

**МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
КАФЕДРА ФАРМАКОТЕРАПІЇ**

ЛІКИ – ЛЮДИНІ

**Сучасні проблеми створення,
вивчення та апробації
лікарських засобів**

Матеріали XXVIII всеукраїнської
науково-практичної
конференції з міжнародною участю

**3 лютого 2011 року
м. Харків**

*Реєстраційне посвідчення УкрІНТЕІ
№ 1 від 10 січня 2011 року*

Харків
Видавництво НФаУ
2011

10. Tripathi K.D. Essentials of medical pharmacology.-5/e.: Jaypee Brothers Medical publishers (P) LTD, New Delhi.-2004.-875 p.

РОЛЬ МАТРИКСНЫХ МЕТАЛЛОПРОТЕИНАЗ КАК МАРКЕРОВ ПОВРЕЖДЕНИЯ ПРИ ИНФАРКТЕ МИОКАРДА

Самура Т.А., Березин А.Е.

Запорожский государственный медицинский университет

Инфаркт миокарда (ИМ) является одной из самых актуальных проблем современной медицины, так как занимает одно из первых мест по частоте заболеваемости и уровню смертности во всем мире. Он может встречаться во всех возрастных группах. Но наиболее часто у людей пожилого возраста [10].

Частота возникновения инфаркта миокарда увеличивается, что, вероятно, связано увеличением факторов риска кардиоваскулярных заболеваний (изменением образа жизни, питания и др.).

Инфаркт миокарда может сопровождаться сердечной недостаточностью и другими осложнениями, связанными с размерами зоны инфаркта [20]. Инфаркт с большой зоной повреждения индуцирует выраженное морфологические, гистологические и молекулярные изменения как в зоне инфаркта, так и за его пределами. Эти изменения определяют как процессы ремоделирования миокарда. Степень ремоделирования миокарда тесно связана со смертностью, с возникновением аритмий, сердечной недостаточности [33]. Ремоделирования миокарда включает изменения в кардиомиоците и экстрацеллюлярном матриксе. Экстрацеллюлярный матрикс включает большое количество структурных протеинов (коллаген, протеогликаны, глюкозаминогликаны), играющих роль резервуаров для биологически активных молекул. Так как миокардиальный коллаген поддерживает структурную целостность прилегающих кардиомиоцитов с возможностью их укорочения, изменения экстрацеллюлярного матрикса ведут к изменению нормальной структуры и функции миокарда.

Матриксные металлопротеиназы (ММП) являются протеолитическими ферментами, которые были идентифицированы в миокарде. Считают, что матриксные металлопротеиназы тесно связаны с изменениями экстрацеллюлярного матрикса и ремоделирования миокарда.

За последние десятилетия в экспериментальных и клинических исследованиях доказана важная роль металлопротеиназ в изменении размеров левого желудочка, ремоделировании миокарда и смертности у больных, перенесших инфаркт миокарда.

Матриксные металлопротеиназы являются семейством протеиназ, включающих более чем 25 ферментов. Установлено, что физиологическая роль ММП может зависеть не только от вида ткани, но и определяться уровнем локальной экспрессии конституциональной и индуцибельной форм этих энзимов. Филогенетически, активность конституциональных форм ММП наиболее высока в течение всего периода эмбриогенеза, а затем после рождения ребенка прогрессивно снижается и остается достаточно низкой на протяжении всей жизни. Экспрессия индуцибельных ММП ассоциируется чаще всего с опухолевым ростом, травмами, различными воспалительными процессами, требующими модификации внеклеточного матрикса, биологическая роль которого сводится к обеспечению локализации участка поражения [3]. ММП модулируют деградацию компонентов внеклеточного матрикса посредством связывания со специфическими рецепторами, экспрессия которых, в свою очередь, опосредуется уровнем ряда провоспалительных цитокинов, нейропептидов, интегринов, факторов роста и индукторов апоптоза [3, 27, 28, 32].

Все металлопротеиназы обладают следующими свойствами: разрушают компоненты экстрацеллюлярного матрикса; практически все из них секретируются в неактивной форме и нуждаются в активации их протеолитических свойств (за исключением ММП -11, которая высвобождается в экстрацеллюлярный матрикс в активной форме); содержат цинк на активном участке молекулы; нуждаются в кальции для стабилизации молекулы; функционируют при нейтральной pH; угнетаются специфическими тканевыми ингибиторами ММП [3]. Традиционно, в зависимости от особенностей структуры основного домена и превалирующего эффекта все ММП распределяются на четыре группы: коллагеназы, желатиназы, стромелизин и мембран-ассоциированные ММП.

Коллагеназы включают ММП-1 (интерстициальная коллагеназа), ММП -8 (нейтрофильная коллагеназа), ММП-13 (коллагеназа III). Все коллагеназы могут разрезать фибрилльные коллагены типа I, II, III.

Желатиназы включают ММП-2 ММП-9, которые обладают свойствами разрушать желатины, а также коллаген типа IV.

Стромелизины (ММП-3, ММП-10, ММП-11) активны в отношении широкого спектра экстрацеллюлярного матрикса: протеогликаны, ламинины, фибронектин, витронектин и некоторые типы коллагена.

Мембран-ассоциированные ММП разрушают некоторые компоненты экстрацеллюлярного матрикса и могут активировать другие ММП. Мембран-ассоциированные ММП связаны с клеточной мембраной посредством трансмембранного участка с коротким цитоплазматическим хвостом, также с помощью

гликозилфосфатидилинозитола. Мембран-ассоциированные ММП обладают различными протеолитическими свойствами и имеют несколько биологических функций: локальная деградация экстрацеллюлярного матрикса, активация других ММП, влияние на другие биологически активные сигнальные молекулы [24].

В последнее время появились данные о том, что специфичность субстрата металлопротеиназ не является абсолютной. Например, желатиназа, которая разрушает желатин (денатурирует коллаген), может участвовать в метаболизме фибриллярного коллагена. Эти данные показали, что желатиназа является важным ферментом при инфаркте миокарда, так как может инициировать и поддерживать деградацию фибриллярного коллагена. Все клетки миокарда как в состоянии покоя (кардиомиоциты, фибробласты, эндотелиальные клетки), так и в ответ на воспаление (макрофаги и нейтрофилы) могут выделять один или несколько типов металлопротеиназ [15].

Кроме действия на экстрацеллюлярный матрикс, ММП также обладают множеством эффектов в отношении кардиомиоцитов и эндотелиальных клеток. Было продемонстрировано, что ММП-2 способствует апоптозу при стимуляции β -адренорецепторов кардиомиоцитов желудочков взрослых крыс [18,19]. На модели хронической сердечной недостаточности [22] продемонстрирована роль ММП-9 в апоптозе эндотелиальных клеток и нарушении связи между кардиомиоцитами и эндотелиальными клетками.

Регулирование активности металлопротеиназ может происходить на трёх уровнях: транскрипция, активация проэнзимов и эндогенное ингибирование. Экспрессия металлопротеиназ варьирует в зависимости от физиологических и патологических состояний. Уровень экспрессии металлопротеиназ в основном является низким у большинства взрослых людей. Синтез матричных металлопротеиназ могут стимулировать провоспалительные цитокины, такие как интерлейкин (ИЛ) -1, ИЛ-6, трансформирующий фактор роста- β , фактор некроза опухолей- α , эпидермальный фактор роста, тромбоцитарный фактор роста [17].

Кроме того синтез металлопротеиназ может стимулироваться мембранным протеином, так называемым индуктором металлопротеиназ экстрацеллюлярного матрикса [25].

Сразу после инфаркта миокарда наблюдается изменения кардиомиоцитов и интерстициальной ткани, с помощью светового микроскопа было показано, что длительная ишемия может вызвать вакуолизацию миокардиоцитов (миоцитолиз) [14]. Показано что при инфаркте миокарда наблюдается дисбаланс между матриксными металлопротеиназами и тканевыми ингибиторами металлопротеиназ [16,21,35].

Активность металлопротеиназ и тканевых ингибиторов металлопротеиназ широко изучались в экспериментальных и клинических исследованиях Herzog E с савт. [11] впервые продемонстрировали увеличение ММП-1 и ММП-2 как в зоне инфаркта, так и за её пределами через час после наложения лигатуры на коронарные артерии, ММП-9 увеличивалась в зоне инфаркта через 2 часа после инфаркта миокарда. Cleutjens JP с савт. [6] продемонстрировали начало повышения содержания ММП-1 на второй день после инфаркта миокарда, индуцированного в сердце крысы, с пиком содержания ММП-1 на 7-й день. Также были выявлены повышение содержания ММП-2, ММП-9. Было продемонстрировано увеличение содержания матриксной РНК тканевого ингибитора металлопротеиназы в зоне инфаркта через 6 часов после начала инфаркта миокарда, достигавшего максимума на 2-й день, после чего медленно снижавшегося. Chen J с савт. [5] доложили об увеличении ММП-1, ММП-9 в зоне инфаркта у мышей через 2-4 дней после инфаркта миокарда. ММП-9 увеличивался на 4-й день после инфаркта миокарда в зонах отдалённых от инфаркта, причём в зоне инфаркта наблюдали более низкое содержание фермента. ММП-2 увеличивался на 1-й недели после инфаркта миокарда, достигал максимума на 2-3-й недели в зоне инфаркта, он также регистрировался в более низких концентрациях в прилегающих тканях [5]. В этом исследовании было показано, что ММП-9, содержание которого увеличивалось в миокарде, синтезировался лейкоцитами. Wilson E.M. с савт. [34] показали региональную и типовую специфичность изменений ММП после перенесенного инфаркта миокарда. Например, содержание ММП-1, ММП-9 в прилегающей зоне не изменялся, в то время как в переходной зоне наблюдали существенное снижение концентрации ферментов, а в зоне инфаркта, с помощью доступных методов выявить содержание ферментов не удалось.

В тоже время содержание ММП-13, ММП-8, ММП-14 существенно увеличилось в переходной зоне и зоне инфаркта по сравнению с прилегающими зонами. Содержание тканевого ингибитора матричной металлопротеиназы (ТИММП) существенно снижалось после инфаркта миокарда в переходной зоне, а в зоне инфаркта снижалось до уровня, определить который не представлялось возможным. Было продемонстрировано, что увеличение уровня ММП-14 и ТИММП-4 коррелирует с распространенностью ремоделирования левого желудочка [34]. В клинических исследованиях ИМ были существенные различия в характеристике пациентов, в виде вмешательства, во времени и методе определения ММП, что объясняет различия в полученных результатах. У пациентов с ИМ, используя

иммуноферментный метод, не позволяющий различить активное ММП-2 и неактивные проэнзимы, содержание ММП-2 в плазме крови было увеличено в 2 раза и сохранялось на том же уровне до 7-го дня.

По отношению к уровню ММП-9 пациенты разделились на две группы, у части пациентов с ИМ выявили существенное увеличение уровня ММП-9 (в 2 раза по сравнению с контрольной группой) в первый день, высокий уровень ферментов сохранялся в течении 3 дней после чего постепенно снижался. У другой части пациентов уровень ММП-9 в первый день ИМ существенно не отличался от контрольной группы, после чего постепенно увеличился с пиком на 3-й день с последующим постепенным снижением [13]. Не было выявлено различий в клинической характеристике пациентов обеих групп. В другом исследовании пациенты с ИМ с элевацией сегмента ST, большинство из которых получает тромболитическую терапию пик ММП-9 фиксировали на 1-й и 4-й день со снижением на 2-й день [26].

У пациентов с ИМ которые успешно прошли реперфузионную терапию с ангиопластикой, ММП-1 был ниже контрольного уровня в первые четыре дня, после чего увеличивался до пиковой концентрации на 14-й день, затем снижался до контрольных значений. Содержание ТИММП-1 в плазме крови было существенно ниже контрольного уровня при поступлении после чего постепенно увеличивался и достигал максимальных значений на 14-й день [12].

У пациентов с острым коронарным синдромом и прошедших коронароангиографию уровень ММП измерялся и сравнивался с подтверждённым и неподтверждённым ИМ. Уровень ММП-1 существенно увеличивался у больных с подтверждённым ИМ во время пребывания в стационаре [8]. Уровень ММП-2 у пациентов с ИМ был выше по сравнению с пациентами без ИМ. Уровень ММП-9 у пациентов с ИМ был ниже по сравнению с пациентами без ИМ. В последнее время используя зимографию для измерения активности ММП Wagner DR с савт. [31] продемонстрировали что, у пациентов с ИМ с элевацией сегмента ST содержание ММП-9 во время чрескожной коронароангиопластики был выше по сравнению с контрольной группой в то время как различий ММП-2 выявлено не было.

Уровень ММП может существенно увеличиться вследствие кардиального вмешательства, такого как имплантации стента или баллонной ангиопластики. Увеличение уровня ММП было больше после имплантации стента по сравнению с другими кардиальными вмешательствами. Было выявлено увеличение уровня ММП-2, ММП-9 после имплантации стента и баллонной ангиопластики [9]. У пациентов прошедших чрескожную реваскуляризацию уровень ММП-9 после реваскуляризации был выше по сравнению с пациентами после

ангиографии без ангиопластики [8]. Уровень ММП-1 увеличился через 24 часа после коронарной ангиопластики. После кардиальных вмешательств также наблюдались транзиторное увеличение ТИММП-1 и ТИММП-2, хотя различий между баллонной ангиопластики и имплантации стента выявлено было. С другой стороны, благоприятное влияние ингибиторов АПФ и статинов в отношении ограничения постинфарктного ремоделирования миокарда тесно ассоциируется с их способностью супрессировать активность ММП [23, 29].

Таким образом, система ММП привлекают большое внимание исследователей именно возможностью точной оценки локальной активности пролиферативных систем при помощи мониторинга плазменной концентрации различных изоформ ММП. Необходимо отметить, что среди достаточно большого объема факторов, опосредующих реализацию процессов кардиального ремоделирования у больных после перенесенного ИМ, наиболее реальным кандидатом для оценки индивидуального риска возникновения неблагоприятных морфо-функциональных изменений миокарда являются ММП.

Литература

1. Aimes RT, Quigley JP. 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;270:5872–6.
2. Baker AH, Edwards DR, Murphy G. Metalloproteinase inhibitors: Biological actions and therapeutic opportunities. *J Cell Sci.* 2002;115:3719–27.
3. Bornstein P., Sage E.H. Matricellular proteins: extracellular modulators of cell function. *Curr. Opin. Cell. Biol.*, 2002; 14: 608-616.
4. Cao J, Drews M, Lee HM, Conner C, Bahou WF, Zucker S. The propeptide domain of membrane type 1 matrix metalloproteinase is required for binding of tissue inhibitor of metalloproteinases and for activation of progelatinase A. *J Biol Chem.* 1998;273:34745–52.
5. Chen J, Tung CH, Allport JR, Chen S, Weissleder R, Huang PL. Near-infrared fluorescent imaging of matrix metalloproteinase activity after myocardial infarction. *Circulation.* 2005;111:1800–5.
6. Cleutjens JP, Kandala JC, Guarda E, Guntaka RV, Weber KT. Regulation of collagen degradation in the rat myocardium after infarction. *J Mol Cell Cardiol.* 1995;27:1281–92.
7. Creemers EE, Cleutjens JP, Smits JF, Daemen MJ. Matrix metalloproteinase inhibition after myocardial infarction: A new approach to prevent heart failure? *Circ Res.* 2001;89:201–10.
8. Eckart RE, Uyehara CF, Shry EA, Furgerson JL, Krasuski RA. Matrix

- metalloproteinases in patients with myocardial infarction and percutaneous revascularization. *J Interv Cardiol*. 2004;17:27–31.
9. Feldman LJ, Mazighi M, Scheuble A, et al. Differential expression of matrix metalloproteinases after stent implantation and balloon angioplasty in the hypercholesterolemic rabbit. *Circulation*. 2001;103:3117–22.
 10. Hansson GK. Inflammation, atherosclerosis, and coronary artery disease. *N Engl J Med*. 2005;352:1685–95.
 11. Herzog E, Gu AG, Kohmoto T, Burkhoff D, Hochman JS. Early activation of metalloproteinases after experimental myocardial infarction occurs in infarct and non-infarct zones. *Cardiovasc Pathol*. 1998;7:307–12.
 12. Hirohata S, Kusachi S, Murakami M, et al. Time dependent alterations of serum matrix metalloproteinase-1 and metalloproteinase-1 tissue inhibitor after successful reperfusion of acute myocardial infarction. *Heart*. 1997;78:278–84.
 13. Kai H, Ikeda H, Yasukawa H, et al. Peripheral blood levels of matrix metalloproteinases-2 and -9 are elevated in patients with acute coronary syndromes. *J Am Coll Cardiol*. 1998;32:368–72.
 14. Kloner RA, Ellis SG, Lange R, Braunwald E. Studies of experimental coronary artery reperfusion. Effects on infarct size, myocardial function, biochemistry, ultrastructure and microvascular damage. *Circulation*. 1983;68:I8–15.
 15. Lindsey ML. MMP induction and inhibition in myocardial infarction. *Heart Fail Rev*. 2004;9:7–19.
 16. Matsumura S, Iwanaga S, Mochizuki S, Okamoto H, Ogawa S, Okada Y. Targeted deletion or pharmacological inhibition of MMP-2 prevents cardiac rupture after myocardial infarction in mice. *J Clin Invest*. 2005;115:599–609.
 17. Mauviel A. Cytokine regulation of metalloproteinase gene expression. *J Cell Biochem*. 1993;53:288–95.
 18. Menon B, Singh M, Singh K. Matrix metalloproteinases mediate beta-adrenergic receptor-stimulated apoptosis in adult rat ventricular myocytes. *Am J Physiol Cell Physiol*. 2005;289:C168–76.
 19. Menon B, Singh M, Ross RS, et al. Beta-adrenergic receptor-stimulated apoptosis in adult cardiac myocytes involves MMP-2-mediated disruption of beta1 integrin signaling and mitochondrial pathway. *Am J Physiol Cell Physiol*. 2006;290:C254–61.
 20. McKay RG, Pfeffer MA, Pasternak RC, et al. Left ventricular remodeling after myocardial infarction: A corollary to infarct expansion. *Circulation*. 1986;74:693–702.
 21. Mukherjee R, Brinsa TA, Dowdy KB, et al. Myocardial infarct

- expansion and matrix metalloproteinase inhibition. *Circulation*. 2003;107:618–25.
22. Ovechkin AV, Tyagi N, Rodriguez WE, Hayden MR, Moshal KS, Tyagi SC. Role of matrix metalloproteinase-9 in endothelial apoptosis in chronic heart failure in mice. *J Appl Physiol*. 2005;99:2398–405.
 23. Papadopoulos D.P., Economou E.V., Makris T.K. et al. Effect of angiotensin-converting enzyme inhibitor on collagenolytic enzyme activity in patients with acute myocardial infarction. *Drugs Exp. Clin. Res*. 2004; 30: 55–65.
 24. Rajavashisth TB, Xu XP, Jovinge S, et al. Membrane type 1 matrix metalloproteinase expression in human atherosclerotic plaques: Evidence for activation by proinflammatory mediators. *Circulation*. 1999;99:3103–9.
 25. Schmidt R, Bultmann A, Ungerer M, et al. Extracellular matrix metalloproteinase inducer regulates matrix metalloproteinase activity in cardiovascular cells: Implications in acute myocardial infarction. *Circulation*. 2006;113:834–41.
 26. Squire IB, Evans J, Ng LL, Loftus IM, Thompson MM. Plasma MMP-9 and MMP-2 following acute myocardial infarction in man: Correlation with echocardiographic and neurohumoral parameters of left ventricular dysfunction. *J Card Fail*. 2004;10:328–33.
 27. Sinha S., Eddington H., Kalra P.A. Vascular calcification: lessons from scientific models. *J. Ren. Care*. 2009; 35 Suppl 1: 51-56.
 28. Sussman M.A., McCulloch A., Borg T.K. Dance Band on the Titanic: Biomechanical Signaling in Cardiac Hypertrophy. *Circ. Res.*, 2002; 91(10): 888 - 898.
 29. Tziakas D.N., Chalikias G.K., Parissis J.T. et al. Serum profiles of matrix metalloproteinases and their tissue inhibitor in patients with acute coronary syndromes. The effects of short-term atorvastatin administration. *Int. J. Cardiol*. 2004; 94: 269–277.
 30. Vargas SO, Sampson BA, Schoen FJ. Pathologic detection of early myocardial infarction: A critical review of the evolution and usefulness of modern techniques. *Mod Pathol*. 1999;12:635–45.
 31. Wagner DR, Delagardelle C, Ernens I, Rouy D, Vaillant M, Beissel J. Matrix metalloproteinase-9 is a marker of heart failure after acute myocardial infarction. *J Card Fail*. 2006;12:66–72.
 32. Wang B.-W., Chang H., Kuan P., Shyu K.-G. Angiotensin II activates myostatin expression in cultured rat neonatal cardiomyocytes via p38 MAP kinase and myocyte enhance factor 2 pathway *J. Endocrinol.*, 2008; 197(1): 85-93.
 33. White HD, Norris RM, Brown MA, Brandt PW, Whitlock RM,

- Wild CJ. Left ventricular end-systolic volume as the major determinant of survival after recovery from myocardial infarction. *Circulation*. 1987;76:44–51.
34. Wilson EM, Moainie SL, Baskin JM, et al. Region- and type-specific induction of matrix metalloproteinases in post-myocardial infarction remodeling. *Circulation*. 2003;107:2857–63.
 35. Zhang P, Yang YJ, Chen X, et al. Effects of doxycycline on the expression of matrix metalloproteinase and tissue inhibitor of MMP in myocardium after acute myocardial infarction: An animal experiment with rats. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi*. 2004;84:1288–93.