

Received: 2013.01.21
Accepted: 2013.08.22
Published: 2014.01.16

Kinazy aktywowane mitogenami i ich znaczenie w patogenezie miażdżycy

Mitogen-activated protein kinases in atherosclerosis

Dorota Bryk, Wioletta Olejarz, Danuta Zapolska-Downar

Katedra Biochemii i Chemii Klinicznej Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego

Streszczenie

Wewnątrzkomórkowe kaskady sygnalizacyjne, w których pośredniczą MAPK (mitogen activated protein kinases) odpowiedzialne są za biologiczną odpowiedź komórki na bodziec zewnętrzny. Kinazy MAP, do których zaliczamy ERK1/2 (extracellular signaling-regulated kinase), JNK (c-Jun N-terminal kinase) i p38 MAPK regulują aktywność wielu białek, enzymów i czynników transkrypcyjnych i tym samym mają szeroki zakres biologicznego działania. Wiele badań z dziedziny nauk podstawowych dokładnie zdefiniowało wiele szczegółów dotyczących organizacji ich dróg sygnalizacyjnych i aktywacji. Mamy również coraz więcej badań sugerujących, że poszczególne kinazy MAP mogą odgrywać istotną rolę w patogenezie miażdżycy. Mogą one pośredniczyć w indukcji procesu zapalnego, aktywacji komórek śródbłonna, rekrutacji i aktywacji monocytów/makrofagów, proliferacji komórek mięśni gładkich i różnicowaniu limfocytów T, czyli głównych mechanizmach patogenetycznych miażdżycy. Specyficzna inhibicja aktywności poszczególnych kinaz MAP może się okazać w przyszłości nowym terapeutycznym podejściem do zahamowania formowania zmian miażdżycowych. W pracy omówiono aktualny stan wiedzy na temat zależności od kinaz MAP komórkowych i molekularnych mechanizmów leżących u podstaw miażdżycy.

Słowa kluczowe:

kinazy MAP • sygnalizacja wewnątrzkomórkowa • miażdżycy • zapalenie • komórki śródbłonna • komórki mięśni gładkich • limfocyty T

Summary

Intracellular signalling cascades, in which MAPK (mitogen-activated protein kinases) intermediate, are responsible for a biological response of a cell to an external stimulus. MAP kinases, which include ERK1/2 (extracellular signalling-regulated kinase), JNK (c-Jun N-terminal kinase) and p 38 MAPK, regulate the activity of many proteins, enzymes and transcription factors and thus have a wide spectrum of biological effects. Many basic scientific studies have defined numerous details of their pathway organization and activation. There are also more and more studies suggesting that individual MAP kinases probably play an important role in the pathogenesis of atherosclerosis. They may mediate inflammatory processes, endothelial cell activation, monocyte/macrophage recruitment and activation, smooth muscle cell proliferation and T-lymphocyte differentiation, all of which represent crucial mechanisms involved in pathogenesis of atherosclerosis. The specific inhibition of an activity of the respective MAP kinases may prove a new therapeutic approach to attenuate atherosclerotic plaque formation in the future. In this paper, we review the current state of knowledge concerning MAP kinase-dependent cellular and molecular mechanisms underlying atherosclerosis.

Key words:

MAP kinases • intracellular signalling • atherosclerosis • inflammation • endothelial cells • monocyte/macrophage • smooth muscle cells • T-lymphocytes

Full-text PDF: <http://www.phmd.pl/fulltxt.php?ICID=1085463>

Word count: 5782

Tables: –

Figures: 2

References: 85

Adres autorki: dr Danuta Zapolska-Downar, Katedra Biochemii i Chemii Klinicznej Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego, 02-097 Warszawa; e-mail: zapolska@vp.pl

Wykaz skrótów: **Ang II** – angiotensyna II (angiotensin II), **AP-1** – białko aktywujące 1 (activator protein-1), **ASK1** – kinaza regulująca czynnik apoptotyczny (apoptosis signal regulating kinase), **ATF2** – aktywujący czynnik transkrypcyjny (activating transcription factor 2), **CRP** – białko c-reaktywne (C reactive protein), **EPC** – progenitorowe komórki śródbłónka (endothelial progenitor cells), **ERK** – kinaza regulowana zewnątrzkomórkowo (extracellular signal regulated kinase), **ET-1** – endotelina 1 (endothelin-1), **ICAM-1** – cząsteczka adhezji międzykomórkowej 1 (intercellular adhesion molecule-1), **IL-1, -2, -6, -8, -12** – interleukiny 1, 2, 6, 8, 12, **IFN-γ** – interferon γ, **JNK** – kinaza c-Jun N-terminalna (c-Jun N-terminal kinase), **LPS** – lipopolisacharyd, **MAPK** – kinazy aktywowane mitogenami (mitogen activated kinases), **MAPKK** – kinaza kinaz kinaz MAP (mitogen activated protein kinase kinase kinase), **MAPKKK** – kinaza kinaz kinaz MAP (mitogen activated protein kinase kinase kinase), **MAPKAPK 2** – białko aktywowane kinazą MAP 2 (MAP kinase activated protein 2), **MCP-1** – czynnik chemo-taktyczny monocytów 1 (monocyte chemotactic protein-1), **M-CSF** – czynnik stymulujący kolonie makrofagów (macrophage colony-stimulating factor), **(MEF2C** – czynnik transkrypcyjny MEF2C (monocyte enhancer factor 2 C), **MEK** – aktywator kinazy ERK (ERK activator kinase), **MEKK 1-4** – kinazy MEK1-4 (MEK kinase 1-4), **(MKP** – fosfataza MAPK (MAP kinases phosphatase), **MLK** – kinaza o mieszanym pochodzeniu (mixed lineage kinase), **MNK** – kinaza MNK (MAPK signal interacting kinase), **MSK** – kinaza MSK (mitogen and stress-activated protein kinase), **NF-κB** – czynnik jądrowy-κB (nuclear factor-κB), **PDGF** – czynnik wzrostowy pochodzenia płytkowego (platelet derived growth factor), **PECAM-1** – cząsteczka adhezji komórkowej płytkowo-śródbłónkowej 1 (platelet endothelial cell adhesion molecule-1), **PI3K** – kinaza 3-fosfatydylinozytolu (phosphatidylinositol 3 kinase), **RFT** – reaktywne formy tlenu, **RSK** – kinaza rybosomalna (ribosomal S6 kinase), **TAK 1** – kinaza aktywowana transformującym czynnikiem wzrostowym (transforming growth factor-activated kinase 1), **TLR** – receptor Tool-podobny (Tool-like receptor), **TNF-α** – czynnik martwicy nowotworu (tumor necrosis factor), **VCAM-1** – cząsteczka adhezji komórkowej naczyń (vascular cell adhesion molecule-1), **VEGF** – czynnik wzrostu śródbłónka naczyń (vascul endothelial growth factor).

WPROWADZENIE

Każda komórka, w tym komórki zaangażowane w powstawanie i progresję miażdżycy, musi mieć zdolność odbierania i odpowiedzi na sygnały napływające ze środowiska zewnętrznego. Zachowanie się komórek regulowane jest przez zewnątrzkomórkowe ligandy, które łącząc się z receptorami aktywują kaskadę wewnątrzkomórkowej transdukcji sygnału. Poszczególne drogi sygnałowe kontrolują istotne dla komórek procesy i tym samym odpowiedzialne są za biologiczną odpowiedź komórki na bodziec zewnętrzny.

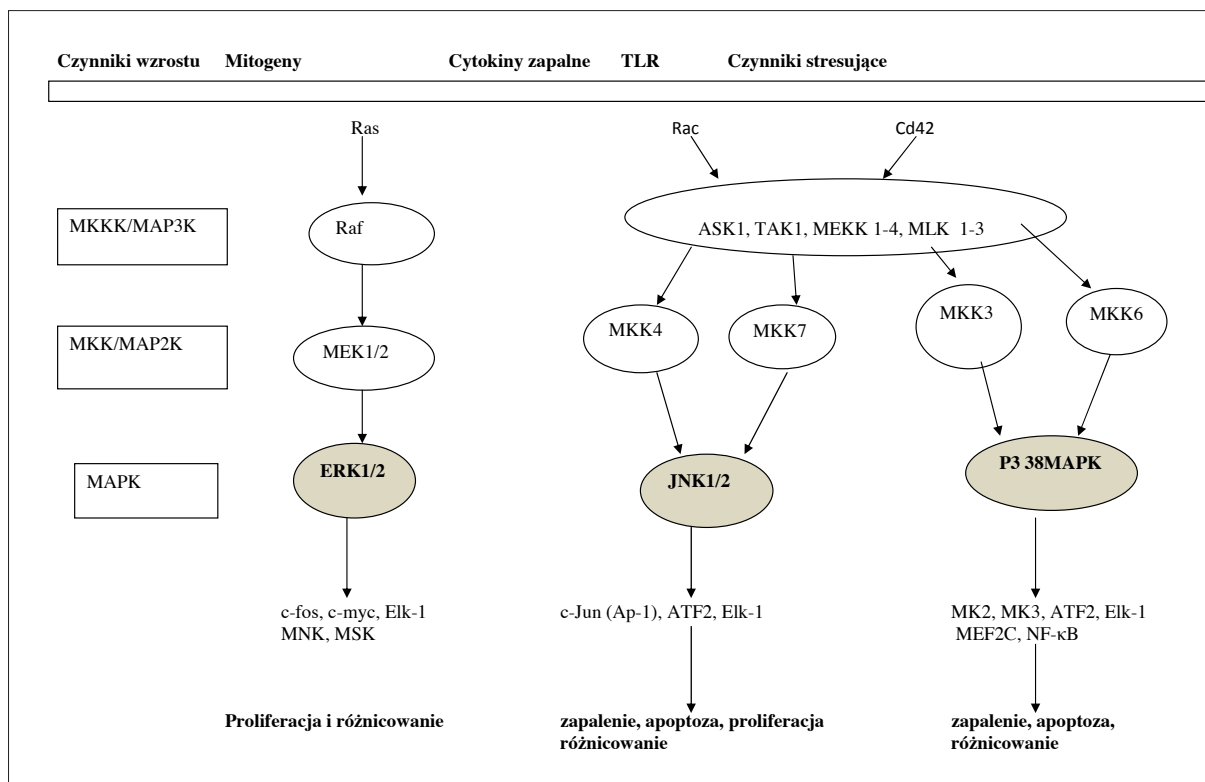
Kinazy aktywowane mitogenami (MAPK - mitogen activated protein kinases) są zakonserwowaną rodziną enzymów, które propagują sygnał zewnętrzny poprzez kaskadę fosforylacji w celu generowania skoordynowanej odpowiedzi komórki na środowisko [52]. MAPK są kinazami białkowymi o aktywności serynowo-treoninowej, które regulują wiele wewnątrzkomórkowych procesów, włączając w to transkrypcję genów, biosyntezę białek, podziały komórkowe, różnicowanie i przeżycie lub apop-

tozę komórki. Wyróżniamy trzy podstawowe kinazy MAP: ERK1/2 (extracellular signaling kinases), JNK 1-3 (c-Jun N-terminal kinases) oraz p 38 MAPK. Kinazy MAP aktywowane są poprzez podwójną fosforylację treoniny i tyrozyny w motywie Thr-X- Tyr znajdującym się w pętli aktywacyjnej, gdzie X to Glu, Pro i Gly w ERK, JNK i p38 MAPK, odpowiednio. Konsekwencją aktywacji MAPK jest zapalenie, apoptoza, różnicowanie i proliferacja. Zaangażowanie dróg sygnałowych zależnych od MAPK w patofizjologii chorób naczyniowo-sercowych jest przedmiotem wielu badań naukowych. W artykule podsumowano wiadomości na temat kinaz MAP i ich roli w patogenezie miażdżycy.

AKTYWACJA KINAZ MAP I ICH KRÓTKA CHARAKTERYSTYKA

Aktywacja kinaz MAP

Kinazy MAP uczestniczą w szlakach sygnalizacyjnych, które są w postaci trójpoziomowej kaskady kinaz, tj. enzymów kolejno aktywowanych w wyniku fosforylacji [52]. Na początku kinaza kinazy aktywującej MAPK (MAPKKK



Ryc. 1. Kaskada przekazywania sygnału z udziałem kinaz MAP. Kinazy MAP uczestniczą w szlakach sygnalizacyjnych w postaci trójpłaszczykowej kaskady: bodziec → MKKK/MAP3K → MKK/MAP2K → MAPK → odpowiedź. MKKK mogą być aktywowane przez czynniki wzrostu, miogeny, cytokiny zapalne, TLR czy czynniki stresujące. Do MKKK zaliczamy między innymi: Raf, ASK1, TAK1, MEKK 1-4, czy MLK 1-3. Najbardziej znanymi MKK są: MEK1/2, MKK3, MKK4, MKK6 i MKK7. Substratami dla aktywnych MAPK, czyli ERK1/2, JNK1/2 i p38 MAPK, są liczne białka, enzymy, inne kinazy białkowe i czynniki transkrypcyjne. Efektem tej kaskady jest: proliferacja, różnicowanie, zapalenie i apoptoza

lub MAP3K czy MKKK) powoduje aktywację kinazy aktywującej MAPK (MAPKK lub MAP2K czy MKK), a ta fosforyluje efektorowe kinazy MAP (MAPK). Bodziec → MAPKKK → MAPKK → MAPK → odpowiedź.

Pierwszą znaną MKKK była Raf-1, która łączy się z zaktywowanym Ras, co skutkuje potranslacyjnymi modyfikacjami prowadzącymi do pełnej aktywacji Raf-1 [42]. Zaktywowana Raf-1 aktywuje MKK1 lub MKK2 (znane także jako MEK1/2-ERK activator kinase), które aktywują kinazy efektorowe ERK1/2. Oprócz szlaku Ras → Raf → MEK1/2 → ERK1/2 jeszcze przynajmniej dwa inne odgrywają istotną rolę w regulacji fizjologii komórki [52]. Są to szlaki prowadzące do powstania kinaz efektorowych: JNK i p 38 MAPK. Zaktywowane Ras promuje aktywację JNK i p 38 MAPK w sposób pośredni poprzez aktywację PI3K (phosphatidyl inositol 3 kinase), która nasila aktywację Rac. Zaktywowany Rac łączy się z MEKK 1-4 (MEK kinase) - członkiem rodziny MKKK dla JNK i p38 MAPK. Innym białkiem wiążącym GTP, które może aktywować MKKK jest Cd42. Kinazami kinaz aktywujących JNK i p38 MAPK mogą być wspomniane MEKKK 1/-4, TAK 1 (transforming growth factor-activated kinase 1) czy ASK 1 (apoptosis signal regulating kinase). Głównymi MKK dla JNK są MKK4 i MKK7. Te dwie kinazy różnią się funkcjonalnie: MKK7 jest głównie aktywowana przez

cytokiny, natomiast MKK4 przez stres. Niemniej, do pełnej aktywacji JNK wymagane są obie kinazy. Głównymi MKK dla p38MAPK są kinazy MKK3 i MKK6. Trójpłaszczykowa kaskada aktywacji kinaz MAP przedstawiona jest na ryc. 1.

W warunkach fizjologicznych aktywacja kinaz MAP jest często krótkotrwała i ograniczona do okresu stymulacji. Defosforylacja kinaz jest głównym mechanizmem odpowiedzialnym za zmniejszenie aktywności MAPK i jest najbardziej efektywnym sposobem negatywnej regulacji [29]. Proces defosforylacji może zachodzić dzięki działaniu fosfataz białkowych, takich jak fosfatazy białek seryna/ treonina lub dzięki podwójnie swoistym fosfatazom białek, które są szczególnie odpowiedzialne za defosforylację i tym samym deaktywację kinaz MAP, które określa się jako fosfatazy MAPK (MKPs - MAP kinases phosphatase). Czynniki, które aktywują szlaki MAPK, często aktywują MKP, co sugeruje istnienie ściślej i swoistej kontroli aktywacji i funkcjonowania MAPK przez MKP. Jak dotychczas poznano 11 członków rodziny MKP.

Oprócz omówionych wcześniej dróg aktywacji JNK i p 38 MAPK, w niektórych sytuacjach istotnym stymulatorem, który aktywuje drogi sygnalizacyjne niezależnie od Ras, jest stres komórki spowodowany wewnątrzkomórkowym

nagromadzeniem reaktywnych form tlenu (RFT), hiperosmolarnością czy dysfunkcją retikulum endoplazmatycznego. Wiele czynników działających stymulująco na komórkę indukuje zwiększone wytwarzanie RFT z jednoczesną aktywacją dróg sygnalizacyjnych prowadzących do aktywacji MAPK [65]. RFT mogą aktywować MAPK poprzez oksydacyjną modyfikację białek sygnalnych, co zmienia ich strukturę i funkcje. Innym mechanizmem może być inaktywacja i degradacja MKP, które utrzymują te drogi w stanie nieaktywnym.

ERK

ERK była pierwszą zidentyfikowaną kinazą z rodziny MAPK [12,56]. Występuje w postaci dwóch izoform: ERK1 (p44) i ERK2 (p42), powszechnie określane jako ERK1/2. Jak wspomniano aktywowana jest w drodze: Raf:MEK:ERK. Kaskada ta jest uruchamiana przez wiele mitogenów, włączając PDGF, tromboksan, insulinę, endotoksyny czy stres. ERK1/2 odpowiedzialna jest za fosforylację czynników transkrypcyjnych c-fos, c-myc czy Elk-1 oraz kinaz białkowych MNK (MAPK signal interacting kinase), MSK (mitogen and stress-activated protein kinase) i RSK (ribosomal S6 kinase). Funkcjonalną konsekwencją aktywacji kaskady kinazy ERK1/2 przez czynniki wzrostowe jest regulacja cyklu komórkowego, proliferacji, różnicowania i transformacji.

JNK

JNK znana jest również jako SAPK (stress activated protein kinase) [12,56]. W skład tej rodziny wchodzi trzy izoformy: powszechnie obecne JNK 1 i JNK 2 oraz występująca tylko w mózgu i sercu – JNK 3. Kaskada kinaz JNK aktywowana jest przez zewnętrznie działające czynniki stresogenne, takie jak naświetlanie UV, hiperosmolarność czy szok termiczny. Ponadto JNK mogą być aktywowane przez LPS (lipopolisacharyd), TNF- α (tumor necrosis factor), IL-1, czy też połączenie z TLR (Tool-like receptor). Jak wspomniano wcześniej JNK są aktywowane przez MKK4 i MKK7, które z kolei są aktywowane przez MKKK, takie jak ASK1, MEKK1-4, TAK1 lub MLK1-3 (mixed lineage kinase1-3). Aktywna postać JNK fosforyluje serynę w pozycji 63 i 73 w transaktywacyjnej domenie c-Jun, co pozwala na dimeryzację z c-Fos i powstanie AP-1 (activator protein-1), czynnik transkrypcyjny regulujący ekspresję wielu genów przez przyłączenie się do ich miejsc promotorowych. Ponadto JNK reguluje aktywność innych czynników transkrypcyjnych, takich jak: ATF2 (activating transcription factor 2), Elk-1, p53 i c-Myc. Droga sygnalizacyjna JNK reguluje mechanizmy zapalne, proliferację, apoptozę, angiogenezę i migrację.

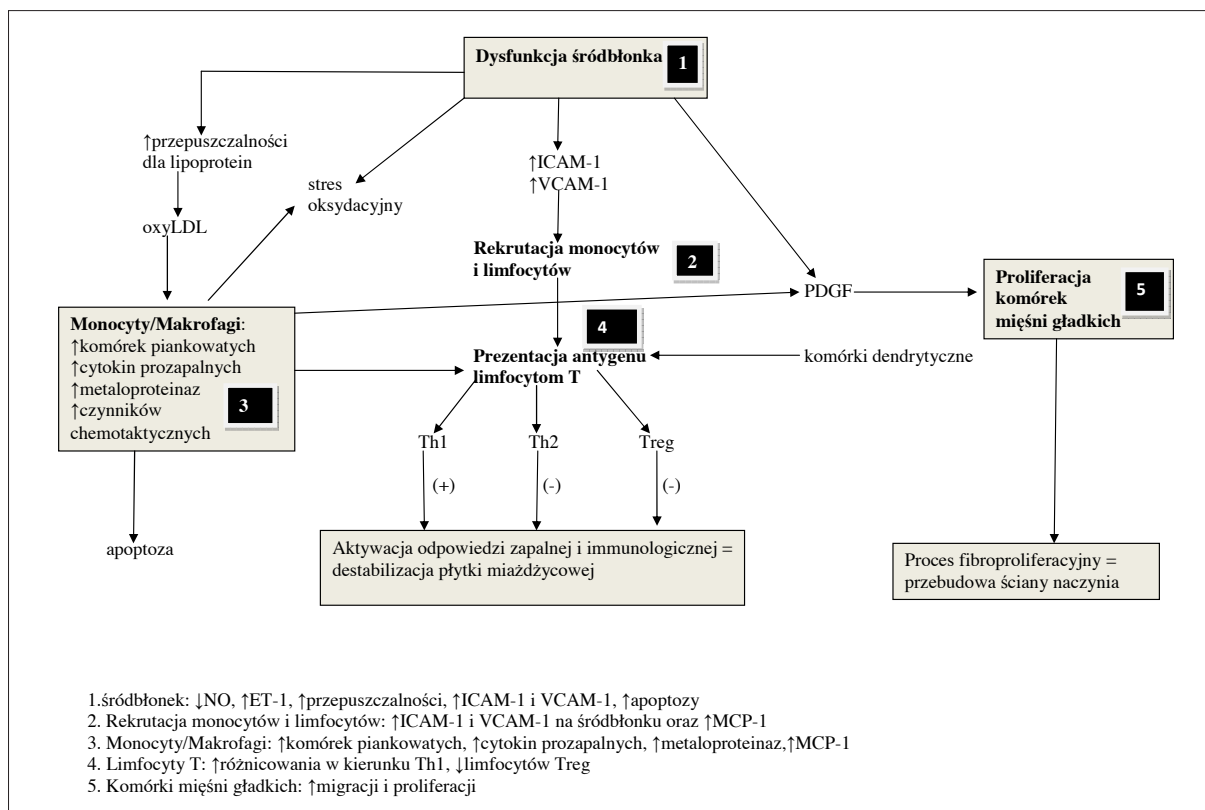
P 38 MAPK

Wyróżnia się cztery izoformy p38 MAPK, które są kodowane przez cztery różne geny [12,80]. Są to: p38 MAPK α , p38 MAPK β , p38 MAPK δ , p38 MAPK γ . Ekspresja tych izoform jest różna w różnych tkankach. p38 MAPK α występuje głównie w leukocytach, a p38 MAPK β w sercu i mózgu. Czynniki oddziałującymi na wiele komórek za pośrednictwem p38 MAPK, są tzw. czynniki stresujące komór-

ki, czyli stresory, do których zaliczamy przede wszystkim promieniowanie ultrafioletowe, szok osmotyczny czy zwiększoną temperaturę. Do aktywacji p38 MAPK dochodzi również w następstwie działania cytokin zapalnych i czynników wzrostu. Głównymi aktywatorami p38 MAPK są MKK3 i MKK6, które z kolei są aktywowane przez MKKK, takie jak: ASK1, TAK1 i MEKK 1-4. Aktywacja tych MAPKKK prowadzi do aktywacji zarówno p38 MAPK jak i JNK, co prawdopodobnie powoduje, że te dwa szlaki są aktywowane jednocześnie. Inny szlak prowadzący do aktywacji p38 MAPK zależy od małych białek wiążących GTP z rodziny Rho, takich jak Rac 1 i Cdc42. Rac 1 aktywuje MEKK a Cdc42 MLK, które są MAPKKK dla szlaku p38 MAPK. Substratami dla zaktwowanego p38 MAPK są inne kinazy lub czynniki transkrypcyjne. Pierwszym zidentyfikowanym substratem były MAPKAPK 2 i 3 (MAP kinase activated protein kinase), zwane również MK2 i MK3. Innymi kinazami są MNK i MSK. Wiele czynników transkrypcyjnych może ulegać fosforylacji i tym samym aktywacji pod wpływem p38 MAPK, włączając w to ATF2, MEF2C (monocyte enhancer factor 2 C), Elk-1, p53, NF- κ B (nuclear factor κ B) i inne. Funkcjonalną konsekwencją aktywacji p38 MAPK jest regulacja odpowiedzi zapalnej, cyklu komórkowego, apoptozy i różnicowania.

ROLA KINAZ MAP W PATOGENEZIE MIAŻDŻYCY

Miażdżycą, która jest główną przyczyną chorób naczyniowo-sercowych, jest chorobą o wieloczynnikowej etiopatogenezie, która jest swoistą postacią przewlekłego zapalenia [33,36,55]. W powstawanie i rozwój miażdżycy zaangażowanych jest wiele komórek, włączając komórki śródbłonna, monocyty/makrofagi, komórki mięśni gładkich oraz limfocyty T. Przebieg miażdżycy modyfikowany jest zaburzeniami w metabolizmie lipidów, stresem oksydacyjnym i toczącym się w ścianie naczynia procesem fibroproliferacyjnym. Na przebieg miażdżycy mają wpływ jej czynniki ryzyka, takie jak zaburzenia w metabolizmie lipidów, nadciśnienie, cukrzyca, palenie papierosów i czynniki genetyczne. Miażdżycą jest powoli narastającą w czasie chorobą, która rozpoczyna się już w dzieciństwie, kiedy to nie ujawnia się klinicznie. W odpowiedzi na wiele czynników działających destrukcyjnie na ścianę naczynia dochodzi do dysfunkcji komórek śródbłonna, co umożliwia akumulację w błonie wewnętrznej mononuklearnych leukocytów i LDL, które podlegają różnego rodzaju modyfikacjom stając się cząsteczkami o silnych właściwościach proaterogennych. Znajdujące się w błonie wewnętrznej monocytu zostają przekształcone w makrofagi, które w sposób niekontrolowany wyłapują zmodyfikowane LDL, co prowadzi do powstania komórek piankowatych. Powstaje pierwszy widoczny etap miażdżycy tzw. plamka żółta, która w początkowym okresie składa się z makrofagów, limfocytów T i komórek piankowatych. W późniejszym okresie pod wpływem wydzielanych lokalnie czynników wzrostu dochodzi do proliferacji i migracji komórek mięśni gładkich w obręb błony wewnętrznej, gdzie zmieniają swój fenotyp z kurczliwego na syntetyzujący, co prowadzi do zwiększonej syntezy tkanki łącznej i wytworzenia czapeczki pokrywającej zmianę miażdżycową. Dochodzi do powstania tzw. zmiany zaawansowa-



Ryc. 2. Schemat patomechanizmów zaangażowanych w powstawanie miażdżycy. Strzałki w opisie pod ryciną obrazują wpływ kinaz MAP. ICAM-1 – cząsteczka adhezji międzykomórkowej -1, MCP-1 – czynnik chemotaktyczny dla monocytów, NO – tlenek azotu, oxLDL – zmodyfikowane oksydacyjnie LDL, PDGF – czynnik wzrostowy pochodzenia płytkowego, VCAM-1 – cząsteczka adhezji komórkowej naczyń

nej lub inaczej blaszki włóknisto-tłuszczowej. Zmiana ta charakteryzuje się obecnością bogatego w lipidy rdzenia nekrotycznego powstającego w następstwie apoptozy komórek piankowatych oraz zaktywowanych makrofagów i limfocytów. Obecne w błonie wewnętrznej makrofagi i limfocyty T są źródłem wielu cytokin, które w głównej mierze odpowiadają za wiele przebiegających w tym obszarze reakcji immunologiczno-zapalnych. Toczące się w ścianie naczynia zapalenie, jak i apoptoza, zwłaszcza komórek śródbłonnka i mięśni gładkich, może być przyczyną pęknięcia płytki miażdżycowej i tworzenia w tym miejscu zakrzepu zamykającego światło naczynia, co jest główną przyczyną wystąpienia ostrych powikłań klinicznych miażdżycy. W dalszej części opracowania omówione zostaną poszczególne mechanizmy powstawania blaszki miażdżycowej z uwzględnieniem roli kinaz MAP.

Znaczenie komórek śródbłonnka w patogenezie miażdżycy i rola kinaz MAP

Głównym i najwcześniejszym wydarzeniem dla powstania i rozwoju miażdżycy jest dysfunkcja śródbłonnka, którą określa się jako wiele zmian, które pozwalają tym komórkom na pełnienie nowych funkcji [16,46]. Tak zmieniony śródbłonek nie zapewnia prawidłowego rozszerzania naczyń, zwiększa przepuszczalność dla makrocząsteczek, promuje zapalenie i proliferację mięśni gładkich,

przyczynia się do nasilenia stresu oksydacyjnego oraz wykazuje cechy prozakrzepowe.

Najbardziej poznana i najczęściej badana cecha dysfunkcji śródbłonnka jest upośledzenie funkcji wazodylacyjnych ściany naczynia, co wiąże się z upośledzeniem wytwarzania lub biodostępnością tlenu azotu (NO) i prostacykliny. NO wytwarzany jest przez śródbłonkową syntezę NO (eNOS), której głównym aktywatorem są siły ścinania. Z dotychczasowych badań wynika, że niektóre obszary naczyń tętniczych są szczególnie predysponowane do powstawania zmian miażdżycowych. Są to obszary z małymi siłami ścinania i zaburzonym przepływem krwi [9,46]. Niewielkie siły ścinania aktywują geny i białka zaangażowane w promowanie miażdżycy, w tym odpowiedzialne za syntezę NO. Upośledzenie biodostępności NO w aspekcie patogenezy miażdżycy jest o tyle ważne, że oprócz działania wazodylacyjnego i antyagregacyjnego odgrywa on istotną rolę przeciwzapalną i przeciwmiażdżycową.

Wydaje się, że kinaza p38 MAPK może pośredniczyć w upośledzaniu zależnej od NO wazodylacyjnej funkcji śródbłonnka. Wykazano, że CRP hamuje tę funkcję śródbłonnka przez aktywację p38 MAPK [50]. Natomiast podawanie inhibitora tej kinazy szczurom z nadciśnieniem prowadziło do przywrócenia zależnej od NO relaksacji ściany naczynia [26]. Dysfunkcja śródbłonnka prowadząca do upośledze-

nia zdolności naczyń do rozkurczu związana jest ponadto z wydzielaniem substancji naczynioskurczowych, takich jak endotelina 1 (ET-1) i angiotensyny II (Ang II) [16,46]. Wykazano, że oxyLDL stymulują fosforylację ERK z towarzyszącą aktywacją AP-1 i zwiększoną ekspresją i sekrecją ET-1 [76]. Natomiast w indukowanej TNF- α ekspresji ET-1 zarówno na poziomie białka, jak i mRNA pośredniczą JNK i p 38 MAPK [77].

Cechą dysfunkcji komórek śródbłonna istotną zarówno dla patogenezy miażdżycy, jak i mechanizmów odpowiedzi zapalnej jest zwiększona ich przepuszczalność. Cecha ta umożliwia przechodzenie LDL z krwi do błony wewnętrznej ściany naczynia, gdzie łączą się z proteoglikanami, co umożliwia im przenikanie w głębsze warstwy ściany naczynia i pozwala na ich modyfikację [34]. Najbardziej istotną jest modyfikacja oksydacyjna, ponieważ prowadzi do powstawania oxyLD, cząsteczek o silnych właściwościach proaterogennych. Wykazano, że szlaki sygnalizacyjne zależne od ERK1/2 i p38 MAPK pośredniczą w indukowanej VEGF zwiększonej przepuszczalności komórek śródbłonna [70].

Cechą dysfunkcji śródbłonna, która promuje zapalenie jest zmiany fenotypu antyadhezyjnego na proadhezyjny [33]. Zdrowy śródbłonek o fenotypie antyadhezyjnym nie pozwala na adhezję i transendotelialną wędrówkę leukocytów, gdyż nie ujawnia na swojej powierzchni większości cząsteczek adhezyjnych niezbędnych do zaistnienia tego procesu. Fenotyp proadhezyjny związany jest z pojawieniem się ekspresji cząsteczek adhezyjnych na powierzchni śródbłonna, pośredniczących w interakcjach między komórkami ściany naczynia a komórkami krwi. Do śródbłonkowych cząsteczek adhezyjnych zaliczamy: selektynę E i P, ICAM-1 (intercellular adhesion molecule-1), ICAM-2, VCAM-1 (vascular cell adhesion molecule) i PECAM-1 (platelet endothelial cell adhesion molecule-1). Głównym czynnikiem transkrypcyjnym regulującym ekspresję śródbłonkowych cząsteczek adhezyjnych jest NF- κ B. Selektyny pośredniczą w toczeniu się leukocytów po komórkach śródbłonna, co umożliwia interakcje między ICAM-1 a LFA-1 i VCAM-1 a VLA-4. LFA-1 jest integryną obecną na wszystkich leukocytach, natomiast VLA-4 tylko na monocytach i limfocytach. Interakcje między śródbłonkowymi cząsteczkami adhezyjnymi a integrynami na leukocytach są niezbędne do adhezji i transendotelialnej migracji leukocytów. Najbardziej znane są: VCAM-1 i ICAM-1 i jak wynika z wielu badań *in vitro* i *in vivo* odgrywają one istotną rolę w patogenezie miażdżycy [19]. Proces adhezji z następującą transendotelialną wędrówką monocytów i limfocytów zależy nie tylko od ekspresji śródbłonkowych cząsteczek adhezyjnych, ale także od wydzielanych lokalnie czynników chemotaktycznych. Pod wpływem tych czynników dochodzi do zmian konformacyjnych obecnych na leukocytach integryn, które pozwalają na ich trwałe połączenie z ICAM-1 lub VCAM-1. Dopiero trwałe połączenie pozwala na transendotelialną wędrówkę leukocytów. Jednym z najbardziej poznanych w aspekcie patogenezy miażdżycy czynnikiem chemotaktycznym jest MCP-1 (monocyte chemoattractant protein) [33,49]. Białko to jest wytwarzane przez zaktywowane makrofagi, komórki śródbłonna i mięśni gładkich.

Z wielu dotychczasowych badań wynika, że kinazy MAPK pośredniczą we wszystkich mechanizmach zaangażowanych w proces rekrutacji mononuklearnych leukocytów. Inkubacja komórek śródbłonna z TNF- α prowadzi do aktywacji ERK, JNK i p38 MAPK z jednoczesną degradacją I κ B i następową translokacją NF- κ B do jądra, a w konsekwencji stymulacją ekspresji ICAM-1 [8]. Indukowany TNF- α wzrost ekspresji ICAM-1 został zahamowany przez SP600125 (inhibitor JNK) i SB203580 (inhibitor p38 MAPK), ale nie przez PD98059 (inhibitor ERK), co sugeruje że JNK i p38 MAPK są zaangażowane w transdukcję sygnału prowadzącą do stymulowanej TNF- α zwiększonej ekspresji ICAM-1. W innych badaniach wykazano, że te same inhibitory hamują stymulowaną TNF- α ekspresję ICAM-1 i VCAM-1 [37]. Autorzy sugerują, że JNK i p38 MAPK pośredniczą w indukcji ekspresji tych cząsteczek poprzez wpływ na AP-1 i NF- κ B. Ang II stymuluje ekspresję VCAM-1 wykorzystując drogi sygnałowe zależne od ERK1/2 i p38 MAPK, a ekspresję ICAM-1 tylko od p38 MAPK [6]. W innych badaniach wykazano, że Ang II stymuluje ekspresję VCAM-1 wykorzystując p38 MAPK do aktywacji NF- κ B [11]. Również nikotyna nasila ekspresję ICAM-1 i VCAM-1 przez aktywację p 38 MAPK, NF- κ B i AP-1 [68].

p38 MAPK odgrywa główną rolę w regulacji syntezy MCP-1, ponieważ zahamowanie działania tej kinazy zapobiega sekrecji tego białka [14]. Opublikowane ostatnio badania wskazują na istotną rolę fosfatazy MAPK w regulacji rekrutacji monocytów. Wykazano, że monocyty poddane długotrwałemu działaniu glukozy mają obniżony poziom MKP-1 z towarzyszącą hiperaktywacją ERK1/2 i p38 MAPK i jednoczesnym wzrostem ilości MCP-1 oraz podwyższoną zdolnością do adhezji i chemotaksji [28]. W badaniach przeprowadzonych u myszy pozbawionych MKP-1, a jednocześnie podatnych na dysfunkcję związaną z zaburzeniami metabolicznymi wykazano zwiększoną chemotaksję *in vivo* i przyspieszone formowanie zmiany miażdżycowej.

Jak wiadomo apoptoza komórek śródbłonna jest zjawiskiem niekorzystnym i może być odpowiedzialna za transformację zmiany stabilnej w zmianę predysponowaną do pęknięcia [79]. Badania Nakagami i wsp. [48] wykazały, że p38 MAPK jest zaangażowana w indukowaną glukozą apoptozę komórek śródbłonna poprzez wpływ na białko bax i kaspazę 3. Również homocysteina indukuje apoptozę komórek śródbłonna z udziałem p38 MAPK [3]. Autorzy sugerują, że za aktywację p38 MAPK odpowiedzialne jest zwiększone pod wpływem homocysteiny wewnątrzkomórkowe wytwarzanie RFT.

Progenitorowe komórki śródbłonna (endothelial progenitor cells - EPC) odgrywają istotną rolę w angiogenezie i naprawianiu uszkodzonego naczynia, a pacjenci z chorobami naczyniowo-sercowymi mają zredukowaną liczbę EPC [22,64]. EPC od pacjentów z tymi chorobami mają istotnie wyższe poziomy fosforylacji p38 MAPK niż EPC od zdrowych osób [64]. Zastosowanie SB 203580 zwiększa liczbę EPC. Z badań *in vitro* wynika, że p38 MAPK jest zaangażowana w apoptozę indukowaną homocysteiną, oxyLDL czy końcowym produktem zaawansowanej glikacji [4,66,75]. Ponadto p38 MAPK zaangażowana jest w indukowanym TNF- α procesie starzenia się EPC [83].

Rola monocytów/makrofagów w patogenezie miażdżycy – udział kinaz MAP

Osiadłe w błonie wewnętrznej ściany naczynia monocyty podlegają działaniu M-CSF (macrophage colony-stimulating factor), pod wpływem którego dochodzi do serii zmian, prowadzących do ich namnażania i przekształcania się w aktywne makrofagi [33,49]. Pod wpływem M-CSF na powierzchni makrofagów pojawiają się receptory zmiatające, których zadaniem jest usuwanie obcych antygenów i ciałek apoptotycznych. Za pomocą tych receptorów makrofagi pochłaniają również oxyLDL w procesie endocytozy. Ekspresja tych receptorów nie jest zwrotnie regulowana tak, jak ekspresja receptorów dla LDL, co prowadzi do niekontrolowanej akumulacji lipidów i powstania tak charakterystycznych dla miażdżycy komórek piankowatych. Do receptorów zaangażowanych w formowanie komórek piankowatych zaliczamy: CD36, CD68, LOX-1 (lektin-type oxidized low-density lipoprotein receptor), SR-A i SR-B. Pobrane w czasie endocytozy oxyLDL przenoszone są do lizosomów, gdzie estry cholesterolu są hydrolizowane do wolnego cholesterolu i kwasów tłuszczowych [78]. Wolny cholesterol przenoszony jest do błony komórkowej, skąd może być usunięty w procesie transportu zwrotnego z udziałem HDL. Nadmiar wolnego cholesterolu podlega estryfikacji z udziałem ACAT-1, co prowadzi do masowego nagromadzenia w cytoplazmie kroplek zawierających estry cholesterolu i triglicerydy. Komórki piankowate obecne w zmianie zaawansowanej mają większy stosunek cholesterol wolny/cholesterol zestryfikowany niż te obecne w pasmach tłuszczowych, co jest przyczyną nasilenia apoptozy tych komórek i tym samym powstania rdzenia nekrotycznego.

Wylapywanie oxyLDL czy innych patogenów lub wydzielane lokalnie cytokiny prowadzą do aktywacji makrofagów, które wydzielają wiele czynników modulujących przebieg miażdżycy [21,33,35,43,49]. Są źródłem czynników chemotaktycznych, takich jak: MCP-1 i IL-8. Zaktywowane makrofagi wydzielają cytokiny zapalne, takie jak: IL-1, IL-6, IL-12 i TNF- α . IL-1 i TNF- α są głównymi mediatorami zapalenia w miażdżycy, to cytokiny o pleiotropowym działaniu. Prowadzą m.in. do szeroko pojętej dysfunkcji śródbłónka, w tym zwiększają przepuszczalność komórek śródbłónka i stymulują ekspresję cząsteczek adhezyjnych na ich powierzchni. Wszystko to przyczynia się do dalszej rekrutacji komórek zapalnych w obręb płytki miażdżycowej. Lokalne zapalenie uruchamia systemową odpowiedź zapalną, głównie dzięki IL-6, która pobudza wątrobę do syntezy białek ostrej fazy, w tym CRP [33,44]. CRP okazało się dobrym prognostykiem wystąpienia w przyszłości incydentów naczyniowo-sercowych. Takie makrofagi wydzielają czynniki wzrostowe, które stymulują migrację i proliferację mięśni gładkich [49]. Zaktywowane makrofagi wydzielają duże ilości RFT, których głównym źródłem jest oksydaza NADPH [35]. Nasilenie stresu oksydacyjnego w płytce miażdżycowej prowadzi do zwiększonego powstawania oxyLDL. Zaktywowane makrofagi wydzielają metaloproteinazy, które trawią składowe tkanki łącznej przyczyniając się do destabilizacji płytki miażdżycowej [33,49]. Uważa się, że toczące się w zmianie miażdżycowej zapalenie może spowodować przejście zmiany

stabilnej w zmianę predysponowaną do pęknięcia [33,36,43]. W porównaniu do stabilnej zmiany miażdżycowej, płytka podatna na pęknięcie ma ekstremalnie cienką czapeczkę, dużą rdzeń nekrotyczny i dużą liczbą komórek zapalnych. Osłabienie pokrywy łącznotkankowej może być następstwem zmniejszenia liczby składowych tkanki łącznej, a także liczby komórek mięśni gładkich. Za destrukcję włókien kolagenowych odpowiedzialne są metaloproteinazy wytwarzane przez zaktywowane makrofagi. Mediatory zapalenia, takie jak IL-1, TNF- α , a zwłaszcza interakcje CD40L/CD40, nasilają ekspresję metaloproteinaz nie tylko w makrofagach, ale także w komórkach śródbłónka i mięśni gładkich. Przyczyną zmniejszenia liczby komórek mięśni gładkich może być ich apoptoza, stymulowana m.in. przez makrofagi. Płytkę podatną na pęknięcie charakteryzuje się obecnością zwiększonej liczby komórek podlegających apoptozie, szczególnie komórek piankowatych i makrofagów, co prowadzi do formowania bogatego w lipidy rdzenia nekrotycznego. Pęknięcie płytki, które jest najczęstszą przyczyną wystąpienia ostrych powikłań klinicznych miażdżycy, powoduje szybkie formowanie zakrzepu, który zamyka światło naczynia w wyniku ekspozycji na dużą liczbę czynnika tkankowego, który jest wytwarzany przez zaktywowane makrofagi.

Kinazy MAP pośredniczą w wielu omówionych wyżej mechanizmach promiażdżycowego funkcjonowania makrofagów obecnych w płytce miażdżycowej.

p38 MAPK zaangażowana jest w promowanie różnicowania monocytów w makrofagi [41].

Udział MAPK w powstawaniu komórek piankowatych wykazano w wielu badaniach. Inkubacja mysich makrofagów z oxy LDL prowadziła do aktywacji ERK1/2, p38 MAPK i JNK1/2 w ciągu 15 min [51]. Makrofagi pobrane od myszy CD36^{-/-} były odporne na indukowaną oxyLDL aktywację JNK1/2, ale nie aktywację p38 MAPK i ERK. CD36 jest transbłonowym receptorem, który łączy się z Src lub MEKK2 poprzez C-końcowy łańcuch cytoplazmatyczny. Zastosowanie inhibitora Src (AG1879) lub inhibitora JNK (SP600125) hamowało tworzenie komórek piankowatych indukowane oxyLDL, ale nie inhibitor ERK. Ponadto p38 MAPK i MKK6, ale nie ERK jest wymagane do stymulowanej oxyLDL ekspresji CD36 [84]. W celu potwierdzenia roli JNK w powstawaniu miażdżycy wykorzystano myszy transgeniczne apE^{-/-} JNK2^{-/-} i wykazano, że po 14 tygodniach diety wysokotłuszczowej myszy pozbawione JNK były odporne na powstawanie miażdżycy [53]. Ponadto u myszy apE^{-/-}, którym podawano SP600125 stwierdzono dużo wolniejsze powstawanie miażdżycy niż u myszy kontrolnych. Makrofagi pochodzące od myszy JNK2^{-/-} apoE^{-/-} były dużo słabiej podatne na indukowane oxyLDL tworzenie komórek piankowatych niż makrofagi pochodzące od myszy apE^{-/-}. Na podstawie dodatkowych badań autorzy postulują, że JNK2 fosforyluje cytoplazmatyczny koniec CD36 i tym samym promuje tworzenie komórek piankowatych przez nasilenie internalizacji CD36 i związanych z nim oxyLDL.

Jedną z głównych odpowiedzi komórki zależnej od aktywacji p38 jest wytwarzanie i aktywacja mediatorów za-

palenia. Aktywacja p38 prowadzi do ekspresji wielu genów, których produkty są zaangażowane w promowanie zapalenia, takich jak TNF- α , IL-1 β , IL-6 czy IL-8 [23,58]. Hamowanie p38 MAPK przez zastosowanie swoistych inhibitorów, wśród których najbardziej poznanym jest SB203580, hamuje wytwarzanie cytokin w monocytach/makrofagach i neutrofilach. Znaczenie p38 MAPK w odpowiedzi zapalnej zostało potwierdzone w badaniach *in vivo*, gdzie oceniano wpływ SB203580 na tę odpowiedź w wielu zwierzęcych modelach doświadczalnych. Wykazano m.in., że SB203580 zmniejsza stymulowane LPS zwiększone wytwarzanie TNF- α u szczurów i myszy oraz śmiertelność u myszy poddanych działaniu LPS. Rzeczywiście znaczenie p38 MAPK w odpowiedzi zapalnej jest dobrze udokumentowane i dlatego wiele kompanii farmaceutycznych podjęło próby produkcji selektywnych inhibitorów p38 MAPK jako leków w chorobach zapalnych [30]. W badaniach przeprowadzonych u zdrowych ludzi, którym podano LPS wykazano, że BIRB 796 SB, inny selektywny inhibitor p38 MAPK, hamował aktywację p38 MAPK w leukocytach, a także wytwarzanie cytokin, takich jak TNF- α , IL-6 i IL-10 [5]. W opublikowanych ostatnio badaniach przeprowadzonych u ludzi poddanych zabiegowi przezskórnej angioplastyki wykazano, że podanie na 3 dni przed zabiegiem innego inhibitora p38 MAPK (SB 681323) związane było z 37% w 5 dniu i 40% w 28 dniu po zabiegu redukcją hsCRP, w porównaniu do grupy z placebo [59].

Ekspresja cytokin prozapalnych może być regulowana przez p38 MAPK zarówno na poziomie transkrypcji, jak i translacji. Kilka czynników transkrypcyjnych może być fosforylowane przez p38 MAPK lub niżej leżące kinazy, włączając w to NF- κ B. Jest to czynnik transkrypcyjny, który łącząc się z promotorami określonych genów stymuluje transkrypcję wielu mediatorów odpowiedzi zapalnej i immunologicznej [69]. Najbardziej poznana postać NF- κ B jest heterodimer zbudowany z podjednostek p65 i p50. W komórkach spoczynkowych zlokalizowany jest w cytoplazmie w połączeniu z białkami inhibitorowymi I κ B. Po zadziałaniu czynnika stymulującego dochodzi do fosforylacji miejsca krytycznego w cząsteczce I κ B, co indukuje dysocjację kompleksu I κ B/NF- κ B, a to pozwala na translokację heterodimeru p65/p50 do jądra, gdzie łączy się z promotorami określonych genów. Ponadto optymalna aktywacja NF- κ B wiąże się z fosforylacją domeny transaktywacyjnej w p65. Badania Wurmeulen i wsp. [72] wykazały, że aktywowana przez p38 MAPK kinaza MSK1 fosforyluje p65 w pozycji Ser 276. Ponadto p38 MAPK fosforyluje histon 3, który selektywnie występuje w regionach promotorowych genów odpowiedzialnych za ekspresję cytokin i chemokin, co zwiększa dostępność tych regionów i tym samym nasila rekrutację NF- κ B.

Najwcześniej i najbardziej poznanymi mechanizmami regulującymi syntezę cytokin jest wpływ p38 MAPK na obróbkę potranskrypcyjną, w co zaangażowana jest głównie MK2 [57]. Myszy pozbawione genu dla MK2 syntetyzowały dużo mniejsze ilości cytokin (TNF- α , IL-1, IL-6, IL-10 i IFN- γ) w porównaniu do myszy typu dzikiego, natomiast poziomy mRNA były na podobnym poziomie. Mechanizm,

za pomocą którego p38 MAPK:MK2 regulują syntezę cytokin może być związany z fosforylacją białek związanych z mRNA. Transkrypty wielu cytokin zawierają na swoim końcu 3' sekwencję ARE (AU rich elements). Do tej sekwencji przyłączają się białka, które regulują stabilizację mRNA. Takim białkiem może być tristetraprolina (TTP), która wpływa na szybką destabilizację mRNA. Tristetraprolina jest substratem dla MK2. Ufosforylowany TTP ulega dysocjacji z ARE co umożliwia biosyntezę cytokin.

Aktywacja ERK1/2 i JNK również reguluje syntezę cytokin prozapalnych poprzez wpływ na AP-1 [20,23]. Jak wspomniano wcześniej JNK fosforyluje c-Jun, co pozwala na powstanie aktywnego AP-1. Również aktywne ERK1/2 fosforylują c-Jun i c-Fos i tym samym aktywują AP-1, który jest czynnikiem transkrypcyjnym regulującym ekspresję wielu cytokin [81].

Jednym z mechanizmów, za pomocą których cytokiny prozapalne nasilają ekspresję metaloproteinaz jest szlak sygnałowy zależny od kinaz MAP, który prowadzi do fosforylacji składowych AP-1 [17].

Znaczenie limfocytów T w patogenezie miażdżycy – rola kinaz MAP

W przewlekły proces zapalny, który jest kluczowy dla patogenezy miażdżycy zaangażowane są nie tylko mechanizmy odpowiedzi nieswoistej, zależne głównie od monocytów/makrofagów, ale także mechanizmy odpowiedzi swoistej, która jest pod kontrolą limfocytów T [21,44,73]. Warto wspomnieć, że makrofagi, jako komórki prezentujące antygen, mogą prezentować obce antygeny limfocytom T, stając się łącznikiem między nieswoistą a swoistą odpowiedzią immunologiczną. Obecne w blaszce miażdżycowej limfocyty T to CD4⁺ (limfocyty pomocnicze) i CD8⁺ (limfocyty cytotoksyczne), przy czym dominują CD4⁺. W chwili zetknięcia się limfocytów T z komórkami prezentującymi antygen, do których zaliczamy makrofagi i komórki dendrytyczne, dochodzi do uruchomienia mechanizmów swoistej odpowiedzi immunologicznej. Następuje wówczas wiązanie antygenów, pociętych na małe fragmenty, połączonych z MHC klasy II na powierzchni komórek prezentujących antygen, przez receptory TCR, obecne na powierzchni limfocytów CD4⁺. Do efektywnej aktywacji limfocytów T potrzebna jest ponadto kostymulacja, czyli jednoczesne połączenie odpowiednich białek na limfocytach i komórkach prezentujących antygen. Głównymi antygenami prezentowanymi limfocytom T w miażdżycy są oxyLDL i białka szoku termicznego. Interakcje między limfocytami T a komórkami prezentującymi antygen mogą prowadzić do powstania różnych podtypów limfocytów. Limfocyty CD4⁺ mogą się różnicować w Th1 lub Th2. Wśród limfocytów CD4⁺, które dominują w blaszce miażdżycowej, najwięcej jest limfocytów Th1, które odpowiedzialne są za odpowiedź komórkową i wydzielają głównie IFN- γ i TNF- α . Sugeruje się, że odpowiedź zależna od Th1 nasila progresję miażdżycy. IL-12 jest najczęściej stwierdzaną cytokiną w płytce miażdżycowej, a badania przeprowadzone u myszy apo E^{-/-}, którym

podano IL-12 wykazały, że cytokina ta nasila miażdżycę. Cytokina ta, wytwarzana głównie przez niektóre komórki dendrytyczne, odgrywa główną rolę w różnicowaniu limfocytów T w limfocyty Th1 w miażdżycy. Silne działanie proaterogenne ma również IFN- γ , który jest silnym aktywatorem makrofagów [49]. Ponadto hamuje proliferację i różnicowanie komórek mięśni gładkich, hamuje syntezę kolagenu i stymuluje makrofagi do wydzielania metaloproteinaz czym może się przyczynić do destabilizacji płytki miażdżycowej

Limfocyty T regulatorowe (Treg) są to komórki CD4⁺C-D25⁺FOXP3⁺, które są odpowiedzialne za utrzymanie tolerancji i kontrolę odpowiedzi immunologicznej [39,49,60]. FOXP3 jest swoistym czynnikiem transkrypcyjnym zaangażowanym w supresorowe funkcje Treg. Powstają albo w grasicy albo w obwodowych narządach limfatycznych. Te powstałe w grasicy są to tzw. naturalne komórki Treg. W obwodowych narządach limfatycznych powstają tzw. indukowane Treg (iTreg) w chwili „kooperacji” z komórkami prezentującymi antygen poprzez konwersję naiwnych lub efektorowych limfocytów T. Te swoiste antygenowo Treg hamują efektorowe komórki T albo poprzez bezpośrednie interakcje komórka-komórka albo przez uwalnianie cytokin, takich jak: IL-10 i TGF- β (transforming growth factor β), cytokin o silnych właściwościach immunosupresyjnych. Ponadto cytokiny te, wydzielane przez inne komórki, indukują różnicowanie limfocytów Treg. Myszy pozbawione IL-10, u których miażdżycę wywołana była dieta cholesterolową charakteryzowały się nasileniem powstawania zmian miażdżycowych oraz zwiększoną infiltracją komórek efektorowych i nasiloną ekspresją IFN- γ [40]. Hamowanie działania TGF- β poprzez zastosowanie przeciwciał neutralizujących nasilało powstawanie miażdżycy u myszy pozbawionych ApoE z towarzyszącym wzrostem monocytów, limfocytów i obniżoną ilością włókien kolagenu [38]. Liczba Treg obecnych w zmianie miażdżycowej jest dużo mniejsza niż w innych tkankach objętych przewlekłym zapaleniem [60], co sugeruje, że lokalne upośledzenie tolerancji w płycie miażdżycowej jest odpowiedzialne za nasilenie zapalenia. Ateroprotekcyjne działanie tych komórek wykazano w doświadczeniu przeprowadzonym u myszy z hipercholesterolemią, którym usunięto Treg przez stymulowanie ich apoptozy. Myszy te charakteryzowały się nasileniem zmian miażdżycowych. Ponadto u pacjentów z ostrymi epizodami wieńcowymi występowała zredukowana liczba Treg i o osłabionej funkcji supresorowej [45].

Kinazy MAP wpływają wielokierunkowo na limfocyty T. Odgrywają istotną rolę w regulacji dojrzewania tymocytów w grasicy oraz w negatywnej i pozytywnej ich selekcji [2,15,54]. Zaangażowane są w aktywację CD4 i CD8, ich adhezję chemotaksję i funkcje efektorowe.

Kinaza p38 MAPK zaangażowana jest w różnicowanie się naiwnych CD4⁺ w komórki efektorowe [10,13]. Z badań przeprowadzonych na myszach genetycznie modyfikowanych, jak i z badań z zastosowaniem inhibitorów p38MAPK wynika, że kinaza ta odgrywa istotną rolę w regulacji syntezy IFN- γ i w procesie różnicowania naiwnych CD4⁺

w kierunku Th1, natomiast wydaje się mniej istotna dla syntezy IL-4 i różnicowania w kierunku Th2.

Zaobserwowano kilka dróg aktywacji p38MAPK w limfocytach T. Najbardziej poznana jest droga klasyczna poprzez kinazy MAPK i MAPKK. Innymi alternatywnymi drogami, zaobserwowanymi jedynie w limfocytach T, jest droga zależna od połączenia z receptorem TCR. Sygnał pochodzący z receptorów prowadzi do fosforylacji ZYAP70, która bezpośrednio aktywuje p38MAPK. Jak dotychczas korzystne działanie inhibitorów p38 wykazano jedynie w odniesieniu do reumatoidalnego zapalenia stawów. Nie ma badań oceniających wpływ tej kinazy na zależną od limfocytów CD4⁺ odpowiedź immunologiczną w miażdżycy. Jak piszą Dodeller i wsp. [13] zastosowanie różnych nowych inhibitorów p 38 MAPK związane było z obniżeniem CRP u pacjentów ostrymi objawami choroby niedokrwiennej serca.

Ekspresja JNK1 i JNK2 w naiwnych limfocytach CD4 jest minimalna, a ulega podwyższeniu w następstwie połączenia antygeny z receptorem TCR i pod wpływem cytokin [54].

Podczas aktywacji limfocytów CD4⁺ dochodzi do aktywacji JNK1 i JNK2 i są one zaangażowane w różnicowanie w Th1 i Th2. Ekspresja tych kinaz jest dużo wyższa w tych komórkach niż w naiwnych CD4⁺. Podczas restymulacji gwałtownie wzrasta aktywności JNK jedynie w limfocytach Th1, co sugeruje, że JNK może mieć istotne znaczenie w indukcji odpowiedzi Th1. Myszy pozbawione JNK1 wykazywały brak zróżnicowania w kierunku Th1 z nasiloną odpowiedzią Th2. U myszy pozbawionych JNK2 różnicowanie w kierunku Th2 i wytwarzanie IL-4 były prawidłowe, natomiast upośledzone było różnicowanie w kierunku Th1.

Udział kinaz MAP, tak jak i mechanizmy prowadzące do powstawania komórek Treg, nie jest do końca wyjaśniony. Z dotychczasowych badań wynika, że w iTreg aktywność ERK1/2 i JNK1 jest zredukowana [1]. Natomiast aktywność p38 MAPK jest nawet wyższa niż w komórkach efektorowych. Ponadto aktywność MAPKAP-K 3, które są substratami dla p 38 MAPK jest również podwyższona. Hamowanie aktywności p38 MAPK podczas restymulacji powodowało utratę regulatorowych funkcji iTreg. Kukulrura komórek efektorowych z iTreg poddanych działaniu SB203580 przywracała zdolność do wytwarzania IL-2 i IFN- γ przez komórki efektorowe.

Z badań przeprowadzonych na myszach JNK1^{-/-}JNK2^{-/-} wynika, że JNK hamuje ekspresję genu dla TGF- β co wskazuje, że kinaza ta w sposób negatywny reguluje funkcje supresorowe Treg [71].

Opublikowane ostatnio badania sugerują, że szlaki sygnalizacyjne zależne od kinaz MAP w sposób negatywny regulują stymulowane TGF- β różnicowanie komórek T [7]. Wykazano, że u myszy pozbawionych kinaz MAP3K i MAP2K występuje zwiększona akumulacja limfocytów

Treg w porównaniu do myszy kontrolnych. Ponadto naiwne CD4⁺ pochodzące od tych myszy okazały się bardziej podatne na stymulowane TGF- β różnicowanie w kierunku Treg, jak również na stymulowane tym czynnikiem hamowanie różnicowania w kierunku Th1. Autorzy sugerują, że jest to wynikiem braku aktywacji kinaz ERK, co skutkuje upośledzeniem fosforylacji SMAD2 i SMAD3. Klasyczna droga aktywacji w następstwie połączenia TGF- β ze swoim receptorem związana jest z fosforylacją SMAD2 i SMAD3, co prowadzi do połączenia z SMAD4. Taki kompleks przechodzi do jądra i pośredniczy w transkrypcji określonych genów w tym FOXP3. SMAD mogą być fosforyzowane w tzw. linker region przez kinazy ERK, wywołując zahamowanie fosforylacji SMAD2/3 i tym samym zahamowanie sygnału zależnego od TGF- β . Tak więc zahamowanie fosforylacji w następstwie braku MEKK2/3 skutkuje nasileniem sygnału zależnego od TGF- β i tym samym zwiększeniem różnicowania w kierunku Treg. W innych badaniach wykazano, że zahamowanie szlaku ERK w naiwnych limfocytach CD4⁺ poddanych silnej stymulacji TCR w obecności TGF- β prowadzi do zwiększenia ilości limfocytów Treg [18].

Wpływ kinaz MAP na migrację i proliferację komórek mięśni gładkich

Komórki mięśni gładkich odgrywają istotną rolę w patogenezie miażdżycy [62]. Pod wpływem wydzielanych lokalnie czynników wzrostowych, głównie PDGF, czy mediatorów zapalenia, których głównym źródłem są zaktywowane makrofagi, obecne w błonie środkowej komórki mięśni gładkich zmieniają swój fenotyp z kurczliwego na syntetyzujący. Podczas formowania zmiany miażdżycowej tak zmienione komórki mięśni gładkich migrują z błony środkowej do błony wewnętrznej, gdzie proliferują i syntetyzują składowe tkanki łącznej. Dzięki działaniu obecnych w błonie wewnętrznej komórek mięśni gładkich dochodzi najpierw do powstania włóknistej czapeczki pokrywającej zmianę miażdżycową, a następnie do przebudowy ściany naczynia, prowadzącej do jej zwężenia i w rezultacie do upośledzenia dopływu krwi do tkanek.

Sugeruje się, że za różnicowanie się komórek mięśni gładkich odpowiedzialny jest szlak PI3-K/AKT [47]. Natomiast omówiony wcześniej szlak sygnalizacyjny Ras→Raf→MEK→ERK jest głównym szlakiem odpowiedzialnym za ich migrację i proliferację. Pod wpływem Ang II trombiny czy ET-1 dochodzi do aktywacji białka Rho, które indukuje migrację komórek mięśni gładkich poprzez aktywację MEK4, która aktywuje JNK. W doświadczeniach przeprowadzonych na szczurach wykazano, że balonowe uszkodzenie tętnicy szyjnej prowadzi do gwałtownej aktywacji ERK1/2, p38 MAPK i JNK [24,32]. W innym modelu uszkodzenia tętnicy wykazano, że hamowanie ERK i p38 MAPK zmniejszało hiperplazję błony wewnętrznej [85]. W celu zbadania roli kaskady MAPK w formowaniu neointymy stworzono myszy pozbawione Gbr2, którym uszkodzono tętnice szyjne. W 3 tygodnie po uszkodzeniu oceniono formowanie neointymy i aktywacji

drog sygnałowych [82]. Myszy te były odporne na indukowane uszkodzeniem tworzenie neointymy z towarzyszącym drastycznym zmniejszeniem liczby komórek mięśni gładkich. Dodatkowo stwierdzono zmniejszenie aktywacji ERK, JNK i p38 MAPK.

CZY HAMOWANIE AKTYWNOŚCI KINAZ MAP MOŻE BYĆ W PRZYSZŁOŚCI JEDNĄ Z METOD TERAPEUTYCZNYCH W PROFILAKTYCE I LECZENIU CHOROBY, KTÓRYCH PODŁOŻEM JEST MIAŻDŻYCA

Jak wynika z przedstawionych danych kaskada kinaz MAPK odgrywa istotną rolę w patogenezie miażdżycy. Potwierdzają to również wyniki badań *in vivo*. Jak wspomniano wcześniej MK2 jest jednym z substratów p38 MAPK. Wykorzystując zwierzęcy model doświadczalny miażdżycy, tzn. myszy pozbawione receptora dla LDL (LDL^{-/-}) obecność aktywnej postaci MK2 (ufosforylowana MK2) stwierdzano głównie w wycinkach aorty objętych zmianą miażdżycową [25]. Usunięcie genu MK2 (LDL^{-/-}/MK2^{-/-}) związane było z istotnie statystycznym zmniejszeniem akumulacji lipidów i makrofagów w obrębie aorty w 8 i 16 dniu diety aterogennej w porównaniu do myszy mającej ten gen, pomimo wzrostu osoczowych stężeń lipoprotein. Usunięcie MK2 związane było również z redukcją indukowanego dietą tworzenia komórek piankowatych i zmniejszeniem ekspresji receptora wymiatającego typu A. Ponadto u myszy LDL^{-/-}/MK2^{-/-} stwierdzono zmniejszoną ekspresję VCAM-1 i MCP-1 w wycinkach z aorty. W innych badaniach wykonanych na szczurach predysponowanych do nadciśnienia (SHR-SP) wykazano, że zastosowanie GSK-AHAB (inhibitor kinazy p38 MAPK) prowadzi w sposób istotny statystycznie i zależny od dawki do poprawy przeżywalności, relaksacji naczyń i funkcji nerek [74]. Ponadto zastosowanie tego inhibitora związane było z osłabieniem dyslipidemii, nadciśnienia, przebudowy serca, osoczowej aktywności reniny i obniżeniem stężenia IL-1. Badania Seegera i wsp. [64] wykazały, że zastosowanie SB203580 (inhibitor p38 MAPK) u myszy ApoE^{-/-} istotnie zwiększa liczbę komórek angiogennych z jednoczesnym zmniejszeniem liczby komórek zapalnych. Ponadto podawanie SB203580 przez 4 miesiące związane było z redukcją wielkości zmiany miażdżycowej o 51%.

Co ciekawe, wiele leków stosowanych w leczeniu chorób naczyniowo-sercowych ma modulujący wpływ na aktywność kinaz MAP. W badaniach *in vitro* przeprowadzonych na EPC wykazano, że atorwastatyna redukuje indukowaną homocysteiną aktywację p38 MAPK z jednoczesnym zahamowaniem apoptozy tych komórek [4]. Czterotygodniowa terapia atorwastatyną u pacjentów z tętniakiem aorty brzusznej prowadziła do istotnej redukcji ekspresji JNK w wycinkach uzyskanych po zabiegu usunięcia fragmentu aorty i wszczępieniu protezy, z jednoczesnym zmniejszeniem liczby komórek dendrytycznych limfocytów T i makrofagów [26]. Rosuwastatyna zastosowana u myszy podatnych na cukrzycę przez 6 tygodni prowadziła do redukcji ekspresji Rac 1, ERK1/2 i p38 MAPK w wycinkach aorty [67]. Również olmesartan, lek stosowany w nadciśnieniu, hamował indukowaną angiotensyną II aktywację

ERK1/2 i JNK w komórkach mięśni gładkich, co związane było z osłabieniem ich migracji [31].

Przedstawione wyniki sugerują, że ingerencja w szlaki sygnalizacyjne zależne od kinaz MAP może być atrakcyjnym celem w opracowywaniu nowych strategii terapeutycznych w leczeniu chorób naczyniowo-sercowych. Pamiętaj jednak należy, o czym wspomniano wcześniej, że

poszczególne kinazy aktywują wiele niżej leżących dróg sygnałowych i czynników transkrypcyjnych, a także, że mogą fosforylować nieswoiste substraty, co wywołuje wiele różnorodnych działań biologicznych, trudnych do przewidzenia. Tak więc planowanie badań mających na celu wykazanie, że hamowanie aktywności kinaz MAP może mieć działanie antymiażdżycowe, wymaga dużej ostrożności.

PIŚMIENNICTWO

- [1] Adler H.S., Kubsch S., Graulich E., Ludwig S., Knop J., Steinbrink K.: Activation of MAP kinase p38 is critical for the cell-cycle-controlled suppressor function of regulatory T cells. *Blood*, 2007; 109: 4351-4359
- [2] Ashwell J.D.: The many paths to p38 mitogen-activated protein kinase activation in the immune system. *Nat. Rev. Immunol.*, 2006; 6: 532-540
- [3] Bao X.M., Wu C.F., Lu G.P.: Atorvastatin attenuates homocysteine-induced apoptosis in human umbilical vein endothelial cells via inhibiting NADPH oxidase-related oxidative stress-triggered p38MAPK signaling. *Acta Pharmacol. Sin.*, 2009; 30: 1392-1398
- [4] Bao X.M., Wu C.F., Lu G.P.: Atorvastatin inhibits homocysteine-induced oxidative stress and apoptosis in endothelial progenitor cells involving Nox4 and p38MAPK. *Atherosclerosis*, 2010; 210: 114-121
- [5] Branger J., van den Blink B., Weijer S., Madwed J., Bos C.L., Gupta A., Yong C.L., Polmar S.H., Olszyna D.P., Hack C.E., van Deventer S.J., Peppelenbosch M.P., van der Poll T.: Anti-inflammatory effects of a p38 mitogen-activated protein kinase inhibitor during human endotoxemia. *J. Immunol.*, 2002; 168: 4070-4077
- [6] Chae Y.J., Kim C.H., Ha T.S., Hescheler J., Ahn H.Y., Sachinidis A.: Epigallocatechin-3-O-gallate inhibits the angiotensin II-induced adhesion molecule expression in human umbilical vein endothelial cell via inhibition of MAPK pathways. *Cell. Physiol. Biochem.*, 2007; 20: 859-866
- [7] Chang X., Liu F., Wang X., Lin A., Zhao H., Su B.: The kinases MEKK2 and MEKK3 regulate transforming growth factor- β -mediated helper T cell differentiation. *Immunity*, 2011; 34: 201-212
- [8] Chang Y.L., Chen C.L., Kuo C.L., Chen B.C., You J.S.: Glycyrrhetic acid inhibits ICAM-1 expression via blocking JNK and NF- κ B pathways in TNF- α -activated endothelial cells. *Acta Pharmacol. Sin.*, 2010; 31: 546-553
- [9] Chiu J.J., Chien S.: Effects of disturbed flow on vascular endothelium: pathophysiological basis and clinical perspectives. *Physiol. Rev.*, 2011; 91: 327-387
- [10] Cook R., Wu C.C., Kang Y.J., Han J.: The role of the p38 pathway in adaptive immunity. *Cell. Mol. Immunol.*, 2007; 4: 253-259
- [11] Costanzo A., Moretti F., Burgio V.L., Bravi C., Guido F., Leviero M., Puri P.L.: Endothelial activation by angiotensin II through NF κ B and p38 pathways: involvement of NF κ B-inducible kinase (NIK), free oxygen radicals, and selective inhibition by aspirin. *J. Cell. Physiol.*, 2003; 195: 402-410
- [12] Cuschieri J., Maier R.V.: Mitogen-activated protein kinase (MAPK). *Crit. Care Med.*, 2005; 33 (Suppl. 12): S417-S419
- [13] Dodeller F., Schulze-Koops H.: The p38 mitogen-activated protein kinase signaling cascade in CD4 T cells. *Arthritis Res. Ther.*, 2006; 8: 205
- [14] Domoto K., Taniguchi T., Takaishi H., Takahashi T., Fujioka Y., Takahashi A., Ishikawa Y., Yokoyama M.: Chylomicron remnants induce monocyte chemoattractant protein-1 expression via p38 MAPK activation in vascular smooth muscle cells. *Atherosclerosis*, 2003; 171: 193-200
- [15] Dustin M.L.: T-cell activation through immunological synapses and kinapses. *Immunol. Rev.*, 2008; 221: 77-89
- [16] Endemann D.H., Schiffrin E.L.: Endothelial dysfunction. *J. Am. Soc. Nephrol.*, 2004; 15: 1983-1992
- [17] Fanjul-Fernández M., Folgueras A.R., Cabrera S., López-Otín C.: Matrix metalloproteinases: evolution, gene regulation and functional analysis in mouse models. *Biochim. Biophys. Acta*, 2010; 1803: 3-19
- [18] Gabryšová L., Christensen J.R., Wu X., Kissenpfennig A., Malissen B., O'Garra A.: Integrated T-cell receptor and costimulatory signals determine TGF- β -dependent differentiation and maintenance of Foxp3⁺ regulatory T cells. *Eur. J. Immunol.*, 2011; 41: 1242-1248
- [19] Galkina E., Ley K.: Vascular adhesion molecules in atherosclerosis. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, 2007; 27: 2292-2301
- [20] Guma M., Firestein G.S.: c-Jun N-Terminal kinase in inflammation and rheumatic diseases. *Open Rheumatol. J.*, 2012; 6: 220-231
- [21] Hansson G.K., Libby P.: The immune response in atherosclerosis: a double-edged sword. *Nat. Rev. Immunol.*, 2006; 6: 508-519
- [22] Hill J.M., Zalos G., Halcox J.P., Schenke W.H., Waclawiw M.A., Quyyumi A.A., Finkel T.: Circulating endothelial progenitor cells, vascular function, and cardiovascular risk. *N. Engl. J. Med.*, 2003; 348: 593-600
- [23] Hommes D.W., Peppelenbosch M.P., van Deventer S.J.: Mitogen activated protein (MAP) kinase signal transduction pathways and novel anti-inflammatory targets. *Gut*, 2003; 52: 144-151
- [24] Hu Y., Cheng L., Hochleitner B.W., Xu Q.: Activation of mitogen-activated protein kinases (ERK/JNK) and AP-1 transcription factor in rat carotid arteries after balloon injury. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, 1997; 17: 2808-2816
- [25] Jagavelu K., Tietge U.J., Gaestel M., Drexler H., Schieffer B., Bavendiek U.: Systemic deficiency of the MAP kinase-activated protein kinase 2 reduces atherosclerosis in hypercholesterolemic mice. *Circ. Res.*, 2007; 101: 1104-1112
- [26] Ju H., Behm D.J., Nerurkar S., Eybye M.E., Haimbach R.E., Olzinski A.R., Douglas S.A., Willette R.N.: p38 MAPK inhibitors ameliorate target organ damage in hypertension: Part 1. p38 MAPK-dependent endothelial dysfunction and hypertension. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 2003; 307: 932-938
- [27] Kajimoto K., Miyauchi K., Kasai T., Shimada K., Kojima Y., Shimada A., Niinami H., Amano A., Daida H.: Short-term 20-mg atorvastatin therapy reduces key inflammatory factors including c-Jun N-terminal kinase and dendritic cells and matrix metalloproteinase expression in human abdominal aortic aneurysmal wall. *Atherosclerosis*, 2009; 206: 505-511
- [28] Kim H.S., Ullevig S.L., Zamora D., Lee C.F., Asmis R.: Redox regulation of MAPK phosphatase 1 controls monocyte migration and macrophage recruitment. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2012; 109: E2803-E2812
- [29] Kondoh K., Nishida E.: Regulation of MAP kinases by MAP kinase phosphatases. *Biochim. Biophys. Acta*, 2007; 1773: 1227-1237

- [30] Kumar S., Boehm J., Lee J.C.: p38 MAP kinases: key signalling molecules as therapeutic targets for inflammatory diseases. *Nat. Rev. Drug Discov.*, 2003; 2: 717-726
- [31] Kyotani Y., Zhao J., Tomita S., Nakayama H., Isosaki M., Uno M., Yoshizumi M.: Olmesartan inhibits angiotensin II-induced migration of vascular smooth muscle cells through Src and mitogen-activated protein kinase pathways. *J. Pharmacol. Sci.*, 2010; 113: 161-168
- [32] Lai K., Wang H., Lee W.S., Jain M.K., Lee M.E., Haber E.: Mitogen-activated protein kinase phosphatase-1 in rat arterial smooth muscle cell proliferation. *J. Clin. Invest.*, 1996; 98: 1560-1567
- [33] Libby P.: Inflammation and cardiovascular disease mechanisms. *Am. J. Clin. Nutr.*, 2006; 83: 456-460
- [34] Libby P., Aikawa M., Schönbeck U.: Cholesterol and atherosclerosis. *Biochim. Biophys. Acta*, 2000; 1529: 299-309
- [35] Libby P., DiCarli M., Weissleder R.: The vascular biology of atherosclerosis and imaging targets. *J. Nucl. Med.*, 2010; 51 (Suppl. 1): 33S-37S
- [36] Libby P., Ridker P.M., Hansson G.K.: Progress and challenges in translating the biology of atherosclerosis. *Nature*, 2011; 473: 317-325
- [37] Lin S.J., Shyue S.K., Hung Y.Y., Chen Y.H., Ku H.H., Chen J.W., Tam K.B., Chen Y.L.: Superoxide dismutase inhibits the expression of vascular cell adhesion molecule-1 and intracellular cell adhesion molecule-1 induced by tumor necrosis factor- α in human endothelial cells through the JNK/p38 pathways. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, 2005; 25: 334-340
- [38] Lutgens E., Gijbels M., Smook M., Heeringa P., Gotwals P., Koteliansky V.E., Daemen M.J.: Transforming growth factor- β mediates balance between inflammation and fibrosis during plaque progression. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, 2002; 22: 975-982
- [39] Mallat Z., Ait-Oufella H., Tedgui A.: Regulatory T cell responses: potential role in the control of atherosclerosis. *Curr. Opin. Lipidol.*, 2005; 16: 518-524
- [40] Mallat Z., Besnard S., Duriez M., Deleuze V., Emmanuel F., Bureau M.F., Soubrier F., Esposito B., Duez H., Fievet C., Staels B., Duverger N., Scherman D., Tedgui A.: Protective role of interleukin-10 in atherosclerosis. *Circ. Res.*, 1999; 85: e17-e24
- [41] Matsuyama W., Kamohara H., Galligan C., Faure M., Yoshimura T.: Interaction of discoidin domain receptor 1 isoform b (DDR1b) with collagen activates p38 mitogen-activated protein kinase and promotes differentiation of macrophages. *FASEB J.*, 2003; 17: 1286-1288
- [42] McKay M.M., Morrison D.K.: Integrating signals from RTKs to ERK/MAPK. *Oncogene*, 2007; 26: 3113-3121
- [43] McLaren J.E., Michael D.R., Ashlin T.G., Ramji D.P.: Cytokines, macrophage lipid metabolism and foam cells: implications for cardiovascular disease therapy. *Prog. Lipid Res.*, 2011; 50: 331-347
- [44] Montecucco F., Mach F.: Atherosclerosis is an inflammatory disease. *Semin. Immunopathol.*, 2009; 31: 1-3
- [45] Mor A., Luboshits G., Planer D., Keren G., George J.: Altered status of CD4(+)CD25(+) regulatory T cells in patients with acute coronary syndromes. *Eur. Heart J.*, 2006; 27: 2530-2537
- [46] Mudau M., Genis A., Lochner A., Strijdom H.: Endothelial dysfunction: the early predictor of atherosclerosis. *Cardiovasc. J. Afr.*, 2012; 23: 222-231
- [47] Muto A., Fitzgerald T.N., Pimiento J.M., Maloney S.P., Teso D., Paszkowiak J.J., Westvik T.S., Kudo F.A., Nishibe T., Dardik A.: Smooth muscle cell signal transduction: implications of vascular biology for vascular surgeons. *J. Vasc. Surg.*, 2007; 45 (Suppl. A): A15-A24
- [48] Nakagami H., Morishita R., Yamamoto K., Yoshimura S.I., Taniyama Y., Aoki M., Matsubara H., Kim S., Kaneda Y., Ogihara T.: Phosphorylation of p38 mitogen-activated protein kinase downstream of bax-caspase-3 pathway leads to cell death induced by high D-glucose in human endothelial cells. *Diabetes*, 2001; 50: 1472-1481
- [49] Packard R.R., Lichtman A.H., Libby P.: Innate and adaptive immunity in atherosclerosis. *Semin. Immunopathol.*, 2009; 31: 5-22
- [50] Qamirani E., Ren Y., Kuo L., Hein T.W.: C-reactive protein inhibits endothelium-dependent NO-mediated dilation in coronary arterioles by activating p38 kinase and NAD(P)H oxidase. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, 2005; 25: 995-1001
- [51] Rahaman S.O., Lennon D.J., Febbraio M., Podrez E.A., Hazen S.L., Silverstein R.L.: A CD36-dependent signaling cascade is necessary for macrophage foam cell formation. *Cell Metab.*, 2006; 4: 211-221
- [52] Raman M., Chen W., Cobb M.H.: Differential regulation and properties of MAPKs. *Oncogene*, 2007; 26: 3100-3112
- [53] Ricci R., Sumara G., Sumara I., Rozenberg I., Kurrer M., Akhmedov A., Hersberger M., Eriksson U., Eberli F.R., Becher B., Borén J., Chen M., Cybulsky M.I., Moore K.J., Freeman M.W., Wagner E.F., Matter C.M., Lüscher T.F.: Requirement of JNK2 for scavenger receptor A-mediated foam cell formation in atherogenesis. *Science*, 2004; 306: 1558-1561
- [54] Rincón M., Davis R.J.: Regulation of the immune response by stress-activated protein kinases. *Immunol. Rev.*, 2009; 228: 212-224
- [55] Ross R.: Atherosclerosis - an inflammatory disease. *N. Engl. J. Med.*, 1999; 340: 115-126
- [56] Rubinfeld H., Seger R.: The ERK cascade: a prototype of MAPK signaling. *Mol. Biotechnol.*, 2005; 31: 151-174
- [57] Saklatvala J.: The p38 MAP kinase pathway as a therapeutic target in inflammatory disease. *Curr. Opin. Pharmacol.*, 2004; 4: 372-377
- [58] Saklatvala J., Dean J., Clark A.: Control of the expression of inflammatory response genes. *Biochem. Soc. Symp.*, 2003; 70: 95-106
- [59] Sarov-Blat L., Morgan J.M., Fernandez P., James R., Fang Z., Hurler M.R., Baidoo C., Willette R.N., Lepore J.J., Jensen S.E., Sprecher D.L.: Inhibition of p38 mitogen-activated protein kinase reduces inflammation after coronary vascular injury in humans. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, 2010; 30: 2256-2263
- [60] Sasaki N., Yamashita T., Takeda M., Hirata K.: Regulatory T cells in atherogenesis. *J. Atheroscler. Thromb.*, 2012; 19: 503-515
- [61] Schlessinger J.: Cell signaling by receptor tyrosine kinases. *Cell*, 2000; 103: 211-225
- [62] Schwartz S.M., Virmani R., Rosenfeld M.E.: The good smooth muscle cells in atherosclerosis. *Curr. Atheroscler. Rep.*, 2000; 2: 422-429
- [63] Seeger F.H., Haendeler J., Walter D.H., Rochwalsky U., Reinhold J., Urbich C., Rössig L., Corbaz A., Chvatchko Y., Zeiher A.M., Dimmeler S.: p38 mitogen-activated protein kinase downregulates endothelial progenitor cells. *Circulation*, 2005; 111: 1184-1191
- [64] Seeger F.H., Sedding D., Langheinrich A.C., Haendeler J., Zeiher A.M., Dimmeler S.: Inhibition of the p38 MAP kinase *in vivo* improves number and functional activity of vasculogenic cells and reduces atherosclerotic disease progression. *Basic Res. Cardiol.*, 2010; 105: 389-397
- [65] Son Y., Cheong Y.K., Kim N.H., Chung H.T., Kang D.G., Pae H.O.: Mitogen-activated protein kinases and reactive oxygen species: how can ROS activate MAPK pathways? *J. Signal Transduct.*, 2011; 2011: 792639
- [66] Sun C., Liang C., Ren Y., Zhen Y., He Z., Wang H., Tan H., Pan X., Wu Z.: Advanced glycation end products depress function of endothelial progenitor cells via p38 and ERK 1/2 mitogen-activated protein kinase pathways. *Basic Res. Cardiol.*, 2009; 104: 42-49
- [67] Tian X.Y., Wong W.T., Xu A., Chen Z.Y., Lu Y., Liu L.M., Lee V.W., Lau C.W., Yao X., Huang Y.: Rosuvastatin improves endothelial function in db/db mice: role of angiotensin II type 1 receptors and oxidative stress. *Br. J. Pharmacol.*, 2011; 164: 598-606
- [68] Ueno H., Pradhan S., Schlessel D., Hirasawa H., Sumpio B.E.: Nicotine enhances human vascular endothelial cell expression of ICAM-

1 and VCAM-1 via protein kinase C, p38 mitogen-activated protein kinase, NF- κ B, and AP-1. *Cardiovasc. Toxicol.*, 2006; 6: 39-50

[69] Van der Heiden K., Cuhlmann S., Luong le A., Zakkar M., Evans P.C.: Role of nuclear factor κ B in cardiovascular health and disease. *Clin. Sci.*, 2010; 118: 593-605

[70] Varma S., Breslin J.W., Lal B.K., Pappas P.J., Hobson R.W.2nd, Durán W.N.: p42/44MAPK regulates baseline permeability and cGMP-induced hyperpermeability in endothelial cells. *Microvasc. Res.*, 2002; 63: 172-178

[71] Ventura J.J., Kennedy N.J., Flavell R.A., Davis R.J.: JNK regulates autocrine expression of TGF- β 1. *Mol. Cell*, 2004; 15: 269-278

[72] Vermeulen L., De Wilde G., Van Damme P., Vanden Berghe W., Haegeman G.: Transcriptional activation of the NF- κ B p65 subunit by mitogen- and stress-activated protein kinase-1 (MSK1). *EMBO J.*, 2003; 22: 1313-1324

[73] Wigren M., Nilsson J., Kolbus D.: Lymphocytes in atherosclerosis. *Clin. Chim. Acta*, 2012; 413: 19-20

[74] Willette R.N., Eybye M.E., Olzinski A.R., Behm D.J., Aiyar N., Mascalco K., Bentley R.G., Coatney R.W., Zhao S., Westfall T.D., Doe C.P.: Differential effects of p38 mitogen-activated protein kinase and cyclooxygenase 2 inhibitors in a model of cardiovascular disease. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 2009; 330: 964-970

[75] Wu Y., Wang Q., Cheng L., Wang J., Lu G.: Effect of oxidized low-density lipoprotein on survival and function of endothelial progenitor cell mediated by p38 signal pathway. *J. Cardiovasc. Pharmacol.*, 2009; 53: 151-156

[76] Xu H., Duan J., Wang W., Dai S., Wu Y., Sun R., Ren J.: Reactive oxygen species mediate oxidized low-density lipoprotein-induced endothelin-1 gene expression via extracellular signal-regulated kinase in vascular endothelial cells. *J. Hypertens.*, 2008; 26: 956-963

[77] Yang W.S., Lee J.M., Han N.J., Kim Y.J., Chang J.W., Park S.K.: Mycophenolic acid attenuates tumor necrosis factor- α -induced en-

dothelin-1 production in human aortic endothelial cells. *Atherosclerosis*, 2010; 211: 48-54

[78] Yu X.H., Fu Y.C., Zhang D.W., Yin K., Tang C.K.: Foam cells in atherosclerosis. *Clin. Chim. Acta*, 2013; 424: 245-252

[79] Zapolska-Downar D., Sygitowicz G., Jarosz M.: Znaczenie apoptozy w patogenezie miażdżycy. *Kardiologia Polska*, 2008; 66 (Suppl. 3): 347-357

[80] Zarubin T., Han J.: Activation and signaling of the p38 MAP kinase pathway. *Cell Res.*, 2005; 15: 11-18

[81] Zenz R., Eferl R., Scheinecker C., Redlich K., Smolen J., Schonthaler H.B., Kenner L., Tschachler E., Wagner E.F.: Activator protein 1 (Fos/Jun) functions in inflammatory bone and skin disease. *Arthritis Res. Ther.*, 2008; 10: 201

[82] Zhang S., Ren J., Khan M.F., Cheng A.M., Abendschein D., Muslin A.J.: Grb2 is required for the development of neointima in response to vascular injury. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, 2003; 23: 1788-1793

[83] Zhang Y., Herbert B.S., Rajashekhar G., Ingram D.A., Yoder M.C., Clauss M., Rehman J.: Premature senescence of highly proliferative endothelial progenitor cells is induced by tumor necrosis factor- α via the p38 mitogen-activated protein kinase pathway. *FASEB J.*, 2009; 23: 1358-1365

[84] Zhao M., Liu Y., Wang X., New L., Han J., Brunk U.T.: Activation of the p38 MAP kinase pathway is required for foam cell formation from macrophages exposed to oxidized LDL. *APMIS*, 2002; 110: 458-468

[85] Zou Y., Qi Y., Roztocil E., Nicholl S.M., Davies M.G.: Patterns of kinase activation induced by injury in the murine femoral artery. *J. Surg. Res.*, 2007; 142: 332-340

Autorki deklarują brak potencjalnych konfliktów interesów.