

Tarpląstelinis matriksas ir jo vaidmuo sergant astma

IEVA JANULAITYTĖ, ANDRIUS JANUŠKEVIČIUS, KĘSTUTIS MALAKAUSKAS
LSMU MA Pulmonologijos klinikos Pulmonologijos laboratorija

IVADAS

Tarpląstelinis matriksas – tai neląstelinė visų audinių bei organų sudedamoji dalis, kurią sudaro dinamiškas glikoproteinų, kolagenų, glikozaminoglikanų ir proteoglikanų kompleksas. Tarpląstelinis matriksas sudaro ląstelių mikroaplinką bei skatina svarbius biocheminius ir biomechaninius signalus, reikalingus audinių morfogenezei, diferenciacijai ir homeostazei palaikyti. *In vitro* sąlygomis daugelis ląstelių gali augti tik prisitvirtinusios prie atitinkamo paviršiaus dalyvaujant tarpląstelinio matriksio baltymams, kartu jie yra ir substratas, reikalingas ląstelių migracijai. Tarpląstelinis matriksas suteikia ląstelėms ne tik mechaninę ir struktūrinę funkcijas, jis taip pat įtrauktas į audinių vystymosi, kamieninių ląstelių brandos bei vėžio vystymosi reguliaciją, nes jo fizikinės savybės leidžia dalyvauti signalo perdavimo procesuose – perduoti erdvinį signalą per ląstelių paviršiaus augimo faktorių receptorių bei adhezines molekules.

Tarpląstelinis matriksas pasižymi unikalia sudėtimi ir topologija, kuri susidaro dėl abipusio biocheminio ir biofizikinio ląstelių poveikio bei besivystančios ląstelių ir baltymų mikroaplinkos organizmui bręstant. Tarpląstelinio matriksio baltymų molekulės yra lanksčios ir elastingos, o mechaninis elastingumas atlaisvina specifines vietas, kurios gali sąveikauti su augimo faktoriais arba jų receptoriais. Matriksio sudėtis, struktūra ir kiekis gali lemti ląstelių elgseną, poliškumą, migraciją, diferenciaciją, proliferaciją bei išgyvenamumą dėl sąveikos su ląstelių citoskeletu ir taip perduoti atitinkamus signalus. Taip pat ląstelių elgseną gali sąlygoti ir integrinai bei proteoglikanai, kurie yra pagrindiniai tarpląstelinio matriksio adhezijos receptoriai, veikiantys molekulinis signalinius kelius.

Daugelį dirbtinių tarpląstelinio matriksio formų buvo bandyta pritaikyti komerciniam naudojimui bei klinikiniuose tyrimuose panaudojant juos išgydyti odos, ektodermos ir mezodermos, šlapimo pūslės, sąnarių, žarnyno, šlapimtakių ir diafragmos patologijas. Visa tai įrodo tarpląstelinio matriksio svarbą įvairių ligų patogenezės ir patofiziologijos vystymuisi, suteikiant tyrimams, susijusiems su tarpląstelinio matriksio remodeliacija, itin didelę svarbą.

TARPLĄSTELINIS MATRIKSAS

Tarpląstelinis matriksas – tai evoliuciškai idealiai susiformavusi organizmo biologinė statybinė medžiaga, kurią išskiria visų tipų organų ir audinių ląstelės, taip pačios susikurdamos sau dinaminę mikroaplinką [1]. Jis itin svarbus vystymosi, gijimo bei organų audinių homeostazėje. Tarpląstelinio matriksio svarbiausios funkcijos: skatinti ląstelių išgyvenamumą, ląstelių proliferaciją, citokinų sintezę, migraciją bei kontraktiškumą. Todėl sutrikusi šių baltymų pusiausvyra sąlygoja įvairias ligas – nuo fibrozės iki navikų.

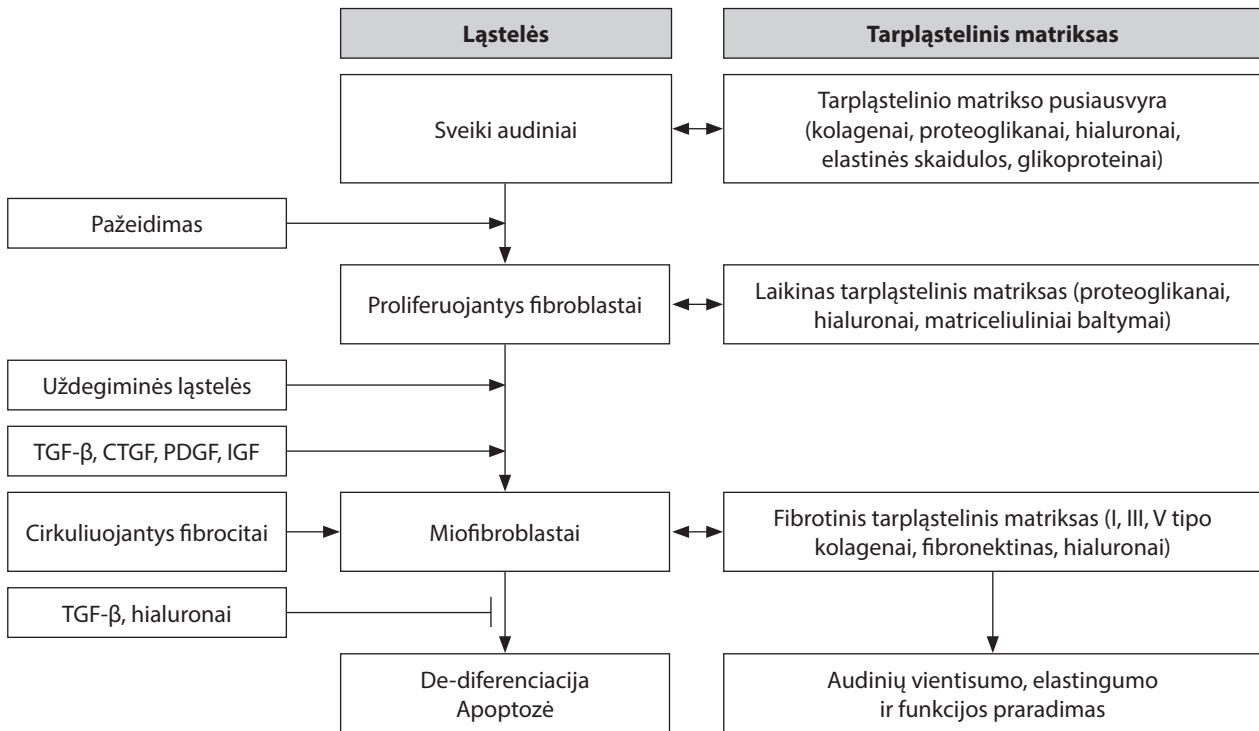
Audinio pažeidimas sukelia tarpląstelinio matriksio baltymų pusiausvyros sutrikimą, dėl proliferavusių fibroblastų, kurie pradeda gaminti kitus matriksio baltymus. Į pažeidimo vietą patekusios uždegiminės ląstelės ir įvairūs jų išskiriami augimo faktoriai bei citokinai skatina fibroblastus diferencijuoti į miofibroblastus. Miofibroblastai yra fibroblastų fenotipas, kuris yra itin aktyvus tarpląstelinio matriksio baltymų gamintojas. Sutrikus matriksio metaloproteinazių (MMP) veiklai, kurios ardo matriksio baltymus, pakinta ne tik kokybinė, bet ir kiekybinė sudėtis. Dėl šių pokyčių audinys praranda vientisumą, elastingumą bei funkcijas (1 pav.).

Tarpląstelinio matriksio struktūrinės ir funkcinės molekulės sudaro aplinką, kurioje gretimos ląstelės gali sąveikauti tiek viena su kita, tiek su jas supančia aplinka [3–5]. Jį sudarančių funkcinį ir struktūrinių molekulių išsidėstymas dar nepakankamai ištirtas, todėl visiškai susintetinti šių biomedžiagų laboratorijos sąlygomis kol kas neįmanoma. Paviieniai tarpląstelinio matriksio baltymai, pvz., kolagenas, lamininas, fibronektinas ir hialurono rūgštis gali būti izoliuoti ir panaudoti tiek *in vitro*, tiek *in vivo* eksperimentiniuose tyrimuose ir taip palengvinti ląstelių augimo ir diferenciacijos tyrimus. Praktikoje bandoma pritaikyti sveikas žarnyno, odos, kepenų, kasos tarpląstelinio matriksio formas, panaudojant jas kaip biologinę statybinę medžiagą, siekiant sukelti netiesioginę organų arba audinių remodeliaciją [6, 7].

STRUKTŪRINIAI TARPLĄSTELINIO MATRIKSO BALTymAI

Tarpląstelinį matriksą sudaro koordinuotas pluoštinių ir nepluoštinių kolagenų, elastinių skaidulų, hialu-

Pulmonologija ir alergologija



1 pav. Po audinio pažeidimo vykstančių pokyčių audiniuose ir tarpląsteliniam matrikse schema [2]

rono ir proteoglikanų tinklas. Šie baltymai veikia kaip ląstelių apsauga, kai audiniai patiria mechaninį stresą. Dažniausiai užpildą tarp ląstelių sudaro I tipo kolageno skaidulos ir fibronektinas, kurie suteikia audiniams formą. Kiti tarpląstelinį matriksą sudarantys baltymai kokybiškai ir kiekybiškai kinta priklausomai nuo audinio, organo ir jo funkcijos [8]. Pavyzdžiui, dažniausiai chondroitino sulfatas, gliukozaminoglikanai randami tarpląsteliniam matrikse, kuris sudaro kremzles, raiščius arba yra stambiųjų arterijų sienelėse, suteikdami jungiamajam audiniui struktūrinį vientisumą. Pamatines membranas sudaro jungiamasis audinys, prie kurių tvirtinasi epitelinės ląstelės, o šis reguliuoja šių funkcijas, lemia poliškumą ir ląstelių diferenciaciją.

Kolagenai

Kolagenai yra pagrindiniai tarpląstelinio matrikso baltymai, randami beveik visame organizme. Jų šeimą sudaro mažiausiai 28 skirtingi tipai ir nors ne visi įeina į tarpląstelinio matrikso sudėtį, bet visus vienija bendras struktūrinis motyvas – iš trijų baltymo subvienetų sudarytos spiralinės skaidulos. Motyvai susideda iš trijų α polipeptidinių spiralinių turinčių $(G-X-Y)_n$ pasikartojimus, kuriuose X – dažniausiai prolinas, o Y – hidroksiprolinas. Kiekvienas kolagenas turi bent vieną trigubos spiralės domeną, orientuotą tarpląsteliniam matrikse, kurių pagrindu formuojasi supermolekuliai agregatai. Pagrindiniai tarpląstelinio matrikso kolagenai skirstomi į I, II, III, IV, V ir gliukozaminoglikano turintį XI tipus [9]. Šių tipų kolagenai sudaro struktūrinį audinių pagrindą bei kitų tarplą-

stelinio matrikso baltymų jungimosi vietas.

Dauguma tarpląstelinį matriksą sudarančių kolagenų vadinami pluoštiniais kolagenais. Nors klasikiniai pluoštus sudarantys kolagenai yra I ir III tipo, pirmojo tipo kiekybiškai išlieka svarbiausiu. Įvairūs baltymų sintezės bandymai, struktūrinės analizės tyrimai, kiti eksperimentai paremti naudojant būtent šio tipo kolageną, kuris yra esminis audinių mechaninei jėgai, odos, kaulų, sausgyslių, dantų, ragenos ir odenos sudėčiai. Sausgyslių vizualinis tyrimas parodė, kad I tipo kolagenas (sudarantis apie 90–95 proc. sauso audinio svorio) iš esmės yra ilgas, itin orientuotas pluoštas. Nuodugnūs tyrimai su elektroniniu mikroskopu po atitinkamo fiksavimo bei dažymo parodė, kad pluoštai sudaryti iš mažesnių, identiškų ir lygiagrečių mikrofilamentų.

Nepaisant to, kad pagrindinė kolageno funkcija yra statybinė, jis dalyvauja ir viduląsteliniam signalo perdavime. Nustatyta, kad kolagenas gali skatinti ląstelių gyvybingumą *in vitro*, slopindamas apoptozės procesą priklausomai nuo β_1 integrinų valdomų mechanizmų [10]. Taip pat kolagenas aktyviai dalyvauja reguliuojant ląstelių pasiskirstymo (pasklidimo) procesą [11]. Kita svarbi ląstelių funkcija – jų proliferacija taip pat susijusi su kolagenu, kuris, aktyvuodamas FAK signalinį kelią, nukreipia signalą tolesniam perdavimui per Src, MEL, PI3-kinazės arba p38 MAPK signalinius kelius [12]. Be to, kolagenas prisideda ir prie ląstelių migracijos valdymo per FAK ir PI3-K aktyvaciją, lemiančią padidėjusį Rac1 aktyvumą, kaip tolesnį veiksnį, lemiantį ląstelių migraciją [13, 14].

Fibronektinas

Fibronektinas – aptinkamas visame organizme, ilgos molekulinės struktūros glikoproteinas, susidedantis iš dviejų subvienetų, sujungtų disulfidiniu tilteliu. Tai daugiadomeninis baltymas, susidedantis iš pasikartojančių struktūrinių motyvų, sudarančių bendrą funkcionuojantį makrodomeną. Specifiniai fibronektino domenai gali sąveikauti su kolagenu, fibrinu, fibulynu, heparinu, TGF- β , tiek su pačiu fibronektinu [15, 16]. Hepatocitų išskiriamas fibronektinas į kraujo plazmą pasižymi tirpia savo forma, tuo tarpu fibronektinas, kurį išskiria fibroblastai, epitelio ląstelės ir kitos ląstelės, yra netirpios formos. Plazminis fibronektinas gali patekti į audinius ir tapti fibrilinio matrikso dalimi [17]. Fibronektino mRNR turi tris alternatyvius splicingo vietas (EDA, EDB ir IIICS), sudarančias žmogaus organizme iki 20 skirtingų geno variacijų [18]. Kiekis, kiek genas bus nuskaitomas nuo vienos iš splicingo vietų bei sintezuojamo fibronektino proporcijos, skiriasi priklausomai nuo organizmo vystymosi stadijos bei patologinių procesų. EDA ir EDB egzonių linkę nefunkcionuoti daugelyje suaugusių audinių, tačiau jie įtraukiami vykstant audinių remodeliavimosi procesams, pvz., žaizdų gijimas [19].

Kartu su gerai apibrėžta fibronektino struktūrine funkcija jis turi ir ląstelių elgsenos valdymo funkcijas dėl jo sąveikos su ląstelių integriniais [20]. $\alpha_5\beta_1$ integrino prisijungimas prie fibronektino sąlygoja signalinių molekulių ir citoskeleto komponentų kaupimąsi centrines (angl. *focal*) adhezijos vietose bei specifinių baltymų, susijusių su centrines adhezijos žadinimu, aktyvaciją. Po fibronektino sąveikos su ląstelių paviršiumi susidaro integrinų klasteris, kuriuo reguliuojami esminiai aktino citoskeleto remodeliavimosi etapai bei konkrečių genų raiška užtikrinant ląstelių migracijos proceso sužadinimą [21]. Fibronektinas svarbus ne tik valdant ląstelių migraciją ir jų pasiskirstymą audiniuose, jis svarbus ir ląstelės išgyvenamumui, ir proliferacijai, valdomiems nuo $\alpha_5\beta_1$ integrino priklausomais signaliniais keliais, įskaitant NF-kappaB [22].

Fibronektino polimerizacijos ir makrodomenų susiformavimo slopinimas gali suteikti naujų terapinių galimybių įvairių ligų gydymui. Atliekant tyrimus su eksperimentiniais kepenų, kraujagyslių bei fibroziniais modeliais bei panaudojant fibronektino polimerizaciją slopinamuosius peptidus, nustatytas padidėjęs kolageno kaupimasis, kartu pastebint ir ankstyvąją leukocitų infiltraciją bei padidėjusią ląstelių proliferaciją. Taip pat sužadintas fibronektino kaupimasis ir kolageno sukelta audinių remodeliacija buvo eksperimentiškai valdoma pritaikant šių slopinamųjų peptidų terapiją [23, 24].

Elastinas

Elastinas yra tarpląstelinio matrikso baltymas dažniausiai randamas arterijų, odos, plaučių ir raiščių

jungiamuosiuose audiniuose [25, 26]. Elastinas kaip ir kolagenas geba formuoti pluoštus. Šie pluoštai yra pagrindinė sudedamoji odos, kraujagyslių ir plaučių dalis, kuriems jie suteikia elastingumo savybę, svarbią normaliai fiziologiniai šių organų veiklai [27]. Histologiškai nustatyta, kad elastiniai pluoštai yra sudaryti iš amorfinio elastino, apsupto mikropluoštų – privalomų amorfinio elastino pakartotinai sintezei po elastino suirimo arba žaisdų susidarymo.

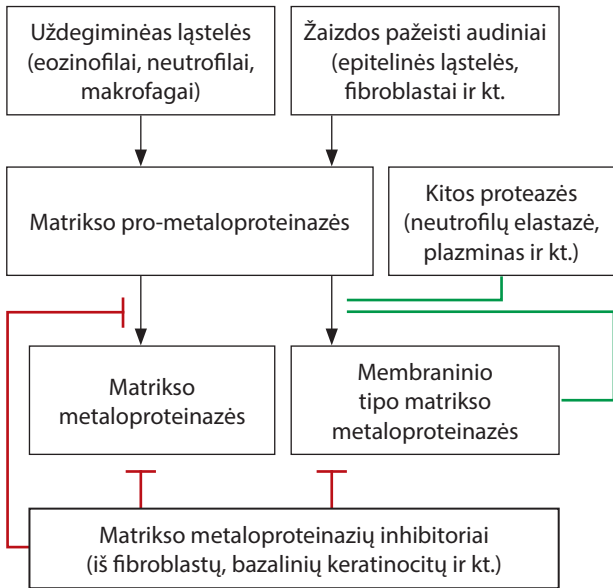
Plaučiuose bei kituose audiniuose elastiną išskiria lygiųjų raumenų ląstelės, fibroblastai ir miofibroblastai, mezotelio, endotelio ląstelės ir chondroblastai [28]. Elastino sintezė susijusi su tropoelastinu, tirpiu elastino pirmtaku, susidedančiu iš hidrofobinių ir hidrofilinių skersinių domenų, kurių santykis gali kisti kintant ir elastino savybėms. Kai tropoelastinas išskiriamas į tarpląstelinę erdvę, atitinkami fermentai sukryžiuoja peptidus ties lizino liekanomis ir suformuoja netirpaus elastino pluoštus. Tarpląstelinio matrikso sudėtyje esantį elastiną buvo siekiama panaudoti biologiniam pritaikymui, pvz., vaistų pernašai ir audinių inžinerijai [29, 30]. Šiems tikslams buvo susintetinti dirbtiniai elastinai, vadinami elastino tipo polipeptidais, kurie sudaryti iš pasikartojančių hidrofobinėje tropoelastino domeno dalyje randamų aminorūgščių.

Lamininas

Lamininas kartu su IV tipo kolagenu, nidogenu ir perlekanu, yra vienas pagrindinių pamatinės membranos komponentų. Nors tai nėra būdingas tarpląstelinis matriksą sudarantis baltymas, jis svarbus, nes pirminė laminino funkcija yra inicijuoti ląstelių sąveiką su tarpląstelinio matriksu, ypač per pamatinę membraną [31]. Lamininas sudarytas iš trijų disulfidiniais tilteliais sujungtų grandinių (α , β , γ). Iki šiol yra išskirta 12 skirtingų laminino izoformų, nors teoriškai galimų jų sudarančių grandinių derinių gali būti žymiai daugiau. Visos natūraliai randamų lamininų grandinės turi tam tikrą struktūrinių savitumą – visos dalijasi mažais sferiškais domenais, iš kurių mažiausiai vienas dalyvauja grandinės polimerizacijos procese.

Laminino izoformos sintezuojamos daugelio ląstelių, tačiau priklausomai nuo atskirų audinių poreikio. Juos išskiria visos epitelio, lygiųjų raumenų, skeleto raumenų, nervų, endotelio bei kaulų čiulpų ląstelės. Gretimoms ląstelėms lamininai turi įvairių funkcijų, įskaitant jų poveikį adhezijai, migracijai ir diferenciacijai. Signalą ląstelėms jie perduoda per integrinus, kurių dauguma lamininą atpažįsta bei prisijungia prie jo α grandinės dalių [32]. Kadangi lamininai pasižymi plačiu poveikiu audinių struktūrai ir ląstelių funkcijoms, jų kiekybiniai ir kokybiniai skirtumai sąlygoja įvairių ligų vystymąsi. Nustatytas jų poveikis naviko invazyvumui, metastazių susidarymui ir angiogenezei. Taip pat nustatyta, kad sutrikusi laminino sintezė bei proteolitinės struktūros

Pulmonologija ir alergologija



2 pav. MMP gamyba, aktyvacija ir inhibicija. Uždegiminės ląstelės (eozinofilai, neutrofilai, makrofagai) ir pažeistos ląstelės (epitelinės, fibroblastai ir kt.) sintetina neaktyvias MMP formas – pro-MMP, kurios gali būti aktyvinamos kitomis proteazėmis, nukerpančiomis molekulės dalį. Taip „atsidaro“ MMP aktyvusis centras ir substratas gali prisitvirtinti. MMP gali būti išskiriama ne tik į tarpląstelinį matriksą, bet dalis gali likti prisitvirtinusios prie membranos – membraninio tipo MMP, kurios kartu kitomis proteazėmis aktyvina pro-MMP virsmą į MMP. Tam, kad būtų išlaikyta pusiausvyra tarp neaktyvių ir aktyvių MMP formų, veikia inhibitoriai, kurie gali stabdyti pro-MMP virsmą MMP bei inaktyvinti jau aktyvias formas

modifikacijos sąlygoja sąveikos tarp vėžinių ląstelių ir tarpląstelinio matrikso disreguliaciją [33].

TARPLĄSTELINIO MATRIKSO REGULIACIJA PER MATRIKSO METALOPROTEINAZES

Padidėjusi tarpląstelinio matrikso baltymų sintezė ir sutrikusi matrikso metaloproteinazių (MMP) veikla sukelia tarpląstelinio matrikso homeostazės sutrikimus. MMP yra itin svarbi tarpląstelinio matrikso apykaitos dalis, kuri dalyvauja žaizdų gijime, matrikso baltymų irime. MMP ardo tarpląstelinio matrikso baltymus, kaip atsaką į uždegimą, gyjant žaizdoms, nepažeistų audinių remodeliacijoje ir angiogenezeje, taip pat pašalina pažeistus arba perteklinius tarpląstelinio matrikso baltymus bei bakterijas, sutraukia randą [34]. Žmogaus MMP fermentų šeimai priklauso 23 nariai, kurių MMP-1, MMP-2, MMP-8 ir MMP-9 yra svarbiausi. Šie fermentai skaido kolagenus, želatiną ir proteoglikanus, skirtingos MMP gali veikti skirtingas substrato dalis. Tam, kad MMP būtų aktyvi, reikalingas cinko jonas, kuris jungiasi į fermento aktyvųjį centrą. Neutrofilai, makrofagai, epitelinės bei endotelinės ląstelės, fibroblastai, raumenų ląstelės yra pagrindinės MMP gamintojos. Dažniausia priežastis, dėl kurios

MMP netampa aktyvi, yra proteazės inhibitoriai, kuriuos sintetina anksčiau išvardyta ląstelė tam, kad MMP nesužalotų sveikų audinių ir būtų palaikoma pusiausvyra [35].

INTEGRINAI – SIGNALO PERDAVIMO MOLEKULĖS

Taigi makroskopiškai tarpląstelinis matriksas fiziškai palaiko ląstelių ir organų formą ir veikia kaip apsauginė pagalvė, pvz., reguliuoja hidrostatinį slėgį audiniuose ir organuose. Mikroskopiškai tai itin dinamiškas molekulinis tinklas, kuris geba reguliuoti ląstelių elgseną – proliferaciją, citoskeleto organizaciją, diferenciaciją, mechaninį ląstelių judėjimą substratu ir receptorinį signalo perdavimą, kurį reguliuoja integrinai.

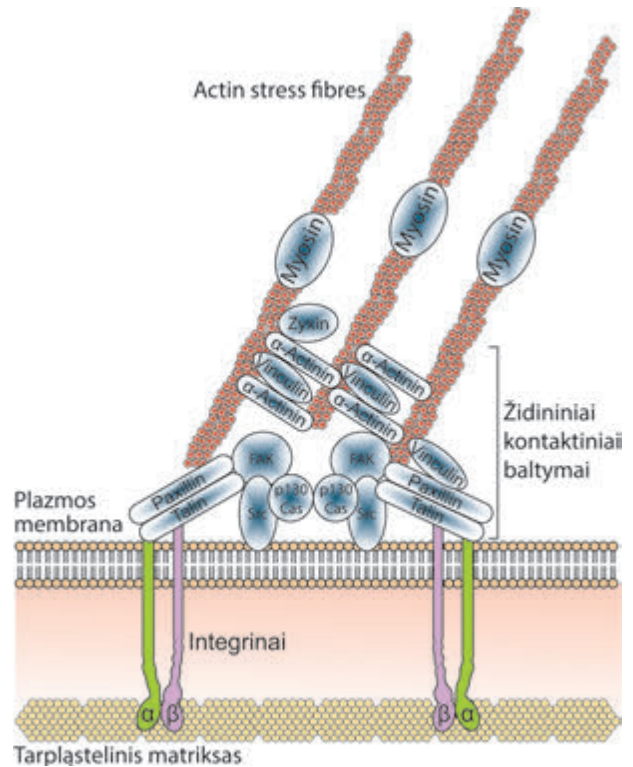
Ląstelės reaguoja į mechaninį ir biocheminį tarpląstelinio matrikso pokytį per abipusį integrinų ir citoskeleto aktino veikimą. Integrinai yra heterodimeriniai transmembraniniai receptoriai, susidedantys iš 18 α -subvienetų ir 8 β -subvienetų, kurie tarpusavyje gali būti nekovalentiškai susirišę 24 skirtingais deriniais. Integrinų dimerai geba atpažinti ir prisijungti prie jiems afiniškų tarpląstelinio matrikso molekulių matričių [36], todėl specifiniai integrinų raiškos modeliai ląstelės paviršiuje sąlygoja, prie kokių tarpląstelinio matrikso baltymų ląstelė gali prisitvirtinti [37], o integrinų sudėtis sąlygoja tolesnį signalo sklidimą ląstelės viduje, jų elgseną. Priklausomai nuo tarpląstelinio matrikso molekulinės sudėties ir fizikinių savybių, jie geba unikaliai reaguoti bei sujungti mechaninius ir cheminius signalus, įtraukiant ląstelių citoskeletą, o citoskeleto organizacija pasižymi savybėmis, kuriomis jis pats nulemia, kurie specifiniai integrinai turi būti įtraukti į konkrečius ląstelę valdančius procesus. Integrinai atpažįsta ir prisijungia prie RGD aminorūgščių motyvų, kurie pirmiausia atrasti tiriant fibronektiną, tačiau vėliau šie motyvai buvo atpažinti ir daugelyje kitų tarpląstelinio matrikso baltymų sudėtyje, tokių kaip, lamininai, tenaskinai, vitronektinai ir trombopondinai [38]. Evoliuciškai susiformavęs trijų aminorūgščių motyvas Arg-Gly-Asp, efektyviai atlieka nuo integrinų priklausomos ląstelių adhezijos prisijungimo vietos funkciją. Abu – tiek α , tiek β integrino subvienetai prisijungia prie RGD sekos, tačiau kokį specifinį tarpląstelinio baltymą atpažįsta integrinas taip pat priklauso ir nuo kitų, šį RGD motyvą supančių aminorūgščių [38]. Nustatyta, kad pakankamai didelis RGD motyvų tankis, leidžiantis tiksliai erdviškai išsidėstyti ląstelių integrinams, yra būtinas norint optimaliai inicijuoti ląstelinis procesus [39], o tarpai tarp adhezijos molekulių imituoja centrinės adhezijos fiziologinius principus [40]. Todėl trumpus sintetinius peptidus, turinčius RGD aminorūgščių seką, bandyta panaudoti kontroliuojant integrinų inicijuojamą ląstelių migraciją, proliferaciją, diferenciaciją ir apoptozę sergant pvz., tromboze, osteoporoze ir vėžiu.

MOLEKULINĖS SAŲEIKOS SUKIBIMO VIETOSE BŪDAI

Integrinai yra pagrindiniai ląstelių receptoriai įtraukti į centrinės adhezijos formavimąsi bei ląstelių migracijos procesą. Jų sąveika su aktino citoskeletu jungia aktino polimerizaciją bei adhezinių signalinių molekulių pasiskirstymą [41]. Tuo metu, kai integrinai yra neaktyvūs, jie negali prisijungti tarpląstelinio matrikso baltymų arba kitų receptorių, o tai ypač svarbu nuolat cirkuliuojančioms ląstelėms, tokioms kaip, limfocitai. Pirminė adhezija inicijuojama sukibimo baltymų, vadinamų taliniais, kurių aminorūgščių sekos $-NH_2$ galas prisitvirtina prie citoplazminėje dalyje esančios integrino uodegos β subvieneto, $-C$ galas prisitvirtina prie aktino. Tačiau, norint pasiekti maksimalią integrinų aktyvaciją, reikalinga kooperacija su kitais sukibimo baltymais, tokiais kaip, kindlinas, talinas, vinkulinas. Į centrinės adhezijos formavimosi procesą įsitraukiant vinkulinui, pereinama iš nestabilios adhezinės būsenos į taškinės centrinės adhezijos komplekso susidarymą ir tai leidžia formuoti dideliems centrinės adhezijos agregatams. Konformacinis visų α - β integrinų dimerų persiskirstymas į jų aktyviają formą leidžia pasiekti aukštą afiniškumą bei stabilų prisijungimą prie tarpląstelinio matrikso baltymų ligandų, galiausiai susidarant pilnai aktyvuotai centrinei ląstelių adhezijai, kuri veikia ir kaip signalo perdavėjas [42].

Centrinė adhezija itin svarbi ląstelių judrumui. Aktino pluoštų formavimasis dažniausiai pasireiškia kartu su lamelipodijomis pirmaujančiame ląstelės kyšulio gale. Lamelipodija yra plokščia plazminės membranos praplatėjusi dalis, susiformavusi dėl dinamiško polimerizuoto aktino tinklo, kuris aktyvuojamas aktinu susijusio baltymo 2/3 (Arp2/3) komplekso, generuojančio mechanines jėgas, pakeičiančias vietinę citoskeleto dinamiką. Po to šios fizinės lazdelės sukelia ląstelės formos ir judrumo pokyčius, taip pat genų transkripciją, kuri reguliuoja ląstelių migraciją ir diferenciaciją [43–45].

Tyrimai su duomenų bazėse esama informacija bei literatūros duomenimis, identifikavo didelį kiekį molekulių, kurios sudaro „integrinų adhezomą“ [46]. Integrinų adhezoma susideda mažiausiai iš 156 atskirų komponentų, kurių dauguma yra sukibimo vietoje į adheziją įtraukti komponentai, o kiti gali būti tik laikinai susieti su sukibimo vieta tam, kad paveiktų vietos struktūrą bei signalinį aktyvumą. Kadangi citoplazminė integrinų domenų dalis neturi savaiminio katalitinio aktyvumo, jie turi pritraukti papildomas molekules, kurios prisideda prie aktino citoskeleto remodeliacijos bei suteikia centrinės adhezijos kompleksams katalitinį aktyvumą. Į integrinų adhezomą įtrauktų baltymų sąrašą įeina daug skirtingų kinazių, fosfatazių ir jungiamųjų baltymų, kurie valdo ir inicijuoja signalo perdavimo kaskadas. Keletas tirozino kinazių ir fosfatazių yra



3 pav. Centrinės adhezijos kompleksas [49]. Tarpląstelinis matriksas, integrinai ir ląstelės citoskeletas sąveikauja atitinkamose vietose, kuriose susidaro centrinės adhezijos kompleksai. Tose vietose yra dinaminę struktūrinę ir reguliacinę funkciją turinčių baltymų sankaupa, kurie perduoda užląstelinius signalus į ląstelės vidų bei gavus viduląstelinį signalus pertvarkyti išorinius integrinus į aktyvuotą jų būseną. Integrinus prisijungiantys baltymai – paksilinas (*paxillin*) ir talinas (*talins*) pritraukia centrinės adhezijos kinazę ir vinkuliną (*vinculin*) į centrinės adhezijos vietą. Aktininas (*α -actinin*) yra citoskeleto baltymas, kuris fosforilinamas CAK bei prisijungia prie vinkulino sukryžiuojant aktinmiozino streso pluoštus (*actin stress fibres*) ir pririša juos prie CAK vietos. Visi šie baltymai randami daugumoje centrinės adhezijos kompleksų, tačiau su membrana surišti baltymai, kaip tirozino kinazė Src ir adaptorinis baltymas p130Cas susijungia su centrinės adhezijos vieta po to, kai įvyksta integrinų jungimasis. Integrinų inicijuota CAK aktyvacija inicijuojama iš dalies dėl integrinų prisijungimo prie tarpląstelinio matrikso arba dėl nuo jėgų priklausomų pakitusių citoskeleto sąsajų. Centrinės adhezijos kompleksas sudėtinu nuolat kinta priklausomai nuo išorės veiksnių ir ląstelių atsako.

(Mitra S. K., Hanson D. A. & Schlaepfer D. D. Focal adhesion kinase: in command and control of cell motility. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 6, 56–68 (2005))

lokalizavęsi adhezijos vietose, kur jie būtini valdant mechanosensorinį centrinės adhezijos aktyvumą [47].

Tiriant išorinės plazminės membranos lipidinių salelių struktūrą, daugiau sužinota apie signalinių molekulių susirinkimą plazminėje membranoje. Integrinų klasterių formavimasis sukelia plazminės membranos reorganizaciją į griežtai specifinę lipidinių salelių subklasę, kaveolę (angl. *caveolae*), randamą aplink

Pulmonologija ir alergologija

centrinės adhezijos vietas, kuri efektyviai koncentruoja daugiabaltyminių signalo perdavimo kompleksą. Bet kokie pokyčiai, keičiantys ligandų prisijungimą prie integrinų, gali blokuoti ir visą signalinį kompleksą dėl greito persiskirstymo šalia kaveolės [48]. Augimo faktorių receptoriai dažnai lokalizuojasi greta kaveolės. Eksperimentais, tiriant integrinų kompleksų formavimąsi, nustatyta, kad būtent plazminė membrana reguliuoja, o endocitozės procesas koordinuoja jų aplinką, ir taip užtikrina erdvinio signalo sklaidimo reguliavimą.

TARPLĄSTELINIO MATRIKSO VAIDMUO SERGANT ASTMA

Sergant astma, vyraujantis kvėpavimo takų eozinofilinis uždegimas sutrikdo tarpląstelinio matrikso reguliaciją, pasireiškiant kiekybiniais ir kokybiniais tarpląstelinio matrikso sudėties pokyčiais bei sutrikusia už jų apykaitą atsakingų molekulinį signalinių kelių aktyvacija [50]. Tarpląstelinio matrikso kaupimasis yra vienas iš kvėpavimo takų sienelės remodeliacijos požymių, apibūdinančių astmą ir lėtinę obstrukcinę plaučių ligą [51]. Tačiau molekuliniai tarpląstelinio matrikso kaupimosi mechanizmai kol kas nepakankamai iširti. Vienas iš būdingiausių astmos patologinių požymių yra kvėpavimo takų sienelės sustorėjimas [52]. Šį sustorėjimą lemia bronchų lygiųjų raumenų hipertrofija ir hiperplazija, kaip ir suaktyvėjęs tarpląstelinio matrikso kaupimasis. Pagrindiniai plaučių tarpląstelinio matrikso baltymų šaltiniai yra plaučių fibroblastai ir bronchų lygiųjų raumenų ląstelės. Sergant astma, fibroblastai yra aktyvuojami įvairių citokinų, kurie skatina jų proliferaciją, kontraktiškumą bei ląstelinę diferenciaciją į miofibroblastų fenotipą, pasižymintį žymiai didesne tarpląstelinio matrikso baltymų gamyba [53]. Aktyvinti fibroblastai savo ruožtu išskiria IL-1 β , IL-33, CXC, citokinus, CC tipo chemokinus [54], matrikso metaloproteinazes bei reaktyviasias deguonies formas [55]. Tai sąlygoja vietinių imuninių ląstelių aktyvaciją, skatina uždegimą, uždegiminių ląstelių migraciją į plaučių jungiamąjį audinį [54]. Bronchų lygiųjų raumenų ląstelės taip pat gamina įvairius tarpląstelinio matrikso baltymus, suteikiančius audiniams struktūrą bei elastingumą. Savo ruožtu tarpląstelinis matriksas pasižymi tiesioginiu poveikiu pačių plaučių struktūrinių ląstelių aktyvumui [56]. Bronchų lygiųjų raumenų ląstelės buvo veikiamos serumu, TGF- β_1 , LTD4, kurie paskatino didesnę fibronektino, perlekano, elastino, laminino, trombospondino, chondroitino sulfato, I, II, III, IV ir V tipo kolageno, versikano bei dekorino raišką [57–60].

Sutrikusi tarpląstelinio matrikso baltymų gamyba yra susijusi su pagrindinio profibrotinio faktoriaus – transformuojančio augimo faktoriaus beta-1 (TGF- β_1) aktyvuojamais Wnt ir Smad signaliniais keliais. Didžiausius TGF- β_1 kiekius kvėpavimo takuose išskiria

eozinofilai – vienos pagrindinių astmos patogenezėje dalyvaujančių uždegiminių ląstelių. Stabilios astmos, ypač alergeno išprovokauto ūminio astmos epizodo metu, eozinofilai migruoja į kvėpavimo takus, didina vietinę TGF- β_1 koncentraciją bei išskiria kitus svarbius citokinus, chemokinus ir augimo faktorius netoli jungiamojo audinio bei bronchų lygiųjų raumenų sluoksnių.

Tarpląsteliniam matrikse astmos metu be baltymų taip pat randama daugelis augimo faktorių ir citokinų, įskaitant fibroblastų augimo faktorių (FGF)-1,-2 ir transformuojantį augimo faktorių (TGF)- β_1 , kurie ir sukelia tarpląstelinio matrikso baltymų kaupimąsi bronchų sienelėje. Vieni iš svarbiausių augimo faktorių yra TGF- β_1 ir FGF-1, kurie stimuliuoja I ir III tipo kolageno suaktyvėjusį susidarymą bronchų lygiųjų raumenų ląstelėse. Taip pat gausniam baltymų susidarymui įtakos turi ir sumažėjęs matrikso metaloproteinazių (MMP) aktyvumas, nes bronchų lygiųjų raumenų ląstelės lėtinių kvėpavimo takų ligų metu pradeda gaminti MMP inhibitorius [61].

APIBENDRINIMAS

Šiandien mokslininkai turi nemažai duomenų apie tarpląstelinį matriksą, tačiau tai, kaip ligų metu sutrikdoma tarpląstelinio matrikso homeostazė ir jos valdymas vis dar nepakankamai ištyrinėta patogenezės sritis. Todėl organų struktūrinių ląstelių ir tarpląstelinio matrikso tarpusavio sąveika yra nauja svarbi sritis, reikalaujanti platesnio tyrinėjimo siekiant nustatyti galimybę per tarpląstelinį matriksą valdyti struktūrinių ląstelių ir signalinių kelių, atsakingų už ligos patogenezę, aktyvumą.

LITERATŪRA

1. Bissell MJ, Aggeler J. Dynamic reciprocity: how do extracellular matrix and hormones direct gene expression? *Prog Clin Biol Res.* 1986; 249:251–62.
2. Wight TN, Potter-Perigo S. The extracellular matrix: an active or passive player in fibrosis? *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 2011; 301(6):G950–5.
3. Kleinman HK, Philp D, Hoffman MP. Role of the extracellular matrix in morphogenesis. *Curr Opin Biotechnol.* 2003; 14(5):526–32.
4. Rosso F, Giordano A, Barbarisi M, Barbarisi A. From cell–ECM interactions to tissue engineering. *J Cell Physiol.* 2004; 199(2):174–80.
5. Brown E, Dejana E. Cell–to–cell contact and extracellular matrix: editorial overview: Cell–cell and cell–matrix interactions—running, jumping, standing still. *Curr Opin Cell Biol.* 2003; 15(5):505–8.
6. Valentin JE, Badylak JS, McCabe GP, Badylak SF. Extracellular matrix bioscaffolds for orthopaedic applications. *J Bone Joint Surg Am.* 2006; 88(12):2673–86.
7. Huang M, Khor E, Lim LY. Uptake and cytotoxicity of chitosan molecules and nanoparticles: effects of molecular weight and degree of deacetylation. *Pharm Res.* 2004; 21(2):344–53.
8. Erler JT, Weaver VM. Three-dimensional context regulation of metastasis. *Clin Exp Metastasis.* 2009; 26(1):35–49.
9. Hulmes DJ. Building collagen molecules, fibrils, and supramolecular structures. *J Struct Biol.* 2002; 137(1):2–10.
10. Mooney A, Jackson K, Bacon R, Streuli C, Edwards G, Bassuk J, et al. Type IV collagen and laminin regulate glomerular me-

- sangial cell susceptibility to apoptosis via β 1 integrin-mediated survival signals. *Am J Pathol.* 1999; 155(2):599–606.
11. **Sanders MA, Basson MD.** Collagen IV regulates Caco-2 cell spreading and p130Cas phosphorylation by FAK-dependent and FAK-independent pathways. *Biol Chem.* 2008; 389(1):47–55.
 12. **Koohestani F, Braundmeier AG, Mahdian A, Seo J, Bi J, Nowak RA.** Extracellular matrix collagen alters cell proliferation and cell cycle progression of human uterine leiomyoma smooth muscle cells. *PLoS One.* 2013; 8(9):e75844.
 13. **Jean L, Yang L, Majumdar D, Gao Y, Shi M, Brewer BM, et al.** The Rho family GEF Asef2 regulates cell migration in three dimensional (3D) collagen matrices through myosin II. *Cell Adh Migr.* 2014; 8(5):460–7.
 14. **Löffek S, Hurskainen T, Jackow J, Sigloch FC, Schilling O, Tasanen K, et al.** Transmembrane collagen XVII modulates integrin dependent keratinocyte migration via PI3K/Rac1 signaling. *PLoS One.* 2014; 9(2):e87263.
 15. **Sabatier L, Chen D, Fagotto-Kaufmann C, Hubmacher D, McKee MD, Annis DS, et al.** Fibrillin assembly requires fibronectin. *Mol Biol Cell.* 2009; 20(3):846–58.
 16. **Kadler KE, Hill A, Canty-Laird EG.** Collagen fibrillogenesis: fibronectin, integrins, and minor collagens as organizers and nucleators. *Curr Opin Cell Biol.* 2008; 20(5):495–501.
 17. **Moretti FA, Chauhan AK, Iaconcig A, Porro F, Baralle FE, Muro AF.** A major fraction of fibronectin present in the extracellular matrix of tissues is plasma-derived. *J Biol Chem.* 2007; 282(38):28057–62.
 18. **Muro AF, Chauhan AK, Gajovic S, Iaconcig A, Porro F, Stanta G, et al.** Regulated splicing of the fibronectin EDA exon is essential for proper skin wound healing and normal lifespan. *J Cell Biol.* 2003; 162(1):149–60.
 19. **Caputi M, Baralle FE, Melo CA.** Analysis of the linkage between fibronectin alternative spliced sites during ageing in rat tissues. *Biochim Biophys Acta.* 1995; 1263(1):53–9.
 20. **Takagi J.** Structural basis for ligand recognition by RGD (Arg-Gly-Asp)-dependent integrins. *Biochem Soc Trans.* 2004; 32(Pt 3):403–6.
 21. **Hocking DC, Chang CH.** Fibronectin matrix polymerization regulates small airway epithelial cell migration. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol.* 2003; 285(1):L169–79.
 22. **Han S, Roman J.** Fibronectin induces cell proliferation and inhibits apoptosis in human bronchial epithelial cells: pro-oncogenic effects mediated by PI3-kinase and NF- κ B. *Oncogene.* 2006; 25(31):4341–9.
 23. **Altrock E, Sens C, Wuerfel C, Vasel M, Kawelke N, Dooley S, et al.** Inhibition of fibronectin deposition improves experimental liver fibrosis. *J Hepatol.* 2015; 62(3):625–33.
 24. **Chiang HY, Korshunov VA, Serour A, Shi F, Sottile J.** Fibronectin is an important regulator of flow-induced vascular remodeling. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2009; 29(7):1074–9.
 25. **Keeley FW, Bellingham CM, Woodhouse KA.** Elastin as a self-organizing biomaterial: use of recombinantly expressed human elastin polypeptides as a model for investigations of structure and self-assembly of elastin. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci.* 2002; 357(1418):185–9.
- Kiti literatūros šaltiniai redakcijoje.**