низкая активность заболевания (BASDAI < 4), тогда как у 20 пациентов регистрировалась умеренная или высокая активность заболевания (BASDAI ≥ 4).

Таблица 1. Демографические и клинические характеристики участников исследования

Группы обследованных	Число пациентов (n)	Мужчины/Женщины (n)	ЯК/БК (n)	Возраст (лет), медиана (мин.–макс.)	Длительность заболевания (лет), медиана (мин.–макс.)
ВЗК	20	10/10	10/10	37 (21–62)	2,5 (1–25)

Группы обследованных	Число пациентов (n)	Мужчины/Женщины (n)	ЯК/БК (n)	Возраст (лет), медиана (мин.–макс.)	Длительность заболевания (лет), медиана (мин.–макс.)
АС	20	14/6	0/0	37 (29–56)	7 (2–20)
ВЗК+АС	20	19/1	10/10	40,5 (19–53)	1,5 (1–13)
Контроль	20	10/10	–	35,5 (24–63)	–

Таблица 2. Клиническая активность заболевания у пациентов с анкилозирующим спондилитом

Показатель	BASDAI (n=20), медиана <4	BASDAI (n=20), медиана ≥4	p*
Матриксная металлопротеиназа-3 (ММП-3), нг/мл	6,48	40,91	<0,05
Матриксная металлопротеиназа-9 (ММП-9), нг/мл	5,35	5,94	<0,05
Тканевой ингибитор матриксных металлопротеиназ-1 (ТИМП-1), нг/мл	6,16	6,61	<0,05
Скорость оседания эритроцитов (СОЭ), мм/час	18	29	<0,05
С-реактивный белок (СРБ), мг/л	5,5	7,0	<0,05

Группа ВЗК+АС состояла из 20 пациентов, включая 10 больных болезнью Крона и 10 больных язвенным колитом. Среди пациентов с болезнью Крона у восьми отмечалась низкая активность заболевания, а у двух — умеренная активность согласно индексу CDAI. Согласно критериям Truelove-Witts среди пациентов с язвенным колитом у одного пациента наблюдалось лёгкое течение заболевания, у четырёх — среднетяжёлое и у пяти — тяжёлое течение.

Группа ВЗК также включала 10 пациентов с болезнью Крона и 10 пациентов с язвенным колитом. Среди пациентов с болезнью Крона у семи наблюдалось среднетяжёлое или тяжёлое течение заболевания, тогда как у трёх пациентов активность заболевания была лёгкой или умеренной. Среди пациентов с язвенным колитом тяжёлое течение заболевания отмечалось у восьми больных, а среднетяжёлое — у двух.

У всех пациентов группы АС был выявлен положительный HLA-B27. Все пациенты данной группы получали терапию ингибиторами фактора некроза опухоли-α: инфликсимаб (n=10), адалимумаб (n=8) и этанерцепт (n=2). В группе ВЗК+АС положительный HLA-B27 определялся у 8 из 20 пациентов. Все пациенты данной группы также получали анти-ФНО-терапию: инфликсимаб (n=12) и адалимумаб (n=8).

Таблица 3. Средние значения ММП-3, ММП-9, ТИМП-1, СОЭ и СРБ у обследованных лиц

Группа	ММП-3 (нг/мл)	ММП-9 (нг/мл)	ТИМП-1 (нг/мл)	СОЭ (мм/час)	СРБ (мг/л)
ВЗК	33,51	8,61	8,11	24,50	11,50
АС	9,13	9,37	6,61	11,50	1,00
ВЗК+АС	20,48	3,33	5,31	30,50	13,50

Контроль	15,88	10,35	8,06	8,00	2,00
p	0,045	0,048	0,006	0,029	0,004

Примечание: ММП-3 — матриксная металлопротеиназа-3; ММП-9 — матриксная металлопротеиназа-9; ТИМП-1 — тканевой ингибитор матриксных металлопротеиназ-1; СОЭ — скорость оседания эритроцитов; СРБ — С-реактивный белок.

Наиболее высокие концентрации ММП-3 были выявлены в группе ВЗК ($33,51 \pm 59,56$ нг/мл; $p=0,045$). Уровни ММП-3 были статистически значимо выше в группах ВЗК и ВЗК+АС по сравнению с группой АС ($p=0,007$ и $p=0,035$ соответственно). Наиболее высокие уровни ММП-9 наблюдались в контрольной группе ($10,35 \pm 2,61$ нг/мл; $p=0,048$). Несмотря на то, что показатели ММП-9 в группе АС были выше, чем в группах ВЗК и ВЗК+АС, статистически значимых различий не выявлено ($p=0,494$ и $p=0,260$ соответственно). Максимальные значения ТИМП-1 были зарегистрированы в группе ВЗК (8,11 нг/мл; $p<0,006$). Уровень ТИМП-1 был статистически значимо выше по сравнению с группами АС и ВЗК+АС ($p=0,033$ и $p=0,008$ соответственно). Для оценки взаимосвязи между биомаркерами и активностью заболевания показатели BASDAI рассчитывались независимо от проводимой терапии.

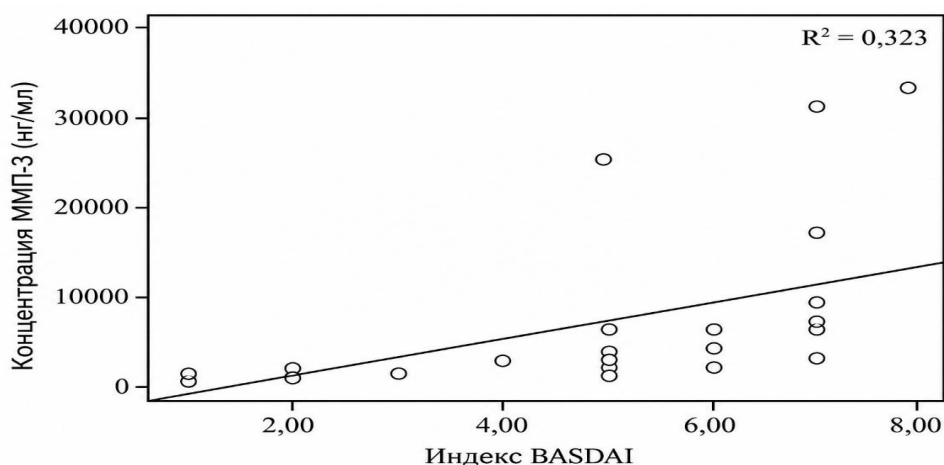
Таблица 4. Корреляционная связь между биомаркерами и индексом BASDAI

Показатель	ММП-3	ММП-9	ТИМП-1	СОЭ	СРБ	BASDAI	p
ММП-3	—	0,086	0,124	0,081	0,080	0,841	$<0,05$
ММП-9	—	—	0,196	0,051	0,044	0,105	$>0,05$
ТИМП-1	—	—	—	0,028	0,083	0,056	$>0,05$
СОЭ	—	—	—	—	0,889	0,231	$>0,05$
СРБ	—	—	—	—	—	0,100	$>0,05$

Выявлена статистически значимая положительная корреляция между уровнем ММП-3 и индексом BASDAI ($r=0,841$; $p<0,05$).

Показатели СОЭ и СРБ не продемонстрировали статистически значимой корреляции с BASDAI ($r=0,231$; $p>0,05$ и $r=0,100$; $p>0,05$ соответственно). Аналогично не было выявлено связи между уровнями ММП-9, ТИМП-1 и активностью заболевания. При разделении пациентов по степени активности заболевания (лёгкая, умеренная и высокая активность по BASDAI) была выявлена статистически значимая связь между уровнем ММП-3 и тяжестью заболевания ($p<0,05$).

Рисунок 1. Корреляционная связь между уровнем ММП-3 и индексом BASDAI





По оси X — индекс BASDAI.

По оси Y — концентрация ММП-3 (нг/мл).

Коэффициент детерминации составил $R^2=0,323$.

На рисунке представлена положительная корреляционная связь между уровнем матричной металлопротеиназы-3 и активностью заболевания. С увеличением показателя BASDAI отмечается тенденция к повышению концентрации ММП-3 в сыворотке крови. Проведённый корреляционный анализ подтвердил наличие статистически значимой положительной взаимосвязи между уровнем ММП-3 и индексом BASDAI ($r=0,841$; $p<0,05$). ROC-анализ показал, что чувствительность и специфичность СОЭ составили 60,4% и 64,5%, СРБ — 59,3% и 61,5%, а ММП-3 — 70,8% и 61,4% соответственно. Непараметрический корреляционный анализ не выявил статистически значимой связи между длительностью заболевания и уровнями ММП-3, ММП-9 и ТИМП-1 ($p=0,071$; $p=0,257$ и $p=0,295$ соответственно).

Список литературы

1. Dougados M., van der Linden S., Juhlin R., Huitfeldt B., Amor B., Calin A. et al. The European Spondylarthropathy Study Group preliminary criteria for the classification of spondylarthropathy // *Arthritis Rheum.* – 1991. – Vol. 34. – P. 1218–1227.
2. Turkcapar N., Toruner M., Soykan I., Aydintug O.T., Cetinkaya H., Duzgun N. et al. The prevalence of extraintestinal manifestations and HLA association in patients with inflammatory bowel disease // *Rheumatol Int.* – 2006. – Vol. 26. – P. 663–668.
3. Chapman R.W., Cottone M., Selby W.S., Shepherd H.A., Sherlock S., Jewell D.P. Serum autoantibodies, ulcerative colitis and primary sclerosing cholangitis // *Gut.* – 1986. – Vol. 27. – P. 86–91.
4. Lakatos G., Hritz I., Varga M.Z., Juhasz M., Miheller P., Cierny G. et al. The impact of matrix metalloproteinases and their tissue inhibitors in inflammatory bowel diseases // *Dig Dis.* – 2012. – Vol. 30. – P. 289–295.
5. Hayden D.M., Forsyth C., Keshavarzian A. The role of matrix metalloproteinases in intestinal epithelial wound healing during normal and inflammatory states // *J Surg Res.* – 2011. – Vol. 168. – P. 315–324.
6. Affara N.I., Andreu P., Coussens L.M. Delineating protease functions during cancer development // *Methods Mol Biol.* – 2009. – Vol. 539. – P. 1–32.
7. Puthenedam M., Wu F., Shetye A., Michaels A., Rhee K.J., Kwon J.H. Matrilysin-1 (MMP7) cleaves galectin-3 and inhibits wound healing in intestinal epithelial cells // *Inflamm Bowel Dis.* – 2011. – Vol. 17. – P. 260–267.
8. Jensen S.A., Vainer B., Bartels A., Brunner N., Sorensen J.B. Expression of matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) and tissue inhibitor of metalloproteinase-1 (TIMP-1) by colorectal cancer cells and adjacent stroma cells: associations with histopathology and patient outcome // *Eur J Cancer.* – 2010. – Vol. 46. – P. 3233–3242.
9. Schrotzlmaier F., Kopitz C., Halbgewachs B., Lu F., Alghisi H., Brunner N. et al. Tissue inhibitor of metalloproteinases-1-induced scattered liver metastasis is mediated by host-derived urokinase-type plasminogen activator // *J Cell Mol Med.* – 2010. – Vol. 14. – P. 2760–2770.
10. Schelter F., Halbgewachs B., Baumler P., Neu C., Gorlach A., Schrotzlmaier F. et al. Tissue inhibitor of metalloproteinases-1-induced scattered liver metastasis is mediated by hypoxia-inducible factor-1 α // *Clin Exp Metastasis.* – 2011. – Vol. 28. – P. 91–99.
11. Medina C., Radomski M.W. Role of matrix metalloproteinases in intestinal inflammation // *J Pharmacol Exp Ther.* – 2006. – Vol. 318. – P. 933–938.



12. Wiercinska-Drapalo A., Jaroszewicz J., Flisiak R., Prokopowicz D. Plasma matrix metalloproteinase-1 and tissue inhibitor of metalloproteinase-1 as biomarkers of ulcerative colitis activity // *World J Gastroenterol.* – 2003. – Vol. 9. – P. 2843–2845.
13. Zhu J., Yu D.T. Matrix metalloproteinase expression in the spondyloarthropathies // *Curr Opin Rheumatol.* – 2006. – Vol. 18. – P. 364–368.
14. Yang C., Gu J., Rihl M., Baeten D., Huang F., Zhao M. et al. Serum levels of matrix metalloproteinase-3 and macrophage colony-stimulating factor-1 correlate with disease activity in ankylosing spondylitis // *Arthritis Rheum.* – 2004. – Vol. 51. – P. 691–699.
15. Xia B., Crusius J., Meuwissen S., Pena A. Inflammatory bowel disease: definition, epidemiology, etiologic aspects and immunogenetic studies // *World J Gastroenterol.* – 1998. – Vol. 4. – P. 446–458.
16. Hanauer S.B., Sandborn W. Management of Crohn's disease in adults // *Am J Gastroenterol.* – 2001. – Vol. 96. – P. 635–643.
17. Truelove S.C., Witts L.J. Cortisone in ulcerative colitis: final report on a therapeutic trial // *Br Med J.* – 1955. – Vol. 2. – P. 1041–1048.
18. Hanauer S.B. Inflammatory bowel disease: epidemiology, pathogenesis and therapeutic opportunities // *Inflamm Bowel Dis.* – 2006. – Vol. 12 (Suppl. 1). – P. S3–S9.
19. Visse R., Nagase H. Matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases: structure, function and biochemistry // *Circ Res.* – 2003. – Vol. 92. – P. 827–839.
20. Birkedal-Hansen H., Moore W.G., Bodden M.K. et al. Matrix metalloproteinases: a review // *Crit Rev Oral Biol Med.* – 1993. – Vol. 4. – P. 197–250.