

МАТРИКСНЫЕ МЕТАЛЛОПРОТЕИНАЗЫ В РАЗВИТИИ ДЕСТРУКТИВНЫХ ПРОЦЕССОВ ПРИ РЕВМАТОИДНОМ АРТРИТЕ

Контакты: Алия Абдурахмановна Турна

Contact: Aliya Abdurakhmanovna Turna turna2605@yandex.ru

Новейшие исследования доказывают, что система протеолиза занимает центральное место в реализации многочисленных биохимических процессов, в которых протеиназы выполняют значительное количество разнообразных функций [1]. В настоящее время установлено, что реакциям протеолиза принадлежит ключевая роль не только в регуляции внутриклеточного обмена белков, но и в таких процессах, как транслокация внутри и вне клетки, образование ферментов, гормонов и других биологически активных белков. Название ключевых энзиматических групп системы протеолиза происходит от аминокислотных остатков, находящихся в активном центре фермента [2].

Основной задачей настоящего обзора явилась попытка рассмотреть роль семейства матриксных металлопротеиназ (ММП) как функциональных представителей системы протеолиза, участвующих в деструкции соединительной ткани при ревматоидном артрите (РА).

В соответствии с общепринятой классификацией, все ферменты протеолитической системы подразделяются на 4 семейства: сериновые, цистеиновые (тиоловые, сульфгидрильные), аспартатные (карбокисильные), металлопротеиназы [3]. Ведущие специалисты в области эволюции и структуры протеиназ А. Баррет и Н. Ревлинг несколько расширили ее, и теперь в основу классификации введены новые понятия с тремя главными уровнями — каталитический тип, клан, пептидазное семейство [4]. Семейство ММП представляет собой цинк- и кальций-зависимые эндопептидазы, способные специфически гидролизовать основные компоненты внеклеточного матрикса, за что они и были названы матриксными металлопротеиназами, или матриксинами [5]. Протеиназы присутствуют во всех без исключения клетках, внеклеточном матриксе и различных биологических жидкостях организма. В клетках они локализованы в эндоплазматическом ретикулуме, плазматических мембранах, митохондриях и цитоплазме фибробластов, эпителиальных клетках, экстрацеллюлярном матриксе, клетках крови и т. д. [6]. Физиологически представители семейства ММП синтезируются как пре-пробелки и секретируются как проферменты в очень незначительных количествах. Синтез и секреция ММП находятся под контролем цитокинов, интегринов и таких химических соединений, как форболовые эфиры, липополисахариды (LPS), колхицин, простагландин E. В основном ММП секретируются под действием провоспалительных цитокинов, а главными источниками их продукции считаются активированные макрофаги, нейтрофилы, фибробласты [7–9].

Существующая в организме сложная система регуляции протеолиза обеспечивает его строгий временной и

пространственный контроль. Нарушение этих механизмов может вызвать нерегулируемое протеолитическое расщепление функционально важных белков, что неизбежно приводит к повреждению основных систем защиты организма, «гиперпротеолизу» и развитию патологических состояний. Многие протеиназы синтезируются в виде неактивных предшественников, активация которых во многом зависит от потребностей организма в реализации его важнейших функций [10]. Известно, что процесс активации ММП осуществляется протеиназами и химическими агентами, однако для проявления полной активности ММП требуется наличие N-концевого домена [11]. Структура представителей семейства ММП различается местами расположения N-концевого домена, пропептидной области, «цистеинового выключателя», фуриновой расщелины, каталитического домена с ионом цинка и фибронектином, областью расположения петель, гемопектинового участка и C-концевого домена.

Процесс активации про-ММП происходит при участии так называемого цистеинового выключателя с консервативной последовательностью PRSGV/NPD и остатка цистеина с ионом цинка в активном центре [12]. На сегодняшний день описано 3 различных механизма активации: «пошаговая активация», активация поверхности клетки и интрацеллюлярная активация [13, 14]. На первом этапе чаще всего вовлекаются протеиназы плазмин, трипсин, химазы или калликреин, но наиболее мощным физиологическим активатором считается плазмин [15, 16]. С помощью активатора урокиназного типа (u-PA) в пропептидной области ММП стимулируется процесс конформации, при котором происходит высвобождение участка активации. Одной из основных функций u-PA является его способность инициировать активность про-ММП, которые осуществляют гидролиз всех компонентов экстрацеллюлярного матрикса (ЕСМ), и поэтому он считается ключевой молекулой, запускающей весь процесс протеолиза. При нарушении в системе протеолиза соотношения активаторы/ингибиторы включается механизм активации поверхности клетки, особенно в период перемещения «дорожки воспаления», который считается начальным этапом дегградации ЕСМ. Далее, в дополнение к плазминогенной системе, присоединяется активация других ферментов, которые непосредственно участвуют в трансформации плазменной мембраны. Однако следует отметить, что до настоящего времени точный механизм интрацеллюлярной активации и вклад ММП в экстрацеллюлярную деятельность клетки до конца не установлены [17, 18].

В клетке активность ММП регулируется на разных уровнях, включая транскрипцию, активацию белка и

взаимодействие с эндогенными ингибиторами, такими как тканевые ингибиторы ММП (ТИММП) [19, 20].

В последние годы особенно интенсивно изучаются протеолитические реакции с участием семейства ММП при воспалительных процессах различного генеза, аутоиммунных, сердечно-сосудистых, аллергических заболеваниях, злокачественной трансформации клеток [21–23].

Классическим примером аутоиммунного воспалительного процесса является РА, при котором формируется особый тип воспаления, в том числе с повреждающим действием семейства ММП на соединительную ткань.

РА — воспалительное ревматическое заболевание неизвестной этиологии, характеризующееся симметричным хроническим эрозивным артритом (синовитом) периферических суставов и системным иммуновоспалительным поражением внутренних органов [24]. Клиническая картина РА крайне многообразна и во многом зависит от преимущественной локализации воспалительных изменений в соединительной ткани различных органов. Согласно данным ВОЗ, частота встречаемости РА в популяции составляет от 0,6 до 1,3%, при этом у близких родственников она достигает 3–5%. Женщины болеют в 2,5–3 раза чаще мужчин, преимущественно в возрасте 35–50 лет, в более поздние возрастные периоды отмечается увеличение частоты заболевания [25]. РА по-прежнему относится к заболеваниям с неизвестной этиологией, в литературе широко дискутируется вопрос о его мультифакторной природе, в которой активное участие принимают генетические, внешнесредовые, иммунологические, гормональные, инфекционные и другие факторы [26, 27].

В отличие от классических генетических болезней, при которых множество различных генов и их комбинаций predisполагают к развитию заболевания, РА представляет собой генетически гетерогенное заболевание, в первую очередь обусловленное генетическим несовершенством иммунорегуляторных процессов. В одной из последних работ по исследованию полиморфизма промоторной области генов ММП 1, 3 и 9 было выявлено, что частота встречаемости по 5A аллели гена ММП 3 была значительно выше в контрольной группе, чем у больных РА. При этом клинически данная группа больных РА имела более высокую частоту внесуставных проявлений по сравнению с лицами, гомозиготными по 6A аллели. В то же время не наблюдалось существенного различия между больными и группой контроля по частоте встречаемости аллелей для ММП 1 и 9. Результаты данного исследования доказывают связь между полиморфизмом гена ММП 3 и РА [28]. Вместе с тем известно, что некоторые гены больше влияют на тяжесть заболевания, чем на возникновение РА. Поэтому можно допустить, что только небольшое количество генов прочно ассоциируется с развитием РА. Другие исследователи утверждают, что функциональный полиморфизм ММП 3 не является предиктором РА, в частности, у японских пациентов, а только коррелирует с ее активностью в сыворотке крови больных РА [29].

Характеризуя широкое разнообразие, морфологическую сложность и значительное количество функциональных возможностей соединительной ткани, можно предположить конструктивное участие основных ее элементов в развитии многих видов патологии. Следует отметить, что различные виды соединительной ткани (костной, хрящевой и собственно соединительной) также

контролируются генами и возникновение генетических нарушений ведет к появлению ряда заболеваний, протекающих с ее поражением [30, 31]. Принципиальное отличие соединительной ткани от ткани другого типа заключается в избытке ЕСМ при сравнительно небольшом числе клеток. В молекулярной биологии внеклеточная, или экстрацеллюлярная, матрица определена как сложная сеть, сформированная многочисленными структурными макромолекулами, такими как протеогликаны, коллагены и эластин. Упругость ЕСМ обеспечивается коллагеновыми, эластиновыми или фибронектиновыми волокнами, погруженными в гель с переплетенными цепями гликозаминогликанов [32]. Нарушение обмена на первых этапах затрагивает метаболизм протеогликанов и гликозаминогликанов. Разрушение белково-полисахаридных комплексов изменяет свойства соединительной ткани, делает ее неустойчивой к нагрузкам и подготавливает коллагеновый каркас к деградации. Известно, что непосредственное деструктивное действие на внутрисуставные ткани при РА оказывает паннус, который формируется из вновь образованных сосудов, обеспечивающих приток новых клеток и питательных веществ, а также активированных синовиоцитов и других типов клеток. Следует отметить, что к формированию паннуса способен именно измененный фибробластоподобный синовиоцит, морфологические особенности и функциональные характеристики которого вносят значительный вклад в патогенез РА [33]. Паннус представляет собой клеточно-соединительнотканное образование, которое многократно превышает массу здоровой синовиальной оболочки, обладает признаками опухолеподобного роста, пенетрирует в хрящ, субхондральную кость и связочный аппарат. Клетки, составляющие паннус, в первую очередь синовиоциты, секретируют множество ферментов, участвующих в процессе деструкции. Среди ферментов системы протеолиза наибольшее значение принадлежит семейству ММП, которые, имея особенности доменных структур и функций, действуют на коллаген и протеогликановый матрикс, разрушая основное внеклеточное вещество соединительной ткани [34].

В настоящее время именно в системе протеолиза ведется активный поиск маркера деструкции соединительной ткани при РА. В процесс формирования эрозии вовлечено несколько подсемейств ММП, которые играют основную роль в разрушении ЕСМ хрящевой, субхондральной и собственно соединительной тканей [35]. Предполагается, что семейство ММП проявляет более выраженный деструктивный эффект в присутствии оксида азота, выработку которого усиливает индуцибельная NO-синтаза. Высокий уровень оксида азота способствует гибели хондроцитов — клеток, ответственных за процессы ремоделирования хряща. Совместное действие этих медиаторов, интерлейкина (ИЛ) 1 и фактора некроза опухоли α (ФНО α) вносит значительный вклад в развитие периартикулярного и системного разрушения хрящевой ткани, собственного РА [36]. В целом механизмы, лежащие в основе развития эрозий, до конца не изучены, хотя цепочка общего направления ясна — это воспаление, пролиферация синовиальной ткани, разрушение ММП суставного хряща и периартикулярной костной ткани.

Экспериментальные исследования фибробластоподобных синовиоцитов в условиях гипоксии выявили

повышенную экспрессию ММП 1 и 3, ИЛ 1 и 8. Эти данные свидетельствуют о более активном влиянии семейства ММП и цитокинов на механизмы воспаления и разрушение соединительной ткани в условиях гипоксии при РА [37].

Впервые протеиназы были обнаружены в ткани хвоста головастика во время изучения процесса коллагенолиза еще в 1962 г. [38]. К настоящему времени известно 28 представителей семейства ММП, для условного обозначения которых даются числовые названия, начиная от ММП 1 до ММП 28. На основании данных о структурной организации и субстратной специфичности в семействе ММП выделены 4 подсемейства: коллагеназы, желатиназы, стромелизины и неклассифицированные ММП [4].

К первому, наиболее изученному подсемейству ММП относятся коллагеназы. В настоящее время известны 4 представителя этого семейства: ММП 1 (коллагеназа 1), ММП 8 (коллагеназа 2), ММП 13 (коллагеназа 3), ММП 18 (коллагеназа 4). Они получили свое название за способность гидролизовать нативный коллаген I, II и III типов в спиральной области на особых участках тройной спирали в 3/4 части N-концевого домена, образуя при этом 3/4 и 1/4 фрагменты коллагена, которые чрезвычайно стойки к воздействию большинства протеиназ. Все 4 протеиназы подсемейства коллагеназ гидролизуют интерстициальные коллагены по связи Gly-Leu, а C-концевой домен определяет их специфическое связывание с субстратами и ингибиторами. Однако механизм гидролиза трипептидной спирали коллагена представителями подсемейства коллагеназ до сих пор остается полностью не изученным.

Одним из новых членов подсемейства коллагеназ является ММП 13, способная разрушать коллагены I, II и III типов, в том числе и хрящевой протеогликан. По аминокислотному составу ММП 13 человека имеет большее сходство с коллагеназой мыши и крысы (86% гомологии), чем с ММП 1 (коллагеназой 1) человека (50,5% гомологии) [39]. ММП 13 была обнаружена в костной ткани грызунов, суставном хряще при серопозитивном варианте РА, синовиальной ткани пациентов с остеоартрозом, но отсутствует или пока не обнаружена в здоровой синовиальной ткани [40]. В процессе деградации структуры коллагена ММП 13 отдает «предпочтение» коллагену II типа, который, как известно, является преимущественно коллагеном суставного хряща. Активировать ММП 13 *in vitro* способны 2 фермента: желатиназа В (ММП 9) и ММП мембранного типа 1 (MT1 ММП, ММП 14) [41]. При этом активация ММП 13 под действием MT1 ММП значительно усиливается в присутствии желатиназы А (ММП 2) [42]. Следует отметить, что в отношении экспрессии ММП 13 на сегодняшний день многое остается неясным. Имеются сообщения о том, что активность ММП 13 отмечается в панноцитах, полученных из образцов ткани паннуса (pannus-hard tissue junction), а их стимуляция ФНО α или ИЛ 1 постоянно приводит к экспрессии ММП 1 и ММП 13 [43]. Однако другие исследователи не отмечают увеличения базального уровня ММП 13 после стимуляции интерлейкинами синовиальных фибробластов человека [44]. Вместе с тем доказано, что структурные повреждения хряща мышечной модели при остеоартрозе во многом зависят от активности ММП 13. Однако как дефицит, так и гиперпро-

фия хондроцита не регулируются активностью ММП 13 и не приводят к развитию эрозий [45]. В то же время генетические мутации, вызывающие дефицит ММП 13, клинически характеризуются нарушениями в структуре костей скелета, особенно длинных трубчатых, при которых наблюдаются дефекты роста и развития, с формированием так называемой спондилоэпиметафизальной дисплазии [46].

Некоторые авторы с целью выявления специфического маркера деструкции соединительной ткани при РА актуальным считают определение активности представителей подсемейства стромелизинов, к которым относятся ММП 3 (стромелизин 1), ММП 10 (стромелизин 2), ММП 11 (стромелизин 3). Особенностью подсемейства стромелизинов является их способность разрушать широкий спектр компонентов ЕСМ, включая протеогликаны, ламинин, фибронектин и некоторые типы коллагена. Данные по клонированию кДНК и аминокислотной последовательности позволили идентифицировать стромелизины как ряд ранее исследованных ферментов — транзины, протеогликоназа, активатор проколлагеназы [47]. ММП 3 является ярким представителем подсемейства стромелизинов и обладает широкой субстратной специфичностью. Она секретируется как профермент и активируется путем ограниченного протеолиза тканевыми и плазменными эндопептидазами. Первичная структура ММП 3 синтезируется в форме пробелка и состоит из 477 аминокислотных остатков. Ее активность регулируется на уровне транскрипции — цитокинами, факторами роста и т. д. Известно, что ММП 3 вырабатывается фибробластами и представляет собой «скрытую» металлопротеиназу, которая через активацию проколлагеназы 1 оказывает влияние на деградацию компонентов ЕСМ, протеогликан, фибронектин, желатин и различные типы коллагенов [48]. ММП 3 также является активатором нескольких про-ММП, включая про-ММП 1 [49], про-ММП 8 [50], про-ММП 9 [51], про-ММП 13 [52], играя основную роль в каскадных реакциях, ведущих к коллагенолизу соединительной ткани [53]. Так, при исследовании плазменной активности ММП 3 у пациентов с различными формами РА, остеоартрозом и подагрой была установлена ее значительная активность у больных РА. В то же время активность ММП 2, представителя подсемейства желатиназ, не сопровождалась повышением активности у всех изучаемых групп пациентов. Следует отметить, что в данном исследовании обнаружена и некая особенность, при которой среднее значение активности ММП 3 в плазме здоровых женщин достоверно ниже по сравнению со здоровыми мужчинами. Показано также наличие прямой корреляции активности ММП 3 в синовиальной жидкости и сыворотке крови больных РА [54]. Результаты дальнейших исследований активности ММП 3 в синовиальной жидкости и в сыворотке крови больных РА подтверждаются данные ряда более ранних исследований, в которых были обнаружены ее высокая активность и наличие прямой корреляции между синовиальной жидкостью и сывороткой крови [55, 56].

В клинической практике среди иммунологических маркеров воспаления особое значение придают С-реактивному белку (СРБ), синтезирующемуся в ответ на воспаление и тканевое повреждение. Исследование активности ММП 1, 3 и ТИММП 1 в сочетании с уровнями СРБ и цитокинов у пациентов с эрозивными и неэрозив-

ными ревматическими заболеваниями выявило значительное увеличение активности протеиназ в сыворотке крови больных с эрозивным артритом. При этом установлена прямая корреляция между уровнем СРБ и активностью ММП 3, которые лучше всего коррелировали с клиническими проявлениями РА. Следовательно, можно утверждать, что в сыворотке крови больных РА диагностически значимым является определение активности ММП 3 и уровня СРБ [57]. Сравнительное изучение активности ММП 1 и 3 в синовиальной жидкости больных остеоартрозом и РА выявило значительное превышение их активности у пациентов с РА. При этом отмечается прямая корреляция между уровнем СРБ и активностью ММП 3, между концентрацией ФНО α и уровнем СРБ, а также между активностью ММП 1 и 3. Результаты проведенного исследования свидетельствуют о том, что активность ММП 3 в большей степени, чем цитокины, отражает степень воспаления при РА [58]. Указанный функциональный потенциал позволяет рассматривать ММП 3 как одну из основных протеиназ, участвующих в процессах деструкции соединительной ткани при РА, что дает основание рекомендовать ее в качестве маркера деструкции соединительной ткани [59].

Подсемейство желатиназ представляет собой ряд ферментов, гидролизующих желатин, и в своем составе содержит ММП 2 (желатиназа А) и ММП 9 (желатиназа В). Желатиназы обладают способностью значительно лучше гидролизовать коллаген V типа, чем коллаген I типа, причем гидролиз коллагена осуществляется по тем же связям, что и в подсемействе коллагеназ, которые расположены на расстоянии 3/4 длины молекулы с С-конца. Ранние представления о желатиназах связаны с их способностью разрушать промежуточный коллаген, но вновь установленная функция разрушения фибриллярного коллагена отводит им более значительную роль и предполагает их «расширенное» участие в процессах ремоделирования соединительной ткани [60]. В очередной попытке найти потенциальный маркер, отражающий основные механизмы деструкции соединительной ткани при РА, проведено сравнительное исследование активности ММП 2 и 9 в ткани синовиальной жидкости и в сыворотке крови больных. Высокая активность обеих протеиназ по сравнению с контрольной группой отмечалась в сыворотке крови и синовиальной жидкости у пациентов. Наиболее высокая активность ММП 9 обнаруживалась в сыворотке крови, в синовиальной жидкости и в синовиальных клетках [61].

Экспериментальные исследования синовиальной ткани с использованием метода ПЦР указывают на увеличение активности ММП 9 в пределах фибробластоподобных клеток стенки сосудов. Достаточно высокая активность подсемейства желатиназ установлена в ткани на участке деструкции между паннусом и хрящом, а также костной тканью. При этом отмечается увеличение активности ММП 2 в здоровой ткани синовиальной и в зоне паннуса, хотя доказательства ее прямого участия в формировании эрозии считаются недостаточными [62]. Исследование больных РА позволило выявить наличие корреляционных связей между такими переменными, как рентгенологические изменения в суставах, клинические данные, гистологическая оценка синовиальной ткани, и высокой активностью ММП 2 и 9, а также уровнями тканевых ингибиторов ТИММП 1 и 2. При этом в образце си-

новиальной ткани между различными участками отмечается нарушение желатинолитической активности, которое было установлено методом зимографии. Использование данного метода считается наиболее информативным при определении биологической ферментативной активности синовиальной оболочки при РА [63].

Дальнейшие исследования семейства ММП позволили установить, что радиус их действия не ограничивается только деградацией ЕСМ, а распространяется и на протеолитические реакции с участием мембранно-связанных белков. Хотя данная информация недостаточно полная, однако последние исследования функциональных свойств протеиназ на модели ММП 9 выявили дополнительные возможности по обезвреживанию токсичных и иммуногенных белков, образовавшихся в результате разрушения ЕСМ. Данное исследование предполагает открытие новых потенциальных возможностей протеаз, в частности ММП 9 [64].

Одномоментное определение активности ряда матриксных металлопротеиназ, тканевых ингибиторов: ММП 2, 3, 9, ТИММП 1 и 2, хондроитин сульфата 4, 6 и гиалуроновой кислоты — в синовиальной жидкости больных РА способствует уточнению степени их участия в процессе деструкции соединительной ткани, а также установлению их клинико-диагностической значимости. Проведенное исследование в первую очередь выявило существенные различия в содержании протеогликанов. Известно, что их увеличение характерно для ранних стадий разрушения ткани, в то время как развернутой стадии присуще снижение из-за уменьшения объема здоровой ткани. При этом активность ММП 2, 3, 9 и содержание ТИММП 1 и 2 в синовиальной ткани больных оказались значительно ниже, чем в синовиальной жидкости [65].

Поиск специфического маркера деструкции соединительной ткани при РА нацелил на выполнение исследования и оценку активности целого спектра протеиназ и их ингибиторов: ММП 1, 2, 3, 7, 8, 9, 13 и ТИММП 1, 2 — в аспирированной из сустава синовиальной жидкости методом ИФА. При этом степень разрушения внутрисуставных тканей у больных РА оценивалась радиологически. Активность ММП 1, 2, 3, 8 и 9 в синовиальной жидкости больных РА значительно превышала соответствующие уровни активности у больных остеоартрозом. Следует отметить, что среди значительного количества определяемых в синовиальной жидкости больных РА протеиназ максимальная активность установлена у ММП 3, представителя подсемейства стромелизинов. При этом выявлена прямая корреляция между активностью ММП 1 и 3, а также между ММП 8 и 9. Согласно полученным результатам, в синовиальной жидкости больных РА показателями активности деструктивных процессов соединительной ткани могут служить уровни ММП 1, 3, 8, 9 и ТИММП 1. Следует, однако, заметить, что повышение активности ММП 13 установлено только у 45% больных РА [66].

Таким образом, значительное количество исследований, направленных на изучение активности семейства ММП системы протеолиза, пока не дает полного ответа на вопрос о выборе единого диагностического маркера деструкции соединительной ткани при РА. Анализ литературных данных позволяет лишь подтвердить наличие связи между активностью семейства ММП и развитием

деструкции соединительной ткани при РА. Можно видеть, что исследования ММП в основном носят экспериментальный характер и направлены на изучение активности подсемейств коллагеназ, желатиназ и стромелизинов. Изучение активности подсемейства коллагеназ при РА свидетельствует о повышенной активности ММП 1, 8 и 13. При этом увеличение активности ММП 1 и 13 свойственно синовиальной ткани и синовиальной жидкости, однако увеличение активности ММП 13 более специфично для серопозитивных больных РА. Изучение активности представителей подсемейства желатиназ у больных РА характеризуется разнонаправленностью полученных результатов. Так, в отношении активности ММП 2 существуют противоречивые данные: в одних исследованиях выявлено повышение ее активности, однако большинство других исследователей отмечают снижение этой активности в синовиальной жидкости и сыворотке крови больных РА. В то же время активность ММП 9 в сыворотке крови и синовиальной жидкости больных РА повышена. Следует отметить тот факт, что в большинстве работ выстраивается концепция ак-

тивного участия подсемейства стромелизинов, в частности ММП 3, при РА, с увеличением ее активности в синовиальной ткани, синовиальной жидкости и сыворотке крови больных. При этом повышение активности ММП 3 коррелирует с клиническими особенностями течения РА, наличием эрозивных проявлений и уровнем СРБ.

Высказывается предположение, что активность ММП 3 лучше, чем цитокины, отражает степень деструкции соединительной ткани. Подсемейство неклассифицированных ММП представляет собой достаточно большую группу ферментов, активность которых при РА изучена недостаточно, а их основная функция заключается в способности активации других протеиназ, в частности ММП 1 и 2. Согласно данным современной литературы, можно выделить две протеиназы, представляющие соответственно подсемейство стромелизинов — ММП 3 (стромелизин 1) и подсемейство желатиназ — ММП 9 (желатиназа В), с максимальной активностью участвующих в нарушении структуры соединительной ткани и отвечающих на аутоиммунное воспаление и эрозивное поражение суставов при РА.

ЛИТЕРАТУРА

1. Яровая Г.А. Биорегулирующие функции и патогенетическая роль протеолиза. Современные представления и перспективы. *Лаб мед* 2000;3:19—22.
2. Rawlings N.D., Barrett A.J. Classification of peptidases by comparison of primary and tertiary structures. *Biomed Health Res* 1997;13:13—21.
3. Barrett A.J. Evolution and the structural classification of peptidases. *Biomed Health Res* 1997;13:3—12.
4. Rawlings N.D., Barrett A.J. Evolutionary families of metalloproteinases. *Meth Enzymol* 1995;248:183—228.
5. Hidalgo M., Eckhardt G.S. Development of matrix metalloproteinase inhibitors in cancer therapy. *J Nation Cancer Inst* 2001;93(3):178—93.
6. Яровая Г.А. Биорегулирующие функции и патогенетическая роль протеолиза. Распространение, классификация и основы механизма действия протеиназ. *Лаб мед* 2001;4:75—80.
7. Davies M.J. Reactive oxygen species, metalloproteinases, and plaque stability. *Circulation* 1998;97:2382—3.
8. Brinckerhoff C.E. Joint destruction in arthritis: metalloproteinase in the spotlight. *Arthr Rheum* 1991;34:1073—5.
9. Li J., Schwimmbeck P.L., Tschöpe C. et al. Collagen degradation in a murine myocarditis model: relevance of matrix metalloproteinase in association with inflammatory induction. *Cardiovasc Res* 2002;56:235—47.
10. Pei D., Weiss S.J. Furin-dependent intracellular activation of the human stromelysin-3 zymogen. *Nature* 1995;375:244—7.
11. Nagase H. Activation mechanisms of matrix metalloproteinases. *Biol Chem* 1997;378:151—60.
12. Van Wart H.E., Birkedal-Hansen H. The cysteine switch: a principle of regulation of metalloproteinase activity with potential applicability to the entire matrix metalloproteinase gene family. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990;87:5578—82.
13. Abramson S.R., Conner G.E., Nagase H. et al. Characterization of rat uterine matrilysin and its cDNA: Relationship to human MMP-1 and activation of procollagenases. *J Biol Chem* 1995;270(27):16016—22.
14. Murphy G., Willenbrock F., Crabbe T. et al. Regulation of matrix metalloproteinase activity. *Ann NY Acad Sci* 1994;732:31—41.
15. Преображенский Д.В., Сидоренко Б.А., Батыралиев Т.А. Ингибиторы АПФ и АТ1-блокаторы в клинической практике. М.: ЗАО «Пресид-Альянс», 2002;224 с.
16. Zheng Y., Saftig P., Hartmann D. et al. Evaluation of the contribution of different ADAMs to TNF α shedding and of the function of the TNF α ectodomain in ensuring selective stimulated shedding by the TNF α convertase TACE/ADAM17. *J Biol Chem* 2004;279:42898—906.
17. Sato H., Takino T., Kinoshita T. et al. Cell surface binding and activation of gelatinase A induced by expression of membrane-type-1-matrix metalloproteinase (MT1-MMP). *FEBS Lett* 1996;385:238—40.
18. Клишо Е.В., Кондакова И.В., Чойзонов Е.Л. и др. Прогностическая значимость протеаз у больных плоскоклеточными карциномами головы и шеи. *Бюл СО РАМН* 2005;2(116):82—91.
19. Sternlicht M.D., Werb Z. How matrix metalloproteinases regulate cell behavior. *Ann Rev Dev Biol* 2001;17:463—516.
20. Brew K., Dinakarpandian D., Nagase H. Tissue inhibitors of metalloproteinases: evolution, structure and function. *Biochim Biophys Acta* 2000;1477:267—83.
21. Tchvetverikov I., Lard L. R., De Groot J. Matrix metalloproteinases-3, -8, -9 as markers of disease activity and joint damage progression in early rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 2003;62:1094—9.
22. Mohammed F.F., Smookler D.S. Metalloproteinases, inflammation, and rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 2003;62(2):1143—7.
23. Creemers E., Davis J.N., Parkhurst A.M. et al. Deficiency of TIMP-1 exacerbates LV remodeling after myocardial infarction in mice. *Am J Physiol Heart Circul Physiol* 2003;284(1):364—71.
24. Рациональная фармако-терапия ревматических заболеваний: Руководство для практикующих врачей. Под ред. В.А. Насоновой, Е.Л. Насонова. М.: Изд-во «Литтерра», 2003; 448 с.
25. Мазуров В.И. Клиническая ревматология. СПб.: ФОЛИАНТ, 2001;416 с.
26. Pincus T., Sokka T., Wolfe F. Premature mortality in patients with rheumatoid arthritis: evolving concepts. *Arthr Rheum* 2001;44:1234—6.
27. Sokka T., Toloza S., Cutolo M. et al. Women, men, and rheumatoid arthritis: analyses of disease activity, disease characteristics, and treatments in the QUEST-RA study. *Arthr Res Ther* 2009;11:R7.
28. Scherer S., de Souza T.B., de Paoli J. et al. Matrix metalloproteinase gene polymorphisms in patients with rheumatoid arthritis. *Rheumatol Int* 2010;30(3):369—73.
29. Tsukahara S., Shinozaki M., Ikari K. et al. Effect of matrix metalloproteinase-3 functional SNP on serum matrix metalloproteinase-3 level and outcome measures in Japanese RA patients. *Rheumatology (Oxford)* 2008;47(1):41—4.
30. Мартынов А.И., Степура О.Б., Остроумова О.Д. Маркеры дисплазий соединительной ткани у больных с идио-

- патическим пролабированием атриовентрикулярных клапанов и с аномально расположенными хордами. Тер арх 1996;2:40—3.
31. Яковлев В.М., Готов А.В., Нечаева Г.И. Клинико-иммунологический анализ клинических вариантов дисплазии соединительной ткани. Тер арх 1994;5:9—13.
32. Ровенский Ю.А. Как клетки ориентируются на местности. Соросовский образов журн 2001;7(3):4—11.
33. Seemayer C.A., Kuchen S., Kuenzler P. et al. Cartilage destruction mediated by synovial fibroblasts does not depend on proliferation in rheumatoid arthritis. *Am J Pathol* 2003;162:1549—57.
34. Nishikaku A.S., Ribeiro L.C., Molina R.F. et al. Matrix metalloproteinases with gelatinolytic activity induced by *Paracoccidioides brasiliensis* infection. *Int J Exp Pathol* 2009;90(5):527—37.
35. Butler G.S., Overall C.M. Updated biological roles for matrix metalloproteinases and new "intracellular" substrates revealed by degradomics. *Biochemistry* 2009;48(46):10830—45.
36. Gravallese E.M., Goldring S.R. Cellular mechanisms and the role of cytokines in bone erosions in rheumatoid arthritis. *Arthr Rheum* 2000;43:2143—51.
37. Ahn J.K., Koh E.M., Cha H.S. et al. Role of hypoxia-inducible factor-1 α in hypoxia-induced expressions of IL-8, MMP-1 and MMP-3 in rheumatoid fibroblast-like synoviocytes. *Rheumatology (Oxford)* 2008;47(6):834—9.
38. Gross J., Lapiere C.M. Collagenolytic activity in amphibian tissues: a tissue culture assay. *Proc Natl Acad Sci USA* 1962;48:1014—22.
39. Yamagiwa H., Tokunaga K., Hayami T. et al. Expression of metalloproteinase-13 (collagenase-3) is induced during fracture healing in mice. *Bone* 1999;25:197—203.
40. Mitchell P.G., Magna H.A., Reeves L.M. et al. Cloning, expression and type II collagenolytic activity of matrix metalloproteinase-13 from human osteoarthritic cartilage. *J Clin Invest* 1996;97(3):761—8.
41. Fosang A.J., Last K., Knäuper V. et al. Degradation of cartilage aggrecan by collagenase-3 (MMP-13). *FEBS Lett* 1996;380:1—20.
42. Knäuper V., Will H., Lopez-Otin C. et al. Cellular Mechanisms for Human Procollagenase-3 (MMP-13) Activation. *Am J Biochem Mol Biol* 1996;271(29):17124—31.
43. Moore B.A., Aznavoorian S., Engler J.A. et al. Induction of collagenase-3 (MMP-13) in rheumatoid arthritis synovial fibroblasts. *Biochem Biophys Acta* 2000;1502(2):307—18.
44. Kim S.J., Shin H.H., Park S.Y. et al. Induction of MMP-13 expression by soluble human glucocorticoid-induced tumor necrosis factor receptor in fibroblast-like synovial cells. *Osteoarthr Cartilage* 2006;14(2):146—53.
45. Little C.B., Barai A., Burkhardt D. et al. Matrix metalloproteinase 13-deficient mice are resistant to osteoarthritic cartilage erosion but not chondrocyte hypertrophy or osteophyte development. *Arthr Rheum* 2009;60(12):3723—33.
46. Kennedy A.M., Inada M., Krane S.M. et al. MMP13 mutation causes spondyloepimetaphyseal dysplasia; Missouri type (SEMD (MO)). *J Clin Invest* 2005;115:2832—42.
47. Coussens L.M., Werb Z. Matrix metalloproteinases and the development of cancer. *Chem Biol* 1996;3(11):895—904.
48. Quinones S., Buttice G., Kurkinen M. Promoter elements in the transcriptional activation of the human stromelysin-1 gene by the inflammatory cytokine, interleukin 1. *Biochem J* 1994;302:471—7.
49. Murphy G., Cockett M.I., Stephens P.E. et al. Stromelysin is an activator of procollagenase. A study with natural and recombinant enzymes. *Biochem J* 1987;248:265—8.
50. Knäuper V., Wilhelm S.M., Seperack P.K. et al. Direct activation of human neutrophil procollagenase by recombinant stromelysin. *Biochem J* 1993;295(2):581—6.
51. Tetlow L.C., Lees M., Woolley D.E. Comparative studies of collagenase and stromelysin-1 expression by rheumatoid synoviocytes in vitro. *Virchows Arch* 1995;425:569—76.
52. Knäuper V., Lopez-Otin C., Smith B. et al. Biochemical characterization of human collagenase-3. *J Biol Chem* 1996;271:1544—50.
53. Milner J.M., Rowan A.D., Cawston T.E. et al. Metalloproteinase and inhibitor expression profiling of resorbing cartilage reveals pro-collagenase activation as a critical step for collagenolysis. *Arthr Res Ther* 2006;8(5):R142PMCID:PMC1779431
54. Yoshihara Y., Obata K., Fujimoto N. et al. Increased levels of stromelysin-1 and tissue inhibitor of metalloproteinases-1 in sera from patients with rheumatoid arthritis. *Arthr Rheum* 1995;38:969—75.
55. Kotajima L., Aotsuka S., Fujimani M. et al. Increased levels of matrix metalloproteinase-3 in sera from patients with active lupus nephritis. *Clin Exp Rheumatol* 1998;16:409—15.
56. Keyszer G., Lambiri I., Nagel R. et al. Circulating levels of matrix metalloproteinases MMP-3 and MMP-1, tissue inhibitor of metalloproteinases 1 (TIMP-1), and MMP-1/TIMP-1 complex in rheumatic disease. Correlation with clinical activity of rheumatoid arthritis versus other surrogate markers. *J Rheumatol* 1999;26(2):251—8.
57. Posthumus M.D., Limburg P.C., Westra J. et al. Serum matrix metalloproteinase 3 levels in comparison to C-reactive protein in periods with and without progression of radiological damage in patients with early rheumatoid arthritis. *Clin Exp Rheum* 2003;21:465—72.
58. Mahmoud R.K., El-Ansary A.K., El-Eishi H.H. et al. Matrix metalloproteinases MMP-3 and MMP-1 levels in sera and synovial fluids in patients with rheumatoid arthritis and osteoarthritis. *Ital J Biochem* 2005;54(3—4):248—57.
59. Ribbens C., Andre B., Jaspard J.M. et al. Matrix metalloproteinase-3 serum levels are correlated with disease activity and predict clinical response in rheumatoid arthritis. *J Rheumatol* 2000;27:888—93.
60. Kahari V.M., Saarialho-Kere U. Matrix metalloproteinases in skin. *Exp Dermatol* 1997;6:199—213.
61. Gruber B.L., Sorbi D., French D.L. et al. Markedly elevated serum MMP-9 (gelatinase B) levels in rheumatoid arthritis: a potentially useful laboratory marker. *Clin Immunol Immunopathol* 1996;78(2):161—71.
62. Kontinen Y.T., Ceponis A., Takagi M. et al. New collagenolytic enzymes/cascade identified at the pannus-hard tissue junction in rheumatoid arthritis: destruction from above. *Matrix Biol* 1998;17:585—601.
63. Yoshida W., Uzuki M., Nishida J. et al. Examination of in vivo gelatinolytic activity in rheumatoid arthritis synovial tissue using newly developed in situ zymography and image analyzer. *Clin Exp Rheumatol* 2009;27(4):587—93.
64. Cauwe B., Martens E., Proost P. et al. Multidimensional degradomics identifies systemic autoantigens and intracellular matrix proteins as novel gelatinase B/MMP-9 substrates. *Int Biol* 2009;1(5—6):404—26.
65. Ishiguro N., Ito T., Miyazaki K., Iwata H. Matrix metalloproteinases, tissue inhibitors of metalloproteinases, and glycosaminoglycans in synovial fluid from patients with rheumatoid arthritis. *J Rheumatol* 1999;26(1):34—40.
66. Yoshihara Y., Nakamura H., Obata K. et al. Matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases in synovial fluids from patients with rheumatoid arthritis or osteoarthritis. *Ann Rheum Dis* 2000;59(6):455—61.

Поступила 12.01.10