

Received: 2010.09.14
Accepted: 2011.01.11
Published: 2011.01.25

Metaloproteiny w miażdżycy naczyń krwionośnych

Matrix metalloproteinases and atherosclerosis

Piotr Fic¹, Izabela Zakrocka², Jacek Kurzepa², Andrzej Stepulak^{2,3}

¹ Oddział Kardiologii z Pododdziałem Kardiologii Inwazyjnej, Specjalistyczny Szpital Wojewódzki im. Kardynała Stefana Wyszyńskiego w Lublinie

² Katedra i Zakład Biochemii i Biologii Molekularnej Uniwersytetu Medycznego w Lublinie

³ Oddział Otolaryngologii, Szpital MSWiA w Lublinie

Streszczenie

Metaloproteiny (MMPs) tworzące rodzinę enzymów proteolitycznych degradujących białka macierzy zewnątrzkomórkowej (ECM) wydają się pełnić istotną rolę w patogenezie miażdżycy naczyń. Wydzielane przez komórki biorące udział w procesach zapalnych oraz komórki mięśni gładkich, MMPs biorą udział w przebudowie naczyń krwionośnych. Stopień ekspresji i aktywności MMPs jest regulowany na poziomie transkrypcji przez wiele cytokin, na poziomie białka przez aktywację proenzymu przez komórkowe i osoczowe proteiny, a na poziomie aktywnego enzymu przez endogenne i egzogenne inhibitory. Zwiększone wytwarzanie MMPs może się przyczyniać do progresji miażdżycy naczyń. Prowadzi zarówno do powstania płytki miażdżycowej, jak i jej rozpadu, co w konsekwencji może powodować groźne następstwa kliniczne w postaci zawału mięśnia sercowego, czy niedokrwienia kończyn. Zwiększone stężenie niektórych MMPs w surowicy traktowane jest obecnie jako czynnik prognostyczny miażdżycy i ryzyka chorób układu sercowo-naczyniowego. Dyskutowane jest również potencjalne użycie inhibitorów MMPs w terapii miażdżycy naczyń.

Słowa kluczowe:

miażdżycy naczyń • metaloproteiny • pęknięcie blaszki miażdżycowej

Summary

Matrix metalloproteinases (MMPs), a family of proteolytic enzymes that degrade extracellular matrix (ECM), seem to have an important role in pathogenesis of atherosclerosis. Released by inflammatory cells and smooth muscle cells, MMPs regulate the vascular remodeling process. The expression and activity of MMPs is regulated at the level of transcription by a variety of cytokines, proenzyme activation by several cellular and serum proteases, as well as by endogenous and exogenous inhibitors. Overproduction of MMPs could promote arteriosclerosis, leading to atherosclerotic plaque formation, and plaque rupture, resulting in clinical consequences such as myocardial infarction, or critical limb ischemia. Increased plasma levels of some MMPs are now regarded as potential biomarkers of atherosclerosis and cardiovascular risk. The potential significance of MMP inhibitors in atherosclerosis therapy is discussed.

Key words:

atherosclerosis • matrix metalloproteinases • plaque rupture

Full-text PDF:

<http://www.phmd.pl/fulltxt.php?ICID=931536>

Word count:	4629
Tables:	2
Figures:	1
References:	105

Adres autora: dr hab. n. med. Andrzej Stepulak, Katedra i Zakład Biochemii i Biologii Molekularnej, Uniwersytet Medyczny w Lublinie, ul. Witolda Chodźki 1, 20-093 Lublin; e-mail: andrzej.stepulak@gmail.com

WSTĘP

Metaloproteinyzy (matrix metalloproteinases – MMPs) to różnorodna grupa aktywnych biologicznie białek o podobnej budowie i zbliżonych funkcjach, będących produktami różnych genów. Metaloproteinyzy pełnią główną rolę w embriogenezie, migracji komórek oraz różnicowaniu tkanek, powstawaniu nowych naczyń krwionośnych, przebudowie tkanek w warunkach fizjologicznych, a także podczas stanów zapalnych lub po urazach. Zwiększoną aktywność MMPs wykazano w licznych stanach chorobowych, m.in. w reumatoidalnym zapaleniu stawów, przerzutach nowotworowych, miażdżycy naczyń i chorobach serca [28,55,65].

Wspólną cechą MMPs jest zdolność do proteolitycznej degradacji wielu białek macierzy zewnątrzkomórkowej (extracellular matrix – ECM), takich jak kolageny, proteoglikany, fibronektyna, elastyna oraz mechanizm katalizy enzymatycznej zależny od Zn [97]. Metaloproteinyzy modyfikują również białka błony komórkowej, powodują uwolnienie cytokin i czynników wzrostu związanych z błoną lub białkami zewnątrzkomórkowymi, przez co mają wpływ na regulację oddziaływań komórka–komórka oraz komórka–macierz zewnątrzkomórkowa [55,65].

Każda zmiana w budowie naczyń krwionośnych wymaga modyfikacji w strukturze macierzy zewnątrzkomórkowej. Dlatego też MMPs są wiązane z patogenezą wielu zaburzeń w obrębie układu sercowo-naczyniowego, takich jak miażdżycy naczyń krwionośnych, restenoza naczyń po zabiegach wewnątrznacyniowych, tętniaki, zaburzenia pracy żylnych przeszczepów naczyniowych. Szczególnym aspektem działalności MMP jest ostre pęknięcie błazki miażdżycowej, które może spowodować przekształcenie stabilnej choroby wieńcowej w ostry zespół wieńcowy i nagłą śmierć sercową [56,66] lub udar [70]. W pracy podsumowano informacje na temat metaloproteinyz i ich roli w patogenezie miażdżycy naczyń. Dalsze badania na poziomie molekularnym mogą być podstawą do rozszerzenia wiedzy o tych zaburzeniach i przyczynić się do odkrycia nowych strategii terapeutycznych w oparciu o metabolizm metaloproteinyz.

KLASYFIKACJA, BUDOWA I AKTYWACJA METALOPROTEINAZ

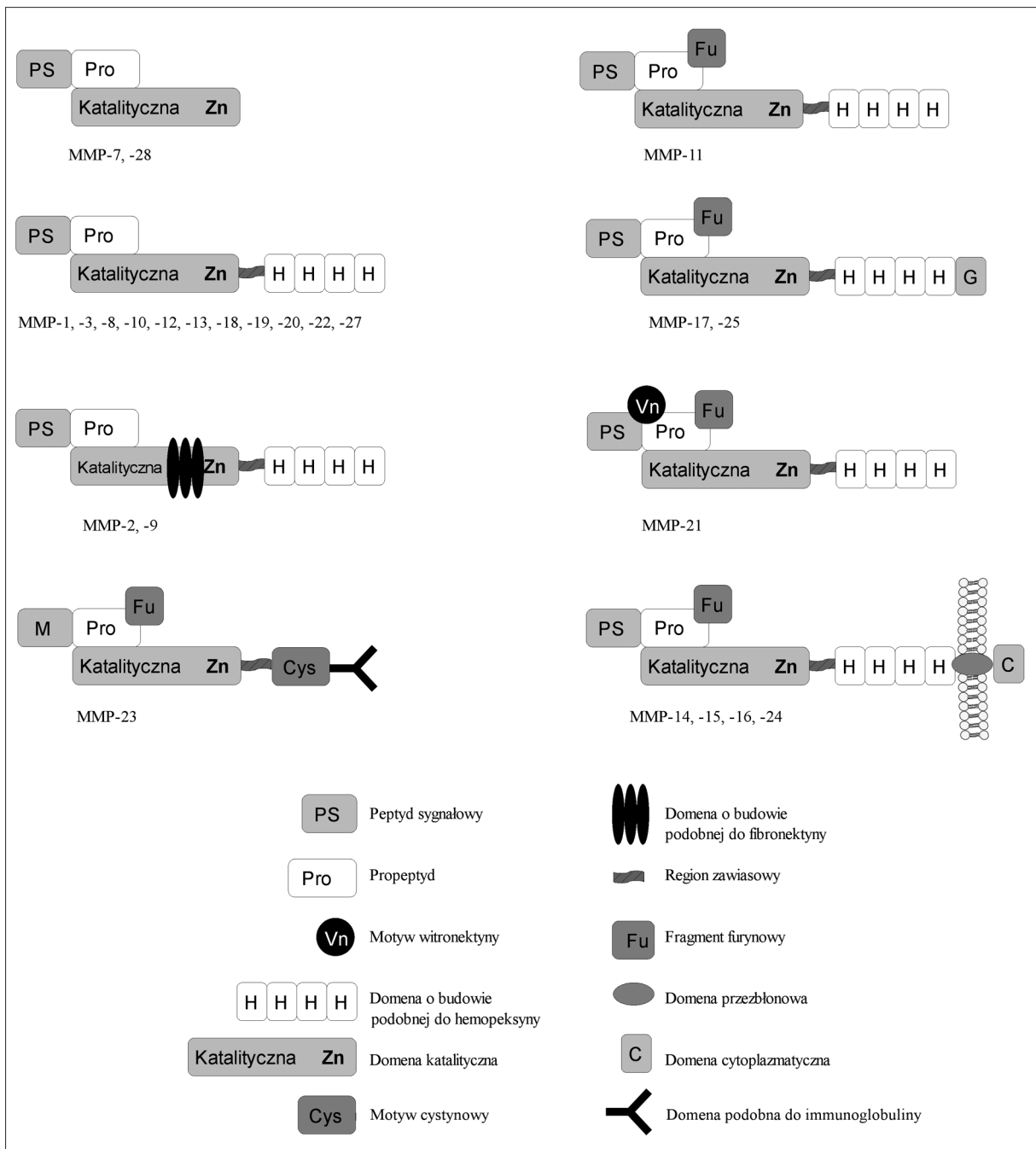
Ze względu na podobieństwo sekwencji aminokwasów oraz powinowactwo do określonych substratów MMPs podzielono na grupy [97], w skład których wchodzi kolagenazy (MMP-1, MMP-8, MMP-13), żelatynazy (MMP-2, MMP-9), stromielizyny (MMP-3, MMP-10, MMP-11), matrilizyny (MMP-7, MMP-26), metaloproteinyzy typu błonowego (MT-MMPs) oraz niesklasyfikowane MMP (MMP-12, -19, -20, -21, -23). Szczegółową klasyfikację, wykaz substratów i rolę biologiczną poszczególnych MMP zawiera tabela 1.

Typowe MMP mają wspólne elementy strukturalne (ryc. 1): w N-końcowym fragmencie cząsteczki peptyd sygnałowy (odłączany wewnątrzkomórkowo tuż po translacji) oraz domęną propeptydową. W części centralnej białka znajduje się domena katalityczna zawierająca miejsce aktywne połączona poprzez zmiennej długości peptyd („hinge region”) z domeną podobną do hemopeksyny we fragmencie C-końcowym. Domena ta nie występuje w MMP-7 i MMP-26, natomiast w MMP-23 jest zastąpiona domeną podobną do immunoglobuliny. Domena podobna do hemopeksyny jest wysoce konserwatywna i wykazuje podobieństwo pod względem sekwencji do osoczowego białka hemopeksyny. Wykazano, że jest to fragment MMP niezbędny podczas wiązania substratów z enzymem lub w czasie interakcji enzymu z naturalnymi inhibitorami MMP – TIMPs (tissue inhibitor of metalloproteinase) [65].

MMPs są grupą endopeptydaz, których aktywność proteolityczna jest zależna od cynku (Zn^{2+}) oraz wapnia (Ca^{2+}), które są niezbędne do utrzymania funkcji biologicznej enzymu. Centrum aktywne metaloproteinyz zawiera dwa jony Zn^{2+} i jeden jon Ca^{2+} , przy czym tylko jeden jon Zn^{2+} jest zaangażowany w procesy katalityczne enzymu, natomiast funkcja pozostałych kationów nie jest do końca poznana. Sugeruje się ich rolę w stabilizacji centrum aktywnego [9,78]. Ogólnie sekrecyjne MMP są syntetyzowane jako nieaktywne zymogeny i wydzielane do przestrzeni zewnątrzkomórkowej w postaci proenzymów. Tam wiążą się ze swoistymi białkami macierzy zewnątrzkomórkowej i pozostają nieaktywne do chwili proteolitycznej aktywacji domeny propeptydowej. W procesie aktywacji MMP nieodwracalne odłączenie propeptydu powoduje odsłonięcie centrum aktywnego enzymu. Zwykle jest to proces przebiegający w dwu lub więcej etapach. W przypadku MMP-9 aktywacja enzymu (z postaci 92 do 86 kDa) w warunkach *in vitro* zachodzi w obecności katepsyny G, α -chymotrypsyny, trypsyny lub MMP-2, -3, -10, -13 [38], a także plazminy [19,33] oraz kwasu hialuronowego [71]. Proces ten przebiega dwuetapowo: na początku proteazy trawia pro-MMP-9 w obrębie propeptydu w miejscu położonym aminoterminalnie od reszty cysteinowej blokującej jon cynku centrum aktywnego. W drugim etapie dochodzi do reakcji autokatalitycznej oraz pełnej aktywacji enzymu. Aktywacja pro-MMP-9 *in vivo* związana jest z kaskadową aktywacją proteaz serynowych (aktywatory plazminogenu – tkankowy i typu urokinazowego, plazmina) oraz innych MMP [96]. Pro-MMP-2, w przeciwieństwie do pro-MMP-9, jest niewrażliwa na bezpośrednie działanie proteaz serynowych oraz innych MMP, poza błonowymi [51]. Proteolityczna aktywacja pro-MMP-2 (72 kDa) do aktywnej postaci MMP-2 (66 kDa) w warunkach *in vivo* zachodzi na powierzchni komórek z udziałem MT1-MMP (m.in. MMP-14) oraz TIMP-2 [83]. Wykazano też, że w aktywację pro-MMP-2 może być zaangażowany receptor integryny $\beta 1$ (prawdopodobnie $\alpha 1 \beta 2$) [83].

Tabela 1. Klasyfikacja MMPs

Nazwa enzymu	Klasyfikacja MMP	Substraty	Udział MMPs w chorobach naczyń
Kolagenazy			
Kolagenaza śródmiaższowa	MMP-1	kolagen I, II, III, VII, VIII, X, XI, żelatyna, MMP-2, MMP-9, proteoglikany, fibronektyna, entaktyna, laminina, witronektyna, α_1 -antyproteaza, proTNF- α	tętniak aorty brzusznej, miażdżycza, aktywacja VEGF
Kolagenaza neutrofilowa	MMP-8	kolagen I, II, III, V, VII, VIII, X, żelatyna, fibronektyna, laminina, proteoglikany, ADAMTS-1, proMMP-8	tętniak aorty brzusznej, miażdżycza
Kolagenaza śródmiaższowa	MMP-13	kolagen I, II, III, IV, V, VII, IX, X, żelatyna, fibronektyna, laminina, proteoglikany, fibrynogen, proMMP-9, -13	tętniak aorty brzusznej, miażdżycza
Żelatynazy			
Żelatynaza A	MMP-2	żelatyna, kolagen I, II, III, IV, V, VII, X, XI, fibronektyna, laminina, elastyna, proMMP-9, -13, α_1 -antyproteaza, IGFBPs, IL-1 β , TGF- β	tętniak aorty brzusznej, miażdżycza, restenoza tętnic, krytyczne niedokrwienie kończyn dolnych, aktywacja VEGF
Żelatynaza B	MMP-9	żelatyna, kolagen III, IV, V, VII, X, XI, elastyna, laminina, fibronektyna, witronektyna, α_1 -antyproteaza, CXCL5, IL-1 β , TGF- β , plazminogen	tętniak aorty brzusznej, miażdżycza, restenoza tętnic, krytyczne niedokrwienie kończyn dolnych, choroba Kawasaki, aktywacja VEGF
Stromielizyny			
Stromielizyna 1	MMP-3	kolagen III, IV, V, VII, IX, X, XI, żelatyny, fibronektyna, laminina, tenaktyna, proMMP-1, -7, -8, -9, -13, proteoglikany, proTNF- α , E-kadheryna, L-selektyna, fibrynogen	tętniak aorty brzusznej, miażdżycza, żyłaki, choroba Kawasaki, aktywacja VEGF
Stromielizyna 2	MMP-10	kolagen I, III, IV, V, IX, X, żelatyna, laminina, kazeina, fibronektyna, MMP-1, -8, proteoglikany	miażdżycza
Stromielizyna 3	MMP-11	kolagen IV, żelatyna, fibronektyna, laminina, α_1 -antyproteaza, serpiny	miażdżycza
Matrilizyny			
Matrilizyna 1	MMP-7	kolagen I, IV, żelatyna, laminina, elastyna, fibronektyna, proteoglikany, proMMPs, proTNF α , E-kadheryna	miażdżycza, aktywacja VEGF
Matrilizyna 2	MMP-26	kolagen I, IV, żelatyna, laminina, elastyna, fibronektyna, proteoglikany, proMMPs, proTNF α , E-kadheryna	
MMPs błonowe (MT-MMPs)			
MT-1	MMP-14	kolagen I, II, III, żelatyna, fibronektyna, laminina, witronektyna, proteoglikany, pro-MMP2 i pro-MMP13	tętniak aorty brzusznej, miażdżycza
MT-2	MMP-15	pro-MMP2	
MT-3	MMP-16	pro-MMP2	miażdżycza
MT-4	MMP-17	pro-MMP2	
MT-5	MMP-24	pro-MMP2	
MT-6	MMP-25	żelatyna	
Niesklasyfikowane			
Metaloelastaza	MMP-12	kolageny, żelatyna, elastyna, proteoglikany, plazminogen	tętniak aorty brzusznej, miażdżycza, aktywacja VEGF
RASI	MMP-19	elementy błon podstawnych	
-	MMP-21	żelatyna	
-	MMP-23	-	
-	MMP-27	żelatyna, kazeina, autokataliza	
Epilizyna	MMP-28	proTGF- β	



Ryc. 1. Budowa strukturalna MMP (opis w tekście)

Aktywacja MMP może zachodzić również pod wpływem związków drobnocząsteczkowych (związki rtęci, tlenek azotu, sól sodowa siarczany dodecylu – SDS). W tym mechanizmie dochodzi do rozerwania wiązania pomiędzy atomem cynku centrum aktywnego, a grupą tiolową reszty cysteiny położonej w obrębie propeptydu. Miejsce grupy tiolowej w aktywowanym enzymie zajmuje cząsteczka wody [10]. W związku z tym, że proces ten jest odwracalny i wiąże się jedynie ze zmianą konformacji enzymu, został on nazwany „włącznikiem cysteinowym” (cysteine switch) [30,81]. Mechanizm ten wykorzystywany jest w badaniach aktywności MMP w warunkach *in vitro* (zymografia) [45].

Ostatnie doniesienia sugerują też możliwą aktywację MMP poprzez ich fosforylację [82].

W odróżnieniu od sekrecyjnych MMP, metaloproteinyzy związane z błonami komórkowymi (MT-MMP) są wbudowywane w błony już jako w pełni aktywne, funkcjonalne enzymy. W swojej strukturze zawierają elementy typowe dla białek błonowych, czyli zewnątrzkomórkową domenę katalityczną, transbłonową i wewnątrzkomórkową. Stanowią rodzaj zakotwiczonej w błonie proteazy o aktywności zewnątrzkomórkowej skierowanej przeciwko białkom ECM oraz pro-MMP2 [65,90].

Z kolei MMP-21, MMP-23 oraz MMP-28 mają w swojej strukturze tzw. sekwencję rozpoznawczą dla proteolitycznej konwertazy furyny. Dlatego też wskazuje się, że mogą być one aktywowane wewnątrzkomórkowo i wydzielane do przestrzeni zewnątrzkomórkowej już jako czynne enzymy [65].

REGULACJA EKSPRESJI I AKTYWNOŚCI MMP

Ścisłe kontrolowana homeostaza białek ECM wydaje się pochodną aktywności enzymów degradujących białka zewnątrzkomórkowe, w tym głównie metaloproteinaz. Aktywność MMPs jest regulowana na kilku poziomach: transkrypcji genu, sekrecji, aktywacji proenzymu, hamowania aktywności czynnego enzymu przez czynniki endogenne oraz czynniki zewnętrzne, m.in. leki.

Na poziomie transkrypcji genów czynnikami stymulującymi ekspresję MMP jest wiele cytokin i czynników wzrostu, m.in. interleukina 1 (IL-1), interleukina 6 (IL-6), czynnik martwicy nowotworów α (tumor necrosis factor α – TNF- α), czynnik wzrostu naskórka (epidermal growth factor – EGF), płytkowy czynnik wzrostu (platelet-derived growth factor – PDGF), zasadowy czynnik wzrostu fibroblastów (basic fibroblast growth factor – bFGF), czynnik wzrostu hepatocytów (hepatocyte growth factor – HGF) i inne oraz antygen CD40 [66]. (Szczegółowy opis aktywatorów i inhibitorów ekspresji MMPs i TIMPs został niedawno przedstawiony [67] i wykracza poza temat obecnej pracy.) W odpowiedzi na stymulację większość MMPs i TIMPs jest syntetyzowana w określonych typach komórek z wielogodzinnym opóźnieniem [80]. Wewnątrzkomórkowe szlaki sygnałowe biorące udział w aktywacji ekspresji genów dla poszczególnych MMPs i TIMPs to głównie kaskady kinaz z klasy MAPK (mitogen-activated protein kinase): p38, JNK (C-Jun N-terminal kinase) oraz szlaki sygnałowe czynników transkrypcyjnych NF κ B (nuclear factor kappa B) i Smad (Sma and Mad related proteins) [17,80]. Promotory genów MMPs zawierają elementy pozwalające na regulację ekspresji genów MMP przez wiele czynników transkrypcyjnych, m.in. AP1 (activator protein 1), PEA3 (polyomavirus enhancer activator 3), Sp 1 (specificity protein 1), β -catenin/Tcf-4 (transcription factor 4), NF- κ B [102]. Większość MMP syntetyzowanych jest w sposób konstytutywny podlegający modulacji przez czynniki wymienione wyżej. Jedynie MMP-2 nie ulega tym wpływom [12], natomiast MMP-14 oraz MMP-28 wydają się podlegać tej regulacji w ograniczonym zakresie [102]. Ekspresja genów MMP może być modulowana również na poziomie epigenetycznym poprzez zmianą acetylację histonów oraz metylację DNA [17,102].

Działanie MMPs jest również regulowane przez aktywację nieczynnej postaci enzymu. Wśród czynników indukujących ten proces wskazywano na wolne rodniki tlenowe (reactive oxygen species – ROS), tlenek azotu (NO), różnego typu enzymy proteolityczne krwi i elementów morfotycznych (trombina, plazminę, chymazę, enzym konwertujący angiotensynę w komórkach tucznych), tkankowy aktywator plazminogenu (urokinaza), kalikreinę tkankową, ale również hiperglikemię oraz błonowe MMPs (MT-MMPs) [44,56,102].

Aktywne metaloproteinazy obecne w przestrzeni pozakomórkowej mogą być hamowane przez naturalne inhibitory

tkankowe, białka o masie cząsteczkowej między 21–34 kDa, z którymi MMP tworzą niekowalencyjne kompleksy w stosunku 1:1. Obecnie znane są cztery naturalnie występujące TIMP: TIMP-1, TIMP-2, TIMP-3, TIMP-4. Dwa z nich, TIMP-1 i TIMP-2 wykazują duże powinowactwo do żelatynaz [10,48]. Spośród wszystkich czterech inhibitorów tkankowych MMP jedynie TIMP-2 jest białkiem wykazującym ekspresję konstytutywną. Endogenne inhibitory MMPs wiążą się nieselektywnie z enzymem, blokując dostęp substratu do miejsca aktywnego.

TIMPs w niewielkim stopniu różnią się swoistością. TIMP-2 w przeciwieństwie do TIMP-1 wykazuje większe powinowactwo do błonowych MMP (MT-MMP). Ma także możliwość łączenia się z aktywną i nieaktywną postacią MMP-2 przyczyniając się do aktywacji pro-MMP-2. TIMP-1 może się łączyć z MMP-9 oraz pro-MMP-9, przy czym znaczenie powstawania kompleksu pro-MMP-9/TIMP-1 nie jest do końca wyjaśnione [10].

TIMP-1, TIMP-2 oraz TIMP-4 są wydzielane w postaci rozpuszczalnej do krwi, natomiast TIMP-3 jest związany z białkami ECM. Źródłem TIMPs są różne rodzaje komórek. Główną rolę przypisuje się komórkom mięśni gładkich naczyń, makrofagom i płytkom krwi. Z innych substancji endogennych zdolność do hamowania aktywności MMPs ma również α_2 -makroglobulina obecna w surowicy [12].

Wśród egzogennych substancji hamujących aktywność MMPs znajdują się związki syntetyczne, m.in. tetracykliny oraz pochodne hydroksyamin czy merkaptoamidów. Niektóre z nich były lub są na etapie badań klinicznych, wykazują jednak małą selektywność do poszczególnych MMPs i dość duże działania niepożądane, stąd ich potencjalne zastosowanie kliniczne jest obecnie znacznie ograniczone [35].

METALOPROTEINAZY W NACZYNIACH KRWIONOŚNYCH

Spośród odkrytych 25 MMPs, czternaście zlokalizowano w ścianie naczyń krwionośnych [66]. Głównym stałym źródłem MMPs są komórki mięśni gładkich naczyń oraz komórki śródbłonna, które w warunkach *in vitro* wydzielają konstytutywnie MMP-2 oraz TIMP-1 i TIMP-2 [12]. MMPs i TIMPs prawdopodobnie znacząco wpływają na reorganizację budowy ściany naczyń. Potwierdzono, że migracja komórek mięśni gładkich jest zależna od aktywności MMP-2 oraz MMP-9 [15,25]. Badania z użyciem zwierząt transgenicznych pozbawionych ekspresji TIMP-1 wykazały z kolei nasilenie procesu tworzenia warstwy wewnętrznej naczyń powodujące zwężenia jego światła [54]. Uważa się, że najczęstsze czynniki stymulujące przebudowę ściany naczyń: zaburzenia hemodynamiczne, urazy, stan zapalny czy stres oksydacyjny mają również wpływ na regulację ekspresji i aktywacji MMPs. Bassiouny i wsp. w badaniach na królikach wykazali, że przepływ krwi może być istotniejszym czynnikiem regulującym ekspresję pro-MMP-2 tętnic niż uraz [5]. Doświadczalne wstrzymanie przepływu krwi w tętnicach szyjnych myszy wywoływało wzrost ekspresji MMP-9 powodując intensywną przebudowę ściany naczyń [25], natomiast wywołany sztucznie wzrost ciśnienia krwi w tętnicach świni powodował zwiększenie aktywności MMP-2 i MMP-9 [14]. Wyniki pojedynczych badań dowodzą, że przebudowa ściany naczyń związana z aktywacją MMPs w odpowiedzi na zmianę warunków

hemodynamicznych może być regulowana przez interakcje między NO a lokalnie wytwarzanymi ROS. Prowadzi to do powstawania peroksynitratów, które z jednej strony powodują aktywację zymogenów pro-MMPs w aktywne enzymy poprzez utlenienie grup tiolowych i zniszczenie wiązania z Zn we fragmencie prodomeny bogatej w Cys, z drugiej strony indukują degradację TIMP-1, powodując przesunięcie homeostazy w kierunku degradacji ECM [12]. Tak więc równowaga między ekspresją i aktywnością MMPs a obecnością TIMPs oraz innych inhibitorów MMPs wydaje się podstawowa w zachowaniu integralności naczyń krwionośnych. Dotąd brak jest pełnej charakterystyki danych dotyczących stężenia MMPs/TIMPs w surowicy zdrowej populacji. Rodzaj płci oraz różnice etniczne wydają się nie wpływać na stężenie MMP-2, TIMP-1, TIMP-2 w surowicy krwi zdrowych osób z różnych kontynentów, z wyjątkiem MMP-9, której stężenie jest obniżone u osób pochodzących z krajów Dalekiego Wschodu [93].

Badania immunocytochemiczne wskazują, że w obrębie ściany prawidłowych naczyń tętniczych występuje stale ekspresja MMP-2, TIMP-1 i TIMP-2. W badaniach zymografii *in situ* nie wykazano jednak żadnej aktywności enzymatycznej MMP2, co może świadczyć o ścisłej kontroli aktywności MMPs na poziomie białka. Ogniskowy wzrost ekspresji niektórych MMPs (MMP-1, MMP-12, MMP-13) i ich zwiększoną aktywność obserwowano w zmienionych patologicznie ludzkich tętnicach oraz w eksperymentalnych modelach restenozы naczyń lub miażdżycy. Może to sugerować, że MMPs mają wpływ na zmianę kształtu i funkcji naczyń krwionośnych, również w powiązaniu z zaistniałą patologią w obrębie ich ściany [103].

ROLA METALOPROTEINAZ W MIAŻDŻYCY NACZYŃ

Miażdżycy naczyń jest to choroba o podłożu zapalnym, zapoczątkowana i rozwijana pod wpływem hipercholesterolemii. Uważana jest również za chorobę zwyrodnieniową zapoczątkowaną uszkodzeniem śródbłonna naczyń krwionośnych. Istnieją jednak doniesienia wykazujące, że śródbłonek pokrywający wczesne zmiany miażdżycowe pozostawał nienaruszony [39]. Wydaje się jednak, że dysfunkcja śródbłonna pozostaje jedną z głównych przyczyn powstawania ognisk miażdżycowych naczyń.

Reakcja zapalna w ścianie tętnicy zapoczątkowana jest aktywacją makrofagów pod wpływem obecności swoistych antygenów, którymi mogą być utlenione lipoproteiny o małej gęstości (oxLDL), fragmenty białek własnych organizmu (m.in. białka szoku termicznego HSP60), czy też endotoksyny bakteryjne [76]. Istotną rolę w tym procesie pełnią ROS, które powodują nieenzymatyczne utlenianie wielonienasyconych kwasów tłuszczowych obecnych w fosfolipidach i estrach cholesterolu zawartych w LDL. Powstanie oxLDL jest sygnałem do uruchomienia odpowiedzi immunologicznej organizmu zapoczątkowanej przez monocyty krwi, które migrują do wewnętrznej ściany tętnicy, gdzie różnicują się w makrofagi. Aktywowane makrofagi i limfocyty wytwarzają wiele różnorodnych cytokin, zarówno pobudzających, jak i hamujących rozwój miażdżycy. Wśród tych pierwszych, powstających w wyniku odpowiedzi komórkowej, istotną rolę w powstawaniu ognisk miażdżycowych pełnią IFN- α (interferon gamma), czynnik martwicy nowotworów alfa (TNF- α , tumor necrosis factor alfa),

Tabela 2. Komórki naczyń krwionośnych wytwarzające MMPs

Komórki naczyń krwionośnych	Rodzaje MMPs
Komórki mięśni gładkich	MMP-1,-2,-3,-8,-9
Komórki śródbłonna	MMP-1,-3,-8,-9,-11,-14
Makrofagi	MMP-1,-3,-8,-9,-11,-12,-14
Limfocyty typu T	MMP-1,-2,-3,-9
Komórki tłuszczne	MMP-9
Fibroblasty	MMP-1,-3,-9

interleukiny (IL) 1, 12 oraz 18. Z kolei obecność cytokin wytwarzanych poprzez odpowiedź humoralną – IL-4, IL-5, IL-10 oraz IL-13, może hamować rozwój ognisk miażdżycowych [32,60,68].

Naładowane cholesterolem i oxLDL makrofagi i limfocyty określane są mianem komórek piankowatych, które są morfologicznym wykładnikiem formującej się blaszki miażdżycowej. Komórki te ulegają akumulacji w pasma lipidowe, czemu towarzyszy intensywne proliferacja i migracja komórek mięśniówki gładkiej, nadmierne wytwarzanie białek macierzy zewnątrzkomórkowej, a następnie tworzenie się włóknistej blaszki miażdżycowej zwężającej naczynie. Z czasem dochodzi do odkładania się złogów wapniowych lub powstawania ognisk martwiczych w zmianie aterosklerotycznej, co powoduje ścięczenie warstwy włóknistej blaszki i może doprowadzić do jej pęknięcia, oderwania i utworzenia zakrzepu [44].

Podczas powstawania miażdżycy dokonują się jakościowe zmiany ECM naczyń – obserwowano wzrost ilości siarczanych glikozaminoglikanów w początkowych stadiach miażdżycy oraz płytkach miażdżycowych z zaznaczoną kalcyfikacją. Zmiany o charakterze włóknistym oraz zawierające dużą liczbę komórek piankowatych charakteryzowały się zmniejszoną obecnością proteoglikanów [43]. Powstawanie i degradacja różnego typu kolagenów prawdopodobnie jest związana z progresją miażdżycy i hiperplazją warstwy wewnętrznej naczynia w odpowiedzi na uraz. Jednak degradacja zarówno świeżo syntetyzowanego, jak i dojrzałego kolagenu oraz glikozaminoglikanów i proteoglikanów zależna jest od działalności MMP [75].

Źródłem MMPs w naczyniach są wspomniane wyżej komórki mięśni gładkich naczyń, płytki krwi, jednakże MMPs mogą być również wydzielane przez monocyty, makrofagi oraz limfocyty typu T (tabela 2). Monocyty migrujące do światła naczynia w kierunku zmian miażdżycowych wykazują dużą ekspresję wielu metaloproteinaz (MMP-1, -2, -3, -7, -9, -10, -12, -14), których aktywność wydaje się niezbędna do penetracji płytki miażdżycowej przez te komórki, choć brak jest bezpośrednich dowodów na potwierdzenie tej tezy [67]. Wykazano natomiast, że w warunkach doświadczalnych *in vivo* MMP-14 wpływa na wzrost migracji monocytów przez śródbłonek naczyń [63,89].

Synteza MMPs w monocytach jest pobudzana przez interakcję z komórkami śródbłonna naczyń [3] i przez kontakt

z kolagenem [26]. Niektóre cytokiny pobudzające lub hamujące proces miażdżycy prawdopodobnie działają poprzez wpływ na ekspresję i stopień aktywności MMPs. Wykazano, że IL-4, która hamuje arteriosklerozę w zwierzęcych modelach eksperymentalnych [59], hamuje jednocześnie syntezę i wydzielanie MMP-1 i MMP-9 przez monocyty [18,46]. W komórkach tych synteza i wydzielanie MMP-9 hamowane jest również przez cytokiny przeciwzapalne – IL-10, czy TGF- β , a także przez witaminę D₃ oraz kwas retinowy – czynniki, które wykazują działanie „przeciwmiażdżycowe” w modelach zwierzęcych [67]. W warunkach doświadczalnych różnicowanie monocytów w makrofagi, a następnie w komórki piankowe – patognomiczne dla zmian miażdżycowych, wzmacnia wydzielanie wielu metaloproteinaz – MMP-1, -3, -7, -9, -14, co sugeruje udział tych komórek w przebudowie ściany naczynia w patogenezie miażdżycy. W przypadku pochodzącej z makrofagów MMP-12 wykazano, że inaktywuje ona niektóre chemokiny i białka chemotaktyczne monocytów, np. CCL-2, -7, -8, -13 (CCL, chemokine (C-C) motif ligand), co wskazuje, że MMP-12 może mieć właściwości zapobiegające powstawaniu miażdżycy naczyń krwionośnych [20].

Zwracano również uwagę na występowanie genetycznych wariantów MMPs w powiązaniu z miażdżycą naczyń krwionośnych. Analiza polimorfizmu genów niektórych MMP, głównie MMP-3 oraz MMP-9, ma prawdopodobnie znaczenie kliniczne w patogenezie miażdżycy, niezależnie od czynników predysponujących jej wystąpienie [1]. W przypadku MMP-3, największe znaczenie wydaje się mieć polimorfizm alleli 5A/6A w odcinku promotora genu MMP-3. Dodatkowa insercja adenozyminy w pozycji -1171 generuje allel 6A jako dodatkowy do allelu 5A, co powoduje większe powinowactwo czynnika transkrypcyjnego ZBP-89 (zinc-binding protein 89) do allelu 6A niż 5A i represję aktywności promotora genu [102]. Pacjenci z genotypem 6A/6A narażeni są na szybszą progresję zmian miażdżycowych w naczyniach wieńcowych [37], przez co obserwuje się statystycznie większą liczbę pacjentów ze zwężeniem tętnic wieńcowych powyżej 50% [7] i szybsze narastanie zmian po angioplastyce [36]. Sugeruje się, że allel 5A związany jest z występowaniem niestabilnej płytki miażdżycowej i możliwością jej oderwania [102], natomiast genotyp 5A/6A koreluje z podwyższonym ryzykiem zawału mięśnia sercowego [79]. Obecność allelu 6A powiązana jest także z występowaniem miażdżycy tętnic szyjnych, a w połączeniu z genotypem 2G/2G dla MMP-1 (polimorfizm -1607 1G/2G MMP1) jest niezależnym czynnikiem prognostycznym ryzyka zwężenia tętnic szyjnych spowodowanych miażdżycą [27]. Inne polimorfizmy genu MMP-3 (-1986T/C, -1346A/C, -709A/C, -376G/C, +802A/G) są niezwiązane z procesem patogenetycznym miażdżycy [7]. Podobnie bez większego znaczenia klinicznego wydają się polimorfizmy genów MMP-2 (-1306 C/T, -1575G/A, -735C/T) oraz MMP-12 (-85A/G) [102]. W odróżnieniu od wspomnianych wyżej, polimorfizm -1562C/T promotora genu MMP-9 może mieć związek z występowaniem zmian miażdżycowych w naczyniach wieńcowych [16,64,105], choć inne badania temu przeczą [8,98]. Pacjenci posiadający allel T mają zwiększone stężenie MMP-9 w surowicy [8]. Reasumując, badania genetyczne sugerują pewną rolę występowania polimorfizmów genów MMPs w procesie patogenetycznym

miażdżycy, jednak zastosowanie praktyczne tego typu badań jest ograniczone, tym bardziej że opisywane zależności mogą być wtórne do procesu chorobowego.

ROLA METALOPROTEINAZ W BLASZCE MIAŻDŻYCOWEJ

Szczególnym aspektem patofizjologicznym i klinicznym miażdżycy naczyń jest powstawanie, stabilizacja i ewentualne oderwanie się blaszki miażdżycowej. Aktywna blaszka miażdżycowa jest zbudowana z lipidowego rdzenia, zewnętrznego pierścienia włóknistego oraz dużej liczby komórek zapalnych, m.in. makrofagów. Pierścień włóknisty tworzy w głównej mierze macierz zewnątrzkomórkową rozpostartą między komórkami mięśni gładkich. Elementami składowymi pierścienia jest kolagen, głównie typu I i III, w mniejszej ilości typu IV, V, VI oraz elastyna. W prawidłowych warunkach procesy tworzenia i niszczenia białek ECM są zrównoważone, pierścień włóknisty ochrania światło naczynia przed ekspozycją na materiał trombogeny. Nadmierne uwalnianie i aktywacja MMP przez makrofagi i komórki mięśni gładkich prowadzi do zniszczenia struktury ECM naczyń, co zostało potwierdzone przez kolokalizację MMPs z obszarami degradacji ECM w zmianach aterosklerotycznych [67].

W obrębie aktywnych blaszek miażdżycowych wykazano zwiększoną obecność metaloproteinaz. Na podstawie analizy materiałów histopatologicznych uzyskanych ze zmian miażdżycowych zaobserwowano, że MMP-1, MMP-2, MMP-3, MMP-8, MMP-9, MMP-11, MMP-12, MMP-13, MMP-14, MMP-16 są szeroko rozpowszechnione we wszystkich rodzajach blaszek miażdżycowych. W przypadku MMP-1, MMP-3, MMP-8 wykazywano ich kolokalizację ze zdegradowanym kolagenem [67], natomiast MMP-11 znajdowano w bardzo zaawansowanych blaszkach miażdżycowych [86]. Zwiększoną aktywność MMP1, MMP-8, MMP-12, MMP-13, MMP-16 obserwowano w zmienionych zapalnie, bogatych w lipidy zmianach aterosklerotycznych [44,66] w porównaniu ze zmianami o typie włóknistym [67]. Z kolei MMP-7 i MMP-12 były wykrywane na granicy między rdzeniem lipidowym a bogatymi w makrofagi zmianami brzeżnymi („shoulder regions”) [31], co można powiązać z wpływem tych metaloproteinaz na niestabilność blaszki miażdżycowej.

Jako główne źródło MMPs w blaszkach miażdżycowych uważa się makrofagi [67] oraz powstałe z nich komórki piankowe [12]. Aktywacja makrofagów przez cytokiny prozapalne powoduje znaczący wzrost ekspresji i uwalnianie MMPs, głównie MMP-1, MMP-2, MMP-9, MMP-12 i MMP-13, co prowadzi do degradacji ECM. Wyjątkiem od tej reguły jest IFN- γ , związany z działaniem prozapalnym limfocytów Th1, który wpływa na zmniejszenie wydzielania MMPs [67].

W blaszkach miażdżycowych były również wykrywane TIMP 1-3, przy czym wg różnych źródeł poziom ekspresji TIMP-1 w blaszkach miażdżycowych był podwyższony [62] lub niezmienny [2]. Obecność TIMPs obserwowana była zwłaszcza w miejscach zwapnienia ściany naczyń krwionośnych [69]. Uważa się, że tego typu zmiany patomorfologiczne (zwapnienia) w naczyniach mogą stanowić naturalny efekt zahamowania procesu przebudowy naczynia wskutek przewagi aktywności TIMP nad MMPs [56]. Ponadto

wykonane przez Schmidta i wsp. badania immunohistochemiczne blaszek miażdżycowych naczyń wieńcowych wskazały na związek między liczbą komórek wykazujących ekspresję MMP-9 w powiązaniu z wewnątrznaczyniowym występowaniem *Chlamydia pneumoniae* [85], co może sugerować wpływ czynników infekcyjnych na ekspresję MMP-9 w patogenezie miażdżycy.

Naciek z makrofagów i zwiększona ekspresja MMP-9 są markerami blaszki miażdżycowej wysokiego ryzyka i silnymi wskaźnikami jej niestabilności [56]. Zaobserwowano również, że stężenia MMP-1 i MMP-12 są znacząco podwyższone w blaszkach miażdżycowych tętnic szyjnych u chorych z niestabilną miażdżycą w porównaniu z osobami ze stabilną postacią choroby [4]. Jakościowy skład blaszek miażdżycowych ulega zmianom z wiekiem: zawartość komórek mięśni gładkich i MMP-2 maleje, natomiast wzrasta odsetek makrofagów oraz MMP-9 [44].

Potwierdzenie istotnej funkcji MMPs w powstawaniu zmian miażdżycowych naczyń przyniosły badania z wykorzystaniem transgenicznych myszy. Zwierzęta pozbawione apolipoproteiny E spontanicznie rozwijające miażdżycę skrzyżowano z osobnikami z wyciszoną ekspresją genu MMP-9. Badania te wykazały, że mimo zwiększonej podaży cholesterolu w pokarmie u potomków skrzyżowanych myszy transgenicznych (pozbawionych MMP-9 i apoE) zaobserwowano znacznie mniej zmian miażdżycowych w naczyniach oraz osłabioną degradację włókien elastyny w błonie środkowej naczyń [58]. Podobnego rezultatu nie uzyskano w przypadku badań nad zwierzętami pozbawionymi genu MMP-12 [40]. Uzyskane wyniki sugerują, że w obecności podwyższonego stężenia cholesterolu MMP-9 pełni jedną z głównych ról w powstawaniu blaszki miażdżycowej i jej przebudowie, choć funkcja innych MMPs wydaje się również bardzo istotna. Genetycznie uwarunkowany spadek ilości i aktywności MMP-3 u zwierząt pozbawionych genu dla ApoE powodował zwiększoną ilość kolagenu w blaszce miażdżycowej, powodując wzrost jej stabilności, nie wpływał jednak na zahamowanie jej wzrostu [88]. Podobny efekt zaobserwowano u zwierząt pozbawionych ekspresji genów dla ApoE i MMP-13 [21].

Mechanizmy odpowiedzialne za aktywację MMPs w blaszkach miażdżycowych nie zostały w pełni poznane. Sugeruje się udział wielu komórkowych i surowicznych enzymów proteolitycznych oraz samych MMPs (jak w przypadku opisanej wyżej MMP-2) w ich lokalnej aktywacji [66]. Aktywację MMPs przez proteazy serynowe typu trypsyny czy pochodzących z komórek tucznych chymazy i tryptazy wykazywano w warunkach *in vitro* [50], sugerując prawdopodobną aktywację MMPs przez proteazy komórek tucznych *in vivo* [41]. W warunkach *in vitro* proteazy serynowe – trombina [47], czy czynnik krzepnięcia Xa [74] aktywują MMP-2. Kalikreina tkankowa uaktywnia MMP-9, podczas gdy plazmina aktywuje MMP-1, MMP-3, MMP-7, MMP-9, MMP-10 i MMP-13 [53]. Wyłączenie ekspresji genu plazminogenu w eksperymentach na zwierzętach hamuje zależną od MMP-9 degradację elastyny, co potwierdza rolę plazminy w aktywacji MMPs, również w warunkach *in vivo* [13].

Istotną rolę, zwłaszcza w początkowym okresie aktywacji MMPs, wydają się pełnić reaktywne formy tlenu oraz azotu pochodzące z komórek piankowatych bezpośrednio

aktywujące MMPs [24,73] lub lizosomalne katepsyny i inne enzymy proteolityczne uwolnione po śmierci i rozpadzie komórek piankowatych [73]. W makrofagach płytki miażdżycowej obserwowano również wewnątrzkomórkową aktywację MT1-MMP z udziałem konwertazy – furyny [92].

MMPs odgrywają główną rolę w procesie destabilizacji i oderwania się płytki miażdżycowej. W wielu badaniach wykazywano immunocytochemiczną lokalizację MMPs w brzeźnych regionach płytki szczególnie podatnych na destrukcję, jak również kolokalizację MMPs ze zdegradowanym kolagenem [12,66]. MMP-9 wydaje się enzymem najbardziej związanym z niestabilnością płytki. Genetyczna nadekspresja MMP-9 w doświadczalnych modelach mysich powodowała zwiększone krwawienia wewnątrz płytki z następczym jej oderwaniem [12,34], a potwierdzeniem roli MMP-9 w tym procesie jest obserwacja zwiększonej syntezy MMP-9 w zmianach miażdżycowych izolowanych od pacjentów z ostrymi zespołami wieńcowymi w porównaniu ze zmianami od pacjentów ze stabilną postacią choroby [11].

W skomplikowanym procesie powstawania zmian miażdżycowych naczyń metaloproteiny prawdopodobnie odgrywają znaczącą rolę na wielu jego etapach. Biorą udział w inicjacji arteriosklerozy poprzez ułatwienie migracji różnego typu komórek (mięśni gładkich, monocytów, makrofagów) do potencjalnego miejsca powstania zmiany, a także przyczyniają się do jego wytworzenia przez przebudowę ściany naczynia oraz destabilizacji i rozpadu blaszki miażdżycowej, co wiąże się z poważnymi następstwami klinicznymi pod postacią zawału mięśnia sercowego czy udaru. Dlatego też prowadzone są próby wykorzystania poszczególnych MMPs jako czynników prognostycznych oraz zastosowania różnego typu inhibitorów MMP w zapobieganiu i leczeniu miażdżycy naczyń.

ZNACZENIE KLINICZNE MMPs W MIAŻDŻYCY NACZYŃ

Wiele ostatnio publikowanych danych sugeruje możliwość wykorzystania krążących we krwi MMPs jako czynnika prognostycznego przebiegu chorób sercowo-naczyniowych, zwłaszcza ryzyka zawału mięśnia sercowego. Jednak MMPs stają się same potencjalnym celem terapii.

Badania *in vivo* wykazały, że poziom MMPs w surowicy może być związany w sposób istotny z ostrymi zespołami wieńcowymi. Zwiększoną aktywność MMPs wykazywano wielokrotnie w związku z progresją niewydolności mięśnia sercowego [91]. Blankenberg i wsp. odnotowali związek między stężeniem MMP-9 w surowicy a 4-letnim ryzykiem wystąpienia zgonu w przebiegu epizodu ostrego zespołu wieńcowego wśród 1127 osób z rozpoznaną chorobą wieńcową [8]. W innych badaniach podwyższoną zawartość MMP-9 w surowicy pacjentów obserwowano już 6 miesięcy przed wystąpieniem zawału mięśnia sercowego [22]. Podwyższone stężenie i aktywność MMP-2 oraz MMP-9 wykryto we krwi pacjentów z ostrą chorobą wieńcową w porównaniu z niewielkim podwyższeniem stężenia i aktywności tych enzymów u pacjentów ze stabilną postacią choroby, co wiązano z niestabilnością płytki miażdżycowej i potencjalnym znaczeniem prognostycznym oderwania się płytki. Zwiększone stężenie MMP-9 korelowało z wartościami białka C-reaktywnego (CRP) w surowicy badanych pacjentów [104], a według niektórych danych

znacznie przewyższało wartość diagnostyczną tego parametru czy też troponiny [8]. Czynnikiem prognostycznym ryzyka pojawienia się ostrych objawów wieńcowych może być również zwiększone stężenie MMP-3 w surowicy [100]. Podwyższone stężenie MMP-9 obserwowano także we krwi pacjentów z miażdżycowym zwężeniem tętnic obwodowych, zwłaszcza w przypadku występowania objawów niedokrwienia [94] oraz z nefropatią cukrzycową. W tym ostatnim przypadku stwierdzono podwyższoną zawartość MMP-8, MMP-9 i MMP-14 w moczu, natomiast zwiększone stężenie MMP-9 w surowicy było czynnikiem wskazującym na możliwość pojawienia się mikroalbuminurii [49].

W związku z rozpowszechnieniem miażdżycy naczyń krwionośnych podejmowano liczne próby farmakologicznego oddziaływania na metabolizm MMPs. Dotyczą one zarówno wykorzystania w tym celu już istniejących leków, lecz stosowanych z innych wskazań (np. doksycyklina) lub wykazujących działanie dodatkowe, „uboczne”, do pierwotnego (np. statyny), a także nowego typu substancji, których zasadniczym celem jest hamowanie ekspresji lub aktywności MMPs.

Wiele inhibitorów reduktazy HMG-CoA (statyn) hamuje wytwarzanie MMP-1, MMP-2, MMP-3, MMP-9 komórek piankowatych w warunkach *in vivo* w modelach zwierzęcych miażdżycy [2,6,57]. Mechanizm działania statyn jest umiejscowiony na poziomie szlaków biochemicznych indukujących transkrypcję MMP i polega na hamowaniu prenylacji białek [6,57]. Hamowanie sekrecji wielu MMPs obserwowano po zastosowaniu cerivastatyny, simvastatyny i lewostatyny [57], fluvastatyna wpływała prewencyjnie na przerost warstwy wewnętrznej naczyń poprzez hamowanie proliferacji i zmiany fenotypu komórek mięśni gładkich [77], inne statyny hamowały proliferację makrofagów w warunkach doświadczalnych [87], pravastatyna natomiast obniżała liczbę makrofagów w zmianach miażdżycowych w badaniach immunohistochemicznych u małp, wpływając na większą stabilność płytki, niezależnie od stężenia lipoprotein we krwi [99]. Wykazano też, że leczenie atorvastatyną znacząco obniża stężenie MMP-9 oraz cytokin prozapalnych w surowicy pacjentów z niestabilną chorobą wieńcową [95].

Interesujące dane pojawiły się na temat wpływu niektórych nowych leków przeciwcukrzycowych na ekspresję MMP-9. Szczególne zainteresowanie dotyczy ligandów receptora PPAR (peroxisome proliferator-activated receptor). Leczenie pacjentów z cukrzycą za pomocą ligandu PPARγ (rosiglitazone) obniżało stężenie MMP-9 w ciągu dwóch tygodni terapii [61]. Zastosowanie Gliclazide redukowało ekspresję MMP-9 indukowaną przez utlenione LDL w komórkach endothelium w warunkach *in vitro* [52]. Użycie innej tego typu substancji – Pioglitazone powodowało obniżenie stężenia MMP-9 u pacjentów z chorobą wieńcową w porównaniu z grupą pacjentów otrzymujących placebo

[23]. Podobnie blokery receptora angiotensyny II, a także inhibitory enzymu konwertującego redukowały stężenie MMP-9 we krwi pacjentów ze stabilną chorobą wieńcową [84]. Te ostatnie (Captopril) działały tak samo u pacjentów z zawałem mięśnia sercowego [101]. Z kolei pochodne tetracyklin (doksycyklina) wydają się użyteczne w hamowaniu procesu powstawania tętniaków aorty [72].

Wykazano również, że powszechnie stosowana heparyna hamuje ekspresję MMP-9 w komórkach mięśni gładkich w warunkach *in vitro* [42], natomiast podawanie niskocząsteczkowych heparyn związane jest z obniżeniem surowiczego stężenia MMP-9 u pacjentów [29].

Niektóre rodzaje nowoczesnych typów terapii chorób naczyniowych nie wyszły, jak dotychczas, poza fazę doświadczalną. Należą tu m.in. próby stosowania przeciwciał neutralizujących MMPs, czy też szeroko rozumiana terapia genowa [12].

Nowego typu syntetyczne, małowcząsteczkowe inhibitory MMPs testowane są głównie na poziomie badań przedklinicznych. Zasadniczą „wadą” tego typu substancji jest to, że są one inhibitorami MMPs o szerokim zakresie, a ich stopień swoistości w stosunku do poszczególnych MMPs jest raczej niski. Mechanizm działania większości tego typu związków polega na chelatowaniu jonów Zn i wiązania się w miejscu aktywnym enzymu, co w znacznym stopniu ogranicza ich selektywność, a przyczynia się do występowania wielu działań niepożądanych, co z kolei w znacznym stopniu ogranicza ich kliniczne zastosowanie [35].

PODSUMOWANIE

Biorąc pod uwagę to, że miażdżycy naczyń krwionośnych i jej powikłania są wiodącą przyczyną zgonów w większości krajów, metabolizm i rola MMPs w tych chorobach stały się obiektem badań i celem potencjalnej terapii. O ile funkcja metaloproteinaz w procesie patogenetycznym miażdżycy wydaje się w znacznym stopniu poznana, o tyle skuteczna terapia skierowana przeciwko MMP napotyka trudności. Obiecujące są nieswoiste działania szeroko stosowanych leków z innych wskazań, np. statyn, jednakże swoista terapia skierowana przeciwko poszczególnym MMPs właściwie nie istnieje. Pewne znaczenie diagnostyczne wydaje się mieć oznaczanie niektórych MMPs w surowicy, głównie MMP-9, w chorobach układu sercowo-naczyniowego spowodowanych miażdżycą naczyń, wymaga to jednak dalszych, szeroko zakrojonych badań w większych grupach chorych. Tym niemniej, metaloproteinazy macierzy zewnątrzkomórkowej stały się znaczącym celem potencjalnej terapii miażdżycy naczyń, a specyficzne związki chemiczne wpływające na metabolizm MMPs mogą stanowić rozwiązanie problemu pęknięcia blaszki miażdżycowej i jej następstw klinicznych w przyszłości.

PIŚMIENICTWO

[1] Abilleira S., Bevan S., Markus H.S.: The role of genetic variants of matrix metalloproteinases in coronary and carotid atherosclerosis. *J. Med. Genet.*, 2006; 43: 897–901

[2] Aikawa M., Rabkin E., Sugiyama S., Voglic S.J., Fukumoto Y., Furukawa Y., Shiomi M., Schoen F.J., Libby P.: An HMG-CoA reductase inhibitor, cerivastatin, suppresses growth of macrophages expressing matrix metalloproteinases and tissue factor *in vivo* and *in vitro*. *Circulation*, 2001; 103: 276–283

- [3] Amorino G.P., Hoover R.L.: Interactions of monocytic cells with human endothelial cells stimulate monocytic metalloproteinase production. *Am. J. Pathol.*, 1998; 152: 199–207
- [4] Arakaki P.A., Marques M.R., Santos M.C.: MMP-1 polymorphism and its relationship to pathological processes. *J. Biosci.*, 2009; 34: 313–320
- [5] Bassiouny H.S., Song R.H., Hong X.F., Singh A., Kocharyan H., Glagov S.: Flow regulation of 72-kD collagenase IV (MMP-2) after experimental arterial injury. *Circulation*, 1998; 98: 157–163
- [6] Bellosta S., Via D., Canavesi M., Pfister P., Fumagalli R., Paoletti R., Bernini F.: HMG-CoA reductase inhibitors reduce MMP-9 secretion by macrophages. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, 1998; 18: 1671–1678
- [7] Beyzade S., Zhang S., Wong Y.K., Day I.N., Eriksson P., Ye S.: Influences of matrix metalloproteinase-3 gene variation on extent of coronary atherosclerosis and risk of myocardial infarction. *J. Am. Coll. Cardiol.*, 2003; 41: 2130–2137
- [8] Blankenberg S., Rupprecht H.J., Poirier O., Bickel C., Smieja M., Hafner G., Meyer J., Cambien F., Tiret L., AtheroGene Investigators: Plasma concentrations and genetic variation of matrix metalloproteinase 9 and prognosis of patients with cardiovascular disease. *Circulation*, 2003; 107: 1579–1585
- [9] Bode W., Reinemer P., Huber R., Kleine T., Schnierer S., Tschesche H.: The X-ray crystal structure of the catalytic domain of human neutrophil collagenase inhibited by a substrate analogue reveals the essentials for catalysis and specificity. *EMBO J.*, 1994; 13: 1263–1269
- [10] Brew K., Dinakarandian D., Nagase H.: Tissue inhibitors of metalloproteinases: evolution, structure and function. *Biochim. Biophys. Acta*, 2000; 1477: 267–283
- [11] Brown D.L., Hibbs M.S., Kearney M., Isner J.M.: Differential expression of 92-kDa gelatinase in primary atherosclerotic versus restenotic coronary lesions. *Am. J. Cardiol.*, 1997; 79: 878–882
- [12] Busti C., Falcinelli E., Momi S., Gresele P.: Matrix metalloproteinases and peripheral arterial disease. *Intern. Emerg. Med.*, 2010; 5: 13–25
- [13] Carmeliet P., Moons L., Ploplis V., Plow E., Collen D.: Impaired arterial neointima formation in mice with disruption of the plasminogen gene. *J. Clin. Invest.*, 1997; 99: 200–208
- [14] Chesler N.C., Ku D.N., Galis Z.S.: Transmural pressure induces matrix-degrading activity in porcine arteries *ex vivo*. *Am. J. Physiol.*, 1999; 277: H2002–H2009
- [15] Cho A., Reidy M.A.: Matrix metalloproteinase-9 is necessary for the regulation of smooth muscle cell replication and migration after arterial injury. *Circ. Res.*, 2002; 91: 845–851
- [16] Cho H.J., Chae I.H., Park K.W., Ju J.R., Oh S., Lee M.M., Park Y.B.: Functional polymorphism in the promoter region of the gelatinase B gene in relation to coronary artery disease and restenosis after percutaneous coronary intervention. *J. Hum. Genet.*, 2002; 47: 88–91
- [17] Clark I.M., Swingler T.E., Sampieri C.L., Edwards D.R.: The regulation of matrix metalloproteinases and their inhibitors. *Int. J. Biochem. Cell Biol.*, 2008; 40: 1362–1378
- [18] Corcoran M.L., Stetler-Stevenson W.G., Brown P.D., Wahl L.M.: Interleukin 4 inhibition of prostaglandin E2 synthesis blocks interstitial collagenase and 92-kDa type IV collagenase/gelatinase production by human monocytes. *J. Biol. Chem.*, 1992; 267: 515–519
- [19] Cuzner M.L., Gveric D., Strand C., Loughlin A.J., Paemen L., Opendakker G., Newcombe J.: The expression of tissue-type plasminogen activator, matrix metalloproteinases and endogenous inhibitors in the central nervous system in multiple sclerosis: comparison of stages in lesion evolution. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.*, 1996; 55: 1194–1204
- [20] Dean R.A., Cox J.H., Bellac C.L., Doucet A., Starr A.E., Overall C.M.: Macrophage-specific metalloelastase (MMP-12) truncates and inactivates ELR+ CXC chemokines and generates CCL2, -7, -8, and -13 antagonists: potential role of the macrophage in terminating polymorphonuclear leukocyte influx. *Blood*, 2008; 112: 3455–3464
- [21] Deguchi J.O., Aikawa E., Libby P., Vachon J.R., Inada M., Krane S.M., Whittaker P., Aikawa M.: Matrix metalloproteinase-13/collagenase-3 deletion promotes collagen accumulation and organization in mouse atherosclerotic plaques. *Circulation*, 2005; 112: 2708–2715
- [22] Ferroni P., Basili S., Martini F., Cardarelli C.M., Ceci F., Di Franco M., Bertazzoni G., Gazzaniga P.P., Alessandri C.: Serum metalloproteinase 9 levels in patients with coronary artery disease: a novel marker of inflammation. *J. Investig. Med.*, 2003; 51: 295–300
- [23] Forst T., Karagiannis E., Lübbers G., Hohberg C., Schöndorf T., Dikta G., Drexler M., Morcos M., Dänschel W., Borchert M., Pfützner A.: Pleiotropic and anti-inflammatory effects of pioglitazone precede the metabolic activity in type 2 diabetic patients with coronary artery disease. *Atherosclerosis*, 2008; 197: 311–317
- [24] Galis Z.S., Asanuma K., Godin D., Meng X.: N-acetyl-cysteine decreases the matrix-degrading capacity of macrophage-derived foam cells: new target for antioxidant therapy? *Circulation*, 1998; 97: 2445–2453
- [25] Galis Z.S., Johnson C., Godin D., Magid R., Shipley J.M., Senior R.M., Ivan E.: Targeted disruption of the matrix metalloproteinase-9 gene impairs smooth muscle cell migration and geometrical arterial remodeling. *Circ. Res.*, 2002; 91: 852–859
- [26] Galt S.W., Lindemann S., Medd D., Allen L.L., Kraiss L.W., Harris E.S., Prescott S.M., McIntyre T.M., Weyrich A.S., Zimmerman G.A.: Differential regulation of matrix metalloproteinase-9 by monocytes adherent to collagen and platelets. *Circ. Res.*, 2001; 89: 509–516
- [27] Ghilardi G., Biondi M.L., DeMonti M., Turri O., Guagnellini E., Scorza R.: Matrix metalloproteinase-1 and matrix metalloproteinase-3 gene promoter polymorphisms are associated with carotid artery stenosis. *Stroke*, 2002; 33: 2408–2412
- [28] Groblewska M., Mroczko B., Szmítowski M.: Rola wybranych metaloproteinaz i ich inhibitorów w rozwoju raka jelita grubego. *Postępy Hig. Med. Dośw.*, 2010; 64: 22–30
- [29] Grzela T., Brawura-Biskupski-Samaha R., Jelenska M.M., Szmít J.: Low molecular weight heparin treatment decreases MMP-9 plasma activity in patients with abdominal aortic aneurysm. *Eur. J. Vasc. Endovasc. Surg.*, 2008; 35: 159–161
- [30] Gu Z., Kaul M., Yan B., Kridel S.J., Cui J., Strongin A., Smith J.W., Liddington R.C., Lipton S.A.: S-nitrosylation of matrix metalloproteinases: signaling pathway to neuronal cell death. *Science*, 2002; 297: 1186–1190
- [31] Halpert I., Sires U.I., Roby J.D., Potter-Perigo S., Wight T.N., Shapiro S.D., Welgus H.G., Wickline S.A., Parks W.C.: Matrilysin is expressed by lipid-laden macrophages at sites of potential rupture in atherosclerotic lesions and localizes to areas of versican deposition, a proteoglycan substrate for the enzyme. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1996; 93: 9748–9753
- [32] Hansson G.K., Libby P.: The immune response in atherosclerosis: a double-edged sword. *Nat. Rev. Immunol.*, 2006; 6: 508–519
- [33] Hartung H.P., Kieser B.C.: The role of matrix metalloproteinases in autoimmune damage to the central and peripheral nervous system. *J. Neuroimmunol.*, 2000; 107: 140–147
- [34] Hobeika M.J., Thompson R.W., Muhs B.E., Brooks P.C., Gagne P.J.: Matrix metalloproteinases in peripheral vascular disease. *J. Vasc. Surg.*, 2007; 45: 849–857
- [35] Hu J., Van den Steen P.E., Sang Q.X., Opendakker G.: Matrix metalloproteinase inhibitors as therapy for inflammatory and vascular diseases. *Nat. Rev. Drug Discov.*, 2007; 6: 480–498
- [36] Humphries S., Bauters C., Meirhaeghe A., Luong L., Bertrand M., Amouyel P.: The 5A6A polymorphism in the promoter of the stromelysin-1 (MMP3) gene as a risk factor for restenosis. *Eur. Heart J.*, 2002; 23: 721–725
- [37] Humphries S.E., Luong L.A., Talmud P.J., Frick M.H., Kesäniemi Y.A., Pasternack A., Taskinen M.R., Syyänne M.: The 5A/6A polymorphism in the promoter of the stromelysin-1 (MMP-3) gene predicts progression of angiographically determined coronary artery disease in men in the LOCAT gemfibrozil study. *Lipid Coronary Angiography Trial. Atherosclerosis*, 1998; 139: 49–56
- [38] Isnard N., Legeais J.M., Renard G., Robert L.: Effect of hyaluronan on MMP expression and activation. *Cell Biol. Int.*, 2001; 25: 735–739
- [39] Jawieñ J.: New insights into immunological aspects of atherosclerosis. *Pol. Arch. Med. Wewn.*, 2008; 118: 127–131
- [40] Johnson J.L., George S.J., Newby A.C., Jackson C.L.: Divergent effects of matrix metalloproteinases 3, 7, 9, and 12 on atherosclerotic plaque stability in mouse brachiocephalic arteries. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2005; 102: 15575–15580
- [41] Johnson J.L., Jackson C.L., Angelini G.D., George S.J.: Activation of matrix-degrading metalloproteinases by mast cell proteases in atherosclerotic plaques. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, 1998; 18: 1707–1715
- [42] Kenagy R.D., Nikkari S.T., Welgus H.G., Clowes A.W.: Heparin inhibits the induction of three matrix metalloproteinases (stromelysin, 92-kD gelatinase, and collagenase) in primate arterial smooth muscle cells. *J. Clin. Invest.*, 1994; 93: 1987–1993
- [43] Kunz J.: Initial lesions of vascular aging disease (arteriosclerosis). *Gerontology*, 2000; 46: 295–299
- [44] Kunz J.: Matrix metalloproteinases and atherogenesis in dependence of age. *Gerontology*, 2007; 53: 63–73
- [45] Kupai K., Szucs G., Cseh S., Hajdu I., Csonka C., Csont T., Ferdinandy P.: Matrix metalloproteinase activity assays: Importance of zymography. *J. Pharmacol. Toxicol. Methods*, 2010; 61: 205–209

- [46] Lacraz S., Nicod L., Galve-de Rochemonteix B., Baumberger C., Dayer J.M., Welgus H.G.: Suppression of metalloproteinase biosynthesis in human alveolar macrophages by interleukin-4. *J. Clin. Invest.*, 1992; 90: 382–388
- [47] Lafleur M.A., Hollenberg M.D., Atkinson S.J., Knäuper V., Murphy G., Edwards D.R.: Activation of pro-(matrix metalloproteinase-2) (pro-MMP-2) by thrombin is membrane-type-MMP-dependent in human umbilical vein endothelial cells and generates a distinct 63 kDa active species. *Biochem. J.*, 2001; 357: 107–115
- [48] Lambert E., Dassé E., Haye B., Petitfrere E.: TIMPs as multifacial proteins. *Crit. Rev. Oncol. Hematol.*, 2004; 49: 187–198
- [49] Lauhio A., Sorsa T., Srinivas R., Stenman M., Tervahartiala T., Stenman U.H., Grönholm-Riska C., Honkanen E.: Urinary matrix metalloproteinase -8, -9, -14 and their regulators (TRY-1, TRY-2, TATI) in patients with diabetic nephropathy. *Ann. Med.*, 2008; 40: 312–320
- [50] Lees M., Taylor D.J., Woolley D.E.: Mast cell proteinases activate precursor forms of collagenase and stromelysin, but not of gelatinases A and B. *Eur. J. Biochem.*, 1994; 223: 171–177
- [51] Li L., Akers K., Eisen A.Z., Seltzer J.L.: Activation of gelatinase A (72-kDa type IV collagenase) induced by monensin in normal human fibroblasts. *Exp. Cell Res.*, 1997; 232: 322–330
- [52] Li L., Renier G.: The oral anti-diabetic agent, gliclazide, inhibits oxidized LDL-mediated LOX-1 expression, metalloproteinase-9 secretion and apoptosis in human aortic endothelial cells. *Atherosclerosis*, 2009; 204: 40–46
- [53] Lijnen H.R.: Plasmin and matrix metalloproteinases in vascular remodeling. *Thromb. Haemost.*, 2001; 86: 324–333
- [54] Lijnen H.R., Van Hoef B., Vanlindhout I., Verstrecken M., Rio M.C., Collen D.: Accelerated neointima formation after vascular injury in mice with stromelysin-3 (MMP-11) gene inactivation. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, 1999; 19: 2863–2870
- [55] Lipka D., Boratyński J.: Metalloproteinazy MMP. Struktura i funkcja. *Postępy Hig. Med. Dośw.*, 2008; 62: 328–336
- [56] Liu P., Sun M., Sader S.: Matrix metalloproteinases in cardiovascular disease. *Can. J. Cardiol.*, 2006; 22(Suppl.B): 25B–30B
- [57] Luan Z., Chase A.J., Newby A.C.: Statins inhibit secretion of metalloproteinases-1, -2, -3, and -9 from vascular smooth muscle cells and macrophages. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, 2003; 23: 769–775
- [58] Luttun A., Lutgens E., Manderveld A., Maris K., Collen D., Carmeliet P., Moons L.: Loss of matrix metalloproteinase-9 or matrix metalloproteinase-12 protects apolipoprotein E-deficient mice against atherosclerotic media destruction but differentially affects plaque growth. *Circulation*, 2004; 109: 1408–1414
- [59] Mallat Z., Tedgui A.: Cytokines as regulators of atherosclerosis in murine models. *Curr. Drug Targets*, 2007; 8: 1264–1272
- [60] Mangge H., Hubmann H., Pilz S., Schauenstein K., Renner W., März W.: Beyond cholesterol – inflammatory cytokines, the key mediators in atherosclerosis. *Clin. Chem. Lab. Med.*, 2004; 42: 467–474
- [61] Marx N., Froehlich J., Siam L., Ittner J., Wierse G., Schmidt A., Scharnagl H., Hombach V., Koenig W.: Antidiabetic PPAR- γ activator rosiglitazone reduces MMP-9 serum levels in type 2 diabetic patients with coronary artery disease. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, 2003; 23: 283–288
- [62] Marx N., Sukhova G., Murphy C., Libby P., Plutzky J.: Macrophages in human atheroma contain PPAR γ : differentiation-dependent peroxisomal proliferator-activated receptor gamma (PPAR γ) expression and reduction of MMP-9 activity through PPAR γ activation in mononuclear phagocytes *in vitro*. *Am. J. Pathol.*, 1998; 153: 17–23
- [63] Matias-Román S., Gálvez B.G., Genis L., Yáñez-Mó M., de la Rosa G., Sánchez-Mateos P., Sánchez-Madrid F., Arroyo A.G.: Membrane type 1-matrix metalloproteinase is involved in migration of human monocytes and is regulated through their interaction with fibronectin or endothelium. *Blood*, 2005; 105: 3956–3964
- [64] Morgan A.R., Zhang B., Tapper W., Collins A., Ye S.: Haplotypic analysis of the MMP-9 gene in relation to coronary artery disease. *J. Mol. Med.*, 2003; 81: 321–326
- [65] Nagase H., Visse R., Murphy G.: Structure and function of matrix metalloproteinases and TIMPs. *Cardiovasc. Res.*, 2006; 69: 562–573
- [66] Newby A.C.: Dual role of matrix metalloproteinases (matrixins) in intimal thickening and atherosclerotic plaque rupture. *Physiol. Rev.*, 2005; 85: 1–31
- [67] Newby A.C.: Metalloproteinase expression in monocytes and macrophages and its relationship to atherosclerotic plaque instability. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, 2008; 28: 2108–2114
- [68] Niedzwiedzka-Rystwep P., Mękal A., Deptuła W.: Komórki układu odpornościowego w miażdżycy – wybrane dane. *Postępy Hig. Med. Dośw.*, 2010; 64: 417–422
- [69] Orbe J., Fernandez L., Rodriguez J.A., Rábago G., Belzunce M., Monasterio A., Roncal C., Páramo J.A.: Different expression of MMPs/TIMP-1 in human atherosclerotic lesions. Relation to plaque features and vascular bed. *Atherosclerosis*, 2003; 170: 269–276
- [70] Peeters W., Hellings W.E., de Kleijn D.P., de Vries J.P., Moll F.L., Vink A., Pasterkamp G.: Carotid atherosclerotic plaques stabilize after stroke: insights into the natural process of atherosclerotic plaque stabilization. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, 2009; 29: 128–133
- [71] Peppin G.J., Weiss S.J.: Activation of the endogenous metalloproteinase, gelatinase, by triggered human neutrophils. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1986; 83: 4322–4326
- [72] Prall A.K., Longo G.M., Mayhan W.G., Waltke E.A., Fleckten B., Thompson R.W., Baxter B.T.: Doxycycline in patients with abdominal aortic aneurysms and in mice: comparison of serum levels and effect on aneurysm growth in mice. *J. Vasc. Surg.*, 2002; 35: 923–929
- [73] Rajagopalan S., Meng X.P., Ramasamy S., Harrison D.G., Galis Z.S.: Reactive oxygen species produced by macrophage-derived foam cells regulate the activity of vascular matrix metalloproteinases *in vitro*. Implications for atherosclerotic plaque stability. *J. Clin. Invest.*, 1996; 98: 2572–2579
- [74] Rauch B.H., Bretschneider E., Braun M., Schrör K.: Factor Xa releases matrix metalloproteinase-2 (MMP-2) from human vascular smooth muscle cells and stimulates the conversion of pro-MMP-2 to MMP-2: role of MMP-2 in factor Xa-induced DNA synthesis and matrix invasion. *Circ. Res.*, 2002; 90: 1122–1127
- [75] Rodriguez-Feo J.A., Sluijter J.P., de Kleijn D.P., Pasterkamp G.: Modulation of collagen turnover in cardiovascular disease. *Curr. Pharm. Des.*, 2005; 11: 2501–2514
- [76] Ross R.: Atherosclerosis - an inflammatory disease. *N. Engl. J. Med.*, 1999; 340: 115–126
- [77] Sakamoto K., Murata T., Chuma H., Hori M., Ozaki H.: Fluvastatin prevents vascular hyperplasia by inhibiting phenotype modulation and proliferation through extracellular signal-regulated kinase 1 and 2 and p38 mitogen-activated protein kinase inactivation in organ-cultured artery. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, 2005; 25: 327–333
- [78] Salowe S.P., Marcy A.L., Cuca G.C., Smith C.K., Kopka I.E., Haggmann W.K., Hermes J.D.: Characterization of zinc-binding sites in human stromelysin-1: stoichiometry of the catalytic domain and identification of a cysteine ligand in the proenzyme. *Biochemistry*, 1992; 31: 4535–4540
- [79] Samnegard A., Silveira A., Lundman P., Boquist S., Odeberg J., Hulthe J., McPheat W., Tornvall P., Bergstrand L., Ericsson C.G., Hamsten A., Eriksson P.: Serum matrix metalloproteinase-3 concentration is influenced by MMP-3 -1612 5A/6A promoter genotype and associated with myocardial infarction. *J. Intern. Med.*, 2005; 258: 411–419
- [80] Sampieri C.L., Nuttall R.K., Young D.A., Goldspink D., Clark I.M., Edwards D.R.: Activation of p38 and JNK MAPK pathways abrogates requirement for new protein synthesis for phorbol ester mediated induction of select MMP and TIMP genes. *Matrix Biol.*, 2008; 27: 128–138
- [81] Sang Q.X., Birkedal-Hansen H., Van Wart H.E.: Proteolytic and non-proteolytic activation of human neutrophil progelatinase B. *Biochim. Biophys. Acta*, 1995; 1251: 99–108
- [82] Sariahmetoglu M., Crawford B.D., Leon H., Sawicka J., Li L., Ballermann B.J., Holmes C., Berthiaume L.G., Holt A., Sawicki G., Schulz R.: Regulation of matrix metalloproteinase-2 (MMP-2) activity by phosphorylation. *FASEB J.*, 2007; 21: 2486–2495
- [83] Sato H., Takino T., Okada Y., Cao J., Shinagawa A., Yamamoto E., Seiki M.: A matrix metalloproteinase expressed on the surface of invasive tumour cells. *Nature*, 1994; 370: 61–65
- [84] Schieffer B., Bunte C., Witte J., Hoepfer K., Böger R.H., Schwedhelm E., Drexler H.: Comparative effects of AT1-antagonism and angiotensin-converting enzyme inhibition on markers of inflammation and platelet aggregation in patients with coronary artery disease. *J. Am. Coll. Cardiol.*, 2004; 44: 362–368
- [85] Schmidt R., Redecke V., Breitfeld Y., Wantia N., Miethke T., Massberg S., Fischel S., Neumann F.J., Schömig A., May A.E.: EMMPRIN (CD 147) is a central activator of extracellular matrix degradation by Chlamydia pneumoniae-infected monocytes. Implications for plaque rupture. *Thromb. Haemost.*, 2006; 95: 151–158
- [86] Schönbeck U., Mach F., Sukhova G.K., Atkinson E., Levesque E., Herman M., Graber P., Basset P., Libby P.: Expression of stromelysin-3 in atherosclerotic lesions: regulation via CD40-CD40 ligand signaling *in vitro* and *in vivo*. *J. Exp. Med.*, 1999; 189: 843–853

- [87] Senokuchi T., Matsumura T., Sakai M., Yano M., Taguchi T., Matsuo T., Sonoda K., Kuki dome D., Imoto K., Nishikawa T., Kim-Mitsuyama S., Takuwa Y., Araki E.: Statins suppress oxidized low density lipoprotein-induced macrophage proliferation by inactivation of the small G protein-p38 MAPK pathway. *J. Biol. Chem.*, 2005; 280: 6627–6633
- [88] Silence J., Lupu F., Collen D., Lijnen H.R.: Persistence of atherosclerotic plaque but reduced aneurysm formation in mice with stromelysin-1 (MMP-3) gene inactivation. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, 2001; 21: 1440–1445
- [89] Sithu S.D., English W.R., Olson P., Krubasik D., Baker A.H., Murphy G., D'Souza S.E.: Membrane-type 1-matrix metalloproteinase regulates intracellular adhesion molecule-1 (ICAM-1)-mediated monocyte transmigration. *J. Biol. Chem.*, 2007; 282: 25010–25019
- [90] Spinale F.G.: Myocardial matrix remodeling and the matrix metalloproteinases: influence on cardiac form and function. *Physiol. Rev.*, 2007; 87: 1285–1342
- [91] Spinale F.G., Coker M.L., Heung L.J., Bond B.R., Gunasinghe H.R., Etoh T., Goldberg A.T., Zellner J.L., Crumbley A.J.: A matrix metalloproteinase induction/activation system exists in the human left ventricular myocardium and is upregulated in heart failure. *Circulation*, 2000; 102: 1944–1949
- [92] Stawowy P., Meyborg H., Stibenz D., Borges Pereira Stawowy N., Roser M., Thanabalasingam U., Veinot J.P., Chrétien M., Seidah N.G., Fleck E., Graf K.: Furin-like proprotein convertases are central regulators of the membrane type matrix metalloproteinase-pro-matrix metalloproteinase-2 proteolytic cascade in atherosclerosis. *Circulation*, 2005; 111: 2820–2827
- [93] Tayebjee M.H., Lip G.Y., Blann A.D., Macfadyen R.J.: Effects of age, gender, ethnicity, diurnal variation and exercise on circulating levels of matrix metalloproteinases (MMP)-2 and -9, and their inhibitors, tissue inhibitors of matrix metalloproteinases (TIMP)-1 and -2. *Thromb. Res.*, 2005; 115: 205–210
- [94] Tayebjee M.H., Tan K.T., MacFadyen R.J., Lip G.Y.: Abnormal circulating levels of metalloproteinase 9 and its tissue inhibitor 1 in angiographically proven peripheral arterial disease: relationship to disease severity. *J. Intern. Med.*, 2005; 257: 110–116
- [95] Tziakas D.N., Chalikias G.K., Parissis J.T., Hatzinikolaou E.I., Papadopoulos E.D., Tripsiannis G.A., Papadopoulou E.G., Tentas I.K., Karas S.M., Chatseras D.I.: Serum profiles of matrix metalloproteinases and their tissue inhibitor in patients with acute coronary syndromes. The effects of short-term atorvastatin administration. *Int. J. Cardiol.*, 2004; 94: 269–277
- [96] Van den Steen P.E., Opdenakker G., Wormald M.R., Dwek R.A., Rudd P.M.: Matrix remodelling enzymes, the protease cascade and glycosylation. *Biochim. Biophys. Acta*, 2001; 1528: 61–73
- [97] Visse R., Nagase H.: Matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases: structure, function, and biochemistry. *Circ. Res.*, 2003; 92: 827–839
- [98] Wang J., Warzecha D., Wilcken D., Wang X.L.: Polymorphism in the gelatinase B gene and the severity of coronary arterial stenosis. *Clin. Sci.*, 2001; 101: 87–92
- [99] Williams J.K., Sukhova G.K., Herrington D.M., Libby P.: Pravastatin has cholesterol-lowering independent effects on the artery wall of atherosclerotic monkeys. *J. Am. Coll. Cardiol.*, 1998; 31: 684–691
- [100] Wu T.C., Leu H.B., Lin W.T., Lin C.P., Lin S.J., Chen J.W.: Plasma matrix metalloproteinase-3 level is an independent prognostic factor in stable coronary artery disease. *Eur. J. Clin. Invest.*, 2005; 35: 537–545
- [101] Yamamoto D., Takai S., Miyazaki M.: Inhibitory profiles of captopril on matrix metalloproteinase-9 activity. *Eur. J. Pharmacol.*, 2008; 588: 277–279
- [102] Yan C., Boyd D.D.: Regulation of matrix metalloproteinase gene expression. *J. Cell. Physiol.*, 2007; 211: 19–26
- [103] Yu Y., Koike T., Kitajima S., Liu E., Morimoto M., Shiomi M., Hatakeyama K., Asada Y., Wang K.Y., Sasaguri Y., Watanabe T., Fan J.: Temporal and quantitative analysis of expression of metalloproteinases (MMPs) and their endogenous inhibitors in atherosclerotic lesions. *Histol. Histopathol.*, 2008; 23: 1503–1516
- [104] Zeng B., Prasan A., Fung K.C., Solanki V., Bruce D., Freedman S.B., Brieger D.: Elevated circulating levels of matrix metalloproteinase-9 and -2 in patients with symptomatic coronary artery disease. *Intern. Med. J.*, 2005; 35: 331–335
- [105] Zhang B., Ye S., Herrmann S.M., Eriksson P., de Maat M., Evans A., Arveiler D., Luc G., Cambien F., Hamsten A., Watkins H., Henney A.M.: Functional polymorphism in the regulatory region of gelatinase B gene in relation to severity of coronary atherosclerosis. *Circulation*, 1999; 99: 1788–1794

Autorzy deklarują brak potencjalnych konfliktów interesów.