

# МАТРИКСНЫЕ МЕТАЛЛОПРОТЕИНАЗЫ КАК ПАТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ БИОМАРКЕРЫ РУБЦОВ КОЖИ

**Е. Лучина**, кандидат медицинских наук  
Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова,  
Санкт-Петербург  
**E-mail:** levistraus@mail.ru

*Для разработки оптимальных методов лечения рубцовых изменений кожи необходимо понимание патогенеза раневого процесса, который является сложным комплексом биологических реакций.*

**Ключевые слова:** дерматология, рубцовая ткань, биомаркеры, матриксные металлопротеиназы.

**Р**убец – это новообразованная соединительная ткань, возни-  
кшая на месте глубоких дефектов кожи, сопровождаю-  
щихся разрушением дермы вследствие изъязвлений, ран,  
ожогов, трещин, воспалительных процессов [1–3]. Каждой  
стадии развития этой ткани соответствуют определенные  
морфологические изменения: альтерация и воспаление, про-  
лиферация фибробластов и формирование грануляций, эпи-  
телизация дефекта, созревание и ремоделирование рубцовой  
ткани [4, 5].

Рубцовая ткань образуется в результате заживления ране-  
вого дефекта, поэтому для разработки оптимальных методов  
лечения рубцовых изменений кожи необходимо понимание  
патогенеза раневого процесса, который является сложным  
комплексом биологических реакций [1]. Несмотря на суще-  
ствующее разнообразие подходов к лечению рубцовых из-  
менений кожи, в настоящее время отсутствуют стандарти-  
зированная система оценки эффективности использования  
различных медицинских технологий для лечения, алгоритмы  
выбора и применения тех или иных направлений коррекции  
рубцовых изменений кожи. Практически не встречается фун-  
даментальных работ, раскрывающих подходы к обоснованию  
комплексной системы лечения на основе различных этио-  
логических и патогенетических механизмов возникновения  
рубцов разного вида.

Установлено, что важнейшую роль в формировании руб-  
цов играют матриксные металлопротеиназы (ММП) – фер-  
менты, относящиеся к семейству эндопептидаз. В состав  
активного центра ММП входит цинк или ион кальция [6].  
ММП играют важнейшую роль как в физиологических про-  
цессах, так и в развитии патологии, например при раневых и  
инфекционных процессах [6–8]. Основная функция этих бел-  
ков заключается в разрушении компонентов внеклеточного  
матрикса и его ремоделировании, они также участвуют в про-  
цессах пролиферации, миграции и морфогенеза [7, 8].

Целью данного исследования был анализ литературных  
данных о роли ММП в механизмах развития рубцовых изме-  
нений кожи.

В настоящее время первичную диагностику рубцовых изменений кожи и оценку изменений в процессе лечения проводят главным образом по немногочисленным клиническим признакам. Как правило, учитывают наличие субъективных ощущений (зуд, чувство стягивания и др.), цвет рубца, его размеры, форму и плотность. Недостатком является то, что такая оценка всегда имеет субъективный характер, к тому же между 2 точками (начало и завершение лечения) существует большой временной интервал, и детальное исходное состояние рубца иногда успевают забыть не только врач, но и пациент [9].

Помимо сложности объективной оценки исходного состояния рубца, разработку методов и алгоритмов лечения существенно затрудняют следующие факторы:

- медленная реакция соединительной ткани на проводимую терапию;
- способность рубцовой ткани к спонтанной регрессии, что нередко приводит к ложноположительным выводам об эффективности того или иного метода;
- отсутствие методов объективного контроля, характеризующих рост и состояние рубцовой ткани [2, 10, 11].

Особую актуальность в настоящее время приобретает направление, связанное с разработкой и внедрением в практику методов исследования кожи *in vivo*. Достижения в этой области создают предпосылки для более глубокого понимания физиологических механизмов, а также этиологии и патогенеза патологических состояний, что позволит успешно решать вопросы диагностики, лечения и профилактики многих кожных заболеваний [11, 12].

Как известно, фиброгенез — образование рубцовой ткани на месте травмы кожи — осуществляется в основном при участии тучных клеток, лимфоцитов, макрофагов и фибробластов [13]. Пусковой вазоактивный момент осуществляется с помощью тучных клеток, выделяемые ими биологически активные вещества способствуют привлечению лимфоцитов в очаг поражения [13, 14]. Продукты распада тканей активируют Т-лимфоциты, посредством продукции лимфокинов задействуют макрофаги в фибробластическом процессе или напрямую стимулируют макрофаги протеазами [14–16]. Мононуклеары не только стимулируют функцию фибробластов, но и тормозят их, выступая в качестве истинных регуляторов фиброгенеза, выделяя медиаторы воспаления и другие протеазы [14, 15].

ММП — цинкзависимые эндопептидазы, участвующие в деградации внеклеточного матрикса. Показано участие ММП в структурной перестройке тканей и ангиогенезе [7, 8]. Большинство ММП секретируются клетками в виде неактивных ферментов, при этом в тканях обнаруживается незначительное их количество. Активация этих ферментов приводит к протеолитической деградации окружающих клетку белков. Повышенная активность ММП может обусловить избыточное повреждение ткани.

Хотя основной функцией ММП является разрушение внеклеточного матрикса, ММП также разрезают пептидные цепочки и регулируют активность ряда других внеклеточных биологически активных субстратов.

ММП подразделяются на 4 группы: коллагеназы, желатиназы, стромелизины и ММП мембранного типа. К коллагеназам относятся ММП-1, ММП-8 и ММП-13, они расщепляют коллагены 1-го и 3-го типа, оба присутствуют в рубцовой ткани [17, 18]. Активность ММП регулируется с помощью тканевых ингибиторов металлопротеиназ (ТИМП) — ТИМП-1, -2, -3 и -4, которые ингибируют ММП [6].

ММП-1 (коллагеназа-1) экспрессируется в нормальных клетках (таких как фибробласты, макрофаги, эндотелиальные и эпителиальные клетки), а также в различных опухолевых клетках [19].

Описаны клинические ассоциации однонуклеотидных полиморфизмов в генах металлопротеиназ с развитием широкого спектра патологии различных органов и систем, среди которых болезни сердечно-сосудистой системы, возрастная макулодистрофия, онкологические заболевания, патология женской репродуктивной системы [20, 21].

В ряде исследований изучена роль ММП в формировании келоидных и гипертрофических рубцов. Установлено, что ММП, участвующие в образовании рубцов, секретируются непосредственно фибробластами [21, 22]. Нарушение равновесия экспрессии ММП и ТИМП является вероятным механизмом, способствующим изменениям синтеза и резорбции коллагена и в результате приводящим к формированию келоидных и гипертрофических рубцов [23, 24].

Активность ММП-1 (коллагеназы-1), инициирующей деградацию коллагена I, может быть пониженной в гипертрофированных рубцах по сравнению с кожей в норме [24]. В то же время ММП-2 в келоидных и гипертрофических рубцах более активна, чем в нормальной коже [25, 26]. Установлено, что усиленная активность ММП-2 за счет разрушения внеклеточного матрикса на периферии келоида может способствовать миграции и инвазии келоидных фибробластов в окружающую неизмененную ткань [21]. Этот процесс приводит к постепенному расширению келоида за пределы изначального повреждения [27].

Дозозависимое снижение миграционной активности (и уровня коллагена) в присутствии ингибитора ММП широкого спектра действия GM6001 указывает на непосредственную роль ММП в данном процессе, а следовательно, и на потенциальную возможность терапевтического применения ингибиторов ММП в лечении келоидов [27]. Основываясь на предположении о том, что ММП могут способствовать экспансии келоида за счет разрушения внеклеточного матрикса на периферии келоида, целесообразно проведение исследования для углубленной оценки этих механизмов с целью обоснования и разработки новых методов лечения рубцовых изменений кожи.

Вполне возможно, что активность ММП может быть понижена в центре (способствуя чрезмерному отложению коллагена и образованию рубцовой ткани) и повышена по краям келоида (способствуя тем самым его расширению). G. Uchida и соавт. [28] на основании этой гипотезы пришли к выводу, что варибельность результатов при изучении активности коллагеназ может быть обусловлена исследованием различных областей келоидного рубца (центр и периферия). Авторами было показано, что экспрессия ММП-1 и ММП-8 в келоидных фибробластах человека ниже, чем в нормальных фибробластах, а ММП-13 — выше. При этом наиболее активная экспрессия ММП-13 наблюдалась в маргинальных фибробластах, в то время как в центральных она была ниже.

ММП-9 (желатиназа) также может играть определенную роль в формировании келоидных и гипертрофических рубцов. Показано, что этот фермент участвует в ранней репарации ткани и может быть активен в нескольких ключевых областях заживления раны.

В связи с изложенным предполагается возможная эффективность фактора роста гепатоцитов в лечении келоидов за счет способности усилить экспрессию мРНК ММП-1

и ММП-3 келоидных фибробластов человека и повышать активность ММП-2 в межклеточном матриксе келоида [29, 30]. При подкожной имплантации мыши фрагмента гипертрофической рубцовой ткани установлено, что при воздействии фактора роста фибробластов, высвобождающегося в I фазе раневого процесса, происходит увеличение экспрессии мРНК ММП-1 и самого фермента, что способствует деградации коллагена [18].

В качестве других направлений лечения рубцов предлагается контроль уровня трансформирующего фактора роста (ТФР $\beta$ ) и уровня ММП. Показано, что ТФР $\beta$  снижает продукцию ММП-1 в келоидной ткани человека, в то время как применение анти-ТФР $\beta$ -антител позволяет добиться увеличения синтеза ММП-1 [27]. Использование ТФР $\beta$  в роли супрессора ММП с целью лечения гипертрофических рубцов оценивали в экспериментах на кроликах. Показано, что олеаноловая кислота (натуральный тритерпеноид) понижала уровень ТФР и повышала уровень ММП-1, что приводило к уменьшению содержания коллагена I и III в ткани гипертрофического рубца [31].

У. Куо и соавт. [32] установлено, что лечение келоида импульсным лазером на красителях после биопсии приводило к снижению экспрессии ТФР $\beta$  и повышению экспрессии ММП-13, что могло способствовать регрессу рубца.

В связи с тем, что клетки иммунной системы, в том числе CD3<sup>+</sup>-лимфоциты, экспрессируют фиброгенные факторы (ТФР $\beta$ ), подавляющие ММП-1, выдвинуто предположение, что снижение количества иммунных клеток в поврежденной ткани способствует менее выраженному рубцеванию [33].

Изучению способности ММП влиять на миграцию фибробластов и расширение келоида посвящено несколько отдельных исследований. В частности, G. Uchida и соавт. [28] обнаружили, что третиноин способен снижать повышенный уровень экспрессии ММП-13 и соответствующей мРНК, а также повышенный уровень ММП-1 и ММП-8. Выдвинуто предположение, что снижение ММП-1 и ММП-8 способствует накоплению коллагена I и III, в то время как повышение экспрессии ММП-13 приводило к ремоделированию периферического матрикса с последующим распространением келоида.

В других исследованиях закрепление ТИМП-1 на поверхности дермальных фибробластов человека с помощью гликозилфосфатидинозитолового якоря приводило к снижению секреции ММП-2 и ММП-9, уменьшению миграции и пролиферации фибробластов, а также снижению экспрессии профибротических генов [34, 35].

A. Tandaga, T. Mustoe [22] показали, что по сравнению с монокультурой кератиноцитов, в смешанной культуре фибробластов и кератиноцитов человека обнаруживается повышение активности ММП (в том числе ММП-1) и снижение содержания коллагена I [22]. Соответственно, можно предположить, что за счет изменения активности ММП через паракринные взаимодействия между кератиноцитами и фибробластами возможно модулировать баланс между синтезом и деградацией коллагена, влияя таким образом на формирование рубца [36].

В ряде исследований показана способность продуцируемого кератиноцитами стратифина (белок 14-3-3- $\sigma$ ) повышать экспрессию ММП-1 и ММП-3 в фибробластах дермы человека, препятствуя отложению коллагена I и III [36–38]. Выделяемый кератиноцитами стратифин таким образом может регулировать синтез коллагена фибробластами в фазу ремоделирования.

Терапия стратифином может проводиться местно, путем непосредственного введения в рану. В экспериментах показано, что раны, обработанные карбоксиметилцеллюлозным гелем, содержащим стратифин, принимают вид плоских зрелых рубцов [37, 38].

В целом мнения большинства исследователей сегодня сходятся в том, что залогом высокой эффективности терапии рубцов является правильное сочетание применения патогенетически обоснованных технологий. Отсюда вытекает необходимость поиска новых патогенетических средств лечения рубцов, поскольку понимание различных механизмов образования рубцов не только объясняет разнообразие их клинических проявлений, но и позволяет обосновать основные направления дальнейших исследований, апробации новых способов лечения и оценки их эффективности.

Объективную сложность представляет обоснование дифференцированной тактики реабилитации, эффективность которой определяется установлением рационального применения ряда методов в зависимости от типа рубца и активности рубцового процесса. К сожалению, поиск неинвазивных методов объективных характеристик рубцовой ткани до последнего времени не привел к ожидаемым клиническим результатам.

В последние годы появляется все больше сообщений о роли ММП в образовании рубцов. Показано, что нарушение регуляции активности ММП наблюдается при ряде заболеваний и патологических состояний. Полученные данные позволяют предполагать, что в перспективе определение нормального и патологического паттерна концентраций ММП и их тканевых ингибиторов предположительно может быть использовано в качестве прогностического маркера развития рубцовой ткани. Изложенное свидетельствует о высокой актуальности проведения дальнейших исследований, направленных на комплексное изучение эффективности различных медицинских технологий, используемых с учетом понимания патогенетических особенностей формирования рубцовых изменений кожи.

## Литература

1. Стенько А.Г., Круглова Л.С., Шматова А.А. и др. Консервативное лечение формирующихся рубцов: обзор современных технологий // Вестник эстетической медицины. – 2014; 13 (2): 42–50.
2. Тарасенкова М.С., Юцковская Я.А., Наумчик Г.А. и др. Современные методы профилактики постоперационных патологических рубцов кожи // Эксперим. и клин. дерматокосметол. – 2010; 3: 50–4.
3. Roh Y., Seo C., Jang K. Effects of a skin rehabilitation nursing program on skin status, depression, and burn-specific health in burn survivors // Rehabil. Nurs. – 2010; 35 (2): 65–9.
4. Mamalis A., Jagdeo J. Light-emitting diode-generated red light inhibits keloid fibroblast proliferation // Dermatol. Surg. – 2015; 41 (1): 35–9.
5. Wang A., Zhang W., Liang F. et al. Pre-expanded thoracodorsal artery perforator-based flaps for repair of severe scarring in cervicofacial regions // J. Reconstr. Microsurg. – 2014; 30 (8): 539–46.
6. Gill S., Parks W. Metalloproteinases and their inhibitors: regulators of wound healing // Int. J. Biochem. Cell Biol. – 2008; 40: 1334–47.
7. Герштейн Е.С., Левкина Н.В., Дигаева М.А. и др. Матриксные металлопротеиназы-2, -7, -9 и тканевой ингибитор металлопротеиназ 1-го типа в опухолях и сыворотке крови больных с новообразованиями яичников // Бюл. эксперим. биол. и медицины. – 2010; 149 (5): 562–5.
8. Nissi R., Talvensaari-Mattila A., Kotila V. et al. Circulating matrix metalloproteinase MMP-9 and MMP-2/TIMP-2 complex are associated with spontaneous early pregnancy failure // Reprod. Biol. Endocrinol. – 2013; 15 (11): 2
9. Cho S., Ryu D., Lee S. et al Scar characteristics and treatment expectations: a survey of 589 patients // Cosmet. Laser Ther. – 2009; 11 (4): 224–8.

10. Wagner W., Alfrink M., Micke O. Results of prophylactic irradiation in patients with resected keloids a retrospective analysis // *Acta. Oncol.* – 2000; 39 (2): 217–20.
11. Марголина А.А., Эрнандес Е.И., Зайкина О.Э. Новая косметология / М.: Косметика и медицина, 2002; 208 с.
12. Матыцин В.О., Михеева Н.В. Методы инструментальной диагностики и функционального состояния кожи // *Натуральная фармакол. и косметол.* – 2005; 2: 35–7.
13. Снарская Е.С. Комплексная терапия эстетических дефектов кожи в результате патологического фиброгенеза // *Дерматология. Приложение к журналу Consilium Medicum.* – 2013; 2–3: 15–20.
14. Артыков К.П., Саидов М.С., Мухамадиева К.М. Влияние иммуномодулирующей терапии на результаты хирургической коррекции келоидных рубцов кожи // *Доклады Академии наук Республики Таджикистан.* – 2014; 57 (2): 164–9.
15. Chen J., Wang J., Zhuang H. Influence of substance P on the proliferation and apoptosis of fibroblasts of pathological scars // *Zhonghua Shao Shang ZaZhi.* – 2006; 22 (4): 277–80.
16. Sauder D.N. Cutaneous immunobiology // *Ann. Dermatol. Venereol.* – 2002; 129: 274–83.
17. Wolfram D., Tzankov A., Polzl P. et al. Hypertrophic scars and keloids. A review of their pathophysiology, risk factors, and therapeutic management // *Dermatol. Surg.* – 2009; 35: 171–81.
18. Eto H., Suga H., Aoi N. et al. Therapeutic potential of fibroblast growth factor-2 for hypertrophic scars: upregulation of MMP-1 and HGF expression // *Lab. Invest.* – 2012; 92: 214–23.
19. Катунина А.И., Герштейн Е.С., Терешкина И.В. и др. Матриксные металлопротеиназы в опухолях больных раком молочной железы // *Клин. лаб. диагностика.* – 2010; 9: 27–7а.
20. Ortak H., Demir S., Ateş Ö. et al. The role of MMP2 (–1306C>T) and TIMP2(–418G>C) promoter variants in age-related macular degeneration // *Ophthalmic Genet.* – 2013; 34 (4): 217–22.
21. Imaizumi R., Akasaka Y., Inomata N. et al. Promoted activation of matrix metalloproteinase (MMP)-2 in keloid fibroblasts and increased expression of MMP-2 in collagen bundle regions: implications for mechanisms of keloid progression // *Histopathology.* – 2009; 54: 722–30.
22. Tandara A., Mustoe T. MMP- and TIMP-secretion by human cutaneous keratinocytes and fibroblasts – impact of coculture and hydration // *J. Plast. Reconstr. Aesthet. Surg.* – 2011; 64: 108–16.
23. Ulrich D., Ulrich F., Unglaub F. et al. Matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases in patients with different types of scars and keloids // *J. Plast. Reconstr. Aesthet. Surg.* – 2010; 63: 1015–21.
24. Simon F., Bergeron D., Laroche S. et al. Enhanced secretion of TIMP-1 by human hypertrophic scar keratinocytes could contribute to fibrosis // *Burns.* – 2012; 38: 421–7.
25. Taghiabadi E., Mohammadi P., Aghdami N. et al. Treatment of Hypertrophic Scar in Human with Autologous Transplantation of Cultured Keratinocytes and Fibroblasts along with Fibrin Glue // *Cell J.* – 2015; 17 (1): 49–58.
26. Sadick H., Herberger A., Riedel K. et al. TGF-beta1 antisense therapy modulates expression of matrix metalloproteinases in keloid-derived fibroblasts // *Int. J. Mol. Med.* – 2008; 22: 55–60.
27. Fujiwara M., Muragaki Y., Ooshima A. Keloid-derived fibroblasts show increased secretion of factors involved in collagen turnover and depend on matrix metalloproteinase for migration // *Br. J. Dermatol.* – 2005; 153: 295–300.
28. Uchida G., Yoshimura K., Kitano Y. et al. Tretinoin reverses upregulation of matrix metalloproteinase-13 in human keloid derived fibroblasts // *Exp. Dermatol.* – 2003; 12 (Suppl. 2): 35–42.
29. Chavez-Munoz C., Hartwell R., Jalili R. et al. Application of an indoleamine 2,3-dioxygenase-expressing skin substitute improves scar formation in a fibrotic animal model // *J. Invest. Dermatol.* – 2012; 132: 1501–5.
30. Li Y., Kilani R., Rahmani-Neishaboore E. et al. Kynurenine increases matrix metalloproteinase-1 and -3 expression in cultured dermal fibroblasts and improves scarring in vivo // *J. Invest. Dermatol.* – 2014; 134: 643–50.
31. Wei Y., Yan X., Ma L. et al. Oleanolic acid inhibits hypertrophic scarring in the rabbit ear model // *Clin. Exp. Dermatol.* – 2011; 36: 528–33.
32. Kuo Y., Wu W., Jeng S. et al. Suppressed TGF-beta1 expression is correlated with up-regulation of matrix metalloproteinase-13 in keloid regression after flashlamp pulsed-dye laser treatment // *Lasers Surg. Med.* – 2005; 36: 38–42.
33. Rahmani-Neishaboore E., Yau F., Jalili R. et al. Improvement of hypertrophic scarring by using topical anti-fibrogenic/anti-inflammatory factors in a rabbit ear model // *Wound Repair Regen.* – 2010; 18: 401–8.
34. Djafarzadeh R., Conrad C., Notohamiprodo S. et al. Cell surface engineering using glycosylphosphatidylinositol anchored tissue inhibitor of matrix metalloproteinase-1 stimulates cutaneous wound healing // *Wound Repair Regen.* – 2014; 22: 70–6.
35. Stuart K., Paderi J., Snyder P. et al. Collagen-binding peptidoglycans inhibit MMP mediated collagen degradation and reduce dermal scarring // *PLoS One.* – 2011; 6: e22139.
36. Ghahary A., Karimi-Busheri F., Marcoux Y. et al. Keratinocyte-releasable stratifin functions as a potent collagenase-stimulating factor in fibroblasts // *J. Invest. Dermatol.* – 2004; 122: 1188–97.
37. Rahmani-Neishaboore E., Jackson J., Burt H. et al. Composite hydrogel formulations of stratifin to control MMP-1 expression in dermal fibroblasts // *Pharm. Res.* – 2009; 26: 002–2014.
38. Lee W., Ahn H., Roh H. et al. Decorin-expressing adenovirus decreases collagen synthesis and upregulates MMP expression in keloid fibroblasts and keloid spheroids // *Exp. Dermatol.* – 2015; 24 (8): 591–7.

#### MATRIX METALLOPROTEINASES AS PATHOGENETIC AND DIAGNOSTIC BIOMARKERS FOR SKIN SCARS

*E. Luchina, Candidate of Medical Sciences*

*S.M. Kirov Military Medical Academy, Saint Petersburg*

*To develop optimal treatments for skin scarring changes, it is necessary to understand the pathogenesis of the wound process that is a complex set of biological reactions.*

**Key words:** dermatology, scarring tissue, biomarkers, matrix metalloproteinases.