

ANETA WRZYSZCZ

Metaloproteinazy płytek krwi

Matrix Metalloproteinases of Platelets

Katedra i Zakład Analityki Medycznej AM we Wrocławiu

Streszczenie

Metaloproteinazy przestrzeni zewnątrzkomórkowej (matrix metalloproteinases – MMPs) odgrywają ważną rolę zarówno w procesach fizjologicznych, jak i patologicznych, pośrednicząc w degradacji i przekształcaniu elementów przestrzeni pozakomórkowej. Są wydzielane przez wiele typów tkanek, m.in. przez komórki krwi: monocyty, limfocyty, granulocyty, ułatwiając im migrację przez tkanki [1]. Badania ostatnich lat ujawniły, że MMPs są również czynnikami regulującymi funkcję płytek krwi. Dotychczas zidentyfikowano w ludzkich płytkach pięć metaloproteinaz: MMP-1, MMP-2, MMP-3, MMP-9 i MT1-MMP. Enzymy te, z wyjątkiem MMP-3, biorą udział w przesyłaniu bodźców z zewnątrz do wnętrza płytki i mają wpływ na procesy adhezji i agregacji płytek krwi. Dokładne mechanizmy, dzięki którym MMPs kontrolują funkcje płytek, nie są wyjaśnione. Poznanie i zrozumienie roli, jaką odgrywają MMPs w utrzymaniu hemostazy może mieć znaczenie kliniczne i terapeutyczne (**Adv. Clin. Exp. Med. 2003, 12, 6, 833–839**).

Słowa kluczowe: płytki krwi, metaloproteinazy przestrzeni pozakomórkowej.

Abstract

Matrix metalloproteinases (MMPs) play an important role as mediators of matrix degradation and remodeling under physiological and pathological conditions. They are produced and released by many types of tissue, including blood cells: monocytes, lymphocytes, granulocytes which facilitate migration through tissue [1]. It has been reported recently that MMPs are also factors regulating the platelet function. To date, five MMPs have been identified in human platelets: MMP-1, MMP-2, MMP-3, MMP-9 and MT1-MMP. It has been proven that these enzymes apart from MMP-3 are taking part in sending the outside-in signals and have influence on the adhesion processes and aggregation of platelets. Precise mechanisms which allow MMPs to control the platelet function are not known. Understanding the role played by MMPs in maintaining hemostasis can be of clinical and therapeutic importance (**Adv. Clin. Exp. Med. 2003, 12, 6, 833–839**).

Key words: platelets, matrix metalloproteinases.

Metaloproteinazy przestrzeni pozakomórkowej, znane również jako MMPs (matrix metalloproteinases, matrix) są rodziną co najmniej 24 cynkozależnych endopeptydaz wykazujących duży stopień podobieństwa strukturalno-czynnościowego. Enzymy te funkcjonują w neutralnym lub słabo zasadowym pH, wymagają jonów wapnia do aktywacji i są zdolne do degradacji składników przestrzeni pozakomórkowej, jak fibrylarne i nie-fibrylarne kolageny, laminina, elastyna i glikoproteiny błony podstawnej [1, 2].

MMPs są wydzielane przez wiele tkanek, m.in. przez komórki krwi: makrofagi, limfocyty, granulocyty [1]. Rola MMPs w tych komórkach jest co-

raz lepiej poznawana. Służą głównie do ułatwiania migracji komórek przez tkanki oraz degradacji i przekształcaniu elementów przestrzeni pozakomórkowej. Niedawno udowodniono także obecność metaloproteinaz w płytkach krwi [3–5].

Właściwości metaloproteinaz

MMPs, zdefiniowane jako proteinazy degradujące co najmniej jeden składnik przestrzeni pozakomórkowej, zawierają jon cynku i są hamowane przez czynniki chelatujące jony dwuwarto-

ściowe, są wydzielane w formie latentnej wymagającej do aktywacji dodatkowych enzymów proteolitycznych oraz są hamowane przez tkankowe inhibitory metaloproteinaz – TIMPs (tissue inhibitors of metalloproteinases).

Metaloproteinazy podzielono na sześć podgrup w zależności od swoistości substratowej i wewnętrznej homologii. Są to: kolagenazy, żelatynazy, stromelizyny, MMPs typu membranowego, metaloelastazy oraz MMPs nie pochodzące od ssaków [6].

Wszystkie znane MMPs, z wyjątkiem MMPs typu błonowego (MT-MMP – membrane-type matrix metalloproteinase) są syntezowane i przechowywane we wnętrzu komórki w postaci nieaktywnej (proenzym). Struktura proenzymu jest stabilizowana przez resztę cysteinową N-końcowej części łańcucha białkowego, która jest połączona wiązaniem koordynacyjnym z jonem cynku centrum katalitycznego. Destabilizacja tego układu przez proteolityczne odszczepienie propeptydu (N-końca) prowadzi do aktywacji enzymu. Aktywacja MMPs zachodzi w środowisku komórkowym, prawdopodobnie autokatalitycznie, lub przez proteinazy serynowe, które nie wydają się bezpośrednio zaangażowane w degradację białek przestrzeni międzykomórkowej. Różne nieorganiczne związki chemiczne (cyjanek i jodek potasu, siarczany dodecyłu sodu) oraz niektóre związki organiczne zawierające rtęć mogą aktywować proMMPs poprzez zmiany konformacyjne, które poprzedzają odszczepienie propeptydu [7]. Zmiany konformacyjne w cząsteczce MMP, spowodowane stresem oksydacyjnym, również prowadzą do aktywacji metaloproteinaz [8].

Fizjologiczna rola MMPs i znaczenie w patogenezie

Aktywność MMPs w warunkach fizjologicznych jest kontrolowana na kilku poziomach. Regulacja obejmuje procesy transkrypcji, aktywacji form latentnych i wiązania swoistych inhibitorów. W tabeli 1 podano charakterystykę wybranych naturalnych i syntetycznych inhibitorów MMPs [9].

MMPs mają znaczący udział w wielu procesach zarówno fizjologicznych, jak i patologicznych. Udokumentowano ich udział m.in. w procesach:

- związanych ze wzrostem i rozwojem, takich jak: zagnieżdżenie zarodka w macicy, embriogeneza, morfogeneza, rozwój układu kostnego,
- związanych z reprodukcją: cykliczne zmiany błony śluzowej macicy, przebudowa macicy w czasie ciąży, rozbudowa i inwolucja gruczołu piersiowego,
- warunkujących integralność i prawidłową funkcję dojrzałych tkanek: przebudowa kości, go-

Tabela 1. Naturalne i syntetyczne inhibitory metaloproteinaz przestrzeni międzykomórkowej [9]

Table 1. Natural and synthetic inhibitors of matrix metalloproteinases [9]

Inhibitory (Inhibitors)	Masa cząsteczkowa (Molecular mass) D	mRNA kB
Naturalne (Natural)		
TIMP-1	28 000	0,9
TIMP-2	21 000	3,5 i 1,1
TIMP-3	28 000	2,4
TIMP-4	23 000	1,4
α_2 -Makroglobulina (α_2 -makroglobulin)	720 000	
Syntetyczne (Synthetic)		
Batimastat (BB 94)	477	
Marimastat (BB 2516)	379	
o-Fenantrolina	198,2	
Doksycyklina (Doxycycline)	480,9	

jenie ran, angiogeneza, funkcja makrofagów i neutrofilów,

– destrukcji tkanek: choroba reumatyczna, choroby dziąseł i przyzębia, inwazja nowotworów i przerzuty nowotworowe, nefropatia cukrzycowa, stwardnienie rozsiane, szpiczak, ostre białaczki [1, 2, 10–17].

Procesy te wymagają koordynacji syntezy i degradacji ECM (extracellular matrix), która zależy przede wszystkim od zachowania stanu dynamicznej równowagi między aktywnymi formami MMPs i ich endogennymi inhibitorami [1]. Na granicy między histologicznie różnymi tkankami ECM formuje wysoko zorganizowane struktury – błony podstawne, które modulują adhezję komórek, różnicowanie i morfogenezę, mitogenezę, migrację i selektywną wymianę cząstek między komórkami a płynem międzykomórkowym. Błona podstawna jest fizyczną barierą, która może być przekroczona przez komórki nadzoru immunologicznego. Jest także przekraczana i modyfikowana podczas morfogenezy, angiogenezy i inwazji komórek nowotworowych. Adhezja komórek i migracja przez ECM odbywa się dzięki receptorom integrynowym. Wykazano, że we wszystkich tych procesach MMPs mają znaczący udział.

Działanie MMPs nie ogranicza się jedynie do procesów związanych z przebudową elementów przestrzeni zewnątrzkomórkowej. MMP-2 (żelatynaza A) bierze udział w regulacji naczyńiorozsze-

rzających właściwości peptydów z grupy endoteliny, metabolizując proenzym endoteliny 1, tzw. Big-endothelin-1 (Big ET-1), do nowego peptydu (Medium ET-1) o silnych właściwościach zwężających naczynia [18].

Żelatynaza A reguluje również gospodarkę jonu chlorkowego w komórkach epitelialnych dróg oddechowych. Enzym ten wpływa w sposób bezpośredni na czynność kanału chlorkowego (cystic fibrosis transmembrane regulator – CFTR) [19], którego zmniejszona ekspresja prowadzi do objawów mukowiscydozy. Zahamowanie czynności MMP-2 zwiększa przepływ jonów chlorkowych przez CFTR. Odkryto również, że MMPs mają udział w regulacji funkcji płytek krwi.

Funkcja płytek krwi

Płytki krwi są ważnymi elementami morfologicznymi zaangażowanymi nie tylko w fizjologiczny proces hemostazy, ale także w wiele procesów patologicznych, jak np. choroby układu naczyniowego [20], choroby nerek [21], choroby alergiczne [22], zaburzenia równowagi gospodarki lipidowej [23], tworzenie przerzutów nowotworowych [24, 25].

Szybka reakcja płytek na różne bodźce środowiskowe jest możliwa dzięki bardzo rozwiniętemu systemowi receptorów błonowych. Receptory serpentynowe, sprzężone i współpracujące z heterotrimerycznymi białkami G, do których należą receptory trombiny, katepsyny G, adrenaliny – α_2 -adrenoreceptory, receptory dla TXA_2 /PGH₂, indukują sekrecję substancji magazynowanych w ziarnistościach, reorganizację lipidów w błonie płytkowej, powstawanie i wydłużanie wypustek [26]. Druga grupa receptorów płytek krwi to receptory białek adhezyjnych [26, 27]. Wśród nich są: integryny ($\alpha_{IIb}\beta_3$, $\alpha_v\beta_3$, $\alpha_2\beta_1$, $\alpha_5\beta_1$, $\alpha_6\beta_1$), selektyny, glikoproteiny GPI–IX i GPIV, reagujące odpowiednio z vWF i trombospondyną, receptor Fc γ RIIA dla immunoglobulin. Receptory integrynowe, oddziałujące z białkami adhezyjnymi, np. z fibronektyną ($\alpha_5\beta_1$), vWF, fibrynogenem i fibronektyną ($\alpha_{IIb}\beta_3$), z kolagenem ($\alpha_2\beta_1$), są grupą o największym znaczeniu w aktywacji płytek, najobficiej występują i są najlepiej poznane. Są to białka odpowiedzialne za rozpoznawanie i przyleganie komórek do elementów przestrzeni zewnątrzkomórkowej oraz za oddziaływanie komórek między sobą. Ich szczególną cechą jest to, że w wyniku aktywacji zmienia się odwracalnie ich powinowactwo wiązania cząsteczek ligandu. Reagują wtedy z określonymi białkami obecnymi w przestrzeni zewnątrzkomórkowej, w błonie innych komórek lub rozpuszczonymi w płynach

ustrojowych. W ten sposób integryny umożliwiają swoistą adhezję komórek, ich agregację lub ukierunkowaną migrację [26]. Wszystkie typy receptorów płytkowych, które oddziałują z białkami adhezyjnymi (integryny, selektyny, GPIV i GPIb–IX) biorą udział w przesyłaniu sygnału do wnętrza płytek. Podobnie jak w przypadku receptorów sprzęgniętych z białkiem G, przesyłanie sygnału indukowane przyłączeniem ligandu do receptorów integrynowych wiąże się z aktywacją rozpuszczalnych kinaz tyrozynowych, stymulujących tworzenie odpowiednich kompleksów sygnalizacyjnych.

Kinazy tyrozynowe występujące w płytkach krwi należą do klasy kinaz niereceptorowych, tj. niezawierających domeny zewnątrzkomórkowej zdolnej do wiązania ligandu i domeny transbłonowej. Odgrywają jednak ogromną rolę w przewodzeniu informacji w płytkach krwi, umożliwiając im odpowiedź na działanie zewnątrzkomórkowych stymulatorów. Bezpośrednia aktywacja kinaz polegająca na ich połączeniu z receptorem, jest odpowiedzialna za przesyłanie informacji od GPIV, receptora kolagenu i trombospondyny. Pośrednia aktywacja odpowiadająca za przesyłanie informacji od GPIIb/IIIa nie wymaga łączenia z receptorem, ale niezbędne są m.in. białka cytoszkieletu pośredniczące między receptorem a kinazami. Uaktywnione kinazy, działając w sposób kaskadowy, wywołują aktywację wielu enzymów i doprowadzają do fizjologicznych odpowiedzi płytek, tj. adhezji i agregacji [27].

Płytki mogą być aktywowane przez liczne czynniki fizjologiczne: trombinę, tromboksan A₂, kolagen, ADP, PAF, adrenalinę, serotoninę oraz przez związki farmakologicznie czynne: jonofory wapniowe, analogi prostanoidowe, antykoagulanty itp. [28]. Niemal wszystkie naturalnie występujące aktywatory płytek krwi prowadzą do przejścia jonów wapnia z układu kanalików o dużej gęstości elektronowej do cytoplazmy oraz fosforylację niektórych białek płytkowych [27].

Formowanie agregatów przez płytki jest skutkiem wydzielania przez zaktywowane trombocyty ADP i TXA_2 oraz ekspresji receptorów błonowych (czy też zmiany ich konformacji). ADP pochodzi z erytrocytów uszkodzonych w miejscu zranienia naczyń i odsłoniętego śródbłonna oraz z ziarnistości gęstych płytek krwi. Od ADP zależy tworzenie kompleksu GPIIb/IIIa. Za pośrednictwem ADP i fibrynogenu następuje łączenie się płytek ze sobą. Jest to pierwsza, odwracalna faza agregacji, w której nie następuje jeszcze uwalnianie TXA_2 . W drugiej fazie następuje degranulacja płytek (tzw. przemiana lepka) i uwolnienie TXA_2 oraz stabilizacja konglomeratu płytkowego przez siatkę fibryny [28].

Oprócz swoistych markerów aktywacji płytek

(PF4, β -tromboglobuliny), białek adhezyjnych, czynników krzepnięcia i fibrynolizy, mitogenów, związków drobnocząsteczkowych, z płytek są uwalniane także enzymy. W 1997 r. odkryto nową drogę agregacji płytek, niezależną od uwalniania TXA_2 i ADP przez płytki, w której bierze udział żelatynaza A (MMP-2) [3].

Znaczenie MMPs w regulacji funkcji płytek krwi

Kolagenolityczna aktywność płytek została opisana po raz pierwszy 30 lat temu [29], ale swoistość wykrytych enzymów nie została wówczas w pełni scharakteryzowana. W 1985 r. Cooper et al. [30] znaleźli w płytkach inhibitor kolagenaz, który był taki sam jak inhibitor wytwarzany przez ludzkie fibroblasty skóry. Dane te sugerowały obecność w płytkach metaloproteinaz przestrzeni pozakomórkowej.

Pierwszych dowodów na obecność metaloproteinaz w płytkach krwi dostarczyły badania Sawickiego et al. [3]. Dotychczas zidentyfikowano w płytkach 5 metaloproteinaz: MMP-1, MMP-2, MMP-3, MMP-9 i MT1-MMP (tab. 2) [3–5, 31, 32].

Podczas adhezji płytek i agregacji indukowanej kolagenem i trombiną są uwalniane latentne formy MMP-2 (żelatynazy A) i MMP-1 [3, 5]. Sto-

suąc znakowane złotem przeciwciała i metodę cytometrii przepływowej wykazano, że metaloproteiny te znajdują się w cytozolu w nieaktywowanych płytkach krwi, a podczas procesu aktywacji płytek następuje ich translokacja na powierzchnię błony komórkowej i wydzielanie do przestrzeni międzykomórkowej [4, 5]. Translokacja następuje prawdopodobnie z udziałem receptorów. W płytkach krwi wykryto MT1-MMP w kompleksie z TIMP-2 i MMP-2 [32]. MMP-2 może być wiązana na powierzchni komórek przez MT1-MMP, która jest jednocześnie błonowym aktywatorem MMP-2, lub przez integrynę $\alpha\text{v}\beta_3$ – receptor dla witronektyny (VnR – vitronectin receptor). VnR i proMMP-2 *in vitro* formują kompleks, do którego powstania jest konieczna obecność C-końcowej domeny MMP-2. Ekspresja integryny $\alpha\text{v}\beta_3$ jest czynnikiem regulującym degradację składników przestrzeni zewnątrzkomórkowej, migrację komórek i proces angiogenezy. Jest możliwe, że $\alpha\text{v}\beta_3$ i MMP-2 współdziałają w tych procesach [24]. VnR może odgrywać ponadto pewną rolę w procesie megakariocytoogenezy i migracji megakariocytów w szpiku [33]. W innych typach komórek, proMMP-1 wiąże się bezpośrednio z integryną $\alpha_2\beta_1$ i reguluje migrację komórek [34], a w aktywowanych płytkach wykazano kolokalizację MMP-1 i podjednostki integrynowej β_3 [5]. Jak dotąd nie badano związku między ekspresją receptorów integrynowych oraz metaloproteinaz w płytkach krwi i ewentualnego wpływu ich wzajemnej interakcji na funkcję trombocytów.

Tabela 2. Metaloproteinazy płytek krwi [3-5, 31, 32]

Table 2. Matrix metalloproteinases of platelets [3-5, 31, 32]

Enzym (Enzyme)	Klasyfikacja numeryczna (Classification)	Masa cząsteczkowa – forma latentna/aktywna (Molecular mass latent/active form) kDa	Substrat (Substrate)	Funkcja w płytkach krwi (Role in blood platelet)
Kolagenaza 1 (Collagenase 1)	MMP-1	52/42	kolagen: I, II, III, VII, VIII, X, żelatyna, proteoglikany	forma aktywna stymuluje aktywację i agregację, powoduje grupowanie na powierzchni komórki integryn β_3
Żelatynaza A (Gelatinase A)	MMP-2	72/66	kolagen IV, V, VII, X, XI, żelatyna, elastyna, fibronektyna, proteoglikany	forma aktywna stymuluje aktywację i agregację
Żelatynaza B (Gelatinase B)	MMP-9	92/84	kolagen IV, V, VII, X, XI, żelatyna, elastyna, fibronektyna, proteoglikany	hamuje proagregacyjne działanie MMP-2
Stromelizyna 1 (Stromelysin 1)	MMP-3	57/45	kolagen IV, V, IX, X, fibronektyna, elastyna, prokolagenazy, proteoglikany	?
MT1-MMP	MMP-14	66/54	proMMP-2	aktywacja MMP-2

Metaloproteiny, oprócz przebudowy białek przestrzeni międzykomórkowej, białek znajdujących się na powierzchni komórek, w tym receptorów, mogą regulować przesyłanie bodźców między komórkami. Indukowanie trombocytów trombiną powoduje szybki wzrost ilości zaktywowanej MMP-1 obecnej w płytkach. Aktywna MMP-1, zarówno endogenna jak i egzogenna, indukuje fosforylację tyrozyny w białkach wewnątrzkomórkowych i powoduje skupianie się integryn β_3 na powierzchni komórki i zapoczątkowuje agregację płytek. Nie zaobserwowano wpływu MMP-1 na zmianę kształtu płytek, przesunięcia jonów wapniowych wewnątrz płytki, translokację P-selektyny na powierzchnię komórek i syntezę tromboksanu [5]. Dokładny mechanizm, dzięki któremu MMP-1 dostarcza sygnały do płytki krwi nie jest znany. Agoniści, którzy indukują podobne reakcje, jak ADP, kolagen, PAF, TXA_2 i trombina dostarczają sygnały do wnętrza komórki przez powierzchniowe receptory. Jest możliwe, że MMP-1 przekazuje sygnały przez swoisty, jeszcze nie zidentyfikowany, transbłonowy receptor. Przekształcenie latentnej formy metaloproteiny w formę aktywną może powodować proteolityczną modyfikację receptorów transmembranowych lub cząsteczek adhezyjnych w płytkach, co jest bezpośrednio związane z przekazywaniem sygnałów do wnętrza komórki za pośrednictwem kinazy tyrozynowej [5]. Nie stwierdzono, by MMPs powodowały zmiany konformacyjne receptorów, ale są dowody, że MMP-2 wpływa na interakcje fibrynogenu z jego receptorem oraz czynnika von Willebranda i glikoproteiny Ib [35, 36]. Proces translokacji metaloprotein na powierzchnię płytek jest ściśle związany z aktywacją płytek krwi i jest hamowany przez endogenne inhibitory aktywacji płytek – tlenek azotu i prostacyklinę I_2 (PGI_2). Aktywację i agregację płytek hamuje również blokowanie aktywności MMP-2 i MMP-1, np. przez swoiste przeciwciała. Niewielkie natomiast stężenia rekombinowanej aktywnej formy metaloproteiny stymulują agregację płytek krwi [3]. Ponadto MMP-2 pośredniczy w agregacji płytek indukowanej przez komórki nowotworowe – ma to duże

znaczenie w tworzeniu przerzutów [37].

Żelatynaza B (MMP-9), która znajduje się w płytkach w mniejszym stężeniu niż MMP-1 lub MMP-2, hamuje proagregacyjne działanie MMP-2 [31], MMP-3 natomiast nie wywiera żadnego wpływu na aktywację trombocytów [5].

Jest prawdopodobne, że metaloproteiny płytek krwi współpracują ze sobą w przenoszeniu sygnałów do wnętrza komórek i wspólnie kontrolują funkcję płytek. Jednym z czynników nadzorującym MMPs mogą być ich endogenne inhibitory (TIMPs). Zdolność do hamowania aktywacji płytek ma ludzki rekombinowany TIMP-2 i TIMP-4. Spośród 4 znanych endogennych inhibitorów metaloprotein tylko TIMP-1 i TIMP-4 znajdują się w płytkach w ilościach mierzalnych. Jest jednak możliwe, że TIMP-2, który znajduje się w ścianach naczyń krwionośnych także bierze udział w regulacji wpływu MMPs na funkcję płytek krwi [38].

Badania kilku ostatnich lat ujawniły, że metaloproteiny przestrzeni pozakomórkowej mogą być czynnikiem regulującym funkcję płytek krwi. Zrozumienie roli, jaką odgrywają metaloproteiny w utrzymaniu hemostazy może mieć znaczenie diagnostyczne i terapeutyczne.

To, że MMPs wpływają na agregację płytek krwi sugeruje, że neutralizacja ich aktywności może mieć skutki kliniczne, zwłaszcza że proagregacyjny efekt MMP-1 jest niezależny od wiązania fibrynogenu do $\alpha\text{IIb}\beta_3$. Inhibitory MMPs regulowałyby agregację płytek w sposób odmienny niż komercyjnie dostępni antagoniści receptora $\alpha\text{IIb}\beta_3$. Neutralizacja MMPs w aktywowanych płytkach pozostawia inne drogi przenoszenia sygnałów nieknięte. Takie selektywne hamowanie funkcji płytek krwi bez ich całkowitego zablokowania jest podobne do efektu wywołanego na płytce przez małe dawki aspiryny [39]. Inhibitory MMPs mogłyby być efektywnymi czynnikami przeciwpłytkowymi, które precyzyjnie tłumią agregację, powodując jedynie niewielki spadek prawidłowej hemostatycznej funkcji płytek.

Piśmiennictwo

- [1] Goetzl E. J., Banda M. J., Leppert D.: Matrix metalloproteinases in immunity. *J. Immunol.* 1996, 1–4.
- [2] Coussens L. M., Fingleton B., Matrisian L. M.: Matrix metalloproteinase inhibitors and cancer: trials and tribulations. *Science* 2002, 295, 2387–2392.
- [3] Sawicki G., Salas E., Murat J., Misztal-Lane H., Radomski M. W.: Release of gelatinase A during platelet activation mediates aggregation. *Nature* 1997, 386, 616–619.
- [4] Sawicki G., Sanders E. J., Salas E., Woźniak M., Rodrigo J., Radomski M. W.: Localization and translocation of MMP-2 during aggregation of human platelets. *Thromb. Haemost.* 1998, 80, 836–839.
- [5] Galt S. W., Lindemann S., Allen L., Medd D. J., Falk J. M., McIntyre T. M., Prescott S. M., Kraiss L. W., Zimmerman G. A., Weyrich A. S.: Outside-in signals delivered by matrix metalloproteinase-1 regulate platelet function. *Circul. Res.* 2002, 90, 1093–1099.

- [6] **Parsons S. L., Watson S. A., Brown P. D., Collins H. M., Steele R. J. C.:** Matrix metalloproteinases. *Br. J. Surg.* 1997, 84, 160–166.
- [7] **Jeffrey J. J.:** Intestitia collagenases. In: *Matrix metalloproteinases* Eds.: Parks W. C., Mecham R. P., Academic Press, San Diego, 1998, 15.
- [8] **Okamoto T., Akaike T., Nagano T., Miyajima S., Suga M., Ando M., Ichimori K., Maeda H.:** Activation of human neutrophil procollagenase by nitrogen dioxide and peroxynitrite: a novel mechanism for procollagenase activation involving nitric oxide. *Arch. Biochem. Biophys.* 1997, 342, 261.
- [9] **Sawicki G., Radomski M. W.:** Nowe aspekty biologii metaloproteinaz przestrzeni międzykomórkowej (MMPs). *Diag. Lab.*, 1999, 35, 373–380.
- [10] **Nagase H., Woessner J. F.:** Matrix metalloproteinases. *J. Biol. Chem.* 1999, 274, 21491–21494.
- [11] **Emara M., Woźniak M.:** Role of metalloproteinases in cancer cell invasiveness. *Diag. Lab.* 1999, 35, 381–397.
- [12] **Friedberg M. H., Glantz M. J., Klempner M. S., Cole B. F., Perides G.:** Specific matrix metalloproteinase profiles in the cerebrospinal fluid correlated with the presence of malignant astrocytomas, brain metastases, and carcinomatous meningitis. *Cancer* 1998, 82, 923–930.
- [13] **Suzuki D.:** Metalloproteinases in the pathogenesis of diabetic nephropathy. *Nephron* 1998, 80, 125–133.
- [14] **Chandler S., Miller K. M., Clements J. M., Lury J., Corkill D., Anthony D. C. C., Adams S. E., Gearing A. J. H.:** Matrix metalloproteinases, tumor necrosis factor and multiple sclerosis: an overview. *J. Neuroimmunol.* 1997, 72, 155–161.
- [15] **Barille S., Akhoundi C., Collette M., Mellerin M.-P., Rapp M.-J., Harousseau J.-L., Bataille R., Amiot M.:** Metalloproteinases in multiple myeloma: production of matrix metalloproteinase-9 (MMP-9), activation of proMMP-2, and induction of MMP-1 by myeloma cells. *Blood* 1997, 90, 1649–1655.
- [16] **Ismair M. G., Ries C., Petrides P. E.:** Matrix metalloproteinases and their inhibitors in acute myeloid leukemia. *Leukemia* 1997, 11, 527–529.
- [17] **Stetler-Stevenson M., Mansoor A., Lim M., Fukushima P., Kehrl J., Marti G., Ptaszynski K., Wang J., Stetler-Stevenson W.:** Expression of matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases in reactive and neoplastic lymphoid cells. *Blood* 1997, 89, 1708–1715.
- [18] **Fernandez-Patron C., Radomski M. W., Davidge S.:** Vascular matrix metalloproteinase-2 cleaves big endothelin-1 yielding a novel vasoconstrictor. *Circ. Res.* 1999, 85, 906–911.
- [19] **Duszyk M., Shu Y., Sawicki G., Radomski A., Man S. F. P., Radomski M. W.:** Inhibition of matrix metalloproteinase MMP-2 activates chloride current in human airway epithelial cells. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* 1999, 77, 529–535.
- [20] **Flores N. A.:** Platelet activation during myocardial ischaemia: a contributory arrhythmogenic mechanism. *Pharmacol. Ther.* 1996, 72, 83–108.
- [21] **Małyszko J., Małyszko J. S., Pawlak D., Pawlak K., Buczek W., Myśliwiec M.:** Hemostasis, platelet function and serotonin in acute and chronic renal failure. *Thromb. Res.* 1996, 83, 351–361.
- [22] **Dąbrowska M.:** Rola płytek krwi w zapaleniu. *Diagn. Lab.* 1997, 33, 429–433.
- [23] **Padua M. A., Caramelli B., Vianna C. B., Chamone D., Ramires J. A.:** Smoking and lipoprotein abnormalities on platelet aggregation in coronary heart disease. *Int. J. Cardiol.* 1997, 62, 151–154.
- [24] **Brooks P. C., Stromblad S., Sanders L. C., von Schalscha T. L., Aims R. T., Stetler-Stevenson W. G., Quigley J. P., Cheresch D. A.:** Localization of matrix metalloproteinase MMP-2 to the surface of invasive cells by interaction with integrin $\alpha_v\beta_3$. *Cell* 1996, 85, 683–693.
- [25] **Lindenmeyer F., Legrand Y., Menashi S.:** Upregulation of MMP-9 expression in MDA-MB231 tumor cells by platelet granular membrane. *FEBS Lett.* 1997, 418, 19–22.
- [26] **Cierniewski C. S.:** Budowa i funkcja receptorów integrynowych na przykładzie płytkowego receptora fibrynogenu. *Post. Bioch.* 1994, 40, 45–54.
- [27] **Kralisz U.:** Funkcja białkowych kinaz tyrozynowych podczas aktywacji płytek krwi. *Post. Biochem.* 1994, 40, 40–45.
- [28] **Watała C.:** Molekularne mechanizmy wewnątrzkomórkowego przewodzenia sygnału w aktywacji płytek krwi. *Diagn. Lab.* 1997, 33, 436–439.
- [29] **Chesney C. M., Harper E., Colman R. W.:** Human platelet collagenase. *J. Clin. Invest.* 1974, 53, 1647–1654.
- [30] **Cooper T. W., Eisen A. Z., Stricklin G. P., Welgus H. G.:** Platelet-derived collagenase inhibitor: Characterization and subcellular localization. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1985, 82, 2779–2783.
- [31] **Fernandez-Patron C., Martinez-Cuesta S. E., Sawicki G., Woźniak M., Radomski M. W., Davidge S. T.:** Differential regulation of platelet aggregation by matrix metalloproteinase-9 and 2. *Thromb. Haemost.* 1999, 82, 1730–1735.
- [32] **Kazes I., Elalamy I., Sraer J. D., Hatmi M., Nguyen G.:** Platelet release of trimolecular complex components MT1-MMP/TIMP2/MMP-2: involvement in MMP2 activation and platelet aggregation. *Blood* 2000, 96, 3064–3069.
- [33] **Poujol C., Nurden A. T., Nurden P.:** Ultrastructural analysis of the distribution of the vitronectin receptor ($\alpha_v\beta_3$) in human platelets and megacaryocytes reveals an intracellular pool and labelling at the α -granule membrane. *Br. J. Haematol.* 1997, 97, 823–835.
- [34] **Stricker T. P., Dumin J. A., Dickeson S. K., Chung L., Nagase H., Parks W. C., Santoro S. A.:** Structural analysis of the α_2 integrin I domain/procollagenase-1 (matrix metalloproteinase-1) interaction. *J. Biol. Chem.* 2001, 276, 29375–29381.

- [35] **Martinez A., Salas E., Radomski A., Radomski M. W.:** Matrix metalloproteinase-2 in platelet adhesion to fibrinogen: interactions with nitric oxide. *Med. Sci Monit.* 2001, 7, 646–651.
- [36] **Radomski A., Stewart M. W., Jurasz P., Radomski M. W.:** Pharmacological characteristics of solid-phase von Willebrand factor in human platelets. *Br. J. Pharmacol.* 2001, 134, 1013–1020.
- [37] **Jurasz P., Sawicki G., Duszyk M., Sawicka J., Miranda C., Mayers I., Radomski M. W.:** Matrix metalloproteinase-2 in tumor-cell induced platelet aggregation: regulation by NO. *Cancer Res.* 2001, 61, 376–382.
- [38] **Jurasz P., Chung A. W. Y., Radomski A., Radomski M. W.:** Nonremodeling properties of matrix metalloproteinases: the platelet connection. *Circ. Res.* 2002, 90, 1041–1043.
- [39] **Roth G. J., Calverley D. C.:** Aspirin, platelets, and thrombosis: theory and practice. *Blood* 1994, 83, 885–898.

Adres do korespondencji:

Aneta Wrzyszc
Katedra i Zakład Analityki Medycznej AM
Wybrzeże Pasteura 2
50-367 Wrocław

Praca wpłynęła do Redakcji: 23.01.2003 r.

Po recenzji: 19.02.2003 r.

Zaakceptowano do druku: 25.03.2003 r.

Received: 23.01.2003

Revised: 19.02.2003

Accepted: 25.03.2003