

РОЛЯТА НА МАТРИКСНИТЕ МЕТАЛОПРОТЕИНАЗИ В ПРОЦЕСА НА КОСТНОТО РЕМОДЕЛИРАНЕ ПРИ ЕСТРОГЕНЕН ДЕФИЦИТ

Армине Григорян, Красимир Костов, Анелия Димитрова

Катедра „Физиология и патофизиология“

МУ-Плевен, ул. „Климент. Охридски“ № 1, 5800 Плевен, България

e-mail: armine14@abv.bg

THE ROLE OF MATRIX METALLOPROTEINASES IN BONE REMODELING PROCESS WITH ESTROGEN DEFICIENCY

Armine Grigoryan, Krasimir Kostov, Anelia Dimitrova

Department of „Physiology and Pathophysiology“

Medical University-Pleven, 1, „Kliment Ohridski“ Str., 5800 Pleven, Bulgaria

e-mail: armine14@abv.bg

ABSTRACT

Osteoporosis is a multifactorial disease which affects the skeleton and is characterized by loss of bone mass, alterations of bone micro-architecture and increased fracture risk. The disease is prevalent among the adult population and in postmenopausal women. The causes of the development of osteoporosis are different. Overall estrogen deficiency is a major factor for the development of osteoporosis. Bone loss after ovariectomy or postmenopausal is associated with increased bone metabolism and rapid degradation of the bone matrix.

In the pathogenesis of osteoporosis participate mainly 2 type proteolytic enzymes-cathepsin K and matrix metalloproteinases (MMPs). MMPs are a growing family of endopeptidases with similar functional domeins and mechanism of action related to the degradation of extracellular matrix components (ECM). MMPs are key mediators in the extracellular matrix remodeling, bone growth and osteoclastic bone resorption. Estrogen deficiency contributes to the imbalance in the action of MMPs and their tissue inhibitors directly affects the regulation of osteoclast activity, thus playing a leading role in the pathogenesis of osteoporosis.

Key words: Osteoporosis; Estrogen deficiency; Matrix metalloproteinases(MMPs).

Въведение

Остеопорозата е най-често срещаното, свързано с възрастта, скелетно нарушение, характеризиращо със загуба на костна маса, промени в костната микроархитектура водещи до лесна чупливост и чести фрактури. Годишната честота на възникване на счупвания на бедрените кости в света вследствие на остеопороза е 1,5 милиона и се очаква тя да бъде 2,6 милиона през 2025 г и 4,5 милиона през 2050 г.(12). Общият размер на разходите за грижи и лечение на остеопороза вследствие фрактури на бедрените кости и таза в Европа се оценява на приблизително € 55 милиарда. Общата стойност, въпреки всичко е трудно да се изчисли, защото тя включва лечението на пациента заедно с извънболничната медицинска помощ, загуба на работни дни, както и заплащане на асистенти за помощ в домашни условия и др. Особено сериозен е проблемът в България. Изследвания извършени в периода 2005-2011 г. са показали, че около 400 000 жени и 160 000 мъже над 50-годишна възраст са застрашени от развитие на остеопороза. У нас всяка година се регистрират над 90 хил. счупвания в резултат на остеопороза. Също е установено, че средно 4000 жени годишно чупят шийката на бедрена кост, като 800 от тях умират до една година след фрактурата (13).

Костната резорбция и формирането на костта са два взаимно балансиращи се процеса при здрави хора. Резорбцията от остеоκластите (OCs) е последвана от активиране на остеобластите (OBs) и образуване на остеоид, който запълва кухините за период от около три

месеца. Когато синтезът на матрицата е завършен, остеобластите се враждат в нея и започват да функционират като остеоцити. Последните продължават да играят основна роля в иницирането на костното ремоделиране чрез предаване на сигнали към OBs и OCs върху костната повърхност (21).

От болестта страдат и двата пола особено при наличие на хормонален дисбаланс, но повече се засягат жените в постменопаузата. Загубата на костна маса вероятно започва преди менопаузата, а след настъпването и се ускорява (17). След 30-годишна възраст костната маса намалява, а след менопаузата загубата достига до 15 %. В началото тя се дължи на повишена костна резорбция, а по-късно на потисната остеобластна активност. Като цяло естрогенният дефицит е един от основните фактори за развитието на остеопорозата (1), включително и при млади жени след оперативна овариектомия (24). Спадът във функцията на яйчниците в резултат на менопаузата намалява производството на естроген и паралелно увеличава нивата на фоликуло-стимулиращ хормон (FSH). Това предизвиква значително стимулиране на костната резорбция и води до бърза загуба на костния матрикс, което е основа за началното развитие на остеопорозата след менопауза (6).

Роля на естрогена и цитокините

Естрогенът играе доминираща роля в поддържането на костното формиране чрез повлияване на остеобластите, потискане образуването на остеокластите и стимулиране на тяхната апоптоза (21). При мъжете този процес е забавен. Започва около 50-те и 60-те години и след това постепенно се ускорява (17). При тях в опазването на костната структура основна роля играе тестостеронът. Въпреки, че тестостеронът има пряк ефект върху костите, естрогенът също е от значение при мъжете (21).

На клетъчно ниво, естрогенът действа върху различни видове клетки, включително Т-клетки. В патогенезата на остеопорозата е от значение и взаимодействието между естрогенния дефицит и имунни клетки, което играе ключова роля в регулиране на костната резорбция в постменопаузата остеопороза. В действителност, естрогенът е добре известен регулатор на имунната система и Т-клетъчните функции. Естрогенният дефицит променя регулаторното взаимодействие между Т-клетките и стромални клетки, което води до по-голяма продукция на редица цитокини. Напоследък, все повече се говори за остеопорозата като автоимунно и възпалително заболяване. В тази връзка Т-клетките са признати като ключови регулатори в дейността на остеокластите и остеобластите в патогенезата на остеопорозата (6,11). Понижените нива на естрогена водят до увеличено производство на интерлевкин-7 (IL-7) и интерферон-гама (IFN- γ) от остеобластите, което стимулира Т-клетъчната пролиферация с последваща секреция на тумор некротизиращ фактор (TNF- α). Той въздейства директно върху остеокластите предшественици, активирайки остеокластогенезата чрез освобождаване на редица цитокини (23). IFN- γ е мощен активатор на антиген-представящите клетки. Т-клетъчната експресия активирана от IFN- γ се засилва значително след отстраняване на естрогена (22). От друга страна TNF- α продуциран от костно мозъчните Т-клетки, увеличава експресията на рецепторния активатор на нуклеарния фактор капа - В лиганд (RANKL- receptor activator of the nuclear factor kB ligand). RANKL се експресира върху повърхността на остеобласти и стромални клетки и активира неговия рецептор RANK, който се експресира върху остеокластите и техните прекурсори. Тяхното свързване индуцира остеокластогенезата и потиска остеокластната апоптоза. Остеопротегеринът (остеокластогенезен инхибиторен фактор - OPG), произведен от остеобластите и стромалните клетки, свързва RANKL и действа като конкурентен инхибитор. Балансът между RANKL и OPG определя остеокластната функция и следователно костната резорбция. Костното формиране при естрогенен дефицит не може да компенсира повишената костна резорбция. Това води до нарушаването на баланса между RANKL-RANK- OPG, в резултат на което се появяват дълбоки ерозии в костта и загуба на трабекуларни елементи (2, 9, 18).

Интересна е ролята и на трансформиращият растежен фактор-бета (TGF- β) в патогенезата на остеопорозата. TGF- β играе роля в контролирането на костната плътност, чрез регулиране на финния баланс между отлагане на матрикс от остеобласти и резорбцията му от остеокластите. Естроген-индуцирания TGF- β , подтиска синтезата на IFN- γ което намалява Т-клетъчната пролиферация. Мишки, при които Т клетките не са в състояние да реагират на TGF- β при естрогенен дефицит след овариектомия имат по ниско развитие на костната маса. Така, TGF- β изглежда е от централно значение за нормалното развитие на скелета, както и за поддържането на костната маса след менопауза (22).

Комбинирани ин витро и ин vivo проучвания са показали, че естрогенът подтиска производството на RANKL от остеобласти, Т- и В-клетки, а също така увеличава производството на OPG. Естрогенът забавя апоптозата на остеобластите и увеличава продължителността на живота им (6). Жени с постменопаузна остеопороза имат повишена Т-клетъчна активност и повишено производство на TNF- α и RANKL в сравнение със здрави контроли, което води до по-значително активиране на остеокластите (6).

В едно скорошно проучване се изтъква, че IL-17 продуциран от Т хелпер 17 клетки (T_h17)-насърчава загубата на костна маса, като стимулира производството на ОСs и инхибира ОБs диференциация. Това става чрез активиране на IL-6 и TNF- α . Известно е, че производството на IL-17 се подтиска от естрогени. Това дава възможност чрез инхибирането на IL-17 от специфични антитела да се използва за лечение на остеопорозата след менопауза (6).

Наблюдението върху експериментални миши модели с овариектомия е доказало развитието на остеопороза у тях. Шест седмици след хирургичната намеса, тези мишки имат значително по-ниска костна маса, нарушена костна микроархитектоника и понижени механични свойства на костта в сравнение с контролите (10).

Матриксни металопротеинази

В патогенезата на остеопорозата голямо внимание се отдава и на действието на протеолитичните ензими. Костният матрикс се разгражда основно от два типа ензими: цистеинови протеази с основен представител катепсин К и матриксни металопротеинази (MMPs) (14). Последните са увеличаваща се фамилия от протеолитични ензими със сходни функционални домейни и механизъм на действие свързан с разграждане на компонентите на ЕЦМ. Те са цинк-зависими протеази, които в покой са неактивни, но могат да бъдат активирани от редица цитокини и растежни фактори. MMPs активно участват в ремоделирането на костния матрикс, чрез повлияване на ОС и ОБ функция (15). Активността им се контролира много стриктно от различни ендогенни инхибитори в отговор на редица стимули (8, 16).

Понастоящем са известни около 28 различни вида MMPs, класифицирани в групи според вида на протеолитичния субстрат, който те разграждат. Семейството на MMPs включва: колагенази (MMP-1,-8 и -13), желатинази (MMP-2 и -9), стромелизини (MMP-3,-10,-11), матрилизини (MMP-7 и -26), тип-мембранни MMPs (MMP-14,-15,-16,-17 и MMP-23,-24,-25), енамелизини (MMP-20), металоеластази (MMP-12) и други MMPs (MMP-19,-21,-27,-28) (5).

MMPs са оптимално активни при неутрално рН и поради това е малко вероятно да играят роля в първоначалния етап на резорбцията, когато костната тъкан се разтваря в силно кисела среда. Въпреки това, на по-късен етап в процеса на буферизиране, действието на MMPs се позитивира (4).

Експерименталната овариектомия при животински модели може по различен начин да въздейства върху MMPs. Например при мишки, естрогенният дефицит след овариектомията увеличава експресията на MMP-1, MMP-2 и MMP-9 в костния матрикс (7, 14). Има също данни, че инхибирането на остеобластни металопротеинази при мишки предотвратява

костната загуба, предизвикана от недостиг на естроген (16). При MMP-3 също се наблюдават промени при остеопороза след менопауза (19). Изследвания върху миши модели подкрепят хипотезата, че *in vivo* инхибиране на остеобластни MMPs предотвратява костната загуба, предизвикана от недостиг на естроген. Този ефект вероятно е в резултат от директното инхибиране на остеокластната резорбция от специфични тъканни инхибитори на матриксните металопротеинази тип-1 (TIMPs – 1) и в резултат на местното активиране на извънклетъчни сигнални фактори като TGF- β и повишеното съотношение OPG/RANKL (20).

При мишки с овариектомията е увеличена синтезата на MMP-3 (стромелизин-1), в сравнение с контролните. В допълнение, полуколичествена флуороскопия на миши остеобластни клетъчни култури показва, че броят на клетките, участващи в синтезата на стромелизин-1 се увеличава след оттеглянето на 17 β -естрадиол от културалната клетъчна среда. Този ефект е резултат от активното освобождаване на цитокини. Стромелизин-1 потенциира интерстициалното разграждане на колагена от суперактивацията на колагеназите (MMP-2, MMP -9), с което се осигурява възможността за ускорено разграждане на всички матриксни компоненти. Естрогенен дефицит у мишки е свързан с повишаване на TNF- α , IL-1, IL-6. Те повишава експресията и на други MMPs, като MMP-2, MMP-3, MMP-9 и MMP-13 (3).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Може да се направи заключението, че при естрогенен дефицит се повишава протеолитичната активност индуцирана от остеобластните MMPs. Това се явява една от основните причини за активното отстраняване на остеоид при остеопороза по време на ранната фаза на костната резорбция (3).

Естрогенният дефицит е един от най-важните фактори за развитието на остеопорозата при жени в менопаузата. Той повишава експресията на MMPs в костния матрикс, което води до ускорено разграждане на всички матриксни компоненти. Дисбалансът в действието на MMPs и техните инхибитори при естрогенен дефицит влияе пряко върху регулацията на остеокластната активност и по този начин играе водеща роля в патогенезата на остеопорозата.

БЛАГОДАРНОСТИ

Колективът ни изказва благодарност на МУ-Плевен за оказаната финансова подкрепа при разработването на проект №12/2014 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Райкова, Е., 2009. Остеопороза. Медицинска, 20-23
2. Boyle, W., W.Simonet, D.Lacely, 2003. Osteoclast differentiation and activation. *Nature*, 423,337-342
3. Breckon, J.J., S.Papaioannou, L.Kon, A.Tumber, R.Hembry, G. Murphy & M. Meikle, 1999. Stromelysin (MMP - 3) Synthesis Is Up - Regulated in Estrogen - Deficient Mouse Osteoblasts *In Vivo* and *In Vitro*. *Journal of Bone and Mineral Research*,14,1880-1890
4. Bord, S., A. Horner , R.M. Hembry , J.J. Reynolds , J.E. Compston , 1997. Distribution of matrix metalloproteinases and their inhibitor, TIMP-1, in developing human osteophytic bone. *J Anat*,191,39–48
5. Castro, M., A. Kandasamy, N. Youssef, R. Schulz, 2011. Matrix metalloproteinase inhibitor properties of tetracyclines: Therapeutic potential in cardiovascular diseases. *Pharmacological Research*. Dec,64, 551-60
6. Faienza, M., A. Ventura , F. Marzano, L. Cavallo, 2013. Postmenopausal Osteoporosis: The Role of Immune System Cells. *Clinical and Developmental Immunology*,1-6
7. Fujisawa, R., Y. Kuboki, 1998. Bone matrix proteins. *Nihon rinsho*,56,1425

8. Galliera, E., G. Banfi, & M. Corsi, 2010. Human bone disorders: pathological role and diagnostic potential of matrix metalloproteinases. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*,42,1590-1593
9. Guesens, P., R. Landewe, P. Garnero, et al, 2006. The ratio of circulating osteoprotegerin to RANKL in early rheumatoid arthritis predicts later joint destruction. *Arthritis&Rheumatism*, 54,1772-1777
10. He, Y. X., G. Zhang, X. Pan, Z. Liu, L. Zheng, C. Chan, & L. Qin, 2011. Impaired bone healing pattern in mice with ovariectomy-induced osteoporosis: a drill-hole defect model. *Bone*,48,1388-1400
11. Khosla, S., R. Pacifici, 2013. Osteoporosis in Premenopausal Women. Estrogen Deficiency, Postmenopausal Osteoporosis, and Age-Related Bone Loss. *Osteoporosis (Fourth Edition)*, 46,1101–1111
12. Kolev, I., L. Ivanova, L. Markova, A. Dimitrova, C. Popov, M. Apostolova, 2012. Osteoporosis: A Look at the Future. *Osteoporosis (Dr. Yannis Dionyssiotis, MD, PhD, FEBPRM, ed), InTech, Croatia*,667-692
13. Leb, G., 2005. Osteoporose. *Österr. Ärztezeitung*,10,30–46
14. Logar, D. B., R. Komadina, J. Preželj, B. Ostanek, Z. Trošt, & J. Marc, (2007). Expression of bone resorption genes in osteoarthritis and in osteoporosis. *Journal of bone and mineral metabolism*,25,219-225
15. Löffek, S., O. Schilling, C. Franzke, 2011. Biological role of matrix metalloproteinases: a critical balance. *European Respiratory Journal*,38,191-208
16. Nagase, H., & J. Woessner, 1999. Matrix metalloproteinases. *Journal of Biological Chemistry*,274,21491-21494
17. Prestwood, K., L. Raisz, 2000. Consequences of alterations in bone remodeling. *The osteoporosis primer. Cambridge Univ. Press,Cambridge*,199-211
18. Sambrook, P., C. Cooper, 2006. Osteoporosis. *Lancet*,367,2010-2018
19. Sbardella, D., G. Fasciglione, M. Gioia, C. Ciaccio, G. Tundo, S. Marini, & M. Coletta, 2012. Human matrix metalloproteinases: an ubiquitous class of enzymes involved in several pathological processes. *Molecular aspects of medicine*,33,119-208
20. Schiltz, C., C. Marty, M. de Vernejoul, & V. Geoffroy, 2008. Inhibition of osteoblastic metalloproteinases in mice prevents bone loss induced by oestrogen deficiency. *Journal of cellular biochemistry*,104,1803-1817
21. Senthilkumar, K., J. Venkatesan, S. Kim, 2014. Marine derived natural products for osteoporosis. *Biomedicine & Preventive Nutrition*,4,1-7
22. Teitelbaum, S. L., 2004. Postmenopausal osteoporosis, T cells, and immune dysfunction. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*,101, 16711-16712
23. Terauchi, M., 2011. Role of the immune system in the pathophysiology of postmenopausal osteoporosis. *Nihon rinsho. Japanese journal of clinical medicine*,69,1215-1219
24. Walsh, JS., R. Eastell, 2013. Role of Estrogen in the Age-Related Decline in Bone Microstructure. *Clin Endocrinol Metab J*,98,519-521