

Ю.В. Кореновский ¹, Л.М. Синельникова ¹, О.Н. Фильчакова ¹, Ю.В. Шабалина ¹,
Е.Г. Ершова ², Н.И. Фадеева ¹, С.А. Ельчанинова ¹

МАТРИКСНЫЕ МЕТАЛЛОПРОТЕИНАЗЫ И ТКАНЕВЫЕ ИНГИБИТОРЫ МАТРИКСНЫХ МЕТАЛЛОПРОТЕИНАЗ ПРИ БЕРЕМЕННОСТИ И РОДАХ

¹ ГБОУ ВПО «Алтайский государственный медицинский университет» Минздравсоцразвития РФ
(Барнаул)

² КГБУЗ «Перинатальный центр (клинический) Алтайского края» (Барнаул)

Матриксные металлопротеиназы — главные протеолитические ферменты, разрушающие компоненты внеклеточного матрикса различных тканей. В обзоре рассмотрена роль матриксных металлопротеиназ и тканевых ингибиторов матриксных металлопротеиназ при имплантации, морфогенезе и родах.

Ключевые слова: матриксные металлопротеиназы, морфогенез, беременность, роды

MATRIX METALLOPROTEINASES AND TISSUE INHIBITORS OF MATRIX METALLOPROTEINASES DURING PREGNANCY AND DELIVERY

Yu.V. Korenovsky ¹, L.M. Sinelnikova ¹, O.N. Filchakova ¹, Yu.V. Shabalina ¹,
Ye.G. Yerzhova ², N.I. Fadeyeva ¹, S.A. Yelchaninova ¹

¹ Altay State Medical University, Barnaul

² Perinatal Center (Clinical) of Altay Region, Barnaul

Matrix metalloproteinases are main proteolytic enzymes breaking down most components of extracellular matrix of various tissues. In the review shows role of matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of matrix metalloproteinases during implantation, morphogenesis, and delivery.

Key words: matrix metalloproteinases, morphogenesis, pregnancy, delivery

ВВЕДЕНИЕ

Репродуктивные органы подвергаются значительным структурным и функциональным изменениям в течение жизни [9]. Эти изменения управляются гормонами, факторами роста и цитокинами и включают ремоделирование соединительных тканей. Соединительная ткань составляет большую часть массы тела, придает форму и объем органам. Она отделена от эпителия базальной мембраной (БМ) и содержит внеклеточный матрикс (ВКМ), кровеносные и лимфатические сосуды, фибробласты и макрофаги. Структурные протеины ВКМ и БМ включают фибриллярные белки (коллаген, эластин), протеогликаны и многодоменные гликопротеины (фибронектин и ламинин). ВКМ регулирует пролиферацию, дифференцировку и апоптоз клеток и является репозиторием для факторов роста. Белки ВКМ разрушаются различными ферментами, но матриксные металлопротеиназы (ММП) являются главными, поскольку секретируются во внеклеточное пространство, функционируют в физиологических условиях, тонко регулируются и индуцируются в областях ремоделирования тканей, способны расщеплять фибриллярные белки. В обзоре рассмотрена физиологическое значение ММП, характер их экспрессии в репродуктивных тканях в течение беременности и родов.

МАТРИКСНЫЕ МЕТАЛЛОПРОТЕИНАЗЫ

ММП — семейство энзимов, расщепляющие компоненты ВКМ, фиксированные во внеклеточном матриксе сигнальные молекулы и мембранные

рецепторы [25]. Эти Ca^{2+} - и Zn^{2+} -зависимые эндопептидазы активны при нейтральных значениях pH. В то время как одни ММП секретируются во внеклеточное пространство, ММП мембранного типа (МТ-ММП) являются трансмембранными проэнзимами, которые активируются при отщеплении аминотерминального пептида. Ингибиторный пептид посредством остатка цистеина взаимодействует с атомом цинка в активном сайте энзима. Разрушение этой связи активирует энзим. ММП ингибируются тканевыми ингибиторами матриксных металлопротеиназ (ТИМП).

В настоящее время известно более 20 ММП, которые группируют согласно чувствительности к субстратам или структурным особенностям доменов: коллагеназы расщепляют фибриллярный коллаген, желатиназы — денатурированные коллагены, стромелизины — неколлагиновые компоненты ВКМ, ММП мембранного типа (МТ-ММП) являются трансмембранными энзимами.

ИМПЛАНТАЦИЯ

Формирование плаценты начинается с инвазии и миграции клеток трофобласта в материнские ткани с формированием контакта с сосудами [21]. Трофобласт экспрессирует высокие уровни ММП-9 [1], а ингибирование ММП *in vitro* или делеция гена ММП-9 у мышей угнетает миграцию и разрушение ВКМ клетками трофобласта [27].

ММП-2 локализуется в строме клеток ворсин трофобласта в местах с контактом с БМ. Обнаружена экспрессия ММП-9 в инвазирующем трофобласте

мышей [4]. мРНК ММП-11 локализуется в клетках трофобласта в местах соединения эмбриональной и материнской тканей [12]. ММП-1 и ММП-3 обнаружены в бластоцисте мышей.

мРНК и протеины ТИМП-1 и ТИМП-2 экспрессируются децидуальными клетками в течение первого и третьего триместров беременности у человека. ТИМП-1 локализуется в строме децидуальной оболочки, а ТИМП-2 в ворсинах [19]. У мышей, ТИМПs обнаружены децидуальных оболочках. ТИМП-3 экспрессируется во вневорсинчатом трофобласте плода, а также децидуальных клетках матери. Экспрессия ТИМП-3 индуцируется прогестероном [8], что ограничивает деградацию ВКМ. ТИМП могут полностью ингибировать инвазию трофобласта *in vitro*. Таким образом, баланс между экспрессией ТИМП и ММП влияет на процесс инвазии.

Эмбрионы человека в культуре секретируют ММП-2, причем секреция возрастает при добавлении фибронектина [23]. Максимальная концентрация ММП-2 наблюдается на 4–5-й день, что соответствует времени имплантации *in vivo* [23]. Клетки трофобласта *in vitro* также секретируют ММП-2 и ММП-9 [23]. Продукция ММП-9 синцитиотрофобластом человека и бластоцистами мыши определяет скорость инвазии. Интерлейкин (IL)-1 стимулирует, а глюкокортикоиды снижают продукцию ММП-9 [15]. Таким образом, нормальная инвазия трофобласта регулируется противоположными действиями IL-1 β и глюкокортикоидов.

МОРФОГЕНЕЗ

ММП регулируют организацию клеток. В культуре на базальной мембране адипоциты организуются в большие мультиклеточные кластеры. Эти клетки секретируют ММП-2. Ингибирование ММП тормозит миграцию клеток и организацию в трехмерные структуры [2]. В модели развития панкреатических островков эпителиоциты эмбриональной поджелудочной железы в культуре на коллагеновом геле дифференцируются и организуются в кластеры подобные островкам Лангерганса. β -Клетки локализуются в центре, а другие типы клеток на периферии. В это время повышается активность ММП-2. Ингибирование ММП нарушает морфогенез островков, не влияя на их эндокринную дифференцировку [17].

Другой зависящий от ВКМ процесс организации клеток наблюдается при ветвлении сосудов в течение ангиогенеза и формировании многих эпителиальных структур. Регулируемое и локализованное ремоделирование ВКМ в этих процессах необходимо для изменения скорости пролиферации клеток, подвижности, их формы и образования контактами между клетками и ВКМ. Формирование трубок из эндотелиоцитов пуповинной вены человека (HUVES) на коллагеновом геле тормозится при ингибировании ММП [6]. Эндотелиоциты аорты быка в коллагеновом геле подвергаются апоптозу даже в присутствии ангиогенных факторов. В этой системе, ингибитор

ММП предотвращает апоптоз в отсутствии ангиогенного фактора и усиливает ответ на ангиогенный фактор [11]. Эпителиоциты молочной железы в трехмерной культуре организуются в протоковые структуры при взаимодействии с фрагментом фибронектина. Этот процесс зависит от активности ММП [22]. Гиперэкспрессия ММП-3 в эпителиоцитах молочной железы индуцирует формирование эпителиально-мезенхимального перехода [16].

В культурах органов показана роль ММП в процессе ветвления эпителиальных структур. Когда 10-дневные экспланты эмбриональной почки помещали в культуру, формировался зачаток мочеточника. Этот процесс ингибировался антителами к ММП-9 [14]. МТ1-ММП также участвует в этом процессе, поскольку обработка культуры почек эмбриона антисенс-олигонуклеотидами к МТ1-ММП тормозит ветвление зачатка мочеточника [10]. Антисенс-олигонуклеотиды к ТИМП-2 усиливают ветвление и предотвращают эффект антисенс-нуклеотидов к МТ1-ММП. Напротив, ингибирование ММП в культуре слюнных желез повышает ветвление протоков.

Различие эффектов ММП может быть вторичным к механизму ветвления в двух видах эпителия. Эпителий почек ветвится при формировании зачатка и роста в мезенхиму, нуждается в деградации окружающего ВКМ. Эпителий слюнных желез ветвится формированием и стабилизацией щелей пучками коллагена в эпителии одновременно с ростом в окружающую мезенхиму. Таким образом, в почках деградация ВКМ усиливает ветвление, а в слюнных железах усиление деградации ВКМ тормозит процесс ветвления.

Таким образом, ММП выполняют несколько различных функций: разрушают ВКМ, обеспечивая инвазию, выбирают точки ветвления, регулируют трехмерную организацию, регулируя эпителиально-мезенхимальный переход.

БЕРЕМЕННОСТЬ И РОДЫ

Плод человека окружен амниохорионом, изолирующим его от окружающей среды. Амниохорион спонтанно разрушается в течение нормальных родов, но многие патологии связаны с преждевременным его разрывом. Своевременный разрыв плодных мембран обусловлен механическими силами сокращения миометрия на фоне расширения шейки матки. Однако ферментативное разрушение коллагена ВКМ плодных мембран усиливает этот процесс. В оболочках плода в культуре полученных при кесаревом сечении после обработки релаксином содержат повышенные количества проММП-1, проММП-3 и проММП-9, но не проММП-2. Эпителий амниона секретирует ММП-2 *in vitro* и, по-видимому, отвечают за секрецию ММП-2 в амниотическую жидкость во втором триместре беременности [13]. ММП-1 и ММП-2 также присутствуют в оболочках плода в неизменных количествах перед, во время и после родов [3]. ММП-1 локализуется в амниотическом эпителии и ВКМ амниона и хориона. Экспрессия ММП-3 и ММП-9 в амнионе

человека повышается в начале и снижается после родов [3]. мРНК и протеин ММП-9 обнаружена в макрофагах эпителия амниона человека и гладком хорионе и децидуальных клетках после родов [24]. Эта временная экспрессия ММП-3 и ММП-9, ассоциирована с подготовкой к родам.

мРНК ММП-2 в материнской части децидуальной оболочки повышается на протяжении беременности, хотя мРНК ММП-10 появляется только к родам [26]. На ранних сроках беременности, уровни ТИМП высоки, с максимумом мРНК ТИМП-1 в середине беременности в матке, децидуальной оболочке и плаценте мыши. В плаценте экспрессия ТИМП-2 повышается в 7 раз после 14-го дня беременности у мышей. Напротив, экспрессия ТИМП-2 в матке, децидуальной оболочке и амнионе постоянно повышается на протяжении беременности [7]. Хотя пик экспрессии ТИМП-1 коррелируется с наиболее инвазивным периодом развития эмбриона, мыши с нулевой мутацией гена ТИМП-1 фертильны [5]. Таким образом, ТИМП-1 не является критическим ингибитором ММП в течение беременности.

К родам созревающая шейка ремоделируется. Шейка матки содержит фибриллярный коллаген и протеогликаны. Коллагеназы вовлечены в процесс созревания шейки [18]. Концентрации коллагеназ в 6–23 раза выше в шейке матки человека в течение родов, чем перед родами, и ассоциированы с деградацией коллагена I типа цервикального ВКМ. Концентрации коллагеназ повышаются в течение родов в периферической крови матери. Продукция коллагеназ в первичном монослое цервикальных клеток беременных морских свинок регулировалась прогестероном, эстрогенами и простагландинами. Источником коллагеназ выступали клетки стромы. Примечательно, что цервикальные эпителиоциты шейки секретируют факторы, стимулирующие продукцию коллагеназ клетками стромы [20]. Однако *in vivo*, повышение коллагеназной активности связывали с инвазирующими лейкоцитами, но не с цервикальными фибробластами.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Репродуктивные органы отвечают на множество гормональных сигналов у взрослых организмов, изменяя их форму, размер и функции. В обзоре рассмотрены ММП как потенциальные медиаторы этих физиологических изменений. ММП высоко экспрессируются в репродуктивных органах, а характер их экспрессии соответствует функциональному и гормональному статусу. Эффекты гормонов на экспрессию ММП обусловлены модуляцией локальных концентраций факторов роста или цитокинов. ММП могут изменять структуру и функцию репродуктивных органов. Продукция ММПs ассоциирована с морфогенезом (ангиогенез, формирование слюнных желез и альвеол легких). Различные эффекты ММП на рост клеток, апоптоз и дифференцировку отражают сложность информации заключенной в БМ и

ВКМ и тем, как эта информация воспринимается и обрабатывается клеткой. Разрушение матрикса посредством ММП может удалять специфические сигналы, выявлять скрытые или высвобождать или активировать факторы, фиксированные в матриксе.

ЛИТЕРАТУРА

1. Alexander C.M., Hansell E.J., Behrendtsen O. et al. Expression and function of matrix metalloproteinases and their inhibitors at the maternal-embryonic boundary during mouse embryo implantation // *Development*. — 1996. — Vol. 122. — P. 1723–1736.
2. Brown L.M., Adler R., Rappolee D. et al. Role of the matrixin MMP-2 in multicellular organization of adipocytes cultured in basement membrane components // *Am. J. Physiol.* — 1997. — Vol. 272. — P. 937–949.
3. Bryant-Greenwood G.D., Yamamoto S.Y. Control of peripartal collagenolysis in the human chorion-decidua // *Am. J. Obst. Gyn.* — 1995. — Vol. 172. — P. 63–70.
4. Canete-Soler R., Gui Y.H., Linask K.K., Muschel R.J. Developmental expression of MMP-9 (gelatinase B) mRNA in mouse embryos // *Dev. Dynamics*. — 1995. — Vol. 204. — P. 30–40.
5. Cross J.C., Werb Z., Fisher S.J. Implantation and the Placenta: Key Pieces of the Development Puzzle // *Science*. — 1994. — Vol. 266. — P. 1508–1518.
6. Fisher C., Gilbertson-Beadling S., Powers E.A. et al. Interstitial collagenase is required for angiogenesis in vitro. *Develop* // *Biol.* — 1994. — Vol. 162. — P. 499–510.
7. Hampton A.L., Butt A.R., Riley S.C., Salamonson L.A. Tissue inhibitors of metalloproteinases in endometrium of ovariectomized steroid-treated ewes and during the estrous cycle and early pregnancy // *Biol. Reprod.* — 1995. — Vol. 53. — P. 302–311.
8. Higuchi T., Kanzaki H., Nakayama H. et al. Induction of tissue inhibitor of metalloproteinase-3 gene expression during in vitro decidualization of human endometrial stromal cells // *Endocrinology*. — 1995. — Vol. 136. — P. 4973–4981.
9. Hulboy D.L., Rudolph L.A., Matrisian L.M. Matrix metalloproteinases as mediators of reproductive function. *Mol* // *Human Reprod.* — 1997. — Vol. 3, N 1. — P. 27–45.
10. Kanwar Y.S., Ota K., Yang Q. et al. Role of membrane-type matrix metalloproteinase 1 (MT-1 – MMP), MMP-2, and its inhibitor in nephrogenesis // *Am. J. Physiol.* — 1999. — Vol. 277. — P. 934–947.
11. Kuzuya M., Satake S., Ramos M.A. et al. Induction of apoptotic cell death in vascular endothelial cells cultured in three-dimensional collagen lattice // *Exp. Cell Res.* — 1999. — Vol. 248. — P. 498–508.
12. Lefebvre O., Regnier C., Chenard M. et al. Developmental expression of mouse stromelysin-3 mRNA // *Development*. — 1995. — Vol. 12. — P. 947–955.
13. Lehtovirta J., Vartio T. Type IV collagenases in human amniotic fluids and amnion epithelial cells // *Biochim. Biophys. Acta (Protein Struct. Mol. Enzymol.)*. — 1994. — Vol. 1206. — P. 83–89.

14. Lelongt B., Trugnan G., Murphy G., Ronco P.M. Matrix metalloproteinases MMP2 and MMP9 are produced in early stages of kidney morphogenesis but only MMP9 is required for renal organogenesis in vitro // J. Cell Biol. — 1997. — Vol. 136. — P. 1363–1373.
15. Librach C.L., Feigenbaum S.L., Bass K.E. et al. Interleukin-1 β regulates human cytotrophoblast metalloproteinase activity and invasion in vitro // J. Biol. Chem. — 1994. — Vol. 269. — P. 17125–17131.
16. Lochter A., Galosy S., Muschler J. et al. Matrix metalloproteinase stromelysin-1 triggers a cascade of molecular alterations that leads to stable epithelial-to-mesenchymal conversion and a premalignant phenotype in mammary epithelial cells // J. Cell Biol. — 1997. — Vol. 139. — P. 1861–1872.
17. Miralles F., Battelino T., Czernichow P., Scharfmann R. TGF- β plays a key role in morphogenesis of the pancreatic islets of Langerhans by controlling the activity of the matrix metalloproteinase MMP-2 // J. Cell Biol. — 1998. — Vol. 143. — P. 827–836.
18. Mushayandebvu T.I., Rajabi M.R. Relaxin stimulates interstitial collagenase activity in cultured uterine cervical cells from nonpregnant and pregnant but not immature guinea pigs; Estradiol-17 β restores relaxin's effect in immature cervical cell // Biol. Reprod. — 1995. — Vol. 53. — P. 1030–1037.
19. Polette M., Nawrocki B., Pintiaux A. et al. Expression of gelatinases A and B and their tissue inhibitors by cells of early and term human placenta and gestational endometrium // Lab. Invest. — 1994. — Vol. 71. — P. 838–846.
20. Rajabi M.R., Singh A. Cell origin and paracrine control of interstitial collagenase in the guinea pig uterine cervix. Evidence for a low molecular weight epithelial cell-derived collagenase stimulator // Biol. Reprod. — 1995. — Vol. 52. — P. 516–523.
21. Rinkenberger J.L., Cross J.C., Werb Z. Molecular genetics of implantation in the mouse // Develop. Genet. — 1997. — Vol. 21. — P. 6–20.
22. Schedin P., Strange R., Mitrenga T. et al. Fibronectin fragments induce MMP activity in mouse mammary epithelial cells: Evidence for a role in mammary tissue remodeling // J. Cell Sci. — 2000. — Vol. 113. — P. 795–806.
23. Turpeenniemi-Hujanen T., Feinberg R.F., Kauppi A., Puistola U. Extracellular matrix interactions in early human embryos: implications for normal implantation events // Fertil. Steril. — 1995. — Vol. 64. — P. 132–138.
24. Vadillo-Ortega F., Gonzalez-Avila G., Furth E.E. et al. 92-kD type IV collagenase (matrix metalloproteinase-9) activity in human amniochorion increases with labor // Am. J. Pathol. — 1995. — Vol. 146. — P. 148–156.
25. Vu T.H., Werb Z. Matrix metalloproteinases: effectors of development and normal physiology // Genes & Development. — 2000. — Vol. 14. — P. 2123–2133.
26. Waterhouse P., Denhardt D.T., Khokha R. Temporal expression of tissue inhibitors of metalloproteinases in mouse reproductive tissues during gestation // Mol. Reprod. Dev. — 1993. — Vol. 35. — P. 219–226.
27. Yamamoto H., Flannery M.L., Kupriyanov S. et al. Defective trophoblast function in mice with a targeted mutation of Ets2 // Genes & Dev. — 1998. — Vol. 12. — P. 1315–1326.

Сведения об авторах

Кореновский Юрий Владимирович – кандидат медицинских наук, ассистент кафедры биохимии и клинической лабораторной диагностики ГБОУ ВПО «Алтайский государственный медицинский университет» Минздравсоцразвития РФ (656038, г. Барнаул, пр. Ленина, д. 40; тел.: 8 (3852) 26-07-02; e-mail: timidin@gmail.com)

Синельникова Лидия Михайловна – заведующая учебной лабораторией кафедры биохимии и клинической лабораторной диагностики ГБОУ ВПО «Алтайский государственный медицинский университет» Минздравсоцразвития РФ

Фильчакова Оксана Николаевна – аспирант кафедры акушерства и гинекологии № 1 ГБОУ ВПО «Алтайский государственный медицинский университет» Минздравсоцразвития РФ

Шабалина Юлия Вадимовна – ассистент кафедры биохимии и клинической лабораторной диагностики ГБОУ ВПО «Алтайский государственный медицинский университет» Минздравсоцразвития РФ

Ершова Елена Германовна – главный врач КГУЗ «Перинатальный центр (клинический) Алтайского края»

Фадеева Наталья Ильинична – доктор медицинских наук, профессор, заведующая кафедрой акушерства и гинекологии № 1 ГБОУ ВПО «Алтайский государственный медицинский университет» Минздравсоцразвития РФ

Ельчанинова Светлана Александровна – доктор биологических наук, профессор, заведующая кафедрой биохимии и клинической лабораторной диагностики ГБОУ ВПО «Алтайский государственный медицинский университет» Минздравсоцразвития РФ