Роль катепсина G в патогенезе хронической обструктивной болезни лёгких. Возможные пути регуляции.

В настоящее время хроническая обструктивная болезнь лёгких (ХОБЛ) является глобальной и не решенной медико-социальной проблемой, в силу широкой распространенности, практически повсеместным ростом заболеваемости, приводящих к инвалидизации и смертности населения. По прогнозам экспертов GOLD к 2020 году ХОБЛ станет третьей по значимости причиной смерти в мире [26]. По данным глобального исследования BOLD распространенность ХОБЛ II стадии и выше, среди лиц старше 40 лет составила 10,1±4,8%; в том числе для мужчин – 11,8±7,9% и для женщин – 8,5±5,8% [22]. В исследовании, проведенном в 12 регионах России (в рамках программы GARD), и включавшем 7164 человека (средний возраст 43.4 года), распространенность ХОБЛ среди лиц общей популяции составила 15.3% [8].

Роль сериновых протеаз в патогенезе ХОБЛ

При хронической обструктивной болезни легких усиливается воспалительный ответ дыхательных путей, а также паренхимы легких на вредные ингалируемые частицы или газы. Хроническое воспаление вызывает структурное повреждение, сужение дыхательных путей и разрушение паренхимы легких. Обструкция воздушного потока при ХОБЛ является персистирующей и обычно прогрессирует. Помимо воспаления, в патогенез ХОБЛ вовлечены дисбаланс между протеазами и антипротеазами, оксидантами и антиоксидантами [11].

Данные многочисленных экспериментальных и клинических исследований доказывают, что дисбаланс протеаз и антипротеаз играет решающую роль в структурном повреждении эластического каркаса лёгких при ХОБЛ [11, 14, 28, 9, 1, 15]. Избыточное накопление и активация нейтрофилов нарушает баланс протеазы-антипротеазы и запускает процесс разрушения легких при ХОБЛ [14, 1, 15]. Данных механизм является ведущим в формировании эмфиземы при ХОБЛ, которая определяется разрушением альвеолярной стенки и необратимым расширением воздушных пространств, дистальных по отношению к терминальным бронхиолам и без признаков фиброза [27].

Нейтрофилы и тучные клетки синтезируют и депонируют в гранулах сериновые протеазы, такие как катепсин G (CG) и протеиназа 3 (PR3), высвобождая их во внеклеточное пространство в процессе воспалительного ответа. Сериновые протеазы (или сериновые эндопептидазы) принадлежат к семейству протеолитических ферментов S1 (трипсин / химотрипсин). Семейство S1 включает нейтрофильную эластазу (NE), PR3, CG. Исследования показывают, что данные ферменты синтезируются как проферменты в эндоплазматическом ретикулуме, и в дальнейшем активируются катепсином C путем расщепления сигнального пептида и удаления дипептида [6]. Сериновые протеазы обладают способностью к деградации внеклеточного матрикса, включая эластичные волокна [30,5]. Эластичные волокна состоят из внутреннего ядра и сшитых эластиновых мономеров тропоэластина, встроенных в фибриллиновые микрофибриллы [4,42]. Они создают тонкую и сильно разветвленную сеть по всему дыхательному дереву для поддержки расширения и отдачи альвеол во время дыхания. Эластические волокна характеризуются высокой стабильностью и низкой скоростью обновления в здоровых тканях взрослого человека, период полураспада которых оценивается в 40 лет [39,3]. Только несколько протеаз, таких как сериновые протеазы, а также матриксные металлопротеиназы способны расщеплять эластичные волокна. При нормальном воспалительном ответе баланс ингибиторы протеаз/протеазы поддерживается посредством секреции эндогенных ингибиторов протеаз, например, гепарансульфата [20], тканевых ингибиторов металлопротеиназ или α1-антитрипсина [2,35]. В патологических состояниях этот баланс нарушается, что может привести к потере эластичных волокон и является основной патологической особенностью ХОБЛ и эмфиземы [13,34]. Кроме этого доказано, что сериновые протеазы действуют как мощные стимуляторы выработки слизистого секрета и способствуют усилению обструктивных нарушений при ХОБЛ [31].

Деградация эластина под действием CG

Влияние CG на патогенез ХОБЛ и, в частности, на деградацию эластического каркаса лёгких было изучено при исследовании фрагментов эластина, образованных под действием CG (EL-CG) у пациентов обструктивными заболеваниями легких [18]. Уровни EL-CG были существенно повышены при ХОБЛ по сравнению со здоровыми лицами. При этом, EL-CG оценивались в образцах сыворотки от когорты из 68 пациентов с клинически стабильной ХОБЛ. Из них 27 пациентов обследованы повторно в процессе контрольного визита через четыре недели. Средний возраст пациентов составил 70,1 лет, средний уровень объема форсированного выдоха за 1 секунду (ОФВ1) в % от прогнозируемого значения (ОФВ1%) – 40%. Повторное обследование выявило стабильность выявленных изменений. Так, уровень EL-CG был повышен у пациентов с ХОБЛ по сравнению с величиной этого показателя в норме (р 0,0012 и р <0,0001). Не было никаких статистических различий между уровнями EL-CG, измеренными во время 1-го и 2-го посещения [16]. Также в недавнем исследовании Rønnow S.R. с соавт. изучались фрагменты деградации эластина под действием пяти различных протеаз, таких как PR3, CG, NE, MMP7 и MMP9/12. Авторы продемонстрировали перспективность изучения фрагментов EL-CG в качестве прогностического биомаркера смертности от всех причин при ХОБЛ и увеличение ремоделирования эластина под действием CG [33].

Влияние CG на белок переноса фосфолипидов (PLTP)

Дополнительным механизмом воздействия CG на развитие и прогрессирование ХОБЛ является расщепление PLTP, который регулирует транспорт фосфолипидов в эпителии и секретируется в альвеолярное пространство. Помимо своей роли в метаболизме липопротеинов, PLTP может оказывать сильное противовоспалительное действие на макрофаги, действуя через АТФ-связывающий кассетный транспортер (ABCA1), чтобы индуцировать преобразователь сигнала и активатор передачи транскрипции 3 (STAT3) [29]. Сходным образом, PLTP действовал через ABCA1, чтобы блокировать энхансер легкой цепи ядерного фактора активации B-клеток (NF-kB) и экспрессию цитокинов в макрофагах, стимулированных фактором некроза опухоли α (TNF- α) [41]. Макрофаги и передача сигналов TNF играют ключевую роль в деструктивных изменениях, возникающих при хронической обструктивной болезни легких [17]. Таким образом, эти данные указывают на то, что PLTP, который высоко экспрессируется в ткани легких, может играть супрессивную роль в воспалительных реакциях легких [19]. Как показали исследования Maryanoff B. E. с соавт., подавление экспрессии PLTP в легких у мышей и в клетках малых дыхательных путей (SAE) человека усиливает воспалительные реакции под воздействием сигаретного дыма. И наоборот, введение белка PLTP, ингибирование CG и химазы блокировало индуцированное табачным дымом воспаление на эскпериментальных моделях бронхиальной астмы [25].

Ингибирования катепсина G доказало то, что данный фермент является

первичной сериновой протеазой, расщепляющей PLTP [7].

Химическое ингибирование CG в бронхоальвеолярной лаважной жидкости (BALF) при ХОБЛ привело к его неспособности расщеплять рекомбинантный PLTP (rPLTP). Установлено, что CG активно взаимодействует с rPLTP и мягко взаимодействует с контрольным белком альбумином. Повышенная активность CG наблюдалась в BALF у курильщиков и субъектов с ХОБЛ по сравнению со здоровыми лицами; однако активность данного фермента была самой высокой в ​​когорте больных ХОБЛ. Активность PLTP отрицательно коррелировала с активностью CG в исследуемой популяции, подтверждая предварительные исследования in vitro. Кроме того, интраназальная доставка активного CG у мышей индуцировала инфильтрацию иммунных клеток в дыхательные пути и расщепление PLTP, демонстрируя способность данного фермента как расщеплять PLTP, так и индуцировать клеточноопосредованное воспаление.

Методы воздействия на CG

Изучение возможностей коррекции дисбаланса протеаз-антипротеаз при ХОБЛ, в настоящее время привлекает значительный интерес исследователей и клиницистов. Активность CG во внеклеточном пространстве регулируется эндогенными ингибиторами, включая ингибитор α1-протеиназы, α1-антихимотрипсин и секреторный ингибитор протеазы лейкоцитов.

 Эти ингибиторы могут быть инактивированы сериновыми протеазами в высоких концентрациях или окислением [37]. На сегодняшний день большинство исследований было сосредоточено на разработке сильнодействующих и селективных ингибиторов NE [40]. Однако ни один из ингибиторов NE не был одобрен для клинического применения, за исключением sivelstat, одобреного в Японии и Корее [40, 24]. Примечательно, что α1-протеиназа проявляет активность против всех нейтрофильных сериновых протеаз, но клинические испытания хронических воспалительных заболеваний до сих пор были сосредоточены только на NE.

Поскольку ингибиторы NE привели к незначительному эффекту при клинических испытаниях, в настоящее время растет интерес к разработке ингибиторов для других сериновых протеаз, в частности CG [21]. В настоящее время разработан двойной ингибитор CG (Ki = 38 нМ) и химазы тучных клеток (K = 2,3 нМ) и было показано, что он уменьшает воспалительную реакцию в экспериментальных условиях [10]. Однако данному ингибитору не хватает селективности, и, следовательно, трудно оценить, может ли снижение воспаления быть связано с ингибированием CG, химазы или обеих протеаз. Хотя существует несколько сильных эндогенных ингибиторов CG, они могут быть инактивированы нейтрофилами с помощью нескольких механизмов и, следовательно, не являются идеальными кандидатами в лекарства. Соответственно, до настоящего времени не сообщалось ни о каких действительно сильных и селективных ингибиторах CG, подходящих для терапевтического воздействия.

Ингибитор трипсина-1 подсолнечника (SFTI-1), циклический пептид из 14 аминокислот, разделенный пополам дисульфидной связью, является наименее известным членом семейства ингибиторов сериновой протеазы Bowman-Birk и мощным ингибитором трипсина (K = 0,0017 нМ) [38,36,12,32]. SFTI-1 является превосходным каркасом для разработки сильнодействующих и селективных ингибиторов специфических сериновых протеаз, или многоцелевых ингибиторов для семейства близкородственных протеаз [38, 36, 12]. Сообщалось, что SFTI-1 является ингибитором CG (Ki = 570 нМ), а замена остатка P1 в SFTI-1 из Arg5 в Phe5 приводит к получению ингибитора CG с улучшенным ингибированием (Ki = 370 нМ), хотя и с ограниченной селективностью по сравнению с другими сериновыми протеазами [23]. Это свидетельствует о том, что SFTI-1 подходит для разработки мощных и селективных ингибиторов CG и требует углубленных экспериментальных и клинических исследований.

Заключение

Результаты имеющихся на данный момент немногочисленных исследований показывают, что сериновая протеаза - CG, играет одну из важнейших ролей в патогенезе ХОБЛ. Воздействуя сразу на несколько звеньев, такие как стимуляция воспаления в слизистой дыхательных путей, разрушение белка переноса фосфолипидов, а также разрушение эластического каркаса лёгких, CG способствует дальнейшему прогрессированию заболевания и его симптомов, а возможно, также влияет на фенотипическое проявление заболевания [Рис.1].

В данный момент идут исследования по разработке эффективных ингибиторов данной сериновой протеазы, поэтому дальнейшее изучение CG в контексте ХОБЛ и его фенотипических проявлений, частоты обострений и ответа на проводимую терапию является перспективным направлением и может впоследствии повлиять на имеющиеся стандарты ведения больных с ХОБЛ.