

Л.А. Казеко

Роль матриксных металлопротеиназ в развитии заболеваний периодонта

УО «Белорусский государственный медицинский университет»

Современный уровень развития периодонтологии определяет необходимость поиска диагностических критериев, позволяющих достоверно определить уровень активности заболеваний периодонта, выявить пациентов с высоким риском развития быстро прогрессирующих форм, прогнозировать их течение. Особого внимания заслуживает исследование десневой жидкости и слюны, как основных биологических сред. Деструкция тканей поддерживающего аппарата зуба происходит вследствие деградации компонентов экстрацеллюлярного матрикса. Важную роль в этом процессе играют матриксные металлопротеиназы.

Ключевые слова: десневая жидкость, слюна, матриксные металлопротеиназы.

Диагностика деструктивных форм заболеваний периодонта, традиционно, основана на данных клинического (измерение глубины периодонтальных карманов и утери прикрепления) и рентгенологического (оценка состояния альвеолярной кости) обследования, которые позволяют оценить степень тяжести уже развившегося заболевания. Ткани периодонта подвержены широкому спектру деструктивных изменений, не всегда возможно предопределить каким будет течение заболевания (длительным хроническим или быстро прогрессирующим (агрессивным)), что и определяет необходимость поиска дополнительных диагностических критериев, которые позволят получить информацию о прогрессировании процесса, принадлежности пациента к той или иной группе риска, эффективности проводимого лечения.

В последние годы рядом авторов [3, 9, 11, 12, 15] был проявлен интерес к поиску биомаркера, позволяющего достоверно определить уровень активности заболеваний периодонта, прогнозировать их течение, выявить пациентов с высоким риском развития быстро прогрессирующих форм. Особого внимания заслуживает исследование десневой жидкости и слюны, как основных биологических сред, содержащих ферменты и их ингибиторы, продукты деструкции тканей, ферменты бактериального происхождения, а при воспалении – большое количество нейтрофильных лейкоцитов, вырабатывающих целый ряд медиаторов воспаления и факторов повреждения тканей [3, 9, 16, 26].

Как известно, этиологическим фактором, определяющим начало заболеваний периодонта, являются бактериальные агенты [27]. Патогенез заболевания включает неспецифическую воспалительную реакцию и иммунный ответ. Воспалительный каскад начинается с проникновения липополисахаридов (ЛПС) с поверхности грамотрицательных микроорганизмов в ткани периодонта. ЛПС стимулирует выработку моноцитами и макрофагами медиаторов воспаления, таких как простогландин E2 (PGE2), интерлейкины (IL-1, -6 и -8), фактор некроза опухолей альфа (TNF α), которые, в свою очередь, активизируют сосудистые гладкомышечные клетки, фибробласты, остеокласты и другие клетки.

Заболевания периодонта можно охарактеризовать как патологический процесс, приводящий к повреждению и деструкции опорных тканей зуба. Компоненты экстрацеллюлярного матрикса, такие как коллагены, фибронектин и протеогликаны являются основными структурными биополимерами, обеспечивающими тканевую целостность. Деструкция тканей поддерживающего аппарата зуба происходит вследствие деградации компонентов экстрацеллюлярного матрикса и приводит к необратимой потере соединительной ткани периодонта и альвеолярной кости. По данным ряда авторов [15, 22, 23, 27] важную роль в данном патологическом процессе играют матриксные металлопротеиназы (ММР). ММР – цинкзависимые эндопептидазы, выделяемые, в основном, полиморфноядерными лейкоцитами (ПЯЛ) в активной фазе периодонтита и ответственные за деградацию матрикса [1].

Описано более 20 членов семейства ММР, которые, в зависимости от свойств и субстратной специфичности, делятся на подсемейства: интерстициальные коллагеназы (ММР-1 (коллагеназа-1), ММР-8 (коллагеназа-2), ММР-13 (коллагеназа-3)), стромелизины (ММР-3 (стромелизин-1), ММР-10 (стромелизин-2), ММР-11 (стромелизин-3) и ММР-12 (макрофагальная металлоэластаза)), желатиназы (ММР-2 (желатиназа-А), ММР-9 (желатиназа-В)), матрилизины (ММР-7, ММР-26), мембранный тип ММР (трансмембранный тип и GPI-фиксируемая эластаза) и другие ММР, включая металлоэластазы (макрофагальная эластаза, ММР-12), энамелизин (ММР-20), эпилизин (ММР-28), ММР-19,-21,-23, и-27 [1].

Коллагеназы - высокоспецифичные протеиназы, обнаруженные во многих тканях, катализируют начало распада коллагена. Высокая специфичность коллагеназ обусловлена узкой субстратной специфичностью: в белках они гидролизуют строго определенные пептидные связи. В биопсиях пораженных тканей периодонта обнаружены ММР – 1, 2, 3, 8, 9, в то время как здоровая десна содержит только proММР – 2, а ткани периодонта защищены тканевым ингибитором металлопротеиназ (TIMP) [11].

ММР-1 экспрессируется, главным образом, фибробластами, эндотелиальными клетками, моноцитами, макрофагами, остеобластами, хондроцитами, опухолевыми клетками.

В настоящее время коллагеназу I или коллагеназу I типа (ММР-1), которая получила свое название за способность расщеплять коллаген I типа, стали называть «интерстициальной» коллагеназой, чтобы подчеркнуть ее способность гидролизовать три интерстициальных коллагена – I, II и III, которые существенно отличаются друг от друга.

Выраженная экспрессия фермента отмечается у пациентов с локализованным ювенильным периодонтитом [9]. Уровень ММР-1 в десневой жидкости при хронических периодонтитах повышается [3].

ММР-8 (коллагеназа 2, нейтрофильная коллагеназа) была открыта в нейтрофилах [1], за что и получила название нейтрофильной коллагеназы. ММР-8 синтезируется дифференцированными гранулоцитами в костном мозге и накапливается в специфических гранулах циркулирующих нейтрофилов. Однако, есть и другие клеточные источники ММР-8, такие как клетки эпителия десневой борозды, фибробласты десны и периодонтальной связки, моноциты, макрофаги, плазматические клетки [13].

Субстратом экстрацеллюлярного матрикса для MMP-8 являются коллагены I, II, III, VII, X, желатин, протеогликаны, брадикинин, ангиотензин 1, фибриноген, субстанция P, агрекан [8]. MMP-8 играет важную роль в деструкции периодонтальной ткани и является «главной» коллагеназой при хроническом периодонтите [13, 23].

MMP-8 обнаруживается в зубном налете, а также в большом количестве присутствует в воспаленной ткани десны [10, 13]. Экстракты десневой ткани пациентов с периодонтитом в отличие от десневой ткани здоровых лиц содержат повышенную концентрацию MMP-8 в каталитически активной форме. Повышенный уровень MMP – 8 в слюне пациентов с периодонтитами в сравнении со здоровыми пациентами был определен в ряде исследований [11, 19].

При хроническом периодонтите MMP-8 обеспечивает 90-95 % коллагеназной активности десневой жидкости [11]. В течение прогрессирующей фазы периодонтита уровень MMP-8 значительно увеличивается и фермент почти полностью переходит в активную форму [23]. Наиболее высокая активность коллагеназы 2 обнаруживается в десневой жидкости у пациентов с прогрессирующей утерей эпителиального прикрепления [18]. Высокая активность коллагеназы определяется в слюне пациентов с нелеченным хроническим периодонтитом и агрессивным периодонтитом [2, 19]. Отмечена сильная корреляция MMP – 8 с клиническими показателями хронического периодонтита – глубиной периодонтального кармана и уровнем эпителиального прикрепления, поэтому концентрация MMP – 8 в слюне может быть индикатором не только тяжести, но и активности заболевания.

Установлено значительное снижение активности MMP-8 в десневой жидкости после успешно проведенной периодонтальной терапии [8, 17].

MMP-13 (коллагеназа 3) экспрессируется эпителиальными клетками в ответ на действие различных экзогенных факторов. MMP-13 в десять раз активнее других коллагеназ разрушает коллаген [1].

MMP-13 экспрессируется эпителием периодонтальных карманов. У пациентов с периодонтитом в десневой жидкости MMP-13 была обнаружена как в активной, фрагментированной форме, так и в виде профермента [13, 23].

Желатиназы. Желатиназы интенсивно гидролизуют желатины, получаемые из различных типов коллагенов, в связи с чем получили свое название.

При периодонтитах главным источником желатиназы В (MMP-9) являются нейтрофилы и в меньшей степени моноциты и макрофаги. MMP-9 является основной желатиназой при хроническом периодонтите в десневой ткани, зубном налете, слюне и десневой жидкости [11, 14]. В десневой жидкости MMP-9 была обнаружена в большинстве проб у пациентов с периодонтитом (97.8 %), и только в 11.4 % проб у пациентов с гингивитом [22]. Самая высокая активность желатиназы была зарегистрирована у пациентов с прогрессирующей утерей прикрепления или во время формирования периодонтального абсцесса. Есть предположение, что MMP-9 может быть использована в качестве маркера риска прогрессирования заболеваний периодонта [20].

Повышение уровня желатиназы А (MMP-2) и желатиназы В (MMP-9) в десневой жидкости, регистрируемое при периодонтитах, снижается после проведения адекватной периодонтальной терапии [3, 11, 15].

Стромелизины. Семейство стромелизинов представлено 4 ферментами: ММР-3 (стромелизин-1), ММР-10 (стромелизин-2), ММР-11 (стромелизин-3) и ММР-12 (макрофагальная металлоэластаза). Стромелизины не расщепляют коллаген самостоятельно, а действуют синергично с коллагеназами и желатиназами. Стромелизины являются секреторным продуктом различных клеток, таких как моноциты, эндотелиальные клетки, хондроциты, десневые фибробласты и эффективны в процессах деградации многочисленных субстратов внеклеточного матрикса, включая желатин, протеогликаны, ламинин, фибронектин и коллагены IV и IX типа [1]. В дополнение к способности деградировать различные соединительнотканые компоненты стромелизины участвуют в каскадах протеолитической активации латентной про-ММР-1, -8 и -9. Деструкция коллагена, вызываемая ММР-3, может быть основной составляющей деструкции соединительной ткани при периодонтитах [3, 24].

ММР-7 (матрилизин-1) синтезируется эпителиальными клетками и способен активизировать несколько ргоММР, включая ргоММР-8. ММР-7 связывают с эпителиальной миграцией [7] и с антибактериальной защитой эпителия прикрепления [27]. Матрилизин экспрессируется супрабазальными клетками эпителия прикрепления и эпителиальными островками Маляссе [29].

Роль ММР-7 в эпителии прикрепления пока неясна. При том, что сам матрилизин не обладает антимикробной активностью, он преобразует антибактериальные пептиды дефензина в их активные формы путем расщепления пропептида [1]. Дефензины - катионные пептиды, локализованные в нейтрофилах и эпителиальных клетках, играют важную роль в антимикробной защите. β дефензины 1 и 2 были обнаружены в десневом эпителии. Установлено, что их экспрессия стимулируется некоторыми микроорганизмами полости рта. Матрилизин может также управлять воспалительной реакцией в эпителии прикрепления, расщепляя поверхностные клеточные и матриксные белки или протеогликаны, таким образом организуя биоактивные вещества [30].

Мембраносвязанные матриксные металлопротеиназы (МП-ММР) в отличие от других металлопротеиназ проявляют свою активность на поверхности клетки. Культивируемые десневые фибробласты от пациентов с периодонтитами способны экспрессировать и секретировать растворимую форму ММР-14 [5], которая поддается обнаружению в десневой жидкости при периодонтите [23]. ММР-14 может активизировать другие ММР в том числе ргоММР-8 и -13 [5, 6]. ММР-14 может вызывать деградацию коллагенов I, II, III и таким образом активизировать ргоММР-2,-13, и-8. В десневой жидкости при поражении периодонта были также обнаружены лейколизин (MT2-ММР или ММР-25) и матрилизин-2 (ММР-26) [11].

Металлопротеиназы структурно обособлены внутри лизосом и других органелл, что предохраняет внутриклеточные белки от расщепления. Внутриклеточный распад белков протекает, главным образом, внутри лизосом, куда белки попадают в результате эндоцитоза. Внутриклеточные коллагеназы вызывают утилизацию более 40% нового коллагена в разных тканях [1, 4]. При повреждении тканей, а также под влиянием ряда факторов (некоторых гормонов, токсинов, иммунных комплексов и др.) происходит выход ММР из клеток. Это наблюдается как при физиологических, так и при ряде

патологических состояний и сопровождается локальным повышением протеолитической активности.

В плазме крови и других биологических жидкостях, а также в разных клетках и тканях присутствуют белковые ингибиторы, которые избирательно блокируют активность отдельных ферментов или групп ферментов. Системы таких ингибиторов осуществляют регуляцию активности пептид-гидролаз в физиологических условиях и предохраняют белки от неконтролируемого расщепления. Необходимым условием нормального протекания физиологических процессов является поддержание равновесия между активностью ММР и их ингибиторов.

Гомеостаз десневой жидкости поддерживается тонким равновесием между продукцией, активацией и торможением протеолитических ферментов. Баланс между экспрессией и синтезом ММР регулируется их главными эндогенными ингибиторами — тканевыми ингибиторами матриксных металлопротеиназ (ТТМР), которые синтезируются клетками соединительной ткани и лейкоцитами и формируют нековалентные комплексы с ММР [11].

Семейство тканевых ингибиторов состоит из 4 представителей. Важным свойством ТИМР-1 и ТИМР-2 является торможение развития опухолей, инвазий, метастазов посредством ингибирования активности ММР. ТИМР-1 и ТИМР-2 также участвуют в замедлении процесса ангиогенеза. ТИМР-3 был обнаружен только в экстрацеллюлярном матриксе и может считаться маркером его конечной дифференцировки. ТИМР-4 участвует в сохранении целостности экстрацеллюлярного матрикса [28].

ТИМР-1 известен как ингибитор коллагеназы фибробластов. В плазме ТИМР-1 существует в двух формах - свободной и связанной, образуя комплексы с металлопротеиназами: с ММР-1 (коллагеназой-1), ММР-2 (желатиназой А), латентной и активной формами ММР-9 (желатиназой В), ММР-3 (стромелизином-1). ТИМР-1 является компонентом экстрацеллюлярного матрикса и играет важную роль в контроле его метаболизма, необратимо ингибируя активность ММР [14, 28].

Изучение качественных и количественных характеристик ММР и их ингибиторов в десневой жидкости и в слюне представляет собой перспективное направление фундаментальных исследований, которое позволит разработать новые подходы к диагностике и прогнозированию течения заболеваний пародонта.

Литература

1. Соловьева, Н. И. Матриксные металлопротеиназы и их биологические функции / Н. И. Соловьева // Ж. Биоорг. химия. 1998. № 24. С. 217–226.
2. Atici, K. Analysis of gingival crevicular fluid intracytoplasmic enzyme activity in patients with adults periodontitis and rapidly progressive periodontitis. A longitudinal study model with periodontal treatment / K. Atici [et al.] // J. Periodontol. 1998. № 69. P. 1155–1163.
3. Beklen, A. Gingival Tissue and Crevicular Fluid Co-operation in Adult Periodontitis / A. Beklen [et al.] // J. Dent Res. 2006. Vol. 85, № 1. P. 59–63.
4. Birkedal-Hansen, H. Role of matrix metalloproteinases in human periodontal diseases / H. Birkedal-Hansen // J. Periodontol. 1993. Vol. 64. P. 474–484.

5. Cox, SW. Collagen degradation by interleukin 1.-stimulated gingival fibroblasts is accompanied by release and activation of multiple matrix metalloproteinases and cysteine proteinases / SW. Cox [et al.] // J. Oral Dis. 2006. Vol. 12. P. 34–40.
6. Dahan, M. Expression of matrix metalloproteinases in healthy and diseased human gingiva / M. Dahan [et al.] // J. Clin. Periodontol. 2001. Vol. 28. P. 128–136.
7. Dunsmore, S.E. Matrilysin expression and function in airway epithelium / S.E. Dunsmore [et al.] // J. Clin. Invest. 1998. Vol. 102. P. 1321–1331.
8. Figueredo, C.M. The short-term effectiveness of non-surgical treatment in reducing protease activity in gingival crevicular fluid from chronic periodontitis patients / C.M. Figueredo [et al.] // J. Clin. Periodontol. 2004. Vol. 31. P. 615–619.
9. Ingman, T. Salivary collagenase, elastase- and trypsin-like proteases as biochemical markers of periodontal tissue destruction in adult and localized juvenile periodontitis / T. Ingman [et al.] // J. Oral Microbiol Immunol. 1993. Vol. 8. P. 298–305.
10. Ingman, T. Immunohistochemical study of neutrophil- and fibroblast-type collagenases and stromelysin-1 in adult periodontitis / T. Ingman [et al.] // Scand J. Dent. Res. 1994a. Vol. 102. P. 342–349.
11. Ingman, T. Matrix metalloproteinases and their inhibitors in gingival crevicular fluid and saliva of periodontitis patients / T. Ingman [et al.] // J. Clin. Periodontol. 1996. Vol. 23. P. 1127–1132.
12. Kaufman, E. Analysis of saliva for periodontal diagnosis / E. Kaufman, I. B. Lamster // J. Clin. Periodontol. 2000. № 27. P. 453–465.
13. Kiili, M. Collagenase-2 (MMP-8) and collagenase-3 (MMP-13) in adult periodontitis: molecular forms and levels in gingival crevicular fluid and immunolocalisation in gingival tissue / M. Kiili [et al.] // J. Clin. Periodontol. 2002. Vol. 29. P. 224–232.
14. Maesco, G. Levels of metalloproteinase-2 and -9 and tissue inhibitor of matrix metalloproteinase-1 in gingival crevicular fluid of patients with periodontitis, gingivitis, and healthy gingival / G. Maesco, M. Bravo, F. Bascones // Quintessence Int. 2007. № 38. P. 247–252.
15. Makela, M. Matrix metalloproteinases (MMP-2 and MMP-9) of the oral cavity: cellular origin and relationship to periodontal status / M. Makela [et al.] // J. Dent. Res. Vol. 73. P. 1397–1406.
16. Miller, C. Salivary biomarkers of existing periodontal disease: a cross – sectional study / C. Miller [et al.] // J. Am. Dent. Assoc. 2006. № 137. P. 322–329.
17. Neiminen, A. The effect of treatment on the activity of salivary proteases and glycosidases in adults, with advanced periodontitis / A. Neiminen, L. Nordlund, V. J. Uitto // J. Periodontol. 1993. № 64. P. 297–301.
18. Pozo, P. Longitudinal analysis of metalloproteinases, tissue inhibitors of metalloproteinases and clinical parameters in gingival crevicular fluid from periodontitis-affected patients / P. Pozo [et al.] // J. Periodontal Res. 2005. Vol. 40. P. 199–207.
19. Rai, B. Biomarkers of periodontitis in oral fluids / B. Rai [et al.] // J. Oral Science. 2008. Vol. 50, № 1. P. 53–56.
20. Segquier, S. Is collagen breakdown during periodontitis linked to inflammatory cells and expression of matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of

- metalloproteinases in human gingival tissue / S. Segquier [et al.] // J. Periodontol. 2001. Vol. 72. P. 1398–1406.
21. Sorsa, T. The role of gingival crevicular fluid and salivary interstitial collagenases in human periodontal diseases / T. Sorsa, K. Suomalen, V.J. Uitto // Archives of Oral Biology. 1990. № 35. P. 193–196.
22. Teng, Y. T. Gingival crevicular fluid gelatinase and its relationship to periodontal disease in human subjects / Y. T. Teng, J. Sodek, C. A. McCulloch // J. Periodontal Res. 1992. Vol. 27. P. 544–552.
23. Tervahartiala, T. The in vivo expression of the collagenolytic matrix metalloproteinases I / (MMP-2, -8, -13, and -14) and matrilysin (MMP-7) in adult and localized juvenile periodontitis / T. Tervahartiala [et al.] // J. Dent. Res. 2000. Vol. 79. P. 1969–1977.
24. Tiiter, G. Effects of phase I periodontal treatment on gingival crevicular fluid levels of matrix of metalloproteinase-3 and tissue inhibitor of metalloproteinase-1 / G. Tiiter [et al.] // J. Clin. Periodontol. 2005. Vol. 32. P. 1011–1015.
25. Znang, L. The clinical value of salivary biomarkers for periodontal disease / L. Znang [et al.] // J. Periodontol. 2000. 2009. Vol. 51. P. 25–37.
26. Yoshiaki, N. Screening of periodontitis with salivary enzyme tests / N. Yoshiaki [et al.] // J. Oral Science. 2006. Vol. 48, № 4. P. 177–183.
27. Van Dyke, T. E. Resolution of inflammation: a new paradigm for the pathogenesis of periodontal diseases / T. E. Van Dyke, C. N. Serhan // J. Dent. Res. 2003. Vol. 82, № 2. P. 82–90.
28. Verstappen, J. Tissue Inhibitors of Metalloproteinases (TIMPs): Their Biological Functions and Involvement in Oral Disease / J. Verstappen, J.W. Von den Hoff // J. Dent. Res. 2006. Vol. 85, № 12. P. 1074–1084.
29. Uitto, V. J. Matrilysin (matrix metalloproteinase-7) expression in human junctional epithelium / V. J. Uitto [et al.] // J. Dent. Res. 2002. Vol. 81. P. 241–246.
30. Uitto, V. J. Proteolytic host cell enzymes in gingival crevice fluid / V. J. Uitto, CM. Overall, C. McCulloch // J. Periodontol. 2000. 2003. Vol. 31. P. 77–104.