



О.С. Шевченко¹, Л.Д. Тодоріко², І.А. Овчаренко¹,
О.О. Погорелова¹, О.М. Швець¹

¹ Харківський національний медичний університет

² Буковинський державний медичний університет, Чернівці

Аналіз змін рівня матриксної металопротеїнази-9 і тканинного інгібітора матриксних металопротеїназ-1 при вперше діагностованому легеневому туберкульозі з різним профілем резистентності збудника

Мета роботи — проаналізувати зміни показників матриксної металопротеїнази-9 (ММП-9) і тканинного інгібітора матриксних металопротеїназ-1 (ТІМП-1) у хворих на вперше діагностований деструктивний туберкульоз (ВДТБ) легень з різним профілем резистентності збудника залежно від перебігу туберкульозного процесу.

Матеріали та методи. До проспективного когортного дослідження було залучено 124 хворих на ВДТБ легень із деструкцією та бактеріовиділенням, які лікувались в Харківському обласному протитуберкульозному диспансері № 1 у 2014–2017 рр. Пацієнтів розподілили на дві групи: група I (n = 84) — хворі на туберкульоз легень з множинною лікарською стійкістю (МЛС-ТБ), група II (n = 40) — хворі на чутливий туберкульоз (ЧТБ). Кожну групу розділили на дві підгрупи залежно від результатів лікування. До підгруп Ia (n = 56) та IIa (n = 28) залучено хворих з ефективним лікуванням, до підгруп Ib (n = 28) та IIб (n = 12) — хворих з неефективним лікуванням. За віком та співвідношенням статей групи були порівнянними. Проводили забір крові зранку натще на початку лікування, через 2 та 3 міс від початку лікування. Рівень ММП-9 та ТІМП-1 у сироватці крові досліджували методом імуноферментного аналізу за допомогою тест-системи Human MMP-9 Platinum ELISA та Human TIMP-1 Platinum ELISA на аналізаторі Labline-90 (Австрія).

Результати та обговорення. Вміст ММП-9 за 3 міс збільшився в обох групах, але інтенсивнішою динаміка наростання була у групі ЧТБ. Рівень ТІМП-1 також підвищився за 3 міс лікування в обох групах, інтенсивнішою ця динаміка була у групі II. У нормі величина співвідношення ММП/ТІМП наближується до 1. Під час лікування виразнішою динаміка зменшення величини співвідношення ММП-9/ТІМП-1 була у групі II (на 25,0 проти 16,6 %). У групі хворих на МЛС-ТБ на початку лікування цей показник був нижчим у групі Ia порівняно з групою Ib (p < 0,001). Зменшення величини співвідношення ММП-9/ТІМП-1 через 3 міс лікування було виразнішим у групі Ib (на 25,0 проти 7,5 %). У групі хворих на ЧТБ на початку лікування вищий показник також зареєстровано у пацієнтів з неефективним лікуванням. На тлі лікування протягом 3 міс відбулось зниження величини співвідношення ММП/ТІМП у Ia та IIб, але виразнішою динаміка зниження була у групі неефективного лікування (на 41 проти 10 %).

Висновки. На тлі антимікобактеріальної терапії спостерігали швидший початок процесів загоєння легень у пацієнтів із ЧТБ легень порівняно із хворими на МЛС-ТБ. Про це свідчать показники ММП-9, ТІМП-1 та їхнє співвідношення. Рівень ТІМП-1 був вищим через 3 міс лікування та демонстрував інтенсивнішу динаміку зростання у хворих на ЧТБ, що свідчить про сприятливіший перебіг захворювання у цій групі та раніший початок процесів загоєння деструкції легеневої тканини. Інтенсивнішу динаміку зниження величини співвідношення ММП-9/ТІМП-1 спостерігали у хворих з несприятливим перебігом туберкульозного процесу, що свідчить про більші зміни у сполучній тканині легень.

Ключові слова

Туберкульоз, матриксна металопротеїназа, тканинний інгібітор матриксних металопротеїназ.

Перебудова сполучної тканини легень регулюється дією протеолітичних ферментів, зокрема матриксних металопротеїназ (ММП) та їхніх природних інгібіторів і супроводжується змінами у матриксі сполучної тканини, порушенням будови колагенових волокон та підвищенням рівня патологічного колагену на тлі стимуляції ренін—ангіотензин—альдостеронової системи [2].

Матриксні металопротеїнази є родиною Zn- та Ca-залежних ендопептидаз, які беруть участь у перебудові компонентів позаклітинного матриксу. Матриксна металопротеїназа-9 — (желатиназа В) належить до підродини желатиназ, здатна гідролізувати колаген V і IV типу та еластин у складі базальних мембран. Основними клітинами-продуцентами ММП-9 є макрофаги. Також ММП-9 сприяє міграції нейтрофілів крізь базальну мембрану [2, 10].

У фізіологічних умовах активність ММП-9 регулюється тканинним інгібітором металопротеїназ-1 (ТІМП-1), який є специфічним інгібітором для цієї ММП та локалізується у міжклітинному просторі. У нормі величина співвідношення ММП/ТІМП має наближатися до 1. Значне переважання рівня ММП над вмістом ТІМП спричиняє руйнацію компонентів позаклітинного матриксу [6, 7]. Через надмірну активацію ММП-9 та зниження синтезу ТІМП-1 відбувається руйнація колагенових волокон у легенях [11], що призводить до утворення порожнин деструкції [1, 3]. У нормальних умовах клітини легень не експресують ММП-9. При інфекційних та запальних процесах клітини бронхіального епітелію, альвеолярні клітини, клітини гладеньких м'язів та фіброласти починають синтезувати ММП-9. При туберкульозі (ТБ) мікобактерії туберкульозу (МБТ) здатні стимулювати експресію ММП-9 в організмі хазяїна. Її рівень може втричі перевищувати показник здорових осіб [4, 8, 9]. Інфікування МБТ епітелію-їдних клітин призводить до зниження експресії ТІМП-1 [5].

Таким чином, ММП і ТІМП відіграють ключову роль у метаболізмі сполучної тканини, зокрема легеневої, беруть участь у процесах, що потребують продукції та міграції клітин, та перебудові позаклітинного матриксу за різних патологічних станів. Вищі рівні ММП-9 спостерігаються у хворих на ТБ з великими процесами.

Мета роботи — проаналізувати зміни показників ММП-9 та ТІМП-1 у хворих на вперше діагностований деструктивний туберкульоз легень з різним профілем резистентності збудника залежно від перебігу туберкульозного процесу.

Матеріали та методи

До проспективного когортного дослідження було залучено 124 хворих на вперше діагностований ТБ легень із деструкцією та бактеріовиділенням, які лікувались в Харківському обласному протитуберкульозному диспансері № 1 у 2014–2017 рр. відповідно до наказу МОЗ України № 620 від 14.09.2014 р. Пацієнтів розподілили на дві групи: група I (n = 84) — хворі на ТБ легень з множинною лікарською стійкістю (МЛС-ТБ), група II (n = 40) — хворі на чутливий ТБ (ЧТБ). Кожну групу розділили на дві підгрупи залежно від результатів лікування. До підгруп Ia (n = 56) та IIa (n = 28) залучено хворих з ефективним лікуванням, до підгруп Ib (n = 28) та IIb (n = 12) — хворих з неефективним лікуванням.

За віком та співвідношенням статей групи були порівнянними. Середній вік пацієнтів у групі I становив 37,1 року, у групі II — 36,7 року. У групі I жінок було 40,5 %, чоловіків — 59,5 %, у групі II — відповідно 40 та 60 %.

Проводили забір крові зранку натще на початку лікування, через 2 та 3 міс від початку лікування. Рівень ММП-9 та ТІМП-1 у сироватці крові досліджували методом імуноферментного аналізу за допомогою тест-системи Human MMP-9 Platinum ELISA та Human TIMP-1 Platinum ELISA (affymetrix Biocscience, Австрія) на аналізаторі Labline-90 (Австрія) відповідно до інструкції виробника.

Статистичну обробку отриманих результатів проводили методом аналізу таблиць спряженості за допомогою пакета програм Statistica Basic Academic 13 for Windows та Statistica 8.0. Для кількісних показників розраховували медіану. Для визначення різниці між групами використовували метод непараметричної статистики для незв'язаних вибірок з використанням критерію Манна—Уїтні та критерію знаків.

Результати та обговорення

На початку лікування рівень ММП-9 у групі I становив 361,5 нг/мл, через 2 міс лікування — 364,4 нг/мл, через 3 міс лікування — 373,8 нг/мл, у групі II — відповідно 353,8; 384,9 і 379,9 нг/мл (рис. 1).

Вміст ТІМП-1 у групі I на початку лікування становив 128,2 нг/мл, через 2 міс лікування — 163,1 нг/мл, через 3 міс — 163,3 нг/мл, у групі II — відповідно 125,1; 168,3 та 174 нг/мл (рис. 2). Через 3 міс цей показник у групі I був статистично значущо нижче на 6,52 %.

Підвищення рівня ТІМП-1 супроводжувалося зростанням вмісту ММП-9 на тлі лікування. Про це свідчить величина коефіцієнта кореляції між ними через 2 міс лікування у групі I ($r = 0,79$;

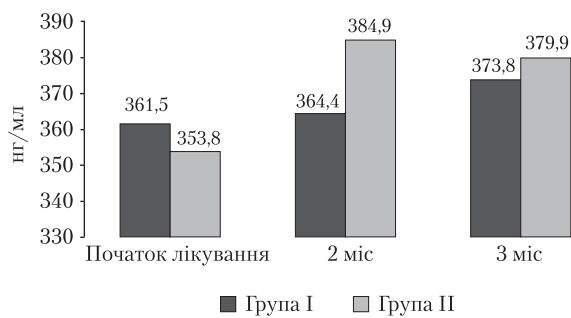


Рис. 1. Рівень ММП-9 у хворих з різною чутливістю мікобактерій туберкульозу ($p < 0,05$)

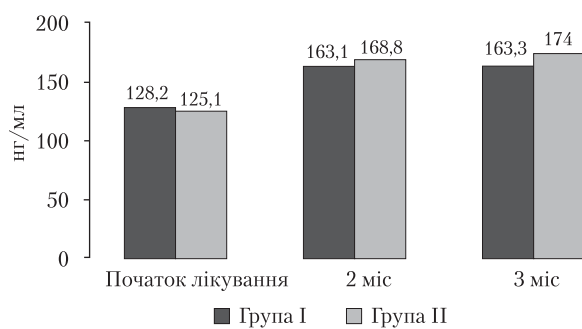


Рис. 2. Рівень ТІМП-1 у хворих з різною чутливістю мікобактерій туберкульозу ($p < 0,05$)

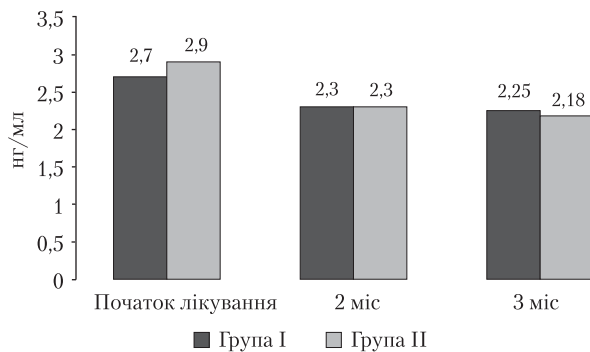


Рис. 3. Величина співвідношення ММП-9/ТІМП-1 у хворих з різною чутливістю МБТ

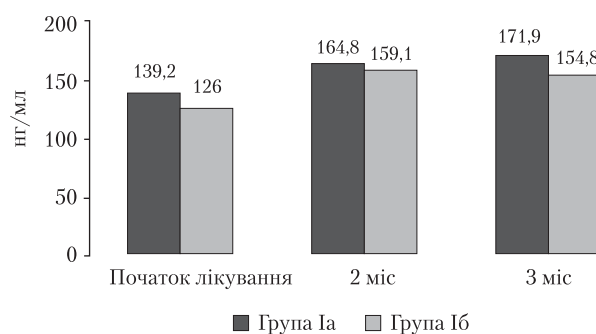


Рис. 4. Рівень ТІМП-1 у хворих на МЛС-ТБ

$p = 0,00001$) через 3 міс у групі I ($r = 0,8$; $p = 0,00001$) та у групі II ($r = 0,64$, $p = 0,005$).

Для оцінки балансу між процесами руйнації та репарації тканин використовували величину співвідношення ММП-9/ТІМП-1. На початку лікування цей показник у групі I становив 2,7, через 2 міс – 2,3, через 3 міс – 2,25, у групі II – відповідно 2,9, 2,3 та 2,18. Отже, під час лікування інтенсивнішу динаміку зменшення величини співвідношення відзначено у групі II, де цей показник знизився на 25,0 % порівняно із 16,6 % у групі I (рис. 3).

Проведено аналіз досліджуваних показників з урахуванням ефективності лікування.

На початку лікування рівень ТІМП-1 у хворих на МЛС-ТБ у групі Ia становив 139,2 нг/мл, у групі Ib – 126 нг/мл, через 2 міс лікування – відповідно 164,8 та 159,1 нг/мл, через 3 міс – 171,9 і 154,8 нг/мл (рис. 4).

У хворих на ЧТБ вміст ТІМП на початку лікування у групі IIa становив 126,49 нг/мл, у групі IIб – 104,48 нг/мл, через 2 міс лікування – відповідно 163,28 та 168,29 нг/мл, через 3 міс – 174 і 168,8 нг/мл (рис. 5).

Рівень ММП-9 на початку лікування у хворих на МЛС-ТБ становив 361,5 нг/мл у групі Ia, та 366,5 нг/мл – у групі Ib, через 2 міс лікування –

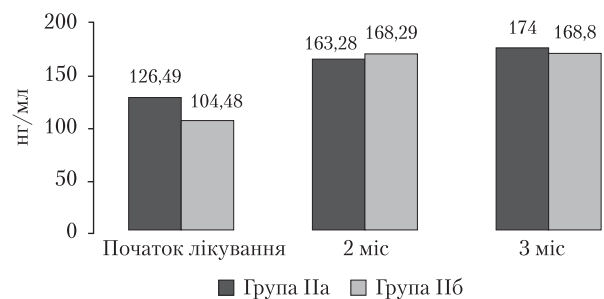


Рис. 5. Рівень ТІМП-1 у хворих на ЧТБ

відповідно 364,4 і 376,75 нг/мл, через 3 міс – 399,7 та 347,7 нг/мл (рис. 6).

У хворих на ЧТБ вміст ММП-9 у групі IIa на початку лікування становив 343,97 нг/мл, у групі IIб – 388,89 нг/мл, через 2 міс лікування – відповідно 369,74 та 384,9 нг/мл, через 3 міс – 375,39 і 383,32 нг/мл (рис. 7).

Таким чином, на тлі лікування протягом 3 міс відбулось збільшення вмісту ТІМП-1 у двох групах: у групі Ia – на 23,5 %, у групі Ib – на 22,8 %. У хворих на ЧТБ також зареєстровано підвищення рівня ТІМП-1: у групі IIa на 37,5 %, а у групі IIб – на 62 %. Динаміка рівня ММП-9

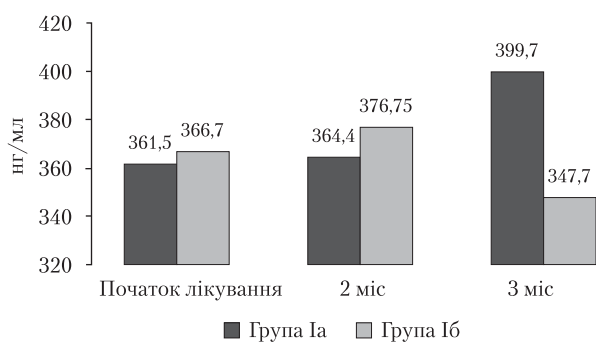


Рис. 6. Рівень ММП-9 у хворих на МЛС-ТБ

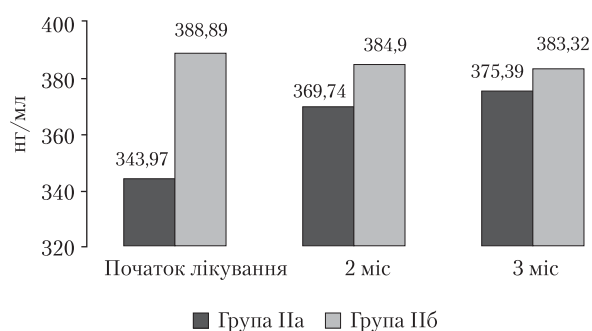


Рис. 7. Рівень ММП-9 у хворих на ЧТБ

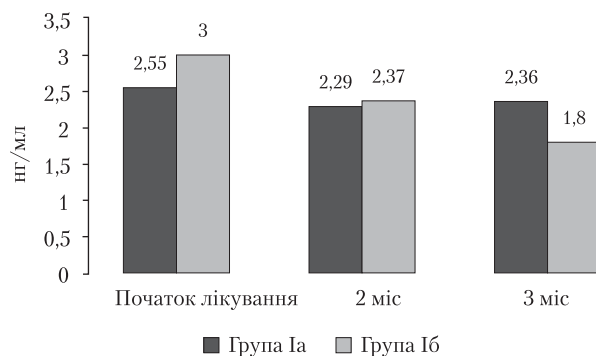


Рис. 8. Величина співвідношення ММП-9/ТІМП-1 у хворих на МЛС-ТБ

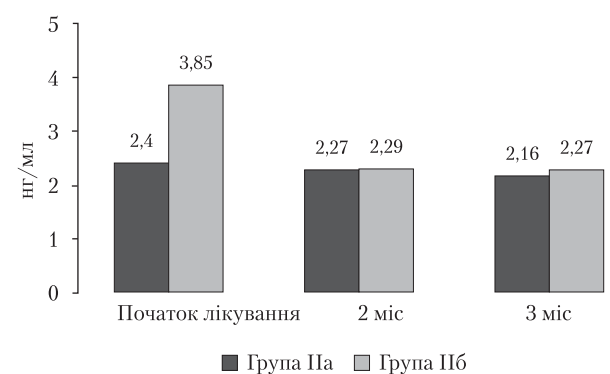


Рис. 9. Величина співвідношення ММП-9/ТІМП-1 у хворих на чутливий туберкульоз

у групах суттєво відрізнялась: у групі Ia відбулось підвищення рівня на 10,6 %, а у групі Ib — зниження на 5,2 % ($p < 0,01$).

Також досліджено величину співвідношення ММП-9/ТІМП-1 у групах залежно від результатів лікування.

Початковий показник співвідношення ММП-9/ТІМП-1 у хворих на МЛС-ТБ був значно вищим у групі Ib порівняно з групою Ia (відповідно 3,0 та 2,55). Через 2 міс лікування в обох групах відбулось статистично значуще ($p < 0,05$) зниження величини співвідношення ММП-9/ТІМП-1, у групі Ib вона була статистично значущо ($p < 0,05$) вищою, ніж у групі Ia (відповідно 2,37 і 2,29). Через 3 міс лікування цей показник знизився у групі Ib (2,25), тоді як у групі Ia статистично значущо не змінився (2,36) (рис. 8).

У хворих на ЧТБ на початку лікування величина співвідношення ММП-9/ТІМП-1 у групі IIa становила 2,4, у групі IIb — була значно вищою (3,85). Через 2 міс від початку лікування цей показник знизився в обох групах: у групі IIa — до 2,27, у групі IIb — до 2,29. Через 3 міс лікування у групі IIa величина співвідношення ММП-9/ТІМП-1 знизилася до 2,16, тоді як у групі IIb мало змінилася (2,27) (рис. 9).

У хворих на МЛС-ТБ величина співвідношення ММП-9/ТІМП-1 на початку лікування була

нижчою у групі Ia, аніж у групі Ib ($p < 0,001$). Динаміка зменшення цього показника протягом 3 міс лікування була виразнішою у групі Ib (на 25,0 %), тоді як у групі Ia він знизився на 7,5 %. Це свідчить про інтенсивніші процеси перебудови сполучної тканини легень у хворих з неефективним лікуванням.

На початку лікування у хворих на ЧТБ також більшу величину співвідношення ММП-9/ТІМП-1 зареєстрували у групі з неефективним лікуванням. На тлі лікування протягом 3 міс відбулося зниження цього показника в обох групах, але виразнішою динаміка зниження була у групі неефективного лікування (на 41 проти 10 %), що також є свідченням більших змін сполучнотканинного матриксу у хворих з неефективним лікуванням.

Висновки

Таким чином, у динаміці на тлі антимікобактеріальної терапії спостерігали швидший початок процесів загоєння легень у пацієнтів із чутливим ТБ легень порівняно з хворими на МЛС-ТБ. Про це свідчать показники ММП-9, ТІМП-1 та їхнє співвідношення. Так, рівень ТІМП-1, що є інгібітором ММП-9, був вищим через 3 міс лікування та демонстрував інтенсивнішу динаміку збільшення у хворих на ЧТБ, що свідчить про

сприятливіший перебіг захворювання у цій групі та раніший початок процесів загоєння деструкції легеневої тканини. Інтенсивнішу динаміку зниження величини співвідношення MMP-9/

TIMP-1 спостерігали у хворих з несприятливим перебігом туберкульозного процесу, що свідчить про більші зміни у сполучній тканині легень.

Конфлікту інтересів немає. Участь авторів: концепція і дизайн дослідження — О.С. Шевченко, І.А. Овчаренко, Л.Д. Тодоріко; збір матеріалу — І.А. Овчаренко; обробка матеріалу — І.А. Овчаренко, О.М. Швець; написання тексту — О.С. Шевченко, І.А. Овчаренко; статистичне опрацювання даних — І.А. Овчаренко; редактування тексту — О.О. Погорєлова, Л.Д. Тодоріко.

Список літератури

1. Шевченко О.С., Говардовська О.О., Арсеньєв О.В. Модель прогнозування ефективності лікування туберкульозу легень у інтенсивній фазі протитуберкульозної терапії // Science Rise. Medical Science.— 2018.— № 7.— С. 27–32.
2. Эсмедляева Д.С., Титаренко О.Т., Павлова М.В. и др. Система матричных металлопротеиназ в оценке деструктивных процессов легочной ткани при туберкулезе // Туберкулез и болезни легких.— 2015.— № 8.— С. 38–42. doi: 10.21292/2075-1230-2015-0-8-38-42.
3. Aparicio J.P., Castillo-Chavez C. Mathematical modelling of tuberculosis epidemics // Math. Biosci. Eng.— 2009.— Vol. 6 (2).— P. 209–237. doi: 10.3934/mbe.2009.6.209.
4. Damayanti A., Subiyanto P., Pratiwi A.B. Nonlinear system identification model of the spread of TB disease using the genetic algorithm and multilayer perceptron // The 2nd International Conference on Mathematics: Education, Theory, and Application [Internet]; 2018 Oct 30–31; Sukoharjo, Indonesia. Sukoharjo; 2019 [cited 2020 Feb 15]. (Journal of Physics: Conf. Series; vol. 1306). Available from: <https://tinyurl.com/y4rwf5ef>.
5. El Margoushy N.M., Khaled A.T. Metalloproteinase and tissue inhibitor of metalloproteinase in tuberculosis and malignant pleural effusion // Egyptian J. Chest Dis. Tuberc.— 2013.— Vol. 62 (2).— P. 235–240. doi: 10.1016/j.ejcdt.2013.03.008.
6. Iyer R.P., Patterson N.L., Fields G.B., Lindsey M.L. The history of matrix metalloproteinases: milestones, myths, and misperceptions // Am. J. Physiol. Heart. Circ. Physiol.— 2012.— Vol. 303(8).— P. H919–H930. doi: 10.1152/ajpheart.00577.2012.
7. Kim S.H., Baek M.S., Yoon D.S. et al. Vitamin D inhibits expression and activity of matrix metalloproteinase in human lung fibroblasts (HFL-1) cells // Tuberc. Respir. Dis. (Seoul).— 2014.— Vol. 77 (2).— P. 73–80. doi: 10.4046/trd.2014.77.2.73.
8. Lu P., Liu Q., Martinez L. et al. Time to sputum culture conversion and treatment outcome of patients with multidrug-resistant tuberculosis: a prospective cohort study from urban China // Eur. Respir. J.— 2017.— Vol. 49 (3).— P. 1601558. doi: 10.1183/13993003.01558-2016.
9. Nkamba L.N., Manga T.T., Agouanet F. et al. Mathematical model to assess vaccination and effective contact rate impact in the spread of tuberculosis // J. Biol. Dyn.— 2019.— Vol. 13 (1).— P. 26–42. doi: 10.1080/17513758.2018.1563218.
10. Ong C.W., Elkington P.T., Friedland J.S. Tuberculosis, pulmonary cavitation, and matrix metalloproteinases // Am. J. Respir. Crit. Care Med.— 2014.— Vol. 190 (1).— P. 9–18. doi: 10.1164/rccm.201311-2106PP.
11. Zitka O., Kukacka J., Krizkova S. et al. Matrix metalloproteinases // Curr. Med. Chem.— 2010.— Vol. 17 (31).— P. 3751–3768. doi: 10.2174/092986710793213724.

O.S. Shevchenko¹, L.D. Todoriko², I.A. Ovcharenko¹, O.O. Pohorielova¹, O.M. Shvets¹

¹Kharkiv National Medical University, Kharkiv, Ukraine

³Bukovinian State Medical University, Chernivtsi, Ukraine

Analysis of changes in matrix metalloproteinases-9 and tissue inhibitors-1 levels in newly diagnosed pulmonary tuberculosis with different profile of drug-resistance

Objective — to analyze changes in MMP-9 and TIMP-1 parameters in patients with newly diagnosed destructive pulmonary TB with different pathogen resistance profile depending on the course of the tuberculosis process.

Materials and methods. The study included 124 patients with newly diagnosed pulmonary TB with destruction and bacterial excretion, who were treated according to the order of the Ministry of Health of Ukraine N 620 in 2014–2017. The patients were divided into 2 groups: Group I (n = 84) — multidrug-resistant TB (MDR-TB); Group II (n = 40) — drug-susceptible TB. Groups Ia (n = 56) and IIa (n = 28) included patients with effective treatment; groups Ib (n = 28) and IIb (n = 12) included patients with ineffective treatment. The level of MMP-9 and TIMP-1 was studied in blood serum by ELISA. Blood was taken in the morning on an empty stomach at the beginning of treatment, after 2 and 3 months.

Results and discussion. The level of MMP-9 increased in both groups for 3 months. However, the dynamics of the increase was more intensive in the group of drug-susceptible TB. The level of TIMP-1 also increased within 3 months in both groups. This dynamics was more intensive in Group II. In the course of treatment, more intensive dynamics of the ratio decrease MMP-9/TIMP-1 was observed in Group II with a decrease of 25 % compared with 16.6 % in Group I.

In the group of patients with MDR-TB, the ratio of MMP-9/TIMP-1 at the beginning of treatment was lower in Group Ia than in Group Ib (p < 0.001). Its decrease within 3 months was more pronounced in

Group Ib (by 25 %) compared with Group Ia (7.5 %). In the group of patients with drug-susceptible tuberculosis at the beginning of treatment, higher levels of the MMP-9/TIMP-1 ratio were observed in Group Ib. Against the background of anti-TB treatment for 3 months. There was also a decrease in the ratio in both groups (IIa and IIb). However, the dynamics of the decrease was more pronounced in Group IIb (by 41 %), compared with group IIa (by 10 %).

Conclusions. In dynamics, against the background of antimycobacterial therapy, a more rapid onset of lung healing processes was observed in patients with drug-susceptible pulmonary TB compared with patients with MDR-TB. This is evidenced by the obtained indicators of MMP-9, TIMP-1 and their ratio. Thus, the level of TIMP-1, which is an inhibitor of MMP-9, was higher after 3 months of treatment and showed more intensive growth dynamics in Group II, that is, in patients with drug-susceptible TB, which indicates a favorable course of the disease in this group, and an earlier onset of healing processes of lung tissue destruction.

When patients were divided into groups of effective and ineffective treatment, a more intensive decrease in the ratio of MMP-9 to TIMP-1 was observed in patients with an unfavorable course of the tuberculosis process, which indicates more significant changes in the connective tissue of the lungs in patients from these groups.

Keywords: tuberculosis, matrix metalloproteinase, tissue inhibitor of matrix metalloproteinases.

Контактна інформація:

Овчаренко Ірина Анатоліївна, к. мед. н., асист. кафедри фізіотерії та пульмонології
E-mail: arlabhf2@gmail.com

Стаття надійшла до редакції 8 серпня 2022 р.

ДЛЯ ЦИТУВАННЯ

- Шевченко О.С., Тодоріко Л.Д., Овчаренко І.А., Погорелова О.О., Швець О.М. Аналіз змін рівнів матричної металопротеїнази-9 та тканинного інгібітора матричних металопротеїназ-1 при вперше діагностованому легеневому туберкульозі з різним профілем резистентності збудника // Туберкульоз, легеневі хвороби, ВІЛ-інфекція. – 2022. – № 3 – С. 5–10. doi: 10.30978/TB-2022-3-5.
- Shevchenko OS, Todoriko LD, Ovcharenko IA, Pohorielova OO, Shvets OM. Analysis of changes in matrix metalloproteinases-9 and tissue inhibitors-1 levels in newly diagnosed pulmonary tb with different profile of drug-resistance. Tuberculosis, Lung Diseases, HIV Infection. 2022;3:5-10. doi:10.30978/TB-2022-3-5.