

и увеличением стромального компонента в слизистой оболочке желудка. Морфометрические показатели у больных атрофическим гастритом отличаются у евро-

пеоидов в сравнении с хакасами, что позволяет говорить о более агрессивном течении гастрита среди первых в сравнении со вторыми.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Автандилов Г.Г. Медицинская морфометрия: Рук-во. – М.: Медицина, 1990. – 382 с.
2. Аруин Л.И. Оценка обсемененности слизистой оболочки желудка Helicobacter Pylori и активности хронического гастрита // Архив патологии. – 1995. – №3. – С.75-76.
3. Меркулов М.Н. Курс паталогогистоскопической техники. – Л.: Медицина, 1969. – 423 с.
4. Самсонов В.А. Язвенная болезнь. Новые материалы к патоморфологии основных ее форм. – Петрозаводск: Карелия, 1975. – 261 с.
5. Цуканов В.В., Кононов А.В., Штыгашева О.В. и др. Показатели клеточного обновления эпителиоцитов слизистой оболочки желудка у H. pylori-позитивных пациентов с язвенной болезнью двенадцатиперстной кишки // Российский журнал гастроэн., гепатол., колопроктол. – 2007. – №5. – С.24-27.
6. Abdullah M., Ohtsuka H., Rani A.A., et al. Helicobacter pylori infection and gastropathy: a comparison between Indonesian and Japanese patients // World J. Gastroenterol. – 2009. – Vol. 15. №39. – P.4928-4931.
7. Adamu M.A., Weck M.N., Rothenbacher D., Brenner H. Incidence and risk factors for the development of chronic atrophic gastritis: five year follow-up of a population-based cohort study // Int. J. Cancer. 2011. – Vol. 128. №7. – P.1652-1658.
8. Alakkari A., Zullo A., O'Connor H.J. Helicobacter pylori and Nonmalignant Diseases // Helicobacter. – 2011. – Vol. 16. Suppl. 1. – P.33-37.
9. Dixon M.F., Genta R.M., Yardley J.H. Histological classification of gastritis and Helicobacter pylori infection: an agreement at last? The International Workshop on the Histopathology of Gastritis // Helicobacter. – 1997. – Vol. 2. №1. – P.17-24.
10. McNulty C. A. M., Lehours P, Mégraud F. Diagnosis of Helicobacter pylori Infection // Helicobacter. – 2011. – Vol. 16. Suppl. 1. – P.10-18.
11. The Eurohepygast Study Group. Risk factors for atrophic chronic gastritis in a European population: results of the Eurohepygast study // Gut. – 2002. – Vol. 50. №6. – P.779-785.
12. Vannella L., Lahner E., Annibale B. Risk for gastric neoplasias in patients with chronic atrophic gastritis: A critical reappraisal // World J. Gastroenterol. – 2012. – Vol. 18. №12. – P.1279-1285.

**Информация об авторах:** Буторин Николай Николаевич – к.м.н., заведующий отделением, e-mail: hbutor@mail.ru; Амелъчугова Ольга Сергеевна – к.м.н., старший научный сотрудник, e-mail: am\_olya@hotmail.com; Цуканов Владислав Владимирович – д.м.н., профессор, руководитель отделения, 660022, Красноярск, ул. Партизана Железняка, 3-г, тел.: (391)2125363, 2568120, факс (391) 2280683, e-mail: gastro@impn.ru; Штыгашева Ольга Владимировна – д.м.н., ректор, тел. (3902) 243018, e-mail: rektor@khsu.ru.

© КОРЕНОВСКИЙ Ю.В., ШАБАЛИНА Ю.В., ФИЛЬЧАКОВА О.Н., ЧУГУНОВА Т.Н., СИНЕЛЬНИКОВА Л.М., ФАДЕЕВА Н.И., ЕЛЬЧАНИНОВА С.А. – 2013  
УДК 616-053.32-001.8:577.125:577.152.34

#### АССОЦИАЦИЯ МАТРИКСНЫХ МЕТАЛЛОПРОТЕИНАЗ И ТКАНЕВОГО ИНГИБИТОРА МАТРИКСНЫХ МЕТАЛЛОПРОТЕИНАЗ С ПЕРИНАТАЛЬНОЙ ГИПОКСИЕЙ

Юрий Владимирович Кореновский<sup>1</sup>, Юлия Вадимовна Шабалина<sup>1</sup>, Оксана Николаевна Фильчакова<sup>1</sup>, Татьяна Николаевна Чугунова<sup>2</sup>, Лидия Михайловна Синельникова<sup>1</sup>, Наталья Ильинична Фадеева<sup>1</sup>, Светлана Александровна Ельчанинова<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>Алтайский государственный медицинский университет, ректор – д.м.н., проф. В.М. Брюханов, кафедра биохимии и клинической лабораторной диагностики, зав. – д.б.н., проф. С.А. Ельчанинова, кафедра акушерства и гинекологии №1, зав. – д.м.н., проф. Н.И. Фадеева, <sup>2</sup>Перинатальный центр (клинический) Алтайского края, Барнаул, гл. врач – Е. Г. Ершова)

**Резюме.** Исследованы концентрации матриксных металлопротеиназ 1 (ММП-1) и 9 (ММП-9) и тканевого ингибитора матриксных металлопротеиназ 1 (ТИМП-1) в пуповинной крови и в крови на 3-4 сутки жизни недоношенных новорожденных с признаками (n=25) и без признаков перинатальной гипоксии (n=30). Уровни ММП-1, ММП-9 и ТИМП-1 в крови новорожденных повышались к 3-4 суткам жизни новорожденных. Регистрировалось различие уровней ММП-1 в пуповинной крови, а также ММП-1 и ММП-9 в крови на 3-4 сутки жизни новорожденных в исследуемых группах. Уровни ТИМП-1 в группах не различались.

**Ключевые слова:** матриксные металлопротеиназы, тканевые ингибиторы матриксных металлопротеиназ, перинатальная гипоксия, роды.

#### ASSOCIATION OF MATRIX METALLOPROTEINASES AND TISSUE INHIBITOR OF MATRIX METALLOPROTEINASE WITH PERINATAL HYPOXIA

Yu. V. Korenovsky<sup>1</sup>, Yu. V. Shabalina<sup>1</sup>, O.N. Fil'chakova<sup>1</sup>, T.N. Chugunova<sup>2</sup>, L.M. Sinel'nikova<sup>1</sup>, N.I. Fadeeva<sup>1</sup>, S.S. El'chaninova<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup>Altay State Medical University, <sup>2</sup>Altay Perinatal Center, Barnaul)

**Summary.** Concentrations of matrix metalloproteinase 1 (MMP-1) and 9 (MMP-9) and tissue inhibitor of matrix metalloproteinase-1 (TIMP-1) were investigated in cord blood and in blood on 3-4 days of life in preterm infants with (n=25) and without signs of perinatal hypoxia (n=30). The levels of MMP-1, MMP-9 and TIMP-1 in the infants' blood rose by 3-4 day of life. Levels of MMP-1 in umbilical cord blood were different, as well as MMP-1 and MMP-9 levels on 3-4 days of life of infants in the groups studied. Levels of TIMP-1 in the groups did not differ.

**Key words:** matrix metalloproteinases, tissues inhibitors of matrix metalloproteinases, perinatal hypoxia, delivery.

Перинатальная гипоксия остается одной из главных причин детской смертности и заболеваемости, прояв-

ляющейся неврологическими нарушениями в форме детского церебрального паралича, задержки умствен-

Клиническая характеристика новорожденных и родов

	Новорожденные без признаков перинатальной гипоксии (n=30)	Новорожденные с перинатальной гипоксией (n=25)	Значимость межгрупповых различий, р
Срок родов, недели	37,2±3,26	35,1±3,21	0,156
Возраст матери, годы	30,0±2,55	28,5±3,00	0,070
Пол: мужской (М) / женский (Ж)	16 М/14 Ж	13 М/12 Ж	0,863
Масса тела при рождении, кг	3395±454,3	2293±731,2	<0,001
Баллы по Апгар на 1-й минуте	7,3±0,48	5,6±1,42	<0,001
Баллы по Апгар на 5-й минуте	8,9±0,56	6,7±0,71	<0,001
Число новорожденных, у которых проводилась искусственная вентиляция легких	0	22	<0,001
Способ родоразрешения: кесарево сечение (КС) / вагинальные роды (ВР)	15 КС/15 ВР	13 КС/12 ВР	0,902

Примечание: количественные данные представлены в виде среднего арифметического ± стандартное отклонение.

ного развития или эпилепсии [2,5,9]. Внутривенные кровоизлияния и гипоксическо-ишемическая энцефалопатия обусловлены, главным образом, гипоксическо-ишемическим повреждением мозга новорожденного [6]. В связи с этим для разработки новых стратегий терапии индуцированных гипоксией неврологических нарушений актуально выявление патогенетически значимых факторов перинатальной гипоксии [13].

Можно полагать, что в патогенез перинатальной гипоксии вовлечены матриксные металлопротеиназы (ММП) – семейство ферментов, разрушающих белки внеклеточного матрикса [8]. Установлено, что эти ферменты играют важную роль в физиологических и патологических процессах, включая эмбриогенез, регенерацию и воспаление [11,14]. Наиболее широкой субстратной специфичностью обладает ММП-1, которая расщепляет коллагены I, II, III, VII и X типов, многих тканей организма человека [8]. Специфическим субстратом ММП-9 является коллаген IV типа – главного компонента базальной мембраны церебрального эндотелия, а активация ММП-9 сопряжена с миграцией лейкоцитов в центральную нервную систему (ЦНС) [15]. Активность ММП регулируется тканевыми ингибиторами матриксных металлопротеиназ (ТИМП) [1,4].

Вышеизложенное определило цель исследования – оценить связь уровня ММП-1, ММП-9 и ТИМП-1 в крови новорожденных с развитием перинатальной гипоксии.

## Материалы и методы

Обследовано 56 доношенных новорожденных – 26 новорожденных с перинатальной гипоксией и 30 новорожденных без признаков перинатальной гипоксии (группа контроля). Перинатальную гипоксию диагностировали при наличии не менее 2 следующих признаков: интранатальный дистресс (брадикардия плода < 100 уд./мин, поздние децелерации или отсутствие вариабельности ритма сердца), по шкале Апгар на 5 минуте ≤ 6 баллов, необходимость в реанимационных мероприятиях в течение 1 мин [7].

В исследование не включали новорожденных с врожденными аномалиями развития, врожденными нарушениями метаболизма, несовместимостью групп крови у матери и плода, сепсисом, сахарным диабетом у матерей, родившихся в результате многоплодной беременности. Все матери выражали добровольное информированное согласие на участие в исследовании. За 30 минут до родов всем беременным проводили кардиотокографическое исследование на фетальном мониторе ВМТ-9141 (Biomonitor, ФРГ). Клиническая характеристика новорожденных представлена в таблице 1.

Сразу после родов из наружного отрезка пуповины и на 3-4 сутки из катетеризированного наружного отрезка пуповины новорожденных забирали кровь в пробирки с гепарином. Кровь немедленно центрифугировали при 1200 г в течение 15 мин. Полученные образцы плазмы крови хранили до исследования не более 1 мес. при температуре не выше -20°C.

Концентрации ММП-1, ММП-9 и ТИМП-1 в плазме крови определяли твердофазным микропланшетным иммуноферментным методом с реагентами и по протоколу фирмы RayBiotech (США).

Статистический анализ данных проводили в программе SigmaPlot 11.0 (Systat Software Inc., США). Нормальность распределения количественных признаков оценивали по W-критерию Шапиро-Уилка. При нормальном распределении значений переменной различие между группами оценивали по t-критерию Стьюдента, при отклонении от нормального распределения – по U-критерию Манна-Уитни. Различия между парными количественными переменными оценивали по T-критерию Вилкоксона. Корреляция между количественными признаками оценивали по r-коэффициенту ранговой корреляции Спирмена. Различия качественных признаков оценивали по критерию  $\chi^2$ . Для всех использованных статистических критериев принят уровень значимости  $p < 0,05$ .

## Результаты и обсуждение

Выявлены повышенные уровни ММП-1 в пуповинной крови новорожденных с гипоксией в сравнении с новорожденными без признаков гипоксии (табл. 2).

На 3-4 сутки жизни концентрация ММП-1 в плазме крови как новорожденных контрольной группы,

Таблица 2

Концентрации матриксной металлопротеиназы-1, матриксной металлопротеиназы-9 и тканевого ингибитора матриксных металлопротеиназ-1 в плазме крови новорожденных

	Новорожденные без признаков перинатальной гипоксии (n=30)	Новорожденные с перинатальной гипоксией (n=26)	Значимость межгрупповых различий, р
ММП-1, пг/мл в плазме пуповинной крови	425,0±205,0	2121,0±889,0	0,002
ММП-1, пг/мл в плазме крови на 3-4 жизни	17,7±4,89	184,0±45,4	0,007
ММП-9, пг/мл в пуповинной крови	152±38,5	121,0±27,2	0,178
ММП-9, пг/мл в плазме крови на 3-4 сутки жизни	119,0±33,8	88,5±38,75	0,035
ТИМП-1, пг/мл в плазме пуповинной крови	143,0±6,9	149,0±19,8	0,356
ТИМП-1, пг/мл в плазме крови на 3-4 сутки жизни	304,0±19,0	310,0±15,4	0,400

так и новорожденных с гипоксией снизились ( $p < 0,001$  для обеих групп). Это указывает на возможную связь гипоксии с повреждающим действием секреторируемой матриксной металлопротеиназы ММП-1 при ее активации продукцией и секреции в процессе родов [12].

Концентрация ММП-1 в пуповинной крови отрицательно коррелировала с результатами кардиото-

кографии, проведенной за 30 минут до родов ( $r=-0,49$ ;  $p=0,025$ ), сроком родов ( $r=-0,43$ ;  $p=0,049$ ), весом новорожденных ( $r=-0,44$ ;  $p=0,035$ ) и баллами по шкале Апгар на 5-й минуте жизни ( $r=-0,44$ ;  $p=0,033$ ). Аналогично, концентрация ММП-1 в плазме крови новорожденных на 3-4 сутки жизни коррелировала с баллами по Апгар на 1-й и 5-й минутах после рождения ( $r=-0,56$ ;  $p=0,05$  и  $r=-0,71$ ;  $p=0,009$  соответственно).

Таким образом, повышенные концентрации ММП-1 в плазме крови были ассоциированы с ухудшением состояния плода и новорожденного, что может быть связано с активацией продукции ММП-1 при гипоксии и/или незрелости плода и новорожденного [10].

Концентрации ММП-9 в пуповинной крови обследованных групп новорожденных не различались (табл. 2). Это противоречит ранее полученным результатам Sunagawa и соавт., 2009 [10], что может объясняться более тяжелым состоянием пациентов, обследованных этими авторами (перинатальная асфиксия), по сравнению с новорожденными, включенными в наше исследование. Уровень ММП-9 в плазме крови новорожденных без признаков гипоксии и новорожденных с перинатальной гипоксией к 3-4 суткам снизились ( $p<0,001$  для обеих групп). Причем более высокие уровни ММП-9 отмечались в контрольной группе (табл. 2).

Концентрация ММП-9 в пуповинной крови коррелировали с весом новорожденных ( $r=0,48$ ;  $p=0,013$ ), баллами по Апгар на 1-й и 5-й минутах ( $r=0,42$ ;  $p=0,040$  и  $r=0,42$ ;  $p=0,038$ , соответственно). Наиболее низкие уровни ММП-9 в пуповинной крови наблюдались у новорожденных с развившимся в раннем неонатальном периоде респираторным дистресс-синдромом ( $111,6\pm 62,87$  пг/мл,  $n=7$ ;  $p=0,049$ ) в сравнении с новорожденными с перинатальной гипоксией без респираторного синдрома ( $159,1\pm 30,11$  пг/мл;  $n=18$ ). Аналогично, низкие значения и/или дыхательной недостаточностью ( $117,3\pm 48,11$  пг/мл;  $n=11$ ;  $p<0,003$ ) в сравнении с новорожденными с перинатальной гипоксией, но без дыхательных расстройств ( $167,6\pm 29,77$  пг/мл;  $n=18$ ).

Не обнаружено межгрупповых различий концентраций ТИМП-1 в пуповинной крови обследованных новорожденных. Примечательно, что уровни ТИМП-1 в плазме крови новорожденных обеих групп повысились к 3-4 суткам жизни ( $p<0,001$  для обеих групп). При этом

также не выявлялось различий между группами новорожденных.

Концентрация ТИМП-1 в пуповинной крови отрицательно коррелировали с результатами кардиотокографии, проведенной за 30 минут до родов ( $r=-0,45$ ;  $p=0,037$ ). При этом более высокие уровни ТИМП-1 в пуповинной крови были ассоциированы с благоприятным исходом родов (табл. 2), что может объясняться ограничением ТИМП-1 активности деструктивных матриксных металлопротеиназ [3].

Обнаружено различие уровней ТИМП-1 в крови новорожденных на 3-4 сутки жизни при перинатальном поражении ЦНС. Более высокие уровни наблюдались при смешанном поражении ЦНС по сравнению с гипоксическим ( $315,3\pm 16,23$  пг/мл,  $n=11$  против  $283,7\pm 38,23$  пг/мл,  $n=4$ , соответственно;  $p=0,049$ ). Это, вероятно, отражает ограничение повреждающего действия ММП посредством ТИМП-1.

Полученные результаты позволяют полагать, что чрезмерная продукция ММП-1 ассоциируется с перинатальной гипоксией и может обуславливать клинически неблагоприятный исход этого патологического состояния. При этом повышенные уровни ММП-1 в пуповинной крови при перинатальной гипоксии у новорожденных могут рассматриваться как прогностический маркер такого неблагоприятного исхода.

В то же время высокие уровни ММП-9 в плазме пуповинной крови при физиологической гипоксии плода и новорожденного в родах скорее отражают адаптацию к новым условиям жизни, чем активацию патологического процесса.

Повышение концентрации ТИМП-1 в периферической крови в первые дни жизни как здоровых новорожденных, так и новорожденных с перинатальной гипоксией указывает на возможный физиологический характер такой реакции на роды со стороны системы матриксных металлопротеиназ и их тканевых ингибиторов. Это, вероятно, позволяет при физиологическом течении родов подготовить ткани плода и новорожденного к последующим приспособительным изменениям. Однако чрезмерная активация ТИМП-1, также как и недостаточное ингибирование ММП-1, может вносить вклад в развитие перинатальных осложнений в форме патологий нервной и дыхательной систем новорожденного.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Baker A.H., Edwards D.R., Murphy G. Metalloproteinase inhibitors: biological actions and therapeutic opportunities // J. Cell Sci. – 2002. – Vol. 115. – P.3719-3727.
2. Boichot C., Walker P.M., Durand C., et al. Term neonate prognoses after perinatal asphyxia: contributions of MR imaging, MR spectroscopy, relaxation times, and apparent diffusion coefficients // Radiology. – 2006. – Vol. 239. – P.839-848.
3. Cockle J.V., Gopichandran N., Walker J.J., et al. Matrix metalloproteinases and their tissue inhibitors in preterm perinatal complications // Reprod. Sci. – 2007. – Vol. 14. №7. – P.629-645.
4. Cunningham L.A., Wetzel M., Rosenberg G.A. Multiple roles for MMPs and TIMPs in cerebral ischemia // Glia. – 2005. – Vol. 50. – P.329-339.
5. Dilenge M.E., Majnemer A., Shevell M.I. Long-term developmental outcome of asphyxiated term neonates // J. Child Neurol. – 2001. – Vol. 16. – P.781-792.
6. Ferriero D.M. Neonatal brain injury // N. Engl. J. Med. – 2004. – Vol. 351. – P.1985-1995.
7. Florio P., Perrone S., Luisi S., et al. Increased plasma concentrations of activin A predict intraventricular hemorrhage in preterm newborns // Clin. Chem. – 2006. – Vol. 52. № 8. – P.1516-1521.
8. Hulboj D.L., Rudolph L.A., Matrisian L.M. Matrix

metalloproteinases as mediators of reproductive function // Mol. Human Reprod. – 1997. – Vol. 3. №1. – P.27-45.

9. Ichiyama T., Kajimoto M., Suenaga N., et al. Serum levels of matrix metalloproteinase-9 and its tissue inhibitor (TIMP-1) in acute disseminated encephalomyelitis // J Neuroimmunol. – 2006. – Vol. 172. – P.182-286.

10. Sunagawa S., Ichiyama T., Honda R., et al. Matrix metalloproteinase-9 and tissue inhibitor of metalloproteinase-1 in perinatal asphyxia // Brain & Development. – 2009. – Vol. 31. – P.588-593.

11. Krizkova S.S., Zitka O.O., Masarik M.M., et al. Clinical importance of matrix metalloproteinases // Bratisl. Lek. Listy. – 2011. – Vol. 112. №8. – P.435-540.

12. Nelson K.K., Melendez J.A. Mitochondrial redox control of matrix metalloproteinases // Free Radic. Biol. Med. – 2004. – Vol. 37. № 6. – P.768-784.

13. Volpe J.J. Neurobiology of periventricular leukomalacia in the premature infant // Pediatr. Res. – 2001. – Vol. 50. – P.553-562.

14. Vu T.H., Werb Z. Matrix metalloproteinases: effectors of development and normal physiology // Genes & Development. – 2000. – Vol. 14. – P.2123-2133.

15. Yang Y., Hill J.W., Rosenberg G.A. Multiple roles of metalloproteinases in neurological disorders // Prog Mol Biol Transl Sci. – 2011. – Vol. 99. – P.241-263.

**Информация об авторах:** Кореновский Юрий Владимирович – к.м.н., ассистент кафедры; Шабалина Юлия Вадимовна – ассистент кафедры; Фильчакова Оксана Николаевна – аспирант кафедры; Чугунова Татьяна Николаевна – заместитель главного врача по педиатрической помощи; Синельникова Лидия Михайловна – заведующий учебной лабораторией кафедры; Фадеева Наталья Ильинична – д.м.н., профессор, заведующий кафедрой; Ельчанинова Светлана Александровна – д.б.н., профессор, заведующий кафедрой.