

**РОЛЬ МЕТАЛОПРОТЕЇНАЗ МАТРИКСУ В ПРОЦЕСАХ ЗАГОЄННЯ РАН**

*Однією з проблем при лікуванні ран є недостатнє вивчення процесів загоєння на молекулярному та клітинному рівнях. Ключовими факторами, які не лише здійснюють ремоделювання базальних мембран і розщеплення екстрацелюлярного матриксу, але й регулюють процеси проліферації та міграції клітин під час загоєння, є металопротеїнази. В огляді узагальнено сучасні дані про молекулярну будову та особливості регуляції ензиматичної активності, а також роль матричних металопротеїназ у фізіологічних і патологічних процесах, пов'язаних з репарацією пошкоджень епітелію. Окремо розглянуто методи дослідження активності металопротеїназ, зокрема зимографію, та перспективи їх використання у клінічній діагностиці.*

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** матриксні металопротеїнази, загоєння ран, зимографія.

Загоєння ран реалізується через взаємодію медіаторів, які синтезуються клітинами запального інфільтрату (нейтрофілами, моноцитами, лімфоцитами, тромбоцитами), резидентними клітинами (фібробластами, гісціоцитами, епітеліальними клітинами, ендотелієм судин) та компонентами екстрацелюлярного матриксу (ЕЦМ). Міжклітинна та клітинно-матриксна взаємодія в ділянці рани формує складний каскад процесів, які тісно пов'язані між собою і включають коагуляцію, запальну реакцію, синтез та накопичення компонентів ЕЦМ, неоваскуляризацію, контракцію, ремоделювання ЕЦМ і реепітелізацію [5]. Ключову роль у процесах міграції та проліферації клітин ранової поверхні відіграють ензими суперродни матриксних металопротеїназ (ММП), до якої належать Zn-залежні ендопептидази (ЕС 3.4.24.\*; ММП-1 – ЕС 3.4.21.32). Традиційно вважалося, що головною функцією ММП є деградація компонентів ЕЦМ [24]. Новим поштовхом до більш детальних досліджень функцій ММП стали відомості про те, що, крім руйнівної, ММП виконують також регуляторну функцію, здійснюючи процесинг біологічно активних речовин. Наразі відомо, що ММП залучаються та контролюють цілу низку клітинних процесів, а саме: проліферацію, адгезію, міграцію, диференціацію та апоптоз [1, 13, 29]. Саме ММП належить провідна роль у забезпеченні реепітелізації в ході загоєння шкірних ран. Проте слід відзначити, що інформація стосовно ролі

ММП у процесах загоєння ран є розрізною та не позбавлена певних протиріч. Зокрема, практично не розв'язаним є питання щодо ролі ММП у двох основних варіантах патологічного загоєння: рани, загоєння яких супроводжується надмірним накопиченням сполучної тканини та формуванням рубця, і рани, що тривалий час не загоюються. Припускають, що однією з причин, які сприяють надлишковій фіброплазії, є недостатня активність ензиматичних систем, що відповідають за деградацію ЕЦМ, перш за все ММП. На противагу цьому, аномально високу активність ММП спостерігають у проблемних ранах [8, 15]. Враховуючи комплексність організації молекулярного і субклітинного ансамблю, з участю компонентів якого здійснюються процеси загоєння ран, надзвичайно складно ідентифікувати причини порушень активності протеїназ, що, у свою чергу, практично унеможливує ефективну корекцію патологічного загоєння. З цього приводу можна окреслити коло питань, висвітлення яких дозволить наблизитися до розуміння значення ММП у репаративних процесах з метою розробки методів регуляції протеолітичних процесів медикаментозними методами: 1) визначення кореляції між активністю різних ММП і станом ранової поверхні на різних етапах загоєння; 2) причини ензиматичного дисбалансу під час загоєння; 3) розробка чітких критеріїв оцінки ефективності роботи протеїназ у ранах різного типу (варикозні виразки, діабетичні рани, пролежні, рани, що

© О. М. Петренко, А. О. Тихомиров, 2013.

тривало не загоюються, тощо); 4) вплив індивідуальних особливостей пацієнтів (вік, наявність супутньої патології, гормональний статус тощо) на стан протеолітичних систем при загоєнні; 5) синергічні зв'язки між функціонуванням ММП та протеїназами інших типів, зокрема ензимів системи плазміноген/плазмін.

Отже, метою цього огляду є систематизація та критичний аналіз сучасних даних щодо ролі ММП у загоєнні епідермальних ран і значення даних протеїназ у хронічному запальному рановому процесі.

**КЛАСИФІКАЦІЯ ТА ВЛАСТИВОСТІ.** Усі ММП характеризуються наявністю іонів  $Zn^{2+}$  в активному центрі та потребують іонів  $Ca^{2+}$  для стабілізації молекули. ММП мають мультидоменну структуру, кожний з доменів відповідає за певну функцію: збереження у латентному стані, секрецію, субстратну специфічність і каталіз. Окрім того, усі ММП характеризуються структурним консерватизмом. Про-домен, що містить консервативну послідовність *PRCGXPD*, є необхідним для збереження ММП у латентній формі. Він відщеплюється лише у процесі активації проензиму. Каталітичний домен включає три консервативні залишки гістидину в комплексі з іонами  $Zn^{2+}$ . С-кінцева частина молекули містить гемопексиноподібний домен, який відповідає за субстратну специфічність та взаємодію з рецепторами на поверхні клітин [9, 10, 29]. Доменну структуру ММП наведено на рисунку 1.

На сьогодні описано 28 ММП, серед яких 24 синтезуються у тканинах ссавців. Класифікація ММП є достатньо складною. Раніше ММП класифікували на основі субстратної специфічності. Однак, оскільки ММП проявляють перехресну протеолітичну активність відносно багатьох субстратів, наведену класифікацію вважають досить умовною. Згідно з нею, всі ММП поділяють на 13 класів: ММП-1 (колагеназа, колагеназа фібробластів, міжтканинна

ММП), ММП-2 (желатиназа А, 72 кДа желатинази, желатиназа нейтрофілів, колагеназа типу IV), ММП-3 (стромелізин-1, транзин), ММП-7 (матрилізин, PUMP), ММП-8 (нейтрофільна колагеназа, колагеназа-1), ММП-9 (92 кДа желатинази, желатиназа В), ММП-10 (стромелізин-2), ММП-11 (стромелізин-3), ММП-12 (металоеластаза макрофагів), ММП-13 (колагеназа-3) [4, 40].

Оскільки ММП здійснюють деградацію ЕЦМ та ремоделювання тканин, то у здоровій тканині дані ензими присутні у слідовій кількості, за винятком ММП-7, яку конститутивно синтезують епітеліальні клітини. Натомість, активація експресії ММП відбувається при пошкодженнях шкіри, загоєванні ран та деяких хворобах. Крім кератиноцитів, певні ММП синтезуються широким спектром клітин: фібробластами, ендотеліоцитами, макрофагами, гепатоцитами, хондроцитами, остеобластами й остеокластами, лейкоцитами, клітинами гладеньких м'язів, моноцитами, трофобластами, клітинами багатьох залоз внутрішньої секреції тощо. ММП секретуються в неактивній формі (за винятком ММП-11 та ММП-28). Кількість ММП, що синтезуються *de novo*, регулюється, головним чином, на рівні транскрипції. Активація ММП відбувається парацелюлярно шляхом відщеплення про-домена, дисоціації зв'язків  $Cys-Zn^{2+}$  та формування активного центру в каталітичному домені. В активації проензимів важлива роль належить плазміну. Показано активацію плазміном про-колагенази-1, про-колагенази-3, про-желатинази В та про-стромелізину. Про-желатиназа А активується на поверхні клітини шляхом протеолізу мембраноасоційованою MMP-1. ММП-14 активує про-колагеназу-3 (ММП-13). Активація мембранних ММП також здійснюється плазміном [7, 15].

Інгібування активних ММП здійснюється  $\alpha_2$ -макроглобуліном і тканинними інгібіторами ММП (TIMP, або TIMP – Tissue Inhibitor of Metallo-

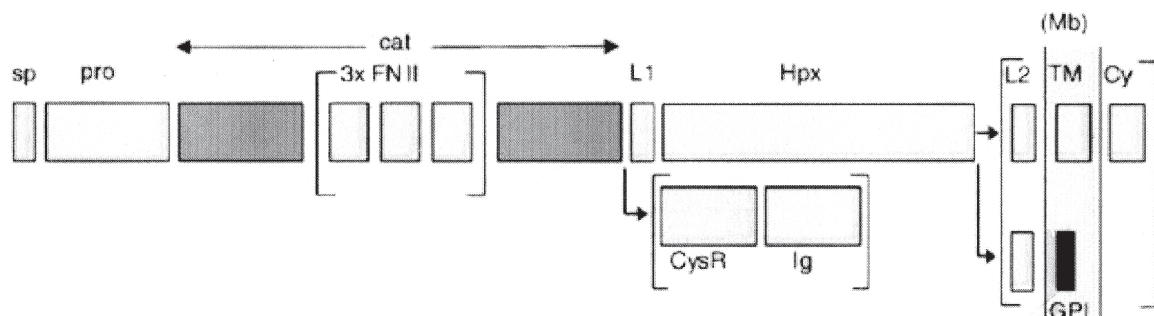


Рис. 1. Схема доменної будови матричних металопротеїназ (sp – NH<sub>2</sub>-кінцева сигнальна послідовність, pro – про-домен, cat – каталітичний домен, FNII – фібронектиновий мотив зв'язування колагену II типу; L1 – лінкер 1, Hpx – гемопексиновий домен, L2 – лінкер 2, Mb – плазматична мембрана, TM – трансмембранний домен, Cy – цитоплазматичний хвіст, CysR – цистеїнзбагачена ділянка ( $Zn^{2+}$ -зв'язаний домен), Ig – імуноглобуліновий домен, GPI – глікозилфосфатидилінозитоловий якор) [31].

Proteinases). Останні являють собою глікопротеїни з молекулярною масою близько 28кДа та є найголовнішими негативними ефекторами ММП. ТІМП-1 зв'язується переважно з колагеназами, але також меншою мірою здатний блокувати й інші ММП. ТІМП-2 – специфічний інгібітор колагеназ (ММП-1, -8 та -13). Усі ТІМП реагують з ММП у стехіометричному відношенні 1:1. ТІМП-1 та ТІМП-2 також утворюють стабільні комплекси з про-желатиназами А і В. Окрім ТІМП-1 та ТІМП-2, на сьогодні охарактеризовано ТІМП-3 і ТІМП-4 [14, 31].

**РОЛЬ ММП У НОРМАЛЬНОМУ ЗАГОЄННІ РАН.** Процес загоєння ран включає такі етапи, як міграція клітин, деградація ЕЦМ та реорганізація тканин. При реепітелізації ранової поверхні спостерігають міграцію кератиноцитів, видалення фібринового згустку, який закриває просвіт рани. Здатність епідермісу до скорочення сприяє затягуванню рани. Дослідження з використанням тварин та клітинних культур показали, що цілий набір ММП бере участь у регуляції міграції кератиноцитів та скорочення епідермісу [17, 21]. Цілком очікуваними виявилися дані про те, що інгібітори ММП гальмують процеси міграції кератиноцитів та затримують загоєння ран у мишей [35]. Протягом загоєння ММП функціонують у синергізмі з компонентами системи плазміноген/плазміну. Даний факт підтверджується в експериментах на трансгенних мишах, нокаутуваних за геном плазміногену. Відсутність активної протеїнази (плазміну) також негативно впливає на процеси клітинної міграції [40].

Функціонування ММП при нормальному загоєнні ран активно вивчають. У динаміці загоєння секретуються, активуються та функціонують різні види ММП. Дані ензими локалізуються в певних зонах ран, а їх активація припадає на різні періоди процесу загоєння [36]. Предметом досліджень найчастіше стають рани після опіків, післяопераційні рани та рановий ексудат (частіше після мастектомії). Нещодавно проведено дослідження витяжок з пошкоджених тканин, взятих перед накладанням пов'язок [39, 42]. Дані дослідження дозволили встановити, що пік активності ММП-8 припадає на 4-ту добу захворювання та залишається сталим протягом тижня. Активність ММП-1 не зафіксовано протягом кількох діб з моменту поранення. Рівень ММП-1 починає зростати приблизно через тиждень після активації ММП-8. Встановлено, що активність ММП-8 переважає даний показник для ММП-1. Це пов'язано з особливостями профілю синтезу даних протеїназ. У перші години

після пошкодження нейтрофіли починають інфільтрувати до рани, що триває протягом усієї стадії запалення. Як відомо, ці клітини продукують численні цитокіни та білкові фактори, в тому числі й деякі протеїнази, зокрема ММП-8 [28]. Дана обставина може слугувати поясненням більш значної кількості ММП-8 у рані порівняно з кількістю ММП-1. У подальшому, на стадії проліферації, починає стрімко зростати рівень колагену III типу [35]. Даний тип колагену є необхідним для процесів ремоделювання. Рівень колагеназної активності достатньо стабільний (ММП-1), при цьому проникність матриксу не перешкоджає міграції кератоцитів, необхідній для загоєння рани шляхом епітелізації [26].

Високі концентрації ММП-2 і ММП-9, порівняно з плазмою крові, відзначають у рідинах після мастектомії та міопластичних операцій. Частіше рівень ММП-9 перевищує такий для ММП-2. Однак різниця в активності двох желатиназ залежить від наповнення рани клітинами запалення [8, 13], оскільки ММП-9 секретується нейтрофілами, тоді як ММП-2 є продуктом синтезу фібробластів [40].

Arumugam і колеги [34] встановили, що активність ММП-2 і ММП-9 зберігається на достатньо високому рівні навіть після закриття рани, що свідчить про важливу роль желатиназ, яку вони відіграють у процесах ремоделювання матриксу та, можливо, рубця. В експериментах з дослідження динаміки активності ММП у ранах слизової оболонки ротової порожнини було показано, що даний показник для ММП-2 залишався сталим протягом усього періоду загоєння, тоді як пік активності ММП-9 припадав на 2–4 доби. Це спостереження дає підстави припустити, що ММП-9 не лише первинно секретується під час розвитку запалення, але й може відігравати певну роль на більш пізніх етапах загоєння і синтезуватися кератиноцитами. Важливо зазначити, що ММП-9 бере участь у таких ключових процесах при загоєнні, як відокремлення кератиноцитів від базальної мембрани та ремоделювання ЕЦМ, що сприяє більш ефективній міграції клітин [19, 27]. На противагу цьому, результати, отримані *in vitro* на культурі клітин ранової поверхні, вказують на те, що кератиноцити мають здатність до росту та міграції навіть за умов інгібування ММП-9. Проте істотне зниження швидкості росту культури кератиноцитів спостерігали при інгібуванні ММП-2 [32, 34, 37]. На основі отриманих, певною мірою суперечливих, результатів можна зробити висновок, що ММП-2 є важливою для забезпечення вивільнення та міграції кератиноцитів через

ЕЦМ. Можливо, певна неузгодженість результатів щодо поведінки клітин пов'язана з відмінностями процесів, які відбуваються в рані під час загоєння та за умов культивування тих самих клітин *in vitro*. Отже, процеси, що відбуваються в рані з участю різних ММП, потребують більш детальних досліджень. Крім того, необхідно зазначити, що матеріалом в описаних дослідженнях були рідини, взяті з ран (ексудат, трансудат, промивні води під час перев'язок). Однак активність ММП у власне рановому субстраті не вивчали на жодному з етапів загоєння.

Як відомо, важливою стадією загоєння ран є ангиогенез – процес формування нової капілярної сітки, що включає стадії руйнування базальної мембрани, міграцію ендотеліоцитів до периваскулярного матриксу, їх проліферацію та формування нових капілярів [16]. Важлива роль у процесі ангиогенезу належить протеолізу. Міграції ендотеліальних клітин передують їх проліферація та протеоліз білків ЕЦМ. Мігруючі ендотеліальні клітини формують “бруньку” (capillary bud) вторинного кровоносного капіляра, який поступово збільшується з утворенням нового капіляра [12]. Як ММП-2, так і ММП-9 належить також важлива роль у підтримці ангиогенного балансу, регуляція якого реалізується шляхом активації ангиогенних цитокінів (TNF- $\alpha$  та VEGF) або генерації антиангиогенних пептидів через обмежений протеоліз інших білків. Так, внаслідок розщеплення колагену XVIII типу утворюються ендостатини, продуктом протеолізу білка фібринолітичної системи плазміногену є ангиостатини [18, 25].

**ММП ПРИ ХРОНІЧНИХ РАНАХ.** Хронічні рани характеризуються високою колагеназною активністю і за цим показником істотно відрізняються від гострих ран [2, 3, 6, 9, 30]. Аналіз колагеназної активності при загоєнні хронічних ран показав, що ММП-8 з'являється у більшій кількості за ММП-1. Хронічні виразки містять значну кількість як ММП-1, так і ММП-8. Також у проблемних ранах відмічено низьку активність TIMP-1 порівняно з нормальними ранами. Рівень ММП-1 та ММП-8 широко варіює у хронічних ранах, причому ММП-8 як домінуюча колагеназа завжди наявна у даних типах ран [20]. У ході досліджень Nwomen та колеги [30] встановили, що при загоєнні неускладнених епідермальних ран колагенази були присутні у неактивних формах. Водночас протеїназам у ранах, що не загоювалися тривалий час, був притаманний високий рівень активності. Однак статистично достовірної різниці між активностями ММП при дослідженні

добре загоюваних та погано загоюваних хронічних виразок нижніх кінцівок не встановлено [28]. Підсумовуючи результати наведених досліджень, можна вивести постулат, що ММП-8 нейтрофільного походження в нормальних ранах є ключовою колагеназою, натомість підвищення рівня та гіперактивність даної колагенази можуть бути однією з ланок патогенезу хронічних виразок. Також слід враховувати, що колагенолітична активність у хронічних виразках може бути зумовлена низьким рівнем продукції інгібіторів, зокрема TIMP-1 [38].

При дослідженні зразків тканин, взятих у хворих із діабетичними виразками, венозними виразками нижніх кінцівок, шкіри хворих на діабет і шкіри здорових людей встановлено активацію експресії ММП-2 та ММП-8 в усіх хронічних ранах діабетиків, а активність ММП-9 була особливо виражена у венозних виразках [15, 40, 41]. ММП-1 та ММП-8 були достатньо активними в нормальній шкірі та епідермальних клітинах за умов діабету, а непошкоджені тканини характеризувалися повною відсутністю інгібіторів ММП. Дані дослідження показали, що рівні ММП та їх інгібіторів з'являються і зростають саме у хронічних ранах. Більш того, дані молекули можуть відіграти провідну роль у хронізації ран. В інших дослідженнях встановлено зростання рівня желатинази ММП-2 у хворих з діабетичними виразками порівняно з травматичними ранами [22].

Отже, активність протеїназ можна розглядати як одну з ключових ланок процесу загоєння ран. Однак порушення регуляції функціонування літичних ензимів у рановому середовищі як на рівні експресії відповідних генів, так і завдяки дисбалансу активаторно-інгібіторної рівноваги можуть не лише спричинювати значні аберантні явища в ЕЦМ та порушення метаболізму факторів росту і клітинних рецепторів, але й призводити до деградації нормальної тканини. Слід також зважати на те, що, тоді, коли набувають розвитку нові прогресивні технології лікування ран, агресивний вплив навколишнього середовища може робити негативний внесок і знижувати ефективність терапії.

**МЕТОДИ ВИЗНАЧЕННЯ АКТИВНОСТІ МАТРИКСНИХ МЕТАЛОПРОТЕЇНАЗ.** Методи аналізу різних ММП можна поділити на такі групи: 1) методи імунохімічної детекції; 2) ензиматичні методи аналізу; 3) зимографія [11].

На сьогодні найбільш оптимальним методом визначення активності ММП вважають желатинову зимографію. Даний метод широко



застосовують у сучасній науково-дослідній роботі [23, 33]. Суть методу полягає в тому, що зразки біологічного матеріалу, які містять ММП, вносять до поліакриламідного гелю, що містить желатин, і розділяють електрофоретично. Після проведення електрофорезу гель інкубують, при цьому желатинази, що містяться в ньому, деградує субстрат. При цьому в місці, де субстрат був розщеплений ензимом (у зоні, що відповідає його молекулярній масі), проявляються ділянки розщеплення у вигляді чітких світлих смуг на темнозбарвленому тлі (рис. 2). Інтенсивність забарвлення смуг пропорційна активності даних протеїназ. Результати аналізу інтерпретують напівкількісно (наприклад, у відносних одиницях порівняно з контрольним зразком) або кількісно при наявності очищеного ензиму-стандарту. Чутливість методу коли-

вається від 80 до 95 %, специфічність – від 92 до 75 %. Метод желатинової зимографії характеризується відносною простотою виконання, високою відтворюваністю, ілюстративністю та економічністю.

Отже, ММП є інтегральною складовою частиною системи загоєння ран шкіри. Вони забезпечують розщеплення компонентів базальних мембран та ЕЦМ, модулюють процеси клітинної міграції, проліферації та диференціації, беруть участь в обміні цитокінів і регуляторів ангиогенезу. Зсув активаторно-інгібіторного балансу протеїназ у рановій поверхні призводить до різних патологій загоєння. Подальше дослідження біохімічних процесів з участю ММП на кожному етапі загоєння може бути корисним для створення ефективних підходів лікування ран різної етіології.

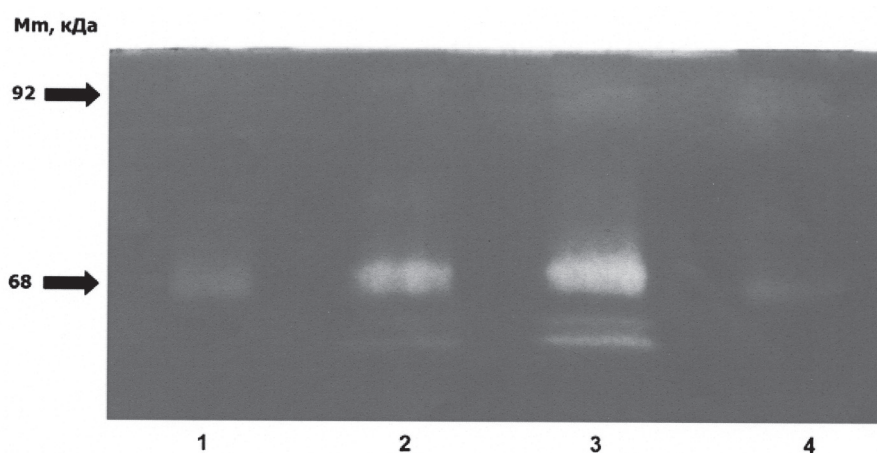


Рис. 2. Желатинова зимографія білкових екстрактів тканинного матеріалу, взятого з рани ступні пацієнта з цукровим діабетом 2 типу на різних етапах загоєння (власні дослідження, не опубліковано). Електрофоретичне розділення білків проведено у сополімері поліакриламідного гелю (8 %) з желатином (5 мг/мл): 1 – 1-ша доба, 2 – 2-га доба, 3 – 4-та доба, 4 – 6-та доба. Відзначають відносно низьку активність ММП-9 (92 кДа) та високу активність ізоформ ММП-2 (68 кДа), максимум активності обох желатиназ припадає на 4-ту добу загоєння.

#### СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Активність матриксних металопротеїназ у тканинах щурів за введення доксорубіцину та дії комплексу попередників і модуляторів біосинтезу убіхінону / А. П. Бурлака, І. І. Ганусевич, Є. П. Сидорик [та ін.] // Мед. хімія. – 2011. – **13**, № 2. – С. 10–14.
2. Александрова А. В. Влияние доксицилина на общую протеолитическую активность при экспериментальном лечении термического ожога / А. В. Александрова // Таврический медико-биологический вестник. – 2012. – **15**, № 3 (ч. 1). – С. 15–17.
3. Александрова А. В. Фармакотерапевтические эффекты ингибитора матричных металлопротеиназ на этапах репарации ожоговой раны: влияние на общую протеолитическую активность в очаге повреждения и в периферической крови / А. В. Александрова // Вісник проблем біології і медицини. – 2012. – **2**, № 3. – С. 41–43.
4. Андриющенко П. И. Объект изучения клеточной трансплантологии: металлопротеиназы / П. И. Андриющенко // Трансплантология. – 2005. – **8**, № 1. – С. 38–45.
5. Дерматопластика раневых дефектов / [В. И. Хрупкин, В. Ф. Зубрицкий, А. Н. Ивашкин и др.]. – М. : ГЭОТАР, 2009. – 192 с.
6. Изучение действия низкоинтенсивного лазерного излучения на экспрессию генов матричных металлопротеаз в культуре клеток кератиноцитов человека / И. М. Корсунская, А. Г. Соболева, В. В. Соболев [и др.] // Клиническая дерматология и венерология. – 2011. – № 4. – С. 101–104.

7. Потеряева О. Н. Матриксные металлопротеиназы: строение, регуляция, роль в развитии патологических состояний (обзор литературы) / О. Н. Потеряева // Медицина и образование в Сибири (электронный научный журнал). – 2010. – № 5.
8. Протасов М. В. Возможность прогнозирования эпителизации ран у крыс по изменению активности матриксных металлопротеиназ в раневом экссудате / М. В. Протасов, Л. В. Смагина, Н. М. Юдинцева // Цитология. – 2009. – **51**, № 4. – С. 311–314.
9. Рогова Л. Н. Матриксные металлопротеиназы, их роль в физиологических и патологических процессах (обзор) / Л. Н. Рогова // Вестник новых медицинских технологий. – 2011. – **18**, № 2. – С. 86–89.
10. Соболева Г. М. Семейство матриксных металлопротеиназ: общая характеристика и физиологическая роль / Г. М. Соболева, Г. Т. Сухих // Акушерство и гинекология. – 2007. – № 1. – С. 5–8.
11. Соловьева Н. И. Методы определения активности матриксных металлопротеиназ / Н. И. Соловьева, О. С. Рыжакова // Клиническая и лабораторная диагностика. – 2010. – № 2. – С. 17–21.
12. Angiogenesis: vascular remodeling of the extracellular matrix involves metalloproteinases / B. Hensing, K. Hattori, M. Friedrich [et al.] // *Curr. Opin. Hematol.* – 2003. – **10**, № 2. – P. 136–141.
13. Armstrong G. The role of matrix metalloproteinases in wound healing / G. Armstrong, E. Jude // *J. Am. Podiatr. Med. Assoc.* – 2002. – **92**, № 1. – P. 12–18.
14. Baker A. H. Metalloproteinase inhibitors: biological actions and therapeutic opportunities / A. H. Baker, D. R. Edwards, G. Murphy // *J. Cell Sci.* – 2002. – **115**. – P. 3719–3727.
15. Expression of gelatinase (MMP-2) in diabetic and non-diabetic wounds / R. Lobman, A. Ambrosch, G. Schultz [et al.] // *Diabetologia.* – 2001. – **44** (Supple 1). – P. 4.
16. Folkman J. Angiogenesis / J. Folkman // *Annu. Rev. Med.* – 2006. – **57**. – P. 1–18.
17. Functional overlap between two classes of matrix-degrading proteases in wound healing / L. R. Lund, J. Romer, T. H. Bugge [et al.] // *EMBO J.* – 1999. – **18**. – P. 4645–4656.
18. Generation of endostatin by matrix metalloproteinase and cathepsin from human limboconal epithelial cells cultivated on amniotic membrane / D. H. Ma, J. Y. Yao, M. T. Kuo [et al.] // *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* – 2007. – **48**, № 2. – P. 644–651.
19. Hypoxia induces epidermal keratinocyte matrix metalloproteinase-9 secretion via the protein kinase C pathway / E. A. O'Toole, R. van Koningsveld, M. Chen [et al.] // *J. Cell Physiol.* – 2008. – **214**. – P. 47–55.
20. Induction of apoptotic cell death in vascular endothelial cells cultured in three-dimensional collagen lattice / M. Kuzuya, S. Satake, M. Ramos [et al.] // *Exp. Cell Res.* – 1999. – **248**. – P. 498–508.
21. Interaction of keratinocytes and fibroblasts modulates the expression of matrix metalloproteinases-2 and -9 and their inhibitors / G. Sawicki, Y. Marcoux, K. Sarkhosh [et al.] // *Mol. Cell Biochem.* – 2005. – **269**. – P. 209–216.
22. Johnson S. Autocrine production of matrix metalloproteinase-2 is required for human airway smooth muscle proliferation / S. Johnson, A. Knox // *Am. J. Physiol.* – 1999. – **227**. – P. 1109–1117.
23. Kupai K. Matrix metalloproteinase activity assays: Importance of zymography / K. J. Kupai // *Pharmacol. Toxicol. Methods.* – 2010. – **61**, № 2. – P. 205–209.
24. Martins V. L. Matrix metalloproteinases and epidermal wound repair / V. L. Martins, M. Caley, E. A. O'Toole // *Cell Tissue Res.* – 2013. – **351**. – P. 255–268.
25. Matrix metalloproteinases generate angiostatin: effects on neovascularization / L. A. Cornelius, L. C. Nehring, E. Harding [et al.] // *J. Immunol.* – 1998. – **161**, № 12. – P. 6845–6852.
26. Mauviel A. Cytokine regulation of metalloproteinase gene expression / A. Mauviel // *J. Cell Biochem.* – 1993. – **53**. – P. 288–295.
27. Metalloproteinase 2 (gelatinase A) is related to migration of keratocytes / M. Makela, H. Larjava, E. Pirila [et al.] // *Exp. Cell Res.* – 1999. – **251**. – P. 67–78.
28. MMP-8 is the predominant collagenase in healing wounds and non healing ulcers / B. C. Nwomeh, H. X. Liang, I. K. Cohen [et al.] // *J. Surg. Res.* – 1999. – **81**. – P. 189–195.
29. Nagase H. Structure and function of matrix metalloproteinases and TIMPs / H. Nagase, R. Visse, G. Murphy // *Cardiovasc. Res.* – 2006. – **69**. – P. 562–573.
30. Nwomeh B. C. Physiology of chronic wound / B. C. Nwomeh, D. R. Yager // *Clin. Plast. Surg.* – 1998. – **25**. – P. 341–350.
31. Overall C. M. Strategies for MMP inhibition in cancer: innovations for the post-trial era / C. M. Overall, C. Lopez-Otin // *Nat. Rev. Cancer.* – 2002. – **2**. – P. 657–672.
32. Progress in the development of matrix metalloproteinase inhibitors / G. Tu, W. Xu, H. Huang [et al.] // *Curr. Med. Chem.* – 2008. – **15**. – P. 1388–1395.
33. Reduced expression of vascular endothelial growth factor paralleled with the increased angiostatin expression resulting from the upregulated activities of matrix metalloproteinase-2 and -9 in human type 2 diabetic arterial vasculature / A. W. Chung, Y. N. Hsiang, L. A. Matzke [et al.] // *Circ. Res.* – 2006. – **99**, № 2. – P. 140–148.
34. Temporal activity of plasminogen activators and matrix metalloproteinases during cutaneous wound repair / S. Arumugam, Y. C. Jang, C. Chen-Jensen [et al.] // *Surgery.* – 1999. – **125**. – P. 587–593.
35. Tissue inhibitors of metalloproteinase 2 inhibits endothelial cell migration through increased expression of RECK / J. Oh, D. W. Seo, T. Diaz [et al.] // *Cancer Res.* – 2004. – **64**. – P. 9062–9069.
36. Toriseva M. Proteinases in cutaneous wound healing / M. Toriseva, V. M. Kahari // *Cell Mol. Life Sci.* – 2009. – **66**. – P. 203–224.
37. Trengove N.J. Analysis of acute and chronic wound environments: the role of proteinases and their inhibitors / N. J. Trengove, M. C. Stacey, S. MacAuley // *Wound Repair Res.* – 1999. – **7**. – P. 442.
38. Van Wart H. E. The cystein switch: a principle of regulation of metalloproteinases activity with potential applicability to the entire matrix metalloproteinase gene family / H. E. Van Wart, H. Birkedal-Hansen // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 1990. – **87**. – P. 5578–5587.

39. Widgerow A. D. Chronic wound fluid – thinking outside the box / A. D. Widgerow // Wound Repair Regen. – 2011. – **19**. – P. 287–291.

40. Woessner G. F. The family of matrix metalloproteinases / G. F. Woessner // M. Ann. N.Y. Acad. Sci. – 1994. – **732**. – P. 11.

41. Wound fluids from human pressure ulcers contain elevated matrix metalloproteinase levels and activity

compared to surgical wound fluids / D. R. Yager, L. Y. Zhang, H. X. Liang [et al.] // J. Invest. Dermatol. – 1996. – **107**. – P. 743–748.

42. Wysocki A. B. Wound fluid from chronic leg ulcers contains elevated levels of metalloproteinases MMP-2 and MMP-9 / A. B. Wysocki, L. Staiano-Coico, F. Grinnell // J. Invest. Dermatol. – 1993. – **101**. – P. 64–68.

**О. М. Петренко<sup>1</sup>, А. О. Тихомиров<sup>2</sup>**

НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ А. А. БОГОМОЛЬЦА НАМН УКРАИНЫ<sup>1</sup>, КИЕВ  
ИНСТИТУТ БИОХИМИИ ИМЕНИ А. В. ПАЛЛАДИНА НАН УКРАИНЫ<sup>2</sup>, КИЕВ

## РОЛЬ МЕТАЛЛОПРОТЕИНАЗ МАТРИКСА В ПРОЦЕССАХ ЗАЖИВЛЕНИЯ РАН

### Резюме

Одной из проблем при лечении ран является недостаточная изученность процессов заживления на молекулярном и клеточном уровнях. Ключевыми факторами, которые не только осуществляют ремоделирование базальных мембран и расщепление экстрацеллюлярного матрикса, но и регулируют процессы пролиферации и миграции клеток в ходе заживления, являются металлопротеиназы. В обзоре обобщены современные данные, касающиеся молекулярного строения и особенностей регуляции ферментативной активности, а также роли матричных металлопротеиназ в физиологических и патологических процессах, связанных с репарацией повреждения эпителия. Отдельно рассмотрены методы исследования активности металлопротеиназ, в частности зимография, и перспективы их использования в клинической диагностике.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: матричные металлопротеиназы, заживление ран, зимография

**О. М. Petrenko<sup>1</sup>, А. О. Tykhomyrov<sup>2</sup>**

O. O. BOHOMOLET'S NATIONAL MEDICAL UNIVERSITY OF NAMS OF UKRAINE<sup>1</sup>, KYIV  
O. V. PALLADIN INSTITUTE OF BIOCHEMISTRY OF NAS OF UKRAINE<sup>2</sup>, KYIV

## ROLE OF MATRIX METALLOPROTEINASES IN WOUND HEALING PROCESSES

### Summary

One of the problems in the treatment of wounds is insufficient level of knowledge about healing processes at both molecular and cellular levels. Metalloproteinases are considered to be the key factors that provide not only remodeling of the basal membrane and cleavage of extracellular matrix, but also regulate the processes of cell proliferation and migration during wound healing. This review summarizes recent data on the molecular structure and the peculiarities of regulation of enzymatic activity, and the role of matrix metalloproteinases in physiological and pathological processes associated with reparation of damaged epithelium. Particular attention is focused on the methods of study of metalloproteinase activity, in particular, zymography, and the perspectives of their implement in clinical diagnostics.

KEY WORDS: matrix metalloproteinases, wound healing, zymography.

Отримано 30.07.13

Адреса для листування: О. М. Петренко, Національний медичний університет імені О. О. Богомольця, бульвар Т. Шевченка, 13, Київ–601, 01601, Україна, e-mail: olegnretrenko@ukr.net.