
ОБЗОРЫ

РОЛЬ МЕТАЛЛОПРОТЕИНАЗ В РАЗВИТИИ ИНДУЦИРОВАННЫХ ИШЕМИЕЙ ПАТОЛОГИЙ ГЕМАТОЭНЦЕФАЛИЧЕСКОГО БАРЬЕРА

© 2024 г. Л. Ю. Коляскин¹, А. М. Шибeko^{2, 3, *}

¹Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия

²Центр теоретических проблем физико-химической фармакологии РАН, Москва, Россия

³Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии,
онкологии и иммунологии имени Дмитрия Рогачева Министерства здравоохранения

Российской Федерации, Москва, Россия

*E-mail: alshibeko@gmail.com

Поступила в редакцию 31.10.2023 г.

После доработки 29.11.2023 г.

Принята к публикации 19.12.2023 г.

Гематоэнцефалический барьер поддерживает гомеостаз головного мозга, обеспечивая регулируемый транспорт питательных веществ и макромолекул из кровотока. Его целостность нарушается при ряде патологических процессов, таких как ишемический инсульт, нейродегенеративные заболевания или воспаление. Это приводит к потере контроля над транспортными процессами из кровотока в головной мозг, что вызывает кровоизлияния, отеки и гибель тканей. Изменение проницаемости гематоэнцефалического барьера в значительной степени осуществляется и регулируется семейством ферментов, отвечающим за перестраивание существующих сосудов, ангиогенез и ряд других физиологических и патологических процессов, – матриксными металлопротеиназами. В данном обзоре представлены данные о структуре гематоэнцефалического барьера, о патологических изменениях, происходящих в нем под действием металлопротеиназ, о механизмах, регулирующих их активность, и о трудностях, сопряженных с исследованиями данных процессов.

Ключевые слова: гематоэнцефалический барьер, матриксная металлопротеиназа, ишемический инсульт

DOI: 10.31857/S0869813924010021, **EDN:** WUKFOS

ВВЕДЕНИЕ

Согласно данным Всемирной Организации по борьбе с инсультом, к 2019 г. инсульты стали второй по распространенности причиной смерти и третьей причиной инвалидизации населения в мире [1]. Инсульты разделяют на две группы на основе характера протекающих патологических процессов. Инсульт может быть ишемическим, при котором возникает тромбоз сосуда, питающего головной мозг, или геморрагическим, при котором происходит разрыв кровеносного сосуда, приводящий к внутримозговому или субарахноидальному кровоизлиянию [2]. Согласно статистике, собранной с 1990 по 2019 гг., ишемический инсульт случается примерно в 2 раза чаще, чем геморрагический [1].

Ишемический инсульт посредством блокады кровеносного сосуда приводит к возникновению кислородного голодания и дефицита глюкозы в тканях головного мозга,

вызывая их гибель. Помимо этого, под действием каскада металлопротеиназ матрикса (МП) запускается ряд процессов, приводящих к нарушению целостности гематоэнцефалического барьера (ГЭБ), возникновению отека, воспаления и внутримозгового кровотечения, что усиливает гибель нейронов [3]. Стандартными средствами терапии ишемического инсульта являются тромболитическая терапия тканевым активатором плазминогена (ТПА) и тромбэктомия [4]. Они нацелены на экстренное удаление тромба, блокирующего кровеносный сосуд, и восстановление кровотока (реканализацию). При этом временной интервал эффективной применимости данных методик весьма ограничен: до 4.5 ч после манифестации для тромболитической терапии [5, 6] и до 24 ч для тромбэктомии [7, 8]. Метаанализ данных результатов применения различных типов терапии ишемических инсультов показывает, что тромболитическая терапия обеспечивает эффективность восстановления нейрологических функций от 20 до 40%, в то время как комбинация тромболитической терапии и тромбэктомии достигает эффективности в 99%. При этом безопасность тромболитической терапии находится в диапазоне 40–60%, безопасность тромбэктомии составляет 12%, а безопасность комбинации тромболитической терапии и тромбэктомии достигает 84% [9]. Помимо этого, тромболитическая терапия увеличивает в 10 раз частоту развития геморрагической трансформации (кровоизлияния в мозг) [10]. Это связано с тем, что ТПА приводит к дополнительной активации каскада металлопротеиназ, вызывающих деградацию ГЭБ.

Исследование механизмов, регулирующих процессы разрушения ГЭБ, поражения тканей головного мозга и их восстановления и роли металлопротеиназ в этих процессах, важно не только с практической позиции снижения смертности и инвалидизации населения, вызываемых инсультами, но и с позиции фундаментального понимания сложных систем, управляющих развитием и гомеостазом организма.

Структура ГЭБ

Гематоэнцефалический барьер осуществляет контроль транспорта ионов, кислорода и питательных веществ между кровью и отделами мозга, а также обеспечивает защиту паренхимы головного мозга от проникновения токсинов, патогенов, лекарств и других экзогенных соединений в центральную нервную систему [11].

ГЭБ состоит из кровеносных сосудов, образованных специализированными эндотелиальными клетками, астроцитами, перицитами и окончаниями нейронов [12–14]. Ножки астроцитов примыкают к базальной мембране [15]. Перициты играют регуляторную роль в тонусе, стабильности, восстановлении и ангиогенезе сосудистой сети [16], а также способны модулировать функцию астроглии [17, 18]. Наконец, нейроны также активно участвуют в этой структуре, поскольку нейрональные окончания приходят ко всем клеткам, образующим ГЭБ [19] (рис. 1).

Поток гидрофильных молекул через эндотелий ГЭБ затруднен плотными контактами, герметизирующими пути между соседними эндотелиальными клетками [20]. Плотный контакт представляет собой полупроницаемый диффузионный барьер, который различает растворенные вещества на основе размера и заряда. Диффузия ионов и небольших незаряженных молекул происходит через поры диаметром около 0.4 нм [21]. Этот путь парацеллюлярной диффузии регулируется порообразующими клаудинами [22, 23]. Макромолекулы размером до 6 нм также переносятся парацеллюлярным транспортом, но макромолекулярная диффузия изучена недостаточно хорошо.

Плотный контакт образует защитный барьер там, где две соседние эндотелиальные клетки контактируют латерально в парацеллюлярных пространствах, образуя двухклеточное плотное соединение [24]. В точках контакта трех клеток образуются трехклеточные плотные контакты, которые конструктивно отличаются от двухклеточных (рис. 2).

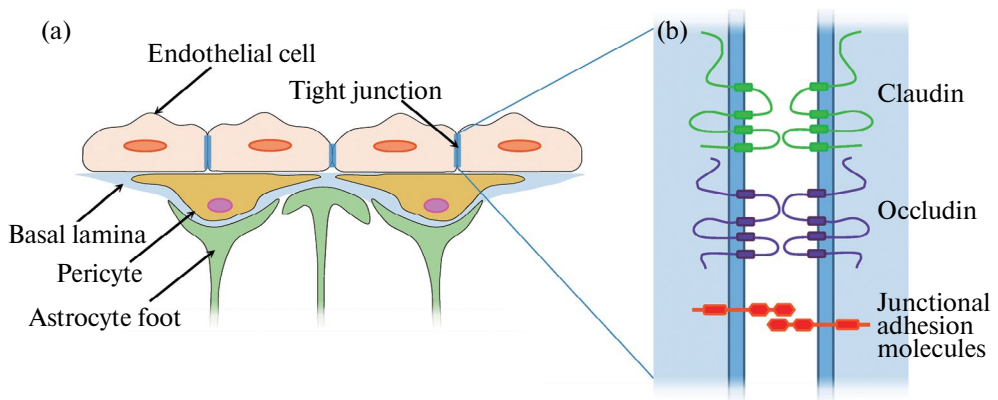


Рис. 1. Гематоэнцефалический барьер и плотный контакт. (a) – Схематичный рисунок гематоэнцефалического барьера в продольном сечении, показывающий эндотелий, базальную мембрану, перициты, астроциты и плотные контакты. (b) – Схематичное изображение плотного контакта, показаны основные структурные белки: клаудин (зеленый), окклюдин (фиолетовый) и молекулы соединительной адгезии (красный).

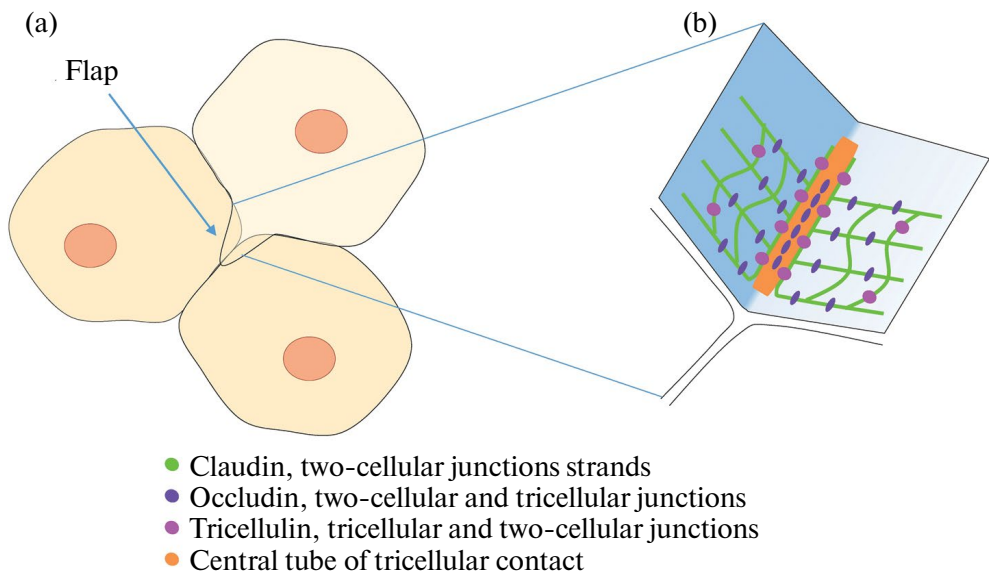


Рис. 2. Схематичное изображение места соединения трех клеток эндотелия (a) и трехклеточного плотного контакта, образованного в этом месте (b). Стрелкой отмечен лепесток клетки, настилающейся над двумя другими в месте трехклеточного контакта. Оранжевый цвет – центральная трубка трехклеточного плотного контакта. Зеленым цветом показаны фибриллы клаудина, образующие нити двухклеточных плотных контактов, подходящие к центральной трубке. Фиолетовый цвет – окклюдины, которые участвуют в формировании плотных контактов между двумя и тремя клетками. Розовый цвет – трицеллюлин, основной структурный белок трехклеточного плотного контакта, который, однако, также встречается и в двухклеточных контактах.

Сеть двухклеточных плотных контактов, состоящая из трансмембранных белков окклюдина и клаудина, расширяется базолатерально при сближении в трехклеточных контактах. Одна из трех клеток настигается тонким лепестком над двумя оставшимися подлежащими клетками, образуя расположенную параллельно локальной плоскости стенки сосуда трехцепочечную структуру с “центральной трубкой” длиной 10 нм [25], которая является местом повышенной парацеллюлярной проницаемости [26]. Основным структурным белком трехклеточного контакта является трицеллюлин, который также встречается и в двухклеточных контактах, но в существенно меньшем количестве [27]. В трехклеточном контакте также повышено количество окклюдина, который образует менее прочные трансмембранные связи и более, чем клаудин, уязвим к ферментативному расщеплению.

Клаудины способны полимеризоваться в линейные фибриллы [28], в отличие от окклюдина, который образует лишь короткие фрагменты нитей. Клаудины демонстрируют более сильную адгезию, чем окклюдин [29], обеспечивая герметизацию межклеточного пространства, и играют ключевую роль в регуляции парацеллюлярной проницаемости [30]. Своей цитоплазматической областью клаудины взаимодействуют с семейством каркасных белков зональных окклюденов [31], которые, в свою очередь, необходимы для сборки плотного контакта и его жесткого закрепления к актиновому цитоскелету [32]. Помимо клаудина и окклюдина, в формировании плотного контакта участвуют молекулы адгезии плотных контактов, белки с трансмембранным доменом и внеклеточной частью, свернутыми в два иммуноглобулиноподобных домена [33], принадлежащие к суперсемейству иммуноглобулинов. Они связываются с клаудиновыми фибриллами и участвуют в регуляции парацеллюлярной проницаемости [34].

Следующим элементом ГЭБ является базальная мембрана, сложная аморфная структура толщиной 50–100 нм [35], находящаяся между эндотелием сосудов головного мозга и ножками астроцитов [36]. Она состоит из множества компонентов, основными из которых являются такие белки внеклеточного матрикса, как коллаген IV, ламинин, нидоген и протеогликаны [37], регулирующие целостность ГЭБ в норме и при патологиях. Базальная мембрана выполняет множество важных функций, включая структурную поддержку, закрепление клеток и передачу сигналов [38, 39].

Перициты — это многофункциональные клетки, встроенные в стенки капилляров. Перициты часто считают похожими на мезенхимальные стволовые клетки, и исследования как *in vitro*, так и *in vivo* показали, что они могут дифференцироваться в несколько типов клеток, включая ангиобласты, нейральные предшественники, сосудистые клетки и микроглию [40, 41]. Перициты регулируют проницаемость ГЭБ для воды и ряда низкомолекулярных и высокомолекулярных соединений по крайней мере двумя способами: регулируя паттерны экспрессии генов, специфичных для ГЭБ, в эндотелиальных клетках и вызывая поляризацию концевых ножек астроцитов, окружающих кровеносные сосуды ЦНС [42]. Также перициты управляют формированием плотных контактов и транспортировкой везикул в эндотелиальных клетках ЦНС и ингибируют производство молекул, которые увеличивают проницаемость сосудов и инфильтрацию иммунных клеток ЦНС [43].

Астроциты являются наиболее распространенным типом клеток в мозге млекопитающих; вместе с олигодендроцитами и микроглией они являются тремя основными типами глиальных клеток [44]. Астроциты играют важную роль в развитии и поддержании целостности плотных контактов посредством высвобождения факторов роста, таких как фактор роста сосудистого эндотелия, основной фактор роста фибробластов, нейротрофический фактор глиальной клеточной линии [45, 46]. Эксперименты с удалением астроцитов из зоны ГЭБ во взрослом мозге показали, что они являются необходимыми для поддержания как его целостности, так и для восстановления после повреждения [47].

Таблица 1. Металлопротеиназы, их источники и субстраты, входящие в состав ГЭБ

МП	Источник	Активатор	Субстрат в составе ГЭБ
МП2	Эндотелий, тромбоциты	Фурин, МП14, МП15	Плотные контакты: окклюдин, зональные окклюдены, трицеллюлин
МП3	Перициты, микроглия, нейроны	Плазмин	Плотные контакты: окклюдин, клаудин Базальная мембрана: ламинин
МП9	Нейтрофилы, эндотелий, перициты, астроциты	МП3, МП2, TLR2, МП7, МП10	Плотные контакты: окклюдин, зональные окклюдены, молекулы соединительной адгезии Базальная мембрана: коллагены, желатин, фибронектин, ламинин, нидоген
МП8	Макрофаги, нейтрофилы	МП3, МП7	Плотные контакты: окклюдин Базальная мембрана: коллагены, желатин, фибронектин, ламинин, нидоген
МП10	Микроглия, эндотелий, нейроны	Плазмин, МП10	Базальная мембрана: коллагены, желатин, фибронектин
МП13	Глия, нейроны, эндотелий	МП14, МП3	Базальная мембрана: коллагены, желатин

Металлопротеиназы

Матриксные металлопротеиназы (МП), или матриксины, выделяют в отдельное семейство внеклеточных цинк-зависимых эндопептидаз, способных разрушать все типы белков внеклеточного матрикса. Семейство МП на данный момент содержит 28 протеаз, 23 из которых присутствуют у человека. Внутри семейства классификация МП производится по субстратной специфичности по отношению к белкам внеклеточных структур.

МП участвуют в большинстве воспалительных, аутоиммунных, раковых и патогенных заболеваний. МП могут вызывать как ухудшения в прогрессировании заболеваний, так и поддерживать восстановление. Белки внеклеточного матрикса составляют только 30% субстратов МП, а остальные субстраты МП не относятся к внеклеточному матриксу [48]. МП действительно играют важную роль в деградации коллагенов и протеогликанов. Гормоны щитовидной железы во время метаморфоза способствуют высвобождению нескольких МП, которые играют активную роль в ремоделировании кишечника; они важны для морфогенеза ветвления при развитии легких, молочных желез и других органов. МП вызывают деградацию и процессинг активно участвующих в процессе заживления ран факторов роста и их рецепторов; модулируют факторы, стимулирующие или ингибирующие ангиогенез [49], в том числе активируют такой важный регулятор ангиогенеза, как фактор роста эндотелия сосудов, который стимулирует рост и проницаемость сосудов [50, 51]. МП участвуют в регуляции апоптоза, вызванного ишемическим инсультом [52–54]. Сводные данные об основных металлопротеиназах, регулирующих целостность ГЭБ при ишемическом инсульте, а также их основных субстратах представлены в табл. 1.

МП, за немногочисленным рядом исключений, синтезируются в виде профермента; для перехода из латентного состояния к активному им требуется провзаимодейство-

вать с активатором. В роли активаторов МП могут выступать различные протеиназы, например, такие как ТПА, фурин или другие МП в активной форме. Ферментативная активность МП регулируется альфа-2-макроглобулином и группой тканевых ингибиторов матриксных металлопротеиназ (ТИМП), которые путем связывания блокируют активные сайты или ухудшают реакционную способность активных МП путем связывания в альтернативных сайтах [55]. К текущему моменту были выделены и определены четыре гомологичных ТИМП (ТИМП 1–4).

Традиционно МП принято разделять на четыре группы, исходя из субстратной специфичности и частичной локализации МП в клетке. К коллагеназам принято относить МП1, МП8, МП13, они способны расщеплять фибриллярные белки – трехспиральные коллагены. МП2 и МП9 образуют группу желатиназ: ферментов, расщепляющих коллаген VI типа и желатин. МП3, МП10, МП11 объединяют в группу стромализинов на основе того, что они способны к расщеплению широкого спектра белков внеклеточного матрикса, но не взаимодействуют с трехспиральными коллагенами. Четвертая группа – мембранные МП – состоит из металлопротеиназ: МП14, МП15, МП16, МП17, МП24, МП25. Они локализованы на мембране и имеют в своей структуре уязвимый для расщепления фурином участок. Такая система классификации зачастую не позволяет однозначно разделить все ферменты семейства на группы, поэтому существуют альтернативные способы классификации, например, разделяющие МП на основе их доменной структуры [56].

Исследования взаимодействия ферментов с ГЭБ как во время физиологических процессов, так и при патологиях, влекущих обширные разрушения или частичную ремодуляцию ГЭБ, установили, что некоторые МП вовлечены в эти процессы существенно больше остальных.

МП2 (желатиназа А) играет значимую роль в процессе разрушения ГЭБ на ранних стадиях ишемического инсульта. Экспериментальные данные, полученные методом транзиторной окклюзии средней мозговой артерии (ОСМА) у крыс, показывают, что раннему разрушению ГЭБ (в течение 3 ч с момента реканализации артерии) соответствует значительное увеличение активности МП2 в совокупности с увеличенным производством активаторов МП2, таких как фурин и МП14. Причем использование ингибитора, действующего избирательно на МП2, смогло предотвратить увеличение активности МП2 и снизить ее содержание в головном мозге, но не уменьшило область воспаления головного мозга, вызванного ишемией [57, 58]. Исследования разрушения структурных белков плотных контактов в культурах эндотелиальных клеток во время кислородного голодания, которое происходит на начальном этапе ишемии до реканализации, показали, что производство МП2 остается на том же уровне, что и в клетках, не подвергающихся кислородному голоданию, но ее активность в разы увеличивается уже спустя 30 мин кислородного голодания. Также происходит изменение локализации МП2: во время кислородного голодания ее концентрация в цитоплазме клетки ниже, чем в интактных клетках, а во внеклеточной области – выше. Это сопровождается разрушением белков плотных контактов (зональных окклюденов и окклюдина), причем разрушение предотвращается направленным ингибированием МП2 [59]. На основе этих фактов можно сделать вывод, что МП2 начинает разрушать структуры ГЭБ на самых ранних этапах ишемии и способна воздействовать особенно сильно на области плотных контактов с высоким содержанием окклюдина.

МП9 (желатиназа Б) относится к группе нейтрофильных металлопротеиназ, так как впервые была обнаружена в гранулах нейтрофилов [60]. Помимо дегрануляции проникающих в структуры ГЭБ и ткани мозга в области ишемии нейтрофилов под действием воспалительных факторов [61] или ТПА [62], в неактивном состоянии МП9 может секретироваться эндотелиальными клетками ГЭБ [59]. Следы активности МП9 присутствуют на протяжении всего ишемического инсульта, в том числе и на поздних стадиях в области эндотелия сосудов и окружающей его ткани мозга. Но определить

конкретные клетки (нейроны, клетки нейроглии) в качестве однозначных источников МП9 на текущий момент не удалось, так как на поздних стадиях ишемии начинаются процессы регенерации пораженных тканей и ангиогенез со сложными регуляторными механизмами, во время которого также происходит синтез МП9 [63]. При исследовании процессов разрушения ГЭБ, индуцируемых МП9, интересны механизмы активации секретируемой латентной формы фермента. Активаторами МП9 могут выступать как ферменты семейства МП (МП3, МП13, МП7, МП2), так и ряд других ферментов, активирующих МП9 с меньшей скоростью [64, 65]. Самым эффективным активатором МП9 является МП3, соответствующая реакция по активации является одной из ключевых в ферментативном каскаде МП внеклеточного матрикса [66]. Помимо активации ферментами был открыт способ активации МП9 с помощью рецепторов TLR2 на астроцитах, что, вероятно, играет важную роль в регуляции активности МП9 на поздних стадиях ишемии. Субстратами МП9 являются белки плотных контактов: окклюдин [67], зональные окклюдены [58, 68, 69]. Относительно клаудина экспериментальные данные весьма противоречивы. Несмотря на то, что некоторые эксперименты на культурах эндотелиальных клеток показывают, что снижение концентрации клаудина коррелирует с активностью МП9, регулируемой через ТИМП1 [70], в ряде работ нет подтверждения тому, что МП9 взаимодействует с клаудином: концентрация клаудина (в отличие от окклюдина) в крови мышей после ОСМА не коррелирует с концентрацией МП9 в крови [67]. В другой работе уровень клаудина в плазме крови у пациентов с ишемическим инсультом коррелировал с концентрацией МП9 и увеличивался при развитии геморрагической трансформации [71]. В эксперименте с клеточной культурой микрососудистого эндотелия головного мозга мышей bEND3 было обнаружено, что кислородно-глюкозное голодание вызывает не деградацию клаудина, а его диссоциацию от каркаса цитоскелета независимым от МП2 и МП9 способом [59]. Совокупность этих фактов вызывает сомнение в том, что клаудин является субстратом МП9, либо же скорость такой протеолитической реакции является пренебрежимо малой для характерных концентраций белков и ферментов во время ишемии относительно скоростей остальных процессов разрушения ГЭБ. Другими, не менее важными субстратами МП9 являются компоненты базальной мембраны и белки адгезивных контактов мембраны [64]. Белки базальной мембраны (коллаген, фибронектин, ламинин и другие) в совокупности с кадгеринами адгезивных контактов формируют внеклеточный слой, который служит критически важным компонентом для крепления эндотелиальных клеток на стенках сосудов и отделяет их от клеток тканей головного мозга. Благодаря широкому спектру субстратов МП9 задействована на протяжении всех этапов ишемии, за исключением самых ранних, и играет важную роль в разрушении ГЭБ и последующих процессах восстановления и ангиогенеза. На текущий момент МП9 является единственным ферментом из семейства МП, который достоверно можно считать биомаркером острого ишемического инсульта [72].

Матриксная МП3 (стромализин-1) может участвовать в расщеплении элементов внеклеточного матрикса и может выступать транскрипционным фактором в ядре [73]. В широкий спектр субстратов МП3 входят фибронектин, ламинин, эластин, протеогликаны и денатурированные коллагены, но в отличие от коллагеназ МП3 не может расщеплять коллаген 1-го типа [74]. Эксперименты на модели ОСМА мыши показали, что при нокауте гена МП3 уменьшается риск геморрагической трансформации при применении тромболитической терапии с участием ТПА во время ишемии [75]. ТПА повышает синтез МП3 в культуре мышечных эндотелиальных клеток *in vitro* за счет мембранных сигнальных путей [76]. МП3 взаимодействует с рецепторами на мембране нейронов, индуцирует апоптоз [77].

Четыре представителя семейства ТИМП являются ингибиторами широкого спектра действия для всех 23 МП, обнаруженных у человека, но между ними существуют некоторые различия в специфичности. ТИМП-1 более ограничен в своем ингибирующем

диапазоне, чем три других ТИМП, имея относительно низкое сродство к МП мембранного типа: МП14, МП16 и МП24, а также к МП19 [78]. Кроме того, существуют отличия в константах ингибирования разных МП различными ТИМП. Например, ТИМП-2 и -3 являются более слабыми ингибиторами, чем ТИМП-1, для МП3 и МП7 [79]. ТИМП-3 уникален среди ТИМП млекопитающих, поскольку он ингибирует более широкий спектр МП, включая нескольких членов семейств ADAM и ADAMTS [80–82].

Как и синтез МП, синтез ТИМП претерпевает существенные изменения на различных фазах ишемического инсульта. Так, дегрануляция нейтрофилов под действием ТПА сопровождается значимым синтезом ТИМП-2 [62]. В экспериментах на культуре эндотелиальных клеток было показано, что для ТИМП-1 синтез снижается после кислородно-глюкозного голодания и достигает минимума через 12 ч, а синтез ТИМП-2 не изменяется со временем [83]. Использование модели окклюзии средней мозговой артерии на мышах и *in vitro* модели кислородного голодания культуры нейроноподобных клеток показали, что при ишемии уровень ТИМП-3 снижается в разы. Искусственное увеличение синтеза ТИМП-3 приводит к уменьшению количества апоптотических клеток *in vivo* и *in vitro*. ТИМП-3 участвует в регуляции окислительного стресса тканей головного мозга (уровней продукции активных форм кислорода и других оксидантов) через АКТ сигнальный путь [84].

МП8 (нейтрофильная коллагеназа), как и МП9, является нейтрофильной металлопротеиназой. В области вызванного ишемией воспаления МП8 вместе с МП9 выделяется при дегрануляции нейтрофилов под действием ТПА [62]. Эксперимент на культуре эндотелиальных клеток показал, что производимая активная МП8 разрезает окклюдин плотных контактов [85].

МП10 (стромализин-2) на 82% гомологична МП3, и большинство ее субстратов совпадают с субстратами МП3. При этом в комбинации с ТПА она способна ускорять фибринолиз, блокируя активируемый тромбином ингибитор фибринолиза ТАФИ [86].

МП13 (коллагеназа-3) ассоциирована с раковыми заболеваниями и является маркером агрессивности опухоли [87]. Ее основной субстрат – коллаген 2-го типа. В модели окклюзии средней мозговой артерии у мышей дефицит МП13 приводил к уменьшению объема инфаркта, снижал частоту кровотечений и улучшал функциональный исход. Однако дефицит МП13 значительно снижал количество обновленных нейробластов в кортикальной перинфарктной зоне, а также блокировал увеличение плотности сосудов в перинфарктной области. Таким образом, МП13 на ранних этапах развития ишемического инсульта усиливает поражение головного мозга, а на более поздних этапах – способствует его восстановлению [88].

Динамика изменений ГЭБ при ишемическом инсульте

Ишемический инсульт возникает в результате окклюзии кровеносного сосуда, осуществляющего питание определенного региона головного мозга.

После ишемического повреждения головного мозга разрушение ГЭБ происходит достаточно быстро [89]. В течение 10 мин после реперфузии появляются признаки дегградации базальной мембраны и разрушения ГЭБ [90, 91]. Первичные прорехи в ГЭБ были зарегистрированы в течение 2–6 ч (медиана 3.8 ч) от начала инсульта [92, 93]. Периоды повышенной проницаемости ГЭБ наблюдались через 4–8 ч и снова через 12–16 ч [94, 95] после начала инсульта. Эта эскалация проницаемости ГЭБ может быть связана с гиперемией и гипоперфузией, развивающимися при инфаркте [95]. Начиная с 24 ч, наблюдается стойкое нарушение ГЭБ, которое длится неделями. Наиболее изученными являются начальные моменты ишемии, процессы, происходящие в течение первых 24 ч с начала инсульта.

Во время ишемии и асфиксии клетки мозга и иммунные клетки вырабатывают активные формы кислорода, которые стимулируют эндотелиальные клетки и вызывают окислительный стресс. Микроглия, астроциты, лейкоциты и эндотелиальные клетки

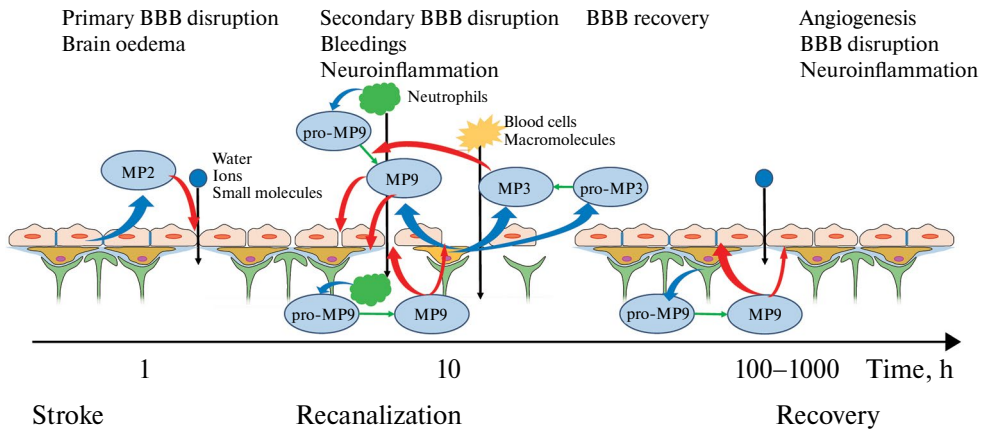


Рис. 3. Схема последовательности основных процессов, происходящих при ишемическом инсульте. Ишемический инсульт вызывает синтез МП2 эндотелиальными клетками; МП2 разрушает плотные контакты, приводя к повышению проницаемости ГЭБ для воды, ионов и малых молекул. Реканализация приводит к появлению в пораженной области нейтрофилов, способных проникать под эндотелий; нейтрофилы деградируют про-МП9, которая после активации разрушает базальную мембрану, а также плотные контакты. Перициты секретируют МП3 и про-МП3, которая после активации становится основным активатором МП9. Происходит значительное разрушение ГЭБ, в образующиеся прорехи могут проникать макромолекулы и клетки крови. Восстановление целостности ГЭБ протекает на фоне процессов репарации головного мозга, сопровождающихся ангиогенезом и ремодулированием матрикса, во время которого перициты производят про-МП9, после активации способную приводить к нарушениям целостности ГЭБ.

синтезируют ряд биохимических медиаторов и маркеров воспаления — цитокинов, хемокинов и провоспалительных ферментов [96, 97], основными из которых являются IL-6, IL-1 (встречается в двух формах: IL-1 α (внутриклеточный) и IL-1 β (секретируемый)) и фактор некроза опухоли (TNF- α и TNF- β). Появление таких молекул как TNF- α и IL-1 β приводит к активации NF- κ B, ядерного фактора каппа В, представляющего собой фактор транскрипции, который находится в цитоплазме каждой клетки и при активации перемещается в ядро. При активации NF- κ B регулирует экспрессию почти 400 различных генов, включая индуцибельную NO-синтазу (iNOS) [98], цитокины, молекулы адгезии, ангиогенные факторы. В том числе NF- κ B активирует гены, отвечающие за синтез МП9 [99–101], что на ранних стадиях инсульта усиливает разрушение ГЭБ, а на поздних - способствует восстановлению [102, 103].

К факторам, повреждающим ГЭБ, добавляется оксид азота NO, нейротоксин с мощными сосудорасширяющими свойствами, который может усугублять повреждение ДНК и эндотелия. Сами астроциты производят индуцибельную NO-синтазу во время ишемии (в здоровой ткани она не детектируется), что, в свою очередь, способствует образованию пероксинитрита и разрушению ГЭБ [104].

Мы остановимся на процессах, связанных с активностью МП и, в основном, управляющих патологическими изменениями ГЭБ на ранних этапах ишемии. Схематично этот процесс представлен на рис. 3.

В ответ на возникающее кислородно-глюкозное голодание эндотелиальные клетки синтезируют МП2, которая секретируется в межклеточное пространство уже в активной форме [59, 105]. МП2 вызывает деградацию окклюдина и трицеллюлина, что потенциально приводит к значительному увеличению проницаемости трехклеточных контактов [106, 107]. Это вызывает повышение парацеллюлярной и трансцеллюлярной проницаемости и повреждение эндотелия, в результате чего переносимые кровью

клетки, химические вещества и жидкость проникают в паренхиму головного мозга [11]. Нарушается водно-электролитный гомеостаз головного мозга, что приводит к его отеку [108]. Происходит первичное нарушение целостности ГЭБ.

Помимо МП2 из клеток выходит МП9 [109, 110], но в неактивной форме [59]. Одним из основных источников МП9 являются нейтрофилы, которые после реканализации (восстановления кровотока в затромбированной области) попадают в область с нарушенным ГЭБ и мигрируют под эндотелий [111]. Нейтрофилы дегранулируют, и из их гранул выходит МП9, которая вызывает деградацию базальной мембраны, что, вместе с разрушением плотных контактов, приводит к разрывам в эпителии сосудов и кровоизлияниям в паренхиму головного мозга [112]. Инфильтрация нейтрофилов в области под эндотелием через открытые плотные контакты еще больше усугубляет воспалительные реакции и усиливает повреждение головного мозга [113]. Происходит вторичное нарушение целостности ГЭБ.

На фоне процессов, связанных с активностью МП2, секретируемой эндотелием, и МП9, выходящей из нейтрофилов, происходит выход МП и из других клеток ГЭБ. Так, источником МП9 под действием ишемии становятся перициты, что приводит к разрушению плотных контактов и снижает связывание ножек астроцитов с сосудистой стенкой, увеличивая проницаемость ГЭБ [114].

Помимо двух упомянутых выше МП, существенную роль в разрушении ГЭБ играет МП3. Ее основным источником являются перициты и микроглия [115]. МП3 разрушает компоненты базальной мембраны и белки плотных контактов, открывая ГЭБ и тем самым облегчая приток нейтрофилов к внеклеточному матриксу под эндотелием [116]. Также МП3 является основным активатором МП9 [117].

Так как разрушение плотных контактов является основной причиной, приводящей к повышенной парацеллюлярной проницаемости ГЭБ после ишемического инсульта [118], то изучение механизмов регуляции этого процесса может не только прояснить общую картину изменений, но и определить направления новых подходов в терапии.

В основе процесса разрушения плотных контактов лежит несколько механизмов, таких как фосфорилирование окклюдина и клаудина серин/треонин-специфической протеинкиназой, активируемой GTP-связанным RhoA (ROCK-киназа) [119], диссоциация клаудина от цитоскелета зависимым от кавеолина-1 образом под действием МП9 [59], деградация окклюдина МП2 и МП9.

Кавеолин-1 представляет собой регуляторный белок оболочки кавеол, являющихся микроинвагинациями клеточной плазматической мембраны [120]. Кавеолин-1 отвечает за регуляцию различных сигнальных молекул и участвует в клеточном транспорте и гомеостазе холестерина, препятствуя его накоплению и развитию атеросклероза [121, 122]. Кавеолин-1 производится во многих типах клеток ЦНС, включая эндотелий [123], перициты [124] и астроциты [125]. Кавеолин-1 угнетает активность МП2 и МП9, тем самым препятствуя разрушению плотных контактов. У мышей, дефицитных по кавеолу, проницаемость ГЭБ после ишемии была на 45% выше, чем у контрольной группы [126]. С другой стороны, кавеолин способствует диссоциации клаудина от клеточного цитоскелета на коротких интервалах до 2 ч кислородно-глюкозного голодания [59]. В условиях длительной ишемии (4 ч кислородно-глюкозного голодания) кавеолин способствует доставке клаудина в аутофагосому для деградации: через 4 ч кислородно-глюкозного голодания уровень клаудина в культуре эндотелиальных клеток микрососудов мозга мыши линии bEND33 падал в 3 раза, по сравнению с контролем, и не изменялся в случае ингибирования синтеза кавеолина малой интерферирующей РНК [127]. Это в совокупности способствует быстрой деградации плотных контактов, открывая МП путь к внутренней части ГЭБ, а также упрощая миграцию нейтрофилов под эндотелий.

Развитие патологических изменений в ГЭБ при инсульте часто происходит на фоне тромболитической терапии, применяющейся для экстренной реканализации сосудов

головного мозга. Она представляет собой болюсное, а затем инфузионное введение сверхфизиологических доз ТПА [128], при котором его концентрация в крови увеличивается на 2–3 порядка и достигает 20–30 нМ. Цель этой терапии состоит в быстрой наработке плазмينا и растворении фибриновой составляющей тромба, препятствующего нормальному кровотоку. Однако ТПА усиливает дегрануляцию МП9 из нейтрофилов [62], что ускоряет разрушение базальной мембраны при реканализации. Помимо этого, плазмин активирует МПЗ [129], что опосредованно приводит к дополнительной активации МП9. Основным осложнением тромболитической терапии является геморрагическая трансформация – кровотечение в область ишемизированного мозга после инсульта, происходящая у 10–40% пациентов [130, 131]. Большие паренхиматозные гематомы и симптоматическое внутримозговое кровоизлияние вызывают наибольшую опасность, появляются у 6% пациентов после тромболитической терапии [132]. Так, проспективное мультицентровое исследование на более чем 1000 пациентах показало, что геморрагическая трансформация происходит у 13% пациентов на тромболитической терапии, у 8% пациентов на антиагрегантной терапии и у 9% пациентов на антикоагулянтной терапии [133]. При этом развитие паренхимальных кровотечений происходит у 6% пациентов на тромболитической терапии и только у 3% пациентов на антиагрегантной или антикоагулянтной терапиях.

Вслед за реканализацией начинается процесс восстановления тканей головного мозга, одним из этапов которого является ангиогенез [134, 135], который характеризуется повышением синтеза фактора роста эндотелия сосудов [136, 137]. Однако этот фактор индуцирует повышение синтеза МП9 астроцитами [138], это способствует дегенерации базальной мембраны, что приводит к увеличению проницаемости ГЭБ [139].

Проблемы исследования процессов, регулируемых металлопротеиназами

Общее представление о процессах, приводящих к патологическим изменениям ГЭБ, хорошо отражено в литературе, однако детали и конкретные механизмы регуляции изучены слабо. Это обусловлено рядом обстоятельств, основные из которых перечислены ниже.

В первую очередь необходимо отметить, что, хотя и считается, что на фоне инсульта происходит повышение уровня МП, особенно МП9, однако даже в том, какой уровень МП считать нормальным, нет консенсуса.

Так, в работе [140] оценивались средние плазменные уровни МП у пациентов с возрастной макулодегенерацией. Группа пациентов (15 человек, средний возраст 74 г.) сравнивалась с контрольной группой (17 пациентов, ожидающих предварительного обследования на операцию по удалению катаракты, средний возраст 76 лет). Иммуноферментный анализ показал, что в контрольной группе концентрации МП2 и МП9 в плазме крови были 7 и 3 нМ соответственно, а в группе пациентов концентрации МП2 и МП9 в плазме крови были одинаковыми – 7 нМ.

В работе, посвященной исследованию уровня МП9 у пациентов с геморрагической трансформацией после ишемического инсульта [141], сравнивались группы пациентов, перенесших ишемический инсульт с последующей геморрагической трансформацией (20 пациентов, средний возраст 72 г.), и пациентов, перенесших инсульт без геморрагической трансформации (114 пациентов, средний возраст 72 г.). Методом иммуноферментного анализа было показано, что средняя плазменная концентрация МП9 у пациентов с геморрагической трансформацией была 2 нМ, а у пациентов без геморрагической трансформации – 0.7 нМ.

В работе, посвященной исследованию уровня МП9 у пациентов с гипертензивным кризисом [142], концентрация МП9 как у группы пациентов (58 человек, средний возраст 58 лет), так и у контрольной группы (40 человек, средний возраст 43 г.) была 0.02 нМ. В работе [143] были исследованы 3186 пациента (средний возраст 62 г.) с инсуль-

том, иммуноферментный анализ образцов сыворотки крови показал, что уровень МП9 у 25% пациентов превышает 11 нМ.

Таким образом, разброс значений измеренной концентрации МП9 в различных источниках для различных групп пациентов превышает 3 порядка.

Помимо этого, в зонах инфаркта и кровоизлияний концентрации МП, в частности, МП9, повышены по сравнению с коллатеральными областями [111], что, видимо, связано с сильной нейтрофильной инфильтрацией, так как подобного эффекта не наблюдается для МП2. Такая локализация затрудняет измерение реальной действующей концентрации МП, так как средняя концентрация в крови будет сильно зависеть от локализации и объема пораженной области, геометрии сосудистого окружения.

Также субстраты МП либо являются белками плотных контактов (окклюдин и клаудин), либо составляют базальную мембрану (ламинин, фибронектин, коллагены), то есть пространственно локализованы. Это препятствует определению их истинных концентраций, что, вместе с отсутствием информации о реальной концентрации МП, не позволяет определить эффективность процессов, регулирующих разрушение ГЭБ.

Первой фазой разрушения белков плотных контактов МП становится изменение парацеллюлярного транспорта. Физиологические процессы для парацеллюлярного транспорта малых молекул и ионов достаточно хорошо изучены, но для макромолекул такого понимания пока нет. Существует несколько гипотез, описывающих этот процесс. Так, по одной из них (модели динамических нитей) внутримембранные нити плотных контактов перестраиваются, поочередно открываясь и закрываясь, и обеспечивают медленную диффузию. Такие последовательные диффузионные барьеры могут быть образованы белковыми полимерами или инвертированными липидными цилиндрами, стабильность которых регулируется ассоциированными белками [144]. В этой модели селективность по размеру определяется расстоянием между внешними слоями двух контактирующих плазматических мембран. Другая гипотеза предполагает, что плотные контакты образуются двумя инвертированными мицеллами разного размера, а диффузия макромолекул происходит внутри более крупных мицелл, которые динамически образуются и растворяются [21].

Также предполагается, что макромолекулярный транспорт может происходить через трехклеточный контакт, в области центральной трубки, регулируемой трицеллюлином [145]. Трехклеточные контакты регулируют также диapedез Т-клеток через ГЭБ [146], а значит могут быть местом внедрения нейтрофилов под эндотелий.

Таким образом, патологические изменения в межклеточных областях с частично разрушенными в результате активности МП плотными контактами представляют особый интерес для исследований. Транспортные процессы в областях с явно выраженной редукцией одного или двух измерений (для двух- или трехклеточных контактов соответственно) могут быть одним из регуляторных механизмов, управляющих разрушением ГЭБ под действием МП.

Помимо этого, изучение начальных процессов, связанных с повышением активности МП, происходящих на ранних этапах развития ишемического инсульта, затруднено, так как характерные времена одних процессов крайне малы (начало апоптоза, диссоциация клаудина через кавеолин-зависимый сигнальный путь, миграция и деградация нейтрофилов при реканализации) – порядка 10 мин, что требует регистрации изменений практически в режиме реального времени. Текущие экспериментальные методы позволяют оценить результат работы этих процессов, но не позволяют разделить эти быстрые процессы и изучить механизмы их протекания, определить локальные концентрации МП, очередность включения их источников, основные субстраты для каждого момента времени. Одновременно с этим изучение процессов, происходящих на поздних этапах ишемического инсульта, осложнено большими характерными временами – десятки дней. Таким образом, только временной промежуток до 1 дня изучен достаточно хорошо.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Разрушение ГЭБ происходит на фоне множества других процессов, протекающих параллельно с ним: лизис тромба (эндогенный или лекарственно индуцированный), вызывающего окклюзию сосуда; реканализация с сопутствующим транспортом нейтрофилов в область повреждения; нейровоспаление, вызываемое отеком, кровоизлиянием или гибелью ткани головного мозга; активация процессов репарации повреждения. Источники МП в разные моменты времени находятся по разные стороны ГЭБ, а характерные времена процесса – десятки и сотни часов.

Все это сильно лимитирует возможности каждого из типов модельных систем для объективной оценки процесса. Так, *in vivo* модели позволяют наблюдать целостную картину происходящего, но не дают возможности рассмотреть детали (концентрации веществ, вклады различных потоков веществ, как транспортных, так и реакционных). В моделях *in vitro* можно детальнее изучить управляющие механизмы, но довольно сложно воссоздать условия, необходимые и достаточные для реализации исследуемого феномена (например, какое должно быть клеточное окружение, как должны меняться внешние условия, как оценивать вклад реканализации и т.д.). В моделях *in silico* основным препятствием является неконкретность входных данных, таких как концентрации веществ и константы скоростей реакций.

Тем не менее исследование сложных биологических систем, таких как свертывание крови, фибринолиз, комплемент, гликолиз и др., показало, что после описательного этапа, на котором осуществляется первичный сбор информации о последовательности реакций и скоростях, их участниках и концентрациях, необходим синтетический этап, когда на основе имеющихся данных выдвигаются гипотезы о регулирующих механизмах, создаются математические модели от простых феноменологических до детальных многокомпонентных, которые дают экспериментально проверяемые предсказания о функционировании системы.

Несмотря на указанные выше сложности с созданием *in silico* модели, описывающей определенные аспекты протекания ишемического инсульта, наиболее перспективным на данный момент выглядит моделирование каскада активации МП, строения плотных контактов, миграции нейтрофилов и различных этапов деградации ГЭБ на начальных этапах ишемии, так как большинство экспериментальных данных было собрано именно для этого временного интервала, во время которого осуществляется рекомендованное терапевтическое вмешательство и наблюдаются побочные эффекты терапии.

Создание таких моделей позволит ускорить исследования ишемического инсульта и разработку новых подходов в терапии, так как обеспечит широкий фронт экспериментально проверяемых гипотез о регуляторных механизмах и ключевых участниках реакций, а также систематизирует огромные накопленные данные, находящиеся в достаточно разрозненном состоянии.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

В данной работе отсутствуют исследования человека или животных.

ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Данная работа финансировалась за счет средств гранта № 075-15-2021-950. Никаких дополнительных грантов на проведение или руководство данным конкретным исследованием получено не было.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы данной работы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

ВКЛАД АВТОРОВ

Концепция и оформление рисунков (А.М.Ш.), написание и редактирование текста, утверждение финального варианта статьи для публикации (Л.Ю.К. и А.М.Ш.).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Feigin VL, Brainin M, Norrving B, Martins S, Sacco RL, Hacke W, Fisher M, Pandian J, Lindsay P* (2022) World Stroke Organization (WSO): Global Stroke Fact Sheet 2022. *Int J Stroke* 17: 18–29. <https://doi.org/10.1177/17474930211065917>
2. *Grysiewicz RA, Thomas K, Pandey DK* (2008) Epidemiology of Ischemic and Hemorrhagic Stroke: Incidence, Prevalence, Mortality, and Risk Factors. *Neurol Clin* 26: 871–895. <https://doi.org/10.1016/j.necl.2008.07.003>
3. *Woodruff TM, Thundyil J, Tang S-C, Sobey CG, Taylor SM, Arumugam TV* (2011) Pathophysiology, treatment, and animal and cellular models of human ischemic stroke. *Mol Neurodegener* 6: 11. <https://doi.org/10.1186/1750-1326-6-11>
4. *Xiong Y, Wakhloo AK, Fisher M* (2022) Advances in Acute Ischemic Stroke Therapy. *Circ Res* 130: 1230–1251. <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.121.319948>
5. *Thomalla G, Simonsen CZ, Boutitie F, Andersen G, Berthezene Y, Cheng B, Cheripelli B, Cho T-H, Fazekas F, Fiehler J, Ford I, Galinovic I, Gellissen S, Golsari A, Gregori J, Günther M, Guibernau J, Häusler KG, Hennerici M, Kemmling A, Marstrand J, Modrau B, Neeb L, Perez de la Ossa N, Puig J, Ringleb P, Roy P, Scheel E, Schonewille W, Serena J, Sunaert S, Villringer K, Wouters A, Thijs V, Ebinger M, Endres M, Fiebach JB, Lemmens R, Muir KW, Nighoghossian N, Pedraza S, Gerloff C* (2018) MRI-Guided Thrombolysis for Stroke with Unknown Time of Onset. *N Engl J Med* 379: 611–622. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1804355>
6. *Thomalla G, Cheng B, Ebinger M, Hao Q, Tourdias T, Wu O, Kim JS, Breuer L, Singer OC, Warach S, Christensen S, Treszl A, Forkert ND, Galinovic I, Rosenkranz M, Engelhorn T, Köhrmann M, Endres M, Kang D-W, Dousset V, Sorensen AG, Liebeskind DS, Fiebach JB, Fiehler J, Gerloff C* (2011) DWI-FLAIR mismatch for the identification of patients with acute ischaemic stroke within 4·5 h of symptom onset (PRE-FLAIR): a multicentre observational study. *Lancet Neurol* 10: 978–986. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(11\)70192-2](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(11)70192-2)
7. *Nogueira RG, Jadhav AP, Haussen DC, Bonafe A, Budzik RF, Bhuva P, Yavagal DR, Ribo M, Cognard C, Hanel RA, Sila CA, Hassan AE, Millan M, Levy EI, Mitchell P, Chen M, English JD, Shah QA, Silver FL, Pereira VM, Mehta BP, Baxter BW, Abraham MG, Cardona P, Veznedaroglu E, Hellinger FR, Feng L, Kirmani JF, Lopes DK, Jankowitz BT, Frankel MR, Costalat V, Vora NA, Yoo AJ, Malik AM, Furlan AJ, Rubiera M, Aghaebrahim A, Olivot J-M, Tekle WG, Shields R, Graves T, Lewis RJ, Smith WS, Liebeskind DS, Saver JL, Jovin TG* (2018) Thrombectomy 6 to 24 Hours after Stroke with a Mismatch between Deficit and Infarct. *N Engl J Med* 378: 11–21. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1706442>
8. *Albers GW, Marks MP, Kemp S, Christensen S, Tsai JP, Ortega-Gutierrez S, McTaggart RA, Torbey MT, Kim-Tenser M, Leslie-Mazwi T, Sarraj A, Kasner SE, Ansari SA, Yeatts SD, Hamilton S, Mlynash M, Heit JJ, Zaharchuk G, Kim S, Carrozzella J, Palesch YY, Demchuk AM, Bammer R, Lavori PW, Broderick JP, Lansberg MG* (2018) Thrombectomy for Stroke at 6 to 16 Hours with Selection by Perfusion Imaging. *N Engl J Med* 378: 708–718. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1713973>
9. *Hui W, Wu C, Zhao W, Sun H, Hao J, Liang H, Wang X, Li M, Jadhav AP, Han Y, Ji X* (2020) Efficacy and Safety of Recanalization Therapy for Acute Ischemic Stroke With Large Vessel Occlusion. *Stroke* 51: 2026–2035. <https://doi.org/10.1161/STROKEAHA.119.028624>
10. (1995) Tissue Plasminogen Activator for Acute Ischemic Stroke. *N Engl J Med* 333: 1581–1588. <https://doi.org/10.1056/NEJM199512143332401>
11. *Keaney J, Campbell M* (2015) The dynamic blood–brain barrier. *FEBS J* 282: 4067–4079. <https://doi.org/10.1111/febs.13412>
12. *Abbott NJ, Rönnbäck L, Hansson E* (2006) Astrocyte–endothelial interactions at the blood–brain barrier. *Nat Rev Neurosci* 7: 41–53. <https://doi.org/10.1038/nrn1824>
13. *Abbott NJ, Romero JA* (1996) Transporting therapeutics across the blood–brain barrier. *Mol Med Today* 2: 106–113. [https://doi.org/10.1016/1357-4310\(96\)88720-X](https://doi.org/10.1016/1357-4310(96)88720-X)

14. *Risau W, Wolburg H* (1990) Development of the blood-brain barrier. *Trends Neurosci* 13: 174–178. [https://doi.org/10.1016/0166-2236\(90\)90043-A](https://doi.org/10.1016/0166-2236(90)90043-A)
15. *Farkas E, Luiten PG* (2001) Cerebral microvascular pathology in aging and Alzheimer's disease. *Prog Neurobiol* 64: 611. [https://doi.org/10.1016/S0301-0082\(00\)00068-X](https://doi.org/10.1016/S0301-0082(00)00068-X)
16. *Kutcher ME, Herman IM* (2009) The pericyte: Cellular regulator of microvascular blood flow. *Microvasc Res* 77: 235–246. <https://doi.org/10.1016/j.mvr.2009.01.007>
17. *Tamai I, Tsuji A* (2000) Transporter-Mediated Permeation of Drugs Across the Blood–Brain Barrier. *J Pharm Sci* 89: 1371–1388. [https://doi.org/10.1002/1520-6017\(200011\)89:11<1371::AID-JPS1>3.0.CO;2-D](https://doi.org/10.1002/1520-6017(200011)89:11<1371::AID-JPS1>3.0.CO;2-D)
18. *Thomas WE* (1999) Brain macrophages: on the role of pericytes and perivascular cells. *Brain Res Rev* 31: 42–57. [https://doi.org/10.1016/S0165-0173\(99\)00024-7](https://doi.org/10.1016/S0165-0173(99)00024-7)
19. *Hellström M, Gerhardt H, Kalén M, Li X, Eriksson U, Wolburg H, Betsholtz C* (2001) Lack of Pericytes Leads to Endothelial Hyperplasia and Abnormal Vascular Morphogenesis. *J Cell Biol* 153: 543–554. <https://doi.org/10.1083/jcb.153.3.543>
20. *Liebner S, Czupalla CJ, Wolburg H* (2011) Current concepts of blood-brain barrier development. *Int J Dev Biol* 55: 467–476. <https://doi.org/10.1387/ijdb.103224sl>
21. *Lingaraju A, Long TM, Wang Y, Austin JR, Turner JR* (2015) Conceptual barriers to understanding physical barriers. *Semin Cell Dev Biol* 42: 13–21. <https://doi.org/10.1016/j.semcdb.2015.04.008>
22. *Van Itallie CM, Holmes J, Bridges A, Gookin JL, Coccato MR, Proctor W, Colegio OR, Anderson JM* (2008) The density of small tight junction pores varies among cell types and is increased by expression of claudin-2. *J Cell Sci* 121: 298–305. <https://doi.org/10.1242/jcs.021485>
23. *Yu ASL, Cheng MH, Angelow S, Günzel D, Kanzawa SA, Schneeberger EE, Fromm M, Coalson RD* (2009) Molecular Basis for Cation Selectivity in Claudin-2–based Paracellular Pores: Identification of an Electrostatic Interaction Site. *J Gen Physiol* 133: 111–127. <https://doi.org/10.1085/jgp.200810154>
24. *Tsukita S, Furuse M, Itoh M* (2001) Multifunctional strands in tight junctions. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2: 285–293. <https://doi.org/10.1038/35067088>
25. *Walker DC, MacKenzie A, Hosford S* (1994) The Structure of the Tricellular Region of Endothelial Tight Junctions of Pulmonary Capillaries Analyzed by Freeze-Fracture. *Microvasc Res* 48: 259–281. <https://doi.org/10.1006/mvre.1994.1054>
26. *Walker DC, MacKenzie A, Hulbert WC, Hogg JC* (1985) A Re-Assessment of the Tricellular Region of Epithelial Cell Tight Junctions in Trachea of Guinea Pig. *Cells Tissues Organs* 122: 35–38. <https://doi.org/10.1159/000145982>
27. *Ikenouchi J, Furuse M, Furuse K, Sasaki H, Tsukita S, Tsukita S* (2005) Tricellulin constitutes a novel barrier at tricellular contacts of epithelial cells. *J Cell Biol* 171: 939–945. <https://doi.org/10.1083/jcb.200510043>
28. *Furuse M, Sasaki H, Fujimoto K, Tsukita S* (1998) A Single Gene Product, Claudin-1 or -2, Reconstitutes Tight Junction Strands and Recruits Occludin in Fibroblasts. *J Cell Biol* 143: 391–401. <https://doi.org/10.1083/jcb.143.2.391>
29. *Kubota K, Furuse M, Sasaki H, Sonoda N, Fujita K, Nagafuchi A, Tsukita S* (1999) Ca²⁺-independent cell-adhesion activity of claudins, a family of integral membrane proteins localized at tight junctions. *Curr Biol* 9: 1035–1038. [https://doi.org/10.1016/S0960-9822\(99\)80452-7](https://doi.org/10.1016/S0960-9822(99)80452-7)
30. *Zihni C, Mills C, Matter K, Balda MS* (2016) Tight junctions: from simple barriers to multifunctional molecular gates. *Nat Rev Mol Cell Biol* 17: 564–580. <https://doi.org/10.1038/nrm.2016.80>
31. *Itoh M, Furuse M, Morita K, Kubota K, Saitou M, Tsukita S* (1999) Direct Binding of Three Tight Junction-Associated Maguks, Zo-1, Zo-2, and Zo-3, with the CooH Termini of Claudins. *J Cell Biol* 147: 1351–1363. <https://doi.org/10.1083/jcb.147.6.1351>
32. *Umeda K, Ikenouchi J, Katahira-Tayama S, Furuse K, Sasaki H, Nakayama M, Matsui T, Tsukita S, Furuse S, Tsukita S* (2006) ZO-1 and ZO-2 Independently Determine Where Claudins Are Polymerized in Tight-Junction Strand Formation. *Cell* 126: 741–754. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2006.06.043>

33. Arrate MP, Rodriguez JM, Tran TM, Brock TA, Cunningham SA (2001) Cloning of Human Junctional Adhesion Molecule 3 (JAM3) and Its Identification as the JAM2 Counter-receptor. *J Biol Chem* 276: 45826–45832.
<https://doi.org/10.1074/jbc.M105972200>
34. Mandell KJ, Babbitt BA, Nusrat A, Parkos CA (2005) Junctional Adhesion Molecule 1 Regulates Epithelial Cell Morphology through Effects on β 1 Integrins and Rap1 Activity. *J Biol Chem* 280: 11665–11674.
<https://doi.org/10.1074/jbc.M412650200>
35. Ruben GC, Yurchenko PD (1994) High resolution platinum-carbon replication of freeze-dried basement membrane. *Microsc Res Tech* 28: 13–28.
<https://doi.org/10.1002/jemt.1070280104>
36. Yao Y (2019) Basement membrane and stroke. *J Cereb Blood Flow Metab* 39: 3–19.
<https://doi.org/10.1177/0271678X18801467>
37. Paulsson M (1992) Basement Membrane Proteins: Structure, Assembly, and Cellular Interactions. *Crit Rev Biochem Mol Biol* 27: 93–127.
<https://doi.org/10.3109/10409239209082560>
38. Kim S-H, Turnbull J, Guimond S (2011) Extracellular matrix and cell signalling: the dynamic cooperation of integrin, proteoglycan and growth factor receptor. *J Endocrinol* 209: 139–151.
<https://doi.org/10.1530/JOE-10-0377>
39. Baeten KM, Akassoglou K (2011) Extracellular matrix and matrix receptors in blood–brain barrier formation and stroke. *Dev Neurobiol* 71: 1018–1039.
<https://doi.org/10.1002/dneu.20954>
40. Özen I, Deierborg T, Miharada K, Padel T, Englund E, Genové G, Paul G (2014) Brain pericytes acquire a microglial phenotype after stroke. *Acta Neuropathol* 128: 381–396.
<https://doi.org/10.1007/s00401-014-1295-x>
41. Nakagomi T, Kubo S, Nakano-Doi A, Sakuma R, Lu S, Narita A, Kawahara M, Taguchi A, Matsuyama T (2015) Brain Vascular Pericytes Following Ischemia Have Multipotential Stem Cell Activity to Differentiate Into Neural and Vascular Lineage Cells. *Stem Cells* 33: 1962–1974.
<https://doi.org/10.1002/stem.1977>
42. Armulik A, Genové G, Mäe M, Nisancioglu MH, Wallgard E, Niaudet C, He L, Norlin J, Lindblom P, Strittmatter K, Johansson BR, Betsholtz C (2010) Pericytes regulate the blood–brain barrier. *Nature* 468: 557–561.
<https://doi.org/10.1038/nature09522>
43. Daneman R, Zhou L, Kebede AA, Barres BA (2010) Pericytes are required for blood–brain barrier integrity during embryogenesis. *Nature* 468: 562–566.
<https://doi.org/10.1038/nature09513>
44. Chen Y, Swanson RA (2003) Astrocytes and Brain Injury. *J Cereb Blood Flow Metab* 23(2): 137–149.
<https://doi.org/10.1097/00004647-200302000-00001>
45. Alvarez JI, Katayama T, Prat A (2013) Glial influence on the blood brain barrier. *Glia* 61: 1939–1958.
<https://doi.org/10.1002/glia.22575>
46. Wong AD, Ye M, Levy AF, Rothstein JD, Bergles DE, Searson PC (2013) The blood-brain barrier: an engineering perspective. *Front Neuroeng* 6.
<https://doi.org/10.3389/fneng.2013.00007>
47. Heithoff BP, George KK, Phares AN, Zuidhoek IA, Munoz-Ballester C, Robel S (2021) Astrocytes are necessary for blood–brain barrier maintenance in the adult mouse brain. *Glia* 69: 436–472.
<https://doi.org/10.1002/glia.23908>
48. Dufour A, Overall CM (2015) Subtracting Matrix Out of the Equation: New Key Roles of Matrix Metalloproteinases in Innate Immunity and Disease. In: *Matrix Metalloproteinase Biology*. Wiley, 131–152
49. Schultz GS, Wysocki A (2009) Interactions between extracellular matrix and growth factors in wound healing. *Wound Repair Regen* 17: 153–162.
<https://doi.org/10.1111/j.1524-475X.2009.00466.x>
50. Park JE, Keller GA, Ferrara N (1993) The vascular endothelial growth factor (VEGF) isoforms: differential deposition into the subepithelial extracellular matrix and bioactivity of extracellular matrix-bound VEGF. *Mol Biol Cell* 4: 1317–1326.
<https://doi.org/10.1091/mbc.4.12.1317>
51. Bergers G, Brekken R, McMahon G, Vu TH, Itoh T, Tamaki K, Tanzawa K, Thorpe P, Itohara S, Werb Z, Hanahan D (2000) Matrix metalloproteinase-9 triggers the angiogenic switch during carcinogenesis. *Nat Cell Biol* 2: 737–744.
<https://doi.org/10.1038/35036374>

-
52. Copin J, Goodyear M, Gidday JM, Shah AR, Gascon E, Dayer A, Morel DM, Gasche Y (2005) Role of matrix metalloproteinases in apoptosis after transient focal cerebral ischemia in rats and mice. *Eur J Neurosci* 22: 1597–1608.
<https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.2005.04367.x>
 53. Walker EJ, Rosenberg GA (2009) TIMP-3 and MMP-3 contribute to delayed inflammation and hippocampal neuronal death following global ischemia. *Exp Neurol* 216: 122–131.
<https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2008.11.022>
 54. Huang T, Gao D, Jiang X, Hu S, Zhang L, Fei Z (2014) Resveratrol inhibits oxygen-glucose deprivation-induced MMP-3 expression and cell apoptosis in primary cortical cells via the NF- κ B pathway. *Mol Med Rep* 10: 1065–1071.
<https://doi.org/10.3892/mmr.2014.2239>
 55. Malemud, Charles J (2006) Matrix metalloproteinases (MMPs) in health and disease: an overview. *Front Biosci* 11: 1696.
<https://doi.org/10.2741/1915>
 56. Sternlicht MD, Werb Z (2001) How Matrix Metalloproteinases Regulate Cell Behavior. *Annu Rev Cell Dev Biol* 17: 463–516.
<https://doi.org/10.1146/annurev.cellbio.17.1.463>
 57. Rosenberg GA, Kornfeld M, Estrada E, Kelley RO, Liotta LA, Stetler-Stevenson WG (1992) TIMP-2 reduces proteolytic opening of blood-brain barrier by type IV collagenase. *Brain Res* 576: 203–207.
[https://doi.org/10.1016/0006-8993\(92\)90681-X](https://doi.org/10.1016/0006-8993(92)90681-X)
 58. Yang Y, Estrada EY, Thompson JF, Liu W, Rosenberg GA (2007) Matrix Metalloproteinase-Mediated Disruption of Tight Junction Proteins in Cerebral Vessels is Reversed by Synthetic Matrix Metalloproteinase Inhibitor in Focal Ischemia in Rat. *J Cereb Blood Flow Metab* 27: 697–709.
<https://doi.org/10.1038/sj.jcbfm.9600375>
 59. Liu J, Jin X, Liu KJ, Liu W (2012) Matrix Metalloproteinase-2-Mediated Occludin Degradation and Caveolin-1-Mediated Claudin-5 Redistribution Contribute to Blood–Brain Barrier Damage in Early Ischemic Stroke Stage. *J Neurosci* 32: 3044–3057.
<https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.6409-11.2012>
 60. Sopata I, Dancewicz AM (1974) Presence of a gelatin-specific proteinase and its latent form in human leucocytes. *Biochim Biophys Acta - Enzymol* 370: 510–523.
[https://doi.org/10.1016/0005-2744\(74\)90112-0](https://doi.org/10.1016/0005-2744(74)90112-0)
 61. McColl BW, Rothwell NJ, Allan SM (2008) Systemic Inflammation Alters the Kinetics of Cerebrovascular Tight Junction Disruption after Experimental Stroke in Mice. *J Neurosci* 28: 9451–9462.
<https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2674-08.2008>
 62. Cuadrado E, Ortega L, Hernández-Guillamon M, Penalba A, Fernández-Cadenas I, Rosell A, Montaner J (2008) Tissue plasminogen activator (t-PA) promotes neutrophil degranulation and MMP-9 release. *J Leukoc Biol* 84: 207–214.
<https://doi.org/10.1189/jlb.0907606>
 63. Wang G, Guo Q, Hossain M, Fazio V, Zeynalov E, Janigro D, Mayberg MR, Namura S (2009) Bone marrow-derived cells are the major source of MMP-9 contributing to blood–brain barrier dysfunction and infarct formation after ischemic stroke in mice. *Brain Res* 1294: 183–192.
<https://doi.org/10.1016/j.brainres.2009.07.070>
 64. Zitka O, Kukacka J, Krizkov S, Huska D, Adam V, Masarik M, Prusa R, Kizek R (2010) Matrix Metalloproteinases. *Curr Med Chem* 17: 3751–3768.
<https://doi.org/10.2174/092986710793213724>
 65. Mittal R, Patel AP, Debs LH, Nguyen D, Patel K, Grati M, Mittal J, Yan D, Chapagain P, Liu XZ (2016) Intricate Functions of Matrix Metalloproteinases in Physiological and Pathological Conditions. *J Cell Physiol* 231: 2599–2621.
<https://doi.org/10.1002/jcp.25430>
 66. Van den Steen PE, Opdenakker G, Wormald MR, Dwek RA, Rudd PM (2001) Matrix remodelling enzymes, the protease cascade and glycosylation. *Biochim Biophys Acta - Gen Subj* 1528: 61–73.
[https://doi.org/10.1016/S0304-4165\(01\)00190-8](https://doi.org/10.1016/S0304-4165(01)00190-8)
 67. Pan R, Yu K, Weatherwax T, Zheng H, Liu W, Liu KJ (2017) Blood Occludin Level as a Potential Biomarker for Early Blood Brain Barrier Damage Following Ischemic Stroke. *Sci Rep* 7: 40331.
<https://doi.org/10.1038/srep40331>
 68. Asahi M, Asahi K, Jung J-C, del Zoppo GJ, Fini ME, Lo EH (2000) Role for Matrix Metalloproteinase 9 after Focal Cerebral Ischemia: Effects of Gene Knockout and Enzyme Inhibition with BB-94. *J Cereb Blood Flow Metab* 20: 1681–1689.
<https://doi.org/10.1097/00004647-200012000-00007>

69. *Asahi M, Wang X, Mori T, Sumii T, Jung J-C, Moskowitz MA, Fini ME, Lo EH* (2001) Effects of Matrix Metalloproteinase-9 Gene Knock-Out on the Proteolysis of Blood–Brain Barrier and White Matter Components after Cerebral Ischemia. *J Neurosci* 21: 7724–7732.
<https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.21-19-07724.2001>
70. *Chen F, Ohashi N, Li W, Eckman C, Nguyen JH* (2009) Disruptions of occludin and claudin-5 in brain endothelial cells in vitro and in brains of mice with acute liver failure. *Hepatology* 50: 1914–1923.
<https://doi.org/10.1002/hep.23203>
71. *Kazmierski R, Michalak S, Wencel-Warot A, Nowinski WL* (2012) Serum tight-junction proteins predict hemorrhagic transformation in ischemic stroke patients. *Neurology* 79: 1677–1685.
<https://doi.org/10.1212/WNL.0b013e31826e9a83>
72. *Dagonnier M, Donnan GA, Davis SM, Dewey HM, Howells DW* (2021) Acute Stroke Biomarkers: Are We There Yet? *Front Neurol* 12.
<https://doi.org/10.3389/fneur.2021.619721>
73. *Verma RP, Hansch C* (2007) Matrix metalloproteinases (MMPs): Chemical–biological functions and (Q)SARs. *Bioorg Med Chem* 15: 2223–2268.
<https://doi.org/10.1016/j.bmc.2007.01.011>
74. *Klein T, Bischoff R* (2011) Physiology and pathophysiology of matrix metalloproteases. *Amino Acids* 41: 271–290.
<https://doi.org/10.1007/s00726-010-0689-x>
75. *Suzuki Y, Nagai N, Umemura K, Collen D, Lijnen HR* (2007) Stromelysin-1 (MMP-3) is critical for intracranial bleeding after t-PA treatment of stroke in mice. *J Thromb Haemost* 5: 1732–1739.
<https://doi.org/10.1111/j.1538-7836.2007.02628.x>
76. *Suzuki Y, Nagai N, Yamakawa K, Kawakami J, Lijnen HR, Umemura K* (2009) Tissue-type plasminogen activator (t-PA) induces stromelysin-1 (MMP-3) in endothelial cells through activation of lipoprotein receptor–related protein. *Blood* 114: 3352–3358.
<https://doi.org/10.1182/blood-2009-02-203919>
77. *Cunningham LA, Wetzel M, Rosenberg GA* (2005) Multiple roles for MMPs and TIMPs in cerebral ischemia. *Glia* 50: 329–339.
<https://doi.org/10.1002/glia.20169>
78. *Nagase H, Murphy G* Tailoring TIMPs for Selective Metalloproteinase Inhibition. In: *The Cancer Degradome*. Springer New York. 787–810.
79. *Hamze AB, Wei S, Bahudhanapati H, Kota S, Acharya KR, Brew K* (2007) Constraining specificity in the N-domain of tissue inhibitor of metalloproteinases-1; gelatinase-selective inhibitors. *Protein Sci* 16: 1905–1913.
<https://doi.org/10.1110/ps.072978507>
80. *Amour A, Slocombe PM, Webster A, Butler M, Knight CG, Smith BJ, Stephens PE, Shelley C, Hutton M, Knäuper V, Docherty AJ, Murphy G* (1998) TNF- α converting enzyme (TACE) is inhibited by TIMP-3. *FEBS Lett* 435: 39–44.
[https://doi.org/10.1016/S0014-5793\(98\)01031-X](https://doi.org/10.1016/S0014-5793(98)01031-X)
81. *Kashiwagi M, Tortorella M, Nagase H, Brew K* (2001) TIMP-3 Is a Potent Inhibitor of Aggrecanase 1 (ADAM-TS4) and Aggrecanase 2 (ADAM-TS5). *J Biol Chem* 276: 12501–12504.
<https://doi.org/10.1074/jbc.C000848200>
82. *Wang W-M, Ge G, Lim NH, Nagase H, Greenspan DS* (2006) TIMP-3 inhibits the procollagen N-proteinase ADAMTS-2. *Biochem J* 398: 515–519.
<https://doi.org/10.1042/BJ20060630>
83. *Reuter B, Rodemer C, Grudzenski S, Couraud P-O, Weksler B, Romero IA, Meairs S, Bugert P, Hennerici MG, Fatar M* (2013) Temporal Profile of Matrix Metalloproteinases and Their Inhibitors in a Human Endothelial Cell Culture Model of Cerebral Ischemia. *Cerebrovasc Dis* 35: 514–520.
<https://doi.org/10.1159/000350731>
84. *Meng L, Zhang Y, Li D, Shang X, Hao X, Chen X, Gao F* (2021) TIMP3 attenuates cerebral ischemia/reperfusion-induced apoptosis and oxidative stress in neurocytes by regulating the AKT pathway. *Exp Ther Med* 22: 973.
<https://doi.org/10.3892/etm.2021.10405>
85. *Schubert-Unkmeir A, Konrad C, Slanina H, Czapke F, Hebling S, Frosch M* (2010) Neisseria meningitidis Induces Brain Microvascular Endothelial Cell Detachment from the Matrix and Cleavage of Occludin: A Role for MMP-8. *PLoS Pathog* 6: e1000874.
<https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1000874>
86. *Orbe J, Barrenetxe J, Rodriguez JA, Vivien D, Orset C, Parks WC, Birkland TP, Serrano R, Purroy A, Martinez de Lizarrondo S, Angles-Cano E, Páramo JA* (2011) Matrix Metalloproteinase-10 Effectively Reduces Infarct Size in Experimental Stroke by Enhancing Fibrinolysis via a Thrombin-Activatable Fibrinolysis Inhibitor–Mediated Mechanism. *Circulation* 124: 2909–2919.
<https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.111.047100>

87. Balbin M, Pendas AM, Uria JA, Jimenez MG, Freije JP, Lopez-Otin C (1999) Expression and regulation of collagenase-3 (MMP-13) in human malignant tumors. *APMIS* 107: 45–53.
<https://doi.org/10.1111/j.1699-0463.1999.tb01525.x>
88. Ma F, Martínez-San Segundo P, Barceló V, Morancho A, Gabriel-Salazar M, Giralí D, Montaner J, Rosell A (2016) Matrix metalloproteinase-13 participates in neuroprotection and neurorepair after cerebral ischemia in mice. *Neurobiol Dis* 91: 236–246.
<https://doi.org/10.1016/j.nbd.2016.03.016>
89. Yang Y, Rosenberg GA (2011) Blood–Brain Barrier Breakdown in Acute and Chronic Cerebrovascular Disease. *Stroke* 42: 3323–3328.
<https://doi.org/10.1161/STROKEAHA.110.608257>
90. Wang CX, Shuaib A (2007) Critical role of microvasculature basal lamina in ischemic brain injury. *Prog Neurobiol* 83: 140–148.
<https://doi.org/10.1016/j.pneurobio.2007.07.006>
91. Hamann GF, Liebetrau M, Martens H, Burggraf D, Kloss CUA, Bültmeier G, Wunderlich N, Jäger G, Pfefferkorn T (2002) Microvascular Basal Lamina Injury after Experimental Focal Cerebral Ischemia and Reperfusion in the Rat. *J Cereb Blood Flow Metab* 22: 526–533.
<https://doi.org/10.1097/00004647-200205000-00004>
92. Latour LL, Kang D, Ezzeddine MA, Chalela JA, Warach S (2004) Early blood–brain barrier disruption in human focal brain ischemia. *Ann Neurol* 56: 468–477.
<https://doi.org/10.1002/ana.20199>
93. Warach S, Latour LL (2004) Evidence of Reperfusion Injury, Exacerbated by Thrombolytic Therapy, in Human Focal Brain Ischemia Using a Novel Imaging Marker of Early Blood–Brain Barrier Disruption. *Stroke* 35: 2659–2661.
<https://doi.org/10.1161/01.STR.0000144051.32131.09>
94. Klops J, Steinbrink J, Bourayou R, Mueller S, Cordell R, Licha K, Schirner M, Dirnagl U, Lindauer U, Wunder A (2009) Near-infrared fluorescence imaging with fluorescently labeled albumin: A novel method for non-invasive optical imaging of blood–brain barrier impairment after focal cerebral ischemia in mice. *J Neurosci Methods* 180: 126–132.
<https://doi.org/10.1016/j.jneumeth.2009.03.002>
95. Sandoval KE, Witt KA (2008) Blood-brain barrier tight junction permeability and ischemic stroke. *Neurobiol Dis* 32: 200–219.
<https://doi.org/10.1016/j.nbd.2008.08.005>
96. Lakhani SE, Kirchgeßner A, Hofer M (2009) Inflammatory mechanisms in ischemic stroke: therapeutic approaches. *J Transl Med* 7: 97.
<https://doi.org/10.1186/1479-5876-7-97>
97. Mizuma A, Yenari MA (2017) Anti-Inflammatory Targets for the Treatment of Reperfusion Injury in Stroke. *Front Neurol* 8.
<https://doi.org/10.3389/fneur.2017.00467>
98. Marks-Konczalik J, Chu SC, Moss J (1998) Cytokine-mediated Transcriptional Induction of the Human Inducible Nitric Oxide Synthase Gene Requires Both Activator Protein 1 and Nuclear Factor κ B-binding Sites. *J Biol Chem* 273: 22201–22208.
<https://doi.org/10.1074/jbc.273.35.22201>
99. Wang Z, Leng Y, Tsai L-K, Leeds P, Chuang D-M (2011) Valproic Acid Attenuates Blood–Brain Barrier Disruption in a Rat Model of Transient Focal Cerebral Ischemia: The Roles of HDAC and MMP-9 Inhibition. *J Cereb Blood Flow Metab* 31: 52–57.
<https://doi.org/10.1038/jcbfm.2010.195>
100. Qin W, Li J, Zhu R, Gao S, Fan J, Xia M, Zhao RC, Zhang J (2019) Melatonin protects blood-brain barrier integrity and permeability by inhibiting matrix metalloproteinase-9 via the NOTCH3/NF- κ B pathway. *Aging (Albany NY)* 11: 11391–11415.
<https://doi.org/10.18632/aging.102537>
101. Deng L, Zhang J, Chen S, Wu Y, Fan X, Zuo T, Hu Q, Jiang L, Yang S, Dong Z (2023) miR-671-5p Upregulation Attenuates Blood–Brain Barrier Disruption in the Ischemia Stroke Model Via the NF- κ B/MMP-9 Signaling Pathway. *Mol Neurobiol* 60: 3824–3838.
<https://doi.org/10.1007/s12035-023-03318-7>
102. Cai H, Ma Y, Jiang L, Mu Z, Jiang Z, Chen X, Wang Y, Yang G-Y, Zhang Z (2017) Hypoxia Response Element-Regulated MMP-9 Promotes Neurological Recovery via Glial Scar Degradation and Angiogenesis in Delayed Stroke. *Mol Ther* 25: 1448–1459.
<https://doi.org/10.1016/j.ymthe.2017.03.020>
103. Abdelnaseer MM, Elfauomy NM, Esmail EH, Kamal MM, Elsayy EH (2017) Matrix Metalloproteinase-9 and Recovery of Acute Ischemic Stroke. *J Stroke Cerebrovasc Dis* 26: 733–740.
<https://doi.org/10.1016/j.jstrokecerebrovasdis.2016.09.043>

104. *Samdani AF, Dawson TM, Dawson VL* (1997) Nitric Oxide Synthase in Models of Focal Ischemia. *Stroke* 28: 1283–1288.
<https://doi.org/10.1161/01.STR.28.6.1283>
105. *Taraboletti G, D'Ascenzoy S, Giusti I, Marchetti D, Borsotti P, Millimaggi D, Giavazzi R, Pavan A, Dolo V* (2006) Bioavailability of VEGF in Tumor-Shed Vesicles Depends on Vesicle Burst Induced by Acidic pH. *Neoplasia* 8: 96–103.
<https://doi.org/10.1593/neo.05583>
106. *Furuse M, Izumi Y, Oda Y, Higashi T, Iwamoto N* (2014) Molecular organization of tricellular tight junctions. *Tissue Barriers* 2: e28960.
<https://doi.org/10.4161/tisb.28960>
107. *Eum SY, Jaraki D, Bertrand L, András IE, Toborek M* (2014) Disruption of epithelial barrier by quorum-sensing N -3-(oxododecanoyl)-homoserine lactone is mediated by matrix metalloproteinases. *Am J Physiol Liver Physiol* 306: G992–G1001.
<https://doi.org/10.1152/ajpgi.00016.2014>
108. *Rosenberg GA* (1999) Ischemic brain edema. *Prog Cardiovasc Dis* 42: 209–216.
[https://doi.org/10.1016/S0033-0620\(99\)70003-4](https://doi.org/10.1016/S0033-0620(99)70003-4)
109. *Zozulya A, Weidenfeller C, Galla H-J* (2008) Pericyte–endothelial cell interaction increases MMP-9 secretion at the blood–brain barrier in vitro. *Brain Res* 1189: 1–11.
<https://doi.org/10.1016/j.brainres.2007.10.099>
110. *Mostafa Mtairag E* (2001) Effects of interleukin-10 on monocyte/endothelial cell adhesion and MMP-9/TIMP-1 secretion. *Cardiovasc Res* 49: 882–890.
[https://doi.org/10.1016/S0008-6363\(00\)00287-X](https://doi.org/10.1016/S0008-6363(00)00287-X)
111. *Rosell A, Cuadrado E, Ortega-Aznar A, Hernández-Guillamon M, Lo EH, Montaner J* (2008) MMP-9–Positive Neutrophil Infiltration Is Associated to Blood–Brain Barrier Breakdown and Basal Lamina Type IV Collagen Degradation During Hemorrhagic Transformation After Human Ischemic Stroke. *Stroke* 39: 1121–1126.
<https://doi.org/10.1161/STROKEAHA.107.500868>
112. *Turner RJ, Sharp FR* (2016) Implications of MMP9 for Blood Brain Barrier Disruption and Hemorrhagic Transformation Following Ischemic Stroke. *Front Cell Neurosci* 10.
<https://doi.org/10.3389/fncel.2016.00056>
113. *Huang J, Upadhyay UM, Tamargo RJ* (2006) Inflammation in stroke and focal cerebral ischemia. *Surg Neurol* 66: 232–245.
<https://doi.org/10.1016/j.surneu.2005.12.028>
114. *Underly RG, Levy M, Hartmann DA, Grant RI, Watson AN, Shih AY* (2017) Pericytes as Inducers of Rapid, Matrix Metalloproteinase-9-Dependent Capillary Damage during Ischemia. *J Neurosci* 37: 129–140.
<https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2891-16.2016>
115. *Mun-Bryce S, Lukes A, Wallace J, Lukes-Marx M, Rosenberg GA* (2002) Stromelysin-1 and gelatinase A are upregulated before TNF- α in LPS-stimulated neuroinflammation. *Brain Res* 933: 42–49.
[https://doi.org/10.1016/S0006-8993\(02\)02303-X](https://doi.org/10.1016/S0006-8993(02)02303-X)
116. *Gurney KJ, Estrada EY, Rosenberg GA* (2006) Blood–brain barrier disruption by stromelysin-1 facilitates neutrophil infiltration in neuroinflammation. *Neurobiol Dis* 23: 87–96.
<https://doi.org/10.1016/j.nbd.2006.02.006>
117. *Toth M, Chvyrkova I, Bernardo MM, Hernandez-Barrantes S, Fridman R* (2003) Pro-MMP-9 activation by the MT1-MMP/MMP-2 axis and MMP-3: role of TIMP-2 and plasma membranes. *Biochem Biophys Res Commun* 308: 386–395.
[https://doi.org/10.1016/S0006-291X\(03\)01405-0](https://doi.org/10.1016/S0006-291X(03)01405-0)
118. *Wolburg H, Lippoldt A* (2002) Tight junctions of the blood–brain barrier. *Vascul Pharmacol* 38: 323–337.
[https://doi.org/10.1016/S1537-1891\(02\)00200-8](https://doi.org/10.1016/S1537-1891(02)00200-8)
119. *Yamamoto M, Ramirez SH, Sato S, Kiyota T, Cerny RL, Kaibuchi K, Persidsky Y, Ikezu T* (2008) Phosphorylation of Claudin-5 and Occludin by Rho Kinase in Brain Endothelial Cells. *Am J Pathol* 172: 521–533.
<https://doi.org/10.2353/ajpath.2008.070076>
120. *Gurnik S, Devraj K, Macas J, Yamaji M, Starke J, Scholz A, Sommer K, Di Tacchio M, Vutukuri R, Beck H, Mittelbronn M, Foerch C, Pfeilschifter W, Liebner S, Peters KG, Plate KH, Reiss Y* (2016) Angiopoietin-2-induced blood–brain barrier compromise and increased stroke size are rescued by VE-PTP-dependent restoration of Tie2 signaling. *Acta Neuropathol* 131: 753–773.
<https://doi.org/10.1007/s00401-016-1551-3>
121. *Truong TQ, Aubin D, Bourgeois P, Falstra L, Brissette L* (2006) Opposite effect of caveolin-1 in the metabolism of high-density and low-density lipoproteins. *Biochim Biophys Acta - Mol Cell Biol Lipids* 1761: 24–36.
<https://doi.org/10.1016/j.bbalip.2005.12.004>

122. Frank PG, Cheung MW-C, Pavlides S, Llaverias G, Park DS, Lisanti MP (2006) Caveolin-1 and regulation of cellular cholesterol homeostasis. *Am J Physiol Circ Physiol* 291: H677–H686.
<https://doi.org/10.1152/ajpheart.01092.2005>
123. Sowa G (2012) Regulation of Cell Signaling and Function by Endothelial Caveolins: Implications in Disease. *Transl Med Suppl* 8: 001.
<https://doi.org/10.4172/2161-1025.S8-001>
124. Virgintino D, Robertson D, Errede M, Benagiano V, Tauer U, Roncali L, Bertossi M (2002) Expression of caveolin-1 in human brain microvessels. *Neuroscience* 115: 145–152.
[https://doi.org/10.1016/S0306-4522\(02\)00374-3](https://doi.org/10.1016/S0306-4522(02)00374-3)
125. Cameron PL, Ruffin JW, Bollag R, Rasmussen H, Cameron RS (1997) Identification of Caveolin and Caveolin-Related Proteins in the Brain. *J Neurosci* 17: 9520–9535.
<https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.17-24-09520.1997>
126. Gu Y, Zheng G, Xu M, Li Y, Chen X, Zhu W, Tong Y, Chung SK, Liu KJ, Shen J (2012) Caveolin-1 regulates nitric oxide-mediated matrix metalloproteinases activity and blood-brain barrier permeability in focal cerebral ischemia and reperfusion injury. *J Neurochem* 120: 147–156.
<https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.2011.07542.x>
127. Liu J, Weaver J, Jin X, Zhang Y, Xu J, Liu KJ, Li W, Liu W (2016) Nitric Oxide Interacts with Caveolin-1 to Facilitate Autophagy-Lysosome-Mediated Claudin-5 Degradation in Oxygen-Glucose Deprivation-Treated Endothelial Cells. *Mol Neurobiol* 53: 5935–5947.
<https://doi.org/10.1007/s12035-015-9504-8>
128. Tanswell P, Tebbe U, Neuhaus KL, Gläsele-Schwarz L, Wojcik J, Seifried E (1992) Pharmacokinetics and fibrin specificity of alteplase during accelerated infusions in acute myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol* 19: 1071–1075.
[https://doi.org/10.1016/0735-1097\(92\)90297-z](https://doi.org/10.1016/0735-1097(92)90297-z)
129. Hahn-Dantona E, Ramos-Desimone N, Siple J, Nagase H, French DL, Quigley JP (1999) Activation of ProMMP-9 by a Plasmin/MMP-3 Cascade in a Tumor Cell Model: Regulation by Tissue Inhibitors of Metalloproteinases. *Ann N Y Acad Sci* 878: 372–387.
<https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.1999.tb07696.x>
130. Terruso V, D'Amelio M, Di Benedetto N, Lupo I, Saia V, Famoso G, Mazzola MA, Aridon P, Sarno C, Ragonesi P, Savettieri G (2009) Frequency and Determinants for Hemorrhagic Transformation of Cerebral Infarction. *Neuroepidemiology* 33: 261–265.
<https://doi.org/10.1159/000229781>
131. England TJ, Bath PMW, Sare GM, Geeganage C, Moulin T, O'Neill D, Woimant F, Christensen H, De Deyn P, Leys D, Ringelstein EB (2010) Asymptomatic Hemorrhagic Transformation of Infarction and Its Relationship With Functional Outcome and Stroke Subtype. *Stroke* 41: 2834–2839.
<https://doi.org/10.1161/STROKEAHA.109.573063>
132. Charbonnier G, Bonnet L, Biondi A, Moulin T (2021) Intracranial Bleeding After Reperfusion Therapy in Acute Ischemic Stroke. *Front Neurol* 11.
<https://doi.org/10.3389/fneur.2020.629920>
133. Paciaroni M, Agnelli G, Corea F, Ageno W, Alberti A, Lanari A, Caso V, Micheli S, Bertolani L, Venti M, Palmerini F, Biagini S, Comi G, Previdi P, Silvestrelli G (2008) Early Hemorrhagic Transformation of Brain Infarction: Rate, Predictive Factors, and Influence on Clinical Outcome. *Stroke* 39: 2249–2256.
<https://doi.org/10.1161/STROKEAHA.107.510321>
134. Szpak GM, Lechowicz W, Lewandowska E, Bertrand E, Wierzba-Bobrowicz T, Dymecki J (1999) Border zone neovascularization in cerebral ischemic infarct. *Folia Neuropathol* 37: 264–268.
135. Li W-L, Fraser JL, Yu SP, Zhu J, Jiang Y-J, Wei L (2011) The role of VEGF/VEGFR2 signaling in peripheral stimulation-induced cerebral neurovascular regeneration after ischemic stroke in mice. *Exp Brain Res* 214: 503–513.
<https://doi.org/10.1007/s00221-011-2849-y>
136. Adamczak JM, Schneider G, Nelles M, Que I, Suidgeest E, van der Weerd L, Lawik C, Hoehn M (2014) In vivo bioluminescence imaging of vascular remodeling after stroke. *Front Cell Neurosci* 8.
<https://doi.org/10.3389/fncel.2014.00274>
137. Matsuo R, Ago T, Kamouchi M, Kuroda J, Kuwashiro T, Hata J, Sugimori H, Fukuda K, Gotoh S, Makiyama N, Fukuhara M, Awano H, Isomura T, Suzuki K, Yasaka M, Okada Y, Kiyohara Y, Kitazono T (2013) Clinical significance of plasma VEGF value in ischemic stroke - research for biomarkers in ischemic stroke (REBIOS) study. *BMC Neurol* 13: 32.
<https://doi.org/10.1186/1471-2377-13-32>
138. Shan Y, Tan S, Lin Y, Liao S, Zhang B, Chen X, Wang J, Deng Z, Zeng Q, Zhang L, Wang Y, Hu X, Qiu W, Peng L, Lu Z (2019) The glucagon-like peptide-1 receptor agonist reduces inflammation and blood-brain barrier breakdown in an astrocyte-dependent manner in experimental stroke. *J Neuroinflammation* 16: 242.
<https://doi.org/10.1186/s12974-019-1638-6>

139. Valable S, Montaner J, Bellail A, Berezowski V, Brillault J, Cecchelli R, Divoux D, MacKenzie ET, Bernaudin M, Roussel S, Petit E (2005) VEGF-Induced BBB Permeability is Associated with an MMP-9 Activity Increase in Cerebral ischemia: Both Effects Decreased by ANG-1. *J Cereb Blood Flow Metab* 25: 1491–1504.
<https://doi.org/10.1038/sj.jcbfm.9600148>
140. Chau KY, Sivaprasad S, Patel N, Donaldson TA, Luthert PJ, Chong N V (2007) Plasma levels of matrix metalloproteinase-2 and -9 (MMP-2 and MMP-9) in age-related macular degeneration. *Eye* 21: 1511–1515.
<https://doi.org/10.1038/sj.eye.6702722>
141. Castellanos M, Leira R, Serena J, Pumar JM, Lizasoain I, Castillo J, Dávalos A (2003) Plasma Metalloproteinase-9 Concentration Predicts Hemorrhagic Transformation in Acute Ischemic Stroke. *Stroke* 34: 40–46.
<https://doi.org/10.1161/01.STR.0000046764.57344.31>
142. Valente FM, de Andrade DO, Cosenso-Martin LN, Cesarino CB, Guimarães SM, Guimarães VB, Lacchini R, Tanus-Santos JE, Yugar-Toledo JC, Vilela-Martin JF (2020) Plasma levels of matrix metalloproteinase-9 are elevated in individuals with hypertensive crisis. *BMC Cardiovasc Disord* 20: 132.
<https://doi.org/10.1186/s12872-020-01412-5>
143. Zhong C, Yang J, Xu T, Xu T, Peng Y, Wang A, Wang J, Peng H, Li Q, Ju Z, Geng D, Zhang Y, He J (2017) Serum matrix metalloproteinase-9 levels and prognosis of acute ischemic stroke. *Neurology* 89: 805–812.
<https://doi.org/10.1212/WNL.0000000000004257>
144. Steed E, Balda MS, Matter K (2010) Dynamics and functions of tight junctions. *Trends Cell Biol* 20: 142–149.
<https://doi.org/10.1016/j.tcb.2009.12.002>
145. Krug SM, Amasheh S, Richter JF, Milatz S, Günzel D, Westphal JK, Huber O, Schulzke JD, Fromm M (2009) Tricellulin Forms a Barrier to Macromolecules in Tricellular Tight Junctions without Affecting Ion Permeability. *Mol Biol Cell* 20: 3713–3724.
<https://doi.org/10.1091/mbc.e09-01-0080>
146. Castro Dias M, Odriozola Quesada A, Soldati S, Bösch F, Gruber I, Hildbrand T, Sönmez D, Khire T, Witz G, McGrath JL, Piontek J, Kondoh M, Deutsch U, Zuber B, Engelhardt B (2021) Brain endothelial tricellular junctions as novel sites for T cell diapedesis across the blood–brain barrier. *J Cell Sci* 134.
<https://doi.org/10.1242/jcs.253880>

The role of metalloproteinases in the development of ischemia-induced pathologies of the blood-brain barrier

L. Yu. Koliaskin^a, and A. M. Shibeko^{b, c, *}

^a*Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia*

^b*Center for theoretical problems of physico-chemical pharmacology of the Russian Academy
of Sciences, Moscow, Russia*

^c*Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and
Immunology, Moscow, Russia*

**e mail: alshibeko@gmail.com*

The blood-brain barrier maintains brain homeostasis by regulating the transport of nutrients and macromolecules from the bloodstream. Its integrity is disrupted by a number of pathological processes, such as ischemic stroke, neurodegenerative diseases or inflammation. This leads to loss of control of transport processes from the bloodstream to the brain, which causes hemorrhage, oedema and tissue death. The blood-brain barrier permeability is largely regulated by matrix metalloproteinases, a family of enzymes responsible for the blood vessels remodeling, angiogenesis and a number of other physiological and pathological processes. This review presents data on the structure of the blood-brain barrier, its pathological changes, caused by metalloproteinases, the mechanisms that regulate metalloproteinases activity, and the difficulties associated with studying these processes.

Keywords: blood–brain barrier, matrix metalloproteinase, ischemic stroke