

УДК: 611-018.2+577.1

Некоторые аспекты коллагенолиза

В.В. Килесса¹, А.В. Килесса², М.Г. Шкадова¹

Some aspects of collagenolysis

V.V. Kilessa, A.V. Kilessa, M.G. Shkadova

¹Кафедра терапии и общей врачебной практики (семейной медицины); ²Кафедра внутренней медицины №2 Медицинской академии им. С.И. Георгиевского, ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет им. В.И. Вернадского», Симферополь

Ключевые слова: коллаген, коллагенолитические ферменты, клостридиопептидаза А

Пожалуй, не будет преувеличением утверждать, что структура определяет функцию. Поэтому общие и частные аспекты существования именно «структуры» представляют собой объект первоочередного внимания. В свою очередь вопрос. Что будет выступать структурой организма, ткани, межклеточных взаимодействий? Несомненно, соединительная ткань, но в первую очередь коллаген.

К сожалению, коллагенолизис пристально не рассматривался в литературе. Наверное, потому что этот процесс представлялся собой неким подобием эластолиза, или неким хаотическим процессом. Но, это далеко не так.

Как известно, коллаген, эластин и основное вещество соединительной ткани, в котором расположены данные волокна, являются продуктом жизнедеятельности фибробластов. Фибробласты представляют собой клетки веретенообразной и округлой формы с базофильной цитоплазмой. Цитоплазма клеток содержит узкие каналы эндоплазматического ретикулума (ЭПР). У зрелых фибробластов ЭПР занимает порядка 35% объема цитоплазмы. Эта система связана с синтезом и секрецией экстрацеллюлярных белков – коллагена и эластина [1]. К мембранам ЭПР прикреплены агрегаты рибосом из 10-30 гранул рибонуклеопротеида. Такая конфигу-

рация рибосом, аналогична полирибосомам других клеток, синтезирующих секреторный белок, при этом степень агрегации рибосом прямо пропорциональна интенсивности образования коллагена [2]. В эксперименте [3] на морских свинках, при переводе их на диету с дефицитом аскорбиновой кислоты, в цитоплазме увеличивается количество свободных и уменьшается количество прикрепленных рибосом. При этом процесс сопровождается уменьшением синтеза коллагена. При введении же в пищу аскорбиновой кислоты ЭПР вновь приобретает организованную форму, а в межклеточном пространстве вновь появляются коллагеновые волокна.

Агрегация рибосом начинается перед появлением коллагеновых волокон в межклеточном пространстве. В рибосомах синтезируется не содержащий оксипролина предшественник коллагена [4]. Из клетки выводится коллаген, который характеризуется как нейтральнорастворимый, частично подвергающийся катаболизму [5]. Макромолекула такого коллагена не существует в свободном состоянии, так как он чрезвычайно быстро полимеризуется. В свою очередь, макромолекула коллагена

*¹295006, Россия, Республика Крым,
г. Симферополь, бульвар Ленина 5/7,
e-mail office@csmu.strace.net*

(тропоколлаген) состоит из трех полипептидных цепей [6]. В последующем формируются вторичная, третичная и четвертичная структуры коллагена. В этом процессе играют роль так называемые аллопластические эффекты – вода, окутывающую мономолекулярным слоем молекулы тропоколлагена и мукополисахариды – гепарин и хондроитинсульфат [7,8].

Коллаген по большому счету разделяется на два вида – растворимый (син. «молодой») и нерастворимый (син. «зрелый»), последний же растворяется исключительно под действием истинной коллагеназы.

В свою очередь растворимый коллаген подразделяется на нейтральнорастворимый и цитратрастворимый. Нейтральнорастворимость осуществляется 0,14М раствором NaCl, с увеличением растворимости по мере повышения концентрации NaCl до 0,45М [9]. Оптимальным условием является охлаждение до 0°C [10, 11]. Нейтральнорастворимость обеспечивается и слабощелочным фосфатным буфером [12].

Цитратрастворимый коллаген является продуктом воздействия цитратного буфера с pH 3,5-4,0, ионной силой 0,05-0,1 [13]. Кроме этого, Орехович В.Н., Шпикитер О.В. [6] установили, что при нагревании до 40°C, воздействии мочевины, тиоционата, «цитратрастворимый» коллаген распадается на два компонента – α и β . При нагревании же растворимый коллаген трансформируется в желатин, аминокислотный состав его идентичен коллагену. Цитратная фракция «экстрагирует» и нейтральнорастворимую фракцию [11]. Суммы нейтральнорастворимой и цитратрастворимой фракций резко понижаются с возрастом, но содержание нерастворимого коллагена прямо зависит от предшественника [14].

Концентрация нейтральнорастворимой фракции в коже морских свинок сильно снижается при дефиците аскорбиновой кислоты и полном голодании [15]. Атерогенная диета вызывает генерализованное «постарение» коллагена в организме крыс [16]. Недостаточное питание задерживает развитие возрастных изменений коллагена [17]. Mc Cay С.М. et al в 1939 г. [18] установили, что периодически низкокалорийная диета увеличивает среднюю продолжительность жизни белых крыс на 43%. Ферменты, которые обладают коллагенолитической активностью, но исключительно по отношению к «молодому», растворимому коллагену – это эластаза, интерстициальная коллагеназа и желатиназа [19]. Как известно, существенное место в структуре паренхиматозных органов занимает ретикулин. Ретикулин представляет собой тонкие коллагеновые волокна, которые имеют так называемую бесструктурную фазу, отсутствующую у коллагена, представленную мукопротеином, склеивающим ретикулиновые волокна. В свою очередь, ретикулиновые волокна окружены слоем аморфной, аргирофильной массой [20,21]. При экстрагировании ретикулина, он экстрагируется вместе с растворимым коллагеном, т.е.

коллаген ретикулина, по сути, является «молодым» коллагеном [22].

Микроорганизмы, вырабатывающие ферменты, способные лизировать «молодой» коллаген – это *Mycobacterium*, *Bacteroides*, *Staphylococcus*, *Streptomyces*, *Actinomyces*, грибы *Aspergillus*, *Trichophyton*, некоторые паразиты [23]. Нерастворимый же коллаген является достаточно устойчивой к воздействию структурой. Он денатурирует при 56°C, превращается таким образом в желатин [6], тогда как при температуре близкой к 40°C (лихорадка, нагревание в условиях повышенной влажности) лишь повышается эластичность коллагеновых волокон [7,8,9]. Пепсин, трипсин, химотрипсин, эластаза, папаин, не расщепляют зрелый коллаген; истинные же коллагеназы крайне редко встречаются в природном мире [24]. Термин «коллагеназа» предложил в 1927 году В.С. Садиков [25]. «Истинную» коллагеназу – клостридиопептидазу А вырабатывают лишь клостридии, более того, некоторые ее виды [26].

Клостридиозам посвящена фундаментальная монография Бургасова П.Н. и Румянцева С.Н. (1974) [27]. Согласно представленному авторами материалу, клостридии разделяются на непатогенные и патогенные. К непатогенным относится около 40 видов клостридий брожения. Все они обладают способностью сбраживать простые или сложные углеводы, оставляя интактными белковые субстраты – желатин, альбумин, свернутую сыворотку; некоторые представители обладают гемолитической активностью. Клостридии гниения (порядка 30 видов), обладают большей биологической активностью и их субстратами являются не только простые и сложные углеводы, но и желатин, альбумин, свернутая сыворотка крови и свернутое молоко.

Патогенные клостридии обладают всеми присущими свойствами присущими всем представителям клостридий. Это анаэробные, спорообразующие микроорганизмы, развивающиеся в различных средах, естественных субстратах.

К основным патогенным клостридиям относятся *Cl.botulinum*, *Cl.tetani*, *Cl.perfringens*, *Cl.novy*, *Cl.septicum*, *Cl.histoliticum*, *Cl.bifermentas*, *Cl.fallax*, *Cl.chauvoei*. Основной биологической особенностью патогенных клостридий, отличающих их от прочих клостридий, является способность продуцировать высокоактивные токсины. Но, *Cl.botulinum* и *Cl.tetani* не вырабатывают клостридиопептидазу А. Клостридиопептидазу А вырабатывают остальные представители патогенных клостридий. Так, в частности, коллагеназа *Cl.perfringens* вызывает некротический и летальный эффекты. В мышце, подвергшейся воздействию этого фактора, происходит буквальное исчезновение коллагена, при этом остаются интактными эластические волокна. Помимо коллагеназы, данный вид клостридий продуцирует гиалуронидазу, лецитиназу, дезоксирибонуклеазу, обладающую почти полным специфическим средством к ДНК лейкоцитов и ряд других ферментов.

Burn G. (1934) цит. по [27] установил, что в трупах наиболее часто встречаются «нормальные» обитатели кишечника и респираторного тракта. Это кишечная палочка, перфрингенс, стафилококки, стрептококки, дифтероиды, вульгарный протей. Менее часто встречается широкая группа микроорганизмов, связанных с прижизненной инфекцией. Постмортальная инвазия тканей осуществляется *Cl.perfringens*, *E.Coli*, *Staphylococcus*, предопределяющих их дальнейшее разрушение.

Taylor A. et Gordon W [28] проведя прижизненное бактериологическое исследование содержимого кишечника, установили что *Cl.perfringens* обнаруживается в большом количестве случаев и исключительно регулярно. У 162 обследованных особей (люди, коровы, овцы, кролики, кошки, собаки, свиньи, домашние птицы) выделены в среднем по 7 культур *Cl.perfringens*, относящихся главным образом к типу А – основному возбудителю газовой гангрены. Существенных различий между обследованными объектами авторами не выявлено. Соболева К.П. показала, что у людей, коров, овец при 100% встречаемости *Cl.perfringens*, титр *Cl.perfringens* был ниже у травоядных, особенно овец, при этом преобладали спорные формы, тогда как у людей – вегетативные формы. Осипова Г.А. и соавт. (2015) [30] при обследовании больных с синдромом раздраженного кишечника урогенитальной инфекцией, пневмонией, хроническим бронхитом показала присутствие *Cl.perfringens* в тощей, подвздошной кишках, в фекалиях. При этом наибольшая численность микроорганизмов наблюдается в фекалиях и тощей кишке. Авторами описано и присутствие *Cl.histoliticum*, в принципе равномерном количественном отношении распределенном по вышеуказанным отделам кишечника, но с несколько сниженным его содержанием в фекалиях. *Cl.roseum* (возбудитель процессов гниения) максимально сосредоточена в тощей, далее подвздошной и ободочной кишках, но не обнаружена (?) в фекалиях. *Cl.dificule* (возбудитель процессов брожения) наиболее сосредоточена в тощей, меньше в ободочной, подвздошной кишках и фекалиях. *Cl.prorionicum* (возбудитель процессов брожения) обнаружена в фекалиях, но не определена в ободочной кишке. В тоже время, нельзя исключить важную патогенетическую роль клостридопептидазы в развитии деструктивных и локальных фибринообразовательных процессов при патологии поджелудочной железы, печени, т.к. на сегодняшний день уже доподлинно известно, что синдром избыточного бактериального роста лежит в основе развития неалкогольного стеатогепатита [31].

Таким образом, коллаген, представляющий собой основную структуру организма, является пластичным субстратом, определяемым объемом его образования, динамикой лизиса растворимого коллагена, трансформацией растворимого в нерастворимый коллаген. Пристального внимания заслуживает прижизненная судьба «нерастворимого» коллагена, предопределяемая выше указанными механизмами,

а также, что не исключено, воздействием истинной коллагеназы, вырабатываемой *Cl.perfringens*, *Cl.histoliticum* пребывающих в кишечнике. Но, пожалуй и значимым положением может быть как антагонистические взаимоотношения между микроорганизмами, так и исходная питательная почва для их развития (нативные коллагеновые волокна в продуктах питания).

Литература

1. Greenlee T.K., Ross R. *The development of the rat flexor digitorum tendons: a fine structure study.* J.Ultrastruct. Res. 1967, 18, № 3-4, 354-376.
2. Leeson C.R., Leeson T.S. *An unusual arrangement of ribosomes in mesenchymal cells.* J.Cell. Biol. 1965. 24, № 2, С.324-328.
3. Ross R., Benditt E.P. *A comparison of the ultrastructure sequence in normal VS scorbutic wounds – Fedorax. Proc.* 1961a. 20. № 1. 1964.
4. Layman D.L., McGoodwin E.B., Martin C.R. *The nature of collagen synthesized by cultured human fibroblasts.* Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 1971, 68, № 2, 454-458.
5. Castellani A.A., Castellani-Bisi C. *Boll. Soc. Ital.Biol.Sper.* 1958. 34, 1908, 1910, 1912.
6. Орехович В.Н., Шпикунев В.О. *ДАН СССР*, 1955, 101, 529: 1957, 115, 137.
7. Fessler J.H., Bailey A.J. *Fed. Proc.*, 1966, 25, 1022.
8. Barin S., Delaunay A. *Ann.Inst. Pasteur*, 1960, 98, 494.
9. Jackson D.S., Bentley J.R.J. *Biophys. Biochem. Cytol*, 1960, 7, 37.
10. Cassel J.M. et al. *J. Am. Leather Chem. Ass.* 1962, 57, 556.
11. Reich G.Z. *Chem.* 1963, 3, 16, 67.
12. Gross J. et al. *Proc. Natl. Sci. us.* 1955, 41, 1.
13. Gross J. *Science*, 1964, 143, 960.
14. Орехович В.Н. и др. «Биохимия», 1948, 13, 55.
15. Плотникова И.Е., *ДАН СССР*, 1947, 58, 1715, 1949, 66, 115.
16. Harkness R.O. *Labor Pract.* 1966, 15, 166.
17. Hruzka Z., Chvapil M. *Physiol. Bohemosl.* 1962, 11, 423.
18. Mc Cay C.M., Maynard L.A., Sperling G., Barnes L.L. *Retarded growth, life span ultimate body size and age changes in the albino rat after feeding diets*
19. Березная Н.М. *Нейтрофилы и иммунологический гомеостаз. К: «Здоров'я», 1987. с.188.*
20. Berrens L., Driel L.M.J. *van Naturwissenschaften.* 1962, 49, 608.
21. Windrum G.M. et al. *Brit.J.Exp.Path.* 1955, 36, 49.
22. Стуцкий А.П. *Биохимия нормальной и патологически измененной соединительной ткани. «А» Медицина.* 1969. 375 с.
23. Nordvig A., *Collagenolytic enzymes. Adv. Enzymol*, 1971, 34, p.155-205.
24. Grant N.H., Alburn H.E. *Irish. Biochem. Biophys*, 1960, 89, 262.
25. Садигов В.С. *Biochem Z.* 1927, 181, 267.
26. Mandl I. *Advanc. Enzymol.* 1961, 23, 163.
27. Бурасов Г.Н., Румянцев С.Н. *Эволюция клостридиозов. М.: «Медицина», 1974. 244 с.*
28. Taylor A., Gordon W. *A survey of the types of Cl.welchii present in soil and in the intestinal contents of animals and man.* J.Path., 1940, 50, p.271.
29. Соболева К.П. *О жизнедеятельности Cl.perfringens в почве. Дисс. канд. Кишинев, 1963.*
30. Осипов Г.А., Парфенов А.П., Верховцева Н.В., Ручкина П.П., Курчавов В.А., Бойко Н.Б., Рогатина Е.А. *Клиническое значение исследования микроорганизмов слизистой оболочки кишечника культурально-биохимическим и хромато-масс-спектрометрическим методами / Русский медицинский сервер. 2015. <http://www.rusmedserv.com/microbdia/klgastart.htm>.*
31. Каяртытская П.А., Семиниксина Е.В. *Неалкогольная жировая болезнь печени и синдром избыточного бактериального роста: причинно-следственные отношения. / Крымский терапевтический журнал. 2013. № 1 (20). с. 89-92.*

Некоторые аспекты коллагенолиза

В.В. Килесса, А.В. Килесса, М.Г. Шкадова

Продолжительность жизни коллагеновых волокон и их биологические свойства является основополагающими элементами организма. Формирование «молодого» коллагена предопределяется условиями функционирования фибробластов; в свою очередь «молодой» коллаген относительно легко подвергается лизису под действием ряда химических и физических факторов, воздействия эластазы, интерстициальной коллагеназы, ферментов определенных микроорганизмов. Сформировавшийся же зрелый коллаген является устойчивой структурой, лизируемой лишь под действием клостридиопептидазой А.

Ключевые слова: коллаген, коллагенолитические ферменты, клостридиопептидаза А.

Some aspects of collagenolysis

V.V. Kilessa, A.V. Kilessa, M.G. Shkadova

The lifespan of collagen fibers and their biological properties are fundamental elements of the body. Formation of the “young” collagen is determined by the conditions of the fibroblast functioning. In its turn “young” collagen relatively easily is lysed by a number of physical and chemical factors and impact of the elastase, interstitial collagenase, enzymes of the specific microorganisms. Formed as a mature collagen is a stable structure, lysed only under the influence of clostridiopeptidaza A.

Keywords: collagen, collagen lytic enzymes, clostridiopeptidaza A.