

Матриксные металлопротеиназы и сердечно-сосудистые заболевания

А.А. Турна *, Р.Т. Тогузov **

*ФГУЗ Клиническая больница № 83 ФМБА России, Москва, Россия

** ГОУ ВПО РГМУ ФУВ кафедра клинической лабораторной диагностики, Москва, Россия

Тогузov Р.Т. — д.м.н., профессор, заведующий кафедрой клинической лабораторной диагностики факультета усовершенствования врачей ГОУ ВПО РГМУ; Турна А.А. — к.м.н., доцент, врач клинической лабораторной диагностики, ФГУЗ Клиническая больница № 83 Федерального медико-биологического агентства, главный специалист по клинической лабораторной диагностике ФМБА России.

Контактная информация: ФГУЗ Клиническая больница № 83 ФМБА России, Ореховый бульвар, д. 28, Москва, Россия, 115682
E-mail: turna2605@yandex.ru (Турна Алия Абдурахмановна).

Резюме

Обзор посвящен роли матриксных металлопротеиназ системы протеолиза, которые выполняют огромное количество разнообразных функций и контролируют практически все стороны биологических процессов. Согласно общепринятой классификации все протеиназы делят на четыре семейства: сериновые, цистеиновые, аспартатные и металлопротеиназы (последние получили название матриксных металлопротеиназ (ММП)). К настоящему времени известно 28 представителей семейства ММП (от ММП-1 до ММП-28). На основании данных структурной организации и субстратной специфичности в семействе ММП выделены 4 подсемейства: коллагеназы, желатиназы, стромелизины и неклассифицированные ММП. Изучение роли семейства ММП в кардиологической практике существенно расширяет представления о патогенетических механизмах развития сердечно-сосудистой патологии и демонстрирует активную деятельность различных подсемейств ММП: стромелизинов — ММП-3, коллагеназ — ММП-8, желатиназ — ММП-9. Предполагается, что при инфаркте миокарда, нестабильной стенокардии, реабилитации после инфаркта миокарда, ремоделировании левого вентрикулярного отверстия специфическая роль принадлежит активности ММП-3 и ММП-9. Достаточно интересным является факт полиморфизма генов ММП-3, ММП-9, связанных с восприимчивостью к сердечно-сосудистым заболеваниям, атеросклерозу артерий, инфаркту миокарда, аневризме аорты. Активность ММП-2 и ММП-7 представителей подсемейств желатиназ и неклассифицированных ММП при кардиологической патологии остается противоречивой и до конца не изученной.

Ключевые слова: протеолиз, матриксные металлопротеиназы, сердечно-сосудистые заболевания.

Matrix metalloproteinases and cardiovascular diseases

A.A. Tourna*, R.T. Toguzov**

* FGUZ Clinical Hospital № 83 FMBA, Moscow, Russia

** GOU VPO RGMU FUB Department of Clinical Laboratory Diagnostics, Moscow, Russia

Corresponding author: FGUZ Clinical Hospital № 83 FMBA, 28 Orekhovy boulevard, Moscow, Russia, 115682. E-mail: turna2605@yandex.ru (Tourna Aliya, MD, PhD, Specialist of Clinical Laboratory Diagnostics at FMBA Russia).

Abstract

The paper reviews the role of matrix metalloproteinases of proteolytic system that perform a great variety of functions and control almost all biological processes. According to the classification all proteases are divided into four families: serine, cysteine, aspartate and metalloproteinases (last also called matrix metalloproteinases (MMP)). Up to now 28 MMP are known (from MMP-1 to MMP-28). Based on structural features and substrate specificity MMP family was divided into identified 4 subfamilies: collagenases, gelatinases, stromelazines and unclassified MMP. Study of MMP family in cardiology significantly expands the understanding of the pathogenetic mechanisms of cardiovascular diseases and demonstrates different MMPs functions: stromelazine — MMP-3, collagenase — MMP-8, gelatinase — MMP-9. It is assumed that MMP-3 and MMP-9 play an important role in acute myocardial infarction, unstable angina, rehabilitation after a heart attack, left ventricular remodeling. There are data of special role of MMP-3, MMP-9 gene polymorphism associated with susceptibility to cardiovascular disease, atherosclerosis of the arteries, heart attack, aneurysm of the aorta. However, role of MMP-2, MMP-7 and unclassified MMPs in cardiac pathology is not well investigated and remains controversial.

Key words: proteolysis, matrix metalloproteinases, cardiovascular diseases.

Статья поступила в редакцию: 30.09.09. и принята к печати: 05.10.09.

В соответствии с современными представлениями протеолиз рассматривается как особая форма биологического контроля, занимающая центральное место в реализации разнообразных биохимических процессов и быстром физиологическом ответе организма на изменяющиеся условия. Протеиназы, активные участники системы протеолиза, выполняют огромное количество разнообразных функций и контролируют практически все стороны биологических процессов, протекающих на молекулярном, клеточном, тканевом и органном уровнях [1]. Реакциям протеолиза принадлежит ключевая роль не только в регуляции внутриклеточного обмена белков, но и в таких процессах, как их транслокация внутри и вне клетки, образование ферментов, гормонов и других биологически активных веществ.

Согласно общепринятой классификации, все протеиназы подразделяются по механизму катализируемой реакции, в которой названия основных групп ферментов происходят от аминокислотных остатков в активном центре, что и обеспечивает особенности каталитического механизма [2]. Все обилие протеиназ в соответствии с этой классификацией делят на четыре семейства: сериновые, цистеиновые (тиоловые, сульфгидрильные), аспартатные (карбоксильные) и металлопротеиназы [3–4]. Последние характеризуются содержанием ионов металлов, как правило, цинка, в активном центре, который является интегральной частью структуры фермента. За способность специфически гидролизовать основные компоненты экстрацеллюлярного матрикса (ЕСМ) эти ферменты были названы матриксными металлопротеиназами (ММП) или матриксинами. Впервые ММП были обнаружены J. Gross еще в 1962 году в хвосте головастика во время изучения процесса коллагенолиза [5]. К настоящему времени известно 28 представителей семейства ММП [6–8], для условного обозначения им даются числовые названия, начиная от ММП–1 до ММП–28 [9]. На основании данных структурной организации и субстратной специфичности в семействе ММП выделены 4 подсемейства: коллагеназы, желатиназы, стромелизины и неклассифицированные ММП [10]. По месту атаки молекулы субстрата все протеолитические ферменты делятся на экзо- и эндопептидазы. ММП представляют собой семейство цинк- и кальций-зависимых эндопептидаз [11–12]. Они связывают участки пептидных последовательностей субстратов и относительно специфично гидролизуют связи между определенными аминокислотными остатками. Протеиназы присутствуют во всех без исключения клетках, внеклеточном матриксе и различных биологических жидкостях организма. В клетках они локализованы в эндоплазматическом ретикулуме, плазматических мембранах, митохондриях и цитоплазме фибробластов, эпителиальных клетках, экстрацеллюлярном матриксе, клетках крови и так далее [13]. Семейство ММП в физиологических условиях синтезируется как пре-пробелки и секретируется как про-ферменты в очень незначительных количествах. Синтез и секреция ММП находится под контролем цитокинов, интегринов и таких химических соединений, как форболовые эфиры, липополисахариды (LPS), колхицин,

простагландин Е. ММП секретируются в основном под действием провоспалительных цитокинов, а главным их источником считаются активированные макрофаги, нейтрофилы, фибробласты [14–16]. Следует отметить, что для проявления своего протеолитического действия ММП нуждаются в активации [17]. В клетке их активность регулируется на разных уровнях, включая транскрипцию, активацию белка и взаимодействие с эндогенными ингибиторами, такими как тканевые ингибиторы металлопротеиназ (ТИМП) [18]. Между собой представители семейства ММП отличаются способом активации про-ферментов и особенностями взаимодействия с эндогенными ингибиторами. К настоящему времени установлено, что активация ММП осуществляется двумя путями: протеиназами и химическими агентами. Для проявления полной активности металлопротеиназам требуется наличие N-концевого домена, что, в частности, установлено для ММП–1, ММП–8 и ММП–3 [19]. В последние годы система протеолиза активно изучается при воспалительных процессах различного генеза, сердечно-сосудистых, инфекционных, аутоиммунных, аллергических заболеваниях, а также злокачественной трансформации клеток [20–23]. В течение нескольких десятилетий сердечно-сосудистые заболевания являются ведущей причиной смерти населения в индустриально развитых странах, в том числе и в России. В данную группу заболеваний обычно включают ишемическую болезнь сердца (ИБС), инсульт и поражение периферических артерий, так как ведущая роль в патогенезе этих заболеваний принадлежит атеросклерозу. Трудность диагностики и неблагоприятный прогноз некоторых форм ИБС повышают их медицинскую и социальную значимость. Поэтому ранняя и точная диагностика ИБС, основных форм острого коронарного синдрома (ОКС) позволит открыть перспективы в профилактике, мониторинге лечения и, как следствие, снижении высокой смертности населения. Следует отметить, что значительное количество работ, посвященных изучению роли ММП в патогенезе атеросклероза и ИБС, в основном носит экспериментальный характер. Клинических исследований, связанных с определением активности ММП в системном кровотоке у пациентов с ИБС и ОКС, не много. Больные ОКС представляют собой неоднородную группу, как по клинической картине, так и по целому ряду диагностических показателей. Несмотря на различия в клинических проявлениях, нестабильная стенокардия (НС) и инфаркт миокарда (ИМ), являются следствием одного и того же патофизиологического процесса, а именно разрыва или эрозии атеросклеротической бляшки, и часто сочетаются с тромбозом и эмболизацией более дистально расположенных участков сосудистого русла.

К первому, наиболее изученному, подсемейству ММП относятся коллагеназы. В настоящее время известны четыре представителя этого семейства: ММП–1 (коллагеназа–1), ММП–8 (коллагеназа–2), ММП–13 (коллагеназа–3), ММП–18 (коллагеназа–4). Свое название они получили за способность гидролизовать нативный коллаген I, II и III типа в спиральной области на особых участках тройной спирали в $\frac{3}{4}$ части N-концевого домена,

образуя при этом $\frac{3}{4}$ и $\frac{1}{4}$ фрагменты коллагена, которые являются чрезвычайно стойкими к воздействию большинства протеиназ. Все четыре протеиназы гидролизуют интерстициальные коллагены по связи глицин-лейцин. Установлено, что С-концевой домен коллагеназ определяет их специфическое связывание с субстратами и ингибиторами. Однако следует отметить, что механизм гидролиза коллагеназами трипептидной спирали коллагена до сих пор полностью не изучен. Коллагеназы в здоровой ткани миокарда впервые были обнаружены экспериментально в 1975 году [24]. На сегодняшний день имеется несколько типов клеток, включая базофилы, нейтрофилы, гладкомышечные, эндотелиальные клетки и активированные макрофаги, которые под действием провоспалительных цитокинов секретируют ММП [15, 25]. Согласно существующим представлениям, они воздействуют на коллагеновые волокна покрышки атеросклеротической бляшки, приводя к ее размягчению, разрыву, и, как следствие, к дестабилизации ИБС [26–27]. ММП, присутствующие в миокарде, в процессе воспаления способны активно разрушать компоненты ECM сердечной мышцы и функционально участвовать в нарушении структуры соединительной ткани. Миокардиальные протеиназы вырабатываются в неактивной форме фибробластоподобными клетками, активация которых наступает при изменении соотношения в системе протеазы-антипротеазы, особенно в период максимального развития патологических процессов [25, 28]. Характеризуя подсемейство коллагеназ, можно отметить, что ММП-1 — первый тканевой фермент, который гидролизует спиральную область коллагена [5, 29]. В настоящее время ММП-1 или коллагеназа фибробластов получила свое название за способность расщеплять коллаген I типа, ее стали называть интерстициальной коллагеназой, чтобы подчеркнуть ее способность гидролизовать три интерстициальных коллагена I, II и III типов, которые существенно отличаются друг от друга. Более того, этот фермент гидролизует минорные коллагены VII и X типов, желатины различных коллагенов, линк-протеин хряща, а также белки соединительнотканного матрикса: энтактин, агтрикан, казеин, альфа-2 макроглобулин (А-2МГ), синтетические субстраты, которые по своей аминокислотной последовательности соответствуют гидролизуемой области в структуре коллагена и А-2МГ [10, 30]. Известно, что С-концевой домен коллагеназ определяет их специфическое связывание с субстратами, однако для про-ММП-1 этот механизм не установлен [31]. Следует отметить, что ММП-1 является единственным ферментом способным как инициировать, так и продолжать «поломку» промежуточного коллагена [32]. Основной целью одного из клинических исследований было определение плазменной активности ММП-1, ММП-2, ММП-3 и ММП-9 у больных с кардиомиопатиями, сопровождающимися нарушением размеров левого вентрикулярного отверстия, при котором выявлено увеличение их активности. Исключение составила ММП-1, активность которой сохраняла низкие значения [33]. С точки зрения общей патологии, ИМ определяется как гибель миокардиальных клеток (коагуляционный не-

кроз), связанный с пролонгированной ишемией. В раннем периоде ИМ, или острой стадии, отмечается увеличение плазменной активности ММП-8. В настоящее время известно, что ММП-8 синтезируется прежде всего нейтрофилами, поэтому острый воспалительный процесс может инициировать раннее увеличение активности ММП-8. Полиморфноядерные нейтрофилы обладают способностью передвигаться по направлению к участку воспаления, при этом поглощать и переваривать бактериальные микроорганизмы, продукты апоптоза в различных органах и тканях. Однако через 3 дня после ИМ установлен второй пик увеличения активности ММП-8 в плазме крови, что отражает приток макрофагов и нейтрофилов, характерный для этого периода воспаления [34–35]. Ранняя активация ММП, вероятно, свидетельствует об их вовлечении в ряд процессов при ИМ, включая разрушение ECM, перемещение воспаленных клеток, фибробластов, ангиогенез, трансформацию соединительной ткани. Ведь с гистологической точки зрения ИМ рассматривается как процесс, сопровождающийся сложными архитектурными изменениями. Коллагеназы под воздействием тепловой деградации теряют свою стабильность. Фрагменты начинают «разворачивать» тройную спираль и переходят в единственную фрагментированную цепочку, которая представляет собой так называемые желатины. Ферменты, гидролизующие желатины, носят названия желатиназ, к ним относятся ММП-2 и ММП-9. Первоначальное название этих ферментов — коллагеназы IV типа — считается неудачным, так как кроме коллагена IV типа, эти ферменты способны гидролизовать коллагены других типов и ряд белков соединительнотканного матрикса, в том числе и эластин. Желатиназы значительно лучше гидролизуют коллаген V типа, чем коллаген I типа, причем гидролиз коллагена осуществляется по тем же связям, что и коллагеназы, которая расположена на расстоянии $\frac{1}{4}$ длины молекулы от С-конца. Ранние представления о желатиназах связаны с их способностью разрушать промежуточный коллаген, но недавно установленная функция желатиназ деградировать фибриллярный коллаген отводит им более значимую роль [36–37]. В структуре ММП-2 и ММП-9, представителей семейства желатиназ, были найдены 3 дополнительных эксона по сравнению с другими членами семейства ММП. Установлено, что они кодируют аминокислоты фибронектин-подобной области, которая обнаружена у ММП-2 и ММП-9 [38]. Ген ММП-9 обладает функциональным транскрипционным эффектом, который напрямую связывают с развитием атеросклероза у пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями. В результате изучения аминокислотной последовательности ММП-9 были определены 10 переменных участков, часть из которых обладала способностью оказывать функциональное влияние на степень энзиматической активности протеиназ [39].

К настоящему времени становится очевидным, что регулирование активности ММП-9 осуществляется не только под воздействием цитокинов, но и под влиянием неустойчивой системы оксидант/антиоксидант, действием гормонов, принадлежностью к полу, однако часть из

указанных факторов требует дальнейших исследований и уточнений [40–42]. Вместе с тем было установлено, что недостаточная протеолитическая активность ММП–9 не оказывает своего воздействия на разрыв бляшки. В то же время повышение активности ММП–9, во многом зависимой от количества лейкоцитов и макрофагов в очаге воспаления, напрямую связывают с разрывом атеросклеротической бляшки. Известно, что их количество в первые 2 дня после ИМ — период наиболее частых ранних осложнений — подвержено существенному колебанию и морфологически характеризуется избыточным их содержанием в очаге воспаления [43]. По мнению ряда авторов, именно ММП–9 играет ключевую роль в дестабилизации атеросклеротической бляшки и, как следствие, в развитии ОКС [44–45]. Результаты относительно точного времени включения протеиназ в процесс воспаления носят противоречивый характер, однако благодаря экспериментальным исследованиям становится понятным, что активация начинается не позднее первых суток [46]. Эмпирически доказано, что увеличение активности ММП–9 происходит в пределах 1 часа после наступления ишемии [47]. Недавно были открыты новые специфические функции подсемейства желатиназ, которые указывают, в частности, на способность ММП–9 снижать миграцию нейтрофилов в очаге воспаления и не оказывать влияние на количество эозинофилов, макрофагов, лимфоцитов в зоне воспаления [48]. Дальнейшие клинические исследования уровня ММП–9 у пациентов, входящих в группу риска развития сердечно-сосудистых заболеваний, демонстрируют существенные ассоциации уровня ММП–9 с такими факторами риска, как курение и употребление алкоголя. Следовательно, можно предположить, что повышение уровня активности ММП–9 в группе риска отражает либо ранние стадии заболевания, либо наличие слабого системного воспаления, что подтверждается прямой корреляционной связью между уровнем СРБ и активностью ММП–9 [49]. Одномоментное определение плазменной активности представителей подсемейства желатиназ ММП–2 и ММП–9 у пациентов с ИМ выявило снижение активности ММП–2 и увеличение активности ММП–9. Различия в их активности обусловлены неоднородностью в транскрипционном регулировании и источниках ММП. Низкая плазменная активность ММП–2, возможно, связана как со снижением ее синтеза, так и с отсутствием транскрипционных факторов. В то время как ММП–9 обладает значительным количеством факторов по сравнению с ММП–2 и существенной цитокиновой зависимостью, при которой TNF- α активно стимулирует транскрипцию ММП–9 в ранний постинфарктный период. Помимо транскрипционных факторов, участвующих в образовании высокой активности ММП–9, не исключается роль главных источников протеиназ, которыми являются моноциты, фибробласты, а по данным ряда авторов, нейтрофилы [50, 51]. Однако в работе других исследователей при определении представителей подсемейства желатиназ в крови больных с ИС и ИМ выявлено многократное увеличение активности ММП–2 и ММП–9. При этом высокая активность ММП–2 сохранялась к 7

дню, а активность ММП–9 к этому сроку резко снижалась. Следует отметить, что у ряда пациентов с ИМ к 3 дню отмечался второй пик подъема активности ММП–9. Результаты этих исследований позволяют осмыслить процессы дестабилизации атеросклеротической бляшки, а также объяснить механизм развития ранних осложнений [44]. Вместе с тем следует отметить противоречивость полученных результатов в отношении активности ММП–2, очевидно, что требуются дальнейшие исследования с целью определения роли подсемейства желатиназ, в частности желатиназы А, в развитии ОКС. Более поздние исследования активности ММП–9 и ТИМП–1 в плазме крови больных с ОКС не выявили особых различий по сравнению с группой контроля и не установили наличие корреляционной связи с максимальной активностью КФК [52]. Ключевыми процессами структурной перестройки сосудистой стенки считаются пролиферация, миграция клеток сосудов, перестройка внеклеточного матрикса, активирующиеся при различных воздействиях [53]. Эти процессы, как известно, управляются цитокинами, факторами роста, а также фибринолитической системой и ММП. Роль ММП в образовании неинтимы и ремоделировании сосудов показана в нескольких работах, где демонстрируется обеспечение ими локального внеклеточного протеолиза с перестройкой ЕСМ [54, 55]. В одной из последних отечественных работ было проведено изучение временной и пространственной динамики экспрессии ММП–2 и ММП–9 в сонной артерии крыс через 2 и 4 дня после баллонной ангиопластики и воздействия активаторов плазминогена. Экспрессия ММП–2 и ММП–9 детектировалась в сосуде с помощью иммуногистохимического окрашивания, зимографии и полимеразно-цепной реакции (ПЦР). В неповрежденном сосуде слабое иммуногистохимическое окрашивание на ММП–2 отмечалось в меди, при этом ММП–9 не детектировалась. На 2-е сутки после повреждения интенсивность окрашивания на ММП–2 возрастала и еще больше увеличивалась на 4-е сутки. В то же время окрашивание на ММП–2 определялось и в клетках формирующейся неинтимы. Специфическое окрашивание на ММП–9 в контрольной группе появлялось на 2-е сутки, однако его интенсивность была менее выраженной. Таким образом, можно с уверенностью сказать об экспрессии и участии ММП, в частности подсемейства желатиназ, в структурной перестройке стенки сосуда [56]. В целом связь между ремоделированием сосудов и экспрессией ММП показана во многих работах. Следует отметить, что в основном они посвящены исследованию желатиназ (ММП–2 и ММП–9), осуществляющих деградацию внеклеточного матрикса [57–58]. Особенностью подсемейства стромелизинов, ярким представителем которого является ММП–3, считается их способность разрушать широкий спектр компонентов ЕСМ, включая протеогликаны, ламинин, фибронектин и некоторые типы коллагена. Данные по клонированию кДНК и аминокислотной последовательности позволили идентифицировать стромелизины как ряд ранее исследованных ферментов — транзины, протеогликоназа, активатор проколлагеназы. Достаточно интересным является факт поли-

морфизма генов ММП-3, ММП-9, ММП-12, связанный с восприимчивостью к сердечно-сосудистым заболеваниям, атеросклерозу артерий, ИМ, аневризме аорты. Эти наблюдения указывают на то, что у пациентов на уровне транскрипции протеиназ уже имеются различия, которые вносят свои изменения в процессы заживления, ремоделирования, разрыва атеросклеротической бляшки и, как следствие, остановки сердечной деятельности [59]. Одной из особенностей развития атеросклеротических изменений в артериальной стенке является сосудистое ремоделирование, гены, вовлеченные в эти процессы, включая гены, кодирующие ММП-3, являются кандидатами на маркеры, определяющие риск развития сердечно-сосудистых заболеваний. При гистологическом исследовании материала больных, умерших от коронарного тромбоза, было обнаружено экстрацеллюлярное расположение липида в интиме и показано, что активность ММП-3 связана с липидосодержащими структурами атеросклеротических бляшек. Гистологические результаты позволяют предположить, что участок разрыва находится под влиянием слабой механической силы ткани из-за большого количества пенистых клеток [60]. В последнее десятилетие изучение генома человека привело к значительному прогрессу в диагностике различных заболеваний. Процессы взаимодействия между функциями организма и генетическими вариациями позволяют максимально точно установить клиническое значение их полиморфизма. По разным оценкам в геноме человека представлено от 500 до 600 генов протеолитических ферментов [61]. Характеристика генетических вариантов (полиморфизма) генома человека привела к огромному прогрессу. Взаимодействие между генетическими вариантами и функциями организма показано на значительном количестве научных исследований, что позволило уточнить его клиническое значение. Экспериментально установлено, что промотор гена ММП-3 располагается на 5 и 6 аллели. Соединение ядерного фактора NF- κ B с олигонуклеотидами располагается на 6 аллели, а NF- κ B является ДНК-связывающим фактором, который располагается в цитоплазме покоящейся клетки, и его дисфункцию принято считать главным посредником генетических нарушений в организме человека. Полиморфизм гена был идентифицирован в 1171 положении от начала транскрипции. В исследованиях *in vitro* показано, что в культуре фибробластов и клетках сосудистого эпителия 5A аллель гена имеет более высокую активность, чем аллель 6A. Японские ученые, занимаясь доказательством этой гипотезы, установили, что генотип 5A/5A у женщин этой страны связан с ИМ, в 2002 году установлена существенная ассоциация между полиморфизмом 5A/5A и ИМ [62]. Дальнейшие исследования генотипа ММП-3 у курящих лиц показали, что риск развития у них коронарной патологии удваивается. Гомозиготный генотип 5A/5A представлен у 12 % общего населения и ассоциируется с повышенным риском развития ИМ [63]. Гомозиготный по 6 аллели ген из-за уменьшенной транскрипции связан с более низкой активностью ММП-3 в стенке артерий. При исследовании гомозиготного генотипа ММП-3 по 6 аллели (6A/6A)

установлено, что он является маркером риска развития стеноза внутренней сонной артерии. Позднее выяснилось, что этот генотип является слабым генетическим фактором предрасположенности к ИМ, встречается у 25–30 % населения и требует проведения превентивного снижения обычных факторов риска сердечно-сосудистых заболеваний [64]. В дополнение к этим результатам, другие независимые исследования подтвердили, что прогрессирование атеросклероза не столь характерно для пациентов с генотипом 6A/6A и является маркером риска развития стеноза внутренней сонной артерии [65–66]. Полиморфизм гетерозиготного генотипа 5A/6A играет важную роль в регулировании уровня ММП-3 и представляет собой оптимальный вариант генотипа ММП-3 [67]. Следовательно, определение генотипа ММП-3 могло бы внести вклад в первичную и раннюю диагностику сердечно-сосудистых заболеваний. Сравнительная оценка уровней ММП в плазме и сыворотке крови ранее рассматривались в ряде работ [68–69]. Одновременное измерение широкого спектра ММП в различных биологических жидкостях, включая плазму, сыворотку, мочу позволяет получить более точную диагностическую информацию. Так, в результате проведенного исследования установлено, что плазменные уровни ММП-2, ММП-3, ММП-8, ММП-9 практически не имеют различий с их содержанием в сыворотке крови. При этом обработка полученных результатов проводилась математически с использованием линейной корреляции и регрессионного анализа, а образцы сыворотки крови готовились согласно «золотому стандарту» ее приготовления. Различия выявлены только между активностью ММП-1 в сыворотке и плазме крови. При этом выраженная корреляция установлена между уровнями активности ММП-2 и ММП-3 в плазме и в сыворотке крови. Однако следует отметить, что активность ММП-2 и ММП-3 зависела от возраста. Таким образом, полученные результаты исследований указывают на воспроизводимость активности ММП-2, ММП-3, ММП-8, ММП-9 в плазме и сыворотке крови [70]. Функциональная активность ММП изучалась на моделях генетически измененных мышей в процессе трансформации левого желудочка в постинфарктный период. Следует отметить, что ингибирование активности различных представителей семейства ММП на протяжении четырех дней после экспериментального ИМ сопровождалось снижением процесса расширения левого вентрикулярного отверстия [71]. Одномоментное определение нескольких биомаркеров при ОКС, конечно, позволит расширить представления о некоторых аспектах развития данного заболевания. Содержание в плазме миелопероксидазы, CD40, плацентарного фактора роста, ММП-9, С-реактивного белка (СРБ), тропонина I и N-терминала натрийуретического пептида были исследованы в течение четырех месяцев при различных клинических вариантах течения ОКС. При этом отмечалось увеличение концентрации миелопероксидазы, CD40 и ММП-9, однако корреляций с летальным исходом установлено не было [72]. Вместе с тем определение активности представителя подсемейства неклассифицированных ММП характеризуется

отсутствием плазменной активности ММП-7 в течение шести месяцев постинфарктного периода [73].

Таким образом, изучение семейства ММП системы протеолиза в кардиологической практике существенно расширяет представления о патогенетических механизмах развития сердечно-сосудистой патологии. Следует отметить, что работ, связанных с определением активности ММП в клинической кардиологии, не так много, и в основном они представлены экспериментальными исследованиями. Установлено, что активация ММП наступает при изменении соотношения в системе протеазы-анти-протеазы. Значительно расширяющиеся исследования ММП при кардиологической патологии демонстрируют активную деятельность различных подсемейств ММП: стромелизинов — ММП-3, коллагеназ — ММП-8, желатиназ — ММП-9. Предполагается, что при ИМ, НС, реабилитации после ИМ, ремоделировании левого вентрикулярного отверстия специфическая роль принадлежит активности ММП-3 и ММП-9. Достаточно интересным является факт полиморфизма генов ММП-3, ММП-9, связанных с восприимчивостью к сердечно-сосудистым заболеваниям, атеросклерозу артерий, ИМ, аневризме аорты. Вместе с тем активность ММП-2 и ММП-7, представителей подсемейств желатиназ и неклассифицированных ММП при кардиологической патологии остается противоречивой и до конца не изученной, в клиническом и экспериментальном материале имеются противоречивые данные.

Литература

1. Яровая Г.А. Биорегулирующие функции и патогенетическая роль протеолиза. Современные представления и перспективы // Лаб. медицина. — 2000. — Т. 3. — С. 19–22.
2. Rawlings N.D., Barrett A.J. Classification of peptidases by comparison of primary and tertiary structures // Biomed. Health Res. — 1997. — Vol. 13. — P. 13–21.
3. Rawlings N.D., Barrett A.J. Evolutionary families of metalloproteinases // Meth. Enzymol. — 1995. — Vol. 248. — P. 183–228.
4. Barrett A.J. Evolution and the structural classification of peptidases // Biomed. Health Res. — 1997. — Vol. 13. — P. 3–12.
5. Gross J., Lapiere C.M. Collagenolytic activity in amphibian tissues: a tissue culture assay // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. — 1962. — Vol. 48. — P. 1014–1022.
6. Chow A.K., Cena J., Schulz R. Acute actions and novel targets of matrix metalloproteinases in the heart and vasculature // Brit. J. Pharmacol. — 2007. — Vol. 152, № 2. — P. 189–205.
7. Creemers E.J.M., Cleutjens J.P.M., Smits J.F.M., Daemen M.J.A.P. Matrix metalloproteinase inhibition after myocardial infarction // Circ. Res. — 2001. — Vol. 89, № 3. — P. 201–210.
8. Davis L.S. A question of transformation. The synovial fibroblast in rheumatoid arthritis // Am. J. Pathol. — 2003. — Vol. 162, № 5. — P. 1399–1402.
9. Hooper N.M. Families of zinc metalloproteinases // FEBS Lett. — 1994. — Vol. 354, № 1. — P. 1–6.
10. Woessner J.F. Jr. Matrix metalloproteinases and their inhibitors in connective tissue remodeling // FASEB J. — 1991. — Vol. 5, № 8. — P. 2145–2154.
11. Hidalgo M., Eckhardt G.S. Development of matrix metalloproteinase inhibitors in cancer therapy // J. Natl. Cancer Inst. — 2001. — Vol. 93, № 3. — P. 178–193.
12. Close D. R. Matrix metalloproteinase inhibitors in rheumatic diseases // Ann. Rheum. Dis. — 2001. — Vol. 60, № 3. — P. 62–67.
13. Яровая Г.А. Биорегулирующие функции и патогенетическая роль протеолиза. Распространение, классификация и основы механизма действия протеиназ // Лаб. медицина. — 2001. — Т. 4. — С. 75–80.
14. Brinckerhoff C.E. Joint destruction in arthritis: metalloproteinase in the spotlight // Arthritis Rheum. — 1991. — Vol. 34. — P. 1073–1075.
15. Davies M.J. Reactive oxygen species, metalloproteinases, and plaque stability // Circulation. — 1998. — Vol. 97, № 24. — P. 2382–2383.
16. Li J., Schwimmbeck P.L., Tschöpe C. et al. Collagen degradation in a murine myocarditis model: relevance of matrix metalloproteinase in association with inflammatory induction // Cardiovasc. Res. — 2002. — Vol. 56, № 2. — P. 235–247.
17. Woessner J.F. Jr. Role of matrix proteases in processing enamel proteins // Connect. Tissue Res. — 1998. — Vol. 39, № 1–3. — P. 69–73.
18. Kleiner D.E., Stetler-Stevenson W.G. Matrix metalloproteinases and metastasis // Cancer Chemother. Pharmacol. — 1999. — Vol. 43 (Suppl.). — P. 42–51.
19. Nagase H. Activation mechanisms of matrix metalloproteinases // Biol. Chem. — 1997. — Vol. 378, № 3–4. — P. 151–160.
20. Rudek M.A., Figg W.D., Dyer V. et al. Phase I clinical trial of oral COL-3, a matrix metalloproteinase inhibitor, in patients with refractory metastatic cancer // J. Clin. Oncol. — 2001. — Vol. 19, № 2. — P. 584–592.
21. Hoekstra R., Eskens F.A.L.M., Verweij J. Matrix metalloproteinase inhibitors: current developments and future perspectives // The Oncologist. — 2001. — Vol. 6, № 5. — P. 415–427.
22. Kim H.E., Dalal S.S., Young E. et al. Disruption of the myocardial extracellular matrix leads to cardiac dysfunction // J. Clin. Invest. — 2000. — Vol. 106. — P. 857–866.
23. Mohammed F.F., Smookler D.S. Metalloproteinases, inflammation, and rheumatoid arthritis // Ann. Rheum. Dis. — 2003. — Vol. 62, № 2. — P. 1143–1147.
24. Montfort L., Perez-Tamayo R. The distribution of collagenase in normal rat tissues // J. Histochem. Cytochem. — 1975. — Vol. 23, № 12. — P. 910–920.
25. Cleutjens J.P.M., Kandala J.C., Guarda E. et al. Regulation of collagen degradation in the rat myocardium after infarction // J. Mol. Cell. Cardiol. — 1994. — Vol. 27, № 6. — P. 1281–1292.
26. Galis Z.S., Sukhova G.K., Lark M.W. Increased expression of matrix metalloproteinase and matrix degrading activity in vulnerable regions of human atherosclerotic plaques // J. Clin. Invest. — 1994. — Vol. 94, № 6. — P. 2493–2503.
27. Loftus I.M., Naylor A.R., Goodall S. et al. Increased matrix MMP9 activity in unstable carotid plaques: a potential role in acute plaque disruption // Stroke. — 2000. — Vol. 31, № 1. — P. 40–47.
28. Tyagi S.C., Matsubara L., Weber K.T. Direct extraction and estimation of collagenase(s) activity by zymography in microquantities of rat myocardium and uterus // Clin. Biochem. — 1993. — Vol. 26, № 3. — P. 191–198.
29. Nagase H., Barrett A. J., Woessner J. F. Nomenclature and glossary of the matrix metalloproteinases // Matrix Suppl. — 1992. — Vol. 1. — P. 421–424.
30. Saffarian S., Collier I.E., Marmer B.L., et al. Interstitial collagenase is a Brownian ratchet driven by proteolysis of collagen // Science. — 2004. — Vol. 306, № 5693. — P. 108–111.
31. Patterson C., Pourmotabbed T., Mainardi C.L., Hasty K.A. Structure-function relationship of human neutrophil collagenase: identification of regions responsible for substrate specificity and general proteinase activity // PNAS. — 1993. — Vol. 90, № 7. — P. 2569–2573.
32. Mukherjee R., Brinsa T.A., Dowdy K.B. et al. Myocardial infarct expansion and matrix metalloproteinase inhibition // Circulation. — 2003. — Vol. 107, № 4. — P. 618–625.
33. Spinale F.G., Coker M.L., Heung L.J. et al. A matrix metalloproteinase induction/activation system exists in the human myocardium and is upregulated in heart failure // Circulation. — 2000. — Vol. 102, № 16. — P. 1944–1949.
34. Волкова М.А. Клиническая онкогематология. — М.: «МЕДИЦИНА», 2001. — С. 9–21.
35. Webb C.S., Bonnema D.D., Hinan A.S. et al. Specific temporal profile of matrix metalloproteinase release occurs in patients after myocardial infarction // Circulation. — 2006. — Vol. 114, № 10. — P. 1020–1027.
36. Aimes R.T., Quigley J.P. Matrix metalloproteinase-2 is an interstitial collagenase: inhibitor-free enzyme catalyzes the cleavage of collagen fibrils and soluble native type I collagen generating the specific 3/4- and 1/4- length fragments // J. Biol. Chem. — 1995. — Vol. 270, № 11. — P. 5872–5876.
37. Kähäri V.M., Saarialho-Kere U. Matrix metalloproteinases in skin // Exp. Dermatol. — 1997. — Vol. 6, № 5. — P. 199–213.
38. Huhtala P., Tuuttila A., Chow L.T. et al. Complete structure of the human gene for 92-kDa type IV collagenase. Divergent regulation of

expression for the 92- and 72-kilodalton enzyme genes in HT-1080 cells // *J. Biol. Chem.* — 1991. — Vol. 266, № 25. — P. 16485–16490.

39. Zhang B., Ye S., Herrmann S.M. et al. Functional polymorphism in the regulatory region of gelatinase B gene in relation to severity of coronary atherosclerosis // *Circulation.* — 1999. — Vol. 99, № 14. — P. 1788–1794.

40. Siwik D.A., Pagano P.J., Colucci W.S. Oxidative stress regulates collagen synthesis and matrix metalloproteinase activity in cardiac fibroblasts // *Am. J. Physiol. Cell. Physiol.* — 2001. — Vol. 280, № 1. — P. 53–60.

41. Aljada A., Ghanim H., Mohanty P. et al. Hydrocortisone suppresses intranuclear activator-protein-1 (AP-1) binding activity in mononuclear cells and plasma matrix metalloproteinase 2 and 9 (MMP-2 and MMP-9) // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* — 2001. — Vol. 86, № 12. — P. 5988–5991.

42. Potier M., Karl M., Elliot S.J. et al. Response to sex hormones differs in atherosclerosis-susceptible and -resistant mice // *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* — 2003. — Vol. 285, № 6. — P. E1237–E1245.

43. Heymans S., Luttun A., Nuyens D. et al. Inhibition of plasminogen activators or matrix metalloproteinases prevent cardiac rupture but impairs therapeutic angiogenesis and causes cardiac failure // *Nat. Med.* — 1999. — Vol. 5, № 10. — P. 1135–1142.

44. Kai H., Ikeda H., Yasukawa H. et al. Peripheral blood levels of matrix metalloproteinase 2 and 9 are elevated in patients with acute coronary syndromes // *J. Am. Coll. Cardiol.* — 1998. — Vol. 32, № 2. — P. 368–372.

45. Ardans J., Economou A., Martinson J. et al. Oxidised low density and high density lipoproteins regulate the production of matrix metalloproteinases 1 and 9 by activated monocytes // *J. Leukoc. Biol.* — 2002. — Vol. 71, № 6. — P. 1012–1018.

46. Herzog E., Gu A., Kohmoto T., Burkhoff D. Early activation of metalloproteinases after experimental myocardial infarction occurs in infarct and non-infarct zones // *Cardiovasc. Pathol.* — 1998. — Vol. 7, № 6. — P. 307–312.

47. Etoh T., Joffe C., Deschamps A.M. et al. Myocardial and interstitial matrix metalloproteinase activity after acute myocardial infarction in pigs // *Am. J. Physiol. Heart. Circ. Physiol.* — 2001. — Vol. 281, № 3. — P. H987–H994.

48. Lanone S., Zheng T., Zhu Z. et al. Overlapping and enzyme-specific contributions of matrix metalloproteinases-9 and -12 in IL-13-induced inflammation and remodeling // *J. Clin. Invest.* — 2002. — Vol. 110, № 4. — P. 463–474.

49. Garvin P., Nilsson L., Carstensen J. et al. Circulating matrix metalloproteinase-9 is associated with cardiovascular risk factors in a middle-aged normal population // *Oxford J. Med.* — 2008. — Vol. 101, № 10. — P. 785–791.

50. Borden P., Heller R.A. Transcriptional control of matrix metalloproteinases and the tissue inhibitors of matrix metalloproteinases // *Crit. Rev. Eukaryot. Gene Expr.* — 1997. — Vol. 7, № 1–2. — P. 159–178.

51. Moon S.K., Cha B.Y., Kim C.H. ERK1/2 mediates TNF- α -induced matrix metalloproteinase-9 expression in human vascular smooth muscle cells via the regulation of NF- κ B and AP-1: involvement of the ras dependent pathway // *J. Cell. Physiol.* — 2004. — Vol. 198, № 3. — P. 417–427.

52. Inokubo Y., Hanada H., Ishizaka H. et al. Plasma levels of matrix metalloproteinase-9 and tissue inhibitor of metalloproteinase-1 are increased in the coronary circulation in patients with acute coronary syndrome // *Am. Heart. J.* — 2001. — Vol. 141, № 2. — P. 211–217.

53. Ciezki J.P., Hafeli U.O., Song P. et al. Parenchymal cell proliferation in coronary arteries after percutaneous transluminal coronary angioplasty: a human tissue bank study // *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* — 1999. — Vol. 45, № 4. — P. 963–968.

54. Sierevogel M.J., Pasterkamp G., de Kleijn D.P., Strauss B.H. Matrix metalloproteinases: a therapeutic target in cardiovascular disease // *Curr. Pharm. Des.* — 2003. — Vol. 9, № 13. — P. 1033–1040.

55. van Beusekom H.M., Post M.J., Whelan D.M. et al. Metalloproteinase inhibition by batimastat does not reduce neointimal thickening in stented atherosclerotic porcine femoral arteries // *Cardiovasc. Radiat. Med.* — 2003. — Vol. 4, № 4. — P. 186–191.

56. Плеханова О.С., Соломатина М.А., Меньшиков М.Ю. и др. Активаторы плазминогена и матриксные металлопротеиназы в экспериментальном ремоделировании артерий // *Кардиология.* — 2006. — Т. 9, № 46. — С. 47–56.

57. Collen D. The plasminogen (fibrinolytic) system // *Thromb. Haemost.* — 1999. — Vol. 82, № 2. — P. 259–270.

58. Lijnen H.R., Van Hoef B., Lupu F. et al. Function of the plasminogen/plasmin and matrix metalloproteinase systems after vascular injury in mice with targeted inactivation of fibrinolytic system genes // *Thromb. Vasc. Biol.* — 1998. — Vol. 18, № 7. — P. 1035–1045.

59. Ye S. Polymorphism in matrix metalloproteinase gene promoters: implication in regulation of gene expression and susceptibility of various diseases // *Matrix. Biol.* — 2000. — Vol. 19, № 7. — P. 623–629.

60. Richardson P.D., Davies M.J., Born G.V.R. Influence of plaque configuration and stress distribution on fissuring of coronary atherosclerotic plaques // *Lancet.* — 1989. — Vol. 2, № 8669. — P. 941–944.

61. Borgono C.A., Diamandis E.P. The emerging roles of human tissue kallikreins in cancer // *Nat. Rev. Cancer.* — 2004. — Vol. 4, № 11. — P. 876–890.

62. Yamada Y., Izawa H., Ichihara S. et al. Prediction of the risk of myocardial infarction from polymorphisms in candidate genes // *New Eng. J. Med.* — 2002. — Vol. 347, № 24. — P. 1916–1923.

63. Humphries S.E., Martin S., Cooper J., Miller G. Interaction between smoking and the stromelysin-1 (MMP3) gene 5A/6A polymorphism and risk of coronary heart disease in healthy men // *Ann. Hum. Genet.* — 2002. — Vol. 66, Pt. 5–6. — P. 343–352.

64. Ye S., Eriksson P., Hamsten A. et al. Progression of coronary atherosclerosis is associated with a common genetic variant of the human stromelysin-1 promoter which results in reduced gene expression // *J. Biol. Chem.* — 1996. — Vol. 271. — P. 13055–13060.

65. Ye S., Watts G.F., Mandalia S. et al. Preliminary report: genetic variation in the human stromelysin promoter is associated with progression of coronary atherosclerosis // *Brit. Heart J.* — 1995. — Vol. 73, № 3. — P. 209–215.

66. Humphries S.E., Luong L.-A., Talmud P.J. et al. The 5A/6A polymorphism in the promoter of the stromelysin-1 (MMP-3) gene predicts progression of angiographically determined coronary artery disease in men in the LOCAT gemfibrozil study // *Atherosclerosis.* — 1998. — Vol. 139, № 1. — P. 49–56.

67. Medley T.L., Kingwell B.A., Gatzka C.D. et al. Matrix metalloproteinase-3 genotype contributes to age-related aortic stiffening through modulation of gene and protein expression // *Circ. Res.* — 2003. — Vol. 92, № 11. — P. 1254–1261.

68. Thrailkill K., Moreau C.S., Cockrell G. et al. Physiological matrix metalloproteinase concentrations in serum during childhood and adolescence, using Luminex Multiplex technology // *Clin. Chem. Lab. Med.* — 2005. — Vol. 43, № 12. — P. 1392–1399.

69. Jung K. Serum or plasma: what kind of blood sample should be used to measure circulating matrix metalloproteinases and their inhibitors? // *J. Neuroimmunol.* — 2005. — Vol. 162. — P. 1–2.

70. Thrailkill K., Cockrell G., Simpson P. et al. Physiological matrix metalloproteinase (MMP) concentrations: comparison of serum and plasma specimens // *Clin. Chem. Lab. Med.* — 2006. — Vol. 44, № 4. — P. 503–504.

71. Rohde L.E., Ducharme A., Arroyo L.H. et al. Matrix metalloproteinase inhibition attenuates early left ventricular enlargement after experimental myocardial infarction in mice // *Circulation.* — 1999. — Vol. 99, № 23. — P. 3063–3070.

72. Apple F.S., Pearce L.A., Chung A. et al. Multiple biomarker use for detection of adverse events in patients presenting with symptoms suggestive of acute coronary syndrome // *Clin. Chem.* — 2007. — Vol. 53, № 5. — P. 874–881.

73. Li Y.Y., Feng Y., McTiernan C.F. et al. Down regulation of matrix metalloproteinase's and regulation in collagen damage in the failing human heart after support with left ventricular assist devices // *Circulation.* — 2001. — Vol. 104, № 10. — P. 1147–1152.