

# TGF-beta-зависимый патогенез синдрома Марфана и родственных наследственных нарушений соединительной ткани

А.С. Рудой

ГУ «432 ордена Красной Звезды главный военный клинический медицинский центр Вооруженных Сил Республики Беларусь», Минск, Беларусь

Рудой А.С. — старший ординатор кардиологического центра, подполковник медицинской службы, кандидат медицинских наук.

**Контактная информация:** 220123Ф Беларусь, г. Минск, пр. Машерова, д. 26. Тел.: +375 (172) 97 28 30, 34–22–94, 39–28–09; факс: +375 (172) 34–86–59. E-mail: andrej-rudoj@yandex.ru (Рудой А.С.).

## Резюме

Современные открытия молекулярной физиологии фибриллина и патофизиологии синдрома Марфана (СМ) и родственных нарушений соединительной ткани изменили наше понимание этих состояний, продемонстрировав изменение сигнальной активности ростовых факторов и матрично-клеточного взаимодействия. Одной из причин СМ — аутосомно-доминантного заболевания соединительной ткани — являются мутации в гене фибриллина-1, аномалия которого способствует избыточной активации трансформирующего ростового фактора-β (TGF-β). Увеличенная активность TGF-β может способствовать мультисистемному проявлению патологического процесса, включая развитие миксоматозных изменений атриовентрикулярных клапанов, аневризмы и расслоения аорты, гипермобильности суставов. Предполагается, что анти-TGF-β терапевтическая стратегия способна предотвратить опасные для жизни проявления этих нарушений соединительной ткани.

**Ключевые слова:** синдром Марфана, трансформирующий ростовой фактор-β, фибриллин.

## TGF-beta-dependent mechanisms of pathogenesis of Marfan syndrome and related disorders

A.S. Rudoy

Public institution «432 awards of the Red Star the main clinical medical military center of the Armed Forces of the Republic of Belarus», Minsk, Belarus

**Corresponding author:** 220123Ф Belarus, Minsk, 26 Masherov pr. Phone: +375 (172) 97 28 30, 34–22–94, 39–28–09; fax: + 375 (172) 34–86–59.

E-mail: andrej-rudoj@yandex.ru (Rudoy A., candidate of medicine, senior resident doctor at the Cardiology center, medical lieutenant colonel).

## Abstract

Recent research on the molecular physiology of fibrillin and the pathophysiology of Marfan syndrome and related connective tissue disorders has changed our understanding of this pathology by demonstrating changes in growth factor signalling and in matrix-cell interactions. Marfan syndrome is an autosomal dominant disorder of connective tissue caused by mutations in fibrillin-1. Fibrillin-1 contributes to the regulated activation of the cytokine TGF-β, and enhanced signaling is a consequence of fibrillin-1 deficiency. Thereby, increased TGF-β signaling may contribute to the multisystem pathogenesis of Marfan syndrome, including the development of myxomatous changes of the atrioventricular valve, aortic aneurysm and dissection, joint hypermobility syndrome. These data suggest that anti-TGF-β therapeutic strategy for patients with Marfan syndrome can be useful in prevention of the major life-threatening manifestation of this disorder.

**Key words:** Marfan syndrome, transforming growth factor-β, fibrillin.

*Статья поступила в редакцию: 16.04.09. и принята к печати: 30.04.09.*

## Введение

Открытия последних лет в молекулярном патогенезе синдрома Марфана (СМ) инициировали целенаправленные исследования по изучению данного заболевания и близких ему синдромов [1]. В международном исследовании, включавшем 1009 пробандов с известными мутациями в гене фибриллина-1 (FBN1), была установлена целесообразность молекулярного скрининга в случаях, если затронута по крайней мере одна крупная система [12]. Молекулярный скрининг позволяет намного раньше

(44 % против 73 %) предположить опасность развития угрожаемой для жизни аневризмы аорты у пациентов с «невыполненными» международными «клиническими» критериями СМ [12]. Диагностика СМ на основании клинических критериев возможна у 79 % взрослого населения, тогда как согласно «международным критериям» при выявлении FBN1 аномалии — у 90%. Невершенство существующих критериев диагностики СМ инициировало начало их пересмотра на совещании рабочей группы кардиоваскулярной генетики в Брюсселе

и Бельгии, в начале 2007 года [2, 11]. По современным данным сердечно-сосудистый риск расслоения и разрыва аорты при СМ и близких ему состояний составляет 1–2 % от всех смертельных исходов в промышленно развитых странах, являясь причиной смерти в 50 тыс. случаев в год [25]. В связи с этим в апреле 2007 года Национальный институт сердца, легких и крови и Национальный фонд Марфана США создали рабочую группу по исследованиям СМ и связанных с ним нарушений соединительной ткани с целью организации междисциплинарной дискуссии [25]. Синдром Марфана — это аутосомно-доминантная, мультисистемная, плеiotропная болезнь, характеризующаяся высоко переменными клиническими проявлениями и предполагаемым уровнем 1/5000 с вероятностью более чем в 25 % спорадических случаев. Биомеханическая недостаточность структурных элементов соединительной ткани вследствие количественной и/или качественной аномалии микрофибриллярных волокон, лежащая в основе СМ, идентифицирована в 1990 году [16]. К 2002 году уже было открыто более 337 уникальных мутаций в гене FBN1, объясняющих плеiotропность клинических проявлений болезни [31]. В настоящее время для стандартизации информации, мутационного анализа и идентификации структуры/функции и фенотип/генотип взаимосвязей существует человеческая база данных мутаций в гене FBN1 (UMD-FBN1 — Mutation Database), созданная в 1995 году [7]. Недавно были обнаружены мутации в гене родственных протеинов — фибриллина-2 и -3, ведущие к развитию клинических проявлений марфаноподобного фенотипа с контрактурной арахнодактилией (синдром Beals), MASS-фенотипа (акроним: Mitral valve, Aorta, Skeleton, Skin), семейного пролапса митрального клапана [18, 26], Weill-Marchesani синдрома [8].

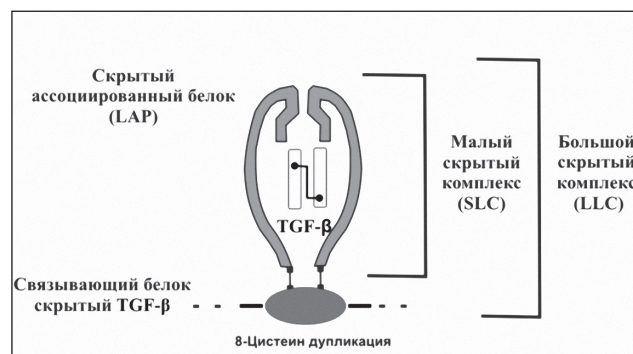
Последующие исследования молекулярной физиологии FBN и патофизиологии СМ продемонстрировали взаимосвязь соединительнотканых нарушений с изменением передачи сигналов ростовыми факторами и нарушением межклеточного взаимодействия в основном веществе [5, 30, 13]. Как выяснилось, FBN1, кроме основной структурообразующей функции, регулирует пространственную и временную активацию трансформирующего ростового фактора- $\beta$  (TGF- $\beta$ ) [22].

TGF- $\beta$  — это мультипотентный цитокин, являющийся важным модулятором клеточного роста, воспаления, пролиферации и дифференцировки внеклеточного матричного депонирования и апоптоза [3]. TGF- $\beta$  ингибирует пролиферацию и миграцию гладкомышечных и эндотелиальных клеток [4], оказывает ингибирующие эффекты на иммунную систему, подавляя гемопоэз и провоспалительный цитокиновый ответ.

Изучение полиморфизма в гене TGF- $\beta$ 1 позволяет прогнозировать восприимчивость к аутоиммунным болезням [4]. Контроль продукции ростового фактора используется для оценки динамики течения ряда заболеваний, таких как ранний канцерогенез и рост клеточной опухоли, фиброз, артериальная гипертензия [19], остеопороз [33], наследственная геморрагическая телеангиэктазия, атеросклероз и прочие [14].

Активность TGF- $\beta$  регулируется путем преобразования малого скрытого TGF- $\beta$ -комплекса в активную клеточную молекулу — TGF- $\beta$ . Этот процесс опосредуется через фибриллин-1 и белок, связывающий скрытый TGF- $\beta$  (latent transforming growth factor — binding protein 1, LTBP-1) (рис. 1). Малый скрытый TGF- $\beta$ -комплекс (small latent complex, SLC) состоит из TGF- $\beta$ -пропептида или так называемого скрытого ассоциированного белка (latency-associated peptide, LAP) и TGF- $\beta$ . 8-цистеин-3 область белка LTBP-1 связывает малый скрытый TGF- $\beta$ -комплекс (SLC), образуя большой скрытый (неактивный) комплекс (large latent complex, LLC).

Рисунок 1. Диаграмма большого скрытого TGF- $\beta$ -комплекса (large latent complex, LLC)



**Примечания:** большой скрытый TGF- $\beta$ -комплекс (large latent complex, LLC); трансформирующий ростовой фактор- $\beta$  (TGF- $\beta$ )-пропептид или скрытый ассоциированный белок (latency-associated peptide, LAP); малый скрытый TGF- $\beta$ -комплекс (small latent complex, SLC); белок, связывающий TGF- $\beta$  (latent transforming growth factor — binding protein 1, LTBP-1).

Малые скрытые TGF- $\beta$ -комплексы (SLC), внутриклеточно связавшись с фибриллин-ассоциированными связывающими белками (LTBPs), формируют большие скрытые комплексы (LLC), которые секретируются во внеклеточную среду, где связывают фибриллин в микрофибриллы (А модель, рис. 2.).

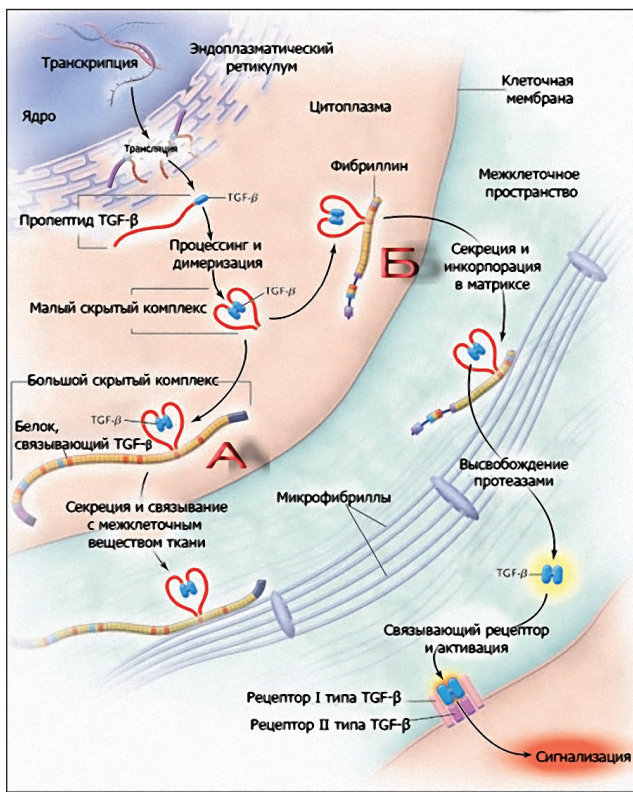
Однако сниженное количество фибриллина-1 или его аномалии, которые наблюдаются при многих наследственных нарушениях соединительной ткани (ННСТ), могут закончиться чрезмерным накоплением LLC, неспособного взаимодействовать с микрофибриллами фибриллина-1. Свободный комплекс LLC, содержащий TGF- $\beta$ , начинает взаимодействовать с находящимися во внеклеточной среде скрытыми активаторами TGF- $\beta$ , что ведет к растормаживанию процесса активации TGF- $\beta$  [27].

В качестве альтернативы малые скрытые TGF- $\beta$ -комплексы (SLC) могут непосредственно (без участия LTBPs) связывать фибриллин, включаясь в структуры внеклеточной матрицы (А модель, рис. 2). Этот процесс зависит от строения 8-цистеин-3 области LTBP-1 и фибриллина (рис. 3).

Увеличенная поверхностная доступность 8-цистеин-3 области фибриллин-ассоциированного белка LTBP-1 улучшает реактивность 2–6 дисульфидных мостиков и ковалентное связывание с TGF- $\beta$ -пропептидом (LAP) по

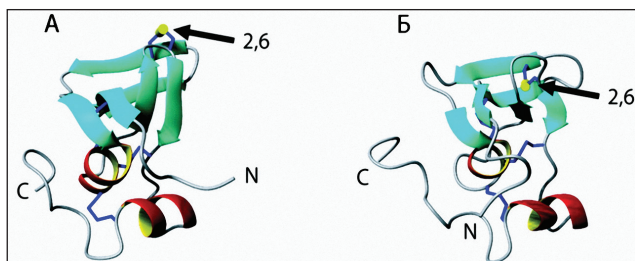


**Рисунок 2. Модели взаимодействия между TGF- $\beta$  и внеклеточной матрицей**



**Примечания:** А — первая модель; Б — вторая модель; TGF- $\beta$  (transforming growth factor- $\beta$ ) — трансформирующий ростовой фактор- $\beta$ .

**Рисунок 3. Ленточная диаграмма структур TGF- $\beta$  доменов (Rifkin D., 2005)**



**Примечания:** TGF- $\beta$  (transforming growth factor- $\beta$ ) — трансформирующий ростовой фактор- $\beta$ ; LTBP-1 (latent transforming growth factor — binding protein 1) — белок, связывающий TGF- $\beta$ .

TGF- $\beta$ -связывающий домен (8-цистеин-3) LTBP-1 (А) в сравнении с TGF- $\beta$ -несвязывающим 8-цистеин доменом фибриллина (Б). Дисульфидные связи показаны темно-синим цветом,  $\beta$  цепи — светло-синим,  $\alpha$ -спираль — красным. 2,6-дисульфидные связи (желтый цвет) в TGF- $\beta$  связанной молекуле (А) вступают в растворитель, тогда как в TGF- $\beta$ -несвязанной молекуле (Б) эквивалентные связи скрыты. N и C — терминальные фрагменты LTBP и фибриллина, взаимодействующие с основным веществом.

сравнению с 8-цистеин областью фибриллина. Последнее обстоятельство делает скрытые малые комплексы (SLC), прикрепленные к микрофибриллам, менее устойчивыми к воздействию многих активаторов (протеазы, интегрины, изменения pH и прочие) [3, 22, 29] и объясняет избыточное высвобождение TGF- $\beta$ .

В растворимании процесса активации TGF- $\beta$  существенную роль может играть и 4-й тип белка LTBP, который, в отличие от LTBP-1 и -3, плохо связывает все

три изоформы TGF- $\beta$  и чаще встречается в мышечной модели CM [32].

Хотя аномалии FBN1 ответственны за развитие марфаноидного фенотипа приблизительно у 80 % пациентов, появление сходных заболеваний также может быть вызвано мутациями и инактивацией рецепторов TGF- $\beta$  [21]. В 2005 г. Loeys и Dietz et al. (2005) описали новый аутосомно-доминантный CV, названный их именами (фенотип Loeys-Dietz), в основе которого лежат мутации в TGF- $\beta$ -рецепторах I и II типа [20]. У пациентов, имеющих 2 тип CM (OMIM 154705) и семейную аневризму грудной аорты, идентифицированы миссенс мутации (хромосомные точечные разрывы на локусе 3p25-p24.2), нарушающие генетическое кодирование рецептора-TGF- $\beta$  II типа и ведущие к утрате инактивации TGF- $\beta$  [21, 24].

Таким образом, дефекты в структурных белках, таких как фибриллин-1, изменение 8-цистеин дупликации в фибриллине, наличие фенотипа LTBP-4, мутации в рецепторах TGF- $\beta$  могут нарушать гомеостаз соединительной ткани, а этиология определенных ННСТ может зависеть не от архитектурных функций аномальных белков, а от неспособности контролировать активацию молекулы TGF- $\beta$ .

Новое понимание многих аспектов патогенеза ННСТ с точки зрения нарушения функции TGF- $\beta$  и других семейств цитокинов, затрагивающих клеточную деятельность, обусловило пересмотр принципов лечения, выдвинув на первый план терапевтическое применение TGF- $\beta$ -антагонистов [17]. В настоящее время раскрываются механизмы новой терапевтической стратегии, в частности супрессии TGF- $\beta$ 1, с целью лечения эластолиза аорты, пролапса митрального клапана как плеiotропного проявления различных менделирующих ННСТ. В эксперименте на мышечной модели CM использование TGF- $\beta$  нейтрализующих антител предотвратило развитие миксоматозных изменений в митральном клапане [23], обеспечило протекцию в морфогенезе дистальных альвеолярных мешочков и нормальное развитие легкого [22]. Изучается роль ингибиторов рецепторов ангиотензина II (лозартан), которые могут ингибировать синтез TGF- $\beta$ , предотвращая экстракардиальные и сосудистые проявления (например, фрагментацию эластина в стенке аорты — гистологического признака CM), имея преимущества в сравнении с плацебо и пропранололом [15]. Следующим этапом должны стать исследования, которые позволят сопоставить эффективность лозартана у людей с CM в сравнении с мышами, аномальными по фибриллину-1 [15]. Национальные Институты Здоровья спонсируют клинические испытания, которые сравнят лозартан с терапией бета-блокаторами у детей и взрослых людей молодого возраста с CM и аневризмой аорты [13, 28]. Заключительные результаты будут предположительно не ранее чем через 3 года [27]. Если лозартан окажется эффективным, это могло бы быть также использовано в лечении пациентов с TGFBR1 или TGFBR2 мутациями, имеющих врожденную контрактурную арахнодактилию [28]. Эффективно блокировать активацию TGF- $\beta$  может и основной фактор роста фибробластов (FGF), что было

успешно использовано в генной инженерии для лечения соединительнотканного фиброза аортального клапана [10]. Принимая во внимание роль TGF- $\beta$ -зависимого патогенеза в развитии **коллагенопатий**, дальнейшие исследования могут оказаться ценными для изучения возможностей лечения сосудистого типа синдрома Элерса-Данло (ЭДС) [28]. Кроме ингибиторов рецепторов ангиотензина II, антагонистический эффект на TGF- $\beta$  совсем недавно обнаружен у доксициклина. Препарат может уменьшать активацию TGF- $\beta$ , восстанавливая вазомоторную функцию, нормализуя жесткость аорты и предотвращая ослабление сосуда [6]. Механизм действия доксициклина сходен с нейтрализующими антителами против матричных металлопротеиназ (ММП)-2 и -9 и объясняется увеличением экспрессии ингибиторов ММП по отношению к протеиназам. В опытах на мышинной модели СМ долгосрочное лечение доксициклином, неспецифического ингибитора ММП, оказалось более эффективно, чем атенололом в предотвращении развития аневризмы аорты [6]. Наконец, есть указания, что чрезмерная активность TGF- $\beta$  может быть причастна к патогенезу артериальной гипертензии в контексте дисрегуляции метаболизма глюкозы [9]. Если это подтвердится, анти-TGF- $\beta$  терапевтические средства откроют большие перспективы в лечении приобретенных сосудистых болезней, типа ангиопатий, связанных с сахарным диабетом [19].

Все вышперечисленное указывает, что нарушение сигнальной активности ростовых факторов может вносить вклад в патогенез ННСТ, а матричная секвестрация цитокинов — есть ключ к регуляции их активации.

#### Литература

1. Земцовский Э.В. Диспластические фенотипы и диспластическое сердце. Аналитический обзор. — СПб.: Изд-во «Ольга», 2007. — 80 с.
2. Audek L. CSANZ cardiovascular genetics working group. Guidelines for the diagnosis and management of Marfan syndrome // *Heart Lung Circ.* — 2007. — Vol. 16. — P. 28–30.
3. Annes J., Munger J., Rifkin D. Making sense of latent TGF-beta activation // *J. Cell. Sci.* — 2003. — Vol. 116. — P. 217–224.
4. Blobe G., Schiemann W., Lodish H. Role of transforming growth factor beta in human disease // *N. Engl. J. Med.* — 2000. — Vol. 342. — P. 1350–1358.
5. Byers P. Determination of the molecular basis of Marfan syndrome: a growth industry // *J. Clin. Invest.* — 2004. — Vol. 114. — P. 161–163.
6. Chung A., Yang H., Radomski M. et al. Long-term doxycycline is more effective than atenolol to prevent thoracic aortic aneurysm in Marfan syndrome through the inhibition of matrix metalloproteinase-2 and -9 // *Circ. Res.* — 2008. — Vol. 102. — P. e73–85.
7. Collod-Bérout G., Le Bourdelles S., Ades L. et al. Databases. Update of the UMD-FBN1 mutation database and creation of an FBN1 polymorphism database // *Human mutation.* — 2003. — Vol. 22. — P. 199–208.
8. Corson G., Charbonneau N., Keene D. et al. Differential expression of fibrillin-3 adds to microfibril variety in human and avian, but not rodent, connective tissues // *Genomics.* — 2004. — Vol. 83. — P. 461–472.
9. Coucke P., Willaert A., Wessels M. et al. Mutations in the facilitative glucose transporter GLUT10 alter angiogenesis and cause arterial tortuosity syndrome // *Nat. Genet.* — 2006. — Vol. 38. — P. 452–457.
10. Cushing M., D. Mariner P., Liao J.-T. et al. Fibroblast growth factor represses Smad-mediated myofibroblast activation in aortic valvular interstitial cells // *FASEB J.* — 2008. — Vol. 22. — P. 1769–1777.
11. De Paep A., Devereux R., Dietz H. et al. Revised diagnostic criteria for the Marfan syndrome // *Am. J. Med. Genet.* — 1996. — Vol. 62. — P. 417–426.
12. Faivre L., Collod-Beroud G., Child A. et al. Contribution of molecular analyses in diagnosing Marfan syndrome and type I fibrillinopathies an international study of 1009 probands // *J. Med. Genet.* — 2008. — Vol. 45. — P. 384–390.
13. Gelb B. Marfan's syndrome and related disorders — more tightly connected than we thought // *N. Engl. J. Med.* — 2006. — Vol. 355. — P. 841–844.
14. Grainger D., Witchell C., Metcalfe J. Tamoxifen elevates transforming growth factor- $\beta$  and suppresses diet-induced formation of lipid lesions in mouse aorta // *Nat. Med.* — 1995. — Vol. 1. — P. 1067–1073.
15. Habashi J., Judge D., Holm T. et al. Losartan, an AT1 antagonist, prevents aortic aneurysm in a mouse model of Marfan syndrome // *Science.* — 2006. — Vol. 312. — P. 117–121.
16. Hollister D., Godfrey M., Sakai L. et al. Immunohistologic abnormalities of the microfibrillar-fiber system in the Marfan syndrome // *N. Engl. J. Med.* — 1990. — Vol. 323. — P. 152–159.
17. Judge D., Dietz H. Marfan's syndrome // *Lancet.* — 2005. — Vol. 366. — P. 1965–1976.
18. Lee B., Godfrey M., Vitale E. et al. Linkage of Marfan syndrome and a phenotypically related disorder to two different fibrillin genes // *Nature.* — 1991. — Vol. 352. — P. 330–334.
19. Li B., Khanna A., Sharma V. et al. TGF- $\beta$ 1 DNA polymorphisms, protein levels, and blood pressure // *Hypertension.* — 1999. — Vol. 33. — P. 271–275.
20. Loeyes B., Chen J., Neptune E. et al. A syndrome of altered cardiovascular, craniofacial, neurocognitive and skeletal development caused by mutations in TGFBR1 or TGFBR2 // *Nat. Genet.* — 2005. — Vol. 37. — P. 275–281.
21. Mizuguchi T., Collod-Beroud G., Akiyama T. et al. Heterozygous TGFBR2 mutations in Marfan syndrome // *Nat. Genet.* — 2004. — Vol. 36. — P. 855–860.
22. Neptune E., Frischmeyer P., Arking D. et al. Dysregulation of TGF- $\beta$  activation contributes to pathogenesis in Marfan syndrome // *Nat. Genet.* — 2003. — Vol. 33. — P. 407–411.
23. Ng C., Cheng A., Myers L. et al. TGF-beta-dependent pathogenesis of mitral valve prolapse in a mouse model of Marfan syndrome // *J. Clin. Invest.* — 2004. — Vol. 114. — P. 1586–1592.
24. Pannu H., Fadulu V., Chang J. et al. Mutations in transforming growth factor-beta receptor type II cause familial thoracic aortic aneurysms and dissections // *Circulation.* — 2005. — Vol. 112. — P. 513–520.
25. Pearson G., Devereux R., Loeyes B. et al. Report of the National Heart, Lung, and Blood Institute and National Marfan Foundation Working Group on Research in Marfan Syndrome and Related Disorders // *Circulation.* — 2008. — Vol. 118. — P. 785–791.
26. Putnam E., Zhang H., Ramirez F. et al. Fibrillin-2 (FBN2) mutations result in the Marfan-like disorder, congenital contractural arachnodactyly // *Nat. Genet.* — 1995. — Vol. 11. — P. 456–458.
27. Pyeritz R. Marfan syndrome: 30 years of research equals 30 years of additional life expectancy // *Heart.* — 2009. — Vol. 95. — P. 173–175.
28. Pyeritz R. Small molecule for a large disease // *N. Engl. J. Med.* — 2008. — Vol. 358. — P. 2829–2831.
29. Rifkin D. Latent transforming growth factor- $\beta$  (TGF- $\beta$ ) binding proteins: orchestrators of TGF- $\beta$  availability // *J. Biol. Chem.* — 2005. — Vol. 280. — P. 7409–7412.
30. Robinson P., Arteaga-Solis E., Baldock C. et al. The molecular genetics of Marfan syndrome and related disorders // *J. Med. Genetics.* — 2006. — Vol. 43. — P. 769–787.
31. Robinson P., Booms P., Katzke S. et al. Mutations of FBN1 and genotype-phenotype correlations in Marfan syndrome and related fibrillinopathies // *Hum. Mut.* — 2002. — Vol. 20. — P. 153–161.
32. Saharinen J., Keski-Oja J. Specific sequence motif of 8-Cys repeats of TGF-beta binding proteins, LTBP3, creates a hydrophobic interaction surface for binding of small latent TGF-beta // *Mol. Biol. Cell.* — 2000. — Vol. 11. — P. 2691–2704.
33. Yamada Y., Miyauchi A., Goto J. et al. Association of a polymorphism of the transforming growth factor- $\beta$ 1 gene with genetic susceptibility to osteoporosis in postmenopausal Japanese women // *J. Bone Miner. Res.* — 1998. — Vol. 13. — P. 1569–1576.