

ОБЗОРЫ

© Михеев А.В., Баскевич М.А., 2015
УДК 616.24-02:577.15

**РОЛЬ МАТРИКСНЫХ МЕТАЛЛОПРОТЕИНАЗ В РАЗВИТИИ
ЗАБОЛЕВАНИЙ ЛЕГКИХ**

А.В. МИХЕЕВ, М.А. БАСКЕВИЧ

Рязанский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова,
г. Рязань

**THE ROLE OF MATRIX METALLOPROTEINASES IN PULMONARY
DISEASES DEVELOPMENT**

A.V. MIHEEV, M.A. BASKEVICH

Ryazan State Medical University, Ryazan

Матриксные металлопротеиназы (также называемые матриксинами) – семейство эндопептидаз, играющих ключевую роль в расщеплении компонентов экстрацеллюлярного матрикса, базальных мембран и ряда клеточных поверхностных белков. Данные ферменты принимают участие во многих физиологических и патологических процессах в организме. Настоящий обзор касается роли металлопротеиназ в развитии патологии легких.

Ключевые слова: металлопротеиназы, внеклеточный матрикс, патология легких.

Matrix metalloproteinases (so called matrixins) are the group of endopeptidases, playing the great role in extracellular matrix destruction, in destruction of basal membranes and some superficial cellular proteins. That enzymes take part in

many physiological and pathological processes in an organism. This article concerns the role of metalloproteinases in pulmonary pathology.

Keywords: metalloproteinases, extracellularly matrix, pulmonary pathology.

Семейство матриксных металлопротеиназ (ММП) состоит из 20 энзимов, способных расщеплять почти все компоненты внеклеточного матрикса (ВМ) соединительных тканей. ММП представляют собой семейство цинк- и кальций-зависимых эндопептидаз. Они играют важную роль во многих нормальных физиологических процессах, таких как эмбриональное развитие, морфогенез, репродукция и ремоделирование ткани, а также в различных патологических процессах: артритах, злокачественном росте, сердечно-сосудистых заболеваниях, заболеваниях почек и легких [1,2,5]. Количество вновь синтезируемых ММП регулируется в основном на уровне транскрипции, а протеолитическая активность существующих ММП контролируется как активацией проферментов, так и ингибированием активных ферментов эндогенными ингибиторами, α 2-макроглобулином и тканевыми ингибиторами металлопротеиназ (ТИМП).

Классификация ММП [4] :

I. ММП секреторного типа (классические, свободные, растворимые):

- коллагеназы (ММП-1, ММП-8, ММП-13);
- желатиназы (ММП-2, ММП-9, ММП-14);

- стромелизины (ММП-3, ММП-10, ММП-15);

- матрилизины (ММП-7).

II. ММП, связанные с клеточными мембранами (мембранный тип МТ-ММП-14, -15, -16, -17).

III. ММП неклассифицированные, не относящиеся к известным подсемействам (ММП-7, -12, -19, -20).

Все металлопротеазы обладают относительной субстратной специфичностью: представители подсемейства коллагеназ, главным образом, ответственны за деградацию коллагена I, II и III типа, желатиназы и стромелизины, расщепляют коллаген IV, V типов, а также эластин, фибронектин, ламинин и желатин. Субстратами для ММП также могут быть нематричные компоненты: плазминоген, фибрин, фибронектин, казеин, кор-протеин, предшественники цитокинов. ММП-8, -12, -13, -14 инактивируют фактор свертывания XII, а ММП-1, -2, -3, -9 – интерлейкин IL-1 β [14]. ММП-9, или желатиназа B, имеет высокое сродство к денатурированному коллагену (желатину), но также способна расщеплять нативный коллаген VI, V и XI типов, эластин, а также IL-8, активирующий пептид соединительной ткани III, пластиночный

фактор-4, субстанцию P, амилоидный пептид β . В зависимости от места расщепления этих молекул ММП-9 может понижать или повышать их биологическую активность [24].

Источниками MMPs являются многие клетки, включая фибробласты, макрофаги, гладкомышечные клетки сосудистой стенки, нейтрофилы; их продукция увеличивается под влиянием цитокинов. ММП стимулируются провоспалительными цитокинами [1]. Такие цитокины, как фактор некроза опухоли (TNF- α) и интерлейкин-1 (IL-1) значительно влияют на экспрессию и активацию коллагеназ в человеческих фибробластах. Матриксные металлопротеиназы обладают некоторыми сходными свойствами: они имеют общие участки аминокислотной последовательности, синтезируются в виде неактивных проферментов (про-ММП) и требуют цинк в качестве кофактора. Молекулы всех ММП имеют несколько доменов. N-терминальный сигнальный домен способствует экспорту белка через цитоплазматическую мембрану в межклеточное пространство. Расположенный рядом с сигнальным, пропептидный домен сохраняет ММП в латентной форме и отщепляется при протеолитической активации фермента [10, 21, 25]. Эндопептидазную активность ММП осуществляет каталитический домен, который включает в себя консервативную аминокислот-

ную последовательность с тремя остатками гистидина, связанными с ионом цинка. В отличие от других металлопротеиназ, каталитическая область желатиназ ММП-2 и ММП-9 имеет в своем составе три фибронектина, позволяющих им связываться с денатурированным коллагеном-желатином. ММП-2 и ММП-9 относятся к одному подсемейству ферментов, которые обладают сходной субстратной специфичностью. Тем не менее они выполняют разные функции. ММП-2 в отличие от ММП-9, стромелизинов и коллагеназ экспрессируется в основном в гладкомышечных и эндотелиальных клетках. ММП-9 вырабатывается клетками воспаления и экспрессируется в поврежденных артериях, благодаря чему фермент является маркером системного воспаления. Расположенный между пропептидом и каталитическим доменом цистеинсульфгидрил, способствует экспрессии неактивной формы ММП (про ММП). Negase полагает, что расщепление цистеина является общим механизмом активации всех ММП. Этот важный остаток цистеина и каталитический домен характерны для всех ММП [21]. Подвижный закрепляющий домен, соединившийся с каталитическим центром, отвечает за ассоциацию ММП со специфическими компонентами ВМ и клеточной мембраной. Гемопексиноподобный C-концевой домен имеющийся у всех

ММП, за исключением матрилизина (ММП-7 и ММП-26), обеспечивает связывание этих протеиназ с ингибиторами и белками ВМ. Дополнительно к цитоплазматическому домену МТ-ММП содержат трансмембранный пептид, осуществляющий связь с плазматической мембраной, а также фуриновый домен, обеспечивающий внутриклеточную активацию [25].

ТИМП регулируют как ферментативную активность ММП, так и их активацию *in vivo*. В условиях нормального протекания физиологических процессов поддерживается определенное равновесие между активностью ММП и их ингибиторов. Нарушение такого равновесия оказывает серьезное воздействие на ВМ и влияет таким образом на различные функции клеток, включая адгезию, миграцию, дифференциацию [4, 21]. В настоящее время известны 4 члена семейства ТИМП. Все они имеют ряд одинаковых структурных особенностей. В консервативной части молекулы находятся 12 остатков цистеина, которые образуют 6 дисульфидных мостиков. У всех ТИМП NH₂-концевой домен, необходимый для проявления ингибиторной активности, содержит консенсусную последовательность VIRAK. В ходе процессинга ТИМП происходит отщепление от молекулы пропептида лидерной последовательности из 29 аминокислотных остатков. ТИМП взаимодействуют с кон-

сервативной последовательностью ММП. Образование комплекса ТИМП с ММП происходит с помощью нековалентных связей, при диссоциации комплекса ингибитор и фермент высвобождаются в интактном виде. При ингибировании сначала происходит обратимое связывание ТИМП-1 с С-концевой последовательностью ММП-1, затем образуется прочный комплекс.

Дегградация ВМ необходима для протекания многих физиологических процессов: эмбриогенеза, морфогенеза, ангиогенеза, инволюции ткани, миграции, адгезии и др. Нарушение регулируемой дегградации ВМ может приводить к развитию многих патологических состояний. Установлена корреляция между изменением баланса протеолитической активности ММП и активности ТИМП и накоплением внеклеточного матрикса [8].

Роль ММП в развитии заболеваний легких на сегодняшний день является актуальной проблемой в медицине. В 1963 году Laurell и Eriksson привели наблюдение, что лица с дефицитом α 1-антитрипсина, ингибирующим ряд сывороточных протеиназ, таких как нейтрофильная эластаза, имеют повышенный риск развития эмфиземы, так как нейтрофильная эластаза разрушает эластин, который является основным компонентом стенки альвеол. Помимо этого, фрагменты эластина, воздействуя на мак-

рофаги и нейтрофилы, поддерживают воспаление. Хотя на сегодня дефицит $\alpha 1$ -антитрипсина разграничен с понятием ХОБЛ, изменения экстрацеллюлярного матрикса при ХОБЛ связаны с нарушением баланса между факторами, провоцирующими его деградацию и стимулирующими фибрилlogenез [20]. К факторам деградации относят сигаретный дым, оксиданты и протеазы (МПП).

Матриксные металлопротеиназы считаются ключевыми эффекторами тканевого ремоделирования в силу ряда причин: эти белки экспрессируются во всех тканях на всех этапах онтогенеза, они секретируются в межклеточное пространство и функционируют в физиологических условиях, их экспрессия тонко регулируется и активируется в условиях интенсивной тканевой перестройки. Члены этого семейства ферментов обладают избирательной активностью по отношению к различным компонентам экстрацеллюлярного матрикса. Кроме того, матриксные металлопротеиназы – единственные протеолитические ферменты, способные денатурировать фибриллярные коллагены [13, 22, 26].

В организме активность матриксных металлопротеиназ в физиологических условиях контролируется эндогенными активаторами и ингибиторами [12, 16, 20, 23]. Большинство матриксных металлопротеиназ относятся к «индуцируемым» ферментам,

транскрипция которых зависит от целого ряда факторов (цитокинов, факторов роста и некроза опухолей, химических агентов и др.). В отличие от других матриксных металлопротеиназ ММП-2 может активироваться самостоятельно. Активность этих ферментов в физиологических условиях регулируется специфическими тканевыми ингибиторами, которые связываются с предшественниками матриксных металлопротеиназ и активными матриксными металлопротеиназами стехиометрически и обладают определенной избирательностью по отношению к этим ферментам [7, 19, 22]. Матриксные металлопротеиназы могут воздействовать на пути передачи сигнала в клетке, основные компоненты соединительно-тканного матрикса, на межклеточные взаимодействия, а также на продукцию различных биологически активных молекул [22]. В патологических условиях происходит изменение экспрессии и активности металлопротеиназ, что может привести к воспалению в легких и разрушению тканей [12, 26]. Патологическая экспрессия металлопротеиназ связана со многими деструктивными процессами, в том числе с атеросклерозом и эмфиземой легких [26].

В некоторых исследованиях клеток животных и человека было показано, что ММП-9 (желатиназа В, коллагеназа IV типа) играет важную роль в воспалении дыхательных путей и

развитии эмфиземы легких [11, 15, 17, 19]. Содержание этого фермента повышено в альвеолярных макрофагах курящих и лиц, страдающих ХОБЛ [15,17]. Участие ММП-9 осуществляется, по-видимому, благодаря притоку нейтрофилов в ответ на действие липополисахаридов. Активность фермента в значительной степени определяет трансформирующий фактор роста- β . Альвеолярные макрофаги, полученные от болеющих ХОБЛ, *in vitro* высвобождали больше ММП-9, чем альвеолярные макрофаги от здоровых курильщиков. При обследовании больных ХОБЛ обнаружено повышение концентрации ММП-9 в бронхоальвеолярном смыве и мокроте, поэтому можно предположить, что избыточная секреция ММП-9 играет важную роль в развитии этого заболевания.

Значение другой металлопротеиназы – ММП-12 – в развитии эмфиземы легких доказана только в эксперименте на мышах. В частности, установлено, что у мышей с повышенной экспрессией γ -интерферона и интерлейкина-13 развитие эмфиземы обусловлено, по всей вероятности, активной секрецией ММП-12. У мышей с дефицитом ММП-12 в ответ на действие сигаретного дыма эмфизема не развивалась [18, 23]. Эта металлопротеиназа способствует высвобождению фактора некроза опухоли- α , что приводит к рекрутированию нейтрофилов

и выработке ими нейтрофильной эластазы. Фактор некроза опухоли- α стал причиной 70% всех случаев эмфиземы, развившейся у мышей под воздействием сигаретного дыма [9, 18, 23].

Гиперэкспрессия ММП-1 также приводит к формированию эмфиземы, однако механизм ее действия в данном случае связан с деструкцией коллагена III типа. Этот фермент (коллагеназа) обладает свойством расщеплять естественные тройные спиралевидные внутритканевые коллагены, но не эластин. ММП-1 – неэластолитический фермент, участие которого в патогенезе эмфиземы было обнаружено в эксперименте на трансгенных мышах, у которых экспрессия этой металлопротеиназы вызывала разрушение коллагена III типа [6,16]. Кроме того, описано повышение экспрессии ММП-1 в ткани легких при эмфиземе (преимущественно в альвеолоцитах).

Роль протеазно-антипротеазного дисбаланса в патогенезе эмфиземы хорошо известна. Важную роль здесь играют нейтрофильные ферменты. Однако протеазно-антипротеазный дисбаланс не ограничивается только влиянием нейтрофилов и вырабатываемой ими эластазы на экстрацеллюлярный матрикс. Воспаление вызывает нарушение баланса между различными протеазами. Так, сериновые протеазы и матриксные металлопротеиназы работают во взаимодействии. Нейтрофильная эластаза необходима

для активации ММП-12, а различные протеазы могут вносить свой вклад в инактивацию эндогенных ингибиторов других протеаз [6, 12]. На клетках человека было показано, что ММП-1, ММП-12 (эластаза макрофагов) и ММП-9 (желатиназа В, коллагеназа IV типа) играют важную роль в воспалении дыхательных путей и развитии эмфиземы легких [17, 20]. Эластолитическая активность культивированных альвеолярных макрофагов, которые были выделены у пациентов, страдавших эмфиземой, оказалась значительно выше, чем активность аналогичных клеток, полученных от больных бронхитом или другими заболеваниями легких. В бронхоальвеолярном лаваже курильщиков выявлено значительно большее содержание альвеолярных макрофагов у лиц с эмфиземой, чем без нее, что позволяет предположить большую эластолитическую нагрузку у первых, несмотря на сравнительно одинаковую эластолитическую активность каждой отдельной клетки. В более поздних исследованиях, где сравнивались показатели бронхоальвеолярного лаважа пациентов, страдавших эмфиземой, было отмечено повышение уровня экспрессии ММП-9 и ММП-1 по сравнению с контролем. Эмфизематозная легочная ткань имеет значительно более высокие уровни ММП-9 и ММП-2 в сравнении с интактной легочной тканью и отражает эластолитическую активность, опосредованную

воздействием этих ферментов. Исследование с применением гистохимического метода продемонстрировало повышенное содержание ММП-1, ММП-2, ММП-8 и ММП-9 в легочной ткани больных ХОБЛ [6,7]. Имеются данные о увеличении экспрессии ММП-1 в легочной ткани пациентов с эмфиземой [6]. ММП-12 «необходима» для развития эмфиземы, индуцируемой сигаретным дымом. У мышей, гомозиготных по выключенному гену ММП-12, в ответ на воздействие сигаретного дыма не повышалось количество макрофагов в легочной ткани и не развивалась эмфизема. Позже было выявлено высокое количество альвеолярных макрофагов и повышенный уровень экспрессии ММП-12 в бронхоальвеолярном лаваже у лиц, страдавших ХОБЛ. Помимо этого установлено повышение уровня экспрессии матриксных металлопротеиназ при воздействии провоспалительных медиаторов, в виде повышения содержания мРНК ММП-12 в культивированных альвеолярных макрофагах.

Таким образом, регуляция экстрацеллюлярного матрикса представляет собой сложный механизм, в котором участвуют многие компоненты и активные вещества, дисбаланс между которыми может приводить к нарушению целостности матрикса. Структурные нарушения при ХОБЛ и эмфиземе легких, такие как потеря легочной ткани и нарушение альвеолярной архитектоники, являются

следствием качественных и количественных локальных изменений экстрацеллюлярного матрикса. И роль матриксных металлопротеиназ в процессе трансформации легочной ткани и возникновении заболеваний дыхательной системы является актуальной проблемой и требует дальнейшего изучения.

Литература

1. Бобкова Н.И. Матриксные металлопротеиназы в патогенезе острых и хронических заболеваний почек / Н.И. Бобкова, Л.В. Козловская, О.А. Ли // Нефрология и диализ. – 2008. – Т. 10. – С. 105-111.
2. Роль матриксных металлопротеиназ в формировании морфофункционального дисбаланса воздухоносных путей при хронической обструктивной болезни легких / В.А. Невзорова [и др.] // Тихоокеанский медицинский журнал. – 2011. – №. 2. – С. 9-13.
3. Профилактика рестеноза в реконструктивной хирургии магистральных артерий / И.А. Сучков [и др.] // Наука молодых. – 2013. – №2. – С. 12-19.
4. Соловьева Н.И. Матриксные металлопротеиназы: регуляция активности и роль в процессе онкогенеза / Н.И. Соловьева // Структура и функции протеолитических ферментов: материалы конф. – М., 2000.
5. Якушин С.С. Значение оценки эндотелиальной функции на популяционном уровне (по данным Меридиан-РО) / С.С. Якушин, Е.В. Филиппов // Наука Молодых. – 2013. – №3. – С. 48-55.
6. Abboud R.T. Pathogenesis of COPD. Part I. The role of protease-antiprotease imbalance in emphysema / R.T. Abboud, S. Vimalanathan // Int. J. Tuberc. Lung Dis. – 2008. – № 4 (12). – P. 361-367.
7. Atkinson J.J. Matrix metalloproteinase-9 in lung remodeling / J.J. Atkinson, R.M. Senior // Am. J. Respir. Cell Mol. Biol. – 2003. – Vol. 28. – P. 12-24.
8. Baker A. Metalloproteinase inhibitors: biological actions and therapeutic opportunities / A. Baker, D. Edwards, G. Murphy // J. Cell Science. – 2002. – Vol. 115. – P. 3719-3727.
9. Bartalesi B. Different lung responses to cigarette smoke in two strains of mice sensitive to oxidants / B. Bartalesi [et al.] // Eur. Respir. J. – 2005. – Vol. 25. – P. 15-22.
10. Catania J.M. Role of matrix metalloproteinases in renal pathophysiology. / J.M. Catania, G. Chen, A.R. Parrish // Am J Physiol Renal Physiol. – 2007. – Vol. 292. – P. 905-911.
11. Elkington P.T.G. Matrix metalloproteinases in destructive pulmonary pathology / P.T.G. Elkington, J.S. Friedland // Thorax. – 2006. – Vol. 61. – P. 259-266.
12. Gueders M.M. Matrix metalloproteinases (MMPs) and tissue inhibitors of MMPs in the respiratory tract: potential implications in asthma and other lung diseases / M.M. Gueders [et al.] /

Eur. J. Pharmacol. – 2006. – Vol. 533. – P. 133-144.

13. Hegab A.E. Association analysis of tissue inhibitor of metalloproteinase2 gene polymorphisms with COPD in Egyptians / A.E. Hegab [et al.] // *Respir. Med.* – 2005. – Vol. 99. – P. 107-110.

14. Hiller O. Matrix metalloproteinases collagenase-2, macrophage elastase, collagenase-3, and membrane type 1-matrix metalloproteinase impair clotting by degradation of fibrinogen and factor XII / O. Hiller [et al.] // *J. Biol. Chem.* – 2000. – Vol. 275. – P. 8-13.

15. Ito I. Matrix metalloproteinase-9 promoter polymorphism associated with upper lung dominant emphysema / I. Ito [et al.] // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* – 2005. – Vol. 172. – P. 1378-1382.

16. James A.L. Clinical relevance of airway remodelling in airway diseases / A.L. James, S. Wenzel // *Eur. Respir. J.* – 2007. – Vol. 30, № 1. – P. 134-155.

17. Joos L. The role of matrix metalloproteinases polymorphisms in the rate of decline in lung function / L. Joos [et al.] // *Hum. Mol. Genet.* – 2002. – Vol. 11, № 5. – P. 569-576.

18. Kim S.E. Simvastatin inhibits induction of matrix metalloproteinase-9 in rat alveolar macrophages exposed to cigarette smoke extract / S.E. Kim [et al.] // *Exp. Mol. Med.* – 2009. – Vol. 41, № 4. – P. 277-287.

19. MacNee W. Pathogenesis of chronic obstructive pulmonary disease /

W. MacNee // *Proc. Am. Thoracic Soc.* – 2005. – Vol. 2. – P. 258-266.

20. Morris A. Comparison of cigarette smoke-induced acute inflammation in multiple strains of mice and the effect of a matrix metalloproteinase inhibitor on these responses / A. Morris [et al.] // *J. Pharmacol. Exp. Ther.* – 2008. – Vol. 327, №3. – P. 851-862.

21. Nagase H. Structure and function of matrix metalloproteinases and TIMPs / H. Nagase // *Cardiovasc Res.* – 2006. – Vol. 69, №3. – P. 562-573.

22. Oikonomidi S. Matrix metalloproteinases in respiratory diseases: from pathogenesis to potential clinical implications / S. Oikonomidi [et al.] // *Cur. Med. Chem.* – 2009. – Vol. 16, №10. – P. 1214-1228.

23. Tudor R.M. State of the art. Cellular and molecular mechanisms of alveolar destruction in emphysema: an evolutionary perspective / R.M. Tudor [et al.] // *Proc. Am. Thorac. Soc.* – 2006. – Vol. 3. – P. 503-511.

24. Van den Steen Ph. Biochemistry and molecular biology of gelatinase B or matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) / Van den Steen Ph. [et al.] // *Critical. Reviews in Biochem. and Molec. Biology.* – 2002. – Vol. 37, № 6. – P. 375-536.

25. Visse R. Matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases: structure, function and biochemistry / R. Visse, H. Nagase // *Circ Res.* – 2003. – Vol. 92. – P. 827-839.

26. Zhou M. Genetic polymorphism in matrix metalloproteinase-9 and the susceptibility to chronic obstructive pulmonary disease in Han population of south China / M. Zhou [et al.] // Chin. Med. J. (Engl). – 2004. – Vol. 117. – P. 1481-1484.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Михеев Алексей Владимирович – канд. мед. наук, доц. кафедры факультетской хирургии с курсом анестезиологии и реаниматологии ГБОУ ВПО РязГМУ Минздрава России, г. Рязань.
E-mail: almiheev77@mail.ru

Баскевич Максим Аркадьевич – интерн кафедры факультетской хирургии с курсом анестезиологии и реаниматологии ГБОУ ВПО РязГМУ Минздрава России, г. Рязань.