

Матриксные металлопротеиназы-1, -13 и их тканевой ингибитор 1-го типа при эндокринной офтальмопатии

© Е.С. Таскина*, С.В. Харинцева

ФГБОУ ВО «Читинская государственная медицинская академия», Чита, Россия

Эффективная регенерация поврежденных при эндокринной офтальмопатии (ЭОП) мягких тканей орбиты требует координированного ремоделирования внеклеточного матрикса. Матриксные металлопротеиназы (MMPs) играют решающую роль в гомеостазе синтеза и деградации компонентов внеклеточного матрикса при различных физиологических и патологических состояниях. Их протеолитическая активность ингибируется тканевыми ингибиторами (TIMP). Биохимия фиброгенеза экстраокулярных мышц и ретробульбарной клетчатки при ЭОП изучена недостаточно.

Цель исследования — раскрытие некоторых биохимических механизмов фиброгенеза экстраокулярных мышц и ретробульбарной клетчатки при ЭОП.

Материал и методы. Под наблюдением находились 65 человек (130 глаз) в возрасте 43 (35–50) лет. Из них сформированы три группы: 32 пациента с ЭОП средней степени тяжести (основная группа), 18 пациентов с аутоиммунной патологией щитовидной железы без ЭОП (группа сравнения) и 15 здоровых лиц (контроль). Диагноз был выставлен на основании клинических, лабораторных и инструментальных данных. Проводилось комплексное офтальмологическое обследование; в крови определяли концентрации матриксных металлопротеиназ-1, -13 (MMP-1, -13), тканевого ингибитора металлопротеиназ-1 (TIMP-1), сульфатированных гликозаминогликанов (sGAG) и антител к рецептору тиреотропного гормона (АТ к рТТГ). Статистическая обработка данных осуществлялась в программе Statistica 10.0.

Результаты. Уровень MMP-13 был повышен у всех пациентов с ЭОП ($p < 0,05$). В активную фазу ЭОП зафиксировано увеличение концентрации MMP-13 в 3,5 раза ($p < 0,001$) и TIMP-1 в 1,17 раза ($p > 0,05$) по сравнению с контролем. После пульс-терапии глюкокортикостероидами (ГКС) происходило снижение уровня MMP-13 на 48,6% ($p < 0,001$), TIMP-1 на 2,7% ($p < 0,001$) и АТ к рТТГ на 93% ($p < 0,001$) по сравнению с активной ЭОП, но значения данных показателей превышали референсные границы контрольной группы ($p > 0,05$). В неактивную фазу ЭОП, несмотря на повышенные показатели MMP-13, уровень TIMP-1 снижался до референсных значений контроля ($p = 0,533$). Значимых различий по уровню MMP-1 в группах исследования не зафиксировано ($p = 0,865$).

Заключение. Выявлен дисбаланс между продукцией MMP-13 и TIMP-1 в разные фазы активности ЭОП. Активная ЭОП характеризуется повышением уровней MMP-13 и TIMP-1 в сыворотке крови. Дисрегуляция ремоделирования межклеточного матрикса, возможно, лежит в основе развития фиброза экстраокулярных мышц и ретробульбарной клетчатки при ЭОП.

Ключевые слова: эндокринная офтальмопатия, патогенез, фиброз, матриксные металлопротеиназы, тканевой ингибитор металлопротеиназ, гликозаминогликаны.

Matrix metalloproteinases-1, -13 and their tissue inhibitor-1 in endocrine ophthalmopathy

Elizaveta S. Taskina*, Svetlana V. Kharintseva

Chita State Medical Academy, Chita, Russia

Effective regeneration of damaged soft orbital tissues in Graves' ophthalmopathy (GO) requires coordinated remodeling of the extracellular matrix. Matrix metalloproteinases (MMPs) play an important role in the synthesis and degradation homeostasis of extracellular matrix components in various physiological and pathological conditions. Their proteolytic activity is inhibited by tissue inhibitors of metalloproteinases (TIMP). The biochemical processes taking place in extraocular muscles and retrobulbar tissue fibrogenesis in GO are not fully understood.

Aims — to assess some biochemical mechanisms of extraocular muscles and retrobulbar tissue fibrogenesis in GO patients.

Material and methods. The study included 65 people (130 eyes) at the age of 43 (35–50) years. Three groups of subjects were formed: 32 patients with a moderate GO severity (clinical group), 18 patients with autoimmune thyroid pathology without GO (comparison group), and 15 healthy persons (control). The diagnosis was based on clinical, laboratory, and instrumental data. A comprehensive ophthalmologic examination and blood sampling for determination of MMP-1, -13, TIMP-1, sulfated glycosaminoglycans (sGAG) and antibodies to thyroid-stimulating hormone receptor (TSHRAbs) were conducted. The data were statistically processed using the program Statistica 10.0.

Results. An elevated level of MMP-13, observed in all GO patients ($p < 0,05$). For the active phase of GOP, the comparison with the control group showed a 3.5-fold increase in MMP-13 ($p < 0,001$) and 1.17-fold rise in TIMP-1 ($p > 0,05$). Pulse glucocorticoid therapy reduced MMP-13 by 48.6% ($p < 0,001$), TIMP-1 by 2.7% ($p < 0,001$), and TSHRAbs — by 93% ($p < 0,001$) compared with active GO, but these indicators were higher than the reference limits of control ($p > 0,05$). In inactive GO, despite increased MMP-13, TIMP-1 decreased to the reference values ($p = 0,533$). There were no significant differences in MMP-1 in groups of subjects ($p = 0,865$).

Conclusions. We have found imbalance between MMP-13 and TIMP-1 production in different activity phases of GO. Active GO is characterized by an increase in serum MMP-13 and TIMP-1. Dysregulation of intercellular matrix remodeling, possibly, underlies the development of extraocular muscles and retrobulbar tissue fibrosis in GO.

Keywords: Graves' ophthalmopathy, pathogenesis, fibrosis, matrix metalloproteinases, tissue inhibitor of metalloproteinases, glycosaminoglycans.

Эндокринная офтальмопатия (ЭОП) — хроническое заболевание орбиты, часто возникающее на фоне дисфункции щитовидной железы и характеризующееся аутоиммунным воспалением экстраокулярных мышц и/или ретробульбарной клетчатки с возможным последующим их фиброзированием [1, 2]. Исход ЭОП может характеризоваться ограничением объема движений глазных яблок с формированием стойкой диплопии, страбизма и экзофтальма [1]. В настоящее время биохимические процессы фиброгенеза в межклеточном матриксе экстраокулярных мышц и ретробульбарной клетчатки при ЭОП изучены недостаточно.

Ключевую роль в патогенезе ЭОП отводят активированным орбитальным фибробластам [3, 4]. Под влиянием антител к рецептору тиреотропного гормона (АТ к рТТГ), различных провоспалительных цитокинов и ростовых факторов эти клетки секретируют избыточное количество компонентов межклеточного матрикса, включающих коллаген, фибронектин, эластины и гликозаминогликаны [5, 6]. Гиперсекреция гликозаминогликанов приводит к связыванию молекул воды с формированием отека мягких ретробульбарных тканей и развитием характерных для ЭОП клинических проявлений [4, 6].

Известно, что матриксные металлопротеиназы (MMPs) играют решающую роль в процессе ремоделирования компонентов внеклеточного матрикса и развитии фиброза при различных воспалительных заболеваниях [7]. MMPs являются внеклеточными цинк-зависимыми протеолитическими ферментами, относящимися к группе катепсинов [7]. Описано более 20 энзимов, которые в зависимости от свойств и субстратной специфичности подразделяются на коллагеназы, стромелизины, желатиназы, матрилизины и мембраносвязанные MMPs [8]. Синтез MMPs регулируется в основном на уровне транскрипции, а их протеолитическая активность контролируется через активацию проферментов и взаимодействие с тканевыми ингибиторами металлопротеиназ-1 и -2 (TIMP-1, -2) [7, 8]. MMPs секретируются нормальными и трансформированными фибробластами, эпителиальными клетками, фагоцитами и лимфоцитами [7].

Формирование фиброза характеризуется изменением гомеостаза синтеза и деградации коллагена. MMP-1 (интерстициальная коллагеназа-1) и MMP-13 (коллагеназа-3) расщепляют коллагены типов 1–3, 7 и 10 [8]. Поэтому изменение концентрации и активности MMPs может играть важную роль в изменении метаболизма коллагена внеклеточного матрикса и инициировать развитие фиброза. Проблема влияния дисбаланса MMP-1, -13 и TIMP-1 на фиброгенез мягких ретробульбарных тканей при ЭОП остается актуальной.

Цель исследования — раскрытие некоторых биохимических механизмов фиброгенеза экстраокулярных мышц и ретробульбарной клетчатки при ЭОП.

Материал и методы

Дизайн исследования

Исследование было наблюдательным одноцентровым одномоментным контролируемым с параллельными группами: клинико-лабораторные показатели основной группы (пациенты с ЭОП) сопоставлялись с группой сравнения (аутоиммунная патология щитовидной железы без ЭОП) и контролем (здоровые лица). В ходе исследования основная группа была разделена на две подгруппы:

- пациенты с активной фазой ЭОП;
- пациенты с неактивной ЭОП в стадии фиброза экстраокулярных мышц и ретробульбарной клетчатки.

В подгруппе пациентов с активной фазой ЭОП было проведено наблюдательное проспективное исследование по оценке влияния пульс-терапии глюкокортикостероидами (ГКС) на клинико-лабораторные показатели активности ЭОП.

Критерии соответствия

В исследование включались пациенты с клинически, инструментально и лабораторно подтвержденной аутоиммунной патологией щитовидной железы и/или диагнозом ЭОП средней степени тяжести. Диагноз был верифицирован на основании консультации эндокринолога и офтальмолога, УЗИ щитовидной железы, КТ орбит (при ЭОП), а также определения уровня ТТГ и тироксина (Т4).

В контрольную группу входили лица, считавшие себя практически здоровыми, с нормальным психосоматическим состоянием, не принимающие лекарственные препараты на момент исследования и обследованные смежными специалистами в порядке диспансеризации.

Критерии исключения из исследования: болезни орбиты другой этиологии; тяжелая соматическая патология, препятствующая проведению дальнейшего исследования, онкологические заболевания, системные аутоиммунные заболевания, инфекционные заболевания, сахарный диабет, беременность и лактация.

Условия проведения

Исследование проведено на базе отделения офтальмологии ГУЗ «Краевая клиническая больница №1» и в лаборатории биохимии НИИ молекулярной медицины ФГБОУ ВО «Читинская государственная медицинская академия».

Продолжительность исследования

В исследование были включены пациенты, госпитализированные в отделение эндокринологии ГУЗ «Краевая клиническая больница №1» или обратившиеся в поликлинику ФГБОУ ВО «Читинская государственная медицинская академия» за период с 2016 по 2018 г.

У пациентов с неактивной ЭОП, а также у пациентов групп сравнения и контроля проводили комплексный офтальмологический осмотр и брали пробы венозной крови для однократного определения концентрации MMP-1, MMP-13, TIMP-1, сульфатированных гликозаминогликанов (sGAG) и АТ к рТТГ в сыворотке. Подгруппа пациентов с активной ЭОП имела два плановых визита, включающих оценку клинико-лабораторных показателей до и сразу после проведения пульс-терапии ГКС с интервалом в 2 мес.

Описание медицинского вмешательства

Комплексное офтальмологическое обследование включало сбор жалоб и анамнестических данных, осмотр органа зрения, экзофтальмометрию, визометрию, авторефрактометрию, тонометрию, биомикроскопию, непрямую офтальмоскопию, периметрию. По показаниям проводили пахиметрию, А-сканирование глазных яблок и оптическую когерентную томографию дисков зрительных нервов.

Материалом для исследования служила сыворотка венозной крови пациента. Кровь забирали в одно время суток (8:00 ч), натощак, в положении исследуемых сидя.

Основной исход исследования

Основными конечными точками исследования были концентрация MMP-1, MMP-13 и TIMP-1 в сыворотке крови и их связь с клиническими проявлениями ЭОП, а также с изменениями во время пульс-терапии глюкокортикостероидами (ГКС).

Дополнительные исходы исследования

Определяли наличие и силу корреляционных связей между концентрацией sGAG и уровнем MMP-1, MMP-13, TIMP-1 и АТ к рТТГ в сыворотке крови у пациентов с ЭОП, а также возможность использования концентрации sGAG в качестве дополнительного лабораторного критерия активности и тяжести ЭОП.

Анализ в подгруппах

В ходе исследования было сформировано три группы участников:

- в основную группу вошли пациенты с ЭОП средней степени тяжести разных фаз активности;
- в группу сравнения — пациенты с аутоиммунной патологией щитовидной железы без ЭОП;
- в контрольную группу — здоровые лица, сопоставимые по возрастным и гендерным параметрам.

В зависимости от активности аутоиммунного воспаления в орбите пациенты основной группы были распределены на две подгруппы:

- 1-я подгруппа — активная ЭОП;
- 2-я подгруппа — неактивная ЭОП в стадии фиброза глазодвигательных мышц и ретробульбарной клетчатки.

Критериями для распределения пациентов основной группы на подгруппы исследования служили стаж и степень активности ЭОП по шкале CAS (Clinical Activity Score), а также состояние мягких ретробульбарных тканей по данным компьютерной томографии орбит (проптоз, толщина глазодвигательных мышц, рентгеновская плотность ретробульбарной клетчатки и глазодвигательных мышц).

Методы регистрации исходов

Степень тяжести ЭОП верифицировали по классификации NOSPECS, рекомендуемой Европейской группой исследователей орбитопатии Грейвса (EUGOGO), которая включала легкую, среднюю и тяжелую формы. Активность заболевания оценивали по шкале CAS в баллах, выделяя неактивную (CAS <3) и активную (CAS ≥3) фазы ЭОП [1, 9].

Уровень MMP-1, MMP-13 и TIMP-1 в сыворотке крови определяли методом твердофазного иммуноферментного анализа с использованием реактивов фирмы «Cloud-Clone Corp.» (США), чувствительность: 0,059 нг/мл для MMP-1 и TIMP-1 и 12,1 пг/мл для MMP-13. Для определения уровня sGAG в сыворотке использовали реактивы фирмы «EURO Diagnostica AD» (Швеция), диапазон измерений: 1,4–400 мкг/мл. Уровень АТ к рТТГ определяли с помощью конкурентного иммуноферментного анализа с использованием реактивов фирмы «MEDIPAN GMBH» (Германия). Границы нормы для АТ к рТТГ: ≤1,5 мЕд/л.

Этическая экспертиза

Проведение исследования было одобрено Локальным этическим комитетом ФГБОУ ВО «Читинская государственная медицинская академия» Минздрава России (протокол №81 от 28.10.16).

Статистический анализ

Для статистического анализа использовалась программа Statistica 10.0 («StatSoft Inc.», США). Перед началом анализа вариационные ряды тестировали на нормальность распределения при помощи критериев Колмогорова—Смирнова и Шапиро—Уилка. Поскольку в исследуемых группах признаки имели распределение, отличное от нормального, для каждого показателя вычисляли медиану и интерквартильный размах (Me [Q25; Q75]). Для оценки статистической значимости различий при сравнении числовых данных двух независимых групп использовали U -критерий Манна—Уитни, при сравнении двух зависимых групп применялся T -критерий Вилкоксона, а при числе выборок более двух — H -критерий Краскела—Уоллиса. Анализ статистической значимости различий клинико-лабораторных показателей проведен с помощью критерия χ^2 Пирсона с поправкой Йейтса. Вычислялось отношение шансов и рисков развития активной формы ЭОП при повышении концентрации биохимических показателей.

мических показателей в сыворотке. Для оценки взаимосвязи между показателями рассчитывали коэффициент ранговой корреляции Спирмена. Критический уровень значимости при проверке статистических гипотез в данном исследовании принимался при $p < 0,05$.

Результаты

Объекты (участники) исследования

Все включенные в исследование пациенты были разделены на группу сравнения с аутоиммунной патологией щитовидной железы без ЭОП ($n=18$) и основную группу с ЭОП средней степени тяжести разных фаз активности ($n=32$).

В зависимости от фазы активности ЭОП пациенты основной группы были распределены на две подгруппы. 1-я подгруппа представлена 15 пациентами с активной ЭОП в возрасте 46 (35–52) лет с анамнезом заболевания менее 6 мес и признаками отека и инфильтрации мягких ретробульбарных тканей по данным компьютерной томографии орбит. Эта подгруппа была разделена на группу А, в которую вошли 15 пациентов с активной ЭОП до проведения пульс-терапии ГКС, и группу В — 15 пациентов с неактивной ЭОП сразу после курса пульс-терапии ГКС (суммарная нагрузочная доза 6–8 мг метилпреднизолона). 2-ю подгруппу составили 17 пациентов в возрасте 46 лет (35–51 год) с неактивной ЭОП в стадии фиброза глазодвигательных мышц и ретробульбарной клетчатки и анамнезом заболевания более 18 мес (**табл. 1**).

Основные результаты исследования

Уровень АТ к рТТГ был значимо ($p < 0,05$) выше при всех фазах активности ЭОП, чем в группах сравнения и контроля (**табл. 2**). У 100% пациентов с активной стадией ЭОП (CAS ≥ 3) титр АТ к рТТГ был выше или равен 1,5 мЕд/л. У 15% пациентов с неактивной стадией ЭОП (CAS < 3) результаты определения АТ к рТТГ были ложнопозитивными ($\chi^2=33,03$; $p < 0,001$). Выявлена прямая сильная корреляционная связь ($r=0,77$) между титром АТ к рТТГ выше или равным 1,5 мЕд/л и активностью ЭОП ($p < 0,001$) (**табл. 3**).

Значимых различий по уровню ММР-1 в группах исследования не зафиксировано ($p=0,865$). Однако в активную фазу ЭОП выявлено увеличение концентрации ММР-13 в 3,5 раза ($p < 0,001$) и ТИМР-1 в 1,17 раза ($p > 0,05$) по сравнению с контрольной группой (**см. табл. 2**). При этом данные показатели имели слабые прямые корреляционные связи ($r=0,33$; $p < 0,001$) (**см. табл. 3**).

После пульс-терапии ГКС происходило снижение ММР-13 на 48,6% ($p < 0,001$) и АТ к рТТГ на 93% ($p < 0,001$) по сравнению с активной фазой ЭОП, но значения данных показателей превышали референсные границы контрольной группы ($p > 0,05$). Уровень

ТИМР-1 у пациентов с активной ЭОП до и после лечения значимо не различался ($p > 0,05$) (**см. табл. 2**).

При этом в неактивную ЭОП в стадии фиброза уровень ММР-13 оставался в 2 раза выше, чем в контрольной группе, и не отличался от его уровня у пациентов после пульс-терапии ГКС ($p=0,6778$). У пациентов с неактивной ЭОП в стадии фиброза уровень ТИМР-1 вернулся к референсным границам контрольной группы ($p=0,255$) (**см. табл. 2**).

Выявлены прямые связи средней силы ($r=0,65$) между содержанием ММР-13 и АТ к рТТГ ($p < 0,001$), а также слабые связи ($r=0,35$) между содержанием ТИМР-1 и АТ к рТТГ в группах исследования ($p < 0,001$) (**см. табл. 3**).

Доля пациентов с активной стадией ЭОП и уровнем ММР-13 > 60 нг/мл и ТИМР-1 > 105 нг/мл составила 88%, а с неактивной стадией ЭОП и уровнем ММР-13 ≤ 60 нг/мл и ТИМР-1 ≤ 105 нг/мл — 93% ($\chi^2=63,07$; $p < 0,001$). При этом выявлена прямая сильная связь ($r=0,8$; $p < 0,001$) между уровнем ММР-13 > 60 нг/мл и ТИМР-1 > 105 нг/мл и активностью ЭОП (CAS ≥ 3). Также обнаружена прямая сильная связь ($r=0,76$; $p < 0,001$) между уровнем ММР-13 > 60 нг/мл и ТИМР-1 > 105 нг/мл и уровнем АТ к рТТГ $\geq 1,5$ мЕд/л (**см. табл. 3**).

У пациентов с концентрацией ММР-13 > 60 нг/мл и ТИМР-1 > 105 нг/мл относительный риск возникновения активной ЭОП был равен 18,3 (95% ДИ, 4,65–72,13). Отношение шансов развития активной фазы заболевания составило 105 (95% ДИ, 15,9–690,8).

Дополнительные результаты исследования

У всех пациентов с ЭОП независимо от фазы активности концентрация sGAG в сыворотке крови была значимо выше, чем в группе контроля ($p < 0,001$). Также отмечено повышение уровня sGAG в группе сравнения в 1,7 раза по сравнению с контролем ($p < 0,05$) (**см. табл. 2**).

Значимых различий по уровню sGAG в сыворотке до и после пульс-терапии ГКС не зафиксировано ($p > 0,05$) (**см. табл. 2**).

Повышение уровня sGAG прямо и слабо связано с увеличением концентрации ММР-13 ($r=0,43$; $p < 0,001$) и титра АТ к рТТГ ($r=0,43$; $p < 0,05$). Зависимости между уровнями sGAG и ТИМР-1 не обнаружено ($r=0,20$; $p=0,074$) (**см. табл. 3**).

Нежелательные явления

Нежелательных явлений в настоящем исследовании не наблюдалось.

Обсуждение

Резюме основного результата исследования

Нами выявлен дисбаланс в продукции ММР-13 и ТИМР-1 в разные фазы активности ЭОП. Уровень ММР-13 был повышен у всех пациентов с ЭОП

Таблица 1. Стаж и активность эндокринной офтальмопатии (Me [Q25; Q75])

Показатель	Основная группа		
	активная ЭОП		неактивная ЭОП (n=17)
	группа А до лечения ГКС (n=15)	группа В после лечения ГКС (n=15)	
Стаж ЭОП, месяцы	3 [3; 5]	5 [5; 6]	24 [19; 25]
Активность ЭОП по шкале CAS (0–7) ¹ , баллы	4 [4; 5]	2 [2; 3]	1 [0; 2]

Примечание. Здесь и в табл. 2, 3: n — количество наблюдений в группах; Me [Q25; Q75] — медиана (интерквартильный размах в виде 0,25 и 0,75 квартилей); ¹CAS (Clinical Activity Score) — шкала клинической активности эндокринной офтальмопатии.

Таблица 2. Динамика уровня антител к рецептору тиреотропного гормона, сульфатированных гликозаминогликанов, матричных металлопротеиназ-1, -13 и тканевого ингибитора-1 в группах, (Me [Q25; Q75])

Показатель	Контроль (n=15)	Группа сравнения (n=18)	Основная группа		
			активная ЭОП		неактивная ЭОП (n=15)
			до лечения ГКС (n=15)	после лечения ГКС (n=15)	
Концентрация АТ к рТТГ, мЕд/л	0,01 [0; 0,27]	0,1 [0; 0,3] <i>p</i> =0,5387	16,9 [7,78; 24,4] <i>p</i> <0,001 <i>p</i> ₁ <0,001	1,16 [0,16; 6,33] <i>p</i> <0,05 <i>p</i> ₁ <0,05 <i>p</i> ₂ <0,001	0,51 [0,25; 0,82] <i>p</i> <0,001 <i>p</i> ₁ <0,001 <i>p</i> ₃ <0,001 <i>p</i> ₄ =0,597 <i>p</i> ₅ <0,001
Концентрация sGAG, мкг/мл	11,74 [7,2; 15,5]	19,7 [13,3; 25,2] <i>p</i> <0,05	25,6 [21,5; 33,3] <i>p</i> <0,001 <i>p</i> ₁ <0,05	30,77 [16,3; 32,05] <i>p</i> <0,001 <i>p</i> ₁ <0,05 <i>p</i> ₂ =0,609	29,06 [22,35; 35,04] <i>p</i> <0,001 <i>p</i> ₁ <0,05 <i>p</i> ₃ =0,597 <i>p</i> ₄ =0,558 <i>p</i> ₅ <0,05
Концентрация MMP-1, нг/мл	2,89 [2,58; 3,64]	2,94 [2,78; 3,4] <i>p</i> =0,745	3,02 [2,79; 3,62] <i>p</i> =0,619 <i>p</i> ₁ =0,492	2,8 [2,57; 3,65] <i>p</i> =0,648 <i>p</i> ₁ =0,448 <i>p</i> ₂ =0,57	2,93 [2,45; 3,29] <i>p</i> =0,558 <i>p</i> ₁ =0,338 <i>p</i> ₃ =0,206 <i>p</i> ₄ =0,879 <i>p</i> ₅ =0,865
Концентрация MMP-13, нг/мл	21,3 [17,6; 27,5]	24,8 [17,6; 29,7] <i>p</i> =0,856	73,7 [61,6; 92,4] <i>p</i> <0,001 <i>p</i> ₁ <0,001	37,9 [20,9; 52,8] <i>p</i> <0,05 <i>p</i> ₁ <0,001 <i>p</i> ₂ <0,001	42,9 [18,7; 50,6] <i>p</i> <0,05 <i>p</i> ₁ <0,05 <i>p</i> ₃ <0,001 <i>p</i> ₄ =0,6778 <i>p</i> ₅ <0,001
Концентрация TIMP-1, нг/мл	101,03 [93,5; 111,03]	108,9 [102,4; 119,32] <i>p</i> =0,071	118,35 [106,15; 165,7] <i>p</i> <0,05 <i>p</i> ₁ <0,05	115,1 [109,05; 134,6] <i>p</i> <0,05 <i>p</i> ₁ <0,05 <i>p</i> ₂ =0,733	103,6 [94,1; 112,04] <i>p</i> =0,533 <i>p</i> ₁ =0,255 <i>p</i> ₃ <0,05 <i>p</i> ₄ <0,05 <i>p</i> ₅ <0,05

Примечание. *p* — статистическая значимость при сравнении с контролем; *p*₁ — статистическая значимость при сравнении с группой сравнения; *p*₂ — статистическая значимость в группе с активной ЭОП до и после пульс-терапии ГКС; *p*₃ — статистическая значимость между активной ЭОП до пульс-терапии ГКС и неактивной ЭОП в стадии фиброза; *p*₄ — статистическая значимость между активной ЭОП после пульс-терапии ГКС и неактивной; *p*₅ — статистическая значимость при сравнении всех выборок.

Таблица 3. Результаты корреляционного анализа клинко-лабораторных показателей эндокринной офтальмопатии

Коррелирующий признак	Показатель корреляции	
	коэффициент корреляции, <i>r</i>	уровень значимости, <i>p</i>
Концентрация АТ к рТТГ ≥1,5 мЕд/л и CAS ≥3	0,77	<0,001
Концентрация АТ к рТТГ и MMP-13	0,65	<0,001
Концентрация АТ к рТТГ и TIMP-1	0,35	<0,001
Концентрация АТ к рТТГ и sGAG	0,43	<0,05
Концентрация MMP-13 и TIMP-1	0,33	<0,05
Концентрация MMP-13 >60 нг/мл и CAS ≥3	0,76	<0,001
Концентрация TIMP-1 >105 нг/мл и CAS ≥3	0,49	<0,001
Концентрация MMP-13 >60 нг/мл, TIMP-1 >105 нг/мл и CAS ≥3	0,80	<0,001
Концентрация MMP-13 >60 нг/мл, TIMP-1 >105 нг/мл и АТ к рТТГ ≥1,5 мЕд/л	0,76	<0,001
Концентрация sGAG и MMP-13	0,37	<0,001

($p < 0,05$), но максимальное значение зафиксировано в активную фазу ($p < 0,001$). Содержание TIMP-1 в сыворотке крови в активную фазу ЭОП также повышалось ($p < 0,05$). Однако в неактивную фазу ЭОП в стадии фиброза мягких ретробульбарных тканей, несмотря на повышенный показатель MMP-13, уровень TIMP-1 снижался до референсных значений контрольной группы ($p = 0,533$).

Итогом исследования явилась идентификация дополнительного лабораторного диагностического маркера, концентрация MMP-13 > 60 нг/мл и TIMP-1 > 105 нг/мл в сыворотке крови характеризует активную ЭОП средней степени тяжести.

По уровню MMP-1 группы исследования практически не различались ($p = 0,865$).

Одним из возможных механизмов профибротического влияния пульс-терапии ГКС на мягкие ретробульбарные ткани при ЭОП является дисбаланс между MMP-13 и TIMP-1, при котором на фоне подавления чрезмерной экспрессии MMP-13 содержание TIMP-1 в сыворотке остается повышенным. Более того, после пульс-терапии ГКС длительно сохранялась повышенная концентрация sGAG в сыворотке, что может указывать на продолжающуюся деструкцию внеклеточного матрикса и активацию орбитальных фибробластов.

Обсуждение основного результата исследования

Орбитальные фибробласты играют важную роль в процессе ремоделирования и развития фиброза мягких ретробульбарных тканей при ЭОП [4]. Активируясь, они избыточно синтезируют компоненты межклеточного матрикса, в частности гликозаминогликаны, которые представляют собой линейные полианионные гетерополисахариды, включающие хондроитинсульфат, дерматансульфат, гепарансульфат, гепарин, кератансульфат и гиалуроновую кислоту [10]. Цепи этих макромолекул, за исключением гиалуроновой кислоты, ковалентно присоединены к белкам ядра, образуя протеогликаны, которые являются элементами клеточной мембраны, внутриклеточных гранул, а также основного вещества соединительной ткани, формирующей межклеточный матрикс [10].

Аутоиммунное воспаление в орбите при ЭОП приводит к усилению катаболизма внеклеточного матрикса с увеличением концентрации вышеуказанных макромолекул в сыворотке крови и усилением их экскреции с мочой в виде олигосахаридов [10]. Некоторые авторы [11] рассматривают экскрецию sGAG с мочой как маркер активности инфильтративного процесса в орбите при ЭОП. Известно, что уровень sGAG в сыворотке характеризует состояние обмена протеогликанов и позволяет косвенно судить о степени деструкции соединительной ткани при различных заболеваниях [12]. Согласно нашим данным, уровень sGAG в сыворотке не является специфическим критерием активности ЭОП, поскольку он повышен

при всех фазах активности заболевания. Тем не менее данный показатель можно использовать для оценки степени деструкции межклеточного матрикса в орбите и эффективности лечения ЭОП.

MMPs являются ключевыми ферментами метаболизма компонентов соединительной ткани, участвующими в различных физиологических и патологических процессах морфогенеза, резорбции и ремоделирования тканей, требующих миграции, адгезии и дифференцировки клеток [7, 8]. Синтез MMPs контролируется цитокинами (интерлейкином-1 β , фактором некроза опухолей- α , интерлейкином-6) и ростовыми факторами (фактором роста фибробластов, эпидермальным фактором роста, тромбоцитарным фактором роста) [8]. Гепарин, глюкокортикостероиды, эстрогены и прогестерон способны подавлять избыточную секрецию MMPs [8].

Активация MMPs является одним из ведущих механизмов развития заболеваний с дисплазией соединительной ткани [13]. Кроме того, MMPs рассматривают как сывороточные маркеры фиброза. Так, например, хронический гепатит, трансформирующийся в цирроз, характеризуется повышением активности MMPs и холестаза [13]. Содержание MMPs и их тканевых ингибиторов определяют при различных формах ИБС для создания той или иной модели ремоделирования левого желудочка [14].

Недавно показано, что TIMP-1 и TIMP-2 выполняют роль факторов роста, стимулируя рост фибробластов и избыточный синтез коллагена [15, 16]. Более того, ингибирующее влияние TIMP на процессы протеолиза коллагена и гликозаминогликанов, возможно, замедляет утилизацию поврежденных компонентов внеклеточного матрикса и тормозит фиброзирование тканей [14].

Наши данные о дисбалансе MMP-13 и TIMP-1 при ЭОП сопоставимы с результатами других исследований. J. Mysliwiec и соавт. [17] не нашли изменений концентрации MMP-2, но зафиксировали значительное повышение уровня MMP-9 у пациентов с активной ЭОП; после терапии ГКС этот показатель снижался. Уровень TIMP-1 оставался высоким до и после лечения. H. Kim и соавт. [18] отметили, что ГКС не ингибируют индуцированную интерлейкином-1 β продукцию TIMP-1 при ЭОП.

Однако другие авторы [19, 20] показали, что сверхэкспрессия MMP-1 и MMP-13 стимулирует миграцию и дифференцировку миоцитов в процессе репарации мышечной ткани при травмах. Поэтому значительное повышение уровня MMP-13 при активной ЭОП, возможно, необходимо для регенерации экстраокулярных мышц после повреждающего воздействия оксидативного стресса и аутоиммунного воспаления.

Таким образом, хроническое аутоиммунное воспаление при ЭОП приводит к повышенной деструкции мягких ретробульбарных тканей. Необходимость

утилизации разрушенных и вновь синтезированных компонентов соединительной ткани, возможно, приводит к повышению уровня MMP-13 в активную фазу заболевания. Однако чрезмерная деградация коллагена под действием MMPs может стать триггером нерегулируемого синтеза компонентов межклеточного матрикса орбитальными фибробластами с последующим развитием фиброза. Поэтому повышение уровня TIMP-1 в острую фазу воспаления в орбите может быть компенсаторной реакцией. После пульс-терапии возникает дисбаланс в системе фермент — тканевой ингибитор, поскольку ГКС не способны ингибировать продукцию TIMP-1 при ЭОП [18]. Так, на фоне повышенного уровня TIMP-1 происходит выраженное снижение содержания MMP-13. Высокий уровень TIMP-1 может замедлять утилизацию поврежденных компонентов внеклеточного матрикса, а также дополнительно активировать орбитальные фибробласты [14–16]. Эти нарушения процессов ремоделирования межклеточного матрикса после проведения пульс-терапии ГКС, возможно, запускают фиброгенез экстраокулярных мышц и ретробульбарной клетчатки при ЭОП. В неактивную фазу ЭОП, в стадии фиброза, концентрация MMP-13 остается умеренно высокой, тогда как содержание TIMP-1 достигает референсных значений контрольной группы. В эту фазу преобладают деструктивные процессы, приводящие к хронической активации орбитальных фибробластов и синтезу компонентов внеклеточного матрикса. Такое предположение подтверждается результатами настоящего исследования, показавшего сохранение высокого уровня sGAG у пациентов с неактивной фазой ЭОП в стадии фиброза.

Ограничения исследования

К ограничениям исследования относится изучение концентрации MMP-1, MMP-13, TIMP-1 и sGAG в сыворотке крови только у пациентов со средней степенью тяжести ЭОП. Изучение динамики данных показателей у пациентов с разными степенями тяжести ЭОП позволит более точно определить пороговую концентрацию данных биохимических показателей в сыворотке, характеризующую активное аутоиммунное воспаление в орбите.

Заключение

При ЭОП существует дисбаланс в системе матриксные металлопротеиназы — тканевой ингибитор

металлопротеиназ в разные фазы активности аутоиммунного воспаления.

Активная ЭОП характеризуется повышением содержания MMP-13 в 3,5 раза и TIMP-1 в 1,17 раза ($p < 0,05$). Эти показатели напрямую коррелируют с титром АТ к рТТГ и активностью ЭОП по шкале CAS ($p < 0,001$). Диагностический критерий активности ЭОП включает концентрации MMP-13 и TIMP-1 в сыворотке крови. Активная фаза ЭОП характеризуется уровнем MMP-13 > 60 нг/мл и TIMP-1 > 105 нг/мл.

Пульс-терапия ГКС, помимо выраженного иммуносупрессивного действия (снижение АТ к рТТГ на 93%), возможно, оказывает профибротическое влияние на мягкие ретробульбарные ткани, что проявляется дисбалансом между MMP-13 и TIMP-1. Высокий уровень TIMP-1 может замедлять утилизацию разрушенных компонентов внеклеточного матрикса и стимулировать орбитальные фибробласты к пролиферации и продукции таких компонентов. Более того, уровень sGAG в сыворотке крови, косвенно характеризующий степень деструкции соединительной ткани и синтетическую функцию орбитальных фибробластов, после пульс-терапии ГКС не снижался. Данные биохимические показатели могут использоваться у пациентов с активной ЭОП для контроля лечения и подбора индивидуальной дозы ГКС.

У пациентов с неактивной ЭОП в стадии фиброза уровень MMP-13 оставался в 2 раза выше, чем в контрольной группе, и не отличался от уровня у пациентов после пульс-терапии ГКС. Концентрация TIMP-1 у лиц данной группы нормализовалась.

Дополнительная информация

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Источник финансирования. Исследование проведено при финансовой поддержке ФГБОУ ВО «Читинская государственная медицинская академия» Минздрава России.

Участие авторов: Е.С. Таскина — концепция и дизайн исследования, сбор и обработка материалов, анализ полученных данных, написание текста; С.В. Харинцева — концепция и дизайн исследования, анализ полученных данных, редактирование. Оба автора внесли существенный вклад в проведение исследования и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией.

ЛИТЕРАТУРА | REFERENCES

1. Дедов И.И., Мельниченко Г.А., Свириденко Н.Ю., и др. Федеральные клинические рекомендации по диагностике и лечению эндокринной офтальмопатии при аутоиммунной патологии щитовидной железы. // *Проблемы Эндокринологии*. — 2015. — Т. 61. — № 1. — С. 61-74. [Dedov II, Melnichenko GA, Sviridenko NYu, et al. Federal clinical recommendations on diagnostics and treatment of endocrine ophthalmopathy associated with autoimmune thyroid pathology. *Problems of Endocrinology*. 2015;61(1):61-74. (In Russ.)]. doi: <https://doi.org/10.14341/probl201561161-74>
2. Петунина Н.А., Трухина Л.В., Мартиросян Н.С. Эндокринная офтальмопатия: современный взгляд. // *Проблемы Эндокринологии*. — 2012. — Т. 58. — № 6. — С. 24-32. [Petunina NA, Trukhina LV, Martirosyan NS. Endocrine ophthalmopathy: state-of-the-art approaches. *Problems of Endocrinology*. 2012;58(6):24-32. (In Russ.)]. doi: <https://doi.org/10.14341/probl201258624-32>
3. Таскина Е.С., Харинцева С.В., Харинцев В.В. Современные представления о патогенезе повреждения глазодвигательных мышц и ретробульбарной клетчатки при эндокринной офтальмопатии. // *Забайкальский Медицинский Вестник*. — 2017. — № 2. — С. 175-184. [Taskina ES, Kharintseva SV, Kharintsev VV. Current insights into the pathogenesis of the extraocular muscles and retrobulbar tissue impairments in endocrine ophthalmopathy. *Zabaykal'skiy Meditsinskiy Vestnik*. 2017;(2):175-184. (In Russ.)].
4. Dik WA, Virakul S, Van Steensel L. Current perspectives on the role of orbital fibroblasts in the pathogenesis of graves' ophthalmopathy. *Exp Eye Res*. 2016;142:83-91. doi: <https://doi.org/10.1016/j.exer.2015.02.007>
5. Харинцев В.В., Серебрякова О.В., Серкин Д.М., и др. Роль некоторых про- и противовоспалительных цитокинов в течении эндокринной офтальмопатии. // *Забайкальский Медицинский Вестник*. — 2016. — № 2. — С. 33-40. [Kharintsev VV, Serebryakova OV, Serkin DM, et al. The role of some pro- and anti-inflammatory cytokines in the course of endocrine ophthalmopathy. *Zabaykal'skiy Meditsinskiy Vestnik*. 2016;2:33-40. (In Russ.)].
6. Bahn RS. Current insights into the pathogenesis of graves' ophthalmopathy. *Horm Metab Res*. 2015;47(10):773-778. doi: <https://doi.org/10.1055/s-0035-1555762>
7. Apte SS, Parks WC. Metalloproteinases: a parade of functions in matrix biology and an outlook for the future. *Matrix Biol*. 2015;44-46:1-6. doi: <https://doi.org/10.1016/j.matbio.2015.04.005>
8. Шадрина А.С., Плиева Я.З., Кушлинский Д.Н., и др. Классификация, регуляция активности, генетический полиморфизм матриксных металлопротеиназ в норме и при патологии. // *Альманах Клинической Медицины*. — 2017. — Т. 45. — № 4. — С. 266-279. [Shadrina AS, Plieva YaZ, Kushlinsky DN, et al. Classification, regulation of activity, genetic polymorphism of matrix metalloproteinases in norm and in pathology. *Almanac of Clinical Medicine*. 2017;45(4):266-279. (In Russ.)]. doi: <https://doi.org/10.18786/2072-0505-2017-45-4-266-279>
9. Bartalena L, Baldeschi L, Boboridis K, et al. The 2016 European thyroid association/European group on graves' orbitopathy guidelines for the management of graves' orbitopathy. *Eur Thyroid J*. 2016;5(1):9-26. doi: <https://doi.org/10.1159/000443828>
10. Krieger CC, Gershengorn MC. A modified ELISA accurately features secretion of high molecular weight hyaluronan (HA) by graves' disease orbital cells. *Endocrinology*. 2014;155(2):627-634. doi: <https://doi.org/10.1210/en.2013-1890>
11. Krieger CC, Neumann S, Place RF, et al. Bidirectional TSH and IGF-1 receptor cross talk mediates stimulation of hyaluronan secretion by graves' disease immunoglobins. *J Clin Endocrinol Metab*. 2015;100(3):1071-1077. doi: <https://doi.org/10.1210/jc.2014-3566>
12. Суфьяров И.Ф., Хасанов А.Г., Нуртдинов М.А., и др. Высокий уровень гликозаминогликанов сыворотки крови как независимый предиктор развития спаечной болезни брюшины. // *Креативная Хирургия и Онкология*. — 2017. — Т. 7. — № 2. — С. 48-53. [Sufiyarov IF, Khasanov AG, Nurtudinov MA, et al. High level of glycosaminoglycans of blood serumas an independent predictor of the developing peritoneum adhesive disease. *Creative Surgery and Oncology*. 2017;7(2):48-53. (In Russ.)]. doi: <https://doi.org/10.24060/2076-3093-2017-7-2-48-53>
13. Рогова Л.Н., Шестернина Н.В., Замечник Т.В., Фастова И.А. Матриксные металлопротеиназы, их роль в физиологических и патологических процессах (обзор). // *Вестник Новых Медицинских Технологий*. — 2011. — Т. 18. — № 2 — С. 86-89. [Rogova LN, Shesternina NV, Zamechnik TV, Fastova IA. Matrix metalloproteinases, their role in physiological and pathological processes (review). *Bulletin of New Medical Technologies*. 2011; 18(2):86-89. (In Russ.)].
14. Говорин А.В., Рацина Е.В., Соколова Н.А. Изменения показателей матриксных металлопротеиназ и их тканевых ингибиторов при различных формах ишемической болезни сердца. // *Сибирский Медицинский Журнал*. — 2014. — Т. 124. — № 1. — С. 27-32. [Govorin AV, Ratsina EV, Sokolova NA. Changes in matrix metalloproteinases and their tissue inhibitors in different forms of ischemic heart disease. *Siberian Medical Journal*. 2014;124(1):27-32. (In Russ.)].
15. Arpino V, Brock M, Gill SE. The role of tims in regulation of extracellular matrix proteolysis. *Matrix Biol*. 2015;44-46:247-254. doi: <https://doi.org/10.1016/j.matbio.2015.03.005>
16. Brew K, Nagase H. The tissue inhibitors of metalloproteinases (TIMPS): an ancient family with structural and functional diversity. *Biochim Biophys Acta*. 2010;1803(1):55-71. doi: <https://doi.org/10.1016/j.bbamcr.2010.01.003>
17. Myśliwiec J, Adamczyk M, Pawłowski P, et al. Serum gelatinases (MMP-2 and MMP-9) and VCAM-1 as a guideline in a therapeutic approach in Graves' ophthalmopathy. *Endokrynol Pol*. 2007; 58(2):105-109.
18. Kim H, Choi YH, Park SJ, et al. Antifibrotic effect of pirfenidone on orbital fibroblasts of patients with thyroid-associated ophthalmopathy by decreasing TIMP-1 and collagen levels. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2010;51(6):3061-3066. doi: <https://doi.org/10.1167/iovs.09-4257>
19. Lei H, Leong D, Smith LR, Barton ER. Matrix metalloproteinase-13 is a new contributor to skeletal muscle regeneration and critical for myoblast migration. *Am J Physiol Cell Physiol*. 2013;305(5):C529-C538. doi: <https://doi.org/10.1152/ajpcell.00051.2013>
20. Wang W, Pan H, Murray K, et al. Matrix metalloproteinase-1 promotes muscle cell migration and differentiation. *Am J Pathol*. 2009;174(2):541-549. doi: <https://doi.org/10.2353/ajpath.2009.080509>

Рукопись получена: 29.06.18

Одобрена к публикации: 22.10.18

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

*Таскина Елизавета Сергеевна [Elizaveta S. Taskina, MD]; адрес: 672000, Россия, Чита, ул. Горького, 39а [address: 39a Gorkiy street, Chita, Russia, 672000]; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6223-8888>; eLibrary SPIN: 5687-2122; e-mail: taskins@yandex.ru

Харинцева Светлана Владимировна, д.м.н., профессор [Svetlana V. Kharintseva, MD, PhD, Professor]; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8899-5465>; eLibrary SPIN: 6788-2110; e-mail: s.v.19.28@mail.ru

КАК ЦИТИРОВАТЬ:

Таскина Е.С., Харинцева С.В. Матриксные металлопротеиназы-1, -13 и их тканевой ингибитор 1-го типа при эндокринной офтальмопатии. // *Проблемы эндокринологии*. — 2019. — Т. 65. — №1. — С. 10-18. doi: <https://doi.org/10.14341/probl9750>

TO CITE THIS ARTICLE:

Taskina ES, Kharintseva SV. Matrix metalloproteinases-1, -13 and their tissue inhibitor-1 in endocrine ophthalmopathy. *Problems of Endocrinology*. 2019;65(1):10-18. doi: <https://doi.org/10.14341/probl9750>