

**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ  
УЗБЕКИСТАН**

**ЦЕНТР РАЗВИТИЯ МЕДИЦИНСКОГО ОБРАЗОВАНИЯ**

**ТАШКЕНТСКАЯ МЕДИЦИНСКАЯ АКАДЕМИЯ**

**МЕТАЛЛОПРОТЕИНАЗЫ: строение, свойства и роль в  
развитии патологических состояний**

Методическая рекомендация

для магистрантов, клинических ординаторов

**Ташкент - 2015**

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ УЗБЕКИСТАН  
ЦЕНТР РАЗВИТИЯ МЕДИЦИНСКОГО ОБРАЗОВАНИЯ  
ТАШКЕНТСКАЯ МЕДИЦИНСКАЯ АКАДЕМИЯ

«УТВЕРЖДАЮ»

Начальник Главного управления  
науки и учебных заведений  
МЗ РУз

\_\_\_\_\_Исмаилов У.С.

« \_\_\_\_ » \_\_\_\_\_ 2015 г.

«СОГЛАСОВАНО»

Директор Центра развития  
медицинского образования  
МЗ РУз

\_\_\_\_\_ Алимова М.Х.

« \_\_\_\_ » \_\_\_\_\_ 2015 г.

**МЕТАЛЛОПРОТЕИНАЗЫ: строение, свойства и роль в  
развитии патологических состояний**

Методическая рекомендация

для магистрантов, клинических ординаторов

Ташкент-2015

**Составители:**

Сабирова Р.А. – д.м.н., профессор кафедры медицинской и биологической химии Ташкентской медицинской академии

Турсунов Дж.Х. – директор программы магистратуры по направлению медицинская биохимия Ташкентской медицинской академии

Иноятова Ф.Х. - д.б.н., профессор кафедры медицинской и биологической химии Ташкентской медицинской академии

Кульманова М.У. – заведующая кафедры медицинской и биологической химии Ташкентской медицинской академии, к.м.н., доцент

**Рецензенты:**

Хаджиметов А.А. - д.б.н., профессор кафедры медицинской и биологической химии Ташкентского медицинского стоматологического института

Сайдалиходжаева О.З. - к.б.н., доцент кафедры нормальной физиологии, информатики и биофизики Ташкентской медицинской академии

Методическая рекомендация предназначена для магистров, клинических ординаторов медицинских ВУЗов. В ней приведены характеристика и свойства матриксных металлопротеиназ, члены их семейства, ингибиторы и их роль в развитии патологических состояний, применение данной темы в медицине, а также контрольные вопросы и тесты по заданной теме.

Утверждено на заседании цикло - предметной комиссии по медико-биологическим дисциплинам Ташкентской медицинской академии

Утверждено \_\_\_\_\_ года на заседании Ученого Совета ТМА (протокол №7).

Ученый секретарь ТМА, доцент

ТАШКЕНБАЕВА У.А.

## Список сокращений

ММР – матриксные металлопротеиназы

IL – интерлейкины

ТИМП - тканевые ингибиторы ММП

ФНО - фактор некроза опухоли

ПОЛ - перекисное окисление липидов

цАМФ – циклический аденозинмонофосфат

мРНК – матриксная рибонуклеиновая кислота

ИАП-1 - ингибитор активатора плазминогена 1-го типа

ГЭБ – гематоэнцефалический барьер

СОД – супероксиддисмутаза

АФК - активные формы кислорода

ПГ – перинатальная гипоксия

ССЗ – сердечно-сосудистые заболевания

ДЭА - дегидроэпиандростерон

## Характеристика матриксных металлопротеиназ

Матриксные металлопротеиназы (ММП) – группа цинк и кальций зависимых протеолитических ферментов, которые разрушают различные компоненты экстрацеллюлярного матрикса [75]. Свое название ММП получили за способность специфически гидролизовать основные белки межклеточного матрикса [49]. Матриксные металлопротеиназы представляют собой семейство, состоящее из 30 протеолитических ферментов, выявленных преимущественно у млекопитающих. Большинство ММП синтезируется как препробелки и секретируется как проферменты. Активация проММП осуществляется под действием плазмина или других ММП. Лишь отдельные представители металлопротеиназ, известные как ММП мембранного типа, секретируются в функционально активной форме [3].

Структура всех ММП представлена сигнальным пептидом, необходимым для успешной секреции из клетки; пропептидным участком (рис.), при отщеплении которого ММП активируется; каталитическим доменом, имеющим координационные связи с катионом цинка каталитического центра, и шарнирным регионом. Каталитический домен включает два иона  $Zn^{2+}$  и три иона  $Ca^{2+}$ . Все ферменты, кроме ММП-7, имеют концевой гемопексиноподобный домен, содержащий центр связывания субстрата. В ММП-2, -9 выявлен дополнительный участок включения в каталитическом домене, схожий с фибронектином 2-го типа, который, по-видимому, обеспечивает высокое сродство желатиназ к мембранным компонентам [73]. Пропептид содержит пептидную последовательность PRCGV/NPD, получившую название «цистеиновый выключатель», поскольку содержит SH-группу, которая, связываясь с атомом  $Zn^{2+}$  в активном центре, поддерживает молекулу ММП в форме зимогена (предшественника ММП,

неактивной формы). После гидролитического удаления пропептида и освобождения  $Zn^{2+}$ -связывающего центра происходит активация ММП.

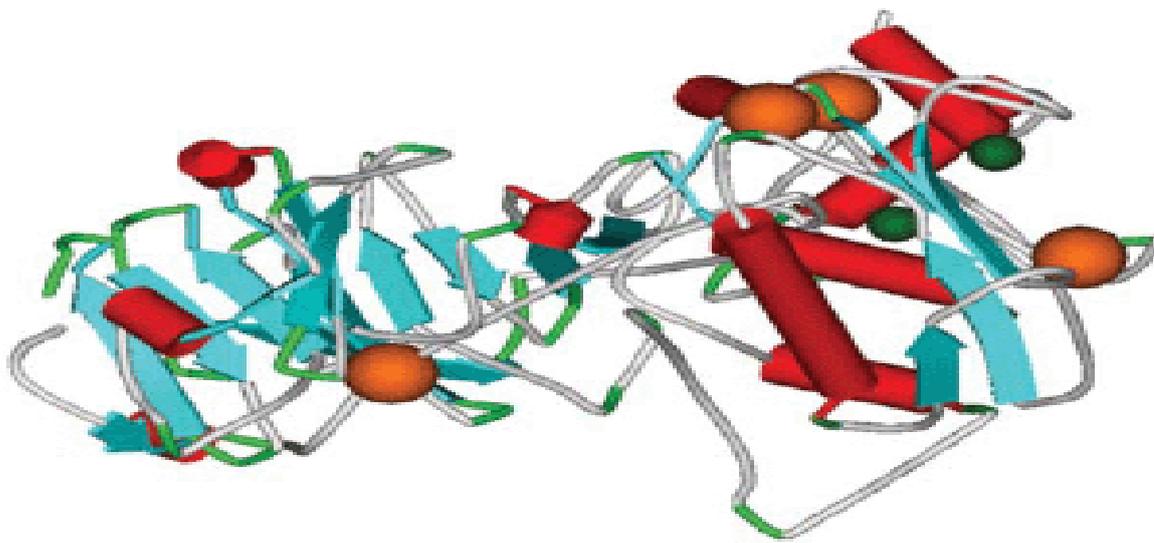


Рис. Трехмерная структура профермента ММП1 человека. Глобула (PDB код 1su3) состоит из двух структурных доменов, N-концевого каталитического (справа) и С-концевого регулирующего (слева). С-концевой домен определяет субстратную специфичность протеиназы, а также взаимодействует с TIMP белками (ингибиторами ММП). Четыре иона  $Ca^{2+}$  (большие сферы) и два иона  $Zn^{2+}$  (малые темные сферы) необходимы для катализа и стабилизации глобулы ММП.

Рисунок был сделан с помощью программы Weblab Viewer (<http://www.msi.com>)

ММП участвуют в ремоделировании и разрушении внеклеточного матрикса и клеточных мембран при различных биологических процессах (формирование скелета, эмбриональное развитие, ангиогенез, овуляция, клеточная миграция, развитие молочных желез, заживление ран и т.п.) [23]. При воспалительных процессах металлопротеиназы проявляют аналогичные свойства. Они играют важную роль в регуляции проницаемости сосудов, разрушая межклеточные связи между эндотелиальными клетками и способствуя миграции лейкоцитов в очаги воспаления. Металлопротеиназы регулируют активность воспалительных медиаторов - цитокинов и хемокинов [44]. Недавние исследования показали прямое и опосредованное

влияние MMP на ионные каналы эндотелия и гладкомышечных клеток сосудов, а также на другие механизмы расширения и сужения сосудов.

Металлопротеиназы состоят из нескольких групп, при этом их молекулярная структура, в целом, характеризуется 5-ю доменами: это домен, содержащий сигнальный белок, необходимый для секреции, продомен, каталитический домен, шарнирная область и гемопексина-подобный домен. MMP-2 и MMP-9 отличаются от остальных MMP наличием трех фибронектиноподобных модулей (также известных как модули фибронектина II типа), вовлеченных в связывание фибронектина с денатурированным коллагеном [55].

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 MMP также могут быть нематричные компоненты: плазминоген, фибрин, фибронектин, казеин, кор-протеин, предшественники цитокинов. MMP-8, -12, -13, -14 инактивируют фактор свертывания XII, а MMP-1, -2, -3, -9 – интерлейкин IL-1 $\beta$  [32]. MMP-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, тромбоцитарный фактор-4, субстанцию P, амилоидный пептид  $\beta$ . В зависимости от места расщепления этих молекул MMP-9 может понижать или повышать их биологическую активность [72]. Активность ферментов зависит от уровня экспрессии их генов и от наличия активаторов и ингибиторов. MMP относят к «индуцируемым» ферментам, транскрипция которых подчиняется целому ряду факторов (стероидные и тиреоидные гормоны, цитокины, факторы роста, химические агенты и др.). Исключение составляет MMP-2, экспрессия которой происходит по конститутивному

пути. Эти различия в регуляции транскрипции объясняются, в частности, различиями в строении промоторов ММП. Экспрессия ММП сходна с экспрессией белков острой фазы и регулируется противовоспалительными цитокинами, такими как фактор некроза опухоли-  $\alpha$  (ФНО- $\alpha$ ), ФНО- $\gamma$  и ИЛ- $1\beta$  [25, 43], бактериальными липополисахаридами [18, 74]. Регуляция активности ферментов на посттрансляционном уровне осуществляется активацией зимогенов или взаимодействием с тканевыми ингибиторами ММП (ТИММП) [73]. Предшественники ММП активируются в межклеточной среде преимущественно плазмином и другими протеиназами, в том числе и ММП, а также тиолмодифицирующими агентами (4-аминофенилмеркуриевый ацетат,  $HgCl_2$  и N-этималеимид). Низкая рН, гипертермия и перекисное окисление липидов (ПОЛ) также могут активировать металлопротеазы [2].

### Члены семейства матриксных металлопротеиназ

На основании субстратоспецифичности, нуклеотидных последовательностей, ММП разделяют на шесть групп: коллагеназы, желатиназы, стромелизины, матрилизины, мембранно-связанные ММП и другие металлопротеиназы [40]. В таблице 1 представлена сводная информация по ММП.

Таблица 1

Типы матриксных металлопротеиназ

Название фермента	Аббревиатура	Субстрат, на который воздействует фермент
<b>Коллагеназы</b>		
Коллагеназа внутренних органов	ММП – 1	Коллаген I, II, III, VII, X типов, желатин, ММП - 2, - 9
Коллагеназа	ММП – 8	Коллаген I, II, III, V, VII,

нейтрофилов		X типов, желатин
Коллагеназа 3	MMP – 13	Коллаген I, II, III, IV типов, желатин, фибронектин, ламинин
<b>Желатиназы</b>		
Желатиназа А	MMP – 2	Желатин, коллаген I, IV, V, VII, X, XI типа, фибронектин, ламинин, эластин
Желатиназа Б	MMP – 9	Желатин, коллаген III, IV, V, VII, X типа, эластин, витронектин
<b>Стромелизины</b>		
Стромелизин – 1	MMP – 3	Коллаген III, IV, V, IX, X типа, желатин, фибронетин, ламинин, теназин, MMP-1, -7, -8, - 9, -13
Стромелизин – 2	MMP – 10	Коллаген III, IV, V, IX типа, желатин, фибронетин, ламинин, казеин, MMP- 1, -8
Стромелизин – 3	MMP – 11	Коллаген IV, желатин, фибронектин, ламинин, $\alpha$ 1- антипротеазу и инсулиноподобный ростовой факторосвязующий протеин-1
<b>Мембрано-связанные металлопротеиназы (MT-MMPs)</b>		
MT – 1	MMP – 14	Коллаген I, II, III типа, желатин, фибронектин, ламинин, витронектин, протеогликаны,

		активирует про-ММР-2 и про-ММР-13
МТ – 2	ММР – 15	Активирует про-ММР-2
МТ – 3	ММР – 16	Активирует про-ММР-2
МТ – 4	ММР – 17	Активирует про-ММР-2
МТ – 5 МТ – 6	ММР – 24 ММР – 35	Активирует про-ММР-2 Желатинолитическая активность
<b>Не относятся ни к одной из групп</b>		
	ММР – 12	Агрекан, фибропектин, ламнин и коллагеназа IV типа
	ММР – 19	Желатин, тенаскин, ламнин, агрекан, коллагеназа IV типа, нидоген
Энамилизин	ММР – 20	Амелогенин
	ММР – 21	Неизвестен
	ММР – 22	Неизвестен
	ММР – 23А	Неизвестен
	ММР – 23В	Неизвестен
	ММР – 27	Неизвестен
	ММР – 28	Неизвестен

Предшественник матричной металлопротеиназы-1 (proMMP-1) ММР-1 (также известная как интестинальная коллагеназа, коллагеназа позвоночника, фибробластов и коллагеназа I) синтезируется фибробластами, хондроцитами, макрофагами, кератиноцитами, эндотелиальными клетками и

остеобластами. Синтез MMP-1 стимулируется разными агентами, включая цитокины (например, эпидермальный фактор роста, интерлейкины и ФНО- $\alpha$ ) и химические соединения, такие как цАМФ и эфиры форбола. MMP-1 ингибируется TIMP-1 и -2, а также  $\alpha$ 2-макроглобулином. MMP-1 принимает участие в деградации коллагеновых нитей в процессе ремоделирования экстрацеллюлярного матрикса.

Уровень MMP-1 определяют при ревматоидном артрите, остеоартрите, инвазии опухоли, изъязвлении роговицы, тканевом ремоделировании, воспалительных заболеваниях кишечника, атеросклерозе, аневризме и рестенозе. К тому же MMP-1 может также расщеплять другие субстраты: казеин, желатин, энтактин, и линк-протеин хряща.

#### Матриксная металлопротеиназа-2 (MMP-2)

MMP-2 (желатиназа) прежде всего экспрессируется в мезенхимальных клетках (главным образом в фибробластах) в период развития и регенерации ткани. Также синтезируется нейтрофилами, макрофагами и моноцитами. MMP-2 необходима для ингибирования процесса ангиогенеза в опухолях, и ее уровень повышен в эндотелии сосудов опухоли и в моче пациентов с различными опухолевыми образованиями.

Вместе с MMP-9 она участвует в деградации коллагена IV типа, главного компонента базальных мембран и желатина (денатурированного коллагена). MMP-2 может также разрушать другие типы коллагенов (V, VII и X), эластин и фибронектин. Она участвует в процессинге многих других молекул, модулируя их функции различными способами. Например, она расщепляет моноцитарный хемотаксический белок-3, что приводит к уменьшению воспаления и обеспечивает вазоконстрикцию.

#### Матриксная металлопротеиназа-3 (MMP-3)

ММР-3, также называемая стромелизином-1, катализирует деградацию многих компонентов соединительной ткани, включая протеогликаны, линк-белок, коллаген типов II, IV, IX и XI, ламинин и фибронектин.

ММР-3 может также влиять на деградацию экстрацеллюлярного матрикса через активацию проколлагеназы-1. ММР-3 секретируется как профермент массой 57 кДа и активируется *in vivo* путем ограниченного протеолиза тканевыми и плазматическими эндопептидазами. Активность ММР-3 ингибируется ТИМР, который взаимодействует с активной ММР-3 в стехиометрическом соотношении 1:1. Полагают, что равновесие между ММР-3 и ТИМР - определяющий фактор в разрушении межклеточного матрикса. Активность ММР-3 также может ингибироваться  $\alpha 2$ -макроглобулином. Считают, что ММР-3 играет важную роль в естественных процессах тканевого ремоделирования и патологических процессах (остеоартритах и ревматоидных артритах).

#### Матриксная металлопротеиназа-7 (ММР-7)

ММР-7 - одна из самых маленьких ММРs, состоящая из про-домена и каталитического домена. ММР-7 экспрессируется в нормальных и патологически измененных эпителиальных клетках. ММР-7 синтезируется различными опухолями: молочной железы, толстого кишечника, простаты, желудка, верхних дыхательных путей и пищевода, легких и кожи. ММР-7 способна к утилизации большого ряда белков экстрацеллюлярного матрикса: коллагена IV типа, желатинов, ламинина, агреккана, энтактина, эластина и верзикана. Она активирует другие протеиназы: активатор плазминогена урокиназного типа и про-ММР-1, -2, -9, а также разрушает субстраты типа остеопонтина. ММР-7-опосредованное разрушение Fas-лиганда защищает клетки опухоли от химиотерапевтических препаратов и усиливает апоптоз эпителиальных клеток.

#### Матриксная металлопротеиназа-8 (ММР-8)

MMP-8 (также известная как нейтрофильная коллагеназа и коллагеназа 2) содержится в специфических гранулах полиморфноядерных лейкоцитов (PMNs) в виде неактивного профермента. PMNs играют существенную роль в фагоцитозе и обладают высокой способностью к инфильтрации соединительной ткани. Различные агенты, такие как IL-1 и IL-8, ФНО- $\alpha$ , и GM-CSF стимулируют высвобождение из нейтрофилов MMP-8 – ключевого фермента, начинающего разрушение экстрацеллюлярного матрикса, особенно при патологических воспалительных процессах, ревматоидном артрите и остеоартрите. MMP-8 может расщеплять белки, такие как фибронектин, хрящевой агрекан и серпины, а также пептиды типа ангиотензина и субстанции P.

#### Матриксная металлопротеиназа-9 (MMP-9)

MMP-9 (также известная как желатиназа B) секретируется как зимоген массой 92 kDa. Субстраты для MMP-9 включают денатурированный коллаген I типа (желатин), нативные коллагены типов IV, V, VII, X и XI, фибриноген, витронектин, IL-1 и энтактин, который соединяет ламинин и коллаген IV типа. MMP-9 принимает участие в процессах воспаления, ремоделирования ткани и репарации, мобилизации матрикссвязанных факторов роста и процессинга цитокинов. Ее экспрессия коррелирует с десмоплазией (неправильная ориентация коллагена), которая сопровождает рак поджелудочной железы, метастазами лимфатических узлов при раке молочной железы. Уровень MMP-9 может повышаться в жидкости зубодесневых карманов и слюне пациентов с гингивитами и болезнями пародонта.

#### Матриксная металлопротеиназа-10 (MMP-10)

MMP-10 (также известная как стромелизин-2 и транзин-2) экспрессируется остеокластами, клетками опухолей головы, шеи и легких человека. Сверх экспрессия MMP-10 в роговичном эпителии у больных

диабетом может быть главной причиной наблюдаемых изменений при диабетической ретинопатии.

Активная MMP-10 способна расщеплять несколько белков, участвующих в заживлении ран: коллаген типов III и IV, желатин, нидоген, ламинин-1, эластин и протеоглики. Активный фермент также активирует про-MMP-1, -7, -8 и -9.

#### Матриксная металлопротеиназа-13 (MMP-13)

MMP-13, также известная как коллагеназа-3, обладает широкой субстратной специфичностью и играет важную роль в инвазии и метастазировании опухолей. Очищенный мономерный фермент имеет м.м. 19,6 кДа. Первоначально MMP-13 была обнаружена в опухоли молочной железы. Дальнейшие исследования показали, что этот фермент продуцируется большим количеством различных злокачественных клеток, включая плоскоклеточные опухоли головы и шеи, где усиление экспрессии MMP-13 отражает повышенную инвазивность опухоли, плоскоклеточную карциному верхних дыхательных путей, гортани и вульвы. Недавние исследования показали, что MMP-13 является диагностически значимым маркером рака предстательной железы и мишенью для мониторинга пациенток после ксенотрансплантации при раке молочной железы. Повышенная экспрессия связана с агрессивностью опухоли при карциноме пищевода. MMP-13, вместе с другими MMPs, вовлечена в деградацию межклеточного матрикса десен при периодонтите.

Активность MMP-13 связана с плохим прогнозом выживаемости при колоректальном раке. Эндотелиальные клетки кожи также являются источником MMP-13. Экспрессия фермента усиливается в условиях, способствующих росту эндотелиальных клеток и сосудистой дифференциации. Связь гиперэкспрессии MMP-13 с незаживающими ранами показана на примере хронических кожных язв. Растет количество

исследований, подтверждающих важную роль MMP-13 в развитии ревматоидного артрита и остеоартрита.

Активность MMP в физиологических условиях регулируется рядом специфических ингибиторов, прежде всего тканевыми ингибиторами металлопротеиназ (ТИМП). В настоящее время хорошо изучены ТИМП-1, ТИМП-2, ТИМП-3 и ТИМП-4, которые различаются по специфическому действию на металлопротеиназы (табл. 2). Так, ТИМП-1 наиболее активно ингибирует MMP-9, в то время как ТИМП-2 подавляет активность MMP-2 [1].

Таблица 2

Субстратная специфичность ТИМП-1, -2, -3, -4 [4, 7]

Ингибитор	Субстрат
ТИМП-1	Образует нековалентный комплекс со всеми активными MMP, за исключением MT1-, MT3-, MT5-MMP. Наибольшая аффинность — к MMP-1, -2, -8, -13, -18, стромелизину-1. Образует комплекс с MMP-9, блокируя ее активацию стромелизинами
ТИМП-2	Активен в отношении всех MMP, с высокой специфичностью ингибирует MMP-2
ТИМП-3	Ингибирует преимущественно MMP-1, -2, -3, -9. Обладает высокой аффинностью к компонентам матрикса, проявляет ингибиторную активность в местах связывания с ними
ТИМП-4	Ингибирует разные MMP, в наибольшей степени - MMP-2

Все TIMPs состоят из двух доменов, фиксируемых шестью дисульфидными связями. Один домен в основном ответственен за ингибирование, в то время как другой домен может связываться с про-желатиназами, а также стимулировать клеточную пролиферацию. Все соединительные ткани содержат TIMPs. Основные места экспрессии TIMP-1 находятся в яичниках и костной ткани. TIMPs ингибируют развитие опухоли, метастазирование и ангиогенез. TIMP-1 стимулирует синтез MMP-1 в фибробластах.

#### Тканевой ингибитор металлопротеиназы-2 (TIMP-2)

Экспрессия TIMP-2 наблюдается и в нормальных и опухолевых тканях. Концентрация TIMP-2 в сыворотке коррелирует как с длительностью ремиссии, так и выживаемостью у пациенток с раком молочной железы.

Сывороточные уровни TIMP-2 повышены у пациентов с системным склерозом. Предполагается использование этого теста для оценки степени малигнизации опухоли.

#### Тканевой ингибитор металлопротеиназ 4 (TIMP-4)

mРНК TIMP-4 экспрессируется на высоком уровне в сердце, на низком уровне в почках, поджелудочной железе, толстой кишке и тестикулах. Уровень TIMP-4 в плазме снижен у пациентов с гипертрофической обструктивной кардиомиопатией, после этаноловой абляции межжелудочковой перегородки, что указывает на важную роль TIMP-4 в миокардиальном ремоделировании. Кроме того, экспрессия TIMP-4 нарушается при различных типах опухолей, включая рак молочной железы, шейки матки и эндометрия, глиомы и хориокарциномы.

Важным ингибитором MMP является ингибитор активатора плазминогена 1-го типа (ИАП-1), способный блокировать активаторы плазминогена тканевого и урокиназного типов и препятствовать

образованию плазмина. Блокируя плазминообразование, ИАП-1 препятствует активации ММП. Другой механизм его подавляющего действия связан со способностью соединяться с активатором плазминогена урокиназного типа. Это предотвращает индуцированную урокиназой активацию МТ1-ММП, с помощью которой образуется функционально активная форма ММП-2 [1]. Активность ММП также может подавляться  $\alpha$ 2-макроглобулином, мегзином и другими ингибиторами [1, 53].

В последние годы в экспериментальных исследованиях, направленных на раскрытие механизмов гипоксических повреждений гематоэнцефалического барьера (ГЭБ), изучаются матриксные металлопротеиназы (ММП) — семейство ферментов, разрушающих белки внеклеточного матрикса [29]. Один из ферментов этого семейства — ММП-9 разрушает коллаген IV типа, который является главным компонентом базальной мембраны церебрального эндотелия, и, таким образом, создает условия для миграции клеток через ГЭБ [42].

Активность ММП регулируется тканевыми ингибиторами металлопротеиназ [17]. Другими не менее важными регуляторами активности и синтеза ММП, по данным экспериментальных исследований, являются активные формы кислорода (АФК) [51], эффекты которых ограничиваются энзимными и неэнзимными антиоксидантами [21]. Можно полагать, что фермент супероксиддисмутаза (СОД), инактивирующий супероксидный радикал, может предотвращать активацию и индукцию синтеза матриксных металлопротеиназ.

В состоянии гипоксии в организме недоношенных новорожденных развивается оксидативный стресс, обусловленный повышенной продукцией АФК и незрелостью антиоксидантной системы [20]. Установлено, что в развитии гипоксически-ишемической энцефалопатии и внутрижелудочковых кровоизлияний при ПГ важную роль играет вызванное АФК свободно-радикальное окисление биомолекул [22]. Кроме того, в последние годы

показано, что АФК являются регуляторами активности ряда ферментов, включая ММП, а через окисление специфических тиольных групп белков могут изменять конформацию белковых факторов транскрипции, что приводит к их активации или ингибированию [21]. Так, прямое активирующее действие АФК на ММП наблюдалось при инкубации очищенных предшественников внеклеточных матриксных металлопротеиназ про-ММП-2 и про-ММП-9 гладких миоцитов человека с системой ксантин — ксантинооксидаза [57]. Показано, что пероксид водорода и другие АФК вызывают транслокацию в ядро активаторного протеина-1, ядерного фактора транскрипции κВ (NF-κВ) и фактора транскрипции ERK ½ с последующим повышением активности ММП. С другой стороны, сообщалось о том, что ММП-9 индуцировала отек мозга и постишемическое повреждение ГЭБ [28, 58, 65], а повышенная концентрация ММП-9 в плазме является предиктором неврологических нарушений у новорожденных с асфиксией [63]. И, напротив, ингибирование ММП-9 и нокаут гена ММП-9 в эксперименте снижали постишемическое повреждение мозга [58, 65].

Учитывая эти факты, а также данные о подавлении активации ММП-9 неферментным антиоксидантом N-ацетилцистеином в системе *in vitro* [27], возникло предположение, что антиоксидантные ферменты, включая СОД, которая выполняет роль первой линии защиты тканей от АФК [24], способны ограничить возможно развивающуюся при ПГ неадекватную активацию и синтез ММП и тем самым предотвратить их повреждающее действие на ГЭБ при перинатальной гипоксии. Для проверки гипотезы о взаимодействии антиоксидантной системы с системой ММП в патогенезе перинатальной гипоксии (ПГ) были измерены концентрации ММП-9 и ТБРП одновременно с активностью СОД в плазме крови двух групп недоношенных новорожденных с ПГ и без клинических признаков ПГ.

Секреция и активность ММП в нормальной ткани - очень низкая [49]. Основная регуляция происходит на уровне транскрипции мРНК [70].

Экспрессию генов металлопротеиназ регулируют различные факторы роста (epidermal GF, basic fibroblast GF, platelet-derived GF), цитокины (TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ ), а также химические агенты и физический стресс. Внеклеточные стимулы через пути передачи сигнала приводят к активации транскрипционного фактора AP-1, сайты связывания с которым есть только у MMP-1,3,7,8,9,10,11,12 и MMP-13. Экспрессия AP-1 индуцируется MAP киназами, через внеклеточные сигналрегулируемые киназы (ERK 1, 2), активируемые стрессом протеин киназы (SAPK) и p38 [12, 71].

После синтеза MMP находятся в форме профермента в межклеточном пространстве. В тот момент, когда возникает дополнительный сигнал к активации через активные формы кислорода, триггеры ишемии (тромбин или химотрипсиноподобная протеаза) или ангиотензин-превращающий фермент из тучных клеток, открывается активный участок фермента [62].

Металлопротеиназы 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 и сердечно-сосудистых заболеваниях. Количество вновь синтезируемых MMPs регулируется в основном на уровне транскрипции, а протеолитическая активность существующих MMPs контролируется как активацией проферментов, так и ингибированием активных ферментов эндогенными ингибиторами,  $\alpha_2$ -макроглобулином и тканевыми ингибиторами металлопротеиназ (TIMPs). По специфичности MMP можно разделить на коллагеназы (MMP-1, -8 и -13), желатиназы (MMP-2 и -9) и стромелизины (MMP-3 и -10).

Коллагеназы расщепляют коллагены типов 1-3, 7 и 10, желатиназы – коллаген 4 типа и денатурированные коллагены. Стромелизины разрушают фибронектин, ламинин, коллаген 4, 5 и 7 типа, а также протеогликаны. Помимо сходства на уровне аминокислотной последовательности, все MMP образуются из неактивных предшественников, которые превращаются

в активные протеиназы под воздействием внеклеточных факторов. Источниками MMPs являются многие клетки, включая фибробласты, макрофаги, гладкомышечные клетки сосудистой стенки, нейтрофилы; их продукция увеличивается под влиянием цитокинов. Учитывая, что MMPs активно синтезируются при воздействии воспалительных цитокинов, определение уровней их предшественников может использоваться для оценки активности этих регуляторов.

### **MMPs и сердечно-сосудистые заболевания**

В исследовании AtheroGene выявлено, что MMP-9 и TIMP-1 являются независимыми предикторами сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ) и сердечно-сосудистой смерти у пациентов с ИБС. В нормальной сосудистой стенке можно найти только MMP-2, TIMP-1 и -2, тогда как большинство других MMPs определяются только в атероме. Установлено, что уровень MMP-9 тем выше, чем больше объем атеросклеротического поражения коронарного русла. Показано достоверное повышение уровня MMP-9 и TIMP-1 при атеросклерозе по сравнению с больными стенокардией напряжения и здоровыми людьми. Это дает основание использовать эти два белка в качестве маркеров острой фазы (разрыв бляшки). Повышенный уровень MMP-9 имеет прогностическое значение в отношении развития рестенозов. В ряде исследований показано достоверное повышение уровня MMP-2 у больных инфарктом миокарда по сравнению со здоровыми людьми.

### **MMPs и онкология**

Установлено, что экспрессия MMP-2 и -9 играет важную роль в процессе метастазирования при плоскоклеточном раке легкого и шейки матки, опухолях молочной железы, переходноклеточном раке мочевого пузыря, светлоклеточном раке почки, а экспрессия MMP-1 – при метастазировании опухолей легких и молочной железы.

### **MMPs и заболевания костной ткани**

MMPs образуют в зоне резорбции кости большие комплексы, состоящие из двух С-телопептидов молекул коллагена I типа, спиралевидного сегмента другой молекулы коллагена и поперечной пиридиновой сшивки между ними. Эти комплексы, обозначенные СТХ-MMP, попадают в кровоток и затем выводятся с мочой. Однако их структура нестабильна, и они разрушаются под действием катепсина К, а также протеолитических ферментов в сосудистом русле, в результате чего в кровотоке циркулируют различные фрагменты С-телопептидов. При остеоартрозах показано повышение уровня в тканях и синовиальной жидкости многих MMPs, а также активаторов про-MMPs, включая общий активатор MMPs плазмин. Относительный дефицит TIMP способствует повышенному протеолизу в хряще при остеоартрозах. Ранее считалось, что главная роль в деструкции матрикса принадлежит MMP-1, затем была установлена важная роль MMP-13, которая разрушает коллаген II типа, и MMP-3.

### **MMPs и репродукция**

MMPs активируют изменения тканей в течение менструального цикла, обладают свойством разрушать внеклеточный матрикс, включая базальную мембрану. После инволюции желтого тела или отмены экзогенных стероидов эндометрий отторгается. Этот процесс стимулируется MMPs эндометрия, уровень которых повышается после отмены прогестерона. MMPs разрушают внеклеточный матрикс и способствуют отторжению верхних двух третей эндометрия. В эндометрии и клетках стромы обнаружены MMP-1-3, -9 и -11. Там же синтезируются TIMP, однако их выработка не регулируется стероидными гормонами. Циклическая выработка MMPs играет большую роль в инвазии гетеротопического эндометрия и развитии эндометриоза. При генитальном эндометриозе MMPs появляются в высоких концентрациях и способствуют прогрессированию разрастания гетеротопий в брюшной полости. Содержание MMP-2 в перитонеальной жидкости и плазме

значительно выше у женщин с эндометриозом, чем в контрольной группе. Во многих исследованиях показано, что патологические процессы в матке напрямую связаны с изменением содержания в полости матки MMP-2 и -9. Их уровень при патологии значительно выше.

### **MMPs и сепсис**

В настоящее время в патогенезе сепсиса большое значение придается хемоаттрактантам (веществам, отвечающим за мобилизацию нейтрофилов и инфильтрацию ими пораженной легочной ткани). К ним относятся, в частности, цитокининдуцируемый хемоаттрактант нейтрофилов (CINC) и группа MMPs (MMP-9, MMP-2). Эти медиаторы вырабатываются в ответ на попадание в организм LPS; не случайно, нейтрофильная инфильтрация легких является характерной чертой синдрома острого повреждения легких при грамотрицательном сепсисе.

### **Роль металлопротеиназ в патогенезе псориаза и атеросклероза**

Участие MMP в широком спектре биологических процессов, связанных в основном, с деградацией компонентов внеклеточного матрикса, предполагает существование баланса между MMP и их естественными ингибиторами (ТИМР). Нарушение баланса между ними приводит к возникновению патологий, в частности, к развитию различных сосудистых заболеваний, таких как аневризма аорты, варикозное расширение вен, атеросклероз и гипертония [56]. Например, при атеросклерозе показано, что MMP активно участвуют на различных стадиях его развития. Активация MMP приводит к изменению структуры атеросклеротической бляшки и может привести к ее разрыву. Разрушение атеросклеротической бляшки происходит при воздействии протеиназ на ее фиброзную покрышку, обращенную в просвет сосуда, что может привести к развитию острого инфаркта миокарда и внезапной сердечной смерти [66]. Экстрацеллюлярный матрикс, продуцирующийся в основном гладкомышечными клетками

синтетического типа, расположенными в интима артерий, включает в себя коллаген I, III, IV, V, VIII типов и ламинин. Коллаген I и III типов синтезируется и локализуется в интима и фиброзных бляшках, в то время как краевые участки бляшки содержат большое количество проколлаген-коллаген синтезирующих клеток I типа [5, 45, 76].

Металлопротеиназы принимают участие в ремоделировании миокарда при инфаркте, что может привести к дилатационной кардиомиопатии. Процесс ремоделирования желудочка после инфаркта миокарда или вирусного повреждения также происходит под воздействием ММП, которые разрушают каркас из коллагена и эластина, приводя к гипертрофии и дилатации желудочка. По мере того как тяжесть и спектр сердечно-сосудистых заболеваний меняется от острых состояний, таких как инфаркт миокарда, внезапная сердечная смерть, к хроническим заболеваниям (атеросклероз сосудов), ремоделирование миокарда и воспаление выходят на первое место. Ремоделирование ткани – двустадийный процесс: клеточный компонент изменения структуры и изменение в структуре матрикса. Внеклеточный матрикс в настоящее время рассматривается как непосредственный участник функции органа и изменения его структуры, а матриксные металлопротеиназы – как медиаторы его ремоделирования.

Последние исследования указывают на роль ММП в этом процессе и на потенциальные возможности их использования в диагностических и терапевтических целях. В настоящее время матриксные металлопротеиназы рассматриваются как потенциальные биомаркеры развития кардиологических осложнений при разрушении атеросклеротических бляшек. Металлопротеиназы рассматривают как точку воздействия для коррекции изменений при атеросклеротическом поражении коронарных сосудов. Так, при увеличении экспрессии ММП-12 происходит моноцитарная инфильтрация сосудистой стенки, приводящая к разрыву внутренней стенки эластического слоя и ускорению атеросклеротического

процесса [41, 48]. В свою очередь, структурная целостность бляшек также зависит от баланса между процессами синтеза и разрушения внеклеточного матрикса, который, в основном, регулируется через взаимодействие ММР и с их ингибиторами (ТИМР). Так, было показано, что в бляшках, целостность которых была нарушена в комплексе ММР-9/ТИМР-1, нарушался баланс уровня экспрессии в сторону увеличения экспрессии ММР-9, по сравнению с бляшками, которые не подверглись разрушению. При этом наблюдалось снижение уровня TFPI-2 (Tissue factor pathway inhibitor) [31]. Таким образом, чрезвычайно высокая экспрессия ММР приводит к разрушению артериального внеклеточного матрикса, что является причиной отрыва бляшки, приводящей в большинстве случаев к инфаркту миокарда [39].

Уровень экспрессии мРНК ММР-1,3,9 и ТИМР-1 значительно апрегулирован в материале бляшек сонной артерии, тогда как уровень экспрессии TFPI-2 был уменьшен. Частичное апрегулирование ММР-9 и разбалансировка экспрессии ММР9/ТИМР-1 могут играть кардинальную роль в разрушении бляшки.

В процессе развития многих заболеваний был выявлен повышенный уровень экспрессии некоторых ММР. Наиболее исследованными в этом отношении оказались онкологические заболевания, сосудистые заболевания и артриты. При различных видах онкологических заболеваний были гиперэкспрессированы ММР-1, 2, 3, 7, 9, 10, 11, 13 и 14 [38]. ММР могут способствовать росту опухоли не только путем деградации внеклеточного матрикса, но и благодаря выходу изолированных ростовых факторов [52]. Так, ММР-9 мобилизует VEGF из внеклеточного матрикса и расщепляет коллаген IV типа, образуя ангиогенный ингибитор - тамстатин [31].

В биологии кожи ММР вовлечены в ремоделирование воспаленного матрикса, образование новых сосудов, заживление ран и злокачественное перерождение [64]. Псориаз гистологически характеризуется гиперпролиферацией кератиноцитов, инфильтрацией воспалительными

клетками, неангиогенезом, дилатацией сосудов кожи и продукцией цитокинов, таких как TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , TGF- $\alpha$  и INF-g так же регуляцией транскрипции MMP. Многие из этих факторов так же принимают участие в заживлении ран кожи путем четкой регуляции деятельности MMP [8, 19]. Многие цитокины или факторы роста, гиперпродукция которых отмечается при псориазе (TNF- $\alpha$ , IL-1, INF-g, IL-6, IL-8, VEGF, TGF- $\alpha$ ) также могут регулировать продукцию MMP.

Стромелизин-1 (MMP-3) и 2 (MMP-10), матрилизин (MMP-7) и металлоэластаза (MMP-12) часто объединяют в подгруппу стромелизина по их структуре и субстратспецифичности. MMP-3 и MMP-10 могут экспрессироваться эпителиальными клетками. MMP-3 разрушает фибронектин и тенасцин, уровень которых значительно повышен в коже больных псориазом [9].

Элемент подгруппы стромелизинов – MMP-12, наиболее активная MMP против эластина [61, 76]. Она также может нарушать структуру фибронектина, коллагена 4 типа, ламинина-1, а так же активировать TNF- $\alpha$  [13, 30]. Предыдущие исследования показали, что макрофаги – основной источник MMP-12.

Нейтрофилы и макрофаги являются одними из важнейших клеток, принимающих участие в образовании псориазического инфильтрата.

Активированные нейтрофилы способны влиять не только на рост и дифференцировку кератиноцитов, но и активировать T-клетки [69].

Экспрессия матриксных металлопротеиназ в основном регулируется на уровне транскрипции, поэтому уровни MMP хорошо коррелируют с уровнем матриксной РНК [47, 68]. Согласно одному из исследований mRNA MMP-3 была обнаружена в 19% образцов кожи с проявлениями атеросклероза [64], amRNA MMP-12 - в 77% случаев. Достоверное увеличение уровня экспрессии данной металлопротеиназы отмечено во всех сайтах воспаления. В данном

исследовании показано, что MMP-12 позитивными клетками в данном случае являются макрофаги. Отмечалось, что MMP-3 и MMP-12 не экспрессируются здоровой кожей [14, 34].

Экспрессия TIMP-1 отмечена в воспалительных инфильтратах и эндотелиальных клетках в 75% случаев. Наиболее четкие данные получены у пациентов, которые местно принимают кортикостероиды. Изменение уровня экспрессии TIMP-3 отмечено в 50% образцов, при этом также наблюдалось изменение уровня экспрессии в образцах здоровой кожи, периваскулярной строме сосудов и волосяных фолликулах [6]. TIMP-1 экспрессируется в здоровой коже отдельными фибробластами [26].

Показано, что MMP-12 и MMP-9 наиболее интенсивно экспрессируются в очагах псориазического повреждения кожи. MMP-1,7,10,13 менее ассоциированы с данным заболеванием [64].

Благодаря своей способности к деградации эластических волокон MMP-12 способствует миграции макрофагов в другие ткани. Активированные макрофаги являются первыми клетками, которые попадают в эпидермис при появлении псориазических бляшек [26]. При исследовании клеточных культур контакт Т-клеток с макрофагами увеличивает экспрессию MMP-12. Отмечается повышенная экспрессия IL-1b, VEGF гранулоцит/макрофаг колониестимулирующий фактор (GM-CSF) при псориазе, что увеличивает экспрессию MMP-12 макрофагами [15, 26, 54].

Для активации MMP-12 необходим активатор плазминогена урокиназного типа [10], а его уровень повышен при псориазе. В дополнение к этому MMP-12 может увеличивать воспалительный ответ путем стимулирования выработки TNF-альфа из проTNF-а [13]. Отмечено, что для увеличения экспрессии MMP-12 недостаточно только лишь гиперпролиферации кератиноцитов.

При гиперпролиферации кератиноцитов отмечено снижение уровня экспрессии MMP-9 по сравнению с нормальными кератиноцитами.

MMP-12 обладает антиангиогенным эффектом благодаря расщеплению плазминогена до ангиостатина [16]. Увеличение экспрессии TIMP-1 и MMP-12 может не являться специфичным.

Повышение активности ММП является ключевым звеном патогенеза в развитии ВИЧ-ассоциированного гингивита, периодонтита и ВИЧ-ассоциированной деменции. В последнем случае вирус вызывает изменение активности ММП-2, -9, -14 в ткани головного мозга с последующим повреждением внеклеточного матрикса, гематоэнцефалического барьера, миграцией макрофагов и разрастанием глии [74].

Успешная имплантация зародыша при экстракорпоральном оплодотворении (ЭКО) зависит от соответствующего состояния матки и ее рецепторной чувствительности. Успешный процесс имплантации эмбриона зависит от активности ММП, цитокинов, простагландинов, молекул «адгезии». В группе пациенток, которые не смогли забеременеть несмотря на 10-кратную процедуру по программам ЭКО, имело место достоверное повышение концентрации ММП-2, -9, ИЛ-1 и ФНО в несколько раз по сравнению с показателями у женщин контрольной группы, не имевших в анамнезе нарушений процесса имплантации эмбриона [35]. Коллаген I, III и V типов ответствен за структурную интеграцию и прочность ткани эндометрия, коллаген IV типа улучшает инвазию трофобласта. ММП-2 запускает деградацию внеклеточного матрикса в яичниках, обеспечивая нормальную овуляцию. В биоптатах маточного эпителия уровни транскриптов коллагена I типа и ММП-2 выше у женщин с диагнозом идеопатическое бесплодие (несмотря на нормальный фолликулогенез, менструальный цикл и отсутствие спаечного процесса) и особенно повышается у женщин с многократными повторными выкидышами.

Повышение активности и содержания ММП-2, снижение уровня ТИМП препятствует нормальному процессу инвазии бластоцисты [37].

Экспрессия, содержание и активность ММП регулируются половыми гормонами [50]. Присутствие прогестерона и эстрогенов в культуре клеток эндометрия снижает активность металлопротеаз, но при отмене гормонов активность резко повышается, что в свою очередь сопровождается морфологическими изменениями клеток эндометрия, характерными для маточного эпителия в период менструации [46, 36]. Использование эндометрия кроликов в качестве исследовательского материала показало, что прогестерон в наибольшей степени снижает экспрессию ММП, а также увеличивает транскрипцию генов, кодирующих ТИМП [67]. Выявлена высокая корреляционная зависимость между повышением сывороточного уровня пролактина и увеличением активности ТИМП-1 в яичниках крыс [33]. В культуре клеток рака простаты в присутствии метилтринолона, миболерона (препараты с высоким андрогенным индексом) и в особенности дегидроэпиандростерона (ДЭА) выявлено снижение активности ММП-1, -3 и -7, что тормозит опухолевую прогрессию [60]. В эксперименте крысы, принимающие ДЭА имели в 4 раза ниже уровень мРНК ММП-2 и в 2 раза ниже уровень активных форм ММП-2, чем в контрольной группе.

Влияние тиреоидных гормонов на активность ММП выявлено на экспериментальной модели первичного гипотиреоза у крыс. Использование пропилурацила (угнетает процесс периферической конверсии Т4 в Т3) зафиксировано пятикратное увеличение активности ММП-2, ММП-3, -14, уменьшение содержания коллагена 1, 3 типов и снижение уровня ТИМП-1 в ткани яичников крыс [59]. Снижения уровня Т3 ведет к усилению деградации внеклеточного матрикса яичников крыс ММП, что нарушает нормальную архитектуру и функции ткани, а значит и фолликулогенез.

Таким образом, приведенные данные свидетельствуют о бесспорном участии ММП в развитии многих патологических процессов. Определение

активности, содержания, экспрессии мРНК для ММП является полезным для установления стадии трансформации хронического гепатита в цирроз печени, осложнений диабета: диабетической нефропатии и ретинопатии, дестабилизации атеросклеротической бляшки, роста опухоли и многие др.

### **Определение активности металлопротеиназ**

Активность металлопротеиназ исследуют при помощи иммуноферментного набора для количественного определения человеческой/мышинной активной и про-матриксной металлопротеиназы 2 (общая ММП-2) в человеческой сыворотке, плазме, слюне, моче, супернатантах клеточных культур и мышинной сыворотке (ЗАО «БиоХимМак»).

**ПРИНЦИП МЕТОДА.** Данный тест основан на методе количественного твердофазного иммуноферментного анализа типа «сэндвич». Микропланшет покрыт специфическими поликлональными антителами к ММП-2. В ходе реакции в лунки планшета добавляются стандарты и образцы, и ММП-2, присутствующая в пробах, связывается с иммобилизованными антителами. После промывки все несвязавшиеся компоненты удаляются, и в ячейки добавляется конъюгат поликлональных антител к ММП-2 с ферментом. После второй промывки и удаления несвязавшегося конъюгата фермент-антитела добавляется субстратный раствор, который взаимодействует с ферментом с образованием цветного комплекса. Интенсивность развития окраски прямо пропорциональна концентрации общей ММП-2 (про- и активной ММП-2), связавшейся на первом этапе. Цветная реакция останавливается стоп-реагентом и интенсивность окраски измеряется на планшетном фотометре.

### Контрольные вопросы:

1. Какие ферменты относятся к матриксным металлопротеиназам?
2. Ионы каких металлов включает каталитический домен металлопротеиназ?
3. В каких процессах участвуют ММП?
4. Из скольких доменов состоит молекула металлопротеиназ?
5. Обладают ли субстратной специфичностью металлопротеиназы?
6. На основании субстратоспецифичности, нуклеотидных последовательностей на сколько групп делятся металлопротеиназы?
7. Обладают ли субстратной специфичностью ТИМП?
8. Является ли ингибитором ММП ингибитор активатора плазминогена 1-го типа?
9. При каких патологиях изменяется активность каких ММП?
10. Принцип метода количественного твердофазного иммуноферментного анализа металлопротеиназ?

### Ситуационные задачи:

1. К какому семейству относятся ферменты, участвующие в разрушении органических компонентов соединительной ткани?  
**Ответ:** Матриксные металлопротеиназы, они относятся к семейству  $Zn^{2+}$ -и  $Ca^{2+}$ -зависимых эндопептидаз, участвуют в ремоделировании соединительной ткани посредством разрушения ее органических компонентов при физиологических значениях pH. Свое название ММП получили за способность специфически гидролизовать основные белки межклеточного матрикса
2. От чего зависит активность ферментов металлопротеиназ?

**Ответ:** Активность ферментов зависит от уровня экспрессии их генов и от наличия активаторов и ингибиторов. Регуляция активности ферментов на посттрансляционном уровне осуществляется взаимодействием с тканевыми ингибиторами ММП. Деградация межклеточного матрикса, регулируемая ММП, необходима для протекания многих физиологических процессов.

3. Какова роль металлопротеаз в деструкции суставов при артрите?

**Ответ:** Металлопротеазы участвуют в деструкции суставов при артрите. Обнаружено значительное повышение активности ММП в плазме крови больных ревматоидным артритом. Выявлена гиперэкспрессия мРНК для ММП-1, -3 в воспаленном синовии. Уровень их ферментной активности в хряще коррелирует с тяжестью поражения суставов. Низкая активность ММП в сыворотке крови создает опасность формирования избыточных пролиферативных процессов с развитием стойких фиброзных деформаций и контрактур пораженных суставов.

4. Какова роль металлопротеаз в развитии диабетической нефропатии?

**Ответ:** Высокие концентрации глюкозы снижают секрецию ММП и подавляют их протеолитическую активность при диабете. Снижение активности ферментов приводит к пролиферации мезангиальных клеток, накоплению белков ММ, утолщению базальных мембран и облитерации капилляров клубочков. Эти нарушения влияют на фильтрационную способность и гемодинамику клубочков у пациентов с диабетической нефропатией.

5. Какова роль металлопротеаз в развитии злокачественных образований?

**Ответ:** Металлопротеазы участвуют в процессах канцерогенеза, воздействуя на различные пути передачи сигнала в клетке, основные компоненты ММ, на межклеточные взаимодействия, а также продуцируя различные биологически активные молекулы. У больных с бронхоальвеолярной карциномой выявлен значительный уровень экспрессии ММП-2, -9 опухолевыми клетками, что обуславливает высокую инвазивность и подвижность опухоли.

6. Какова роль металлопротеаз в развитии атеросклероза?

**Ответ:** Высокая активность ММП наблюдается в атеросклеротическом очаге. Макрофаги атеросклеротических бляшек продуцируют значительное количество ММП. Протеазы инициируют процесс разрушения структуры атеромы, увеличивают ее подвижность, вероятность отрыва от сосудистой стенки и появление эмбола, способного вызвать закупорку сосуда. Назначение малых доз доксициклина в течение 6-ти месяцев снижает

уровень ММП-2, -9 в атероматозных сосудах и, следовательно, предотвращает отрыв бляшки.

7. Какова роль металлопротеаз в развитии рака желудка?

**Ответ:** Высокая активность ММП-9 обнаружена при раке желудка и находится в строгой корреляционной зависимости со степенью опухолевой прогрессии, сопутствующего ангиогенеза и малигнизации. Кроме ММП-9 опухолевые клетки желудка экспрессируют ММП-2, которая вообще не определяется в нормальной ткани. Более того, уровень мРНК ММП-2 при высокодифференцированных формах рака значительно ниже, чем при низкодифференцированных формах, а также при метастазировании.

8. Какова роль металлопротеаз в развитии ВИЧ-ассоциированного гингивита?

**Ответ:** Повышение активности ММП является ключевым звеном патогенеза в развитии ВИЧ-ассоциированного гингивита, периодонтита и ВИЧ-ассоциированной деменции. В последнем случае вирус вызывает изменение активности ММП-2, -9, -14 в ткани головного мозга с последующим повреждением внеклеточного матрикса, гематоэнцефалического барьера, миграцией макрофагов и разрастанием глии.

9. Какова роль металлопротеаз при экстракорпоральном оплодотворении?

**Ответ:** Успешная имплантация зародыша при экстракорпоральном оплодотворении (ЭКО) зависит от соответствующего состояния матки и ее рецепторной чувствительности. Успешный процесс имплантации эмбриона зависит от активности ММП, цитокинов, простагландинов, молекул «адгезии». Коллаген I, III и V типов ответствен за структурную интеграцию и прочность ткани эндометрия, коллаген IV типа улучшает инвазию трофобласта. ММП-2 запускает деградацию внеклеточного матрикса в яичниках, обеспечивая нормальную овуляцию.

### **Тесты:**

#### **1. Дайте правильное определение матриксным металлопротеиназам (ММП)**

- группа цинк и кальций зависимых протеолитических ферментов, которые разрушают различные компоненты экстрацеллюлярного матрикса;

- группа цинк и кальций зависимых протеолитических ферментов, которые разрушают различные компоненты интрацеллюлярного матрикса;
- группа цинк и железа зависимых коферментов, которые разрушают различные компоненты клеточной мембраны;
- это пробелки, которые синтезируются при помощи ионов металлов.

## **2. Как осуществляется активация проММП?**

- под действием плазмина или других ММП;
- путем ингибирования протеолитических ферментов;
- с помощью ММП белков;
- активация ММП регулируется через ЦНС.

## **3. Функции ММП:**

- участвуют в ремоделировании и разрушении внеклеточного матрикса и клеточных мембран при различных биологических процессах;
- участвуют при образовании кетоновых тел;
- активируют воспалительных медиаторов как вазопрессин и хемокин;
- влияют на ионные каналы кишечника.

## **4. Правильно укажите молекулярную структуру ММП**

- характеризуется 5-ю доменами: это домен, содержащий сигнальный белок, продомен, каталитический домен, шарнирная область и гемопексино-подобный домен;
- характеризуется 6-ю доменами: домен, лигандосвязывающая часть, продомен, каталитический домен, шарнирная область и гемопексино-подобный домен;

- состоит из 3 основных доменов: каталитический домен, хемокиновый и продомен;
- имеет четвертичную молекулярную структуру, схожую с гемоглобином.

### **5. Укажите свойства, которые характеризуют всех металлопротеаз**

- обладают относительной субстратной специфичностью;
- являются проферментами;
- обладают абсолютной субстратной специфичностью;
- имеют схожую структуру с протеолитическими ферментами.

### **6. Субстратами для ММП могут быть:**

- плазминоген, фибрин, фибронектин;
- казеин, гемоглобин, фибронектин;
- кор-протеин, предшественники цитокинов и иммуноглобулины;
- ионы натрия, кальция и железа.

### **7. На основании чего ММП разделяют на шесть групп?**

- на основании субстратоспецифичности и нуклеотидных последовательностей;
- на основании каталитической функции и нуклеотидных последовательностей;
- на основании молекулярной структуры и функции;
- на основании относительной специфичности.

### **8. Назовите субстрат, который воздействует на фермент ММП – 1**

- коллаген I, II, III, VII, X типов, желатина, ММП - 2, - 9;

- коллаген I, II, III, V, VII, X типов, желатина;
- коллаген I, II, III, IV типов, желатина, фибронектин, ламинин;
- желатина, коллаген I, IV, V, VII, X, XI типа, фибронектин, ламинин, эластин.

### **9. Стромелизин – 1 действует на**

- теназин, MMP-1, -7, -8, -9, -13;
- ламинин, казеин, MMP-1, -8;
- $\alpha$ 1-антипротеазу и инсулиноподобный ростовой факторосвязующий протеин-1;
- активирует про-MMP-2 и про-MMP-13;

### **9. Укажите типы матриксных металлопротеиназ, которые не относятся ни к одной из групп**

- MMP – 12, MMP – 19, MMP – 20, MMP – 21, MMP – 22;
- MMP – 1, MMP – 8, MMP – 13, MMP – 2;
- MMP – 9, MMP – 3, MMP – 10, MMP – 11;
- MMP – 14, MMP – 15, MMP – 16, MMP – 17, MMP – 18.

### **10. Синтез MMP-1 стимулируется разными агентами как**

- эпидермальный фактор роста, интерлейкины и ФНО- $\alpha$ .
- фибробластами и коллагеназой I;
- инсулиноподобным ростовым факторосвязующим протеином -1;
- стромелизином – 1.

### **11. Уровень MMP-1 определяют при**

- ревматоидном артрите и остеоартрите;
- различных гепатитах;
- онкологических заболеваниях;
- при иммунодефиците.

## **12. MMP-2 синтезируется**

- нейтрофилами, макрофагами и моноцитами;
- нефроцитами, макрофагами и эпителиоцитами;
- эритроцитами, макрофагами и моноцитами;
- нейтрофилами, макрофагами и макролистами.

## **13. Какова основная функция MMP-3 (стромелизина-1)?**

- катализирует деградацию компонентов соединительной ткани;
- участвует при воспалительных процессах;
- повышает активность кетоновых тел;
- контролирует рост костей.

## **14. Матриксная металлопротеиназа-8 (MMP-8) это**

- нейтрофильная коллагеназа и коллагеназа 2;
- одна из самых маленьких MMP;
- стромелизин-1;
- желатиназа В.

## **15. Укажите свойства тканевого ингибитора металлопротеиназы - 1 (ТИМП)**

- образует нековалентный комплекс со всеми активными MMP;

- ингибирует преимущественно ММП-1, -2, -3, -9;
- ингибирует разные ММП, в наибольшей степени - ММП-2;
- обладает высокой аффинностью к компонентам матрикса, проявляет ингибиторную активность в местах связывания с ними.

### **Литература:**

1. Бобкова И.Н., Козловская Л.В., Ли О.А. Роль матриксных металлопротеиназ в патогенезе заболеваний почек. Тер арх 2008; 6: 86—90.
2. Соловьева Н. И. Матриксные металлопротеиназы : регуляция активности и роль в процессе онкогенеза / Н. И. Соловьева // Структура и функции протеолитических ферментов : материалы конф. (11–13 окт. 2000, Москва). – М., 2000.
3. Соловьева Н.И. Матриксные металлопротеиназы и их биологические функции. Журн биоорг химии 1998; 24: 217-226.
4. Шестакова М.В., Дедов И.И. Сахарный диабет и хроническая болезнь почек. М: МИА 2009.
5. Adiguzel E., Hou G., Sabatini P.J., Bendeck M.P. Type VIII collagen signals via beta1 integrin and RhoA to regulate MMP-2 expression and smooth muscle cell migration // Matrix Biol. 2013. Т. 32. № 6. — С. 332-41.
6. Airola K., Ahonen M., Johansson N., Heikkila P., Kere J., Kahari V.M., Saarialho-Kere U.K. Human TIMP-3 is expressed during fetal development, hair growth cycle, and cancer progression // J Histochem Cytochem. 1998. Т. 46. №4. — С. 437-47.
7. Anderson S.S., Wu K., Nagase H. et al. Effect of matrix glycation on expression of type IV collagen, MMP-2, MMP-9 and TIMP-1 by human mesangial cells. Cell Adhes Commun 1996; 4: 2: 89-101.
8. Blaha K., Borsky J., Kasparova M., Steklacova A., Zajickova V., Pechova M., Matejova R., Kotaska K., Dostalova T. Concentrations of MMP-9 and TIMP-1 in lip tissue and their impact on cleft lip surgery healing // Biomed

- Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub. 2013. T. 157. № 4. — C. 363-6.
9. Buommino E., De Filippis A., Gaudiello F., Balato A., Balato N., Tufano M.A., Ayala F. Modification of osteopontin and MMP-9 levels in patients with psoriasis on anti-TNF-alpha therapy // Arch Dermatol Res. 2012. T. 304. № 6. — C. 481-5.
  10. Carmeliet P., Moons L., Lijnen R., Baes M., Lemaitre V., Tipping P., Drew A., Eeckhout Y., Shapiro S., Lupu F., Collen D. Urokinase-generated plasmin activates matrix metalloproteinases during aneurysm formation // Nat Genet. 1997. T. 17. № 4. - C. 439-44.
  11. Chakraborti S., Mandal M., Das S. et al. Regulation of matrix metalloproteinases: an overview // Mol. Cell Biochem. 2003. V. 253. P. 269—285.
  12. Chambers M., Kirkpatrick G., Evans M., Gorski G., Foster S., Borghaei R.C. IL-4 inhibition of IL-1 induced Matrix metalloproteinase-3 (MMP-3) expression in human fibroblasts involves decreased AP-1 activation via negative crosstalk involving of Jun N-terminal kinase (JNK) // Exp Cell Res. 2013. T. 319. № 10. — C. 1398-408.
  13. Chandler S., Cossins J., Lury J., Wells G. Macrophage metalloelastase degrades matrix and myelin proteins and processes a tumour necrosis factor-alpha fusion protein // Biochem Biophys Res Commun. 1996. T. 228. № 2. - C. 421-9.
  14. Chen C.L., Liou S.F., Chen S.J., Shih M.F. Protective effects of Chlorella-derived peptide on UVB-induced production of MMP-1 and degradation of procollagen genes in human skin fibroblasts // Regul Toxicol Pharmacol. 2011. T. 60. № 1. -C. 112-9.
  15. Cherng J.Y., Chen L.Y., Shih M.F. Preventive effects of beta-thujaplicin against UVB-induced MMP-1 and MMP-3 mRNA expressions in skin fibroblasts // Am J Chin Med. 2012. T. 40. № 2. — C. 387-98.
  16. Cornelius L.A., Nehring L.C., Harding E., Bolanowski M., Welgus H.G., Kobayashi D.K., Pierce R.A., Shapiro S.D. Matrix metalloproteinases

- generate angiostatin: effects on neovascularization // *J Immunol.* 1998. T. 161. № 12.-C. 6845-52.
17. Cunningham L.A., Wetzel M., Rosenberg G.A. Multiple roles for MMPs and TIMPs in cerebral ischemia // *Glia.* 2005. V.50. P. 329—339.
18. Cury J. D. Selective Up-Regulation of Human Alveolar Macrophage Collagenase Production by Lipopolysaccharide and Comparison to Collagenase Production by Fibroblasts / J. D. Cury [et al.] // *Immunol.* – 1988. – Vol. 141. – P. 4306–4312.
19. Davis M.E., Gumucio J.P., Sugg K.B., Bedi A., Mendias C.L. MMP inhibition as a potential method to augment the healing of skeletal muscle and tendon extracellular matrix // *J Appl Physiol (1985).* 2013. T. 115. № 6. — C. 884-91.
20. Dennery P.A. Role of redox in fetal development and neonatal diseases // *Antioxid. Redox Signal.* 2004. V. 6. P. 147—153.
21. Dröge W. Free radicals in the physiological control of cell function // *Physiol. Rev.* 2002. V. 82. P. 47—95.
22. Ferriero D.M. Neonatal brain injury // *N. Engl. J. Med.* 2004. V. 351. P. 1985—1995.
23. Frankova J., Diamantova D., Vrbkova J., Ulrichova J. Influence of hydrogencalcium salts of oxidized cellulose on MMP-2, MMP-9 and TNF-alpha production and wound healing in non-healing wounds // *Acta Dermatovenerol Croat.* 2013. T. 21. № 4. — C. 219-23.
24. Fridovich I. Superoxide anion radical ( $O_2^{\cdot-}$ ), superoxide dismutases, and related matters // *J. Biol. Chem.* 1997. V. 272, № 30. P. 18515—18517.
25. Frisch S. M. Transcription of the Stromelysin Promoter Is Induced by Interleukin-1 and Repressed by Dexamethasone / S. Frisch, H. Ruley // *J. Biol. Chem.* – 1987. – Vol. 262. – P.16300–304.
26. Frost J., Ramsay M., Mia R., Moosa L., Musenge E., Tikly M. Differential gene expression of MMP-1, TIMP-1 and HGF in clinically involved and uninvolved skin in South Africans with SSc // *Rheumatology (Oxford).* 2012. T. 51. № 6. -C. 1049-52.
27. Galis Z.S., Khatri J.J. Matrix metalloproteinases in vascular remodeling and atherogenesis: the good, the bad, and the ugly // *Circ. Res.* 2002. V. 90. P. 251—262. Galis Z.S., Khatri J.J. Matrix metalloproteinases in vascular

- remodeling and atherogenesis: the good, the bad, and the ugly // *Circ. Res.* 2002. V. 90. P. 251—262.
28. Gasche Y., Fujimura M., Morita-Fujimura Y. et al. Early appearance of activated matrix metalloproteinase-9 after focal cerebral ischemia in mice: a possible role in blood—brain barrier dysfunction // *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 1999. V.19. P. 1020—1028.
29. Greenlee K.J., Werb Z., Kheradmand F. Matrix metalloproteinases in lung: multiple, multifarious, and multifaceted // *Physiol. Rev.* 2007. V. 87. P. 69—98.
30. Gronski T.J., Jr., Martin R.L., Kobayashi D.K., Walsh B.C., Holman M.C., Huber M., Van Wart H.E., Shapiro S.D. Hydrolysis of a broad spectrum of extracellular matrix proteins by human macrophage elastase // *J Biol Chem.* 1997. T. 272. №18. — C. 12189-94.
31. Higashikata T., Yamagishi M., Higashi T., Nagata I., Iihara K., Miyamoto S., Ishibashi-Ueda H., Nagaya N., Iwase T., Tomoike H., Sakamoto A. Altered expression balance of matrix metalloproteinases and their inhibitors in human carotid plaque disruption: results of quantitative tissue analysis using real-time RT-PCR method // *Atherosclerosis.* 2006. T. 185. № 1. — C. 165-72.
32. 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.
33. Hirsch B. Stimulation of matrix-metalloproteinase-1 and tissue inhibitor of metalloproteinase-1 gene expression in rats by the preovulatory prolactin peak / B. Hirsch [et al.] // *European Journal of Endocrinology.* – 1999. – Vol. 140. – P. 583–589.
34. Huang J., Luo X., Lu J., Chen J., Zuo C., Xiang Y., Yang S., Tan L., Kang J., Bi Z. IPL irradiation rejuvenates skin collagen via the bidirectional regulation of MMP-1 and TGF-beta1 mediated by MAPKs in fibroblasts // *Lasers Med Sci.* 2011. T. 26. № 3. - C. 381-7.

35. Inagaki N. Analysis of intra-uterine cytokine concentration and matrix-metalloproteinase activity in women with recurrent failed embryo transfer / N. Inagaki et al. // *Human Reproduction*. – 2003. – Vol. 18, N 3. – P. 608–615.
36. Irwin J. C. Human endometrial matrix metalloproteinase-2, a putative menstrual proteinase. Hormonal regulation in cultured stromal cells and messenger RNA expression during the menstrual cycle / J. C. Irwin [et al.] // *J. Clin. Invest.* – 1996. – Vol. 97, N 2. – P. 438–447.
37. Jokimaa V. Altered expression of genes involved in the production and degradation of endometrial extracellular matrix in patients with unexplained infertility and recurrent miscarriages / V. Jokimaa [et al.] // *Molec. Human Reproduction*. – 2002. – Vol. 8, N 12. – P. 1111–16.
38. Kerkela E., Saarialho-Kere U. Matrix metalloproteinases in tumor progression: focus on basal and squamous cell skin cancer // *Exp Dermatol*. 2003. T. 12. № 2. — C. 109-25.
39. Kunz J. Matrix metalloproteinases and atherogenesis in dependence of age // *Gerontology*. 2007. T. 53. № 2. — C. 63-73.
40. Lemaitre V., D'Armiento J. Matrix metalloproteinases in development and disease // *Birth Defects Res C Embryo Today*. 2006. T. 78. № 1. — C. 1-10.
41. Liang J., Liu E., Yu Y., Kitajima S., Koike T., Jin Y., Morimoto M., Hatakeyama K., Asada Y., Watanabe T., Sasaguri Y., Watanabe S., Fan J. Macrophage metalloelastase accelerates the progression of atherosclerosis in transgenic rabbits // *Circulation*. 2006. T. 113. № 16. — C. 1993-2001.
42. Lukes A., Mun-Bryce S., Lukes M. et al. Extracellular matrix degradation by metalloproteinases and central nervous system diseases // *Mol. Neurobiol*. 1999. V. 19. P. 267—284.
43. MacNaul K. L. Discoordinate Expression of Stromelysin, Collagenase and Tissue Inhibitor of Metalloproteinases-1 in Rheumatoid Human Synovial Fibroblasts. Synergistic Effects of Interleukin-1 and Tumor Necrosis Factor- $\alpha$  on Stromelysin Expression / K. MacNaul [et al.] // *Biol. Chem.* – 1990. – Vol. 265. – P. 17238–45.
44. Manicone A.M., McGuire J.K. Matrix metalloproteinases as modulators of inflammation // *Semin Cell Dev Biol*. 2008. T. 19. № 1. - C. 34-41.

45. Mannello F., Medda V., Ligi D., Raffetto J.D. Glycosaminoglycan sulodexide inhibition of MMP-9 gelatinase secretion and activity: possible pharmacological role against collagen degradation in vascular chronic diseases // *Curr Vasc Pharmacol*. 2013. T. 11. № 3. — C. 354-65.
46. Marbaix E. The expression of interstitial collagenase in human endometrium is controlled by progesterone and by oestradiol and is related to menstruation / E. Marbaix [et al.] // *Biochem. J.* – 1995. – Vol. 305. – P. 1027–30.
47. Morimoto Y., Oyabu T., Ogami A., Myojo T., Kuroda E., Hirohashi M., Shimada M., Lenggoro W., Okuyama K., Tanaka I. Investigation of gene expression of MMP-2 and TIMP-2 mRNA in rat lung in inhaled nickel oxide and titanium dioxide nanoparticles // *Ind Health*. 2011. T. 49. № 3. — C. 344-52.
48. Motterle A., Xiao Q., Kiechl S., Pender S.L., Morris G.E., Willeit J., Caulfield M.J., Ye S. Influence of matrix metalloproteinase-12 on fibrinogen level // *Atherosclerosis*. 2012. T. 220. № 2. — C. 351-4.
49. Nagase H., Woessner J.F., Jr. Matrix metalloproteinases // *J Biol Chem*. 1999. T. 274. № 31. — C. 21491-4.
50. Natoli A. K. Sex steroids modulate human aortic smooth muscle cell matrix protein deposition and matrix metalloproteinase expression / A. Natoli [et al.] // *Hypertension*. -2005. – N 46. – P. 1129–34.
51. Nelson K.K., Melendez J.A. Mitochondrial redox control of matrix metalloproteinases // *Free Radic. Biol. Med*. 2004. V.37. № 6. P. 768—784.
52. Noel A., Jost M., Maquoi E. Matrix metalloproteinases at cancer tumor-host interface // *Semin Cell Dev Biol*. 2008. T. 19. № 1. — C. 52-60.
53. Ohtomo S., Nangaku M., Izuhara Y. et al. The role of megsin, a serine protease inhibitor, in diabetic mesangial matrix accumulation. *Kidney Int* 2008; 74: 6: 768—774.
54. Oriana S., Guendalina L., Oscar C., Antonio Z., Fiorenza O., Mauro P., Roberto D.P., Andrea G., Annamaria O. Delayed wound healing in aged

- skin rat models after thermal injury is associated with an increased MMP-9, K6 and CD44 expression // *Burns*. 2013. T. 39. № 4. - C. 776-87.
55. Parks W.C., Wilson C.L., Lopez-Boado Y.S. Matrix metalloproteinases as modulators of inflammation and innate immunity // *Nat Rev Immunol*. 2004. T. 4. № 8. — C. 617-29.
56. Raffetto J.D., Khalil R.A. Matrix metalloproteinases and their inhibitors in vascular remodeling and vascular disease // *Biochem Pharmacol*. 2008. T. 75. №2. — C. 346-59.
57. Rajagopalan S., Meng X.P., Ramasamy S. et al. Reactive oxygen species produced by macrophage-derived foam cells regulate the activity of vascular matrix metalloproteinases in vitro: implications for atherosclerotic plaque stability // *J. Clin. Invest*. 1996. V. 98. P. 2572—2579.
58. Romanic A.M., White R.F., Arleth A.J. et al. Matrix metalloproteinase expression increases after cerebral focal ischemia in rats: inhibition of matrix metalloproteinase-9 reduces infarct size // *Stroke*. 1998. V. 29. P. 1020—1030.
59. Samir Kumar Saha. Differential Expression of Procollagen Lysine 2-Oxoglutarate 5-Deoxygenase and Matrix Metalloproteinase Isoforms in Hypothyroid Rat Ovary and Disintegration of Extracellular Matrix / Samir Kumar Saha [et al.] // *Endocrinology*. – 2005.– Vol. 146, N 7. – P. 2963–75.
60. Schneikert J. Androgen Receptor-Ets Protein Interaction Is a Novel Mechanism for Steroid Hormone-mediated Down-modulation of Matrix Metalloproteinase Expression / J.Schneikert [et al.] // *J. Biolog. Chemistry*. – 1996. – Vol. 271, N 39. – P. 1203–9.
61. Shapiro S.D. Matrix metalloproteinase degradation of extracellular matrix: biological consequences // *Curr Opin Cell Biol*. 1998. T. 10. № 5. — C. 602-8.
62. Stewart J.A., Jr., Wei C.C., Brower G.L., Rynders P.E., Hanks G.H., Dillon A.R., Lucchesi P.A., Janicki J.S., Dell'Italia L.J. Cardiac mast cell- and chymase-mediated matrix metalloproteinase activity and left ventricular remodeling in mitral regurgitation in the dog // *J Mol Cell Cardiol*. 2003. T. 35. № 3. — C. 311-9.

63. Sunagawa S., Ichiyama T., Honda R. et al. Matrix metalloproteinase-9 and tissue inhibitor of metalloproteinase-1 in perinatal asphyxia // *Brain & Development*. 2009. V. 31. P. 588—593.
64. Suomela S., Kariniemi A.L., Snellman E., Saarialho-Kere U. Metalloelastase (MMP-12) and 92-kDa gelatinase (MMP-9) as well as their inhibitors, TIMP-1 and -3, are expressed in psoriatic lesions // *Exp Dermatol*. 2001. T. 10. № 3. -C. 175-83.
65. Svedin P., Hagberg H., Savman K. et al. Matrix metalloproteinase-9 gene knock-out protects the immature brain after cerebral hypoxia—ischemia // *J. Neurosci*. 2007. V. 27. P. 1511—1518.
66. Takahashi H., Tsuji H., Hashimoto Y., Ishida-Yamamoto A., Iizuka H. Serum cytokines and growth factor levels in Japanese patients with psoriasis // *Clin Exp Dermatol*. 2010. T. 35. № 6. — C. 645-9.
67. Takashi Sato. Modulation of synthesis of procollagenase, prostromelysin and tissue inhibitor of metalloproteinases (TIMP) by progesterone and oestradiol-17 / Takashi Sato [et al.] // *Biochem. J.* – 1991. – Vol. 275. – P. 645–650.
68. Taniguchi S., Ryu J., Seki M., Sumino T., Tokuhashi Y., Esumi M. Long-term oral administration of glucosamine or chondroitin sulfate reduces destruction of cartilage and up-regulation of MMP-3 mRNA in a model of spontaneous osteoarthritis in Hartley guinea pigs // *J Orthop Res*. 2012. T. 30. № 5. — C. 673-8.
69. Terui T., Ozawa M., Tagami H. Role of neutrophils in induction of acute inflammation in T-cell-mediated immune dermatosis, psoriasis: a neutrophil-associated inflammation-boosting loop // *Exp Dermatol*. 2000. T. 9. № 1. — C. 1-10.
70. Toth P.P. Subclinical atherosclerosis: what it is, what it means and what we can do about it // *Int J Clin Pract*. 2008. T. 62. № 8. — C. 1246-54.
71. Tseng H.C., Lee I.T., Lin C.C., Chi P.L., Cheng S.E., Shih R.H., Hsiao L.D., Yang C.M. IL-1beta promotes corneal epithelial cell migration by increasing

- MMP-9 expression through NF-kappaB- and AP-1-dependent pathways // PLoS One. 2013. T. 8. № 3. — C. e57955.
72. 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, N 6. – P. 375–536.
73. Visse R. Matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases : structure, function, and biochemistry / R. Visse, H. Nagase // Circulation Res. – 2003. – N 2. – P.827–839.
74. Wahl L. Inhibition of phospholipase activity in human monocytes by IFN- $\gamma$  blocks endogenous prostaglandin E2-dependent collagenase production / L. Wahl [et al.] // Immunol. – 1990. – N 144. – P. 3518–22.
75. Woessner J.F., Jr. Matrix metalloproteinases and their inhibitors in connective tissue remodeling // FASEB J. 1991. T. 5. № 8. — C. 2145-54.
76. Yang M., Du G.P., Wang L.Q., Wang X.P., Cui F.Z., Lu Y.J., Huang Y.F. [The expression level of MMP-2 and collagen of hydroxyapatite modified titanium for keratoprosthesis in the corneal stroma of rabbits] // Zhonghua Yan Ke Za Zhi. 2013. T. 49. № 10. — C. 914-20.